

Diferenciación de la Retina de los Vertebrados: Mecanismos Celulares y Moleculares

Differentiation of the retina of the vertebrate: Cellular and molecular mechanisms

Rocío Salceda

RESUMEN

La compleja organización de la retina es generada durante el desarrollo embrionario a través de una serie de transformaciones de un neuroepitelio simple y morfológicamente homogéneo en el que todas las células son capaces de dividirse. La diferenciación de los distintos tipos celulares ocurre en secuencia: células ganglionares, amacrinas, horizontales, conos, bipolares, de Müller y bastones. Sin embargo, un solo progenitor puede generar diversos tipos celulares, y neuronas pre-existentes pueden influenciar el fenotipo de las células originadas por estos precursores. El establecimiento de conexiones funcionales ocurre aún antes de la diferenciación de los fotorreceptores. La conexión con los blancos apropiados depende de una serie de moléculas de reconocimiento con patrones de localización específica. La diferenciación de las células de la retina involucra una combinación de factores microambientales y de programas genéticos.

Plabras clave: Desarrollo de la retina, diferenciación, factores de crecimiento, genes.

ABSTRACT

The complex retinal organization is generated during embryonic development through a series of transformations within a simple, morphologically homogeneous neuroepithelium which is capable of mitotic activity. Cell differentiation occurs in a temporal sequence starting by the appearance of ganglion cells, followed by amacrine, horizontals, cone photoreceptor, bipolar, Müller cells and rod photoreceptors. Early functional networks are present before photoreceptors differentiation. A variety of experiments suggest that gradients of cell surface proteins are involved in the establishment of proper retinotectal maps. Retinal cell differentiation involves a combination of genetic programs and microenvironmental regulatory factors.

Key words: Retina development, differentiation, growth factors, genes.

Introducción

Una gran variedad de organismos perciben el medio que los rodea a través de los sentidos; entre estos, la visión es de particular relevancia en los vertebrados. Por medio de la visión muchos animales conocen el mundo que los rodea y pueden responder a una serie de condiciones que cambian constantemente.

El primer paso del proceso visual se lleva a cabo en la retina, órgano fotosensible que se encuentra en el fondo del ojo.

*Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-253. 04510 México, D.F.

Características generales de la retina

La retina de los vertebrados consiste de dos componentes, el epitelio pigmentario de la retina (EPR) y la retina neural propiamente dicha (Fig. 1). El EPR está constituido por una monocapa de células neuroepiteliales interpuesta entre los capilares de la coroides y los fotorreceptores de la retina neural. La retina consiste de seis distintos tipos celulares organizados en capas. La capa nuclear externa está formada por las células fotorreceptoras (conos y bastones) cuyos segmentos externos se localizan en aposición con el epitelio pigmentario de la retina; la capa nuclear interna (CNI) en la que se encuentran los somas de células

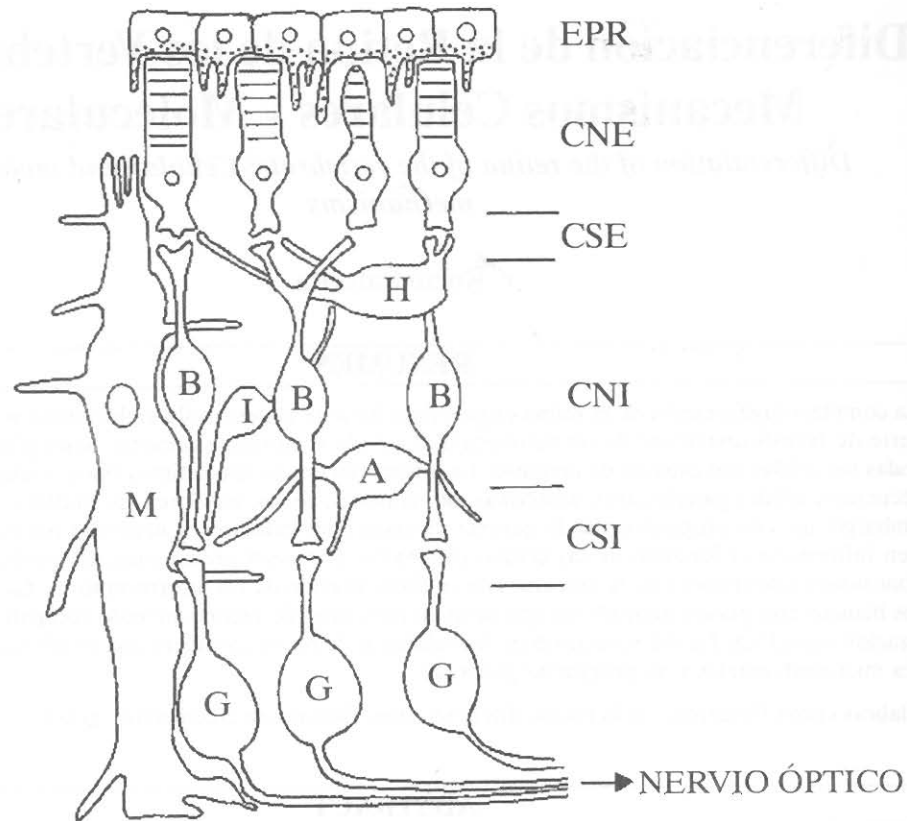


Figura 1. Estructura de la retina adulta de los vertebrados. Diagrama de las capas celulares y sus relaciones sinápticas. Los tipos celulares son: B, célula bipolar; H, célula horizontal; A, célula amacrina; I, célula interplexiforme; G, célula ganglionar; M, célula de Müller. EPR, epitelio pigmentario de la retina; CNE, capa nuclear externa; CNI, capa nuclear interna; CSE, capa sináptica externa; CSI, capa sináptica interna.

