



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Maestría en Ciencias (Neurobiología)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

CONTRIBUCIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES Y DEL EPITELIO
PIGMENTARIO RETINIANO EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA
RETINA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
MARTÍN EDUARDO ZAVALA MEDINA

TUTOR PRINCIPAL:
DRA. STÉPHANIE THEBAULT
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DR. GERARDO ROJAS PILONI
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
DR. FERNANDO PEÑA ORTEGA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

MÉXICO NOVIEMBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Jurado de Examen certificamos que la tesis elaborada por: **Martín Eduardo Zavala Medina**, cuyo título es: “**Contribución de las células gliales y del epitelio pigmentario retiniano en la fisiopatología de la retina**” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de **Maestría en Ciencias (Neurobiología)** y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la **División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México**.

Firma

Presidente

Dra. María Teresa Morales Guzmán

Secretario (Tutor)

Dra. Stéphanie Colette Thebault

Vocal

Dr. Lenin David Ochoa de la Paz

Suplente

Dr. José Fernando Peña Ortega

Suplente

Dr. Daniel Reyes Haro

Aprobado por el Comité Académico

Coordinador del Programa

Dra. María Teresa Morales Guzmán

Resumen

CONTRIBUCIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES Y DEL EPITELIO PIGMENTARIO RETINIANO EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA RETINA

La retina es un tejido constituido por dos capas que comprenden: una externa que es el epitelio pigmentario retiniano (EPR), y una interna, la retina neural. A su vez, la retina neural está constituida por una red que abarca una capa fotosensible y las conexiones nerviosas que convierten la señal luminosa en impulsos eléctricos, los cuales son transmitidos mediante el nervio óptico a la corteza visual. La retina neural posee además tres tipos de células gliales, las células de Müller, los astrocitos y la microglía. La integridad de cada célula retiniana es esencial para el funcionamiento de la retina y el proceso de la visión. Son muchos los padecimientos que afectan a la retina. Si bien cada uno implica una serie de cambios celulares y moleculares específicos, estudios en modelos animales muestran que existen denominadores comunes como la degeneración neuronal, la de-diferenciación parcial de las células del EPR, su proliferación y migración hacia el espacio subretiniano, la proliferación de las células gliales retinianas y la hipertrofia de las células de Müller. Además de contribuir a la pérdida progresiva de las células retinianas, las células gliales retinianas y del EPR pueden también participar en la reparación y la regeneración de la retina. En el presente trabajo, se revisaron los principales aspectos fisiológicos de la glía retiniana y del EPR en conjunto con un enfoque en su participación en las patologías retinianas. Las evidencias que sustentaron esta monografía están documentadas en estudios en su mayoría realizados en mamíferos.

Summary

CONTRIBUTION OF GLIAL CELLS AND RETINAL PIGMENT EPITHELIUM IN THE RETINAL PHYSIOPATHOLOGY

The retina consists of two layers which include: one external known as the retinal pigment epithelium (RPE) and the internal, the neural retina. The neural retina is formed by a neuronal network that includes the photosensitive layer and the neural connections that transform light into electrical impulses, which are transmitted through the optic nerve to the visual cortex. Three types of glial cells, Müller cells, astrocytes and microglia are also present in the neural retina. The integrity of each retinal cell is essential for retinal function and vision. The retina can be affected by many diseases with a wide number of specific molecular and cellular changes. Nevertheless, animal experiments show common denominators for retinal disorders, including degeneration of neuronal cells, partial dedifferentiation of RPE cells, proliferation and migration of RPE cells into the subretinal space, proliferation of all glial cell types within the retina and hypertrophy of Müller cells. In addition to contribute to the progressive loss of retinal cells, both RPE and retinal glial cells also participate in repair and regeneration of the retina. The present work reviewed the main physiological functions of retinal glia and RPE and their involvement in retinal pathologies. Such studies that support this work come from mammal experimental models.

Dedicatorias:

- A todas las personas importantes y especiales de mi familia que ahí andan todo el tiempo pendientes de mí

- A Martín Zavala Díaz por ser apoyo, motivación y ejemplo incondicional...

- A la enzima PAMK cuya sola presencia en mí ha sido y seguirá siendo sin importar lo que pase en esta u otra vida, un motor para seguir feliz...

- Para Pingi con especial dedicatoria por ser compañera constante en absolutamente TODOS los momentos en este trabajo y etapa...

Auch wenn Du mich nicht siecht
Wenn ich hier -
Vor Dir stehe
Dich erlebe
Zu Dir falle
Dich erhebe
Dich anbete

Nur für Dich...

T.W. (2005)

Agradecimientos

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Endocrinología Molecular del Departamento de Neurobiología Celular y Molecular del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), bajo la dirección de la Dra. Stéphanie Thebault.

Agradecimientos:

Al Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría.

Agradecimientos al:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico

Becario no. **411625**

A la Dirección de Estudios de Posgrado de la UNAM

Becario no. 303726971

A la Dra. María del Carmen Clapp Jiménez Labora por haberme permitido ingresar a su grupo de trabajo, y a la Dra. Stéphanie Thebault por el desarrollo del proyecto y la dirección del trabajo.

Reconozco el apoyo técnico del M. en C. Gabriel Nava, el Nut. Fernando López Barrera; de los laboratoristas Daniel Mondragón Huerta y Antonio Prado Galán que ayudaron en gran parte para la realización del proyecto.

Índice

Resumen.....	iii
Summary.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
I. Aspectos generales de la anatomía y fisiología ocular y retiniana.....	11
I.1. El ojo.....	11
I.1.1. Las cámaras: anterior, posterior y vítrea.....	11
I.1.2. Las tunicas oculares: fibrosa/externa, vascular/media y neural/interna...	12
I.1.2.a. La túnica fibrosa: córnea y esclera.....	12
I.1.2.b. La túnica vascular: iris, cuerpos ciliares y coroides.....	13
I.1.2.c. La túnica neural: retina (estructura macroscópica).....	14
I.2. La retina.....	16
I.2.1. Origen embriológico.....	16
I.2.2. Estructura microscópica de la retina.....	17
I.2.3. Tipos celulares residentes de la retina.....	18
I.2.3.a. Neuronas.....	18
I.2.3.a.1. Células fotorreceptoras: conos y bastones.....	19
I.2.3.a.2. Células bipolares.....	20
I.2.3.a.3. Células horizontales.....	21
I.2.3.a.4. Células amacrinas.....	22
I.2.3.a.5. Células ganglionares.....	23

I.2.3.b. Células gliales.....	24
I.2.3.b.1 Glía de Müller.....	25
I.2.3.b.2. Astrocitos.....	26
I.2.3.b.3. Microglía.....	26
I.2.3.c. Epitelio pigmentario retiniano.....	27
I.2.3.d. Células endoteliales.....	28
II. La fisiología de la retina.....	29
II.1. Captación de la luz y fototransducción.....	29
II.2. Procesamiento de la información visual en la retina después de la fototransducción.....	33
II.3. Aferencias de la retina hacia la corteza visual primaria.....	35
II.4. Contribución de la glía y el epitelio pigmentario en la fisiología retiniana.....	36
II.4.1. Células de Müller.....	36
II.4.2. Astrocitos.....	46
II.4.3. Microglía.....	52
II.4.4. Epitelio pigmentario retiniano.....	54
III. Papel de la glía retiniana y del epitelio pigmentario retiniano en condiciones patológicas.....	61
III.1. Patologías de la retina.....	61
III.2. La glía en la patología de la retina.....	65
III.3. El epitelio pigmentario retiniano en la patología de la retina.....	78
Conclusiones.....	85
Referencias.....	87
Lista de figuras.....	121
Abreviaturas.....	124

Introducción

La retina es un tejido que responde a la luz y es en ella donde se inicia como tal el proceso de la visión en los mamíferos.

La retina de mamíferos posee 4 tipos celulares que incluyen células neuronales (de tipo fotorreceptor, bipolar, horizontal, amacrina y ganglionar), gliales (de Müller, astrocitos y microglía), endoteliales y epiteliales (EPR), cuya actividad en conjunto, permite la fototransducción y la generación de potenciales de acción hacia núcleos talámicos y la corteza visual notablemente (Kandel et al., 2000; Wässle y Boycott, 1991). Se consideró por mucho tiempo que la principal célula glial de la retina, la célula de Müller (GM), era primordialmente una célula de sostén en la retina debido a su estructura radial. En cuanto al EPR, su integridad demostró ser esencial para la visión por ser parte de la barrera hematoretiniana externa. Este epitelio, cumple con funciones tan importantes como el transporte de nutrientes, iones y agua; la captación de la vitamina A circulante, su almacenamiento en su forma esterificada y su transformación en retinol, para después transferirlo hacia los fotorreceptores; la eliminación del material de desecho acumulado a nivel de los fotorreceptores; la absorción de luz y la protección contra la fotooxidación, entre otras (Bok, 1993; Sparrow et al., 2010; Strauss, 2005). En las últimas décadas, si bien se confirmó el papel fundamental del EPR en la función retiniana, también se evidenció a la GM como componente indispensable para el mantenimiento de la homeostasis retiniana (Bringmann et al., 2009; Newman y Reichenbach, 1996a) (**Figura 1**). Asimismo se generó gran cantidad de evidencia acerca de la participación de la GM y del EPR en casi todas las patologías de la retina (Bringmann et al., 2006; Frayer, 1966; Grosche et al., 1995; Huxlin et al., 1995; Sparrow et al., 2010; Zayit-Soudry et al., 1989). Notablemente, después de un daño en la retina de mamíferos, la glía y el EPR tratan de regenerar las células del EPR y las neuronas o conllevan a la formación de cicatrices no funcionales (Bringmann et al., 2006; Mata et al., 2002; Wang et al., 2011). Cabe señalar que un número considerable de investigaciones se ha abocado a comprender los mecanismos subyacentes a las respuestas de lesiones retinianas, lo cual es fundamental para desarrollar exitosamente estrategias terapéuticas para evitar la pérdida de agudeza visual o de la visión (Beatty

et al., 2000; Langmann, 2007; Lewis et al., 1995; Marmorstein et al., 1998). Debido a la dificultad de obtener tejido retiniano de pacientes con cualquiera de las patologías retinianas conocidas al día de hoy, la mayoría de los hallazgos se han obtenido en modelos animales y se ha visto que muchos de los cambios celulares y moleculares descritos en estos modelos se extrapolan con los resultados obtenidos en humanos (Huxlin et al., 1995; Peichl et al., 2000; Thoreson, 2007; Turner y Cepko, 1987). En la presente monografía se propone revisar las principales evidencias de la contribución de la glía retiniana y del EPR en la fisiopatología de la retina en mamíferos y profundizar sobre los hallazgos más recientes y/o sobresalientes en este mismo contexto.

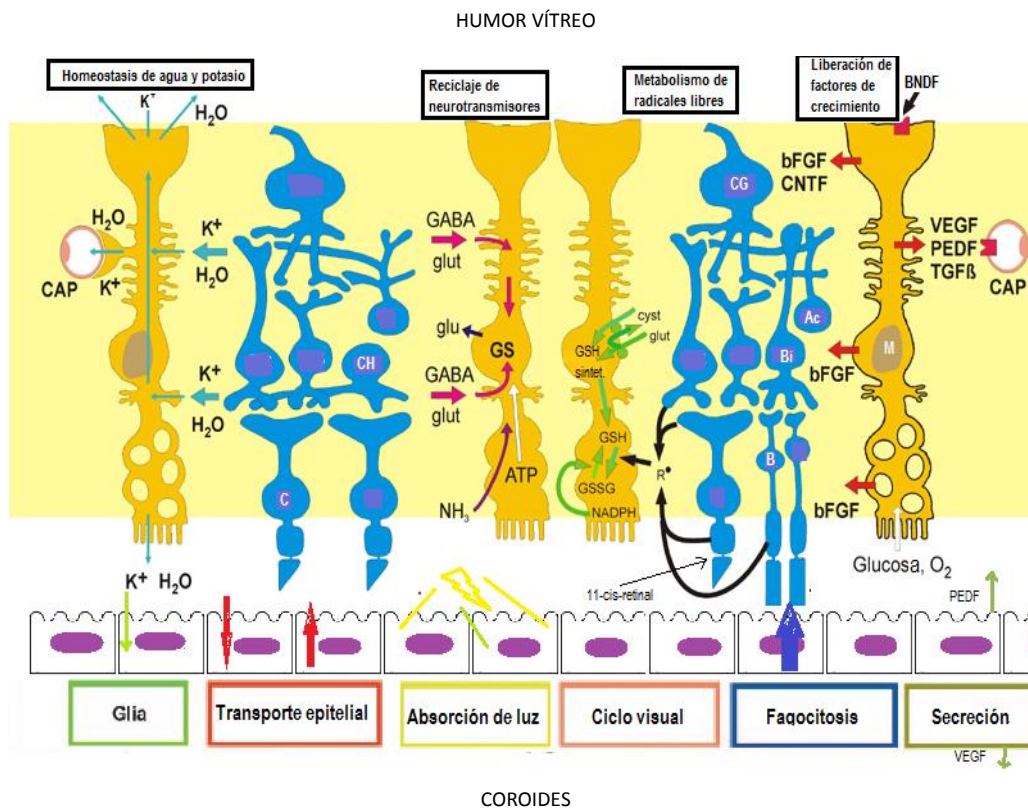


Figura 1.- Representación esquemática de la retina con sus cuatro tipos celulares donde se ilustran las principales funciones de las células de Müller y del EPR en relación con el mantenimiento de la homeostasis retiniana. B: bastones, C: conos, CH: células horizontales, Bi: células bipolares, Ac: células amacrinas, M: células de Müller, CG: células ganglionares. Modificado de (Giaume et al., 2007; Strauss, 2005).

Antecedentes

El sistema visual es el conjunto de órganos cuya actividad coordinada permite la percepción visual (Berggren, 2001; Schiller, 1986). Consta de estructuras complejas que incluyen al ojo y a las vías nerviosas que inician en la retina (neuroretina) y terminan en la corteza visual (García, 2005). Por derivar mayormente del neuroectodermo, el sistema visual forma parte del sistema nervioso central (SNC) (Kandel et al., 2000). Su función es recoger e interpretar dos imágenes en dos dimensiones en una imagen tridimensional (Jeannerod y Jacob, 2005).

El ojo capta la luz del entorno y al salir de este órgano se convierte en información electroquímica, la cual es transmitida hacia la corteza cerebral donde es procesada y analizada (Schiller, 1986). Una vez que la luz penetra al ojo, atraviesa varias estructuras (humor acuoso, cristalino y humor vítreo; entre otras) para ser enfocada en la parte posterior del ojo donde se encuentra la retina (**Figura 2**).

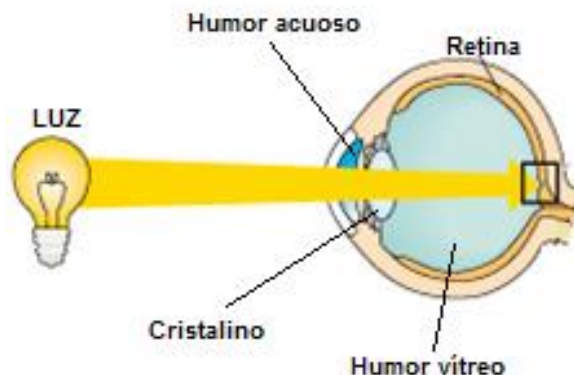


Figura 2.- Representación esquemática de un ojo humano donde se muestra a grandes rasgos la manera en que la luz es enfocada en la retina. Modificado de García-Hernández 2008

Siendo sensible a la luz, la retina es un órgano encargado de recoger, elaborar y transmitir las sensaciones visuales (Wagner et al., 1998). Convierte los fotones en señales eléctricas, las transforma para codificar parámetros como contrastes y color, entre otros, y manda la información luminosa procesada a través del nervio óptico al cerebro (Schubert, 2009). La retina se puede dividir en dos capas: una externa formada por el EPR y la membrana de Bruch y capa interna, la retina neural o neuroretina

(Piñero, 1992). La retina neural de los vertebrados y en especial los mamíferos, posee un plan de organización básico: dos capas sinápticas (capas plexiforme interna y externa) y tres capas celulares (las capas nucleares interna y externa y la capa de células ganglionares) (Sung y Chuang, 2010). En términos histológicos, la retina neural exhibe nueve capas que incluyen de la coroides hacia el humor vítreo a: la capa de los segmentos externos de los fotorreceptores (SE), la membrana limitante externa (MLE), la capa nuclear externa (CNE), la capa plexiforme externa (CPE), la capa nuclear interna (CNI), la capa plexiforme interna (CPI), la capa de células ganglionares (CCG), la capa de fibras del fascículo óptico (CFNO) y la membrana limitante interna (MLI) (García, 2005) (**Figura 3**). Dentro de las diferentes capas se pueden distinguir cuatro tipos celulares: las células neuronales, las células gliales, las células endoteliales y las células del EPR. A grosso modo, existen neuronas fotorreceptoras (conos y bastones), las cuales se encargan de la absorción de las radiaciones luminosas, y existen neuronas de segundo orden (células bipolares y ganglionares) que se encargan la transformación de la luz a impulsos bioeléctricos (eje principal de la fototransducción) (Masland, 2004). Además participan neuronas de asociación (células horizontales y amacrinas) que modulan la señal resultante de la fototransducción (American Academy of Ophthalmology, 1998).

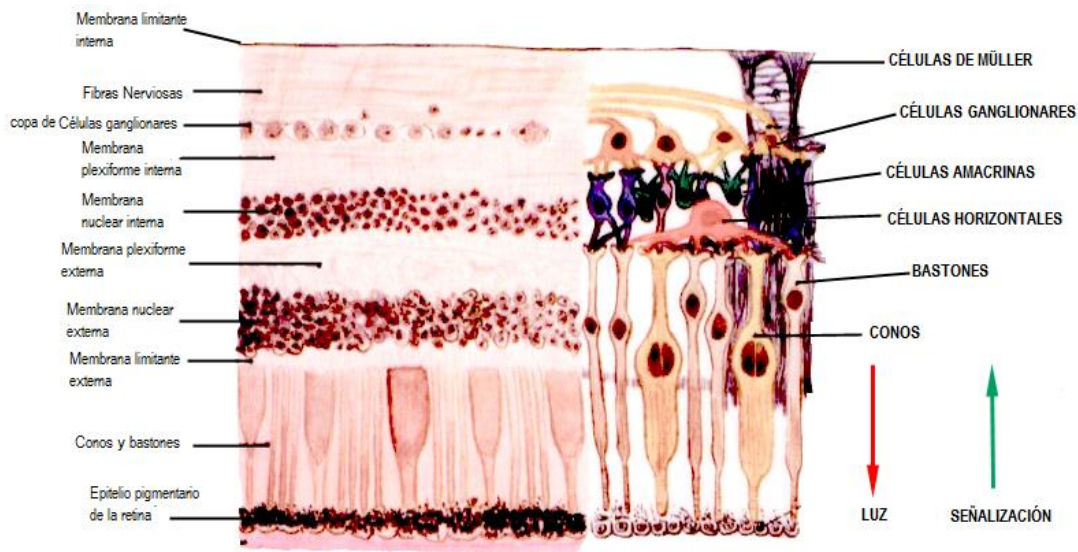


Figura 3.- Corte histológico transversal que muestra las capas que conforman la retina de cerdo. Se representaron en un esquema a las células neuronales retinianas, la GM y las células del EPR (derecha). Modificado de www.vetmed.vt.edu/education/curriculum/vm8054/eye/MULLER.HTM.

Es importante resaltar que si bien nos enfocaremos en los mamíferos, el órgano más simple para detectar la luz en los vertebrados consta de nada más dos tipos de células: las neuronas fotorreceptoras y las células pigmentadas (Lamb et al., 2007) (**Figura 4**). Ambos tipos celulares aparecen conjuntamente en cada ojo a lo largo del reino animal (insectos, moluscos a vertebrados superiores) (Lamb et al., 2007). Las interacciones entre las células pigmentadas y las células fotorreceptoras son esenciales en la función visual (Bok, 1993; Sparrow et al., 2010; Steinberg, 1985; Strauss, 2005), empezando en el desarrollo, cuando la diferenciación funcional de la capa de fotorreceptores depende de la diferenciación del EPR y viceversa (Marmorstein et al., 1998; Rizzolo, 1997). Notablemente, la interacción neuroretina-EPR involucra a la importación de derivados de la vitamina A, el metabolismo y reciclaje, los cuales se establecen antes del establecimiento de la visión y sirven como señales de diferenciación para ambos tejidos (Marmorstein et al., 1998; McCaffery et al., 1992). En conjunto, estas y otras evidencias indican que la interacción entre el EPR y los fotorreceptores es esencial para que estos últimos desarrollen la capacidad de detectar la luz y por ende, que la desregulación de dicha interacción puede llevar a alteraciones en la visión (Bok, 1993; Strauss, 2005).

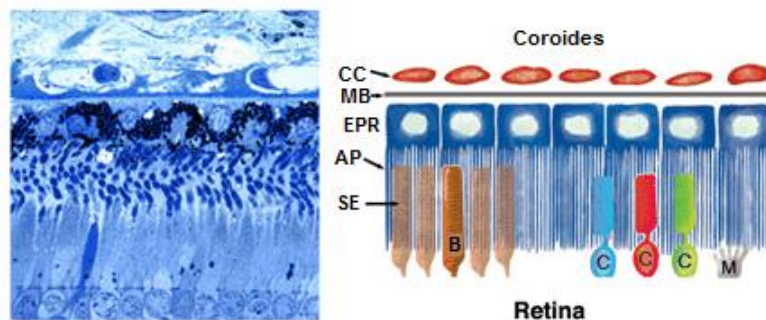


Figura 4.- Micrografía del EPR, coroides y los SE en el humano (izquierda) y esquema alineado con la micrografía (derecha) donde se representa a los coriocapilares (CC), a la membrana de Bruch (MB), al EPR, procesos apicales de las células del EPR (AP), SE de los conos (C) y bastones (B) y células de Müller (M).

Las neuronas de la retina están relacionadas funcionalmente y/o estructuralmente con la glía y el EPR (Bringmann et al., 2006; Newman y Reichenbach, 1996a; Stone y Dreher, 1987; Won et al., 2000). En la retina de mamíferos se encuentran tres tipos de células gliales: la GM, los astrogliocitos y los microglía. La GM

y los astrocitos fueron descritos por Cajal hace más de un siglo (1893). Las células de la microglía fueron descritas por primera vez por Río-Hortega en 1919.

Las GM son la principal célula glial de la retina. Forman estructuras de sostén que se extienden radialmente a lo largo de la retina, sus procesos hacia el EPR y el vítreo forman las membranas limitantes externa e interna de la retina, respectivamente. La tinción mediante el método de Golgi como lo mostró originalmente Cajal (**Figura 5**) permite una comprensión completa de la morfología de la GM.

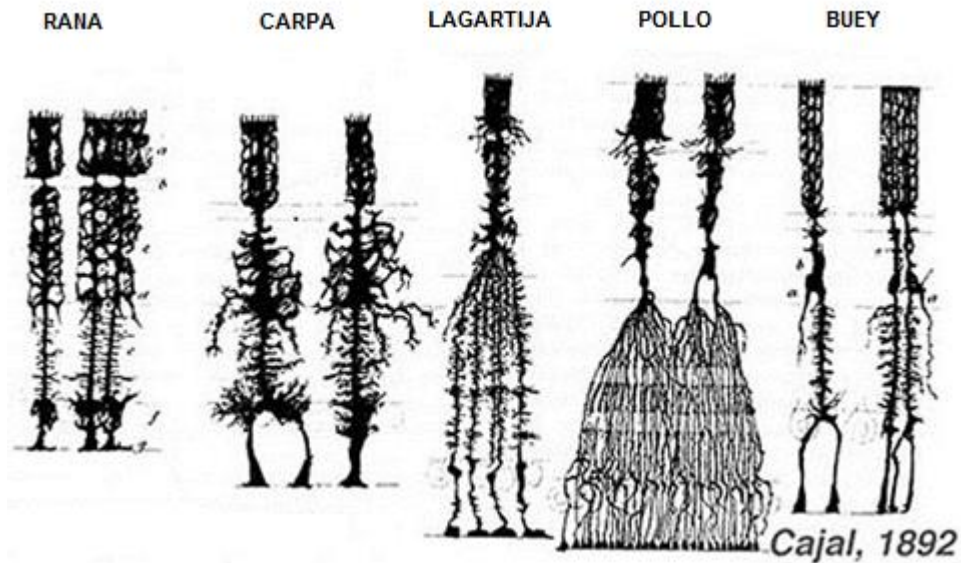


Figura 5.- Tinción de Golgi para observar las células de Müller de varias especies. Tomado de www.webvision.com

Los procesos de la célula de Müller se insinúan entre los cuerpos celulares de las neuronas localizados en las capas nucleares y envuelven grupos de procesos nerviosos en las capas plexiformes (Yang, 1998) (**Figura 6**). De hecho, los procesos neuronales entran en contacto directo solamente en botones sinápticos, donde no están recubiertos por los procesos de la GM.

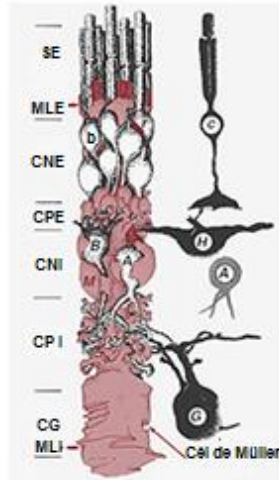


Figura 6.- Representación esquemática de la interacción entre la GM y las neuronas retinianas. b=bastones, c=conos, B=bipolares, H=horizontales, A=amacrinas, G=ganglionares. (Modificado de Reichenbach et al., 1993).

De manera notable, la GM y las neuronas retinianas provienen de una misma progenitora (Turner y Cepko, 1987), aunque al parecer en dos fases sucesivas entre sí. En la primera fase, las células progenitoras del neuroepitelio localizadas al margen del EPR se diferencian hacia conos, células horizontales y células ganglionares. Las progenitoras que nacen en una segunda fase, se diferencian hacia GM, bastones, células bipolares y células amacrinas (Reichenbach y Robinson, 1995). Posteriormente, todas las neuronas en desarrollo así como la GM migran hacia el interior de la retina a su posición definitiva. Se considera que los procesos de la GM guían en gran parte la migración neuronal y la diferenciación de las neuritas (Turner y Cepko, 1987). Además, la GM cumple con múltiples funciones que son vitales para la neuroretina y tienen una relación simbiótica con las neuronas (Reichenbach y Robinson, 1995). Otra característica esencial es que la GM contiene filamentos intermedios que son inmunoreactivos para vimentina y la proteína ácida glial fibrilar (o GFAP por sus siglas en inglés). Estos filamentos se encuentran fisiológicamente en la mitad interna de la GM (hacia el humor vítreo) (Grosche et al., 1995; Lewis et al., 1995). Sin embargo, cualquier daño en la retina promueve la producción de vimentina y GFAP, los cuales se detectan lo largo de la célula, indicando la activación de la GM (Guérin et al., 1990; Lewis et al., 1995) (**Figura 7**). Lo anterior apoya a que la interacción entre la GM y las neuronas retinianas es crucial para la adquisición de la capacidad visual y el

mantenimiento de la homeostasis retiniana, y que la GM está involucrada en condiciones patológicas (Bringmann et al., 2006; Newman y Reichenbach, 1996b; Yang, 1998).

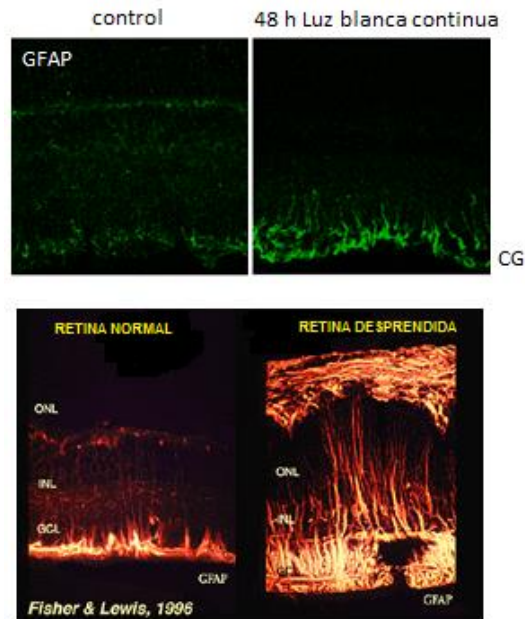


Figura 7.- Inmunotinción para GFAP en retinas de rata expuestas a luz blanca continua por 48 horas (Thebault S, comunicación personal) (arriba) o tras un desprendimiento de retina (Fisher y Lewis, 1995).

Los astrocitos no provienen del neuroepitelio retiniano (corresponde a la hoja interna de la copa óptica que dará lugar a la neuroretina madura), entran en la retina durante el desarrollo por migración a lo largo del nervio óptico en desarrollo (Morcos y Chan-Ling, 2000; Stone y Dreher, 1987). Tienen una morfología característica con un cuerpo celular aplanado y una serie de procesos radiales constituidos por filamentos intermedios positivos para GFAP (Schnitzer, 1988). Se encuentran casi exclusivamente en la CFNO de la retina, donde sus cuerpos celulares y procesos envuelven a los capilares vasculares y a las células ganglionares. Esta distribución sugiere que los astrocitos funcionan como vainas gliales para axones y capilares, y que por ende, forman parte de la barrera hemato-retiniana (Liebner et al., 2011; Reichenbach et al., 1988; Stone y Dreher, 1987). De manera comparable a la GM, los astrocitos contienen niveles abundantes de glucógeno y así suministran glucosa a las neuronas adyacentes. Además participan en la homeostasis iónica, en particular del K^+ extracelular, y en el

metabolismo de los neurotransmisores como el ácido gama-amino butírico (GABA) (Ehinger, 1977; Schnitzer, 1988).

El tercer tipo de célula glial, la microglía, es de origen mesodérmico (Morcos y Chan-Ling, 2000), lo cual lo diferencia de las células de Müller y los astrocitos. Bajo condiciones fisiológicas, la microglía se puede encontrar en todas las capas internas de la retina pero nunca en las capas externas (Chen et al., 2002). Después de algún daño retiniano, la microglía migra en la retina externa, en particular en el espacio subretiniano localizado entre el EPR y la membrana limitante externa. Adquieren características de macrófago y así contribuyen a la fagocitosis de las neuronas en degeneración (Karlstetter et al., 2010; Langmann, 2007; Thanos, 1992).

Evidencias de la existencia de múltiples circuitos neuronales en la retina se demostraron desde hace más de cuatro décadas (Dowling, 1970; Famiglietti y Kolb, 1976; Kolb et al., 2001; Linberg et al., 2001). Sin embargo, pruebas de que estos circuitos cambian y/o se remodelan en los mamíferos adultos, generalmente en respuesta a los traumas y enfermedades, se han obtenido recientemente (Abmad et al., 2011; Cornett et al., 2011; Fong y Tsilfidis, 2012; Hernández et al., 2010). Debido a que un cambio en el circuito retiniano puede significar un cambio en la visión, es importante entender estos cambios y las formas de evitarlos o repararlos. Al respecto, cabe recordar los pensamientos de Santiago Ramón y Cajal: *"...una vez terminado el desarrollo, las fuentes de crecimiento y regeneración de los axones y dendritas se terminan indiscutiblemente. En los centros de control en organismos adultos las rutas nerviosas parecen estar fijas, terminadas, incambiables. Todo puede morir, nada puede ser regenerado. Está en la ciencia del mañana cambiar, si es posible, este decreto tajante. Inspirados en grandes ideales, se debe trabajar para impedir o moderar la pérdida gradual de neuronas, para sobrepasar los límites invencibles de la rigidez de sus conexiones, y para lograr reestablecer las rutas nerviosas normales cuando un estado de enfermedad haya dañado centros de control íntimamente relacionados"*. Al día de hoy, los mecanismos de la regeneración retiniana en adultos mamíferos siguen insuficientemente entendidos. La degeneración retiniana lleva a la pérdida progresiva de células retinianas, particularmente de los fotorreceptores y las células ganglionares

(Beatty et al., 2000; Fong y Tsilfidis, 2012; Grosche et al., 1995; Lewis et al., 1995; Thanos, 1992). Actualmente existen dos enfoques experimentales fundamentales para enfrentar ambos problemas. Uno pretende reconstruir el circuito perdido mediante su reemplazo con tejido neuronal (generalmente fetal) y el otro es intentar frenar la degeneración (Fong y Tsilfidis, 2012; Ma et al., 2012; Plafker et al., 2012). El desarrollo de ambas estrategias se basa en mejorar nuestro conocimiento sobre la fisiología retiniana y el proceso de la visión, así como identificar los denominadores comunes de los diversos trastornos de la retina. Para ello se han implementado numerosos modelos animales para reproducir algunas de las condiciones observadas en las patologías retinianas y en general, se observan respuestas celulares que incluyen la de-diferenciación del EPR, la proliferación y migración de las células del EPR hacía el espacio subretiniano, la degeneración de los SE de los fotorreceptores y sus terminaciones sinápticas, la muerte de los fotorreceptores, la remodelación estructural de neuronas de segundo y tercer orden, la proliferación de las células retinianas no-neuronales y su migración hacía el espacio subretiniano así como la hipertrofia de la GM (Grosche et al., 1995; Huxlin et al., 1995; M. Wang et al., 2011; Yang, 1998). La mayoría de los eventos anteriores han sido asociados con procesos moleculares que ocurren en humanos tanto sanos como enfermos y apoyan a qué tanto la glía como el EPR contribuyen en la fisiopatología de la retina.

Se sabe que la glía y el EPR participan en cada una de las etapas del desarrollo de la retina incluyendo la génesis del número correcto de células de cada tipo, la migración de cada célula hacía su destino final, así como en el establecimiento de los circuitos neuronales maduros (Sparrow et al., 2010; Strauss, 2005; Turner y Cepko, 1987). No obstante, nos enfocaremos a la contribución de la glía y del EPR en la retina de mamíferos adultos, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

A continuación se presentarán aspectos generales de la anatomía del ojo y de la retina, de la fisiología retiniana así como una revisión de las principales y/o más recientes evidencias de la participación de las células gliales y del EPR en la fisiopatología retiniana.

I. Aspectos generales de la anatomía y fisiología ocular y retiniana

I.1. El ojo

El ojo humano descansa en la llamada hamaca facial, en la mitad anterior de la órbita ósea. Se encuentra rodeado de músculos extraoculares, grasa y tejido conectivo; solo está expuesto en su parte más anterior y está protegido por el borde orbitario óseo (Piñero BA, 1992). El globo ocular es básicamente una esfera que consta de tres compartimentos o cámaras: la anterior, la posterior y la vítrea (García GE, 2005; Kandel E et al., 2000; Piñero BA, 1992). La pared del globo ocular está formada por tres túnicas o capas de tejido concéntricas que incluyen a la externa fibrosa, la media y la interna o retina (**Figura 8**).

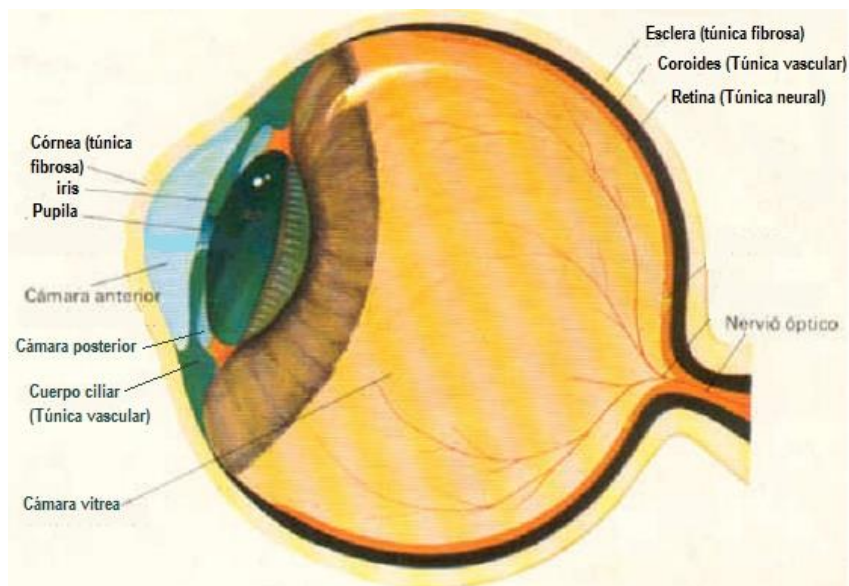


Figura 8.- Esquema de un ojo humano en orientación transversal, en el que se señalan sus principales estructuras. Modificado de <http://acromatopsia.galeon.com/vision.htm>.

I.1.1. Las cámaras: anterior, posterior y vítrea

La cámara anterior contiene el humor acuoso (Piñero BA, 1992). Está delimitada por la córnea en su parte rostral, y por el diafragma iridopupilar hacia su parte caudal. El humor acuoso es un fluido claro y luminoso con un índice de refracción bajo. Es

secretado por el epitelio de los procesos ciliares y se encarga de nutrir las zonas avasculares como son la córnea y el cristalino. Asimismo, el humor acuoso acarrea sustancias de desecho que son eliminadas a través del sistema venoso iridocorneal (Garcia, 2005).