bipolares, horizontales, amacrinas e interplexiformes; y la capa de células ganglionares. Interconectando estas tres capas están la capa sináptica externa (sinapsis entre fotorreceptores y células de la CNI) y la capa sináptica interna (sinapsis entre las células de la CNI y las ganglionares). Las células ganglionares constituyen la membrana limitante interna y sus axones forman el nervio óptico, a través del cual la información programada en la retina es enviada al cerebro. Las células gliales de la retina o de Müller se extienden desde la membrana limitante interna a la membrana limitante externa donde rodean a los segmentos internos de los fotorreceptores (Dowling, 1992).

La información proveniente de la retina se proyecta al tectum o al núcleo geniculado lateral (NGL) (en mamíferos) en forma tal que el campo visual de cada ojo se representa en este núcleo. Los axones

del NGL terminan en la corteza visual en donde la información es procesada y a partir de este análisis se construye el mundo visual. La organización estructural y funcional de la retina adulta se establece durante el desarrollo ontogenético del individuo y es el tema que nos ocupa.

El desarrollo de la retina, requiere de una serie de eventos celulares que empiezan con el establecimiento de los distintos tipos celulares que la constituyen y termina con la formación de una serie de complejas y ordenadas interconexiones celulares. Una miríada de preguntas subyacen a este fenómeno: ¿cuándo un precursor adquiere un fenotipo definido? ¿existe predeterminación del fenotipo, o la diferenciación está determinada por señales que dependen de la posición que la célula presenta durante su migración? ¿cómo se establecen las conexiones con los blancos apropiados? ¿existen genes que coordinan la expresión de

propiedades especializadas en células diferenciadas?, etc.

Morfogénesis y neurogénesis

El desarrollo general del ojo y de la retina es notablemente semejante en la mayoría de los vertebrados, aunque el curso temporal de los eventos de morfogénesis y neurogénesis está determinado por la longitud del período de gestación. En algunas especies la retina está completamente desarrollada al momento del nacimiento, en otras (mamíferos) es posnatal. (Finlay y Sengelaub, 1989; Lam y Shatz, 1991).

En el hombre, el primordio óptico aparece alrededor de los 22 días de gestación, como evaginaciones bilaterales del neuroectodermo del cerebro anterior, estas evaginaciones continúan proliferando hasta convertirse al día 27 en las vesículas ópticas primarias. Cuando estas vesículas alcanzan la superficie del ectodermo, la depresión del neuroectodermo induce la formación del primordio del cristalino. Una depresión aparece en la superficie inferior de cada vesícula formándose la copa óptica (día 33 de gestación) de doble pared (Fig. 2). Las dos capas de esta copa óptica empiezan a diferenciarse en distintas direcciones; las células de la capa externa se convierten en el EPR, cuerpo ciliar e iris; mientras que la capa interna da origen a la retina neural. Estas modificaciones se hacen obvias al día 40 y continúan hasta el séptimo mes del desarrollo. Durante la doceava semana aparecen los rudimentos de los fotorreceptores cuyo desarrollo continúa hasta después del nacimiento.

La capa interna de la copa óptica primitiva es un epitelio columnar pseudoestratificado de células ventriculares fusiformes. Antes de cada división mitótica las células pierden sus uniones con la membrana limitante interna y se redondean; si los productos de la división mitótica son destinados a ser células ventriculares sus procesos se unen a la membrana limitante externa, de lo contrario migran radialmente.

El curso temporal en el que una célula presenta un fenotipo en particular, es decir el inicio de la diferenciación, se ha identificado con técnicas de autorradiografía, marcando a las células con timidina radioactiva, así como con técnicas inmunohistoquímicas con el empleo de anticuerpos específicos que se han desarrollado en los últimos años y que reconocen diversos tipos celulares de la retina (Sidman, 1961; Barnstable, 1980).

En todas las especies estudiadas se ha observado un patrón general de neurogénesis, en el que los distintos tipos celulares aparecen en una secuencia ordenada (Fig. 3), aunque existen variaciones específicas (Lam y Shatz, 1991).

Los diferentes tipos de células derivan de una población homogénea de células neuroepiteliales proliferantes. Las células ganglionares son las primeras en diferenciarse, después de su última mitosis migran hacia la membrana limitante interna y se diferencian rápidamente.

Las capas celulares se separan horizontalmente debido a la diferenciación de las células ganglionares que presentan elaboradas dendritas que constituyen más tarde la capa sináptica interna.

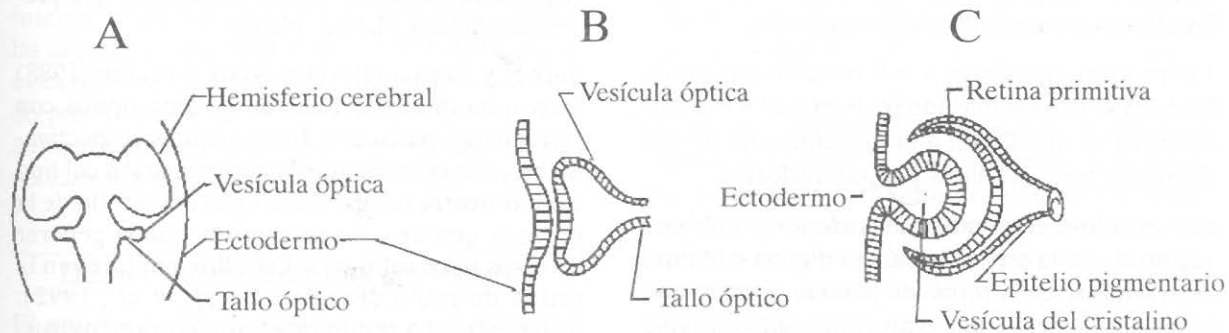


Figura 2. Esquema que representa el desarrollo de la retina en los vertebrados. Las vesículas ópticas aparecen por evaginación del diencéfalo (A y B). La invaginación de la vesícula óptica lleva a la formación de la copa óptica formada por dos capas, la interna que da origen a la retina y la externa al epitelio pigmentario (C).

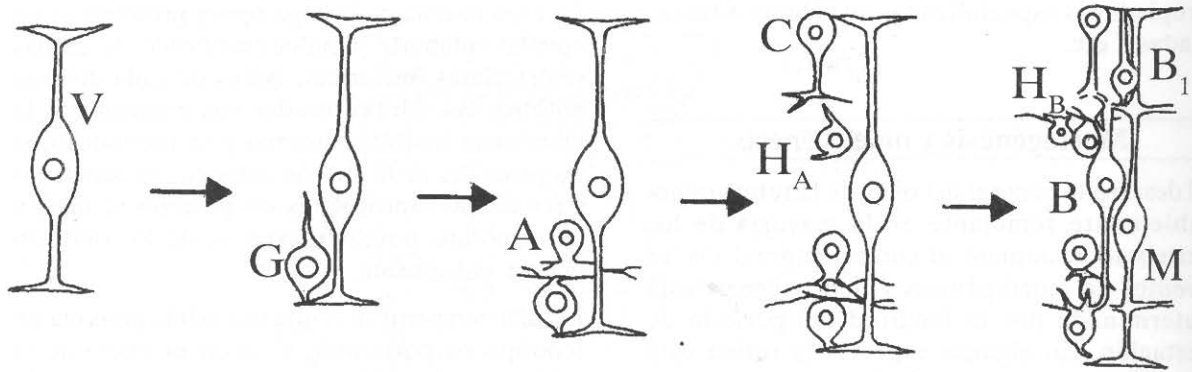


Figura 3. Secuencias de aparición de los distintos tipos celulares de la retina. V, célula ventricular; G, célula ganglionar; A, célula amacrina; H, célula horizontal; C, fotorreceptor de tipo cono; B, célula bipolar; B₁, fotorreceptor de tipo bastón; M, célula de Müller.

Las células amacrinas aparecen como células pequeñas y redondeadas en el margen proximal de la capa nuclear interna. Paralelamente, la presencia de una población de células grandes distribuidas en la capa distal de neuroblastos indica la aparición de las células horizontales, seguidas de los conos. El estado inicial del desarrollo de la capa sináptica externa se evidencia por el crecimiento de dendritas de las células horizontales que contactan con los axones de los conos. Más tarde existe un aumento en la dimensión y complejidad de la capa nuclear interna y de la sináptica interna debido a la aparición de las células bipolares.

Posteriormente los somas de las células de Müller empiezan a distinguirse en la capa nuclear interna, las cuales extienden sus procesos a través del grosor de la retina y lateralmente en las capas nuclear externa e interna. Paralelamente, los bastones empiezan a migrar hacia su destino final, siendo las últimas en alcanzar la diferenciación.

Los procesos que llevan a la formación general de la retina se han establecido pero no así los eventos moleculares que llevan a la especificación de sus diferentes tipos celulares y capas nucleares.

Los estudios efectuados en ratones y anfibios sugieren que la especificación es directa o al final de la mitosis. En la retina de pollo se observó que las células ganglionares empiezan a diferenciarse 15 minutos después de ocurrida la mitosis, lo que sugiere que la determinación ocurre antes o durante la mitosis (Waid y McLoon, 1995).