La cámara posterior está delimitada por el iris y la pupila en su parte rostral, y por las fibras zonulares de la superficie rostral del cristalino en su parte caudal. Soporta el iris (sin este soporte el iris temblaría, i.e. iridodonesis). También se encuentra bañada por el humor acuoso (Garcia, 2005).

La cámara vítrea representa los 2/3 del volumen total del globo ocular, está delimitada por las fibras zonulares de la superficie caudal del cristalino y parte del cuerpo ciliar en su parte rostral, y por la retina en su parte caudal. Está ocupada por el humor vítreo (Alañón FJ et al., 2002) que consiste en un cuerpo de forma gelatinosa, avascular. La proporción acuosa/gelificada del humor vítreo en la etapa embrionaria humana es de 20/80 por ciento, respectivamente. La composición acuosa aumenta con la edad, hasta alcanzar casi el 50% (Garcia, 2005). Una de sus funciones principales es mantener la presión intraocular.

I.1.2. Las tónicas oculares: fibrosa/externa, vascular/media y neural/interna

I.1.2.a. La túnica fibrosa: córnea y esclera

La túnica fibrosa consta de la córnea (anterior y transparente) y la esclera (posterior y opaca).

La córnea es transparente. En el humano, proporciona cerca de dos terceras partes de la capacidad refractiva necesaria para enfocar la luz en la retina. También funciona como estructura de protección de tejidos y humores intraoculares (Garcia, 2005; Newell, 1993). En primates, la córnea consta de cinco capas. Desde la anterior a la posterior, son: el epitelio corneal, la lámina limitante anterior (membrana de Bowman), el estroma corneal (substancia propia), la lámina limitante posterior (membrana de Descemet) y el endotelio corneal.

La córnea cumple tres funciones principales: (1) transmite la luz con la menor distorsión y absorción posibles gracias a su transparencia, la cual se debe a la organización regular del tejido conectivo del estroma corneal, al espesor mínimo de la estructura, a la ausencia de vasos sanguíneos y a la presencia de fibras nerviosas amielínicas, (2) permite la refracción de la luz. Por ejemplo, en el humano es la estructura de mayor poder ocular: 42-46 dioptrías y (3) protege las estructuras intraoculares sin comprometer la función visual y los requisitos ópticos (transparencia, índice de refracción de luz, presión intraocular) (García, 2005; Piñero, 1992).

La esclera es una membrana fibrosa de colágeno muy resistente que protege a todos los tejidos intraoculares. Constituye la capa más externa del globo ocular y cubre aproximadamente las 4/5 partes del ojo. En su porción posterior es perforada por el nervio óptico y por la parte anterior se ensambla a la córnea a través de un punto que se conoce como el limbo esclerocorneal (Kandel et al., 2000; Newell, 1993). La esclera se compone mayormente de fibras de colágeno (a las cuales debe su color blanco) y en menor proporción por fibras elásticas agrupadas en fascículos y dispuestas en diferentes direcciones. Desde la superficie externa del globo ocular hacia el interior, la esclera se compone de tres láminas: la episclera, el estroma escleral y la lámina fusca (García, 2005; Piñero, 1992).

La esclera soporta la tensión de los músculos intraoculares y contribuye de manera importante para mantener la forma y el tono ocular. Además sirve de protección mecánica y de anclaje para estructuras extra e intraoculares (García, 2005).

I.1.2.b. La túnica vascular: iris, cuerpos ciliares y coroides

La túnica vascular se denomina también úvea o tracto uveal. Se compone del iris, el cuerpo ciliar y la coroides que se conocen como úvea anterior, úvea media y úvea posterior, respectivamente.

El iris es la porción más anterior de la túnica vascular y es visible a través de la córnea. Es un diafragma regulable que tiene un orificio central, la pupila [tiene un diámetro variable, dependiendo de los diferentes niveles de iluminación. El estado de miosis se refiere a contracción y midriasis a dilatación (Alañón et al., 2002; Piñero,

1992). Divide al globo ocular anterior en la cámara anterior y posterior y su superficie anterior es bañada por el humor acuoso. Se continúa con el cuerpo ciliar. Su forma geométrica es similar a la de cono truncado, ya que la convexidad del cristalino empuja la zona pupilar hacia adelante. El iris consta de tres regiones: la superficie anterior, el estroma y el epitelio.

El cuerpo ciliar es un anillo situado entre el iris y la región de la *ora serrata* en la retina. Se continúa hacia la parte posterior con la coroides. Su superficie externa está recubierta por la lámina fusca de la esclera y su superficie interna está en contacto con el humor vítreo. Hacia su región anterior confluye con la periferia del iris y la córnea, formando el ángulo iridocorneal de la cámara anterior. La parte posterior de su superficie interna, que delimita con la *ora serrata*, se llama *pars plana* o anillo ciliar. El cuerpo ciliar contribuye a la nutrición de la zona anterior del ojo. Está formado por dos estructuras: los procesos ciliares y el músculo ciliar. El músculo ciliar desempeña un papel fundamental en el cambio de forma del cristalino necesario para lograr la correcta acomodación (enfoque) (García, 2005).

La coroides recubre la superficie interna de la esclera desde el nervio óptico hasta el cuerpo ciliar (casi 5/6 de la superficie posterior del globo ocular) (Alañón et al., 2002; Newell, 1993). Su superficie externa se une de manera laxa a la lámina fusca de la esclera, excepto en el disco óptico donde se continúa con los tejidos de las meninges del nervio óptico y donde se une firmemente a la esclera. Su cara interna se comunica con el EPR a través de la membrana de Bruch. Se compone de un plexo capilar muy denso con un abundante flujo sanguíneo (aprox. 20 mmHg en el humano). Participa en regular la temperatura retiniana para el buen funcionamiento de los pigmentos visuales (García, 2005). La coroides posee cuatro láminas: la supracoroidea, la vascular, la coroidocapilar y la basal o membrana de Bruch (Newell, 1993; Piñero, 1992).

I.1.2.c. La túnica neural: retina (estructura macroscópica)

La retina es una capa delgada parcialmente transparente que cubre los 2/3 internos del globo ocular. Está en contacto con el humor vítreo en su parte interna o rostral y con la lámina basal de la coroides (membrana de Bruch) en su superficie externa u occipital. A

continuación se revisará la estructura macroscópica de la retina. Los detalles de su estructura microscópica se presentarán en un capítulo aparte.

En la superficie de la retina se pueden observar diversas estructuras como la papila (o disco óptico), la fovea y la *ora serrata*.

La papila es el punto donde el nervio óptico entra en el globo ocular, atravesando la esclera, la coroides y finalmente la retina. En la papila no hay fotorreceptores, por lo que se llama punto ciego.

La fovea es el área de la retina donde se enfocan los rayos luminosos (mayor fotorrecepción). Está situada en el centro de la retina y se considera el punto de agudeza visual. Presenta un mayor número de células ganglionares, posee sólo fotorreceptores de tipo cono. En el centro de la fovea (en la *fovea centralis*) no existen capilares para aumentar al máximo la transparencia de la retina (Piñero, 1992).

La *ora serrata* es el límite rostral de la retina. Corresponde a la unión cerrada entre la retina y el cuerpo ciliar y por lo tanto, marca la transición entre la zona fotosensible y la que no percibe fotones. De este modo, en la zona de la *ora serrata*, la retina neural se continúa con el epitelio del cuerpo ciliar y el EPR con el epitelio pigmentario del mismo (García, 2005).

La retina se puede dividir macroscópicamente en dos áreas, la central y la periférica. El área central comprende a la mácula (fovea y el área que la rodea). El área periférica de la retina corresponde a la porción de la retina delimitada por la macula y la *ora serrata* (**Figura 9**).

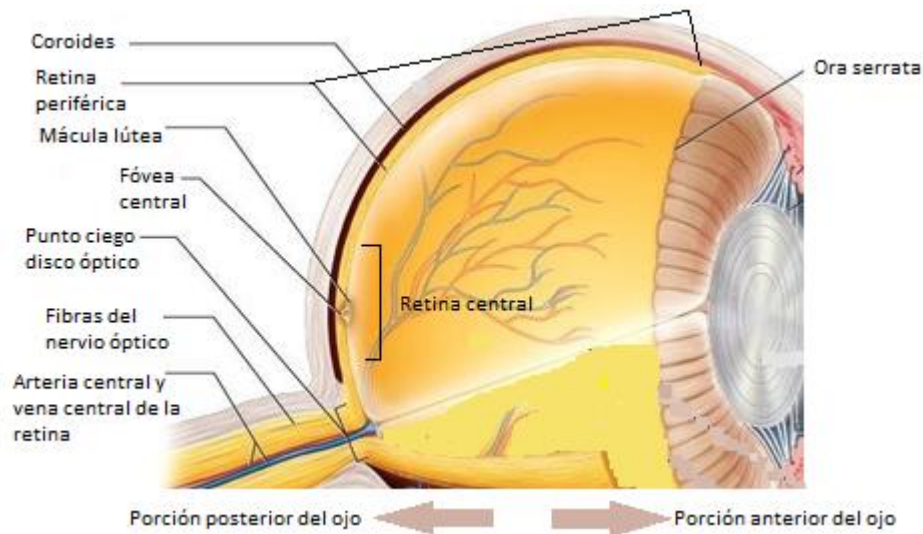


Figura 9.- Corte transversal de un ojo humano, donde se observan las principales regiones y zonas de la retina tanto central como periférica. Modificado de <http://quizlet.com/18681716/scc-cole-human-eye-anatomy-flash-cards/>

La nutrición y oxigenación de la retina depende de dos sistemas principales: la retina externa, se nutre por difusión coriocapilar; mientras que la retina interna, se nutre por medio de los capilares provenientes de la arteria central de la retina. Estos capilares se encuentran estrechamente acompañados de venas en todo su trayecto. La zona donde penetran la mayoría de los capilares en la retina es la mácula, con excepción de la fóvea. (García, 2005; Hubel, 1988; Newell, 1993).

La inervación sensorial depende de los nervios ciliares cortos y largos que provienen de la división oftálmica del trigémino. La retina tiene también inervación autónoma, la parasimpática proviene del nervio motor ocular común (par craneal III) y la simpática proviene del ganglio cervical superior (Alañón et al., 2002; García, 2005; Piñero, 1992).

I.2. La retina

I.2.1. Origen embriológico

La retina deriva directamente del tubo neural. A partir del tubo neural se originan dos vesículas ópticas en la región rostral del embrión. Cada vesícula se invagina

nuevamente para dar origen a la copa óptica formada por una hoja interna y otra externa (Cook, 2003; Kandel et al., 2000). De la hoja interna se origina la retina neural o *pars nervosa* y de la hoja externa de la copa óptica, se origina el EPR o *pars pigmentaria* (Kandel et al., 2000; Newell, 1993; Piñero, 1992). Inicialmente, las células de la pared interna de la copa óptica forman una sola capa, y posteriormente se dividen para formar el tejido multiestratificado. Estas células se denominan neuroblastos y son los precursores directos de todos los tipos neuronales presentes en la retina adulta (Dowling, 1987).

I.2.2. Estructura microscópica de la retina

Es un tejido que posee una organización altamente ordenada con cuatro tipos de células. La retina se divide estrictamente en diez capas paralelas (ver sección de antecedentes) donde la zona más profunda es el EPR que colinda con la coroides y la zona más superficial que es la MLI está en contacto con el humor vítreo (Schubert, 2009).

La capa del EPR está formada por células cubicas no neuronales y poseen gránulos de melanina que le dan una pigmentación característica. La capa de los segmentos externos de fotorreceptores (SE) contiene las porciones más externas de los conos y los bastones. La membrana limitante externa (MLE) no es una membrana en sí sino que está formada por uniones intercelulares del tipo zónula adherente entre las células fotorreceptoras y la GM. La capa nuclear externa (CNE) está formada por los núcleos celulares de los fotorreceptores. La capa plexiforme externa (CPE) es la región de conexión sináptica entre los fotorreceptores y las células bipolares. La capa nuclear interna (CNI) está formada por los núcleos celulares de las bipolares, horizontales y amacrinas. La capa plexiforme interna (CPI) es la región de conexión sináptica entre células bipolares, amacrinas y ganglionares. La capa de células ganglionares (CCG) contiene los núcleos de las células ganglionares. La capa de fibras del nervio óptico (CFNO) está formada por los axones de células ganglionares que forman el nervio óptico y la membrana limitante interna (MLI) está formada por los procesos proximales de la GM y separa la retina de la cámara vítrea.

I.2.3. Tipos celulares residentes de la retina

Dentro de las diferentes capas se pueden distinguir cuatro tipos celulares: las neuronas, las células gliales, las células endoteliales y las células del EPR (Garcia, 2005; Medina, 1996).

El proceso de identificación, caracterización y clasificación de las células que residen en la retina inició hace más de un siglo con Santiago Ramón y Cajal, quién acudió a diversos modelos animales tales como la rata, el conejo, el gato y el mono. Recientemente, se mostró que las células retinianas provienen de un conjunto de células pluripotentes proliferativas cuya diferenciación sigue un patrón temporal. Primero aparecen las células ganglionares, seguidas de los conos, células amacrinas y horizontales y por último se diferencia las células bipolares, los bastones y la glía de Müller (**Figura 10**) (Cook, 2003).

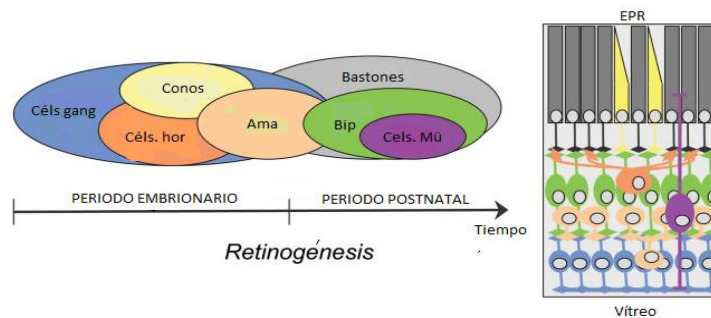


Figura 10.- Esquema que muestra la retinogénesis, desde el periodo embrionario hasta la etapa postnatal. Así mismo del lado derecho se muestra una esquematización de la disposición celular final en la arquitectura de la retina. Céls. gang= células ganglionares, Céls. hor= células horizontales, Ama= células amacrinas, Bip= células bipolares y Céls. Mü= células de Müller. Modificado de Cook T, 2003.

I.2.3.a. Neuronas

Las neuronas son el tipo celular mayoritario en la retina. Se encargan de transformar (fotorreceptores) la información cuántica de la luz (fotones) en energía bioeléctrica y transmitirla por medio de procesos sinápticos. El circuito principal de la fototransducción involucra a las células fotorreceptoras, bipolares y ganglionares. Los circuitos secundarios son aquellos que modulan los potenciales generados por el circuito principal, en conjunto los dos circuitos integran la participación de todas las neuronas retinianas (Ganmor et al., 2011; Masland, 2004).

I.2.3.a.1. Células fotorreceptoras: conos y bastones

Los fotorreceptores son células fotosensibles, son capaces de absorber y transformar la radiación luminosa en una señal electroquímica. Existen dos tipos de fotorreceptores, los conos y bastones (Ebrey y Koutalos, 2001; Lamb et al., 2007).

Los fotorreceptores yacen en la parte más externa de la neuroretina y están en contacto con el EPR (**Figura 4**). Cada fotorreceptor consta de un segmento externo, un cuerpo celular y una parte basal sináptica (**Figura 11**) y dan lugar a una sola lámina de células espaciadas que se estratifica en tres de las capas retinianas: la capa de los SE, la CNE y la CPE (García, 2005; Newell, 1993).

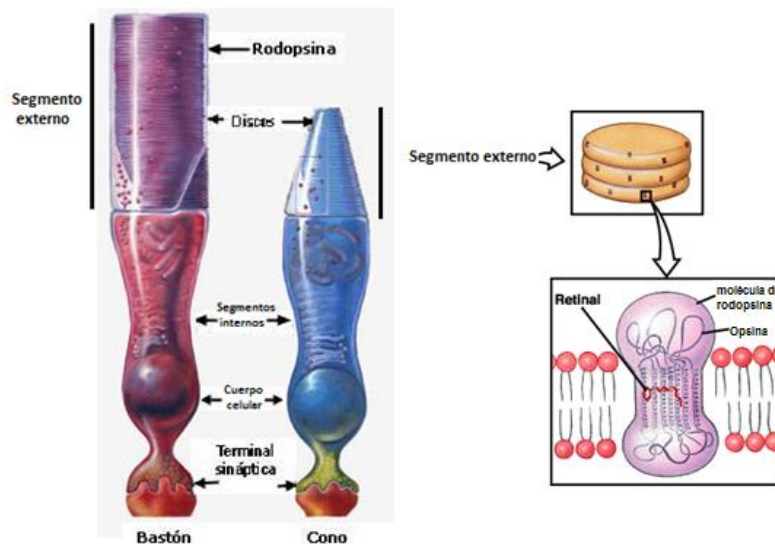


Figura 11.- Esquema donde se muestran los dos tipos de células fotorreceptoras (conos y bastones) y sus principales estructuras macroscópicas. Modificado de www.martin-missfeldt.de.

El SE es una porción laminar sensible a la luz. Contiene un arreglo de cientos de membranas laminares (discos) que son continuaciones de la membrana plasmática (Vicario, 1999, 2004). Estos discos dispuestos en forma transversal, almacenan las cromoproteínas, compuestas por proteínas pigmentadas visuales o opsinas y un cromóforo de estructura de retinal (Masland, 2001) (**Figura 11**). Las opsinas (rodopsina en los bastones y yodopsina en los conos) cambian de conformación tridimensional al ser estimuladas por los fotones y así, provocan cambios en el potencial de membrana de los fotorreceptores.

Los conos deben su nombre a la forma cónica de su SE. Son menos abundantes que los bastones (6 por ciento del total de fotorreceptores en la mayoría de mamíferos) y se concentran en la fóvea central donde su densidad es mayor a la de los bastones (García, 2005; Piñero, 1992). Proporcionan información de color por tener opsinas que se excitan a longitudes de onda correspondiendo al rojo, verde o azul. La mayoría de los mamíferos contienen solo dos tipos de conos (rojos y azules) pero en el caso de los primates aparecen los conos “verdes”, lo que permite la visión tricromática (Kolb et al., 2000). Los conos son solo sensibles con altos niveles de iluminación (fenómeno conocido como visión diurna o fotópica). Con baja iluminación no se distinguen los colores. Además, el sistema de conos tiene una resolución espacial muy alta ya que recuperan su capacidad de respuesta diez veces más rápido que los bastones (Mata et al., 2002).

Los bastones deben su nombre a la morfología alargada de sus segmentos externos. Son el tipo celular mayoritario en la retina (Alañón et al., 2002; Piñero, 1992). Se localizan a lo largo de toda la retina con excepción de la fóvea. Los cuerpos celulares de los bastones constituyen la gran mayoría de la CNE y aparecen como cilindros dispuestos de manera perpendicular a la MLE (Alañón et al., 2002; Piñero, 1992). Forman un solo tipo morfológico y funcional dado que contienen un único pigmento visual, la rodopsina (Palacios y Goldsmith, 1996; Sharpe y Stockman, 1999). Los bastones son capaces de detectar un solo fotón, tienen una alta sensibilidad a la luz, lo cual explica su función en la visión nocturna o escotópica. Cuando los niveles de iluminación incrementan, los bastones se saturan e intervienen los conos. Por otra parte, el sistema visual de los bastones posee una resolución espacial menor que el de los conos y se sabe que proporcionan información del brillo (Baylor et al., 1979; Hsu et al., 1993; Sharpe y Stockman, 1999).

I.2.3.a.2. Células bipolares

Son células de segundo orden de la retina. En 1893, Ramón y Cajal describió dos tipos de células bipolares, unas que sólo se conectaban con las terminales sinápticas de los conos y otras que lo hacían con los bastones. Desde aquel momento se estableció la

teoría de dos vías paralelas del estímulo visual, siendo las bipolares de conos de dos subtipos: monosinápticas y polisinápticas. De esta manera se describían tres tipos de neuronas bipolares: las de bastones, las monosinápticas (o enanas) y las polisinápticas (o difusas) de conos (American Academy of Ophthalmology, 1998; Vicario, 2004).

Actualmente en el humano se describen por lo menos ocho tipos de bipolares, de los cuales solo uno corresponde para bastones (Wässle y Boycott, 1991) (**Figura 12**). Sus cuerpos celulares residen en la CNI, mientras que sus dendritas ascendentes (hacia la coroides) forman parte y se proyectan hacia la CPE. Su ramificación principal o axón se introduce en la CPI (hacia el vítreo) donde hace conexión con las células ganglionares o amacrinas según sea el caso.

Las neuronas bipolares se encargan de transferir la señal visual desde los fotorreceptores hasta las células ganglionares estableciendo los circuitos *ON* y *OFF* (ver apartado de fototransducción). Las células bipolares responden de manera selectiva al neurotransmisor glutamato liberado por conos y bastones, dependiendo de los tipos de receptores que éstas posean (Sánchez, 2009; Wu et al., 2000).

I.2.3.a.3. Células horizontales

También son interneuronas de la retina y fueron descritas por primera vez por Ramón y Cajal en 1880 (Springfield, 1972). Son neuronas de gran tamaño dispuestas horizontalmente: sus cuerpos celulares se encuentran en la región más coroidal de la CNI. Sus dendritas se extienden de manera paralela al EPR por toda la CPE y realizan conexiones sinápticas con fotorreceptores, células bipolares y en algunos casos con amacrinas (Marc y Liu, 1984; Marshak y Dowling, 1987). Existen dos clasificaciones para las horizontales: la primera basada en parámetros fisiológicos, donde existen horizontales que codifican la luminosidad y otras que codifican el color, y la segunda se basa en su morfología: horizontales de axón corto (tipo B) o sin axón (tipo A) (Valberg y Seim, 2008) (**Figura 11**). Las horizontales de tipo A destacan por tener árboles dendríticos que conectan con conos para modular su excitabilidad. Las de tipo B son más pequeñas, poseen dendritas más numerosas que las de tipo A y un axón relativamente largo en algunas especies como el gato que se conecta con bastones. El

axón de una célula tipo B puede recibir información de hasta 3000 bastones. Su función primordial es conectar conos con bastones y en condiciones fotópicas inhiben a los bastones (Masland, 2001; Masland, 2004). Dentro de las células tipo B, hay las de axón corto tipo I (H1) y de tipo II (H2) que se distinguen por una ramificación dendrítica más densa. Las H1 conectan sus dendritas con los diferentes tipos de conos y su axón con los bastones mientras las H2 conectan sus dendritas con un solo tipo de cono (contribuyendo a la visión cromática) y su axón con los conos (Vicario, 1999). Las células H2 generan respuestas antagónicas a las células bipolares (Sánchez, 2009; Vicario, 2004).

I.2.3.a.4. Células amacrinas

Descritas en la retina de mamíferos durante el siglo XIX. Son interneuronas que poseen un soma de menor tamaño que las células bipolares u horizontales, su morfología es muy parecida a la de las células ganglionares pero las primeras poseen más ramificaciones (**Figura 12**) (Masland, 2001). Sus cuerpos celulares se encuentran mayoritariamente en las regiones más vitreales de la CNI (se encuentran también células amacrinas denominadas “desplazadas” en la CCG). Sus dendritas se localizan en la CPI, se han definido típicamente como células sin axón aunque en muchas de ellas se han descrito prolongaciones de gran longitud consideradas por algunos autores como axón (Johansson et al., 2010; Kolb y Nelson, 1981; Masland, 2004). Son las neuronas retinianas con una mayor diversidad morfológica, molecular y electrofisiológica (Masland, 2004). Notablemente, las células amacrinas contienen prácticamente cualquier neurotransmisor o neuromodulador presente en el resto del SNC (Kolb y Nelson, 1981). Su función reside en formar la vía de asociación lateral a nivel de la CPI. Reciben aferencias de las células bipolares y de otras células amacrinas, y establecen a su vez conexiones con las células ganglionares y células bipolares (Masland, 2001; McGuire et al., 1984).

I.2.3.a.5. Células ganglionares

Únicas neuronas de proyección presentes en la retina, descritas también por Ramón y Cajal en 1892. Las células ganglionares son multipolares de dendrita primaria única, poseen un cuerpo celular muy voluminoso localizado principalmente en la CCG. Aunque también se han encontrado desplazadas en la CNI (Hebel y Holländer, 1983; Hitchcock y Easter, 1986). Sus dendritas secundarias se prolongan hacia la CPI donde contactan con células bipolares y amacrinas. Su axón se origina en la porción vitreal del soma y discurre de forma paralela a la MLI para formar la CFNO y con el correspondiente de las demás ganglionares formar el nervio óptico (Alañón et al., 2002; Piñero, 1992).

Se han descrito más de 20 tipos de células ganglionares, en base al tamaño de su soma y la morfología de sus dendritas, sin embargo, se distinguen principalmente dos tipos: las grandes y las pequeñas (Sánchez, 2009; Wässle y Boycott, 1991; Yamada et al., 1996) (**Figura 12**).

La principal función de estas células es recoger la información visual proveniente tanto del eje principal (vertical: fotorreceptor-bipolar-ganglionar) así como del eje secundario (horizontal: de fotorreceptor a bipolar/horizontal/amacrina y de esta última a ganglionar) y enviarla al encéfalo (ver capítulo “Aferencias de la retina hacia la corteza visual”). Recientemente se ha reportado un tipo de célula ganglionar fotosensible que actúa de forma independiente a los fotorreceptores, ya que contiene melanopsina (un tipo de opsina). Estas células han sido relacionadas con el control de los ciclos circádicos y el reflejo pupilar (Berson, 2003; Foster et al., 1991; Provencio et al., 2002; Provencio et al., 1998).

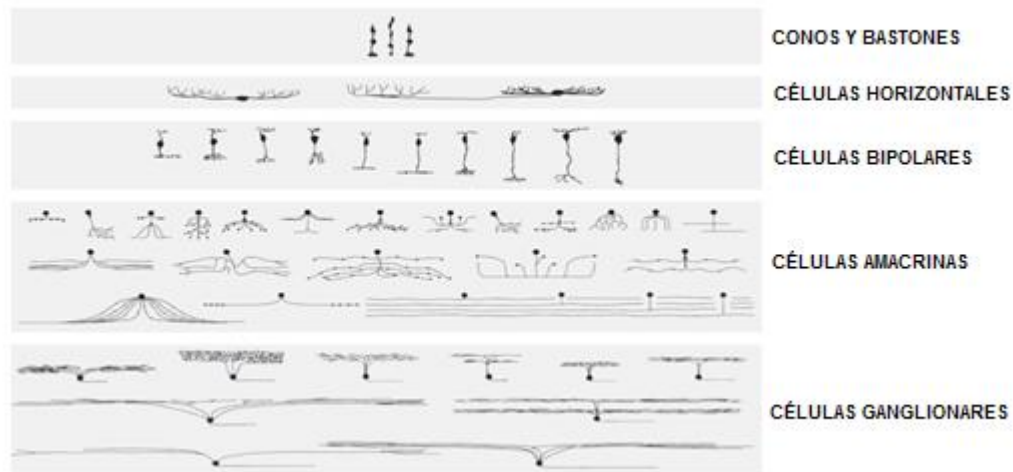


Figura 12.- Esquema que muestra los principales tipos de neuronas presentes en la retina de mamíferos (rata, conejo, gato y mono), se observan los distintos subtipos de cada neurona. De arriba hacia abajo son: fotorreceptores, células horizontales, células bipolares, células amacrinas y células ganglionares. Tomado de Masland, 2004.

I.2.3.b. Células gliales

Las células gliales o glía de la retina forman parte del SNC a pesar de no ser células neuronales (Haydon, 2001; Reichenbach et al., 1988). Se encuentran en menor proporción numérica en la retina. Se dividen en micro y macroglía. La retina posee dos tipos de macroglía: las GM y los astrocitos (o astrogliocitos), y un solo tipo de microglía. En algunas especies de peces y aves se han encontrado células gliales de tipo oligodendrocitos en la CCG y CFNO (Cho et al., 1999; Won et al., 2000).

Como indica el término griego acuñado por R. Virchow en 1859 y reconocido por primera vez por Cajal en 1891, la glía se reconocía como el pegamento del sistema nervioso (Gómez y Nieto, 2008). Sin embargo, esta idea es incompleta ya que además de envolver y sostener a las neuronas, participan en el suministro de nutrientes y oxígeno a estas, aislar una neurona de otra, destruir patógenos, eliminar las neuronas muertas y regular la neurotransmisión.

I.2.3.b.1 Glía de Müller

La GM fue descrita por Ramón y Cajal en 1893. Es la principal célula glial de la retina, presente en todos los vertebrados. Es el único tipo de célula glial en las especies con retina avascular (Bringmann et al., 2006). A partir de la segunda mitad del siglo XX se empezó a caracterizar funcionalmente a la GM en el pez cebra y en la rana, principalmente (Medina, 1996; Wagner et al., 1998). Desde 1975, Reichenbach y colaboradores iniciaron el estudio histológico y funcional de estas células en mamíferos utilizando como modelo la retina de conejo. Hasta ahora se han reportado novedosas funciones de la GM que amplían nuestro conocimiento de la fisiología retiniana. Estos hallazgos incluyen: la producción de neurotransmisores hasta la regeneración del tejido neuronal (Bringmann et al., 2006, 2009; Ehinger, 1977; Grosche et al., 1995; Reichenbach et al., 1988; Wang et al., 2011; Yang, 1998).

La GM son células radiales que se expanden a lo largo de la retina neural (**Figura 6**). De su soma localizado en la CNI se originan dos procesos: uno basal que termina con grandes ramificaciones en el borde de la retina interna, y otro apical que se extiende hasta la capa de los fotorreceptores, formando la MLE. Las proyecciones basales hacen contacto con los vasos capilares (en especies con retinas vascularizadas) rodeándolos. De los procesos apicales se originan microvellosidades que proyectan hacia el espacio subretiniano envolviendo a los fotorreceptores (**Figura 13**). La GM tiene procesos secundarios que se ramifican a partir del principal, en una gran cantidad de prolongaciones que envuelven a los cuerpos celulares, dendritas y axones de cada tipo de neurona retiniana (Latties, 1983; Newman y Reichenbach, 1996a, 1996b). A consecuencia, la GM tiene una interacción estrecha con las neuronas (Reichenbach y Robinson, 1995) y cumplen funciones que incluyen: el eliminar los productos de desecho de las neuronas; el reciclaje de neurotransmisores; la protección de las neuronas contra los niveles excesivos de neurotransmisores como el glutamato y la liberación de sustancias neuroactivas como GABA y dopamina, entre otras (Bringmann et al., 2006; Newman y Reichenbach, 1996a; Yang, 1998).

I.2.3.b.2. Astrocitos

Los astrocitos son las células gliales principales y más numerosas que se encuentran en el SNC (Bringmann et al., 2009; Giaume et al., 2007; Haydon, 2001). Cajal en 1891, descubrió este tipo de glía en la retina, y fue el primero en diferenciarlas de las neuronas diciendo que formaban parte activa del tejido nervioso (Springfield, 1972). Son de origen neuroectodérmico y derivan de los precursores encargados de dirigir la migración celular a través del nervio óptico en etapas embrionarias tempranas (glía radial) (Won et al., 2000). Son células que poseen una gran cantidad de prolongaciones dispuestas en orientación radial formando un entramado muy amplio (Schnitzer, 1988). La astroglia en la retina se localiza en la CPI, en la CCG y la mayoría en la CFNO, donde su morfología varía en base a su localización, pasando de fusiformes en la zona de la retina central a estrellados en la retina periférica (Medina, 1996; Schnitzer, 1988) **(Figura 13)**.

En la retina sus funciones son variadas, se les asocia con el sistema vascular, ya que en etapas tempranas del desarrollo son los encargados de inducir y guiar el crecimiento de vasos sanguíneos en la retina (Dorrell et al., 2002; Gariano, 2003). Otra función, compartida en todo el SNC, es la regulación y participación en la composición de las barreras vasculares selectivas. En el caso de la retina, forman parte de la barrera hemato-retiniana (BHR) interna (Barres, 2008; Cunha-Vaz, 1976; Liebner et al., 2011; Rungger-Brändle et al., 2000). Más a detalle los astrocitos promueven sustratos energéticos a las neuronas, sobre-regulan la producción de factores tróficos y antioxidantes, entre otras funciones. (Abbott et al., 2006; Araque et al., 1999; Haydon, 2001)

I.2.3.b.3. Microglía

Estas células fueron descritas por primera vez por Río-Hortega en 1919. Actualmente se sabe que la microglía deriva directamente de precursores de la médula ósea que migran hacia el SNC durante el desarrollo y en condiciones inflamatorias o de lesión (Ling y Wong, 1993; Sievers et al., 1994; Streit, 1993). La microglía está formada por

varias poblaciones celulares con diferente morfología, pero que grosso modo todas poseen función fagocítica, por lo que forman parte fundamental del sistema retículo endotelial (Medina, 1996).

La microglía retiniana es de características similares a la del resto del SNC (Chen et al., 2002; Stoll y Jander, 1999). Tienen una morfología multipolar, con somas muy pequeños y algunos procesos irregulares y cortos. Su localización en la retina es muy variable dependiendo de la especie (Chen et al., 2002; Hume et al., 1983). En peces, estas células se localizan en las CPE, CPI y en la CFNO, en mucha menor proporción en la CNE y CNI (**Figura 13**). La microglía representa el principal componente del sistema inmune innato en la retina, es capaz de modular la respuesta inmune, produciendo tanto factores tróficos como sustancias neurotóxicas (Ashwell, 1989; Chen et al., 2002; Hume et al., 1983; Stoll y Jander, 1999; Thanos, 1992). La microglía se establece en la retina durante el desarrollo, en esta etapa son capaces de migrar al menos radialmente, y se involucran en la fagocitosis, remoción de remanentes neuronales y en el remodelado celular y extracelular (Karlstetter et al., 2010).

I.2.3.c. Epitelio pigmentario retiniano

Las células pigmentadas del EPR aparecen desde los primeros trabajos de la arquitectura retiniana hechos por Cajal en 1893. Salzmann (~1912) publicó en su tratado “Anatomía e histología del globo ocular”, que cuando se observaba al “desnudo” el fondo del globo ocular, se observaba una especie de recubrimiento café uniformemente organizado en la superficie interna de la coroides (Wolff, 1938). Los primeros trabajos de investigación publicados, que involucran el estudio de estas células datan de finales de los años 30’s donde se realizaron estudios profundos de la anatomía ocular mediante la técnica de oftalmoscopia (Wolff, 1938).

Las células del EPR forman una monocapa de células epiteliales que contienen melanopsina, localizadas entre la coroides y la retina neurosensorial. En su cara apical, estas células presentan múltiples procesos alargados que se intercalan con los SE (Steinberg, 1985). En distintas especies de vertebrados, sobre todo peces y anfibios dichos procesos alcanzan la MLE para entrecruzarse con las microvellosidades de la

GM (Marc, 1998; Wagner, 1990). Estas células interactúan entre sí por uniones estrechas y uniones adherentes y cumplen diversas funciones vitales tanto en la retina neural como en la comunicación de ésta con la coroides (Nobeschi et al., 2006).

En condiciones fisiológicas algunas de las funciones de las células del EPR son: la absorción de la luz dispersa, la renovación de los SE por fagocitosis, la provisión de 11-*cis*-retinal (componente esencial del pigmento visual) a los fotorreceptores (Hubbard et al., 1965). Debido a que la zona externa de la retina es avascular, el EPR realiza la difusión de oxígeno y el transporte de metabolitos procedentes de los vasos sanguíneos de la coroides formando parte esencial de la BHR externa. (Beatty et al., 2000) (**Figura 13**).

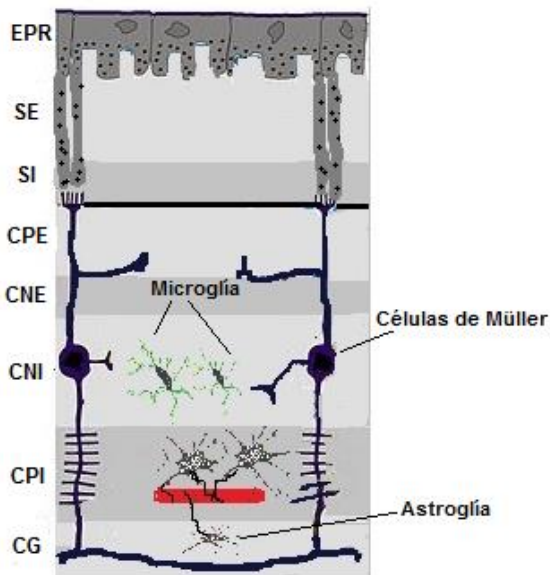


Figura 13.- Esquema transversal de retina, donde se muestra la localización de los diferentes tipos celulares gliales de la retina y el EPR a lo largo de las capas de la misma, así como la posible interacción entre ellas.

I.2.3.d. Células endoteliales

El ojo contiene tejidos altamente vascularizados y otros completamente avasculares en una gran aposición (García, 2005). La vascularización en la retina es una interacción coordinada de células vasculares, como las endoteliales (Dorrell et al., 2002b; Gariano, 2003). Los vasos sanguíneos retinianos fueron descritos desde 1650 por Jean Méry en el gato. Usando el mismo modelo animal, desde finales de los 50's Ashton y

colaboradores con sus experimentos describieron el desarrollo de los vasos sanguíneos retinianos y la fisiología de las células endoteliales. Más tarde, estudios en cefalópodos (pulpo y calamar) impusieron las bases del estudio del endotelio retiniano (Yamamoto et al., 1965).

Los microvasos sanguíneos de la retina consisten en células endoteliales que yacen sobre una membrana basal rodeada de pericitos. La unidad anatómico-funcional de los capilares retinianos es la unión de las células endoteliales, los pericitos y la membrana basal (Gariano, 2003; Törnquist et al., 1990). Las células endoteliales encontradas en la retina están unidas entre sí en sus zonas apicales por uniones estrechas, que en conjunto forman capilares no fenestrados a diferencia de los encontrados en la coroides, también se aprecian uniones de tipo adherente (Van Meer y Simons, 1986). Las uniones estrechas están encargadas de regular y restringir los influjos de diversas sustancias entre las que destacan aquellas de carácter lipídico y algunas proteínas. Mientras que las uniones adherentes se encargan: primero del desarrollo de la BHR interna y después influenciar el desarrollo de las uniones estrechas (Törnquist et al., 1990; Van Meer y Simons, 1986).

II. La fisiología de la retina

La funcionalidad de la retina va mucho más allá del simple hecho de transformar la luz a impulsos bioeléctricos (Ganmor et al., 2011; Valberg y Seim, 2008). La complejidad de la organización y composición celular del tejido retiniano implica una gamma de funciones inmensa, dichas funciones involucran una gran coordinación e interacción de sus componentes (Masland y Raviola, 2000; Masland, 2001; Masland, 2012).

II.1. Captación de la luz y fototransducción

El proceso normal de la visión requiere que los medios oculares sean transparentes como los son la córnea, el humor acuoso, el humor vítreo y el cristalino. Requiere también del correcto enfoque de diferentes objetos en función de la distancia gracias al poder refractivo del cristalino (Kandel et al., 2000; Le-Grand y El-Hage, 1980). La luz

filtrada es enfocada en la retina, plasmada en su mayoría en la fóvea de manera invertida (**Figura 14**) (Berggren, 2001; Lindberg, 1976; Waterhouse, 1902). El primer paso de la visión se basa en la captura la luz en la parte interna del globo ocular y el enfoque de ésta en la retina. Después se requiere de la presencia de un pigmento fotosensible (Hubel, 1988), que se encuentra almacenado en los discos membranales de los SE. El pigmento más ampliamente estudiado es la rodopsina de los bastones (Sharpe y Stockman, 1999). Cuando se produce la captura de un fotón, cada molécula de pigmento visual sufre cambios de configuración, que provocan la separación completa de la opsina y el retinal y esto conlleva a la hiperpolarización de los fotorreceptores (Alañón et al., 2002; ASASAC, 2010; Piñero, 1992).

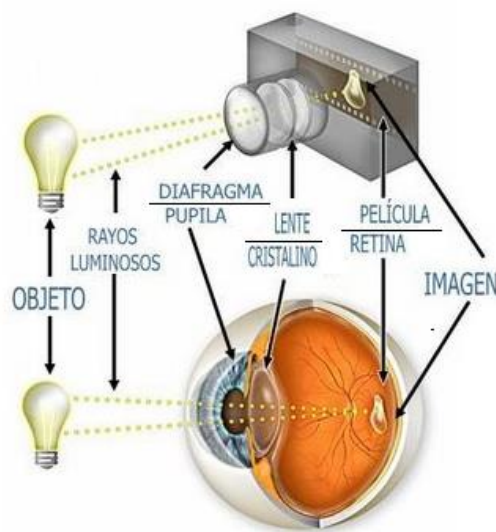


Figura 14.- Esquema de un ojo humano, donde se muestra la relación funcional de las diversas estructuras de la *camera oscura* (explicada por Della Porta) con las estructuras oculares involucradas en la formación de imágenes en la retina debido a la captación de luz. Modificado de García-Hernández 2008.

Lo anterior explica a manera de resumen el proceso de la fototransducción, es decir, la captación de fotones y su transformación a información bioeléctrica (Ebrey y Koutalos, 2001). Con este proceso nos referimos a la segunda etapa funcional de la vía visual sensorial o perceptiva, la cual tiene lugar en los fotorreceptores (Vicario, 2004).

La cascada de la fototransducción se da en los SE y se puede dividir en dos fases: 1) activación y 2) recuperación.

La primera ocurre cuando la rodopsina (molécula localizada en la membrana de los discos de los SE, pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G; compuesta por una parte proteica, la opsina, y una molécula de 11-*cis*-retinal) (Filipek et al., 2003; Hargrave y McDowell, 1992; Hargrave et al., 1983; Ovchinnikov et al., 1983) absorbe un fotón, lo cual induce la isomerización del retinal 11-*cis* a su conformación *all-trans* (Peteanu et al., 1993; Schoenlein et al., 1991a, 1991b). El cambio conformacional no solo afecta al retinal, sino también a la rodopsina, generando la forma activa de ésta: la metarrodopsina II (R*). La R* sirve para activar catalíticamente a la transducina (proteína G heterotrimérica acopladora de rodopsina, unida a GTP) (Hargrave y McDowell, 1992). La transducina tiene tres subunidades $\alpha\beta\gamma$ y regula la interacción entre la rodopsina y su enzima efectora, una fosfodiesterasa específica de GMP cíclico (GMPc PDE) que tiene cuatro subunidades: $\alpha\beta\gamma\delta$ (Lambright et al., 1996). La R* se une a la transducina activando la subunidad α ($T\alpha$), provocando el cambio de GTP a GDP. Inmediatamente después la $T\alpha$ se disocia de la R* y de $\beta\gamma$ (Jindrová, 1998). La $T\alpha$ actúa sobre la subunidad γ de la PDE, promoviendo la hidrólisis del GMPc a 5'-GMP (ruptura de un enlace fosfodiéster) (Isayama et al, 2006). El decremento en la concentración intracelular de GMPc en el fotorreceptor induce un cierre de canales iónicos dependientes de GMPc (Na^+ y Ca^{2+}) causando que la célula se hiperpolarice. La hiperpolarización de los fotorreceptores (pasando de 70 mV hasta ~45 mV) es el último paso de la fase de activación, lo cual provoca un cierre de los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje en la terminal sináptica. La caída de la concentración de Ca^{2+} reduce la liberación sináptica de glutamato (Jindrová, 1998) (**Figura 15**). Ambos tipos de células fotorreceptoras son tónicamente despolarizadas en la oscuridad (aproximadamente a valores de -35 mV), ya que se mantienen los niveles de Ca^{2+} , lo cual permite la liberación continua del neurotransmisor.

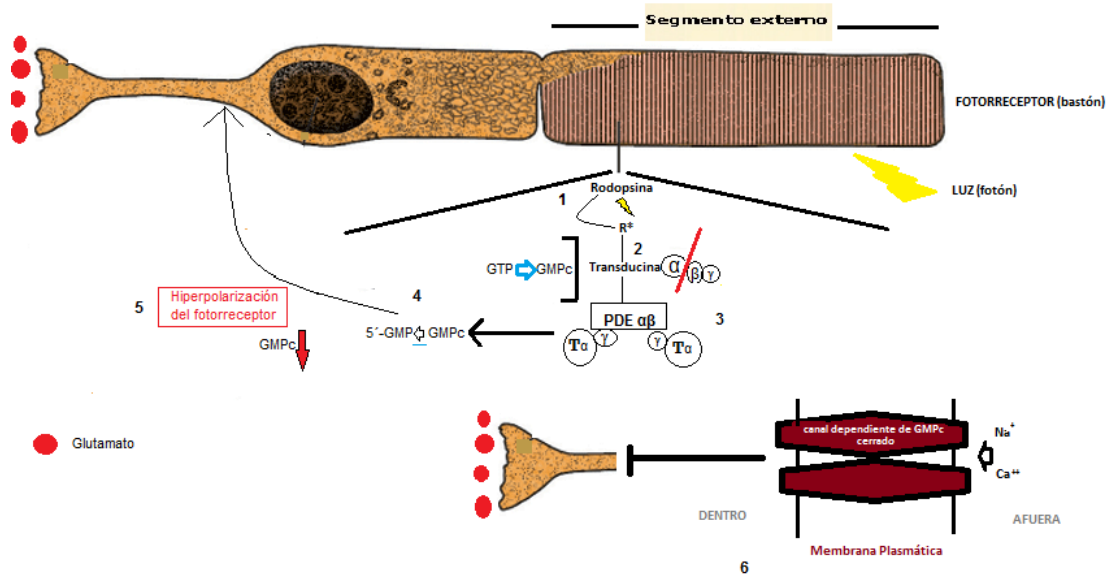


Figura 15.- Representación de la fase de activación de la fototransducción en vertebrados, desde la llegada del fotón hasta la reducción en la liberación del glutamato en la terminal sináptica del fotorreceptor.

La fase de recuperación de la fototransducción, se divide en dos partes: el apagado de la cascada y la re-síntesis de GMPc. La sub-fase de apagado de la cascada, se caracteriza por la inactivación de la R*, la T α y la GMPc PDE (Jindrová, 1998). La inactivación de la R* ocurre en dos pasos: la fosforilación del extremo C-terminal (rodopsina cinasa) y la unión de una proteína accesoria, la arrestina (Chen et al., 1995). La T α unida a GDP no reactiva a la PDE y tiene que ensamblarse de nuevo con el complejo T β γ , inactivándolo también (Vuong y Chabre, 1990). La reasociación de las subunidades de la PDE, previene de futuras hidrólisis del GMPc (Artemyev et al., 1996).

El proceso de resíntesis de GMPc es realizado por la proteína guanilato ciclasa y por proteínas accesorias (como las proteínas aceleradoras de la guanilato ciclasa) presentes en los SE (Isayama et al, 2006; Jindrová, 1998) cuando se detecta una caída en los niveles de Ca²⁺ (Palczewski et al., 1994).

II.2. Procesamiento de la información visual en la retina después de la fototransducción

Después de la fototransducción y tras la liberación de glutamato proveniente del fotorreceptor, la información visual viaja de forma directa hacia las dendritas de las células bipolares y desde estas hacia las células ganglionares (Wu et al., 2000). Las células horizontales y las amacrinas en conjunto, forman una red de conexiones que no solo provee modulaciones laterales sino también vías integrativas (Wagner et al., 1998; Wagner, 1990).

Cajal desde 1893, describió dos tipos de sinapsis primarias, aquellas provenientes de conos y aquellas de bastones. Actualmente se reconocen los dos tipos: la vía de conos y la vía de bastones, ambas descargando su información en tipos específicos de células bipolares basándose en modulaciones de liberación de L-glutamato.

Los conos no pueden saturarse con luz de gran intensidad. La respuesta post-sináptica a la luz codificada por conos, es más rápida que la proveniente de bastones (Wang y Kefalov, 2011). La vía de conos consta de 9-11 subtipos diferentes de células bipolares de cono (bipolares de cono) (Cohen y Sterling, 1990). Los conos reciben información de los bastones adyacentes y a la vez forman conexiones sinápticas con dos tipos funcionales de células bipolares, creando dos vías paralelas: las bipolares de centro *ON* (bipolares invaginantes) y las bipolares de centro *OFF* (bipolares aplanadas) (Vicario, 2004). En condiciones escotópicas, el glutamato hiperpolariza las células *ON*, mientras que las *OFF* y las horizontales permanecen despolarizadas. Cuando hay luz ocurre de manera inversa (Vicario, 1999). Las bipolares de cono se ramifican en diferentes niveles de la CPI (Springfield, 1972). Cada célula bipolar de cono es capaz de responder a una amplia gama de neurotransmisores (NT's) y por tanto poseen un complejo específico de varios receptores a NT's (como receptores para GABA, glutamato, glicina y adenosina tri fosfato [ATP], entre otros) y proteínas de unión a Ca^{2+} (Grünert et al., 1994).

La vía de bastones se encuentra funcionando por un mayor periodo que la de conos (Sharpe y Stockman, 1999). La vía de bastones genera una cadena de al menos

cuatro neuronas desde el fotorreceptor hasta la célula ganglionar. Se sabe que existe una conexión de entre 20 y 100 bastones por cada célula bipolar. Las señales generadas en cada bastón pueden esparcirse hacia bastones y conos vecinos a través de uniones estrechas (Palacios y Goldsmith, 1996; Sharpe y Stockman, 1999). El campo receptor de las células bipolares de bastón es de mayor tamaño que su ramificación dendrítica, probablemente los axones de las células horizontales tipo B juegan un papel esencial en la superficie y por tanto integración de la información (Vicario, 1999, 2004). La respuesta de la bipolar de bastones presenta una despolarización hacia el centro del campo receptivo (centro-*ON*) (Grünert et al., 1994; Wu et al., 2000). Estas células harán sinapsis con las células amacrinas tipo *AII*, las cuales mantienen la despolarización en presencia de la luz. Las amacrinas *AII* hacen sinapsis a su vez con las bipolares de conos mediante uniones tipo hendidura (Kandel et al., 2000).

Las vías de conos y bastones hacia las células ganglionares pueden ocurrir de dos formas: de manera directa por interacción sólo del eje primario o de manera indirecta donde mediante modulación lateral la información visual es regulada en tiempo y espacio para controlar la eficiencia del proceso de transmisión (Masland, 2001; Vicario, 1999, 2004).

Los complejos sinápticos secundarios que interactúan en la CPE, se conocen como triadas, y están dados por las modulaciones al eje primario o vertical (Masland, 2001) principalmente por horizontales principalmente. Una vez que se recibió la información de la primera sinapsis en las células bipolares respectivas (centro *ON* y centro *OFF*), estas deben conectar de forma directa con un sistema de células ganglionares. De aquí que de igual manera existan células ganglionares de centro *ON* y de centro *OFF* las cuales se interconectan con las bipolares del centro respectivo para crear un circuito (Famiglietti y Kolb, 1976; Hitchcock y Easter, 1986; Yamada et al., 1996) (**Figura 16**). Por su parte los contactos sinápticos que ocurren en la CPI se conocen como diadas, donde el elemento pre-sináptico es la terminal de la célula bipolar y el elemento post-sináptico lo constituyen una dendrita de una célula ganglionar y uno o dos procesos de células amacrinas (GABA o glicina) (Vicario, 1999). Las células amacrinas establecen una sinapsis de retroalimentación con las bipolares, entre

ellas o con células ganglionares (Masland y Raviola, 2000; Schubert, 2009). El objetivo de las sinapsis secundarias en la vía visual es controlar los aspectos temporales y espaciales de las señales eléctricas del eje primario.

A partir del 2002 con los experimentos de Berson, Hattar y colaboradores, se descubrió que las células ganglionares eran fotosensibles intrínsecamente, ya que contienen melanopsina y son capaces de controlar los ciclos circádicos (Berson, 2003; Hattar et al., 2002; Pickard y Sollars, 2011).

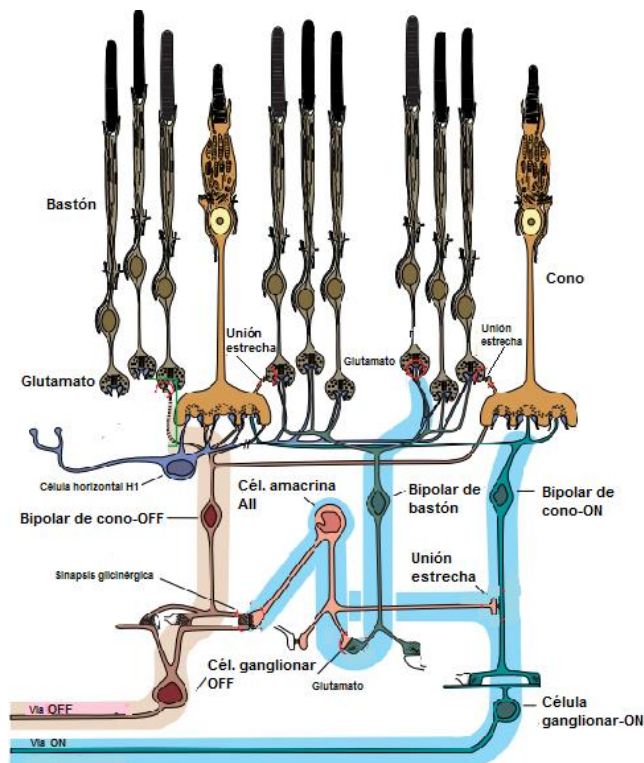


Figura 16.- Representación esquemática de las principales vías sinápticas neuronales en la retina de mamíferos (conos y bastones hacia células ganglionares). Modificado de Sharpe y Stockman 2000.

II.3. Aferencias de la retina hacia la corteza visual primaria

La vía visual primaria, también llamada vía sensorial, está formada por los fascículos ópticos (aprox. un millón de axones de células ganglionares en el humano), por el quiasma óptico, por las cintillas o tractos ópticos, por el cuerpo geniculado lateral, por las radiaciones ópticas y por la corteza visual primaria (Alañón et al., 2002; Kandel et

al., 2000; Newell, 1993; Piñero, 1992). Los axones de las células ganglionares salen de la retina por la porción nasal, denominada disco óptico o papila óptica; donde convergen para formar el nervio óptico (Hubel, 1988; Newell, 1993). Los fascículos corren de manera ininterrumpida hasta el quiasma óptico localizado en la base del diencefalo, la mayoría de ellos cruzan al lado contrario en esta estructura y el resto siguen ipsilateralmente hacia el tálamo y el cerebro medio (Alañón et al., 2002; Kandel et al., 2000). Una vez pasado el quiasma, las fibras se denominan tracto óptico (conteniendo información de ambos ojos) y se dirigen hacia el cuerpo geniculado lateral dorsal del tálamo (primer relevo de la información visual) (Kandel et al., 2000). El geniculado lateral es un núcleo que manda sus señales a través de la cápsula interna (García, 2005; Kandel et al., 2000). Del tálamo salen otras neuronas que forman el fascículo óptico geniculado cortical o fascículo calcarino y se dirigen hacia la corteza calcarina (visual primaria, V1, área estriada, área 17 de Brodman) en cada lóbulo occipital.

El viaje de la información visual continua para ser procesada por áreas visuales de asociación (áreas 18 y 19 de Brodman), y por áreas especializadas, localizadas en la corteza parietal dorsal (posición espacial de los objetos) y temporal (relación color-forma de los objetos observados) (Jeannerod y Jacob, 2005).

II.4. Contribución de la glía y el epitelio pigmentario en la fisiología retiniana

Cada uno de los tipos de células gliales de la retina y el EPR están ampliamente relacionado no solo con la funcionalidad neuronal en este tejido sino también con el mantenimiento de la integridad anatómica y estructural de toda la retina (Bok, 1993; Bringmann et al., 2009; Grosche et al., 1995; Helmuth, 2001; Marmorstein et al., 1998; Newman y Reichenbach, 1996b; Sparrow et al., 2010; Steinberg, 1985).

II.4.1. Células de Müller

La GM es la principal célula glial de la retina de todos los mamíferos y ha sido estudiada en vertebrados desde su descubrimiento por Müller en la segunda mitad del siglo XIX

(Müller, 1851). Como se menciona en apartados previos, la GM se empezó a caracterizar en los mamíferos gracias a los estudios basados en técnicas de tinción por Cajal (Springfield, 1972), donde sólo se mencionaba a la GM como un sistema de soporte para los integrantes de la neuroretina (Newman y Reichenbach, 1996b). En la segunda mitad del siglo XX se le consideraba como una célula formadora de mielina en mamíferos y aves (Ladman y Soper, 1962; Yamada, 1989). No fue sino hasta principios de los años 70's con los estudios de Ehinger y colaboradores cuando se inició la caracterización morfológica, fisiológica y molecular de la GM (Newman y Reichenbach, 1996a).

Los primeros ensayos aplicados para conocer las propiedades de la GM fueron enfocados en conocer los mecanismos de captura, liberación y reciclaje de los NT's en la retina (Ehinger, 1977). En esos años no eran claros estos mecanismos gliales, sin embargo, con los experimentos en retina de animales como conejo, rana y rata donde se demostró la captura de GABA y glutamato por la GM dichos procesos empezaban a entenderse (Brunn y Ehinger, 1974; Ehinger B, 1977; Marshall y Voaden, 1975; Neal y Iversen, 1972; Voaden, 1976). Actualmente no solo se conoce la captura de estos NT's por la GM en la retina, sino que se trata de un mecanismo de alta precisión y gran eficiencia, que conduce al control de las concentraciones de los mismos (Reichenbach et al., 2002) (**Figura 17**).

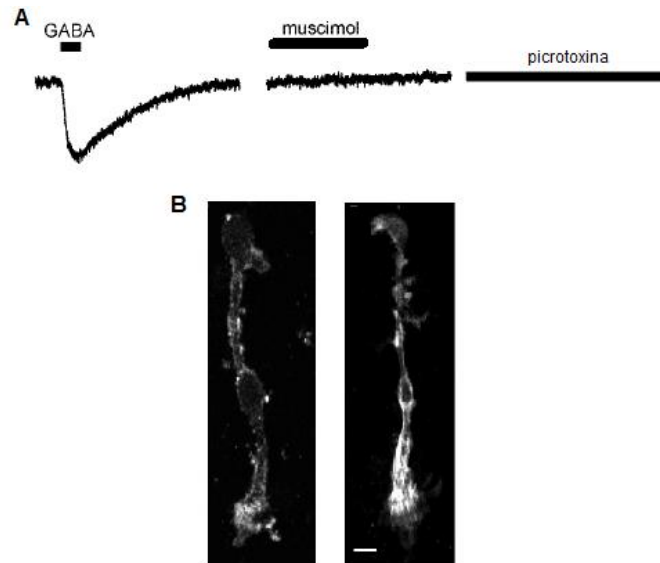


Figura 17.- Regulación de las concentraciones de GABA en la retina de mamíferos por la GM. (A) representación de las corrientes de: (izquierda) GABA generadas por la activación de los transportadores específicos de este neurotransmisor, (en medio) de muscimol (agonista de los receptores de GABA_A; y (derecha) la inhibición de las mismas por la picrotoxina (antagonista específico de receptores GABA). (B) inmunoreactividad de la localización de los transportadores de GABA (GAT) en la GM, GAT-1 y GAT-3, respectivamente. Barra de escala= 10 μ m. Modificado de Reichenbach et al., 2002.

El conocimiento acerca de la fisiología de la GM en la retina de mamíferos continuó a lo largo de los 80's con los estudios de Reichenbach y colaboradores. Este grupo encontró la morfología radial de la GM en la totalidad de la retina y demostró su presencia en todos los vertebrados (Newman y Reichenbach, 1996b). Los estudios de Newman a principios de los 80's indicaron que la GM presentaba la expresión de una variedad de canales iónicos voltaje-dependientes (Karwoski et al., 1985; Newman, 1985, 1993; Puro y Stuenkel, 1995). Se demostró que su potencial de membrana está controlado por los canales de K⁺ de rectificación entrante (Kir, por sus siglas en inglés) que le confieren una resistencia membranal baja (cambios en los potenciales de membrana, promoviendo su versatilidad y viabilidad celular) y que dichos canales se encuentran en el soma, los procesos distales y apicales en mamíferos (Newman, 1987, 1993; Puro y Stuenkel, 1995). Aunado a ello, se encontró que la inactivación genética de los canales Kir (subunidad 4.1) en ratones, conduce a una muerte de los organismos en tres semanas después de nacer, revelando la importancia de estos tanto en la GM como en el resto del SNC (Ishii et al., 1997; Kofuji et al., 2000).

Más allá se demostró que poseen canales de rectificación retardada, de inactivación rápida, canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} y canales de Ca^{2+} (Karwoski et al., 1985; Newman, 1985; Puro y Stuenkel, 1995). Los primeros hallazgos del grupo de Newman y Reichenbach también demostraron que la GM era capaz de reconocer señales neuronales (iones y NT's), siendo estas capaces de modificar sus vías de señalización y sus respuestas moleculares, activando así cascadas de señalización en la glía (Newman y Reichenbach, 1996b). Las células gliales son capaces de modificar el microambiente retiniano, particularmente la GM actúa como amortiguador en la homeostasis de iones como el K^+ extracelular, gracias a sus canales iónicos (Puro y Stuenkel, 1995) (**Figura 18**). En condiciones fisiológicas, el agua se acumula en el tejido extracelular gracias a la actividad neuronal, debido a la síntesis de ATP y como resultado de la actividad metabólica (captura de glucosa y otros metabolitos) (Marmor, 1999). Aparte de la regulación y homeostasis iónica en la retina, la GM puede regular el equilibrio hídrico en la retina interna gracias a la expresión de canales específicos para el transporte membranal de agua, denominadas acuaporinas (AQP), que en su caso son las AQP-1 y 4 (Bringmann et al., 2004; Nagelhus et al., 1998, 1999). Lo que hace la glía de Müller es capturar los excesos iónicos y acuosos por medio de los canales arriba mencionados, expulsándolos hacia el EPR y hacia la MLI para sacarlos de la retina (Giaume et al., 2007).

La GM expresa canales Kir (canales que permanecen abiertos incluso con potencial de reposo), así como receptores a glutamato y poliaminas (necesarias para la regulación funcional de sus proteínas de membrana) (Biedermann et al, 1998; Nichols y Lopatin, 1997; Sontheimer, 1994; Steinhäuser y Gallo, 1996). La expresión de poliaminas como la espermidina se ha observado en mamíferos exclusivamente en la GM mediante inmunoreactividad (Biedermann et al., 1998; Skatchkov et al., 2000).

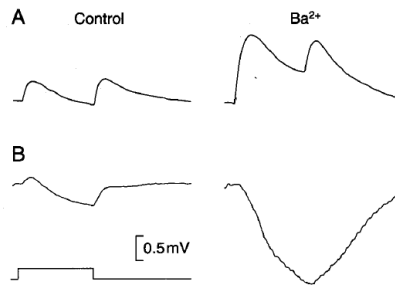


Figura 18.- La GM regula el K^+ extracelular en la retina. (A) indica el incremento de la corriente extracelular de K^+ en la retina inducida por estímulo luminoso, y cómo ésta se triplica cuando se bloquean los canales Kir de la GM tras la administración de Ba^{2+} . (B) el bloqueo de los canales Kir de la GM provoca un decremento notable en la misma corriente en el espacio sub-retiniano y el vítreo, indicando la homeostasis del ion dentro de la retina neural. Duración del estímulo 4 s. Modificado de Frishman et al., 1992.

En un sistema como la retina donde es el principal NT excitatorio (Rauen y Wiessner, 2000), donde interactúa con diferentes receptores en las células post-sinápticas (tipo N-metil-D-aspartado, NMDA y Amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol de ácido propiónico/Kainato, AMPA), donde es liberado continuamente por los fotorreceptores y las células bipolares en la oscuridad, y donde su liberación es controlada tónicamente por la acción de la luz (Copenhagen y Jahr, 1989; Massey y Miller, 1990) y debido a que acarrea la señal visual; el glutamato requiere una regulación muy precisa para evitar condiciones de excitotoxicidad. Para tal efecto es necesaria la participación de transportadores, enzimas y receptores (Nicholls y Attwell, 1990; Rauen et al, 1998). Los transportadores como GLAST-1 y el transportador de aminoácidos excitatorios tipo 5 (EAAT5) y enzimas como la glutamina sintetasa (GS, enzima que convierte el glutamato en glutamina) mantienen el balance entre la fisiología y el daño por exceso de glutamato, y se encuentran ampliamente expresados en la GM y son regulados por glucocorticoides, (Bringmann et al., 2006, 2009; Derouiche y Rauen, 1995; Eliasof et al., 1998; Giaume et al., 2007; Rauen et al, 1998; Rauen y Wiessner, 2000; Reichenbach et al., 2002; Riepe y Norenberg, 1977; Rothstein et al., 1994) (**Figura 19**).

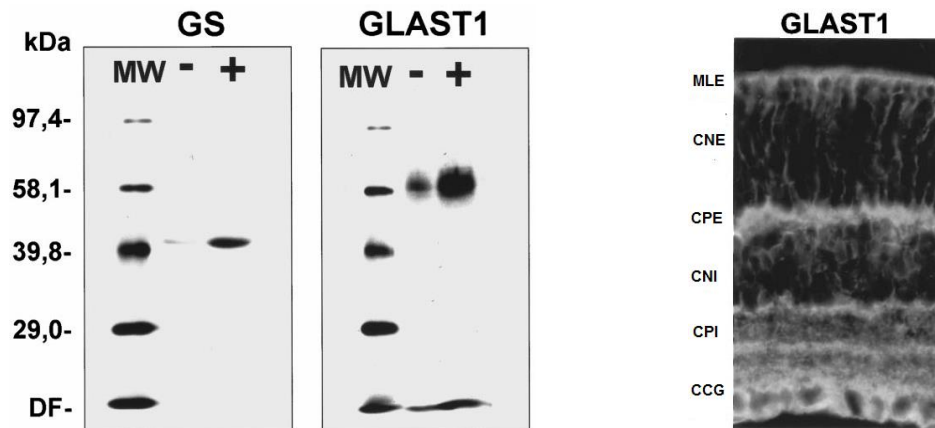


Figura 19.- Inmunoblot comparativo de la expresión de GS y GLAST-1 (izquierda) en cultivos de GM de rata, (-) = cultivo control, (+) = adición de cortisol; 15 µg de muestra. Micrografía de fluorescencia que muestra la localización de GLAST-1 en la retina de rata desde la MLE hasta MLI en la GM y astrocitos. Modificado de Rauen y Wiessner, 2000.

A partir del siglo XXI se enfatizó el estudio de las relaciones entre la GM y los vasos sanguíneos de la retina interna, sin embargo no fue sino hasta los años 90's cuando se comprobó que la GM estaba en contacto directo con la vasculatura (Distler y Dreher, 1996; Hollander et al., 1991). Además de ello, la GM está íntimamente relacionada por medio de uniones de tipo hendidura con los astrocitos perivasculares e intervasculares (con mayor preferencia hacia estos últimos), realizando una comunicación mediante el flujo de glucosa y metabolitos a través de las uniones comunicantes (Zhas y Wu, 2001). La GM ha sido ampliamente utilizada para estudiar la comunicación de células gliales mediante uniones tipo hendidura (Zahs et al., 2003). Los ensayos que se han realizado para identificar la localización de las uniones tipo hendidura al menos en la retina emplean la biotina y sus derivados (neurobiotina y biocitina) como marcadores (Newman y Zahs, 1997; Robinson et al., 1993). Más a detalle se demostró que este tipo de interacciones celulares están basadas en la expresión de diversas conexinas (proteínas de membrana, involucradas en la adherencia celular) dependientes de voltaje; principalmente conexinas 43 y 45, que forman las conexiones GM-astrocitos (Newman y Zahs, 1997; Zahs et al., 2003).

Otra función importante de la GM es la secreción de factores neurotróficos como: el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor neurotrófico ciliar (CNTF), el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF); y el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF) los cuales entre muchas funciones, promueven la sobrevivencia de

los fotorreceptores, células amacrinas y ganglionares en retinas de mamíferos (Giaume et al., 2007; Kirsch et al., 1995; Matthes et al., 1995; Wahlin et al., 2000) (**Figura 20**).

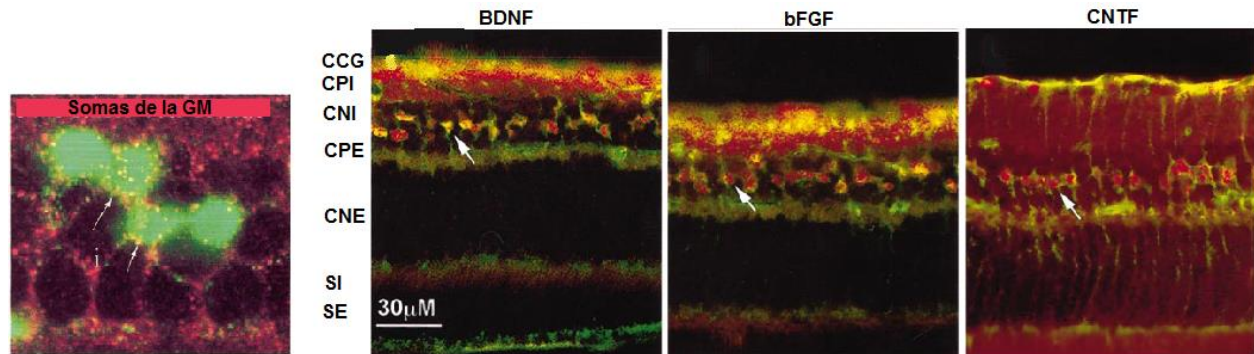


Figura 20.- Evidencia experimental de la expresión de factores neurotróficos en la GM. Se observa la localización del bFGF (verde, núcleo) y el CNTF (rojo, citoplasma) en los somas de la GM de rata (izquierda), modificado de Walsh et al., 2001. En el panel derecho se observa la co-localización de BDNF, bFGF y CNTF con la proteína CRALBP en la GM de retinas de ratón. Modificado de Wahlin et al., 2000.

Por otra parte, existe una minuciosa regulación del metabolismo de glutamato y lactato en la GM que es orquestada por el balance de la concentración extracelular e intracelular del ion amonio y viceversa (Barbour et al., 1993; Poitry et al., 2000). Dichos flujos y movimientos metabólicos de amonio involucran no solo la participación de la glía si no que forman una red de comunicación con las neuronas retinianas y son necesarios en el mantenimiento homeostático de ambos tipos celulares (Grant et al., 1999; Marcaggi y Coles, 2001). La neuroprotección constitutiva contra la excitotoxicidad por glutamato ejercida por la GM en la retina en condiciones fisiológicas, es promovida por factores secretados por estas células (Newman y Reichenbach, 1996b; Newman, 1988; Ripps y Witkovsky, 1985). Como se ha venido explicando, la GM es capaz de secretar diferentes factores tróficos, además de los ya mencionados anteriormente, también secreta: el factor de crecimiento neuronal (NGF), neurotrofinas 3 y 4, el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y el factor de crecimiento epidermal (EGF) entre otros, además de expresar sus receptores (Kido et al., 2000; Rocha et al., 1999; Taylor et al., 2003). La secreción y acción de estos factores en la promoción de la sobrevivencia y crecimiento neuronal en la retina se ven incrementadas en la GM debido al aumento en las concentraciones del glutamato en el espacio extracelular (Taylor et al., 2003).

La GM puede inhibir sinápticamente a las neuronas de la retina, en otras palabras, puede controlar la excitabilidad debida a la fototransducción a nivel de la CPI (capa sináptica de las células ganglionares) (Araque et al., 1998; Cuhna, 2001; Newman y Zahs, 1997; Newman, 2003). Esta inhibición fue evaluada *in vivo* a nivel presináptico y se da mediante la liberación de glutamato y/o ATP mediada a su vez por la propagación de ondas de Ca^{2+} en la zona de la sinapsis (Newman y Zahs, 1998; Newman, 2001, 2003) (**Figura 21**).

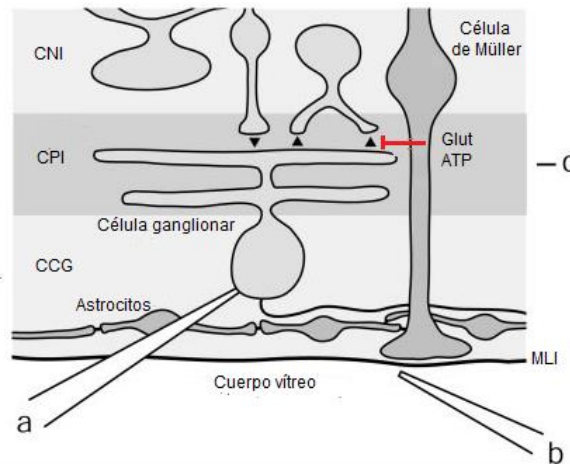


Figura 21.- Medición electroquímica del efecto inhibitorio neuronal del glutamato y/o ATP secretados por la GM. (a) representa la pipeta de registro de la actividad de la célula ganglionar, (b) representa la pipeta de inyección del agonista de cada inhibidor secretado por la GM y (c) el sitio de registro de actividad neuronal. Modificado de Newman 2003.