El proceso de neurogénesis involucra una serie de eventos coordinados, espacial y temporalmente, tales como la proliferación de células en diferentes regiones, migración, diferenciación, formación de conexiones específicas con otras células y la muerte celular. Los resultados obtenidos en células en cultivo indican que las células de la retina son predeterminadas en el embrión de pollo de 8 días. Las células aisladas de la retina de embriones de pollo de 8 días desarrollan en cultivo principalmente neuronas, pero cuando derivan de embriones de 6 días, los fotorreceptores representan el 70% de las células diferenciadas (Adler y Hatlee, 1989). Estudios de incorporación de timidina radioactiva y autorradiografía de las células cultivadas provenientes de embriones de pollo de 6 - 10 días, sugieren que las células postmitóticas que migran de la membrana limitante externa hacia la retina interna se desarrollan como neuronas y las que no migran se desarrollan como fotorreceptores; aparentemente porque son expuestas a señales reguladoras dependiendo de la posición que presenten (Adler y Hatlee, 1989).

Turner y Cepko (1987) y Wetts y Fraser (1988) marcando *in vivo* células de la copa óptica con retrovirus y partículas fluorescentes respectivamente, demostraron que la determinación del tipo celular ocurre tardíamente en el desarrollo de la retina y que un solo progenitor puede generar diversos tipos celulares. Estudios similares en la retina de ratón (Fields - Berry, *et al.*, 1992), utilizando una doble infección con retrovirus, demostraron que el 1.2% de las clonas resultaron de la infección de más de un virus, lo que apoya la existencia de un progenitor pluripotente.

Estos resultados se han reconciliado con la proposición de que las células postmitóticas responden a señales en el microambiente que las llevan a la diferenciación. Así, células que se diferencian tempranamente pueden proveer señales para la diferenciación de las siguientes células o subsecuentes tipos celulares a través de interacciones inductivas o inhibitorias, como ocurre en el desarrollo de los fotorreceptores de la retina de *Drosophila* (Laurence y Green, 1979).

Los diferentes tipos de fotorreceptores forman en la retina un patrón de mosaico característico, los mecanismos que controlan la especificación y regulan la densidad celular que forman el mosaico, se desconocen. Aunque en términos generales los conos se desarrollan primero que los bastones, en el pez cebra se forman primero los bastones. Este hecho es consistente con la dependencia de los bastones en la maduración de los conos en la retina de peces; y sugiere una interacción lateral inductiva entre los diferentes tipos de fotorreceptores que lleva a la formación de un patrón de arreglo característico (Raymond *et al.*, 1995; Cameron y Easter, 1995).

De manera semejante, estudios realizados en el gato y el mono indican que el desarrollo de células ganglionares es influenciado por la densidad y distribución de las propias células ganglionares. La reducción en la densidad de células ganglionares en la retina inmadura interfiere con el desarrollo normal de la fóvea; la dirección y cantidad de las dendritas de estas células está determinada por la distribución de células vecinas (Harman *et al.*, 1992).

Aparentemente la laminación y diferenciación de las células son eventos independientes ya que por ejemplo las células amacrinas y ganglionares inician su diferenciación antes de que se formen las diferentes capas (Barnstable, 1987). Así, se tiene evidencia experimental que sugiere la existencia de por lo menos un factor soluble, que *in vitro*, aumenta el número de células que se diferencian en bastones (Altshuler y Cepko, 1992).

Desarrollo de circuitos neuronales

El patrón de actividad neuronal se conoce que requiere de la formación de sitios precisos de conexiones en el sistema nervioso en desarrollo. En el sistema visual el disparo de las células

ganglionares provee señales dependientes de la actividad de todas las células de la retina. En la retina adulta, la información fluye en sentido vertical, de los fotorreceptores a las interneuronas y de estas a las células ganglionares. Durante el desarrollo del sistema visual estas conexiones deben efectuarse por el disparo espontáneo de las células ganglionares ya que los fotorreceptores aún no son funcionales (Maffei y Galli-Resta, 1990). Antes de la aparición de las células fotorreceptoras ya existen en la retina redes de conexión definidas funcionalmente; estas redes son espontáneamente activas e involucran vías horizontales. La inyección de amarillo lucifer y neurobiotina (moléculas que pasan a través de las uniones comunicantes), ha identificado la presencia de una constelación de células amacrinas y ganglionares conectadas entre sí en estadios tempranos del desarrollo (Penn *et al.*, 1994). Asimismo, por medio de registro óptico usando el compuesto Fura-2, sensible al calcio, se encontró que grupos de células ganglionares y amacrinas llevan a cabo oscilaciones sincrónicas de la concentración de calcio. Estas oscilaciones están altamente correlacionadas entre subgrupos de células vecinas y se extienden tangencialmente en forma de onda a través de la retina. Estos resultados indican que durante el desarrollo de los circuitos de la retina el patrón inicial de la función neural ocurre en un dominio horizontal que parece deberse a una liberación local de neurotransmisores, en conjunción con la presencia de uniones comunicantes (Wong *et al.*, 1995).

De acuerdo con estos resultados, se ha reportado la síntesis y liberación del neurotransmisor amino butírico (GABA) en etapas tempranas del desarrollo de la retina del conejo. Messersmith *et al.*, (1989), demostraron que las células horizontales de la retina de conejo de 5 días de edad, son GABAérgicas y que están acopladas entre sí y con los conos estableciendo la capa sináptica externa.