Siguiendo un poco con el tema de las señales de comunicación que exhibe la GM en la fisiología de la retina, se puede resumir a grandes rasgos que existen tres tipos de comunicación en la retina que involucran a esta clase de macroglía: interacciones glía-glía; neuronas-glía y glía-neuronas (Newman, 2004). Dichas comunicaciones son principalmente electroquímicas y dependen en su mayoría del movimiento de iones a través de las membranas en todas las células (Ceelen et al., 2001; Newman y Zahs, 1998). Por ejemplo las comunicaciones glía-glía se basan en el movimiento y la propagación de Ca^{2+} a través de la liberación de mensajeros extracelulares como el ATP, activado por un aumento en la concentración del Ca^{2+} , que a su vez activó la liberación de glutamato (Newman y Zahs, 1997; Newman, 2001, 2004). En el caso de la señalización neuronas-GM, se trata de la activación de las

ondas de Ca^{2+} en la glía, mediadas por la liberación de glutamato, resultado de la cascada de activación en la fototransducción a todos los niveles del eje primario y en ocasiones modulaciones en el eje horizontal (Newman, 2004). La interacción GM-neuronas, es modulada por una serie de procesos que incluyen: la liberación de glutamato y D-serina (co-agonista de los receptores N-metil-D-aspartato, NMDA), la recaptura de glutamato en la GM en receptores metabotrópicos, lo que a su vez provoca la liberación de ATP Ca^{2+} -independiente y la futura conversión de éste en adenosina activándose los receptores A1. Esto último conduce a la apertura de canales de K^+ y Cl^- y la consecuente salida de éstos de la GM, manteniendo la homeostasis iónica y osmótica. Así la adenosina y el glutamato glial son capaces de activar los receptores A1 y AMPA/KA neuronales, resultando en estimulación e inhibición de la actividad neuronal, respectivamente (Lecca et al., 2012; Newman, 2004).

Dicho sea de esta manera, está comprobado que la GM participa activamente monitoreando y respondiendo a la actividad neuronal, propagándola a distancias largas mediante ondas de Ca^{2+} (Keirstead y Miller, 1995, 1997; Lynne et al., 2001). Notablemente se ha considerado a la GM como un modelo ideal para el estudio de la biología de propagación de ondas de Ca^{2+} , principalmente por la morfología de sus procesos (Newman y Zahs, 1997). Estudios más recientes realizados *in vitro* e *in situ* demostraron que la GM posee una excitabilidad dependiente de ATP a través del movimiento del Ca^{2+} como cualquier célula glial del SNC (Newman y Zahs, 1997). Lo anterior refuerza la idea de que estas células modulan la señalización autocrina, interneuronal y entre diferentes células gliales (Lynne et al., 2001). Dentro de la función de señalización glía-neuronas en la retina, recientemente se comprobó que la GM secreta numerosas moléculas aparte de las ya conocidas (ATP, glutamina, D-serina) que actúan modulando la actividad neuronal (Reichenbach y Bringmann, 2013). Esta señalización gliotransmisora se compone de la liberación de la proteína de unión a acetil coenzima A, GABA, ácido retinoico y óxido nítrico (Reichenbach y Bringmann, 2010); lo cual sirve para la modulación de la transmisión GABAérgica de las células amacrinas hacia las ganglionares; participando en el reciclaje de los componentes de los pigmentos visuales, y modulando la vasoconstricción de los capilares retinianos

internos, respectivamente (Barmack et al., 2004; Metea y Newman, 2006; Mishra y Newman, 2010; Qian et al., 2008; Yanase et al., 2002).

Se realizó un estudio muy interesante en conejos que fue capaz de evidenciar la capacidad de la GM de permanecer viable estructural y funcionalmente en transplantes de secciones de neuroretina en etapas embrionarias en sujetos sanos (Ghosh et al., 1999; Ghosh, 2002). El periodo post-operatorio, mostró al principio una inmunoreactividad positiva para GFAP en la GM debida al procedimiento quirúrgico, la cual fue desapareciendo conforme pasó el tiempo de recuperación (Ghosh y Wassélius, 2002; Ghosh, 2002). Después, se demostró bajo el mismo protocolo quirúrgico, la eficiencia y eficacia de transplantes de tejido adulto en huéspedes adultos sanos, donde además de la estabilidad estructural y funcional de la retina y la GM, no existía evidencia de separación entre el trasplante y la retina huésped, sugiriendo que este último procedimiento es aún más estable que aquel realizado en embriones (Ghosh y Wassélius, 2002).

Es evidente la expresión de VEGF en la GM en retina de humano, en condiciones normales, lo cual, además de evidencias en otros mamíferos, comprueba el importante papel que desempeñan estas células no solo en el desarrollo de la retina sino también en la comunicación GM-vasos sanguíneos, para proveer constituyentes energéticos y metabólicos para las neuronas (Famiglietti et al., 2003).

Por si fueran pocas las funciones de la GM, también se ha visto que estas células son capaces de proteger a las neuronas retinianas mediante defensas antioxidantes endógenas de carácter proteico como son: el glutatión (mayor defensa antioxidante en la retina), la metalotioneína, la hemooxigenasa-1 (HO-1) y el piruvato entre otros (Bringmann et al., 2006, 2009; Bringmann y Wiedermann, 2012; García y Vecino, 2003; Saccà et al., 2013; Shutte y Werner, 1998). La GM además es capaz de producir citosinas anti-inflamatorias como la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), siendo de gran eficiencia para atraer monocitos, macrófagos y microglía (Bringmann y Wiedermann, 2012). Se le considera una célula presentadora de antígenos junto con las células endoteliales y el EPR (Sarthy y Ripps, 2001) a través del complejo mayor de histocompatibilidad-2 (García y Vecino, 2003; Roberge et al., 1985, 1988; Romeike et al., 1998).

Recientemente se encontró que la GM localizada en las zonas periféricas de la retina aledañas a la fóvea, puede actuar como fibra óptica al guiar el viaje fotónico a través de la retina interna hasta los fotorreceptores para reducir la divergencia y el esparcimiento de la luz (Franze et al., 2007; Gucke et al., 2001; Reichenbach y Bringmann, 2013). La GM está relacionada con la resistencia y regulación de las fuerzas mecánicas espaciales que suceden en la retina, debidas principalmente a la actividad sináptica glutamatérgica neuronal; donde la glía cambia su morfología extendiendo o encogiendo sus procesos internos (Uckermann et al., 2004). Lo anterior resulta en la entrada masiva de NaCl en las neuronas, asociada al flujo de agua; y por tanto en el hinchamiento de somas, procesos sinápticos y el engrosamiento de la retina interna (Reichenbach y Bringmann, 2013; Uckermann et al., 2004; Wurm et al., 2008). El mecanismo conocido por medio del cual la GM sensa los cambios mecánicos en la retina (receptores mecánicos) es dependiente de Ca^{2+} , lo que induce la activación de vías de señalización que involucran ERK1/2, c-Fos y la expresión de bFGF (Bringmann et al., 2006, 2000; Lindqvist et al., 2010). Además de las fuerzas neuronales glutamato-inducidas, en la retina la GM recibe y resiste las fuerzas traccionales que ejerce el cuero vítreo en la MLI; lo cual sustenta la propuesta de la elasticidad y viscosidad de la GM, haciendo a estas células más flexibles que las neuronas (Lu et al., 2006; Reichenbach y Bringmann, 2013; Schubert, 1989).

II.4.2. Astrocitos

Los astrocitos retinianos son exclusivos de las retinas vascularizadas, tal es el caso de los humanos, los roedores, los primates (Schnitzer J, 1988). Así mismo dentro de las especies que los poseen, dichas células están confinadas a las zonas vascularizadas de la retina, es decir, regiones periféricas (Ling y Stone, 1988; Chan-Ling, 2000; Schnitzer, 1988; Stone y Dreher, 1987; Watanabe y Raff, 1988). Como se menciona en apartados anteriores, los astrocitos retinianos descritos por primera vez por Cajal en el siglo XIX; representan una de las dos clases de macroglía en la retina (Giaume et al., 2007).

Los astrocitos en el cerebro desempeñan una gran variedad de funciones que incluyen: la homeostasis de iones y agua, el transporte de nutrientes y metabolitos desde la sangre hacia las neuronas, entre otras (Giaume et al., 2007; Magistretti, 2006; Oberheit et al., 2006; Zonta et al., 2003). A diferencia de esto, en la retina, los astrocitos están limitados en funciones debido a la presencia de la GM, la cual desempeña la gran parte de las funciones necesarias para la integridad de la fisiología retiniana (E. Newman & Reichenbach, 1996a). No obstante, la participación astrocítica es importante y necesaria para el desarrollo y la función retiniana (Coorey et al., 2012) a pesar de su limitada presencia y distribución en este tejido. Lo anterior explica de alguna manera el reducido número de estudios relacionados a la función de los astrocitos en la retina (Schnitzer J, 1988). Entre los primeros estudios bien documentados de estas células, se encuentran las descripciones de Stone y colaboradores, donde se menciona que los astrocitos migran desde el nervio óptico hacia la retina periférica de forma centrífuga (Vinores, 1995). Después de estos trabajos, el grupo de Schnitzer presenta una revisión de la localización y descripción morfológica de los astrocitos en diversas especies de mamíferos (Karschin et al., 1986; Schnitzer, 1985; Stone y Dreher, 1987) (**Figura 22**).

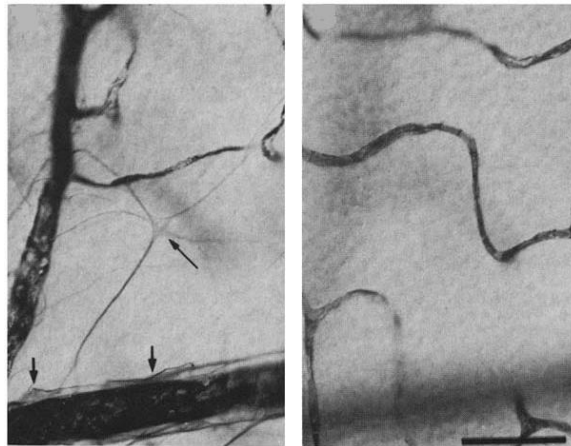


Figura 22.- Micrografía que muestra astrocitos retinianos marcados con GFAP. En el panel izquierdo se muestra el contacto de un astrocito (flecha larga) contactando un capilar de la CFNO (flechas cortas). En el panel derecho se muestra un capilar de la CPE, el cual no es contactado por astrocitos. Barra de escala= 100 μ m. Tomado de Schnitzer. 1987.

Al principio se creía que los astrocitos en la retina estaban configurados de esa manera para poder atender directamente las necesidades de las células ganglionares,

pero se vio después en retina de conejo que era posible la extensión de los axones de las células ganglionares sin necesidad de la envoltura astrogial y sin afectar la transmisión del potencial de acción (Karschin et al., 1986; Michaelson, 1954; Schnitzer y Karshin, 1986; Schnitzer, 1985). Después de que se estudió la migración de los astrocitos, se vio que dicho proceso ocurría a la par del patrón de distribución de los vasos sanguíneos y por eso se plantea la señalización bidireccional para el desarrollo de la vasculatura retiniana (Tout et al., 1993; Viores, 1995). Dicha organización y guía molecular para la formación de los vasos sanguíneos, está dada en gran parte por la acción del VEGF expresado en los astrocitos (Dorrell et al., 2002a; Stone et al., 1995; Wiedemann et al., 2010) (**Figura 23**). Al principio se creía que la comunicación astrocito-vaso sanguíneo se debía a un contacto celular directo (Brightman, 1989; Tontsch y Bauer, 1991), y después se propuso que había un factor vascular endotelial liberado por los astrocitos el cual era el responsable de la interacción (Neuhaus et al., 1991; Shivers et al., 1988). Otros estudios buscaron entender si los astrocitos eran indispensables para la integridad de la BHR y el grupo de Chang-Ling encontró que efectivamente los astrocitos son necesarios para mantener las propiedades de la barrera (Chan-Ling y Stone, 1992; Coorey et al., 2012; Viores, 1995). Los astrocitos sirven como andamiaje para la migración de las células endoteliales para que puedan estas últimas formar los plexos sanguíneos. Lo anterior sucede gracias a la expresión del receptor para el factor de crecimiento derivado de plaquetas en el astrocito y la expresión del ligando por las células ganglionares (Fruttiger, 2007; Mudhar et al., 1993).

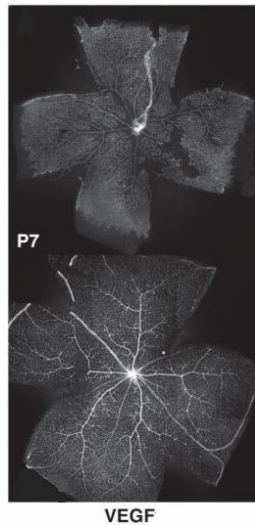


Figura 23.- Micrografía que muestra la expresión de VEGF en astrocitos de la retina de ratón. En el panel superior se muestra el día post-natal 7 donde se observa una menor fluorescencia, mientras que en la parte inferior se muestra el periodo adulto donde la señal es mucho mayor. Modificado de Wiedemann et al., 2010.

La comunicación entre células astrogiales se da mediante la propagación de ondas de Ca^{2+} (liberación de ATP), lo cual permite la integración de la hemodinamia con la actividad neuronal (Newman, 2004) (**Figura 24**). De manera similar, los astrocitos perivasculares e intervascuales contactan a la GM (por medio de ondas de Ca^{2+}) para interactuar con los vasos sanguíneos manteniendo la funcionalidad de la BHR (Giaume et al, 1997; Newman y Zahs, 1997, 1998; Tabernero et al, 1996; Zahs et al., 2003; Zhas y Wu, 2001). Se sabe que la astroglia participa en la neurodinamia mediante la liberación de ATP o a través de la liberación de segundos mensajeros que se mueven mediante las uniones comunicantes (P3I, inositol tri-fosfato) entre las células (Araque et al., 1999; Oliet et al., 2001). Las interacciones entre astrocitos, se dan por uniones tipo hendidura y complejos proteicos de conexinas (Cnx 26, 30, 40, 45 y 46) que sirven como anclaje a las células vecinas (Contreras et al., 2004; Giaume et al, 1997; Volterra y Meldolesi, 2005).

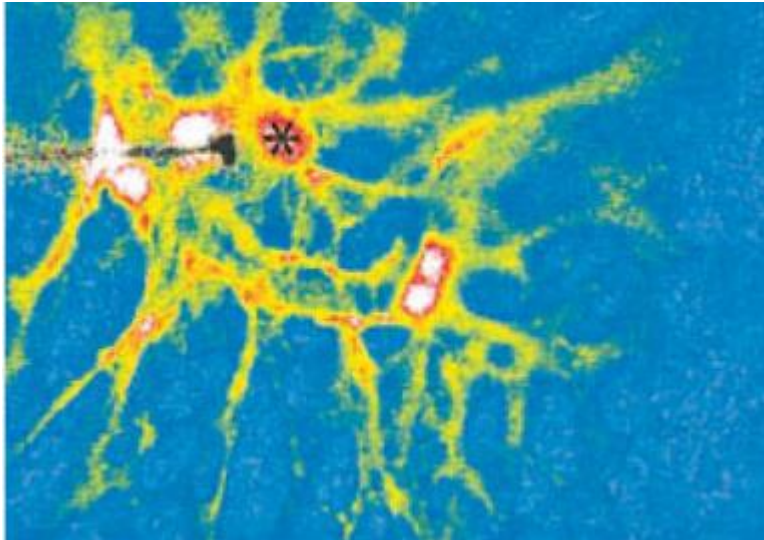


Figura 24.- Imagen de fluorescencia que muestra la propagación de ondas de Ca^{2+} en astrocitos. En presencia de $100 \mu\text{M}$ de suramina (agonista de receptores purinérgicos), la estimulación de un astrocito (asterisco) produce ondas de Ca^{2+} que se propagan a otros astrocitos para comunicarse. Modificado de Newman, 2004.

La astrogliá al igual que la GM también expresa los canales iónicos y poliaminas como la espermidina, los cuales mantienen la integridad de su membrana y regulan las concentraciones de iones dentro de ellos. Expresan canales Kir que en conjunto con receptores-canal a acetilcolina (presentes solo en astrocitos, no en GM), les ayudan a mantener sus funciones y su estabilidad intracelular (Laube y Veh, 1997; Skatchkov et al, 2000; Sontheimer, 1994). Las células de la astrogliá son capaces de modificar y regular la actividad de las células ganglionares al poseer los mecanismos de recaptura y conversión del glutamato, mediante la expresión del transportador GLAST-1 y la GS (Derouiche y Rauen, 1995; Rauen et al., 1998; Rauen y Wiessner, 2000) (**Figura 25**).

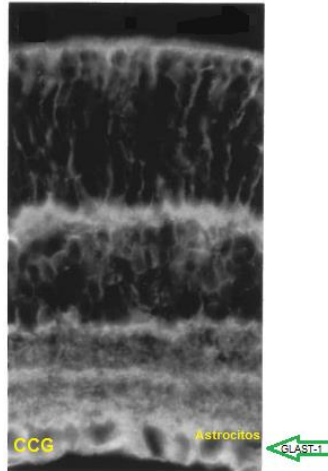


Figura 25.- Inmunolocalización de GLAST-1 en la retina de rata. La señal aparece a lo largo de la morfología de la GM y en la CCG debido a la presencia también de astrocitos en esta zona. Modificado de Rauen y Wiessner, 2000.

Una de las formas más utilizada para identificar a los astrocitos compartida con la GM, es la inmunolocalización de GFAP la cual se expresa de forma constitutiva en los procesos de los astrocitos (Bjorklund y Dahl, 1985; Grosche et al., 1995; Lewis et al., 1995; Stone y Dreher, 1987). Lo anterior puede parecer muy obvio, pero este marcaje de astrocitos, ha ayudado a descifrar sus funciones y asegurar su presencia y localización en la retina; más allá de ello, gracias a la GFAP se han podido elucidar los mecanismos de gliosis o reactividad glial en la retina (Huxlin et al., 1995; Karschin et al., 1986; Lewis et al., 1995). Unas de las moléculas que en exceso afectan más la integridad de los astrocitos (resultados obtenidos al menos *in vitro*) son las sustancias de carácter ácido (por ejemplo el ion amonio y el ácido glutámico) (Brooks et al., 1989; Kanamori y Ross, 1997; Marcaggi y Coles, 2001), ya que el pH bajo o cambios bruscos en sus valores conlleva a la pérdida del balance iónico en las células gliales generando un cambio de volumen celular (Kanamori y Ross, 1997; Marcaggi y Coles, 2001). Debido a su función glial de recaptura de glutamato y la producción de glutamina para eliminar el exceso de este aminoácido, dependientes del flujo del ion amonio (Grant et al., 1999), se concluye que estos cambios en los niveles de amonio son más drásticos y frecuentes en células gliales que en neuronas en la retina (Marcaggi y Coles, 2001) **(Figura 26)**.

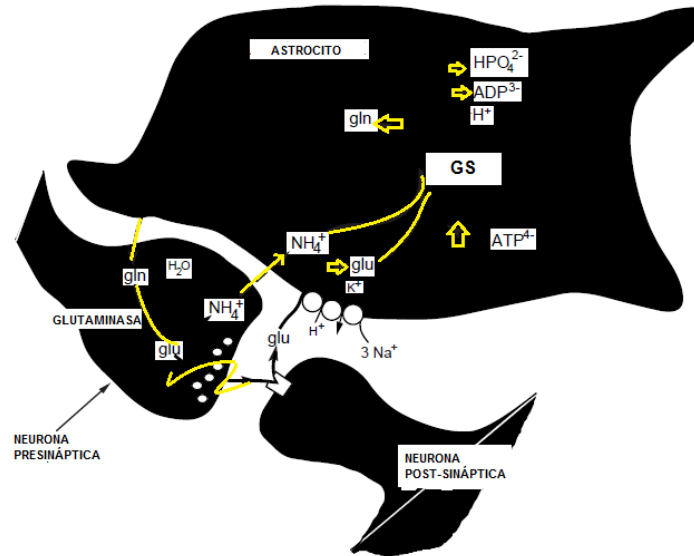


Figura 26.- Esquema que muestra el flujo de glutamato/glutamina entre los astrocitos hacia las neuronas implicando una transferencia neta de nitrógeno, en su forma más probable, el ión amonio. Modificado de Marcaggi y Coles, 2001.

II.4.3. Microglía

El tercer tipo de célula glial presente en la retina de los vertebrados y más aún los mamíferos, es la microglía, que en número representa la menor proporción de células gliales en este tejido (Medina, 1996). La distribución de las células de la microglía retiniana fue estudiada por primera vez mediante la tinción con carbonato de plata (Ling, 1982), posteriormente se utilizaron técnicas de histoquímica enzimática (lectina conjugada con peroxidasa) (Ashwell, 1989) y finalmente inmunohistoquímica (anticuerpos para los complejos principales de histocompatibilidad, MHC-I, MHC-II y complejo de diferenciación número 45, CD45) (Diaz-Araya et al., 1995; Hume et al., 1983; Provis et al., 1996). Como se dijo en secciones anteriores, la microglía se localiza sólo en la retina interna en condiciones fisiológicas (CFNO, CCG, CPI y CNI); aunque recientemente se detectó la presencia de unas cuantas células en la CPE (Zeng et al., 2000) (**Figura 27**). La localización exacta de la microglía en la retina adulta no se ha elucidado completamente, sin embargo existen estudios en donde se demostró que las células microgliales quiescentes están distribuidas a través de la retina formando una red de células inmunoefectoras (Chen et al., 2002). Estas propiedades efectoras incluyen: la defensa contra microorganismos, inmunorregulación y reparación de tejidos

(fagocitosis de residuos celulares) (Provis et al., 1996). Se ha considerado últimamente a la microglía como el principal componente del sistema inmune innato en la retina (Chen et al., 2002).

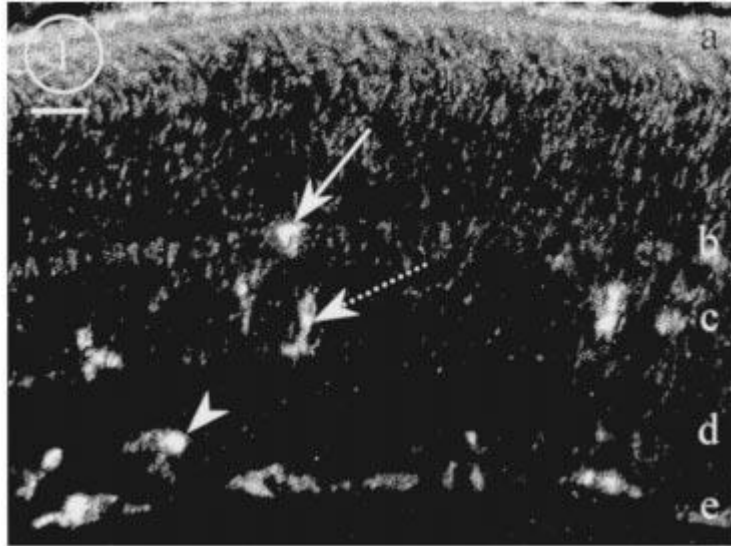


Figura 27.- Microfotografía confocal que muestra a la microglía retiniana en ratas. Tras la inyección del marcador isotiocianato de rodamina, se observan a las células de la microglía señaladas en los diferentes estratos de la retina. (a) coroides, (b) CPE, (c) CNI, (d) CPI y (e) CCG. Barra de escala =25 μ m. Modificado de Zeng et al., 2000.

La microglía es capaz de expresar constitutivamente las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad-II, asociadas con la presentación de antígenos y la promoción de la respuesta inmune en la retina (Chen et al., 2002; Gehrmann et al., 1993; Penfold et al., 1993).

Además se han utilizado anticuerpos acoplados a rodamina (fluoróforo), que reconocen proteínas de membrana presentes en la microglía como el complemento tipo 3 y al antígeno de macrófagos (OX-42 y ED-1, respectivamente), entre otros anticuerpos (Zeng et al., 2000). Una tinción con lectina acoplada a biotina, también puede marcar a la microglía y evidenciar su localización y activación en la retina, en cultivos primarios de estas células (Mertsch et al., 2001) (**Figura 28**).

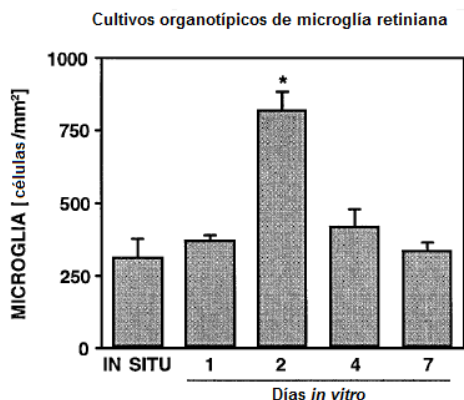


Figura 28.- Cuantificación de la densidad de células de microglía retiniana de rata Wistar de 8 días de nacimiento, tras la identificación de la isoforma lectina IB4. Se observa un aumento en la concentración celular en la segunda división. Modificado de Mertsch et al., 2001.

Como en los otros tipos celulares gliales de la retina, en la microglía también están presentes los mecanismos de acción de los nucleótidos y nucleósidos; involucrados a su vez en la modulación de la actividad neuronal (Karlstetter et al., 2010; Streit, 1993). De la mano con lo anterior se sabe que existe una regulación purinérgica muy importante de la funcionalidad microglial, al menos en otras regiones del SNC, no sería sorprendente encontrar dicho efecto dentro de la retina (Lecca et al., 2012). Se sabe que el ATP es capaz de inducir procesos de quimioatracción de la microglía, inducir el potencial fagocítico de estas células, incrementar la proliferación celular e inducir la producción de citocinas (Karlstetter et al., 2010). Mientras que la adenosina es capaz de regular la contracción y elongación de sus procesos y controlar la liberación y el flujo de citocinas (Lecca et al., 2012). La microglía puede expresar ambas clases de receptores purinérgicos P1 y P2, más aun expresa los subtipos P2X (ionotrópicos, dependientes de Ca^{2+}) y metabotrópicos (P2Y), teniendo así la posibilidad de controlar sus concentraciones de ATP y adenosina principalmente; haciendo a estas células un modelo muy utilizado en el estudio de la señalización celular purinérgica (Davalos et al., 2005; Hanisch y Kettenmann, 2007; Melani et al., 2005; Wang et al., 2007).

II.4.4. Epitelio pigmentario retiniano (EPR)

El EPR descubierto hace ya más de 100 años en la retina, ha sido ampliamente estudiado desde diversos ámbitos para entender su función (Springfield, 1972; Wolff,

1938). Una de las primeras funciones del EPR que empezó a estudiarse es su participación en la formación y mantenimiento de la BHR externa (Cunha-Vaz, 1976; Raviola, 1977). Esta porción de la barrera, está regulada en gran parte gracias a las uniones estrechas entre las células del EPR, uniones más resistentes a la acción del estrés iónico; pero más susceptibles al estrés osmótico que otras uniones intercelulares (Laties y Rapport, 1976). Este tipo de uniones se forman gracias a la acción de factores liberados en la retina neural (Rizzolo y Li, 1993). Actualmente se sabe gracias a estudios en roedores, que uno de los principales factores reguladores de la resistencia celular del EPR en la funcionalidad de la BHR es el VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial; factor pro-angiogénico e inductor de vasopermeabilidad) (Harnett et al., 2003; Neufeld et al., 1999; Zech et al., 1998). Los efectos del VEGF fueron evaluados en dos especies de mamíferos *in vivo* (retina porcina) e *in vitro* (células del EPR humano). En dicho trabajo se verificó que tras la administración de 502 pg/mL en células ARPE-19 (Amy Aotaki Keen Retinal Pigment Epithelium-19) y 251 pg/mL en células porcinas después de 5 horas; el VEGF, mediante su receptor tipo 2 (solamente encontrado en la zona apical del EPR), reduce considerablemente la resistencia transepitelial del EPR provocando por tanto un fallo en la BHR externa (Ablonczy y Crosson, 2007; Miyamoto et al., 2007) (**Figura 29**).

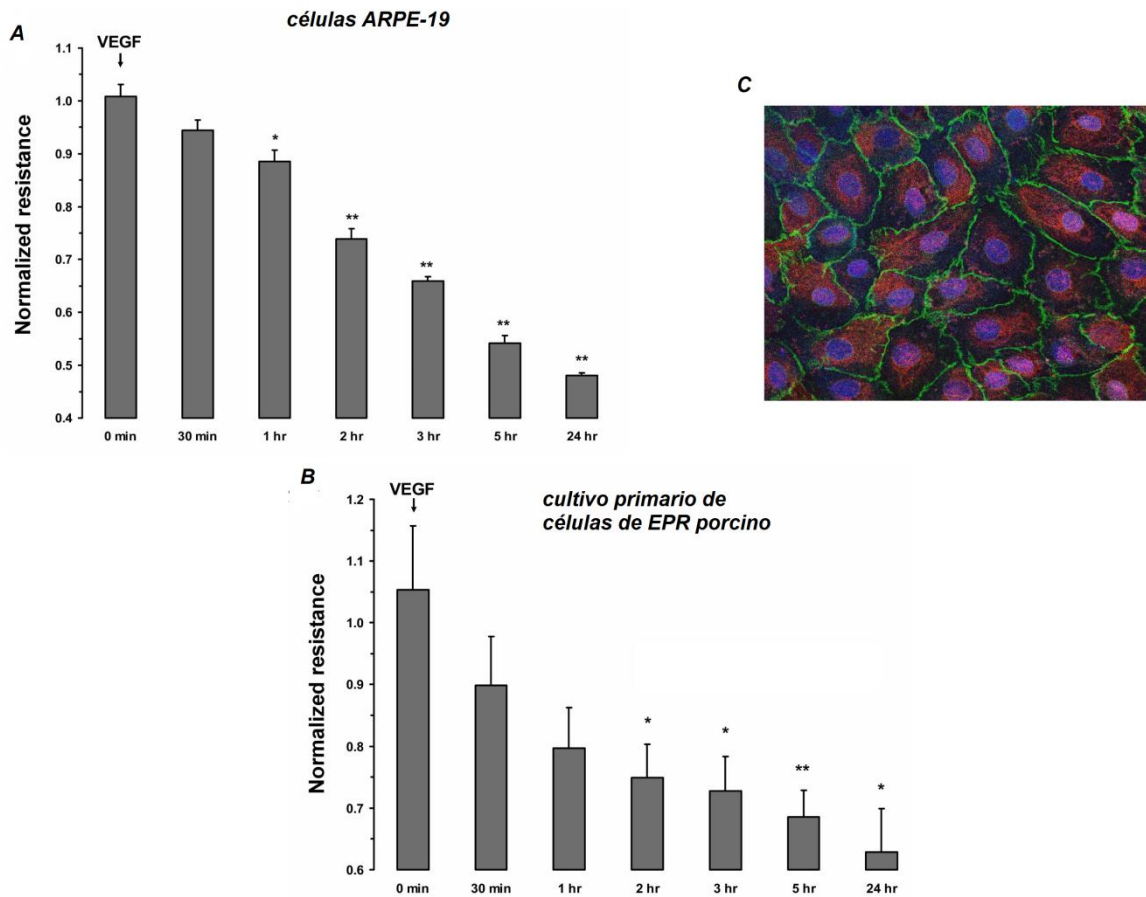


Figura 29.- Efecto del VEGF en la regulación de la permeabilidad del EPR. En A y B se observan las cuantificaciones de la resistencia transepitelial del EPR en células ARPE-19 y cultivos primarios de EPR de cerdo, respectivamente. Se observa claramente un decremento en la resistencia celular en ambos casos conforme avanza el cultivo. En C se observa una fotografía de la co-inmunolocalización del receptor de VEGF tipo 2 (rojo) y la proteína de oclusión epitelial *zonula ocludens-1* (ZO-1) (verde), en cultivos de EPR de cerdo. Modificado de Ablonczy y Crosson, 2007.

El desarrollo experimental actual ha llevado incluso a hallazgos muy importantes *in vitro* acerca de la funcionalidad del EPR en la composición de la BHR externa. Dunn y colaboradores en 1996 reportaron que la línea ARPE-19 es capaz de mostrar todas las propiedades presentes en la BHR externa *in vivo*. El experimento consistió en cultivos primarios de EPR humano que exhibían un alto potencial de crecimiento uniforme en forma de monocapa en placa; además expresaron algunos marcadores de EPR como: la proteína de unión a retinaldehído celular (CRALBP) y la proteína específica del EPR (RPE65), verificados por técnica de *Northern blot*. Gracias a trabajos como este y a muchas otras evidencias; estas células se han convertido en un

modelo de estudio de la función del EPR (Dunn et al., 1996; Mannermaa et al., 2010) (Figura 30).

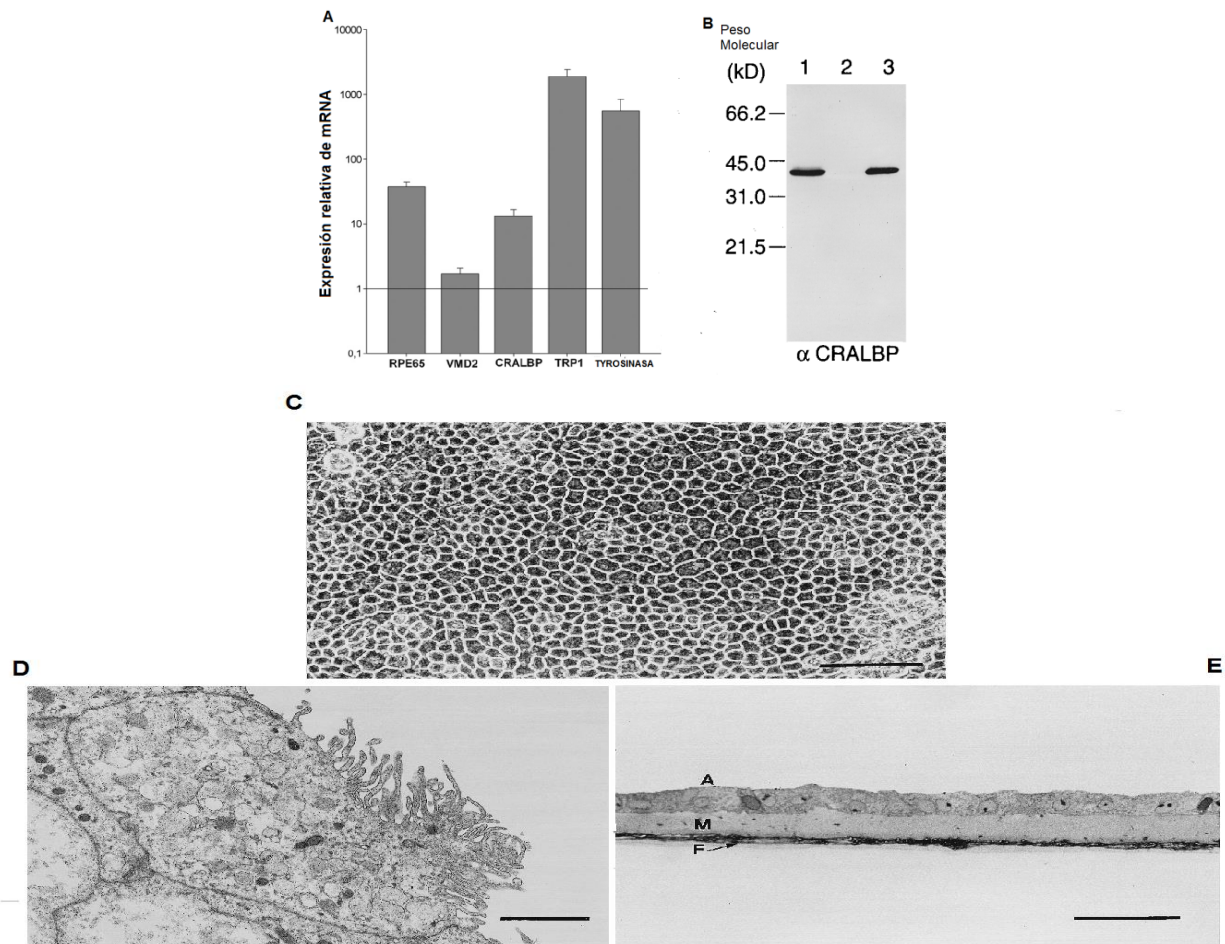


Figura 30.- Evidencias experimentales que muestran la versatilidad de las células ARPE-19 como modelo de estudio del EPR. En (A) se muestra la cuantificación de expresión de genes presentes normalmente en las células del EPR, la comparación se realizó en cultivos de ARPE-19 filtrados (mayor grado de pureza y limpieza) con respecto a cultivos en placa. En (B) se observa la expresión positiva de la proteína CRALBP en cultivos de células ARPE-19 (carril 1), la expresión negativa de células que no la expresan (carril 2) y la proteína pura (carril 3). En (C) se muestra una fotografía de un cultivo de 6 semanas en placa de células ARPE-19, barra de escala= 100 μ m. En (D) se observa una micrografía por transmisión de electrones de las microvellosidades producidas por una monocapa de células APRE-19 en cultivo, barra de escala= 2 μ m. En (E) se observa una micrografía de luz de la habilidad de formación de monocapas de las células ARPE-19 [A] en cultivo sobre un filtro de soporte [F] y una matriz de gel [M], barra de escala= 50 μ m. (A) tomado de Mannermaa et al., 2010; (C-E) tomados de Dunn et al., 1996.

Desde hace más de dos décadas se evidenció la expresión de proteínas participantes en la formación de uniones de oclusión interepitelial en el EPR; ejemplos

de ellas son la γ -glutamyl-transpeptidasa y el transportador de glucosa-1 (GLUT-1) (Krause et al., 1988; Takagi et al., 1994) (**Figura 31**).



Figura 31.- Imagen de microscopía electrónica que muestra la eficiencia e integridad de la BHR externa. El lantano coloidal se utilizó como trazador para evaluar la permeabilidad del EPR. Se observa el colorante en la superficie de una unión estrecha interepitelial pero no penetra hacia la retina (flecha); más aún se observa el lantano de manera abundante en la Membrana de Bruch (parte inferior). Tomado de Vinore, 1995.

A partir de los hallazgos anteriores, se empezó una incansable búsqueda de evidencias que mostraran la versatilidad del EPR, tanto en condiciones normales como patológicas. Se encontró que este epitelio es capaz de absorber el exceso de luz que entra en la retina, al formar una especie de recubrimiento oscuro en el fondo de la misma (Strauss, 2005). Es tal la cantidad de fotones que penetran en la retina, que puede ocurrir con frecuencia que muchos de ellos no logren acoplarse a la rodopsina neural para excitarla, por tanto son capaces de formar especies reactivas de oxígeno al entrar en contacto con biomoléculas presentes en el espacio extracelular (Bok, 1993). El EPR se encarga de la protección oxidativa al menos de tres maneras: 1) la primera es la absorción de luz difusa mediante la presencia de pigmentos especializados (v.g, melanina) (Beatty et al., 2000; Boulton, 1998). Los melanosomas absorben aproximadamente el 60 % de la luz que no es absorbida en los fotorreceptores, mientras que el resto es absorbido por la lipofuscina que se encuentra en el EPR (Delori et al., 2001; Weiter et al., 1986). 2) la segunda es la acción de antioxidantes, el EPR contiene antioxidantes enzimáticos como la superóxido dismutasa y la catalasa. También

posee defensas antioxidantes no enzimáticas como los carotenoides, luteína, ascorbato, tocoferol, melanina y glutatión (Beatty et al., 2001, 2000; Frank et al., 1999; Miceli et al., 1994; Newsome et al., 1990, 1994; Strauss, 2005). 3) la tercera defensa es la capacidad de regenerar el ácido desoxirribonucleíco (ADN), proteínas y lípidos de los fotorreceptores (Strauss, 2005).

El EPR posee una gran resistencia paracelular con respecto a la transcelular (diez veces mayor), haciendo este epitelio extremadamente estrecho (Miller y Steinberg, 1977a, 1977b). El EPR se encarga de la remoción de agua de la retina externa gracias a la presencia de AQP-1 y puede regular el transporte de iones y nutrientes desde los capilares coroidales hacia los fotorreceptores, ya que como se menciona anteriormente existe una gran acumulación de agua en la retina debida principalmente a la actividad neuronal y a la presión intraocular que ejerce el vítreo sobre la MLI (Marmor, 1990, 1999). El transporte de agua se regula principalmente por el flujo de los iones Cl^- y K^+ (Blaug et al., 2003; Botchkin y Matthews, 1993; Dornonville de la Cour, 1993; Frambach et al., 1989) y además el EPR posee una ATPasa de Na^+ y K^+ del lado apical (Gundersen et al., 1991; Marmorstein et al., 1998b; Marmorstein, 2001). Como se explicó antes, el EPR se encarga de nutrir a los fotorreceptores desde la sangre coroidal, mediante el paso de glucosa a través de transportadores (GLUT-1 y GLUT-3) (Kim et al., 2007); pero también se encarga proveer el retinol, asegurando así la concentración de retinal necesaria en los SE. El EPR es capaz de modular la homeostasis metabólica en el espacio subretiniano por flujo transepitelial, ya que puede compensar los cambios rápidos que ocurren en la composición iónica en esta zona (Steinberg, 1985).

Recordemos que existe un gran flujo de iones K^+ y Na^+ hacia dentro de los fotorreceptores durante la cascada de fototransducción, provocando una caída considerable en la concentración de K^+ en el espacio subretiniano (Ebrey y Koutalos, 2001). El EPR es el encargado de amortiguar dichos cambios iónicos y lo hace de la siguiente manera: la caída brusca de la concentración de K^+ provoca la hiperpolarización de la membrana apical del EPR, lo que causa la activación de los canales Kir, que responden a los cambios de voltaje (Baylor, 1996; Dornonville de la Cour, 1993). Una vez activados, son capaces de compensar la pérdida de K^+ en el

espacio subretiniano, donde en condiciones normales la conductancia de este ion es menor; por tanto si hay mayor cantidad de K^+ en la zona apical, tenderá a transportarse al lado basal para equilibrar (Baylor, 1996; Hughes y Takahira, 1996; La Cour, 1985; Segawa y Hughes, 1994; Strauss, 2005).

Con esto último se hace mención de que el EPR forma parte del ciclo visual, al realizar la reisolomerización del *all-trans-retinal* a *11-cis-retinal* para que pueda ser utilizado nuevamente por los fotorreceptores y realizar la fototransducción (Baehr et al., 2003; Sparrow et al., 2010). El EPR posee la enzima necesaria para lograr esto, la cual se conoce como *cis-trans-isomerasa*, la cual no puede producirse en los fotorreceptores (Baehr et al., 2003).

Por otro lado, las células del EPR están involucradas en la fagocitosis y renovación de los residuos de los SE en la retina neural (Sparrow et al., 2010). Estos residuos se generan debido a la constancia del estímulo visual en los SE y provoca que se vayan desgastando los componentes de las membranas de los discos induciendo la acumulación de sustancias tóxicas (Beatty et al., 2000). Por lo anterior es necesaria una renovación de las puntas de los fotorreceptores, y esta función la realiza el EPR fagocitándolas y reenviando las moléculas que son necesarias para los fotorreceptores (v.g retinal y ácido docosahexanoico) , y lo hace de manera similar al ciclo visual al englobar el material de desecho y aportar nuevamente nutrientes (Bibb y Young, 1974; Bok, 1993).

De manera muy similar a la glía retiniana, el EPR es capaz de secretar factores tróficos hacia la retina neural. Por lo que se sugiere que la interacción EPR-neuronas no puede estar limitada sólo a la comunicación de receptores complementarios como las integrinas de membrana, sino que también existe una neurotransmisión y una interseñalización química (McKay et al., 1997; Rizzolo, 1997; Strauss, 2005). Evidencias experimentales dicen que el EPR puede secretar factores esenciales para la integridad de la retina, como la metaloproteasa de matriz inhibidora de tejidos, el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1), CNTF, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), VEGF y el factor de crecimiento derivado del epitelio del cristalino (LEDGF) (solo en condiciones patológicas) (Ahuja et al., 2001; Bost et al., 1992; Cao et

al., 1997, 1999; Della et al., 1996; Eichler et al., 2002; Martin et al., 1992; Strauss et al., 1996; Tanihara et al., 1993; Yamaguchi et al., 2001). Más aún el EPR es capaz de liberar el PEDF en la retina sana, el cual sirve para mantener tanto la estructura retiniana como la adecuada función coroidal (al prevenir la angiogénesis) (Dawson et al., 1999; King y Suzuma, 2000; Ogata et al., 2002).

III. Papel de la glía retiniana y del epitelio pigmentario retiniano en condiciones patológicas

De la misma manera que la glía y el EPR son células esenciales para que la retina sea un tejido funcional e integral, también suelen tener una participación crucial en la patología de la retina. En muchas patologías retinianas, las funciones normales de estos dos tipos celulares se ven afectadas y en muchos casos son ellas mismas las que inducen acciones que desencadenan en la patogénesis (Bringmann et al., 2006; Delori et al., 2001; Langmann, 2007; Reichenbach y Bringmann, 2010; Sparrow et al., 2010).

III.1. Patologías de la retina

Los padecimientos que afectan a la retina son muy diversos, sin embargo muchos de ellos tienen semejanzas y comparten factores comunes que permiten su asociación y clasificación (Bernas-Pierce et al., 1998; Marc et al., 2003). Una de las clasificaciones más aceptadas y completas de las enfermedades retinianas, comprende dos tipos de padecimientos: 1) patologías con retina de apariencia normal (No progresivas); v.g. amaurosis congénita, distrofias de conos, acromatopsia, ceguera nocturna congénita. 2) patologías con retina de apariencia anormal (Progresivas); v.g. infecciones, anomalías estructurales congénitas y adquiridas como la retinitis pigmentosa, el retinoblastoma, la retinopatía del prematuro, las retinopatías vasculares (isquemia retiniana, la retinopatía diabética, la retinopatía hepática), las retinopatías maculares (el edema macular diabético, la degeneración macular asociada a la edad, la telangiectasia macular) (Bernas-Pierce et al., 1998; Jan et al., 1983; Spalton et al., 1955). En otra clasificación aceptada a nivel de salud pública y que parece más adecuada para tratar

en este trabajo, las patologías de la retina se pueden dividir en cuatro clases: a) enfermedades vasculares, b) enfermedades maculares, c) distrofias retinianas y d) tumores retinianos (Jan et al., 1983).

Para fines prácticos de la explicación en esta monografía, sólo se van a mencionar algunos de los principales padecimientos retinianos, con particular atención hacia aquellos que se relacionan con la participación glial y del EPR.

Del inciso a) se mencionan:

- La retinopatía diabética (RD).- se puede definir como una microangiopatía progresiva caracterizada por lesiones y oclusión de los vasos pequeños. La causa de las lesiones vasculares es la hiperglucemia crónica, estas alteraciones dan lugar a un engrosamiento de la membrana basal del capilar y a una pérdida de pericitos. Al afectarse la pared vascular se produce un aumento de la permeabilidad lo cual ocasiona edema de retina, exudados duros (por depósito de lípidos y lipoproteínas extracelulares) y el flujo sanguíneo se disminuye (Antonetti et al., 2006; Gittinger y Asdourian, 1999; Tolentino, 2009). La RD tiene tres subclasificaciones: 1) pre-retinopatía diabética, 2) RD no proliferativa (focalizada), 3) RD proliferativa (extensión a toda la retina).

- Oclusiones venosas de la retina.- son la afección vascular más frecuente después de la retinopatía diabética. Ocurren en la edad adulta, con una frecuencia igual en ambos sexos. Generalmente son unilaterales, aunque en un pequeño número de casos pueden ser bilaterales. Puede haber de dos tipos: oclusión de vena central de la retina y oclusión de rama venosa de la retina. Se produce por alguna de las siguientes causas: 1) por aumento de la viscosidad sanguínea. 2) por alteración de la pared venosa y 3) por aumento de la presión externa. Pueden presentarse: disminución progresiva de la agudeza visual, hemorragias, tortuosidad y dilatación venosa, edema retiniano. Las complicaciones más importantes son: edema macular e isquemia con la consiguiente neovascularización (Gittinger y Asdourian, 1999).

- Retinopatía del prematuro (ROP).- es una retinopatía vasoproliferativa (debido a la isquemia) que constituye una importante causa de desprendimiento de retina en niños y adultos jóvenes. Los factores de riesgo son: bajo peso al nacer (muy frecuente en niños con peso menor de 1300 gr), prematuridad, horas excesivas de ventilación en

incubadoras (altos niveles de oxígeno) y fototoxicidad. La retina permanece avascular hasta el cuarto mes de gestación. La retina temporal es la última en vascularizarse; este proceso se completa en el momento del nacimiento. Cuando se interrumpe la vascularización normal de la retina (por la prematurez) comienzan a producirse una serie de *fases* que determinan los estadios de la enfermedad. Donde hasta los últimos estadios se presenta el desprendimiento de la retina (Bernas-Pierce et al., 1998; Gittinger y Asdourian, 1999).

Del inciso b) se mencionan:

- Degeneración macular asociada a la edad (DMAE).- es un proceso degenerativo y progresivo del epitelio pigmentario retiniano, membrana de Bruch y coroides. Se presenta en pacientes a partir de los 50 o 60 años de edad y es una causa importante de ceguera (Bhutto y Luty, 2010; Gittinger y Asdourian, 1999; Treumer et al., 2006). Se presenta en dos formas: seca o atrófica y húmeda o exudativa (Beatty et al., 2000; Zayit-Soudry et al., 1989). Tiene varios factores de riesgo además de la edad incluyendo: la hipertensión arterial, el tabaquismo y la fototoxicidad. A la lesión que indica el inicio de la enfermedad se le denomina “drusa” (depósitos hialinos situados entre el epitelio pigmentario retiniano y la membrana de Bruch) (Jan et al., 1983; Tolentino, 2009; Zayit-Soudry et al., 1989). La forma seca da lugar a una atrofia mientras que la exudativa puede originar una membrana neovascular subretiniana. No existe ningún tratamiento efectivo en la forma seca y en las formas exudativas se puede realizar tratamiento con láser siempre cuando la situación sea parafoveal (Beatty et al., 2000; Jan et al., 1983).

- Coroidopatía serosa central.- se trata de un desprendimiento seroso de la retina limitado al área macular, debido a un defecto del epitelio pigmentario y como consecuencia de ello se produce un escape de líquido de los coriocapilares que se acumula focalmente. Ocurre más frecuentemente en varones jóvenes o de edad madura y suele estar relacionado con estrés. Los síntomas son: visión borrosa, metamorfopsia y escotoma central. La agudeza visual no suele estar muy disminuida (Gittinger y Asdourian, 1999).

Del inciso c) se mencionan:

- Retinitis pigmentaria (RP).- es una enfermedad hereditaria, de carácter autosómico recesivo en la mayoría de los casos, aunque también puede ser autosómica dominante o ligada al cromosoma X; cuyos signos y síntomas suelen aparecer en la edad adulta. Se caracteriza por: degeneración pigmentaria en retina periférica, estrechamiento de las arteriolas retinianas y papila cérea. La lesión histológica consiste en la pérdida de fotorreceptores, atrofia del epitelio pigmentario de la retina y de coriocapilares. Sus síntomas son: ceguera nocturna y disminución progresiva de la visión periférica. La afectación ocular es bilateral y simétrica (Bernas-Pierce et al., 1998; Gittinger y Asdourian, 1999; Jan et al., 1983).

- Distrofía de conos.- es una enfermedad hereditaria autosómica dominante limitada al área macular, afectando a los conos y ocasionando defectos de la visión de color y pérdida de la agudeza visual. En la angiografía aparece la lesión que se conoce como ojo de buey (un anillo de despigmentación rodeando a una zona central pigmentada). La despigmentación es debida a la ausencia de fotorreceptores (Cho et al., 2013; Hamel, 2007; Jan et al., 1983).

Del inciso d) se mencionan ambos padecimientos; Se pueden clasificar en:

- Benignos (angioma retiniano y hamartoma astrocítico).- los angiomas retinianos capilares son formaciones de color rosado, bilaterales. Se pueden asociar con hemangioblastoma cerebeloso, carcinoma renal y feocromocitoma, también con quistes renales. La agudeza visual se puede afectar por hemorragia o exudación de los vasos. Los hamartomas astrocíticos son tumores blanquecinos retinianos y de la papila óptica poco frecuentes. Se relacionan con la esclerosis tuberosa y con la neurofibromatosis. Son congénitos, pueden aumentar de tamaño y calcificarse. En general cursan asintomáticos y no hay ningún tratamiento (Jan et al., 1983).

- Malignos (retinoblastoma).- el tumor pasa inadvertido hasta que avanza lo suficiente para producir una pupila blanca, que se denomina leucocoria y en estos casos hay que hacer el diagnóstico diferencial con otras enfermedades como son: ROP, persistencia del vítreo primario y catarata (Dimara et al., 2012; Jan et al., 1983).

III.2. La glía en la patología de la retina

A continuación se describirán las evidencias experimentales más relevantes que se han documentado acerca de la participación de la GM en condiciones patológicas de la retina.

Así como se ha venido estudiando a lo largo de los años la función de la GM en la retina, también se ha buscado revelar su papel en ciertos procesos moleculares implicados en la patogenia de la retina en enfermedades como la RD, RP, ROP y DMAE (Bringmann y Wiedermann, 2012; Reichenbach y Bringmann, 2010, 2013). Los primeros ensayos experimentales datan de 1955 con los resultados de Wolter y colaboradores, quienes encontraron una activación de células gliales retinianas en la degeneración de este tejido (enfermedades vasculares de la retina), incluyendo a la GM en humanos sanos y pacientes (Wolter, 1955). Después en aves, se evidenció la reactividad glial de la GM, medida por GFAP, que ocurre tras un daño en la regulación del flujo coroidal (Núcleo de Eninger-Westphal) (Fitzgerald et al., 1990). Años más tarde en un modelo *in vivo* en rata de ROP, se evidenció nuevamente la reactividad glial por GFAP donde sugirieron la participación de la GM en la patogénesis de esta enfermedad (Calogero y Ricci, 1994). Relacionando la función de la GM en la regulación y amortiguamiento de iones y NT's en la retina, sugiriendo una neuroprotección en condiciones fisiológicas, un grupo de trabajo encontró que la disfunción de los transportadores de glutamato (GLAST-1 y EAAT5) y el desbalance de las concentraciones de amonio estaba involucrada en la degeneración isquémica en la retina del mono (Ottersen et al., 1996). Contrario a lo anterior, igualmente en la década de los 90's, se concluyó que el daño por excitotoxicidad en condiciones de trauma e isquemia (característicos de DMAE, RD, etc) es atenuado por la acción metabólica de la GM *in vitro* (Gorovits et al., 1997). A finales de los 90's en un modelo *in vitro* con GM de rata lo que se hizo fue inducir estrés oxidativo con t-butilhidroperóxido y se midió la viabilidad celular después de administrar glutatión al cultivo. Se concluyó que el glutatión producido y capturado por la GM provee protección contra el estrés oxidativo (v.g. peróxido de hidrógeno) que se produce en enfermedades como la DMAE, ROP y

glaucoma (enfermedad que causa la pérdida de las fibras del nervio óptico, debido al aumento de presión intraocular), entre otras. (Kannan et al., 1999) (**Figura 32**).

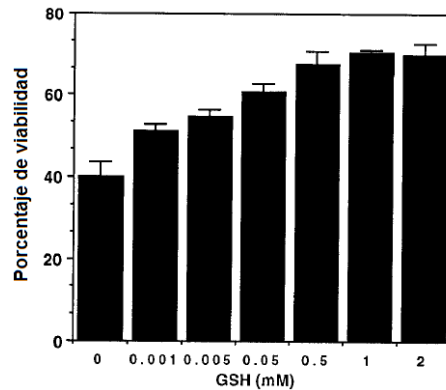


Figura 32.- Cuantificación del efecto de la administración de diferentes concentraciones de glutatión exógeno en la viabilidad celular de un cultivo de GM de rata, en presencia de un peróxido (150 μ M). Modificado de Kannan et al., 1999.

Dentro del problema del estrés oxidativo, se ha visto que la GM es capaz de incrementar su producción de HO-1 (proteína atrapadora de moléculas oxidantes), en condiciones de daño oxidativo presentes en patologías como la RD y ROP; atenuando los efectos del daño en la retina (Ulyanova et al., 2001) (**Figura 33**).

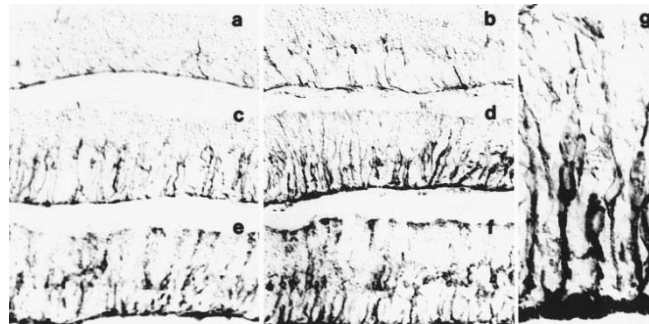


Figura 33.- Crio secciones de secciones retinianas exhibiendo la expresión de HO-1 (GM) después de 18 horas de incubación con arseniato de sodio: b) 10 μ M, c) 50 μ M y d) 250 μ M; ó peróxido de hidrógeno e) 10 μ M y f) 1000 μ M. a) es el control y g) es una magnificación del panel d. Tomado de Ulyanova et al., 2001.

Se ha visto en otras patologías como la vitreorretinopatía (enfermedad en la cual ocurre una neovascularización en la retina interna periférica, caracterizada por hemorragias, edema, isquemia y desprendimiento de la retina) que los canales Kir expresados en la GM en cultivos de células humanas, tienen una participación

importante al mantener la integridad del potencial de membrana de las mismas para evitar la pérdida de flexibilidad y elasticidad de las mismas (ver apartado de fisiología) y su posterior degeneración (Pannicke et al., 2000). La GM, como se explicó previamente, tiene la función esencial de mantener la homeostasis iónica e hídrica en la retina (Bringmann y Wiedermann, 2012). En un trabajo de Bringmann y colaboradores se mostró que en condiciones patológicas como en el edema macular o un evento isquémico, los somas de la GM se hinchan debido a la disfunción de los sistemas de equilibrio (disfunción de los receptores iónicos de glutamato, lo que causa un aumento en el flujo intracelular de Ca^{2+} , induciendo a su vez la activación de la maquinaria de apoptosis), decayendo así las corrientes de K^+ en la parte extracelular, conllevando a la pérdida de su potencial de membrana y por tanto a la pérdida de sus funciones vitales (Bringmann et al., 2005, 2006). El trabajo arriba mencionado se basó en el empleo de un modelo de isquemia-reperfusión en rebanadas de retina de rata, donde se midieron las corrientes de K^+ como marcador de viabilidad de la GM en periodo post-isquémico y en reperfusión para evaluar el decaimiento de las mismas (**Figura 34**).

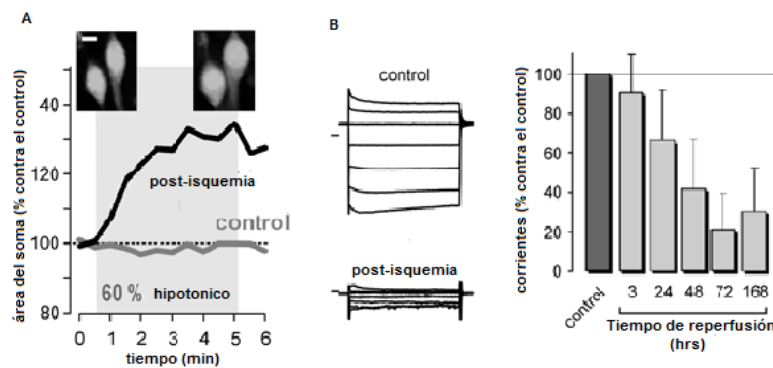


Figura 34.- Efecto del proceso de isquemia en la homeostasis de iones en la GM, particularmente K^+ . En (A) se muestra el incremento del volumen del soma de la GM en un periodo post-isquémico de 6 minutos. En (B) se muestra la corriente normal de los Kir, en comparación con el periodo post-isquémico (izquierda); y la cuantificación del decaimiento significativo de estas corrientes a lo largo de la reperfusión (derecha). Modificado de Bringmann et al., 2005.

Totalmente contrario a sus funciones de neuroprotección en condiciones fisiológicas, la GM es capaz de proliferar anormalmente y migrar para formar las conocidas membranas epi-retinianas en la región interna, disminuyendo así la visión en zonas focalizadas (Fletcher et al., 2008; Guidry, 2005). Esto ocurre durante las últimas etapas de la patogénesis de las enfermedades vasculares de la retina debido a la

formación de una cicatriz en las células gliales, que incluye un cambio en el fenotipo y una expresión de proteínas contráctiles como GFAP y microfilamentos (Guidry, 2005). En cuanto al control del volumen de agua en la retina, recordemos que la GM es capaz de expresar las AQP, y se ha visto que cuando existe un defecto o una disfunción en la expresión de estas proteínas, se conduce a la formación de edema retiniano que se asocia con RD y DMAE (Fukuda et al., 2010; Qin et al., 2009).

Como se ha estado revisando, la GM es capaz de activarse bajo diversas condiciones en ciertas patologías, sin embargo el rol de estas células sigue aun sin comprenderse en el curso de la RP (Zhao et al., 2010). Tratando de describir este proceso, el grupo de Zhao y colaboradores encontró que en un modelo clásico de RP en ratas, la GM se activaba en las etapas tempranas, debido al proceso de degeneración retiniana (Zhao et al., 2010). Después de la activación, la glía prolifera y se vuelve hipertrófica; mientras que en etapas tardías forman también membranas epiretinianas, e incrementan su actividad metabólica debido a los factores difusibles de la retina en degeneración (Zhao et al., 2010). Lo anterior solo sugiere una evidencia en la que se muestra que la GM se activa en respuesta al daño (como un proceso secundario); en vez de ser la causa de la patogénesis como se pensaba anteriormente (Zhao et al., 2010).

Hallazgos muy recientes muestran la reactividad glial, en un modelo de degeneración retiniana de RP en rata. Lo que se hizo fue evaluar la inmunoreactividad de la nestina a diferentes días post-natales y se vio mediante *Western blot* y expresión génica, que sólo hasta el día post-natal 30 había una re-expresión de nestina de manera simultánea con la reactividad glial en los animales distróficos. Con ello se evidenció la respuesta de la GM aunada a la re-expresión de la proteína nestina (proteína de filamentos intermedios, mayormente encontrada en las células progenitoras neuronales/gliales en etapas tempranas del desarrollo) en etapas adultas para inducir regeneración y recuperación del tejido dañado teniendo éxito (Valamanesh et al., 2013; Xue et al., 2010) (**Figura 35**).

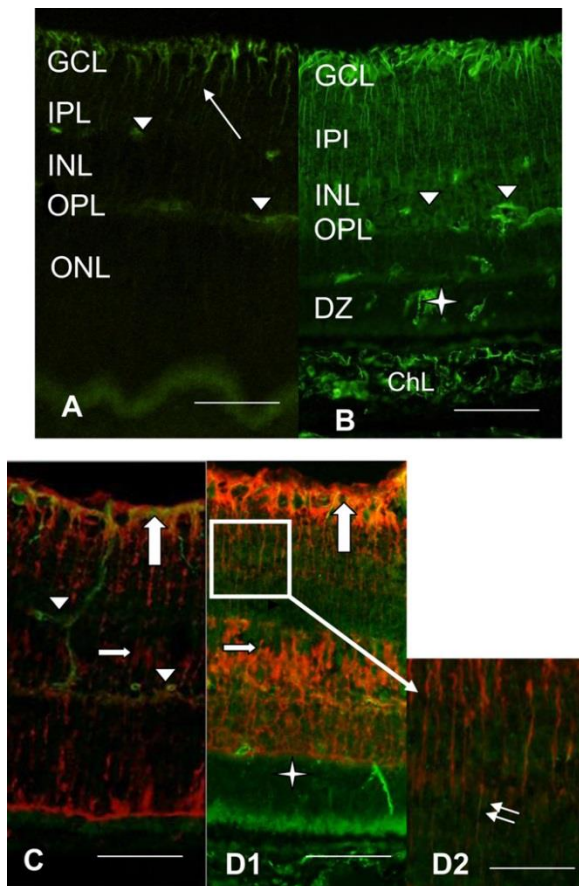


Figura 35.- Expresión de la nestina en retinas de ratas controles (A) y con retina distrófica (B) en el día post-natal 40. Las cabezas de flecha indican la señal de la proteína en las diferentes capas de la retina. El panel (C) indica la co-localización de la nestina con GS en ratas control. D1 y D2 indican dicha señal pero en retinas distróficas, siendo D2 una magnificación de D1. Las flechas dobles indican la mayor intensidad obtenida de la señal en D2. Tomado de Valamanesh et al., 2013.

Una evidencia muestra que mediante la secreción de factores tróficos como el GDNF por parte de la GM, tras la inyección intravitreal de adenovirus que induce dicha secreción en un modelo de rata, se puede producir un reversión del daño neuronal que atenúa la progresión de la RP por cinco meses. Lo anterior puede funcionar como un blanco potencial para realizar tratamiento génico en diversas condiciones neurodegenerativas (Dalkara et al., 2011).

De igual forma en el 2011, se reconoció, que al igual que la microglía, la GM funge un papel esencial en la modulación de procesos inflamatorios en la retina, lo cual forma parte del sistema inmune innato en dicho tejido (Shamsuddin y Kumar, 2011). Y mientras que el sistema endocanabinoide juega un papel central en la modulación de la respuesta inmune en el SNC, se encontró recientemente que la exposición de cultivos

primarios de GM a este tipo de moléculas endógenas, conduce a la liberación de citocinas anti-inflamatorias como la interleucina-1 e inhibe la liberación de aquellas pro-inflamatorias como el factor nuclear-kappa B (NF- κ B) (Krishnan y Chatterjee, 2012).

De forma contraria a su rol fisiológico neuroprotector, la expresión de netrina-4 en la GM (una molécula que sirve como guía del crecimiento axonal neuronal), en condiciones de hipoxia/isquemia, es capaz de inducir el proceso de angiogénesis conduciendo a neovascularización coroidal en patologías como la DMAE. Por tanto el entender la vía de señalización por medio de la cual actúa esta molécula en este determinado periodo, puede ayudar a entender la modulación que realiza sobre la patogénesis y así poder reducirlo o eliminarlo (Lange et al., 2012).

Aunque ya se trató en secciones anteriores la función de los astrocitos en la retina, cabe recordar que este tipo celular tiene un número considerablemente menor de roles en este tejido. Ahora se mencionarán los principales aspectos moleculares y biológicos de su participación en algunos de los eventos patológicos en la retina. De igual manera que la GM, los astrocitos se activan cuando existe un proceso de degeneración en la retina, esto se concluyó mediante trabajos que muestran la inmunoreactividad de la proteína GFAP. Encontraron que no solo ocurre una activación; si no estas células participan de manera notable en el desprendimiento de la retina, en patologías que involucran un daño traccional (Mishima et al., 1989; Wolter, 1955). En la retina de gato se encontró que los astrocitos son capaces de responder activamente mediante el aumento de su metabolismo, lo anterior se comprobó en los 80's en un modelo de daño al nervio óptico por fotocoagulación (Karschin et al., 1986). Posteriormente, se determinó el papel de los astrocitos en un modelo de ROP (hipoxia), en el cuál estas células degeneran. Esta degeneración conduce a la pérdida de funcionalidad de la BHR interna, pero de manera interesantee se da una re-colonización de astrocitos y la barrera se reestablece (Chan-Ling y Stone, 1992; Morcos y Chan-Ling, 2000).

Un resultado que mostró la capacidad de los astrocitos para proteger a las neuronas retinianas del daño por estrés oxidativo, fue el obtenido por Desagher y

colaboradores en un modelo de daño por peróxido de hidrógeno en rata. Donde se encontró una clara recuperación de la viabilidad celular tras la activación de los complejos enzimáticos antioxidantes que es capaz de expresar esta célula glial (Desagher et al., 1996). Estos datos se obtuvieron al incubar neuronas con peróxido de hidrógeno a diversas concentraciones (10-100 μM), se midió su viabilidad (por métodos enzimáticos) 24 h después de la administración, observándose una clara disminución. Dicha disminución fue notablemente atenuado cuando estas células se co-incubaron con astrocitos.

Gracias a su capacidad de ayudar a mantener la homeostasis de neurotransmisores y a que posee los mecanismos para formar parte del ciclo de vida del glutamato por ejemplo, el astrocito retiniano es también capaz de atenuar el daño por excitotoxicidad causado por un evento traumático o isquémico. El mecanismo de acción por el cual sucede esto, es mediante la acción de la GS estimulada por los glucocorticoides que intervienen en su regulación (Gorovits et al., 1997). La astrogliá en la retina también posee numerosos canales iónicos para mantener el equilibrio iónico de su microambiente (Pannicke et al., 2000; Sontheimer, 1994; Verkhratsky et al., 1991). Entre ellos se encuentran los canales Kir, pero también posee canales de K^+ de rectificación saliente en sus membranas, los cuales se ha especulado que tienen la misma función homeostática (Sontheimer, 1994). En el 2008, el grupo de Fletcher et al., observó que los astrocitos son capaces de expresar la proteína ciclooxygenasa-2, la cual se conoce como un inductor de angiogénesis en el SNC y otros tejidos (Leahy et al., 2002; Tsujii et al., 1998). De hecho la sobre-expresión de esta enzima se ha visto activa dentro de procesos de diabetes y de ROP, relacionándose así fuertemente con la patogénesis de estas entidades al provocar la formación de nuevos vasos sanguíneos permeables y deficientes (Fletcher et al., 2008; Sennlaub et al., 2003; Wilkinson-Berka et al., 2003).

De manera contraria, se describió la participación que ejercen los astrocitos retinianos en modelos experimentales de daño al nervio óptico por axotomía (García y Koke, 2009). En dichas condiciones, estas células gliales son capaces de participar activamente en la regeneración del tejido dañado, al menos en vertebrados inferiores (Cho y Chen, 2008; Cho et al., 2005). Y hasta hace unos años existía una controversia

referente a que los astrocitos presentan un obstáculo para permitir la regeneración (García y Koke, 2009). Pero gracias a evidencias experimentales recientes se comprobó que estas células gliales son capaces de ayudar a regenerar el tejido dañado, particularmente la capa de células ganglionares (CCG), las células endoteliales y la capa de fibras del nervio óptico (CFNO); el mecanismo de acción conocido hasta el momento es gracias a la acción del factor neurotrófico ciliar (CNTF) liberado por los astrocitos (García y Koke, 2009; Miotke et al., 2007; Müller et al., 2007; Wang et al., 2008) (**Figura 36**).

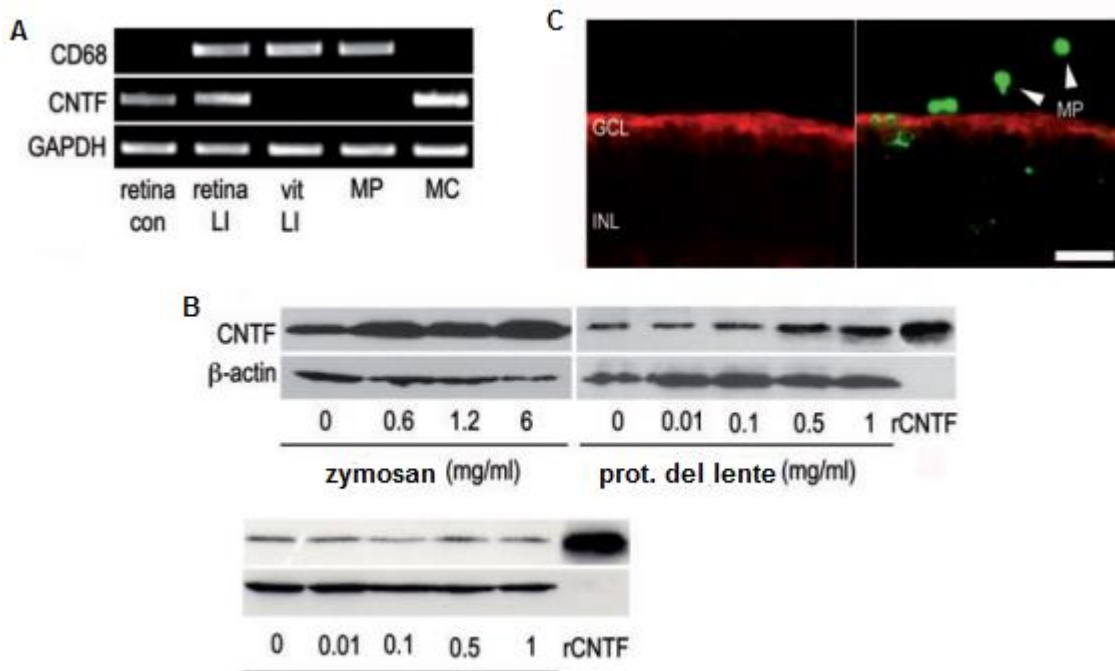


Figura 36.- Sobre-expresión del CNTF en astrocitos retinianos. En (A) se observa un experimento de RT-PCR para CNTF, donde se observa una gran expresión de este factor en las muestras de retina control y retina de sujetos con lesión en el lente, las demás cargas son controles. En (B) se presenta un ensayo de *western blot* representativo donde se muestra el aumento dosis-dependiente de la expresión de CNTF en retinas expuestas a zimosan (agente que induce la expresión de CNTF) y proteínas derivadas del lente (arriba) y expuestas a albumina sérica bovina (abajo). Nótese que solo en las retinas inducidas con lesión (arriba) hay un aumento de expresión. En (C) se muestra la inmunorreactividad para astrocitos de la CFNO positivos para anti-CNTF (rojo). Barra de escala= 50 μ m. Modificado de Müller et al., 2007.

Un hallazgo reciente, muestra que existe una población de astrocitos presente en la CCG y en la zona de la cabeza del nervio óptico, la cual es capaz de mantener la expresión del factor *Pax-2* (factor de transcripción esencial en el desarrollo del sistema visual en todos los vertebrados e involucrado en los procesos de neurogénesis (Goode

y Elgar, 2009; Macdonald y Wilson, 1996; Morcillo et al., 2006)). En este trabajo se vio que *Pax-2* se activa en los astrocitos durante la regeneración del nervio óptico y las células ganglionares tras un daño por axotomía en un modelo de pez dorado (Parrila et al., 2013) (**Figura 37**).