Adicional a las características morfológicas que involucran la formación de sinapsis se ha estudiado durante el desarrollo la aparición de actividades relacionadas con la transmisión química que ocurre en la retina adulta, tales como: el contenido del supuesto neurotransmisor, la presencia de mecanismos relacionados con la síntesis, acumulación, liberación y presencia de receptores de diferentes neurotransmisores (Salceda, 1991). Estos estudios demuestran que la maduración neuroquímica ocurre en estadios tempranos, una vez que se

desarrollan las diferentes capas aún antes de que ocurra la sinaptogénesis.

Paralelo al establecimiento de las conexiones sinápticas ocurre la muerte neuronal, lo que sugiere que la competencia por sitios sinápticos puede ser la causa de la muerte celular (Lam y Shatz, 1991).

Desarrollo de las proyecciones retino-tectales

La función de la retina es presentar al cerebro una representación del mundo exterior en forma tal que el campo visual de cada ojo se representa en el núcleo geniculado lateral y tectum.

Un misterio central del desarrollo del cerebro es la manera en que ocurre la conexión, punto a punto, de millones de neuronas. En el desarrollo del sistema visual, los axones de las células ganglionares de los dos ojos, se intersectan bajo el diencefalo formando el quiasma óptico. De éste, algunos axones continúan en la misma dirección mientras que otros cambian de dirección e inervan el lado opuesto del cerebro (Udin y Fawcett, 1988).

Las células ganglionares de la retina empiezan a enviar sus axones hacia el tectum al tercer día de desarrollo; los axones de células ganglionares temporales proyectan al tectum anterior y las de la región nasal al tectum posterior (Pollerberg y Eickholt, 1995).

Sperry (1963) cortó el nervio óptico de anfibios, lo rotó 180° y colocó nuevamente en su lugar. El nervio óptico se regeneró y la visión se recuperó, sin embargo el mundo visual del animal se invirtió de izquierda a derecha; si una mosca se encuentra arriba y a la derecha el anfibio ataca abajo y a la izquierda. Estos resultados indican que una vez especificada la posición de las células ganglionares y del tectum las células se identifican aún si se localizan en otra zona. Efectivamente si durante el desarrollo el tectum se gira 180°, el mapa de la retina es igualmente invertido.

Basado en estos experimentos, Sperry predijo que las células de la retina adquieren información de posición por su localización relativa a dos gradientes ortogonales: antero-posterior y dorso-ventral. Estudios recientes han presentado evidencia de que existe una señal de posición. El patrón de expresión de varias enzimas y factores

de transcripción sugiere que son candidatos reguladores en la determinación de la posición de las células en la retina. Así, la localización de la aldehído deshidrogenasa está restringida a la retina dorsal del ojo del ratón adulto y del embrión (Kaprielian y Patterson (1994). Una variedad de datos experimentales indican que la información que guía a las neuronas de la retina a su blanco correcto, reside en el reconocimiento de moléculas de superficie de tipo de adhesión, tales como las moléculas de adhesión en neuronas (N-CAM) y la cognina (Barnstable, 1987).

De manera semejante, se ha observado que las células ganglionares y tectales en cultivo tienen la capacidad de reconocer sus células blanco de otras células. Células disociadas de la retina ventral presentan adhesividad específica a células del tectum dorsal y células de la retina dorsal se adhieren preferentemente a células del tectum ventral (Kaprielian y Patterson, 1994) (Fig. 4).

Factores reguladores

Desde hace más de un siglo se ha reconocido que algunas características hereditarias llevan a la conversión de una parte del cuerpo en otra. Estas mutaciones homeóticas ocurren en todos los organismos animales y plantas. En animales, estas mutaciones se han estudiado ampliamente en *Drosophila*, en donde pueden causar la interconversión de partes homólogas del cuerpo, por ejemplo patas en lugar de antenas. Una sola mutación en estos genes puede causar cambios en la expresión de miles de genes requeridos para formar una pata o segmento corporal (Gehring, 1985). Estos genes mantienen una región de 180 nucleótidos en los que existe una notable conservación de la secuencia del ADN a la que se le denomina "homeobox". La identificación de estos "homeobox" como una secuencia conservada en genes que controlan el desarrollo hace posible aislar genes con estas secuencias en otras especies. La secuencia ha sido suficientemente conservada durante la evolución lo que permite el reconocimiento de muchos homeobox de *Drosophila* en vertebrados (Coffman *et al.*, 1990).

Diferentes grupos de genes homeobox parecen contribuir a la formación de las partes anteriores del cerebro, los que son de particular importancia para la formación del ojo (Beebe, 1994).

CÉLULAS DEL TECTUM

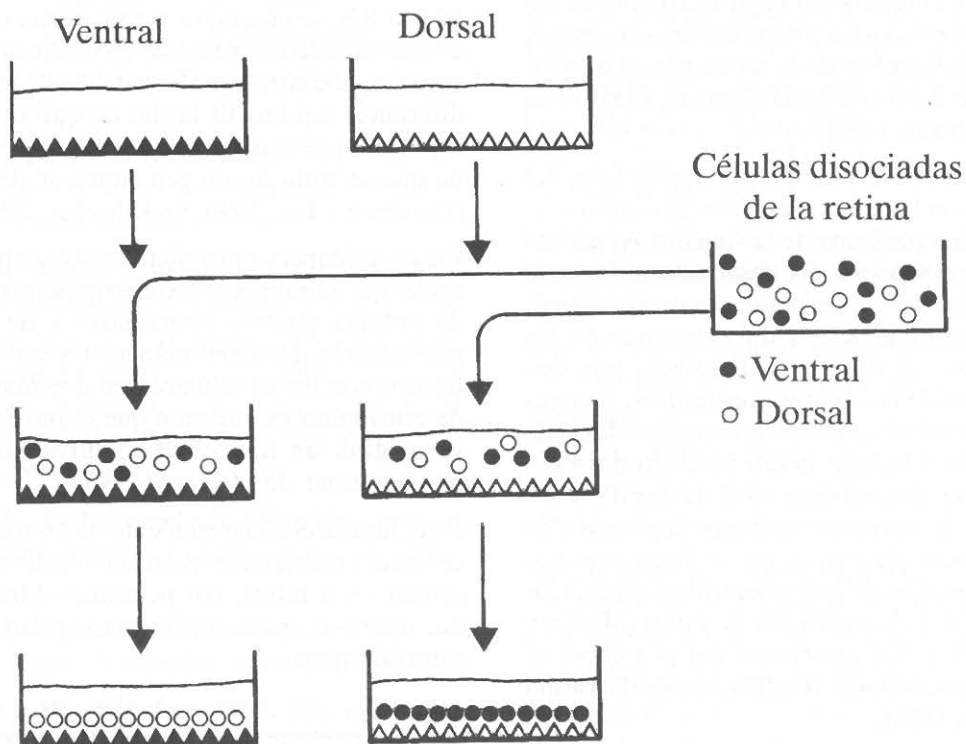


Figura 4. Células disociadas de la retina se adhieren preferencialmente a células del tectum óptico en cultivo. Células de la retina ventral se adhieren preferencialmente a células del tectum óptico dorsal y viceversa.

Los ARNm de estos genes homeobox son expresados tempranamente durante el desarrollo del ojo y su distribución frecuentemente define la localización específica de estructuras oculares. Mutaciones en un gen homeobox causa pérdida de ciertas estructuras oculares o ausencia completa del ojo. Así el gen "eyeless" de *Drosophila* es homólogo del gene Pax-6 que causa el fenotipo del ojo pequeño en roedores (Hill *et al.*, 1991) y su homólogo AN que produce aniridia en el hombre (Ton *et al.*, 1991). La expresión dirigida del ADN complementario del gen «eyeless» en distintos discos imagales de *Drosophila* induce la formación de ojos ectópicos, indicando que éste es un gen maestro que regula varios genes. Estos resultados son semejantes a los clásicos de Spemann en que se indujo la formación de ojos ectópicos al transplantar primordios de la copa óptica a sitios ectópicos de embriones de anfibios. Los ojos de los vertebrados e insectos son muy diferentes y se piensa que evolucionaron indepen-

dientemente; los resultados del grupo de Gehring sugieren que compartieron un ancestro común que divergió en la evolución y su desarrollo es gobernado por el gen maestro (Halder *et al.*, 1995).

Aunque la participación de distintos genes homeobox en el desarrollo del ojo de la retina de vertebrados se ha demostrado, se requiere de información sobre el establecimiento y regulación de la expresión de los mismos.

En este sentido, moléculas solubles e insolubles parecen existir como señales que participan en la inducción del desarrollo general del ojo. Así se ha demostrado que las integrinas pueden mediar la interacción célula - matriz extracelular en la morfogénesis temprana del ojo (Svennevik y Linser, 1993). Otras proteínas de la matriz extracelular como la fibronectina y laminina inducen en anfibios la transdiferenciación del EPR en retina neural.

Los factores de crecimiento son una de las familias de moléculas que afectan la sobrevivencia y maduración de las células. Entre estos, el factor de crecimiento fibroblástico básico estimula la expresión de opsina en los fotorreceptores en cultivo, e induce regeneración de la retina neural a partir de células del EPR (Park y Hollenberg, 1989, 1991; Hicks y Courtois, 1992).

Otro grupo de moléculas que son reguladoras del desarrollo, son los retinoides, éstos al igual que el ácido retinoico (derivado de la vitamina A) participan en varios aspectos del desarrollo incluyendo especificación del eje corporal, desarrollo neural, regulan la morfogénesis y diferenciación en los vertebrados; su efecto es mediado por dos superfamilias de receptores a esteroides, factores de transcripción y receptores a retinoides (Eichele, 1989; Maden y Holder 1992). El ácido retinoico puede causar alteraciones en el desarrollo y regeneración de diversas estructuras, duplicación de dígitos y cáncer. Se conoce que el ácido retinoico altera la expresión de genes homeobox específicos en anfibios, aves y embriones de ratón (Maden y Holder, 1992). En embriones del pez cebra el ácido retinoico causó duplicación de la retina (Hyatt *et al.*, 1992).