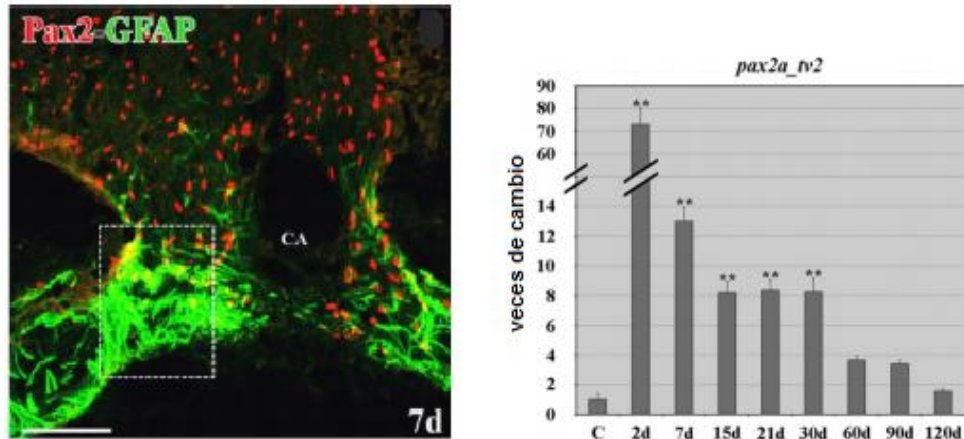


Figura 37.- Evidencias que muestran la expresión de *Pax-2* en la retina de pez dorado. A la izquierda se muestra una co-inmunolocalización de GFAP (astrocitos) con este factor en la región de la cabeza del nervio óptico a los 7 días post-lesion del mismo. Barra de escala= 100 μ m. A la derecha se muestra la expresión relativa del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) del factor de transcripción en la retina, en diferentes días después de la lesión. Modificado de Parrila et al., 2013.

El tercer tipo de glía en la retina es la microglía, la cual tiene menos funciones perfectamente descritas en comparación con la macroglía retiniana. Es un tipo celular que ha sido un poco olvidado, por las razones arriba mencionadas. Pero hay ciertas evidencias de que no solo está involucrado en la respuesta inmune o fagocítica en la retina. A continuación describiré algunos de los trabajos más relevantes donde han estudiado a la microglía y su relación con la patología de la retina.

Los estudios documentados del rol microglial en la disfunción de la retina inician a principios de la década de los 70's donde se describió la participación de la microglía en la patogenia del glaucoma y el melanoblastoma coroidal (Cammermeyer, 1967; Vrabec, 1973, 1975) (**Figura 38**).

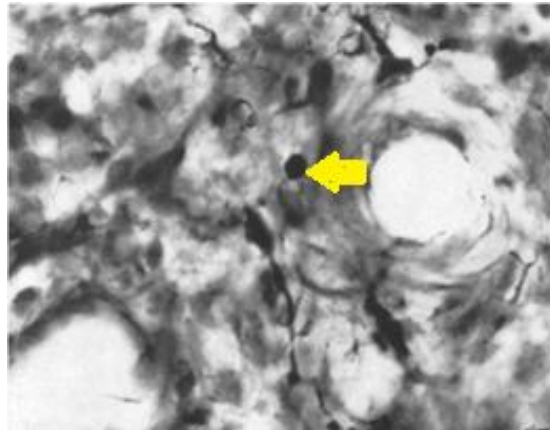


Figura 38.- Micrografía que muestra la microglía de la retina teñida en negro por el método de Hortega. La microglía se encuentra rodeando los vasos sanguíneos y los microaneurismas en una muestra de retinopatía diabética central humana. El microaneurisma se encuentra abajo a la izquierda y el vaso sanguíneo a la derecha. Tomado de Vrabec, 1975.

Estudios posteriores acerca de la microglía señalan que estas células fagocitan los remanentes celulares en las capas CNE y CCG en un modelo de degeneración retiniana hereditario (con degeneración de fotorreceptores) en rata (Thanos, 1992). Existen otras evidencias contradictorias que afirman que la microglía es capaz de producir sustancias neurotóxicas como óxido nítrico (ON) en exceso, ácido aspártico y glutámico en exceso, ante procesos de degeneración traumática como la transección o axotomía del nervio óptico o glaucoma (Moore y Thanos, 1996; Salvador-Silva et al., 2000; Stoll y Jander, 1999). En fin, como se puede observar son suficientes las evidencias que involucran el papel de la microglía en la regeneración retiniana o su participación en las lesiones del nervio óptico. En un estudio realizado en el 2007, se vio a través de una técnica de histoquímica enzimática, que una transección del nervio óptico induce la activación de la microglía, además de un incremento en la densidad de células microgliales en las capas: CFNO, CPI y CCG. Vieron también que la administración de inyecciones intravitreales de factores tróficos induce cambios en la microglía retiniana; una inyección con BDNF por ejemplo, retrasó la activación de la microglía tal vez por la neuroprotección ejercida en las células ganglionares, y en el caso de la inyección de NT3 (neurotrofina 3) hubo una inhibición parcial en la activación de la microglía de la capa CFNO (Lorber et al., 2008; Sobrado-Calvo et al., 2007).

Ya entrada la primera década del siglo XXI existen experimentos como los de Caicedo et al., que proponen un panorama de la participación de la microglía en la

DMAE. En ese trabajo se explicó que la microglía y los macrófagos provenientes del torrente sanguíneo, contribuyen a la neurodegeneración. Lo hacen mediante la expresión y secreción de moléculas pro-inflamatorias que tienen la capacidad de activar a la GM, y teniendo como consecuencia final la inducción de una neovascularización coroidal, característica de diversos problemas patológicos como al DMAE, la RD, el edema macular y la ROP (Caicedo et al., 2005) (**Figura 39**). Estudios enfocados en patologías que presentan neovascularización en la retina han demostrado que la microglía puede participar en la liberación de agentes angiogénicos, que actuando en conjunto con el VEGF, estimulan a las células endoteliales (Zeng et al., 2000). Se vio que la microglía se acumula en regiones donde ocurre un daño vascular, como son venas dilatadas, microaneurismas, hemorragias intraretinianas, y donde se presenta neovascularización retiniana y vítrea (Zeng et al., 2000). Además este tipo de glía ejerce un papel protector en la DMAE al englobar y fagocitar material de desecho, como la lipofuscina (constituyente del drusen), y al migrar al área del espacio sub-retiniano (Gupta et al., 2003). De forma controversial, estudios realizados en ratones albinos homocigotos para el receptor de quimiocina tipo 1, CX3C y la MCP-1 incubados en condiciones de luz, observaron que se puede iniciar la patogénesis de la DMAE debido a la acumulación de microglía (inhibe su proceso normal de migración) y drusen en el espacio sub-retiniano, la degeneración del EPR, la neovascularización coroidal y la atrofia de los fotorreceptores. Dichos resultados fueron comparados contra aquellos de animales criados en oscuridad en los cuales no se observaron los signos (Combadière et al., 2007; Tuo et al., 2007).

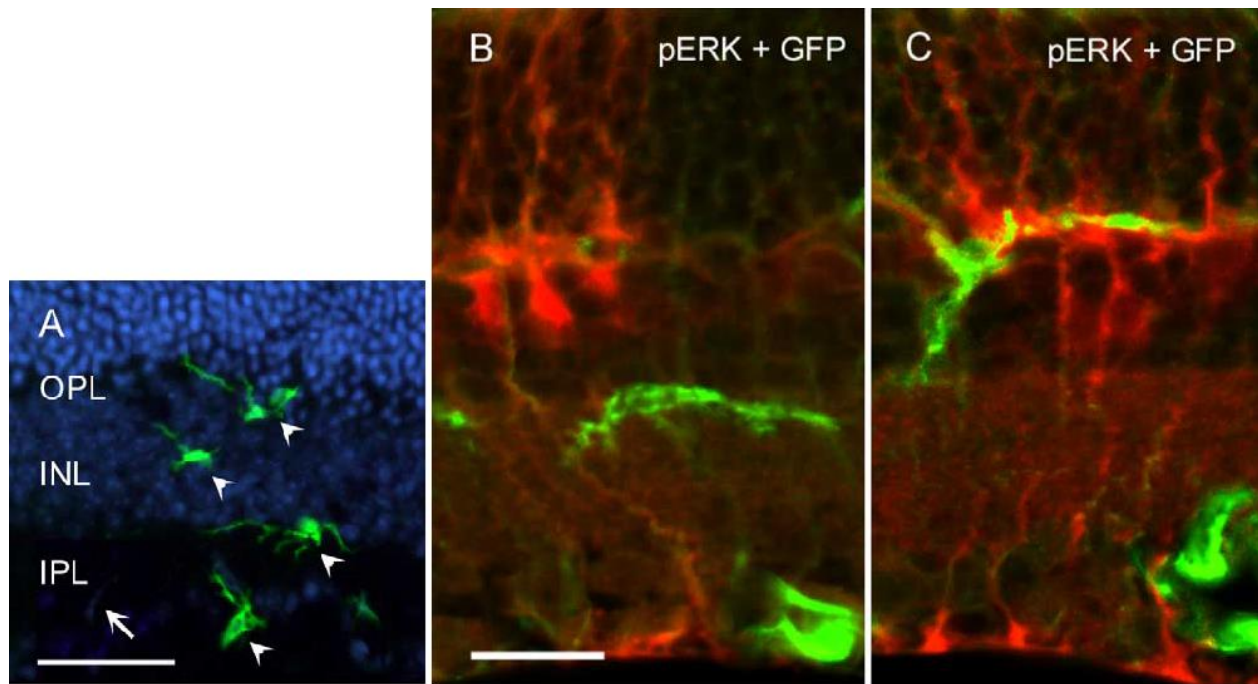


Figura 39.- Imágenes de fluorescencia que muestran la activación glial en un modelo de neovascularización coroidal en ratones. En el panel A se observan células de la microglía reactivos con un marcador para macrófagos, acoplado a la GFP en diversas capas de la retina. Barra de escala= 50 μm . En B y C se muestra la co-localización de la señal de GM activa y macrófagos circulantes (incluyendo microglía), tras un daño retiniano. Barra de escala= 20 μm . Tomado de Caicedo et al., 2005.

Se vio en el apartado anterior que la microglía actúa en la respuesta innata del sistema inmune, pero sabemos que en algunas condiciones patológicas su función se modifica. Por ejemplo, en enfermedades autoinmunes la microglía actúa activando la patogénesis de la uveítis y, aunado a esto, delimitando la subsecuente inflamación (Chen et al., 2002). En diversos estudios, se encontró que la microglía retiniana participa con patologías como son la vitreoretinopatía, retinopatía diabética, glaucoma y degeneración macular asociada a la edad (Chen et al., 2002). En el individuo adulto la microglía se encuentra en estado quiescente, pero se ha visto en diversos estudios que en procesos patológicos (inflamación, axotomía del nervio óptico, etc.) se activa teniendo un papel importante en estas condiciones (Chen et al., 2002).

Existen datos de la intervención de la microglía en la retinopatía diabética en la rata; en ellos se demuestra que la densidad de microglía activa se incrementa significativamente después de 4 semanas de diabetes inducida (Rungger-Brändle et al., 2000). El efecto de la microglía activa puede contribuir al desarrollo de la neuropatía en

la retina diabética (Kradý et al., 2005; Rungger-Brändle et al., 2000). Además, se ha visto que la sobre-regulación de MCP-1 en las neuronas retinianas en un modelo de roedor con retinopatía diabética activa a la microglía, lo cual se exagera por la exposición a productos con glucosidación avanzada (Dong et al., 2012). Otro dato importante generado por el grupo de Kradý es que la minociclina (agente neuroprotector y anti-inflamatorio) inhibe la liberación de citotoxinas por parte de la microglía, lo que reduce significativamente la actividad de la caspasa-3 dentro de la retina por tanto se reducen las posibilidades de inducción de muerte celular (Kradý et al., 2005). Finalmente en el 2013 se realizó un estudio para observar el efecto que tenía la vitrectomía (cirugía comúnmente practicada en oftalmología para remover el vítreo para reducir las fuerzas traccionales y opacidad en la retina) en la microglía retiniana de conejo. Se practicó una vitrectomía parcial en los conejos y se evaluó por medio de inmunohistoquímica y técnica de *patch-clamp* la reactividad microglial después de la operación. Se encontró que la vitrectomía parcial induce una respuesta masiva de la microglía a los 7 días después de la operación, caracterizada por cambios morfológicos, migración intraretiniana y señales autocrinas de proliferación. De manera interesante la reactividad de la microglía no estuvo asociada a la reactividad de la GM (medida por la expresión de GFAP o la disminución de sus corrientes entrantes) o a la pérdida de células neuronales (Ulbricht et al., 2013) (**Figura 40**).

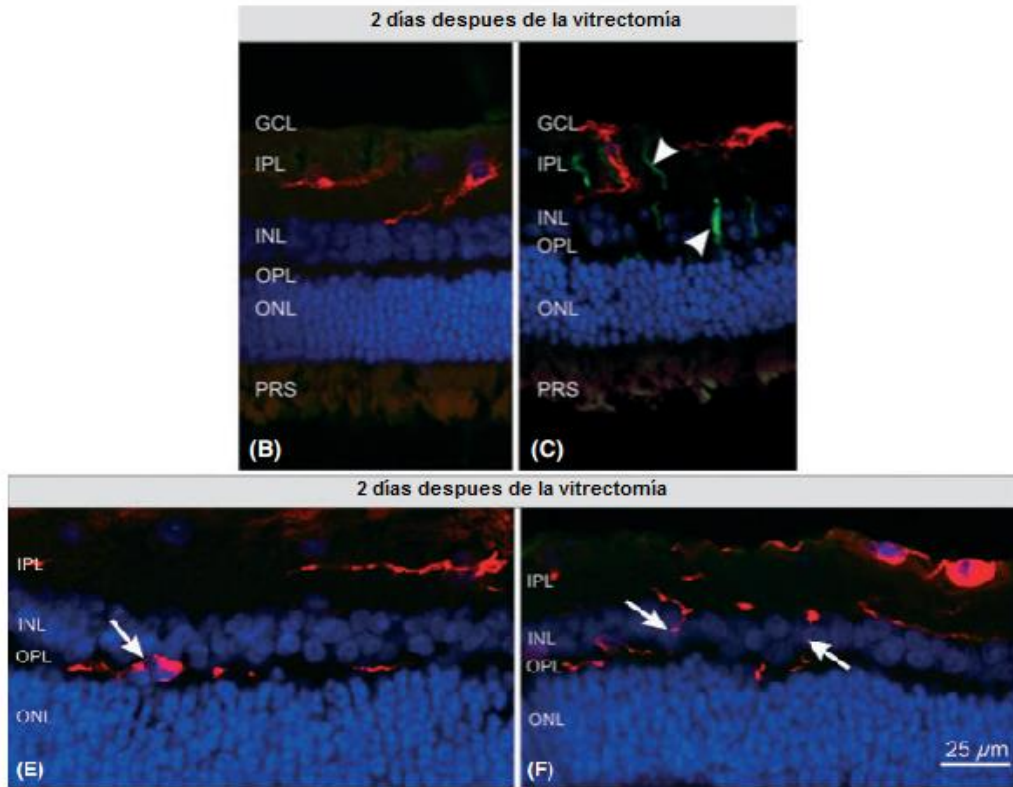


Figura 40.- Evidencia de la activación de las células de la microglía retiniana. En los paneles superiores se observa en secciones verticales de retina de conejo, la reactividad y cambios morfológicos (rojo) de las células microgliales en la retina interna tras la cirugía. Mientras que en el los paneles inferiores se observan también células de microglía en migración hacia las capas de la retina externa en el mismo periodo. Tomado de Ulbricht et al., 2013.

III.3. El epitelio pigmentario retiniano en la patología de la retina

El estudio del EPR en la retina es un tema complejo, y desgraciadamente no podemos compararlo ni morfológicamente ni estructuralmente con la glía de la retina. Sin embargo, gracias a los componentes etiológicos comunes de muchos de los padecimientos que aquejan a la retina, es que podemos relacionar estos dos tipos celulares, para estudiar sus interrelaciones en la patología retiniana o bien su participación individual.

Son muchos los estudios que han evidenciado el papel del EPR en la patología de la retina, es por eso que en la presente revisión sólo me limitaré a mostrar algunos

de ellos partiendo de la documentación de los años 90's. En el año de 1992 se describió por primera vez la participación del EPR, encontrando que provocaba incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos coroidales, provocando así la neovascularización en modelos animales de degeneración retiniana de los fotorreceptores. Lo anterior se planteó como una analogía de la biología que ocurre en el desarrollo de enfermedades como la DMAE y RD (Burns y Hartz, 1992). Después el grupo de Casaroli-Marano observó que las células del EPR humanas eran capaces de de-diferenciarse tanto *in vivo* como *in vitro* para dar lugar a la formación de membranas epi-retinianas de estirpe mesenquimal en patologías proliferativas (vitreooretinopatías) (Casaroli-Marano et al., 1999).

Ya en el año 2001, un grupo de trabajo en sus experimentos en la retina de *Xenopus laevis*, se dio cuenta de que el PEDF secretado por las células del EPR en un modelo de RD, era necesario para mantener la integridad de la retina y fungía como factor neuroprotector de células gliales. Y más allá de ello mostraron que la retina presentaba una disfunción tanto morfológica como funcional cuando se removía el EPR (Jablonski et al., 2001) (**Figura 41**).

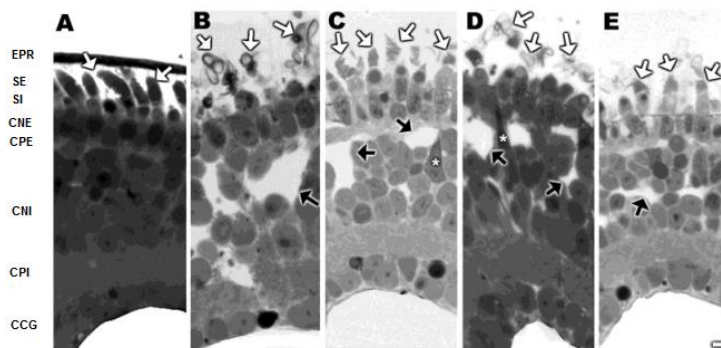


Figura 41.- Morfología retiniana en varias condiciones de cultivo. En A se observa la retina normal con EPR, en B se observa una desorganización histológica debido a la remoción del EPR. En C se adicionó PEDF exógeno y se observa una recuperación de la organización celular, en D se bloqueó la acción del PEDF y se obtiene un patrón similar de desorganización que en B. En E se adicionó un suero no-inmune que no fue capaz de bloquear la acción del PEDF. Barra de escala= 10 µm. Tomado de Jablonski et al., 2001.

Cuando la producción de ON en el EPR supera los mecanismos de su eliminación, se produce su acumulación y daño en la retina en modelos *in vitro* que

asemejan diversas patologías como las retinopatías que involucran un proceso isquémico (DMAE, ROP, RD, edema) y el glaucoma (Koga et al., 2003). Durante el mismo año, otro artículo mostró la señalización e interacción entre el EPR y las células endoteliales vía acción del VEGF, era capaz de conducir a una degeneración de la BHR externa y la posterior neovascularización coroidal (Ablonczy et al., 2009; Ablonczy y Crosson, 2007).

Existe mucha información acerca de las patologías que aquejan directamente la funcionalidad e integridad del EPR, unas de estas patologías son la DMAE y la RD (las cuales además de todo son en conjunto las principales causas de pérdida de la visión en adultos mayores, alrededor del mundo). La característica común de estas patologías y del conjunto de eventos que provocan la disfunción del EPR es la neovascularización coroidal, en la cual los vasos sanguíneos recién formados son disfuncionales y tienen una alta permeabilidad, permitiendo la acumulación de agua y metabolitos en la retina, entre otras complicaciones (Zayit-Soudry et al., 1989, 2007). La producción de moléculas como la apolipoproteína-1 (involucradas en el metabolismo de eliminación de lípidos) por el EPR en condiciones de RD, puede convertirse en un factor preventivo en etapas tempranas de dicha enfermedad evitando la rápida progresión de la misma (Simó et al., 2010) (**Figura 42**). La patogenia de enfermedades como la RD involucra la acumulación de agua y metabolitos (entre ellos sustancias de carácter lipídico) que provocan la pérdida de la función del EPR debido a la separación de éste con la coroides o debido a la neovascularización.

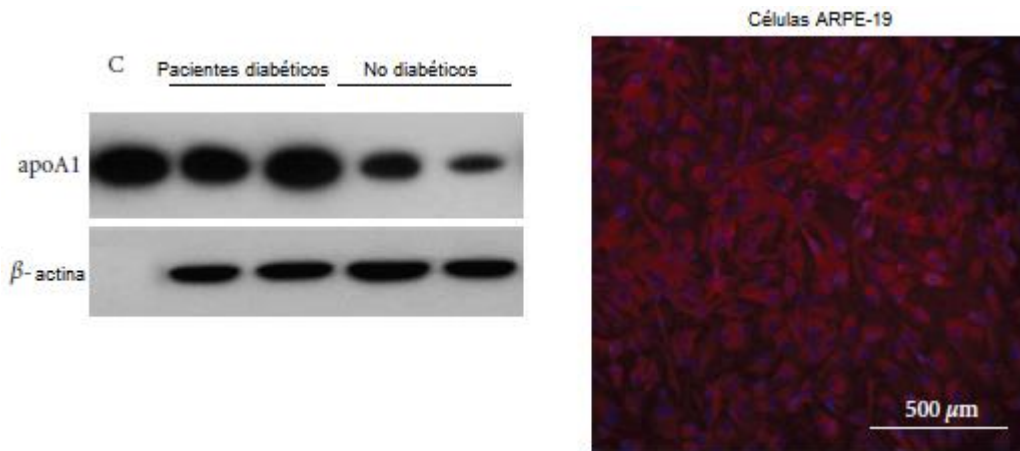


Figura 42.- Resultados que muestran el contenido de la proteína apolipoproteína-1 en el EPR. En el panel de la izquierda se muestra un inmunoblot donde las muestras de pacientes diabéticos tienen niveles de expresión mucho mayores de la proteína, lo cual promueve protección mediante el aceleramiento de los mecanismos de eliminación de lípidos. A la derecha se encuentra la inmunolocalización de la proteína en las células ARPE-19. Tomado de Simó et al., 2010.

Dentro de los estudios relacionados con la DMAE, está el realizado por Pons y colaboradores en 2011, quienes estudiaron el efecto que tenían los componentes del cigarro en exacerbar la patología en su subclase seca o atrófica. El interés por realizar este trabajo surgió debido a la alta frecuencia con la cual las personas tienen el hábito de fumar. Uno de los componentes del cigarro es la hidroquinona (un potente oxidante) es capaz de inhibir la producción de enzimas anti-inflamatorias o moléculas necesarias en procesos de inflamación en el EPR como factores tróficos (PEDF y VEGF) y MCP-1. Lo anterior conlleva a que los macrófagos, microglía y células inmunes no respondan de manera eficiente y suficiente para eliminar los restos celulares pro-inflamatorios y que las mismas células fagocíticas no salgan del tejido, conduciendo a la neovascularización y progresión de la DMAE (Pons et al., 2011) (**Figura 43**).

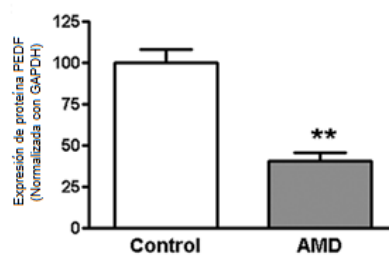


Figura 43.- Niveles de expresión de la proteína PEDF secretada por el EPR, en condiciones control y en muestras de ratones inducidos con un modelo de DMAE. Tomado de Pons et al., 2011.

La DMAE provoca en las células del EPR: cambios de pigmentación, reducción de melanosomas, disminución en la densidad celular, incremento en los gránulos de lipofuscina. Lo anterior conlleva a una degeneración del epitelio, haciéndolo cada vez más vulnerable a la progresión de la enfermedad y provocando así la neovascularización (Bhutto y Lutty, 2010) (**Figura 44**).

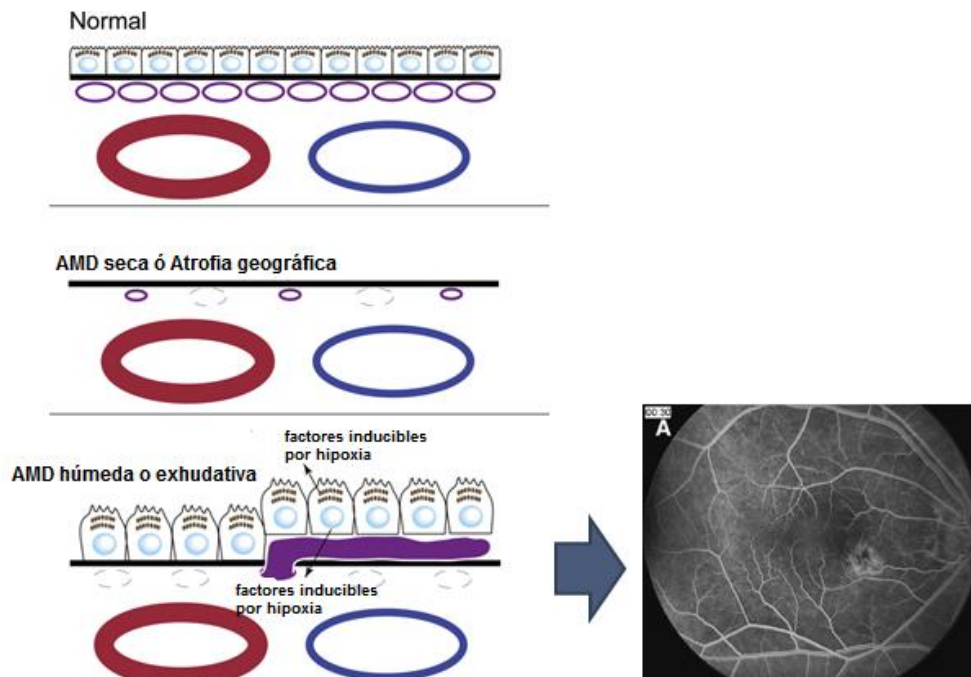


Figura 44.- Se observan la participación del EPR en la patología de DMAE en sus dos clases. A la izquierda se observa la retina normal con su EPR (arriba), la DMAE seca donde hay pérdida total del EPR y los coriocapilares son escasos, mientras que los vasos mayores de la coroides permanecen pero están constriñidos (medio). Se observa la DMAE húmeda donde el EPR permanece pero hay neovascularización (morado), los coriocapilares se han destruido (abajo). A la derecha se muestra una angiografía donde se muestra la neovascularización en forma de una mancha en el centro. Modificado de Bhutto y Lutty, 2012.

El estrés oxidativo crónico es el factor primario de numerosas enfermedades degenerativas de la retina, como es la DMAE, de acuerdo a los datos clínicos y experimentales (Plafker et al., 2012). En ojos obtenidos de pacientes fallecidos con DMAE se encontró que había un daño extensivo en las células del EPR. Además, en modelos de ratón con estrés oxidativo crónico se ha visto que desarrollan características típicas de la DMAE (Plafker et al., 2012). Se ha visto que el daño al ADN mitocondrial por el estrés oxidativo debido a la DMAE correlaciona con la severidad de la enfermedad. En otros estudios donde se analizaron ojos de personas que padecían

DMAE se demostró que existía una acumulación de modificaciones y mutaciones en el ADN mitocondrial de células EPR, lo cual era atribuido a radicales libres generados por estrés (Lin et al., 2011). Estos efectos tienen un origen tanto citoplasmático como mitocondrial, culminando en cambios irreversibles en el ADN mitocondrial (mutaciones), producción de radicales libres, disminución de la cadena respiratoria e incremento de la autofagia para disponer de las mitocondrias defectuosas (Feher et al., 2006; Karunadharm et al., 2010; Plafker et al., 2012).

En un estudio realizado por el grupo de Zhao, en el 2011, detectaron el desarrollo de los signos característicos de la DMAE humana debido al estrés oxidativo crónico. Empleando un modelo de ratón knockout para el factor relacionado al factor nuclear tipo 2 (Nrf-2) encontraron que desarrollaron depósitos similares a drusen, acumulación de lipofuscina, depósitos subretinianos de proteínas inflamatorias y neovascularización coroidal. Por medio de microscopía electrónica, el grupo de Zhao pudo además revelar que células de EPR en el modelo de ratón deficiente en Nrf2 presentaban características semejantes a pacientes con DMAE, como son acumulación de segmentos externos de fotorreceptores fagocitados, autofagosomas, autofagolisosomas entre otros (Plafker et al., 2012; Wang et al., 2009; Zhao et al., 2011).

Recientemente se ha demostrado que hay una regulación a la baja de GLUT-1 en células ARPE-19 por la activación de la vía de señalización la proteína cinasa clase B (Akt) en respuesta a estrés en condiciones de alta glucosa (Kim et al., 2007). En el caso de condiciones de hiperglucemia existe un transporte inadecuado del ácido ascórbico lo que limita el efecto antioxidante del EPR (Minamizono et al., 2006; Salceda y Contreras-Cubas, 2007). Además, se vio en pacientes diabéticos que hay una alteración del transporte de retinol debido a una regulación a la baja de la proteína intersticial de unión a retinol (IRBP) (Simó et al., 2010).

En células ARPE-19 (tres semanas de cultivo) se evaluó la permeabilidad del EPR en condiciones de hiperglucemia (25 mM), que provoca una reducción de este parámetro y este efecto no ocurre como consecuencia de cambios en la expresión de proteínas que forman las uniones estrechas como la *zonula occludens*, la ocludina y la Claudina-1 (Villarreal et al., 2009). Otro estudio realizado en cultivos de celulares de

EPR bovino logró demostrar que la hiperglucemia induce una pérdida en la función de la ATPasa Na⁺/K⁺ lo que equivale a una pérdida en la homeostasis iónica en la retina externa y disfunción de la BHR externa (Crider et al., 1997). Los datos anteriores revelan la existencia de una relación entre la pérdida de homeostasis iónica-hídrica en el espacio subretiniano y los capilares coroidales y el estado de hiperglucemia, lo que puede llevar al desarrollo del edema macular diabético (Simó et al., 2010).

Una estrategia empleada actualmente para recuperar la estructura y función normal de la retina como tratamiento de enfermedades retinianas es el trasplante del EPR (Da Cruz et al., 2007). Como se mencionó anteriormente, el EPR secreta factores tróficos relacionados a la angiogénesis como el PEDF y el VEGF (Cai et al., 2006; Zhao et al., 2006), además de sintetizar elementos de la matriz extracelular. Estas características del EPR para modular el medio extracelular, lo catalogan como un candidato óptimo para tratar patologías que afectan las condiciones fisiológicas de la retina (Da Cruz et al., 2007).

En el caso de la DMAE tipo seca una manifestación del proceso degenerativo es la pérdida del EPR; por lo que el trasplante de EPR puede ser empleado en condiciones específicas donde exista daño a fotorreceptores y el EPR o también en enfermedades que involucren lesiones de la retina externa y coroides (Da Cruz et al., 2007).

Además se han realizado trasplantes de EPR en casos de DMAE atrófica, los cuales presentan generalmente atrofia geográfica central (Joussen et al., 2006; Treumer et al., 2006). Además se están realizando trasplantes en casos de distrofia macular heredada (Da Cruz et al., 2007).

Conclusiones

El tratar de explicar la funcionalidad glial en la retina acota un tanto las posibilidades de documentar la información, sin embargo, sigue siendo un tema de gran controversia. Con el presente escrito podemos darnos una idea de cuan importantes son las células gliales para la función retiniana, ya que están involucradas en prácticamente todos los procesos que en ella se llevan a cabo, yendo desde el mantenimiento de la homeostasis neuronal hasta la modulación sináptica de la señal de la fototransducción y la inmunidad.

La glía es sin lugar a dudas un componente esencial de la estructura retiniana en los vertebrados y más específicamente en los mamíferos; y esta importancia funcional, morfológica y estructural debe ser considerada a la par de las neuronas.

En cuanto a los estudios patológicos, se puede decir, que los tres tipos gliales presentes en el tejido retiniano en mamíferos son miembros activos de la serie de procesos biológicos y moleculares que están implicados en un buen número de padecimientos retinianos. Incluso podemos decir que simplemente un tejido retiniano sin glía no sería funcional y se consideraría ya una condición degenerativa; en otras palabras no hay retina sin glía.

Por otra parte, pero no menos importante, el epitelio pigmentario retiniano, constituye (como lo mencionan diversos autores) un componente versátil en la función visual. Esto puede afirmarse, ya que se encuentra activamente participando desde previo a la llegada del fotón a la retina hasta la salida de la información a través del nervio óptico. Yéndonos a cuestiones que involucran el desarrollo embrionario en los mamíferos (principalmente), se sabe que sin este epitelio la retina no tendría una configuración organizada ni estratificada y más aún no habría células lo suficientemente diferenciadas para llevar a cabo sus roles en la función de la retina. En relación a los hallazgos que comprometen la participación de estas células en la degeneración retiniana, son de igual asombro con respecto a la glía, los procesos que pueden realizar para sobrellevar el daño, o por el contrario promoverlo. Conformando parte funcional y

estructural de la retina era de suponerse que haya tantas implicaciones que se han comprobado experimentalmente acerca de su participación en el daño retiniano.

Como aseveración y conclusión última puedo concordar con la mayoría de autores, que han dedicado su estudio hacia cualquiera de estos tipos celulares, que la glía de la retina (como toda célula glial del organismo) y el EPR son imprescindibles para el funcionamiento de las neuronas en cualquier momento y condición bajo la que se encuentre el tejido retinal ya sea para beneficio y/o protección o para perjuicio y/o degeneración.