Las células del EPR son capaces de inducir diferenciación de células de la retina y su correcta posición. Células aisladas de la retina crecen *in vitro* y forman una estructura esférica en la que los distintos tipos celulares se agregan constituyendo una roseta, pero su localización es invertida; es decir los fotorreceptores se encuentran en la región interna y las células ganglionares en la zona externa. Cuando el cultivo se lleva a cabo en presencia de células del EPR las células adquieren su posición correcta y forman retinoesferoides con una estratificación de las células semejante a la que ocurre *in vivo* (Vollmer *et al.*, 1984).

Los resultados anteriormente descritos indican que la diferenciación de los tipos celulares de la retina y su correcta localización y orientación dependen de una combinación de factores microambientales y genéticos. La alteración de estos mecanismos reguladores puede llevar a anomalías en la estructura y función de la retina y por ende del proceso visual.

El retinoblastoma, de origen neuroectodérmico, es el neoplasma intraocular más común que se presenta en niños. Se asume que la tumorigénesis se

inicia por la inactivación de ambos alelos del gen regulador RB, localizado en el cromosoma 13q14 (Goodrich y Lee, 1990).

El gen RB, se encuentra frecuentemente mutado en una variedad de cánceres en el humano, lo que sugiere que contribuye al desarrollo de tumores en diferentes tejidos. El hecho de que este gen se exprese en células normales llevó a la conclusión de que se trata de un gen supresor de tumores (Goodrich y Lee, 1990; Szekely *et al.*, 1992).

Existe evidencia morfológica y bioquímica que apoya que el retinoblastoma expresa propiedades de células gliales, neuronales y de epitelio pigmentario. De igual manera los estudios realizados con líneas celulares establecidas a partir de estos tumores, sugieren que el retinoblastoma se origina de una célula neuroectodérmica pluripotencial (Kyritsis *et al.*, 1984).

En el futuro, el esclarecimiento de los mecanismos celulares y moleculares que regulan la diferenciación celular en la retina, nos permitirá el tratamiento de diversos padecimientos, incluyendo el retinoblastoma.

Agradecimientos

Durante el desarrollo de este trabajo el autor recibió apoyo del CONACyT proyecto 400346-5-414 ON

Literatura citada

- Adler, R., M. Hatlee, 1989.** Plasticity and differentiation of embryonic retinal cells after terminal mitosis. *Science*, 243:391-393.
- Altshuler, D.M., C.L. Cepko, 1992.** A temporally regulated, diffusible activity is required for rod photoreceptor development *in vitro*. *Development*, 114:947-957.
- Barnstable, C., 1980.** Monoclonal antibodies which recognize different cell types in the rat retina. *Nature*, 286:231-235.
- Barnstable, C.J., 1987.** A molecular view of vertebrate retinal development. *Molecular Neurobiol.*, 1:9-46.
- Beebe, D.C., 1994.** Homeobox genes and vertebrate eye development. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 35:2897-2900.