Referencias

- Abbott, N. J., Rönnebeck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 41–53. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16371949>
- Ablonczy et al. (2009). Pigment Epithelium-derived Factor Maintains Retinal Pigment Epithelium Function by Inhibiting Vascular Endothelial Growth Factor-R2 Signaling through γ -Secretase. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(44), 30177–30186. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2781573&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ablonczy y Crosson. (2007). VEGF Modulation of Retinal Pigment Epithelium Resistance. *Experimental Eye Research*, 85, 762–771.
- Abmad et al. (2011). Müller Glia: A Promising Target for Therapeutic Regeneration. *IOVS*, 52, 5758–5764.
- Ahuja et al. (2001). Lens epithelium-derived growth factor (LEDGF) delays photoreceptor degeneration in explants of rd/rd mouse retina. *Neuroreports*, 12, 2951–2955.
- Alañón FJ et al. (2002). ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO OCULAR. *Oftalmología en Atención Primaria* (pp. 1–36).
- American Academy of Ophthalmology. (1998). Fundamentals and Principles of Ophthalmology. In AAO (Ed.), *Basic and Clinical Science Course*. San Francisco.
- Antonetti et al. (2006). Diabetic Retinopathy Seeing Beyond Glucose-Induced Microvascular Disease. *Perspectives in Diabetes*, 55, 2401–2411.
- Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neurosciences*, 22(5), 208–215. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10322493>
- Araque et al. (1998). Glutamatedependent astrocyte modulation of synaptic transmission between cultured hippocampal neurons. *Eur J. Neurosc*, 10, 2129–2142.
- Artemyev, N. O., Natochin, M., Busman, M., Schey, K. L., & Hamm, H. E. (1996). Mechanism of photoreceptor cGMP phosphodiesterase inhibition by its gamma-subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(11), 5407–5412. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=39259&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- ASASAC. (2010). EL OJO HUMANO. *Astronomía Autodidacta*. Retrieved from http://almaak.tripod.com/asasac/ojo_humano.htm
- Ashwell. (1989a). Development of microglia in the albino rabbit retina. *Journal of Comparative Neurology*, 287, 286–301.
- Ashwell, K. (1989b). Development of microglia in the albino rabbit retina. *Journal of Comparative Neurology*, 287(3), 286–301. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2674209>
- Baehr et al. (2003). The retinoid cycle and retina disease. *Vision Research*, 43, 2957–2958.
- Barbour et al. (1993). Changes in NAD(P)H fluorescence and membrane current produced by glutamate uptake into salamander Müller cells. *Journal of Physiology*, 466, 573–597.
- Barmack et al. (2004). Activity-dependent expression of acyl-coenzyme A-binding protein in retinal Müller glial cells evoked by optokinetic stimulation. *Journal of Neuroscience*, 24, 1023–1033.
- Barres, B. A. (2008). The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*, 60(3), 430–440. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18995817>
- Baylor. (1996). How photons start vision. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 560–565.
- Baylor, D. A., Lamb, T. D., & Yau, K. W. (1979). Responses of retinal rods to single photons. *The Journal of Physiology*, 288(1), 613–634. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1281447&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Beatty et al. (2001). Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population. *IOVS*, 42, 439–446.
- Beatty, S., Koh, H., Phil, M., Henson, D., & Boulton, M. (2000). The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Survey of Ophthalmology*, 45(2), 115–134. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039625700001405>
- Berggren, L. (2001). Studies of vision by Leonardo da Vinci. *Svensk Medicinhistorisk Tidskrift*, 5(1), 171–185.
- Bernas-Pierce et al. (1998). *BLIND BABIES FOUNDATION* (pp. 1–7). Oakland, CA. Retrieved from www.blindbabies.org

- Berson, D. M. (2003). Strange vision: ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends in Neurosciences*, 26(6), 314–320. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223603001309>
- Bhutto y Luty. (2010). Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris comple. *Mol. Aspects Med.*, 33, 295–317.
- Bibb y Young. (1974). Renewal of fatty acids in the membranes of visual cell outer segments. *Journal of Cell Biol.*, 61, 327–343.
- Biedermann et al. (1998). Spermine/spermidine is expressed by retinal glial (Müller) cells, and controls distinct K1 channels of their membrane. *Glia*, 23, 209–220.
- Bjorklund y Dahl. (1985). Glial fibrillary acidic protein (GFAP)- like immunoreactivity in the rodent eye. *Journal of Neuroimmunology*, 8, 331–345.
- Blaug et al. (2003). Retinal pigment epithelial function: a role for CFTR? *Documenta Ophthalmologica*, 106, 43–50.
- Bok, D. (1993). The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *Journal of cell science Supplement*, 17, 189–195. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8144697>
- Bost et al. (1992). Coexpression of FGF-5 and bFGF by the retinal pigment epithelium in vitro. *Experimental Eye Research*, 55, 727–734.
- Botchkin y Matthews. (1993). Chloride current activated by swelling in retinal pigment epithelium cells. *Am J Physiol Cell*, 265, 1037–1045.
- Boulton. (1998). The role of melanin in the RPE. In Marmor MF and Wolfensberger TJ (Ed.), *The Retinal Pigment Epithelium* (pp. 65–68). Oxford: Oxford Univ. Press.
- Brightman. (1989). The anatomic basis of the blood-brain barrier. In N. E.A. (Ed.), *Implications of the blood-brain barrier and its manipulation* (pp. 53–83). New York: Plenum Press.
- Bringmann, A., Pannicke, T., Biedermann, B., Francke, M., Iandiev, I., Grosche, J., Wiedemann, P., et al. (2009). Role of retinal glial cells in neurotransmitter uptake and metabolism. *Neurochemistry International*, 54(3-4), 143–160. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19114072>
- Bringmann, A., Pannicke, T., Grosche, J., Francke, M., Wiedemann, P., Skatchkov, S. N., Osborne, N. N., et al. (2006). Müller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 25(4), 397–424. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16839797>

- Bringmann, A., Uckermann, O., Pannicke, T., Iandiev, I., Reichenbach, A., & Wiedemann, P. (2005). Neuronal versus glial cell swelling in the ischaemic retina. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 83(5), 528–538. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16187988>
- Bringmann et al. (2000). Developmental regulation of calcium channel-mediated currents in retinal glial (Müller) cells. *Journal of Neurophysiology*, 84, 2975–2983.
- Bringmann et al. (2004). Pathomechanisms of cystoid macular edema. *Ophthalmological Res.*, 36, 241–249.
- Bringmann y Wiedermann. (2012). Müller glial cells in retinal disease. *Ophthalmologica*, 227, 1–19.
- Brooks et al. (1989). Ammonia causes a drop in intracellular pH in metabolizing cortical brain slices. A [³¹P]- and [¹H]nuclear magnetic resonance study. *Journal of Neuroscience*, 33, 185–192.
- Brunn y Ehinger. (1974). Uptake of certain putative neurotransmitters into retinal neurons of some mammals. *Experimental Eye Research*, 19, 435–447.
- Burns y Hartz. (1992). The retinal pigment epithelium induces fenestration of endothelial cells in vivo. *Current Eye Research*, 11(9), 863–873. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1424729
- Cai et al. (2006). Pigment epithelium derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1. *J of Biol Chem*, 281, 3604–3613.
- Caicedo, A., Espinosa-Heidmann, D. G., Piña, Y., Hernandez, E. P., & Cousins, S. W. (2005). Blood-derived macrophages infiltrate the retina and activate Muller glial cells under experimental choroidal neovascularization. *Experimental Eye Research*, 81(1), 38–47. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15978253>
- Calogero, G., & Ricci, B. (1994). Experimental oxygen-induced retinal detachment in the newborn Wistar rat. *Documenta Ophthalmologica*, 87(4), 315–329. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7851216
- Cammermeyer. (1967). Microglia cells in diffuse and granulomatous encephalitis in the rabbit. *Acta Neuropsth*, 7, 261–274.
- Cao et al. (1997). Mechanical injury increases bFGF and CNTF mRNA expression in the mouse retina. *Experimental Eye Research*, 65, 241–248.

- Cao et al. (1999). Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death. *Journal of Neuroscience Res*, 57, 789–800.
- Casaroli-Marano et al. (1999). Epithelial-mesenchymal transition in proliferative vitreoretinopathy: intermediate filament protein expression in retinal pigment epithelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40(9), 2062–2072. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10440262
- Ceelen et al. (2001). Electrical coupling between glial cells in the rat retina. *Glia*, 35, 1–13.
- Chan-Ling y Stone. (1992). Degeneration of astrocytes in feline retinopathy of prematurity causes failure of blood-retina barrier. *IOVS*, 33, 2148–2159.
- Chen et al. (2002). Distribution markers and functions of retinal microglia. *Ocular Immunology and Inflammation*, 10, 27–39.
- Chen, J., Makino, C. L., Peachey, N. S., Baylor, D. A., & Simon, M. I. (1995). Mechanisms of rhodopsin inactivation in vivo as revealed by a COOH-terminal truncation mutant. *Science*, 267(5196), 374–377. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=7824934>
- Chen, L., Yang, P., & Kijlstra, A. (2002). Distribution, markers, and functions of retinal microglia. *Ocular Immunology and Inflammation*, 10(1), 27–39. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12461701>
- Ching-Hwa Sung and Jen-Zen Chuang. (2010). The cell biology of vision. *The Journal of Cell Biology*, 190, 953–963.
- Cho et al. (2013). Morphologic Characteristics of the Outer Retina in Cone Dystrophy on Spectral-domain Optical Coherence Tomography. *Korean J Ophthalmol*, 27, 19–27.
- Cho, K.-S., & Chen, D. F. (2008). Promoting optic nerve regeneration in adult mice with pharmaceutical approach. *Neurochemical Research*, 33(10), 2126–2133. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2638988&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Cho, K.-S., Yang, L., Lu, B., Feng Ma, H., Huang, X., Pekny, M., & Chen, D. F. (2005). Re-establishing the regenerative potential of central nervous system axons in postnatal mice. *Journal of Cell Science*, 118(Pt 5), 863–872. Retrieved from

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1351228&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Cho, S. S., Lucas, J. J., & Hyndman, A. G. (1999). Transferrin binding protein is expressed by oligodendrocytes in the avian retina. *Brain Research*, 816(1), 229–233.
- Cohen, E., & Sterling, P. (1990). Demonstration of cell types among cone bipolar neurons of cat retina. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*, 330(1258), 305–321. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1982357
- Combadière et al. (2007). CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration. *Journal of Clinical Investigation*, 117(10), 2920–2928. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17909628
- Contreras et al. (2004). Role of connexin-based gap junction channels and hemichannels in ischemia-induced cell death in nervous tissue. *Brain Research*, 47, 290–303.
- Cook, T. (2003). Cell diversity in the retina: more than meets the eye. *BioEssays news and reviews in molecular cellular and developmental biology*, 25(10), 921–925. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14505358>
- Coorey et al. (2012). The role of glia in retinal vascular disease. *Optometry*.
- Copenhagen y Jahr. (1989). Release of endogenous excitatory amino acids from turtle photoreceptors. *Nature*, 341, 536–539.
- Cornett et al. (2011). Altered glial gene expression, density, and architecture in the visual cortex upon retinal degeneration. *Brain Research*, 1422, 46–56.
- Cridler et al. (1997). The effects of elevated glucose on Na⁺/K⁺-ATPase of cultured bovine retinal pigment epithelial cells measured by a new nonradioactive rubidium uptake assay. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 13(4), 337–352.
- Cuhna. (2001). Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors. *Neurochemistry International*, 38, 107–125.
- Cunha-Vaz. (1976). The blood-retinal barriers. *Documenta Ophthalmologica*, 41, 287–327.

- Da Cruz et al. (2007). RPE transplantation and its role in retinal disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, 26, 598–635.
- Davalos et al. (2005). ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nature neurosciences*, 8, 752–758.
- Dawson et al. (1999). Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science*, 285, 245–248.
- Della et al. (1996). Localization of TIMP-3 mRNA expression to the retinal pigment epithelium. *IOVS*, 37, 1921–1924.
- Delori et al. (2001). Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *IOVS*, 42, 1855–1866.
- Derouiche y Rauen. (1995). Coincidence of L-glutamate/L-aspartate transporter (GLAST) and glutamine synthetase (GS) immunoreactions in the retinal glia: evidence for coupling of GLAST and GS in transmitter clearance. *Journal of Neuroscience*, 42, 131–143.
- Desagher, S., Glowinski, J., & Premont, J. (1996). Astrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity. *Journal of Neuroscience*, 16(8), 2553–2562. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8786431>
- Diaz-Araya et al. (1995). Ontogeny and cellular expression of MHC and leucocyte antigens in human retina. *Glia*, 15, 458–470.
- Dimara et al. (2012). Retinoblastoma. *Lancet*, 379, 1436–1446.
- Distler y Dreher. (1996). Glia cells of the monkey retina-II. Müller cells. *Vision Research*, 36, 2381–2394.
- Dong et al. (2012). Upregulation of Retinal Neuronal MCP-1 in the Rodent Model of Diabetic Retinopathy and Its Function In Vitro. *Investigative ophthalmology visual science*, 53(12). doi:10.1167/iov.12-9446
- Dornonville de la Cour. (1993). Ion transport in the retinal pigment epithelium. A study with double barrelled ion-selective microelectrodes. *Acta Ophthalmol*, 1, 1–32.
- Dorrell et al. (2002a). Retinal vascular development is mediated by endothelial filopodia, a preexisting astrocytic template and specific R-cadherin adhesion. *IOVS*, 43, 3500–3510.
- Dorrell, M. I., Aguilar, E., & Friedlander, M. (2002b). Retinal vascular development is mediated by endothelial filopodia, a preexisting astrocytic template and specific R-

- cadherin adhesion. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43(11), 3500–3510. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407162>
- Dowling, J. E. (1970). Organization of vertebrate retinas. *Investigative Ophthalmology*, 9(9), 655–80. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1931794>
- Dowling JE. (1987). *The retina: an approachable part of the brain*. (L. of congress Cataloging, Ed.) (1st. ed., pp. 1–273). USA.
- Dunn et al. (1996). ARPE-19, A Human Retinal Pigment Epithelial Cell Line with Differentiated Properties. *Experimental Eye Research*, 62, 155–169.
- Ebrey, T., & Koutalos, Y. (2001). Vertebrate photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20(1), 49–94. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11070368>
- Ehinger B. (1977). Glial and Neuronal Uptake of GABA, Glutamic Acid, Glutamine and Glutathione in the Rabbit Retina. *Experimental Eye Research*, 25, 221–234.
- Eichler et al. (2002). Modulation of matrix metalloproteinase and TIMP-1 expression by cytokines in human RPE cells. *IOVS*, 43, 2767–2773.
- Eliasof et al. (1998). Excitatory amino acid transporters of the salamander retina: identification, localization, and function. *Journal of Neuroscience*, 18, 698–712.
- Famiglietti et al. (2003). Immunocytochemical localization of vascular endothelial growth factor in neurons and glial cells of human retina. *Brain Research*, 969, 195–204.
- Famiglietti, E. V, & Kolb, H. (1976). Structural basis for ON-and OFF-center responses in retinal ganglion cells. *Science*, 194(4261), 193–195. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/959847>
- Feher et al. (2006). Mitochondrial alterations of retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Neurobiology Aging*, 27, 983–993.
- Filipek, S., Stenkamp, R. E., Teller, D. C., & Palczewski, K. (2003). G protein-coupled receptor rhodopsin: a prospectus. *Annual Review of Physiology*, 65(2), 851–879. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12471166
- Fitzgerald, M. E., Vana, B. A., & Reiner, A. (1990). Evidence for retinal pathology following interruption of neural regulation of choroidal blood flow: Müller cells express GFAP following lesions of the nucleus of Edinger-Westphal in pigeons. *Current Eye Research*, 9(6), 583–598. Retrieved from

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2201485

Fletcher, E. L., Downie, L. E., Ly, A., Ward, M. M., Batcha, A. H., Puthussery, T., Yee, P., et al. (2008). A review of the role of glial cells in understanding retinal disease. *Clinical experimental optometry journal of the Australian Optometrical Association*, 91(1), 67–77. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18045252>

Fong y Tsilfidis. (2012). Retinal Degeneration and Cellular Suicide. *Adv. in Exp. Med and Biol.*, 723, 207–214.

Foster, R. G., Provencio, I., Hudson, D., Fiske, S., De Grip, W., & Menaker, M. (1991). Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *Journal of comparative physiology A Sensory neural and behavioral physiology*, 169(1), 39–50. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1941717>

Frambach et al. (1989). Furosemide-sensitive Cl transport in bovine retinal pigment epithelium. *IOVS*, 30, 2271–2274.

Frank et al. (1999). Antioxidant enzymes in the macular retinal pigment epithelium of eyes with neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*, 127, 694–709.

Franze et al. (2007). Müller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 8287–8292.

Frayer, W. C. (1966). Reactivity of the retinal pigment epithelium: an experimental and histopathologic study. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 64, 586–643.

Fruttiger. (2007). Development of the retinal vasculature. *Angiogenesis*, 10, 77–88.

Fukuda, M., Nakanishi, Y., Fuse, M., Yokoi, N., Hamada, Y., Fukagawa, M., Negi, A., et al. (2010). Altered expression of aquaporins 1 and 4 coincides with neurodegenerative events in retinas of spontaneously diabetic Torii rats. *Experimental Eye Research*, 90(1), 17–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19748503>

Ganmor, E., Segev, R., & Schneidman, E. (2011). The architecture of functional interaction networks in the retina. *Journal of Neuroscience*, 31(8), 3044–3054. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21414925>

García, D. M., & Koke, J. R. (2009). Astrocytes as gate-keepers in optic nerve regeneration--a mini-review. *Comparative biochemistry and physiology Part A Molecular integrative physiology*, 152(2), 135–138. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930160>

- García GE. (2005). *Anatomía ocular*. Universidad Europea De Madrid.
- García y Vecino. (2003). Role of Müller glia in neuroprotection and regeneration in the retina. *Histol Histopathol*, 18, 1205–1218.
- Gariano, R. F. (2003). Cellular mechanisms in retinal vascular development. *Progress in Retinal and Eye Research*, 22(3), 295–306. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350946202000629>
- Gehrmann et al. (1993). Microglia in the immune surveillance of the brain: human microglia constitutively express HLA-DR molecules. *Journal of Neuroimmunology*, 48, 189–198.
- Ghosh. (2002). Müller cells in long-term full-thickness retinal transplants. *Glia*, 37, 76–82.
- Ghosh et al. (1999). Long-term full-thickness embryonic rabbit retinal transplants. *IOVS*, 40, 133–140.
- Ghosh y Wassélius. (2002). Müller Cells in Allogeneic Adult Rabbit Retinal Transplants. *Glia*, 40, 78–84.
- Giaume, C., Kirchhoff, F., Matute, C., Reichenbach, A., & Verkhratsky, A. (2007). Glia: the fulcrum of brain diseases. *Cell Death and Differentiation*, 14(7), 1324–1335. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17431421>
- Giaume et al. (1997). Metabolic trafficking through astrocytic gap junctions. *Glia*, 21, 114–123.
- Gittinger y Asdourian. (1999). *Problemas Clínicos en Oftalmología*. (S. Editores, Ed.) (pp. 116–133). Barcelona.
- Gómez ND y Nieto SM. (2008). Glía reactiva. *Mente y Cerebro* (pp. 78–87).
- Goode, D. K., & Elgar, G. (2009). The PAX258 gene subfamily: A comparative perspective. *Developmental Dynamics*, 238(12), 2951–2974. doi:10.1002/dvdy.22146
- Gorovits, R., Avidan, N., Avisar, N., Shaked, I., & Vardimon, L. (1997). Glutamine synthetase protects against neuronal degeneration in injured retinal tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(13), 7024–7029. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=21278&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Grant et al. (1999). Potentiation of glutamate uptake by ammonia in isolated salamander retinal glial cells. *Journal of Physiology*, 513, 16 P.
- Grosche, J., Härtig, W., & Reichenbach, A. (1995). Expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), glutamine synthetase (GS), and Bcl-2 protooncogene protein by Müller (glial) cells in retinal light damage of rats. *Neuroscience Letters*, 185(2), 119–122.
- Grünert, U., Martin, P. R., & Wässle, H. (1994). Immunocytochemical analysis of bipolar cells in the macaque monkey retina. *Journal of Comparative Neurology*, 348(4), 607–627. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7530731>
- Gucke et al. (2001). The optical stretcher: A novel laser tool to micromanipulate cells. *Biophysical J*, 81, 767–784.
- Guérin, C. J., Anderson, D. H., & Fisher, S. K. (1990). Changes in intermediate filament immunolabeling occur in response to retinal detachment and reattachment in primates. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 31(8), 1474–1482.
- Guidry, C. (2005). The role of Müller cells in fibrocontractive retinal disorders. *Progress in Retinal and Eye Research*, 24(1), 75–86. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15555527>
- Gundersen et al. (1991). Apical polarity of Na,K-ATPase in retinal pigment epithelium is linked to a reversal of the ankyrin-fodrin submembrane cytoskeleton. *Journal of Cell Biol.*, 112, 863–872.
- Gupta et al. (2003). Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, 76(4), 463–471. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12634111>
- Hamel. (2007). Cone rod dystrophies. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1, 2–7.
- Hanisch y Kettenmann. (2007). Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nature neurosciences*, 10, 1387–1394.
- Hargrave, P. A., & McDowell, J. H. (1992). Rhodopsin and phototransduction. *Journal of photochemistry and photobiology B Biology*, 48(1), 1–10. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1478822
- Hargrave, P. A., McDowell, J. H., Curtis, D. R., Wang, J. K., Juszczak, E., Fong, S. L., Rao, J. K., et al. (1983). The structure of bovine rhodopsin. *Biophysics of Structure & Mechanism*, 9(4), 235–244. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6342691

- Harnett et al. (2003). Retinal pigment epithelium and endothelial cell interaction causes retinal pigment epithelial barrier dysfunction via a soluble VEGF-dependent mechanism. *Experimental Eye Research*, 77, 593–599.
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K. W. (2002). Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells: Architecture, Projections, and Intrinsic. *Science*, 295(5557), 1065–1070. doi:10.1126/science.1069609
- Haydon, P. G. (2001). GLIA: listening and talking to the synapse. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(3), 185–193. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11256079>
- Hebel, R., & Holländer, H. (1983). The distribution of displaced ganglion cells in the retina of the pigeon. *Experimental Brain Research*, 49(2), 181–188. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6187591
- Helmuth. (2001). Glia Tell Neurons to Build Synapses. *Science*, 300, 657–668.
- Hernández et al. (2010). Altered Expression of Retinal Molecular Markers in the Canine RPE65 Model of Leber Congenital Amaurosis. *IOVS*, 51, 6793–6802.
- Hitchcock, P. F., & Easter, S. S. (1986). Retinal ganglion cells in goldfish: a qualitative classification into four morphological types, and a quantitative study of the development of one of them. *Journal of Neuroscience*, 6(4), 1037–1050. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=3701408>
- Hollander et al. (1991). Structure of the macroglia of the retina: sharing and division of labour between astrocytes and Müller cells. *Journal of Comparative Neurology*, 313, 587–603.
- Hsu, Y. T., Wong, S. Y., Connell, G. J., & Molday, R. S. (1993). Structural and functional properties of rhodopsin from rod outer segment disk and plasma membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1145(1), 85–92. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8422414
- Hubbard RD et al. (1965). The chemistry of visual photoreception. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 30, 301–315.
- Hubel DH. (1988). *Eye, Brain, and Vision*. (New York: Scientific American Library, Ed.).
- Hughes y Takahira. (1996). Inwardly rectifying K currents in isolated human retinal pigment epithelial cells. *IOVS*, 37, 1125–1135.

- Hume, D. A., Perry, V. H., & Gordon, S. (1983a). Immunohistochemical localization of a macrophage-specific antigen in developing mouse retina: phagocytosis of dying neurons and differentiation of microglial cells to form a regular array in the plexiform layers. *The Journal of Cell Biology*, 97(1), 253–257. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2112503&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hume et al. (1983b). Immunohistochemical localization of a macrophage-specific antigen in developing mouse retina: phagocytosis of dying neurons and differentiation of microglial cells to form a regular array in the plexiform layers. *Journal of Cell Biol.*, 97, 253–257.
- Huxlin, K. R., Dreher, Z., Schulz, M., & Dreher, B. (1995). Glial reactivity in the retina of adult rats. *Glia*, 15(2), 105–118. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8567062
- Isayama T et al. (2006). The Molecular Design of Visual Transduction. *Biophysics*, 1–17.
- Ishii et al. (1997). Expression and clustered distribution of an inwardly rectifying potassium channel, KAB-2/ Kir4.1, on mammalian retinal Müller cell membrane: their regulation by insulin and laminin signals. *Journal of Neuroscience*, 17, 7725–7735.
- Jablonski et al. (2001). Pigment epithelium-derived factor supports normal Müller cell development and glutamine synthetase expression after removal of the retinal pigment epithelium. *Glia*, 35(1), 14–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11424188>
- Jan et al. (1983). Eye Pressing by Visually Impaired Children. *Developmental Med and Child Neurology*, 25, 755–762.
- Jeannerod, M., & Jacob, P. (2005). Visual cognition: a new look at the two-visual systems model. *Neuropsychologia*, 43(2), 301–312. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15707914>
- Jindrová, H. (1998). Vertebrate phototransduction: activation, recovery, and adaptation. *Physiological Research*, 47(3), 155–168. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9803480>
- Johansson, U. E., Eftekhari, S., & Warfvinge, K. (2010). A battery of cell- and structure-specific markers for the adult porcine retina. *The journal of histochemistry and cytochemistry official journal of the Histochemistry Society*, 58(4), 377–389. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2842600&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Joussen et al. (2006). Autologous translocation of the choroid and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 142, 17–30.
- Kanamori y Ross. (1997). Glial alkalinization detected in vivo by $1\text{H}-15\text{N}$ heteronuclear multiple-quantum coherence-transfer NMR in severely hyperammonemic rat. *Journal of Neurochemistry*, 68, 1209–1220.
- Kandel E et al. (2000). Vision: The eye. In Mc. Graw Hill (Ed.), *Principles of Neural Sciences* (4th ed., pp. 249–302).
- Kannan et al. (1999). Protection from Oxidant Injury by Sodium-dependent GSH Uptake in Retinal Müller Cells. *Experimental Eye Research*, 68, 609–166.
- Karlstetter, M., Ebert, S., & Langmann, T. (2010). Microglia in the healthy and degenerating retina: insights from novel mouse models. *Immunobiology*, 215(9-10), 685–691. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20573418>
- Karschin, A., Wässle, H., & Schnitzer, J. (1986). Immunocytochemical studies on astroglia of the cat retina under normal and pathological conditions. *Journal of Comparative Neurology*, 249(4), 564–576. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2427555
- Karunadharma et al. (2010). Mitochondrial DNA damage as a potential mechanism for age-related macular degeneration. *IOVS*, 51, 5470–5479.
- Karwoski, C. J., Newman, E. A., Shimazaki, H., & Proenza, L. M. (1985). Light-evoked increases in extracellular K^+ in the plexiform layers of amphibian retinas. *The Journal of general physiology*, 86(2), 189–213. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2228783&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Keirstead y Miller. (1995). Calcium waves in dissociated retinal glial (Muller) cells are evoked by release of calcium from intracellular stores. *Glia*, 14, 14–22.
- Keirstead y Miller. (1997). Metabotropic glutamate receptor agonists evoke calcium waves in isolated Müller cells. *Glia*, 21, 194–203.
- Kido et al. (2000). Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in eyes with NMDA-induced neuronal death. *Brain Research*, 884, 59–67.
- Kim et al. (2007). The involvement of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling in high glucose-induced downregulation of GLUT-1 expression in ARPE cells. *Life Sciences*, 80, 626–632.

- King y Suzuma. (2000). Pigment-epithelium-derived factor—a key coordinator of retinal neuronal and vascular functions. *N Engl J Med*, 342, 349–351.
- Kirsch et al. (1995). CNTF in the rat retina: expression and biological effects. *Soc Neurosci Abst*, 21, 247.
- Kofuji et al. (2000). Genetic inactivation of an inwardly rectifying potassium channel (Kir4.1 subunit) in mice: phenotypic impact in retina. *Journal of Neuroscience*, 20, 5733–5740.
- Koga et al. (2003). Induction of citrulline-nitric oxide (NO) cycle enzymes and NO production in immunostimulated rat RPE-J cells. *Experimental Eye Research*, 76(1), 15–21. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12589771>
- Kolb H and Nelson R. (1981). Amacrine cells of the cat retina. *Vision Research*, 21, 1625–1633.
- Kolb H et al. (2000). W e b v i s i o n. *UTAH EDU*.
- Kolb H, Nelson R, Ahnelt P, C. N. (2001). Cellular organization of the vertebrate retina. *Prog Brain Res*, 131, 3–26. doi:2001;131:3-26
- Krady et al. (2005). Minocycline reduces proinflammatory cytokine expression, microglial activation, and caspase-3 activation in a rodent model of diabetic retinopathy. *Diabetes*, 54(5), 1559–1565. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15855346>
- Krause et al. (1988). Immunochemical and immunocytochemical characterization of a novel monoclonal antibody recognizing a 140 kDa protein in cerebral pericytes of the rat. *Cell and Tissue Res.*, 252, 543–555.
- Krishnan, G., & Chatterjee, N. (2012). Endocannabinoids alleviate proinflammatory conditions by modulating innate immune response in muller glia during inflammation. *Glia*, 60(11), 1629–45. doi:10.1002/glia.22380
- La Cour. (1985). The retinal pigment epithelium controls the potassium activity in the subretinal space. *Acta Ophthalmol*, 173, 9–10.
- Ladman y Soper. (1962). Preliminary observations on the fine structure of Müller's cells of the avian retina. In Bresse SS (Ed.), *Proceedings of the Fifth International Congress for Electron Microscopy* (pp. 5–6). New York: ACADEMIC PRESS-JOURNALS DEPARTMENT.
- Lamb, T. D., Collin, S. P., & Pugh, E. N. (2007). Evolution of the vertebrate eye: opsins, photoreceptors, retina and eye cup. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(12), 960–976. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18026166>

- Lambright, D. G., Sondek, J., Bohm, A., Skiba, N. P., Hamm, H. E., & Sigler, P. B. (1996). The 2.0 Angstrom Crystal-Structure Of a Heterotrimeric G-Protein. *Nature*, 379(6563), 311–319.
- Lange et al. (2012). Netrin-4 is expressed by Muller cells and contributes to angiogenesis in retina. *Glia*, 60, 1567–1578.
- Langmann, T. (2007). Microglia activation in retinal degeneration. *Journal of Leukocyte Biology*, 81(6), 1345–1351. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17405851>
- Laties, A. M. (1983). New light on the Müller cell. *Transactions of the Ophthalmological Societies of the United Kingdom*, 103 (Pt 4, 380–384.
- Laties y Rapport. (1976). The blood-ocular barriers under osmotic stress. Studies on the freeze-dried eye. *Arch Ophthalmol*, 94, 1086–1091.
- Laube y Veh. (1997). Astrocytes, not neurons, show most prominent staining for spermine/spermidine-like immunoreactivity in adult rat brain. *Glia*, 19, 171–179.
- Leahy, K. M., Ornberg, R. L., Wang, Y., Zweifel, B. S., Koki, A. T., & Masferrer, J. L. (2002). Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Research*, 62(3), 625–631. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11830509
- Lecca et al. (2012). Purinergic trophic signalling in glial cells: functional effects and modulation of cell proliferation, differentiation, and death. *Purinergic Signalling*, 8, 539–557.
- Le-Grand Y and El-Hage SG. (1980). *Physiological Optics*. (Springer-Verlag, Ed.). Berlin.
- Lewis, G. P., Matsumoto, B., & Fisher, S. K. (1995). Changes in the organization and expression of cytoskeletal proteins during retinal degeneration induced by retinal detachment. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 36(12), 2404–2416. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7591630>
- Liebner, S., Czupalla, C. J., & Wolburg, H. (2011). Current concepts of blood-brain barrier development. *The International journal of developmental biology*, 55(4-5), 317. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21769778>
- Lin et al. (2011). Mitochondrial DNA damage and repair in RPE associated with aging and age-related macular degeneration. *IOVS*, 52, 3521–3529.

- Linberg K, Cuenca N, Ahnelt P, Fisher S, K. H. (2001). Comparative anatomy of major retinal pathways in the eyes of nocturnal and diurnal mammals. *Prog Brain Res*, 131, 27–52.
- Lindberg DC. (1976). *Theories of Vision from Al-Kindi to Kepler*. (University of Chicago, Ed.). Chicago.
- Lindqvist et al. (2010). Retinal glial (Müller) cells: Sensing and responding to tissue stretch. *IOVS*, 51, 1683–1690.
- Ling. (1982). A light microscopic demonstration of amoeboid microglia and microglial cells in the retina of rats of various ages. *Archivum Histol Jap*, 45, 37–44.
- Ling EA and Wong WC. (1993). The origin and nature of ramified and amoeboid microglia: a historical review and current concepts. *Glia*, 7(1), 9–18. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8423067>
- Ling y Stone. (1988). The deveiopment of astrocytes in the cat retina: Evidence of migratmn from the optic newe. *Dev. Brain. Res.*, 44, 73–85.
- Lorber, B., Berry, M., Douglas, M. R., Nakazawa, T., & Logan, A. (2008). Different factors promote axonal regeneration of adult rat retinal ganglion cells after lens injury and intravitreal peripheral nerve grafting. *Journal of Neuroscience Research*, 86(4), 2645–2652. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18074384>
- Lu et al. (2006). Viscoelastic properties of individual glial cells and neurons in the CNS. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 17759–17764.
- Lynne et al. (2001). Müller Cell Ca²¹ Waves Evoked by Purinergic Receptor Agonists in Slices of Rat Retina. *Journal of Neurophysiology*, 85, 986–994.
- Ma et al. (2012). Microglia in the Outer Retina and Their Relevance to Pathogenesis of Age-Related Macular Degeneration. *Adv. in Exp. Med and Biol.*, 723, 37–42.
- Macdonald, R., & Wilson, S. W. (1996). Pax proteins and eye development. *Current Opinion in Neurobiology*, 6(1), 49–56. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10508182>
- Magistretti. (2006). Neuron-glia metabolic coupling and plasticity. *Journal of Exp Biol.*, 209, 2304–2311.
- Mannermaa et al. (2010). Filter-cultured ARPE-19 cells as outer blood–retinal barrier model. *European J of Pharmacol Sci*, 1–8.
- Marc et al. (2003). Neural remodeling in retinal degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research*, 22, 607–655.

- Marc, R. E., & Liu, W. L. (1984). Horizontal cell synapses onto glycine-accumulating interplexiform cells. *Nature*, 312(5991), 266–269. Retrieved from http://www.ncbi.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=pubmed&dopt=abstract&list_uids=6504139
- Marc RE. (1998). The structure of vertebrate retinas. In Toyoda J et al. (Ed.), *The retinal basis of vision*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.,
- Marcaggi y Coles. (2001). Ammonium in nervous tissue: transport across cell membranes, fluxes from neurons to glial cells, and role in signalling. *Progress in Neurobiology*, 64, 157–183.
- Marmor. (1990). Control of subretinal fluid: experimental and clinical studies. *Eye*, 4, 340–344.
- Marmor. (1999). Mechanisms of fluid accumulation in retinal edema. *Documenta Ophthalmologica*, 97, 239–249.
- Marmorstein. (2001). The polarity of the retinal pigment epithelium. *Traffic*, 2, 867–872.
- Marmorstein, A. D., Finnemann, S. C., Bonilha, V. L., & Rodriguez-Boulan, E. (1998a). Morphogenesis of the retinal pigment epithelium: toward understanding retinal degenerative diseases. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 857, 1–12. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9917828>
- Marmorstein et al. (1998b). Apical polarity of N-CAM and EMMPRIN in retinal pigment epithelium resulting from suppression of basolateral signal recognition. *Journal of Cell Biol.*, 142, 697–710.
- Marshak, D. W., & Dowling, J. E. (1987). Synapses of cone horizontal cell axons in goldfish retina. *Journal of Comparative Neurology*, 256(3), 430–443. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3571515
- Marshall y Voaden. (1975). Autoradiographic identification of the cells accumulating 3-H-gamma aminobutyric acid mammalian retinae: a species comparison. *Vision Research*, 15, 459–461.
- Martin et al. (1992). Gene expression of the insulin-like growth factors and their receptors in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Brain Research*, 12, 181–186.
- Masland, R H. (2001). Neuronal diversity in the retina. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(4), 431–436. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502388>

- Masland, R H, & Raviola, E. (2000). Confronting complexity: strategies for understanding the microcircuitry of the retina. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 249–284. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10845065>
- Masland RH. (2001). The fundamental plan of the retina. *Nature neurosciences*, 4(9), 1–10.
- Masland RH. (2004). Neuronal cell types. *Current Biology*, 14(R), 497–500.
- Masland RH. (2012). The Neuronal Organization of the Retina. *Neuron*, 76(18), 266–280.
- Masland, Richard H. (2004). Neuronal cell types. *Current Biology*, 14(13), R497–R500. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242626>
- Massey y Miller. (1990). N-methyl-D-aspartate receptors of ganglion cells in rabbit retina. *Journal of Neurophysiology*, 63, 16–30.
- Mata, N. L., Radu, R. A., Clemmons, R. C., & Travis, G. H. (2002). Isomerization and oxidation of vitamin a in cone-dominant retinas: a novel pathway for visual-pigment regeneration in daylight. *Neuron*, 36(1), 69–80. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2851622&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Matthes et al. (1995). Activation of CNTF and BDNF receptors in the retina: role in photoreceptor rescue. *IOVS*, 36, 1145.
- McCaffery, P., Lee, M. O., Wagner, M. A., Sladek, N. E., & Drager, U. C. (1992). Asymmetrical retinoic acid synthesis in the dorsoventral axis of the retina. *Development*, 115(2), 371–382. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1425331>
- McGuire, B. A., Stevens, J. K., & Sterling, P. (1984). Microcircuitry of bipolar cells in cat retina. *The Journal of neuroscience*, 4(12), 2920–38. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6502212>
- McKay et al. (1997). Cell-cell adhesion molecules and the development of an epithelial phenotype in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Experimental Eye Research*, 65, 661–671.
- Medina JA. (1996). *DIFERENCIACION DE LAS CELULAS DE MÜLLER (GLIA) DE LA RETINA. ESTUDIO EN EL EMBRION DE POLLO*. Universidad Complutense de Madrid.
- Melani et al. (2005). ATP extracellular concentrations are increased in the rat striatum during in vivo ischemia. *Neurochemistry International*, 47, 442–448.

- Mertsch et al. (2001). Characterization of Microglial Cells and Their Response to Stimulation in an Organotypic Retinal Culture System. *Journal of Comparative Neurology*, 431, 217–227.
- Metea y Newman. (2006). Glial cells dilate and constrict blood vessels: A mechanism of neurovascular coupling. *Journal of Neuroscience*, 26, 2862–2870.
- Miceli et al. (1994). Evaluation of oxidative processes in human pigment epithelial cells associated with retinal outer segment phagocytosis. *Exp Cell Res*, 214, 242–249.
- Michaelson. (1954). *Retinal Circulation in Man and Animals*. Springfield.
- Miller y Steinberg. (1977a). Active transport of ions across frog retinal pigment epithelium. *Experimental Eye Research*, 25, 235–248.
- Miller y Steinberg. (1977b). Passive ionic properties of frog retinal pigment epithelium. *J Membr Biol*, 36, 337–372.
- Minamizono et al. (2006). Inhibition of dehydroascorbic acid transport across the rat blood-retinal and -brain barriers in experimental diabetes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 2148–2150.
- Miotke, J. A., MacLennan, A. J., & Meyer, R. L. (2007). Immunohistochemical localization of CNTFRalpha in adult mouse retina and optic nerve following intraorbital nerve crush: evidence for the axonal loss of a trophic factor receptor after injury. *Journal of Comparative Neurology*, 500(2), 384–400. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17111380
- Mishima, N., Yamashita, H., Ishii, Y., & Hori, S. (1989). Preretinal membrane formation in rabbit eyes after intravitreal transplantation of cultured astrocytes. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 33(4), 501–518.
- Mishra y Newman. (2010). Inhibition of inducible nitric oxide synthase reverses the loss of functional hyperemia in diabetic retinopathy. *Glia*, 58, 1996–2004.
- Miyamoto et al. (2007). Placental growth factor-1 and epithelial haemato-retinal barrier breakdown: potential implication in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 50, 461–470.
- Moore, S., & Thanos, S. (1996). The concept of microglia in relation to central nervous system disease and regeneration. *Progress in Neurobiology*, 48(4-5), 441–460. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8804116>
- Morcillo, J., Martinez-Morales, Trousse, F., Fermin, Y., Sowden, J., & Bovolenta, P. (2006). Proper patterning of the optic fissure requires the sequential activity of

- BMP7 and SHH. *Development Cambridge England*, 133(16), 3179–3190. Retrieved from <http://discovery.ucl.ac.uk/153602/>
- Morcos, Y., & Chan-Ling, T. (2000). Concentration of astrocytic filaments at the retinal optic nerve junction is coincident with the absence of intra-retinal myelination: comparative and developmental evidence. *Journal of Neurocytology*, 29(9), 665–678. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11353290>
- Mudhar et al. (1993). PDGF and its receptors in the developing rodent retina and optic nerve. *Development*, 118, 539–552.
- Müller. (1851). Zur histologie der netzhaut. *Z Wiss Zool*, 3, 234–237.
- Müller, A., Hauk, T. G., & Fischer, D. (2007). Astrocyte-derived CNTF switches mature RGCs to a regenerative state following inflammatory stimulation. *Brain: A journal of neurology*, 130(Pt 12), 3308–3320. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17971355>
- Nagelhus et al. (1998). Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes. *Journal of Neuroscience*, 18, 2506–2519.
- Nagelhus et al. (1999). Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia*, 26, 47–54.
- Neal y Iversen. (1972). Autoradiographic localization of 3-H GABA in rat retina. *Nature*, 235, 217–218.
- Neufeld et al. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J*, 13, 9–22.
- Neuhaus et al. (1991). Induction of blood-brain barrier characteristics in bovine brain endothelial cells by rat astroglial cells in transfilter culture. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 633(578-580).
- Newell F W. (1993). Oftalmología fundamentos y conceptos. *Oftalmología fundamentos y conceptos* (pp. 6–98).
- Newman. (1988). Electrophysiology of retinal glial cells. In Osborne y Chader (Ed.), *N.N. Osborne, G.J. Chader* (pp. 153–171). Oxford: Prog in Ret Res.
- Newman. (2001). Propagation of intercellular calcium waves in retinal astrocytes and Müller cells. *Journal of Neuroscience*, 21, 2215–2223.