- Cameron, D.A., S.S. Easter, 1995.** Cone photoreceptor regeneration in adult fish retina: Phenotypic determination and mosaic pattern formation. *J. Neurosci.*, 15:2255-2271.
- Coffman, C., W. Harris, C. Kintner, 1990.** Xotch, the *Xenopus* homolog of *Drosophila* Notch. *Science*, 249:1438-1441.
- Dowling, J.E., 1992.** *Neurons and Networks. An introduction to neuroscience.* Harvard University Press, Cambridge England, 407 p.
- Eichele, G., 1989.** Retinoids and vertebrate limb pattern formation. *Trends Genet.*, 5:246-251.
- Fields-Berry, S.C., A.L. Halliday, C.L. Cepko, 1992.** A recombinant retrovirus encoding alkaline phosphatase confirms clonal boundary assignment in lineage analysis of murine retina, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 89:693-697.
- Finlay, B.L., D.R. Sengelaub, 1989.** *Development of the vertebrate retina.* Plenum Press, New York, 287 p.
- Gehring, W.J. 1985.** The homeobox: A key to the understanding of development? *Cell*, 40:3-5.
- Goodrich E.W., W.H. Lee, 1990.** The molecular genetics of retinoblastoma. pp 530-554 *In: Cancer Survey 9.* Imperial Cancer Research Fund, 620 p.
- Halder, G., P. Callaerts, W.J. Gehring, 1995.** Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *Science*, 267:1788-1792.
- Harman, A.M., K.J. Sanderson, L.D. Beazley, 1992.** Biphasic retinal neurogenesis in the brush-tailed opossum, *Trichosurus vulpecula*: further evidence for the mechanisms involved in formation of ganglion cell density gradients. *J. Comp. Neurol.*, 325:595-606.
- Hicks, D., Y. Courtois, 1992.** Fibroblast growth factor stimulates photoreceptor differentiation *in vitro*. *J. Neurosci.*, 12:2022-2033.
- Hill, R.E., J. Favor, B.L. Hogan, C.C. Ton, G.F. Saunders, I.M. Hanson, J. Prosser, T. Jordan, N.D. Hastie, V. van Heyningen 1991.** Mouse small eye results from mutations in a paired-like homeobox-containing gene. *Nature*, 354:522-525.
- Hyatt, G.A., E.A. Schmitt, N.R. Marsh-Armstrong, J.E. Dowling, 1992.** Retinoic acid-induced duplication of the zebrafish retina. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 89:8293-8297.
- Kaprielian, Z., P.H. Patterson, 1994.** The molecular basis of retinotectal topography. *BioEssays*, 16:1-11.
- Kyritsis, A.P., M. Tsokos, T.J. Triche, G.J. Chader, 1984.** Retinoblastoma origin from a primitive neuroectodermal cell? *Nature*, 307:471-473.
- Lam D.M.K., C.J. Shatz, 1991.** *Development of the Visual System.* MIT Press, Cambridge Massachusetts, 299 p.
- Lawrence, P.A., S.M. Green, 1979.** Cell lineage in the developing retina of *Drosophila*. *Dev. Biol.*, 71:142-152.
- Maden, M., N. Holder, 1992.** Retinoic acid and development of the central nervous system. *BioEssays*, 14:431-438.
- Maffei, L., L. Galli-Resta, 1990.** Correlation in the discharges of neighboring rat retinal ganglion cells during prenatal life. *Proc. Nat. Acad.*, 87:2861-2864.
- Messersmith, E., V. Blanchard, D. Redburn, 1989.** The effect of GABA on retinal maturation and synaptogenesis *in vivo*. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 15:182.
- Park, C.M., M.J. Hollenberg, 1989.** Basic fibroblast growth factor induces retinal degeneration *in vivo*. *Dev. Biol.*, 134:201-205.
- Park, C.M., M.J. Hollenberg, 1991.** Induction of retinal regeneration *in vivo* by growth factors. *Dev. Biol.*, 148:322-333.
- Penn, A.A., R.O.L. Wong, C.J. Shatz, 1994.** Neuronal coupling in the developing mammalian retina. *J. Neurosci.*, 14:3805-3815.
- Pollerberg, G.E., B.J. Eickholt, 1995.** Target preference of embryonic retina cells and retinal cell lines in cell autonomous, position-specific, early determined and heritable. *Eu.J. Neurosci.*, 7:1431-1441.
- Raymond, P.A., L.K. Barthel, G.A Curran, 1995.** Developmental patterning of rod and cone photoreceptors in embryonic zebra fish. *J. Comp. Neurol.*, 359:537-550.
- Salceda, R., 1991.** Ontogenia del sistema visual pp 281-296, *In: Ontogenia Neural* (M. Salas, ed). Soc. Mex. Ciencias Fisiológicas y Univ. Nac. Aut. de México, 396 p.
- Sidman, R.L., 1961.** Histogenesis of mouse retina studied with thymidine-H³ pp 487-506, *In: The*

structure of the eye (G. Smelser, ed.). New York Academy Press, New York., 730 p.

Sperry, R.W., 1963. Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 50:703-710.

Svennevik, E., P.J. Linser, 1993. The inhibitory effect of integrin antibodies and the RGD tripeptide on early eye development. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 34:1774-1784.

Szekely, L., W.Q. Jiang, F. Bulic-Jakus, A. Rosen, N. Ringertz, G. Klein, K.G. Wiman, 1992. Cell type and differentiation dependent heterogeneity in retinoblastoma protein expression in SCID mouse fetuses. *Cell Growth and Differ.*, 3:149-156.

Ton, C.C., H. Hirvonen, H. Miwa, M.M. Weit, P. Monaghan, T. Jordan, V. van Heyningen, N.D. Hastie, H. Meijers-Heijboer, M. Drechsler, B. Royer-Pokova, F. Collins, A. Swaroop, L.C. Strong, G.F. Saunders, 1991. Positional cloning and characterization of a paired box-and homeobox-

containing gene from the aniridia region. *Cell*, 67:1059-1074.

Turner, D.L., C.L., Cepko, 1987. A common progenitor for neurons and glia persists in rat retina late in development. *Nature*, 328:131-136.

Udin, S.B., J.W. Fawcett, 1988. Formation of topographic maps. *Ann. Rev. Neurosci.*, 11:289-327.

Vollmer, G., P.G. Layer, A. Gierer, 1984. Reaggregation of embryonic chick retinal cells: pigmented epithelial cells induce a high order of stratification. *Neurosci. Lett.*, 48:191-196.

Waid, D.K., S.C. McLoon, 1995. Immediate differentiation of ganglion cells following mitosis in the developing retina. *Neuron*, 14:117-124.

Wetts, R., S.E. Fraser, 1988. Multipotent precursors can give rise to all major cell types of the frog retina. *Science*, 239:1142-1145.

Wong, R.O.L., Chernjavsky, S.J. Smith, C.J. Shatz, 1995. Early functional neural networks in the developing retina. *Nature*, 374:716-718.