- Newman. (2003). Glial Cell Inhibition of Neurons by Release of ATP. *Journal of Neuroscience*, 23, 1659–1666.
- Newman. (2004). Glial Modulation of Synaptic Transmission in the Retina. *Glia*, 47, 268–2774.
- Newman, E. A. (1985). Membrane physiology of retinal glial (Müller) cells. *Journal of Neuroscience*, 5(8), 2225–2239.
- Newman, E. A. (1987). Distribution of potassium conductance in mammalian Müller (glial) cells: a comparative study. *Journal of Neuroscience*, 7(8), 2423–2432.
- Newman, E. A. (1993). Inward-rectifying potassium channels in retinal glial (Müller) cells. *Journal of Neuroscience*, 13(8), 3333–45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8340811>
- Newman, E., & Reichenbach, A. (1996a). The Muller cell. *Trends in Neurosciences*, 19, 307–312.
- Newman, E., & Reichenbach, A. (1996b). The Muller cell: a functional element of the retina. *Trends in Neurosciences*, 19(8), 307–12.
- Newman y Zahs. (1997). Calcium waves in retinal glial cells. *Science*, 275, 844–847.
- Newman y Zahs. (1998). Modulation of neuronal activity by glial cells in the retina. *Journal of Neuroscience*, 18, 4022–4028.
- Newsome et al. (1990). Human retinal pigment epithelium contains two distinct species of superoxide dismutase. *IOVS*, 31, 2508–2513.
- Newsome et al. (1994). Antioxidants in the retinal pigment epithelium. *Progress in Retinal and Eye Research*, 13, 101–123.
- Nicholls y Attwell. (1990). The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends in Pharma. Sci.*, 11, 462–468.
- Nichols y Lopatin. (1997). Inward rectifier potassium channels. *Annual Review of Physiology*, 59, 151–171.
- Nobeschi, L., Freymuller, E., & Smith, R. L. (2006). Intercellular junctions in rabbit eye ora serrata. *Anatomia Histologia Embryologia*, 35(5), 287–292. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968246>
- Oberheit et al. (2006). Astrocytic complexity distinguishes the human brain. *Trends in Neurosciences*, 29, 547–553.

- Ogata et al. (2002). Expression of pigment epithelium-derived factor in normal adult rat eye and experimental choroidal neovascularization. *IOVS*, 43, 1168–1175.
- Oliet et al. (2001). Control of glutamate clearance and synaptic efficacy by glial coverage of neurons. *Science*, 292, 923–926.
- Ottersen, O. P., Laake, J. H., Reichelt, W., Haug, F. M., & Torp, R. (1996). Ischemic disruption of glutamate homeostasis in brain: quantitative immunocytochemical analyses. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 12(1), 1–14. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9001944>
- Ovchinnikov, I. A., Abdulaev, N. G., Feĭgina, M. I., Artamonov, I. D., & Bogachuk, A. S. (1983). Visual rhodopsin. III. Complete amino acid sequence and topography in a membrane. *Bioorganicheskaia Khimiia*, 9(10), 1331–1340.
- Palacios, A. G., & Goldsmith, T. H. (1996). Visual transduction in vertebrate rods. *Biological Research*, 29(3), 313–317.
- Palczewski, K., Subbaraya, I., Gorczyca, W. A., Helekar, B. S., Ruiz, C. C., Ohguro, H., Huang, J., et al. (1994). Molecular cloning and characterization of retinal photoreceptor guanylyl cyclase-activating protein. *Neuron*, 13(2), 395–404. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7520254
- Pannicke, T., Faude, F., Reichenbach, A., & Reichelt, W. (2000). A function of delayed rectifier potassium channels in glial cells: maintenance of an auxiliary membrane potential under pathological conditions. *Brain Research*, 862(1-2), 187–193.
- Parrila et al. (2013). Pax2+ astrocytes in the fish optic nerve head after optic nerve crush. *Brain Research*, 1492, 18–32.
- Peichl, L., Künzle, H., & Vogel, P. (2000). Photoreceptor types and distributions in the retinae of insectivores. *Visual Neuroscience*, 17(6), 937–948. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11193110>
- Penfold et al. (1993). Human retinal microglia express phenotypic characteristics in common with dendritic antigen-presenting cells. *Journal of Neuroimmunology*, 45, 183–191.
- Peteanu, L. A., Schoenlein, R. W., Wang, Q., Mathies, R. A., & Shank, C. V. (1993). The first step in vision occurs in femtoseconds: complete blue and red spectral studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(24), 11762–11766. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8265623

- Pickard GE and Sollars PJ. (2011). Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 112(4), 59–90. doi:10.1007/112_2011_4
- Piñero BA. (1992). Aparato ocular. *Anatomía fisiología patología*. Laboratorios Cusí.
- Plafker et al. (2012a). Mechanisms for Countering Oxidative Stress and Damage in Retinal Pigment Epithelium. *Int. Rev. of Cell and Mol. Biol.*, 298, 135–177.
- Plafker et al. (2012b). Mechanisms for countering oxidative stress and damage in retinal pigment epithelium. *Int. Rev. of Cell and Mol. Biol.*, 298, 137–177.
- Poitry et al. (2000). Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial (Müller) cells. *Journal of Neuroscience*, 20, 1809–1821.
- Pons et al. (2011). Cigarette Smoke-Related Hydroquinone Dysregulates MCP-1, VEGF and PEDF Expression in Retinal Pigment Epithelium in Vitro and in Vivo. (C. Gaetano, Ed.) *PLoS ONE*, 6(2), 12. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3046136&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Provencio, I, Rollag, M. D., & Castrucci, A. M. (2002). Photoreceptive net in the mammalian retina. *Nature*, 415(6871), 0–1. doi:10.1038/415493a
- Provencio, Ignacio, Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(1), 340–345. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=18217&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Provis et al. (1996). Microglia in human retina : a heterogeneous population with distinct ontogenies. *Developmental Neurobiology*, 3, 213–222.
- Puro, D. G., & Stuenkel, E. L. (1995). Thrombin-induced inhibition of potassium currents in human retinal glial (Müller) cells. *The Journal of Physiology*, 485 (Pt 2(Pt 2), 337–348.
- Qian et al. (2008). No Acyl coenzyme A-binding protein (ACBP) is phosphorylated and secreted by retinal Müller astrocytes following protein kinase C activation. *Journal of Neurochemistry*, 105, 1287–1299.
- Qin, Y., Xu, G., Fan, J., Witt, R. E., & Da, C. (2009). High-salt loading exacerbates increased retinal content of aquaporins AQP1 and AQP4 in rats with diabetic retinopathy. *Experimental Eye Research*, 89(5), 741–747.

- Rauen et al. (1998). High-affinity glutamate transporters in the rat retina: a major role of the glial glutamate transporter GLAST-1 in transmitter clearance. *Cell and Tissue Res.*, 291, 19–31.
- Rauen y Wiessner. (2000). Fine tuning of glutamate uptake and degradation in glial cells: common transcriptional regulation of GLAST1 and GS. *Neurochemistry International*, 37, 179–189.
- Raviola. (1977). The structural basis of the blood-ocular barriers. *Experimental Eye Research*, 25, 27–63.
- Reichenbach A and Robinson SR. (1995). Phylogenetic constraints on retinal organization and development: an Haeckelian perspective. *Progress in Retinal and Eye Research*, 15, 39–171.
- Reichenbach, A., Schippel, K., Schümann, R., & Hagen, E. (1988). Ultrastructure of rabbit retinal nerve fibre layer--neuro-glial relationships, myelination, and nerve fibre spectrum. *Journal fur Hirnforschung*, 29(5), 481–491. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3216098>
- Reichenbach et al. (2002). High-Affinity GABA Uptake in Retinal Glial (Müller) Cells of the Guinea Pig: Electrophysiological Characterization, Immunohistochemical Localization, and Modeling of Efficiency. *Glia*, 39, 217–228.
- Reichenbach y Bringmann. (2010). *Müller cells in the healthy and diseased retina*. (Springer, Ed.). New York, London,.
- Reichenbach y Bringmann. (2013). New functions of Müller cells. *Glia*.
- Riepe y Norenberg. (1977). Muller cell localisation of glutamine synthetase in rat retina. *Nature*, 268, 654–655.
- Ripps y Witkovsky. (1985). Neuron-glia interaction in the brain and retina. In Osborne y Chader (Ed.), *N.N. Osborne, G.J. Chader* (pp. 181–219). Oxford: Prog in Ret Res.
- Rizzolo. (1997). Polarity and the development of the outer bloodretinal barrier. *Histol Histopathol*, 12, 1057–1067.
- Rizzolo LJ. (1997). Polarity and the development of the outer blood-retinal barrier. *Histol Histopathol*, 12(4), 1057–67. doi:1997 Oct;12(4):1057-67
- Rizzolo y Li. (1993). Diffusible, retinal factors stimulate the barrier properties of junctional complexes in the retinal pigment epithelium. *Journal of cell science Supplement*, 106, 859–867.

- Roberge et al. (1985). Long-term culture of Müller cells from adult rats in the presence of activated lymphocytes/monocytes products. *Curr Eye Res*, 34, 975–982.
- Roberge et al. (1988). Glial retinal Müller cells produce IL-1 activity and have a dual effect on autoimmune T-helper lymphocytes. Antigen presentation manifested after removal of suppressive activity. *Journal of Immunology*, 140, 2193–2196.
- Robinson et al. (1993). Unidirectional coupling of gap junctions between neuroglia. *Science*, 262, 1072–1074.
- Rocha et al. (1999). Activation of NMDA receptors protects against glutamate neurotoxicity in the retina: evidence for the involvement of neurotrophins. *Brain Research*, 827, 79–92.
- Romeike et al. (1998). Immunohistochemical studies in equine recurrent uveitis (ERU). *Vet. Pathol*, 35, 515–526.
- Rothstein et al. (1994). Localization of neuronal and glial glutamate transporters. *Neuron*, 13, 713–725.
- Rungger-Brändle et al. (2000). Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41(7), 1971–1980. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10845624
- Saccà et al. (2013). Environmental light and endogenous antioxidants as the main determinants of non-cancer ocular diseases. *Mutation Res*, 1–19.
- Salceda y Contreras-Cubas. (2007). Ascorbate uptake in normal and diabetic rat retina and retinal pigment epithelium. *Comparative biochemistry and physiology Part A Molecular integrative physiology*, 146, 175–179.
- Salvador-Silva, M., Vidal-Sanz, M., & Villegas-Pérez, M. P. (2000). Microglial cells in the retina of *Carassius auratus*: effects of optic nerve crush. *Journal of Comparative Neurology*, 417(4), 431–447. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&>
- Sánchez MR. (2009). *Caracterización in vivo e in vitro de progenitores neurales en la retina de peces teleósteos*. Universidad de Salamanca.
- Sarthy y Ripps. (2001). Role in retinal pathophysiology. In Blakemore C (Ed.), *The retinal Müller cell. Structure and function* (pp. 181–215). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Schiller, P. H. (1986). The central visual system. *Vision Research*, 26(9), 1351–1386. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3303663>

- Schnitzer. (1985). Distribution and immunoreactivity of glia in the retina of the rabbit. *Journal of Comparative Neurology*, 240, 128–142.
- Schnitzer J. (1988). Astrocytes in mammalian retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 7, 209–232.
- Schnitzer y Karshin. (1986). The shape and distribution of astrocytes in the retina of the adult rabbit. *Cell and Tissue Res.*, 246, 91–102.
- Schoenlein, R. W., Peteanu, L. A., Mathies, R. A., & Shank, C. V. (1991a). The first step in vision: femtosecond isomerization of rhodopsin. *Science*, 254(5030), 412–415. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1925597>
- Schoenlein, R. W., Peteanu, L. A., Mathies, R. A., & Shank, C. V. (1991b). Science 1991 Schoenlein.pdf. *Science*, 254(5030), 412–415. doi:10.1126/science.1925597
- Schubert. (1989). Cystoid macular edema: The apparent role of mechanical factors. *Prog Clin Biol Res*, 312, 277–291.
- Schubert HD. (2009). Structure and function of the neural retina. In *Ophtalmology* (Ed.), (3rd. editi.). St. Louis, Mo: Elsevier. Retrieved from <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002291.htm>
- Segawa y Hughes. (1994). Properties of the inwardly rectifying K conductance in the toad retinal pigment epithelium. *Journal of Physiology*, 476, 41–53.
- Sennlaub, F., Valamanesh, F., Vazquez-Tello, A., El-Asrar, A. M., Checchin, D., Brault, S., Gobeil, F., et al. (2003). Cyclooxygenase-2 in human and experimental ischemic proliferative retinopathy. *Circulation*, 108(2), 198–204. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12821538>
- Shamsuddin, N., & Kumar, A. (2011). TLR2 mediates the innate response of retinal Muller glia to *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*, 186(12), 7089–7097. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3110513&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Sharpe, L. T., & Stockman, A. (1999). Rod pathways: the importance of seeing nothing. *Trends in Neurosciences*, 22(11), 497–504. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10529817
- Shivers et al. (1988). Induction of gap junctions and brain endotheliurn-like tight junctions in cultured bovine endothelial cells: local control of cell specialization. *J. of Submicros. Cytol. Pathol*, 20, 1–14.

- Shutte y Werner. (1998). Redistribution of glutathione in the ischemic rat retina. *Neuroscience Letters*, 246, 53–56.
- Sievers J et al. (1994). Blood monocytes and spleen macrophages differentiate into microglia-like cells on monolayers of astrocytes: morphology. *Glia*, 12(4), 245–258. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7890329>
- Simó, R., Villarroel, M., Corraliza, L., Hernández, C., & Garcia-Ramírez, M. (2010). The retinal pigment epithelium: something more than a constituent of the blood-retinal barrier--implications for the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Journal of biomedicine biotechnology*, 2010, 190724. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2825554&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Skatchkov et al. (2000). Spatial Distribution of Spermine/Spermidine Content and K1-Current Rectification in Frog Retinal Glial (Müller) Cells. *Glia*, 31, 84–90.
- Sobrado-Calvo et al. (2007). Rat retinal microglial cells under normal conditions, after optic nerve section, and after optic nerve section and intravitreal injection of trophic factors or macrophage inhibitory factor. *Journal of Comparative Neurology*, 501, 866–878.
- Sontheimer. (1994). Voltage-dependent ion channels in glial cells. *Glia*, 11, 156–172.
- Spalton et al. (1955). *Atlas de Oftalmología Clínica*. (M. D. de Times & M. de E. S.A, Eds.) (1ra ed.). Madrid.
- Sparrow, J. R., Hicks, D., & Hamel, C. P. (2010). The retinal pigment epithelium in health and disease. *Current Molecular Medicine*, 10(9), 802–823. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21091424>
- Springfield T. (1972). The Structure of the Retina. *Cajal SR*.
- Steinberg, R. H. (1985). Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Documenta Ophthalmologica*, 60(4), 327–346. Retrieved from <http://www.springerlink.com/index/10.1007/BF00158922>
- Steinhäuser y Gallo. (1996). News on glutamate receptors in glial cells. *Trends in Neurosciences*, 19, 339–345.
- Stoll, G., & Jander, S. (1999). The role of microglia and macrophages in the pathophysiology of the CNS. *Progress in Neurobiology*, 58(3), 233–247. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10341362>

- Stone et al. (1995). Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *Journal of Neuroscience*, 15, 4738–4747.
- Stone, J., & Dreher, Z. (1987). Relationship between astrocytes, ganglion cells and vasculature of the retina. *Journal of Comparative Neurology*, 255(1), 35–49. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3819008>
- Strauss et al. (1996). Activation of Cl currents in cultured rat retinal pigment epithelial cells by intracellular applications of inositol-1,4,5-triphosphate: differences between rats with retinal dystrophy (RCS) and normal rats. *J Membr Biol*, 151, 189–200.
- Strauss, O. (2005). The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiological Reviews*, 85(3), 845–881. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987797>
- Streit, W. J. (1993). Microglial-neuronal interactions. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 6(4), 261–266. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0891061893900478>
- Tabernero et al. (1996). Endothelin-1 regulates glucose utilization in cultured astrocytes by controlling intercellular communication through gap junctions. *Glia*, 16, 187–195.
- Takagi et al. (1994). Characterization of glucose transporter in cultured human retinal pigment epithelial cells: gene expression and effect of growth factors. *IOVS*, 35, 170–177.
- Tanihara et al. (1993). Identification of transforming growth factor-beta expressed in cultured human retinal pigment epithelial cells. *IOVS*, 34, 413–419.
- Taylor et al. (2003). G lutamate stimulates neurotrophin expression in cultured Müller cells. *Molec Brain Res*, 111, 189–197.
- Thanos, S. (1992). Sick photoreceptors attract activated microglia from the ganglion cell layer: a model to study the inflammatory cascades in rats with inherited retinal dystrophy. *Brain Research*, 588(1), 21–28. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1393569>
- Thoreson, W. B. (2007). Kinetics of synaptic transmission at ribbon synapses of rods and cones. *Molecular Neurobiology*, 36(3), 205–223. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2474471&tool=pmcentre&rendertype=abstract>
- Tolentino, M. J. (2009). Current molecular understanding and future treatment strategies for pathologic ocular neovascularization. *Current Molecular Medicine*, 9(8), 973–981. Retrieved from

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19925410

- Tontsch y Bauer. (1991). Glial cells and neurons induce blood-brain barrier related enzymes in cultured cerebral endothelial cells. *Brain Research*, 549, 247–253.
- Törnquist, P., Alm, A., & Bill, A. (1990). Permeability of ocular vessels and transport across the blood-retinal-barrier. *Eye London England*, 4 (Pt 2)(Pt 2), 303–309. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2199237>
- Tout et al. (1993). The role of Müller cells in the formation of the blood-retina1 barrier. *Journal of Neuroscience*, 55, 291–301.
- Treumer et al. (2006). Autologous RPE–choroid sheet transplantation in AMD. *Br J Ophthalmol*, 91, 349–353.
- Tsuji, M., Kawano, S., Tsuji, S., Sawaoka, H., Hori, M., & Dubois, R. N. (1998). Induced by Colon Cancer Cells. *Cell*, 93(5), 705–716. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400814336>
- Tuo et al. (2007). Murine ccl2/cx3cr1 deficiency results in retinal lesions mimicking human age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(8), 3827–3836. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2048751&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Turner, D. L., & Cepko, C. L. (1987). A common progenitor for neurons and glia persists in rat retina late in development. *Nature*, 328(6126), 131–136. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3600789>
- Uckermann et al. (2004). Glutamate-evoked alterations of glial and neuronal cell morphology in the guinea-pig retina. *Journal of Neuroscience*, 24, 10149–10158.
- Ulbricht et al. (2013). Activation of retinal microglial cells is not associated with Müller cell reactivity in vitrectomized rabbit eyes. *Acta ophthalmologica*, 91(1), e48–55. doi:10.1111/j.1755-3768.2012.02527.x
- Ulyanova, T., Szél, A., Kutty, R. K., Wiggert, B., Caffé, A. R., Chader, G. J., & Van Veen, T. (2001). Oxidative stress induces heme oxygenase-1 immunoreactivity in Müller cells of mouse retina in organ culture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42(6), 1370–1374. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11328753>
- Valamanesh et al. (2013). Nestin expression in the retina of rats with inherited retinal degeneration. *Experimental Eye Research*, 1–9.

- Valberg, A., & Seim, T. (2008). Neural mechanisms of chromatic and achromatic vision. *Color Research Application*, 33(6), 433–443. doi:10.1002/col.20445
- Van Meer, G., & Simons, K. (1986). The function of tight junctions in maintaining differences in lipid composition between the apical and the basolateral cell surface domains of MDCK cells. *The European Molecular Biology Organization Journal*, 5(7), 1455–1464. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1166965&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Verkhatsky, A., Hoppe, D., & Kettenmann, H. (1991). K⁺ channel properties in cultured mouse Schwann cells: dependence on extracellular K⁺. *Journal of Neuroscience Research*, 28(2), 210–216.
- Vicario CU. (1999). *Neurobiología de la visión*. (Edicions UPC, Ed.) (2nd. ed., pp. 1–275). Cataluña: Universidad de Cataluña.
- Vicario CU. (2004). Fisiología de la retina (I): El mensaje visual en la primera sinápsis. *Neurobiología de la visión: Formación continúa, Ver y oír*(junio), 1–8.
- Villarroel et al. (2009). Effects of high glucose concentration on the barrier function and the expression of tight junction proteins in human retinal pigment epithelial cells. *Experimental Eye Research*, 89(6), 913–920. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19660451>
- Vinores. (1995). Assessment of blood-retina¹ barrier integrity. *Histol Histopathol*, 10, 141–154.
- Voaden. (1976). Gamma aminobutyric acid and glycine as retinal transmitters. In B. SL (Ed.), *Transmitters in the visual process*. New York: Oxford Press.
- Volterra y Meldolesi. (2005). Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 626–640.
- Vrabec. (1973). Retinal microglia in cases of choroidal melanoblastoma. *Ophthalmologica*, 166, 342–348.
- Vrabec, F. (1975). Activated human retinal microglia under pathological conditions. *Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie Albrecht von Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology*, 196(1), 49–60.
- Vuong, T. M., & Chabre, M. (1990). Subsecond deactivation of transducin by endogenous GTP hydrolysis. *Nature*, 346(6279), 71–74. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2164156

- Wagner, H. J., Fröhlich, E., Negishi, K., & Collin, S. P. (1998). The eyes of deep-sea fish. II. Functional morphology of the retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 17(4), 637–685. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9777652>
- Wagner HJ. (1990). Retinal structure of fishes. In Douglas & RH and Djamgoz MBA (Eds.), *The Visual System of Fish* (pp. 109–157). London: Chapman y Hall.
- Wahlin et al. (2000). Neurotrophic Factors Cause Activation of Intracellular Signaling Pathways in Müller Cells and Other Cells of the Inner Retina, but Not Photoreceptors. *IOVS*, 41, 927–936.
- Wang et al. (2007). P2X7 receptor inhibition improves recovery after spinal cord injury. *Nat. Med.*, 10, 821–827.
- Wang et al. (2009). Autophagy and exosomes in the aged retinal pigment epithelium: possible relevance to drusen formation and age-related macular degeneration. *PLoS ONE*, 4, 4160.
- Wang, J.-S., & Kefalov, V. J. (2011). The cone-specific visual cycle. *Progress in Retinal and Eye Research*, 30(2), 115–128. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3073571&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Wang, M., Ma, W., Zhao, L., Fariss, R. N., & Wong, W. T. (2011). Adaptive Müller cell responses to microglial activation mediate neuroprotection and coordinate inflammation in the retina. *Journal of Neuroinflammation*, 8(1), 173. doi:10.1186/1742-2094-8-173
- Wang, X., Zheng, H., Liu, C., Zhu, C., Wang, W., & Li, Z. (2008). Ciliary neurotrophic factor-treated astrocyte conditioned medium regulates the L-type calcium channel activity in rat cortical neurons. *Neurochemical Research*, 33(5), 826–832. Retrieved from <http://www.springerlink.com/index/cq0m02t6440p731r.pdf>
- Wässle H and Boycott BB. (1991). Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol. Rev*, 71, 447–480.
- Watanabe y Raff. (1988). Retinal astrocytes are immigrants from the optic nerve. *Nature*, 332, 834–837.
- Waterhouse J. (1902). Camera obscura. *Encyclopaedia Britannica*. Adams and Charles.
- Weiter et al. (1986). Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *IOVS*, 27, 145–152.
- Wiedemann et al. (2010). Astrocyte hypoxic response is essential for pathological but not developmental angiogenesis of the retina. *Glia*, 58, 1177–1185.

- Wilkinson-Berka, J. L., Alousis, N. S., Kelly, D. J., & Gilbert, R. E. (2003). COX-2 inhibition and retinal angiogenesis in a mouse model of retinopathy of prematurity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *44*(3), 974–979. Retrieved from <http://www.iovs.org/cgi/doi/10.1167/iovs.02-0392>
- Wolff E. (1938). Can the Network Formed by the Retinal Pigment Epithelium be Seen by the Ophthalmoscope?: (Section of Ophthalmology). *Proc R Soc Med*, *31*(9), 1104. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19991608>
- Wolter. (1955). The astroglia of the human retina and other glial elements of the retina under normal and pathologic conditions. *Am J Ophthalmol*, *40*, 88–100.
- Won, M. H., Kang, T. C., & Cho, S. S. (2000). Glial cells in the bird retina: immunochemical detection. *Microscopy Research and Technique*, *50*(2), 151–160. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10891879>
- Wu, S. M., Gao, F., & Maple, B. R. (2000). Functional architecture of synapses in the inner retina: segregation of visual signals by stratification of bipolar cell axon terminals. *Journal of Neuroscience*, *20*(12), 4462–4470. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844015>
- Wurm et al. (2008). Glial cell-derived glutamate mediates autocrine cell volume regulation in the retina: Activation by VEGF. *Journal of Neurochemistry*, *104*, 386–399.
- Xue, L., Ding, P., Xiao, L., Hu, M., & Hu, Z. (2010). Nestin, a new marker, expressed in Müller cells following retinal injury. *The Canadian journal of neurological sciences / Le journal canadien des sciences neurologiques*, *37*(5), 643–649.
- Yamada. (1989). Myelinated perikarya of the ganglion cells in the avian retina. *Okajima Folia Anat Jpn*, *66*, 211–222.
- Yamada, E. S., Silveira, L. C., Gomes, F. L., & Lee, B. B. (1996). The retinal ganglion cell classes of New World primates. *Revista Brasileira De Biologia*, *56* Su 1 Pt, 381–396. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=9394516>
- Yamaguchi et al. (2001). TIMP-1 production by bovine retinal pigment epithelial cells increases in response to cyclic mechanical stretch. *Jpn. J Ophthalmol*, *45*, 470–474.
- Yamamoto, T., Tasaki, K., Sugawara, Y., & Tonosaki, A. (1965). FINE STRUCTURE OF THE OCTOPUS RETINA. *The Journal of Cell Biology*, *25*(2), 345–359. Retrieved from <http://jcb.rupress.org/content/25/2/345.abstract>

- Yanase et al. (2002). Cellular localization of the diazepam binding inhibitor in glial cells with special reference to its coexistence with brain-type fatty acid binding protein. *Arch Histol Cytol*, 65, 27–36.
- Yang, X. L. (1998). Müller cells and retinal function. *Sheng li ke xue jin zhan Progress in physiology*, 29(1), 7–10. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12501696
- Zahs et al. (2003). Connexin Immunoreactivity in Glial Cells of the Rat Retina. *The J. of Comp. Neurobiology*, 455, 531–546.
- Zayit-Soudry et al. (2007). Retinal pigment epithelial detachment. *Survey of Ophthalmology*, 52, 227–243.
- Zayit-Soudry, S., Moroz, I., & Loewenstein, A. (1989). Retinal pigment epithelial detachment. *Journal francais d'ophtalmologie*, 52(3), 761–774. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17472800>
- Zech et al. (1998). Effect of cytokines and nitric oxide on tight junctions in cultured rat retinal pigment epithelium. *IOVS*, 39, 1600–1608.
- Zeng et al. (2000). Labelling of retinal microglial cells following an intravenous injection of a fluorescent dye into rats of different ages. *Journal of Anatomy*, 196, 173–179.
- Zhao et al. (2006). VEGF-A regulates the expression of VEGF-C in human retinal pigment epithelial cells. *Br J Ophthalmol*, 90, 1052–1059.
- Zhao et al. (2011). Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice. *PLoS ONE*, 6, e19456.
- Zhao, T. T., Tian, C. Y., & Yin, Z. Q. (2010). Activation of Müller cells occurs during retinal degeneration in RCS rats. *Advances in experimental medicine and biology*, 664, 575–583. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20238061>
- Zhas y Wu. (2001). Confocal Microscopic Study of Glial- Vascular Relationships in the Retinas of Pigmented Rats. *Journal of Comparative Neurology*, 429, 253–269.
- Zonta et al. (2003). Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nature neurosciences*, 6, 43–50.

Lista de figuras

Figura 1	Representación esquemática de la retina.....	2
Figura 2	Representación esquemática de un ojo humano.....	3
Figura 3	Corte histológico transversal de las capas de la retina de cerdo.....	4
Figura 4	Micrografía y esquema del EPR, coroides y los SE en el humano.....	5
Figura 5	Tinción de Golgi en células de Müller de varias especies.....	6
Figura 6	Interacción entre las células de Müller y las neuronas retinianas.....	7
Figura 7	Inmunotinción para GFAP en retinas de rata expuestas a la luz blanca continua o tras un desprendimiento de retina.....	8
Figura 8	Esquema de una ojo humano en orientación transversal.....	11
Figura 9	Corte transversal de un ojo humano. Principales regiones y zonas de la retina central y periférica.....	16
Figura 10	Esquema que muestra el curso temporal de la retinogénesis.....	18
Figura 11	Esquema de las células fotorreceptoras y estructuras macroscópicas...	19
Figura 12	Esquema que muestra los principales tipos de neuronas presentes en la retina de mamíferos.....	24
Figura 13	Esquema transversal de retina de los diferentes tipos celulares gliales y el EPR.....	28
Figura 14	Esquema de un ojo humano y su relación funcional con la <i>camera oscura</i>	30
Figura 15	Representación de la fase de activación de la fototransducción en vertebrados.....	32
Figura 16	Esquema de las principales vías sinápticas neuronales en la retina de mamíferos.....	35
Figura 17	Regulación de las concentraciones de GABA en la retina de mamíferos por la GM.....	38
Figura 18	Regulación del K ⁺ extracelular por la GM en la retina.....	40
Figura 19	Inmunoblot comparativo de la expresión de GS y GLAST-1 en cultivos de GM de rata y micrografía de fluorescencia que muestra la localización de GLAST-1 en la retina de rata.....	41

Figura 20	Expresión de factores neurotróficos en la GM y co-localización de factores tróficos con la proteína CRALBP en la GM de retinas de ratón.	42
Figura 21	Modelo de medición del efecto inhibitorio neuronal del glutamato y/o ATP secretados por la GM.....	43
Figura 22	Micrografía de astrocitos retinianos marcados con GFAP.....	47
Figura 23	Micrografía de la expresión de VEGF en astrocitos de la retina de ratón	49
Figura 24	Imagen de fluorescencia de la propagación de ondas de Ca ²⁺ en astrocitos.....	50
Figura 25	Inmunoreactividad de la localización de GLAST-1 en la retina de rata...	51
Figura 26	Esquema del flujo de glutamato/glutamina entre astrocitos y neuronas.	52
Figura 27	Microfotografía confocal que muestra a la microglía retiniana en ratas...	53
Figura 28	Histograma de la densidad de células de microglía retiniana de rata tras la identificación de lectina IB4.....	54
Figura 29	Efecto del VEGF en la regulación de la permeabilidad del EPR de cerdo.....	56
Figura 30	Evidencias experimentales que muestran la versatilidad de las células ARPE-19 como modelo de estudio del EPR.....	57
Figura 31	Microscopía electrónica de la eficiencia e integridad de la BHR externa	58
Figura 32	Histograma del efecto de diferentes concentraciones de glutatión exógeno en la viabilidad celular de un cultivo de GM de rata.....	66
Figura 33	Criosecciones de secciones retinianas exhibiendo la expresión de HO-1 (GM) después de la incubación con arseniato de sodio.....	66
Figura 34	Efecto del proceso de isquemia en la homeostasis de iones en la GM, particularmente K ⁺	67
Figura 35	Expresión de la nestina en retinas de ratas controles y con retina distrófica.....	69
Figura 36	Sobre-expresión del CNTF en astrocitos retinianos.....	72
Figura 37	Evidencias que muestran la expresión de <i>Pax-2</i> en la retina de pez dorado.....	73
Figura 38	Micrografía que muestra la microglía de la retina teñida en negro método de Hortega.....	74

Figura 39	Imágenes de fluorescencia de la activación glial en un modelo de neovascularización coroidal en ratones.....	76
Figura 40	Evidencia de la activación de las células de la microglía retiniana.....	78
Figura 41	Morfología retiniana en varias condiciones de cultivo.....	79
Figura 42	Resultados que muestran a la proteína apolipoproteína-1 en el EPR....	81
Figura 43	Niveles de expresión del PEDF secretada por el EPR, en condiciones control y en un modelo de DMAE de ratón.....	81
Figura 44	Participación del EPR en la patología de DMAE en sus dos clases.....	82

Abreviaturas

Akt	Proteína cinasa clase B
AMPA/KA	Amino-3-hidroxi-5-metilsoxazol de ácido propiónico/Kainato
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AQP	Acuaporina
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ARPE-19	Amy Aotaki Keen Retinal Pigment Epithelium-19
ATP	Adenosina tri fosfato
bFGF	Factor de crecimiento fibroblástico básico
BHR	Barrera hemato-retiniana
Ca ²⁺	Ión calcio
CCG	Capa de células ganglionares
CD45	Conjunto de diferenciación número 45
CFNO	Capa de fibras del nervio óptico
c-Fos	oncogen de diferenciacion
Cl ⁻	Ión cloruro
CNE	Capa nuclear externa
CNI	Capa nuclear interna
CNTF	Factor neurotrófico ciliar
Cnx	Conexinas
CPE	Capa plexiforme externa
CPI	Capa plexiforma interna
CRALBP	Proteína de unión a retinaldehído celular
DMAE	Degeneración macular asociada a la edad
EAAT5	Transportador de aminoácidos excitatorios tipo 5

EGF	Factor de crecimiento epidermal
EPR	Epitelio pigmentario retiniano
Erk 1/2	Cinasa regulada por señales extracelulares
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
GABA	Ácido gama-amino butírico
GAT	Transportador de GABA
GDNF	Factor neurotrófico derivado de la glía
GFAP	Proteína acídica verde fluorescente
GLAST-1	Transportador de glutamato tipo 1
GLUT-1	Transportador de glucosa tipo 1
GLUT-3	Transportador de glucosa tipo 3
GM	Glía de Müller
GMPc	Guanosina mono fosfato cíclica
GS	Glutamina sintetasa
GTP	Guanosina tri fosfato
HO-1	Hemooxigenasa tipo 1
IGF-1	Factor crecimiento derivado de la insulina tipo 1
IRBP	Proteína intersticial de union a retinol
K ⁺	Ión potasio
Kir	Canales de potasio de rectificación entrante
LEDGF	Factor de crecimiento derivado del epitelio del cristalino
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos tipo 1
MHC-I	Complejo principal de histocompatibilidad tipo 1
MHC-II	Complejo principal de histocompatibilidad tipo 2
MLE	Membrana limitante externa

MLI	Membrana limitante interna
Na ⁺	Ión sodio
NaCl	Cloruro de sodio
NF-Kb	Factor nuclear kappa b
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NMDA	Canales de glutamato dependientes de N-metil-D-aspartato
NRF-2	Factor nuclear tipo 2
NT3	Neurotrofina tipo 3
ON	Óxido nítrico
P3I	Inositol 3-fosfato
PDE	Fosfodiesterasa
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PEDF	Factor derivado del epitelio pigmentario
R*	Metarrodopsina II
RD	Retinopatía diabética
ROP	Retinopatía del prematuro
RP	Retinitis pigmentosa
RPE-65	Proteína específica del epitelio pigmentario clase 65
SE	Segmentos externos de los fotorreceptores
SNC	Sistema Nervioso Central
TGF-β	Factor de crecimiento transformante tipo beta
Tα	Subunidad alfa de la proteína transducina
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
ZO-1	<i>Zonula ocludens</i> tipo 1