

# Trabajos de Revisión

Centro de Investigaciones Biomédicas del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”

## Empleo de las sustancias neurotróficas como terapéutica en la retinosis pigmentaria

*Lic. Yelamy Travieso González, Lic. Aimé Posada García, Lic. Lucía Fariñas, Dra. Mercedes Meléndez, Lic. Zonia Martínez Benítez y Lic. María Dolores Dujarric Martínez*

### Resumen

Se hizo una revisión sobre las sustancias neurotróficas como terapéutica en la retinosis pigmentaria, una de las distrofias retinianas más estudiadas. Es una enfermedad crónica no transmisible, con gran heterogeneidad clínica y genética, la cual se caracteriza por la pérdida progresiva de los fotorreceptores, lo que conduce a la ceguera. Su tratamiento constituye uno de los graves problemas no resueltos aún a escala mundial. Recién se han publicado trabajos científicos sobre nuevas sustancias que pueden tener efecto neuroprotector, angiogénico y mitogénico, sobre el sistema nervioso, específicamente en los elementos celulares de la retina. Estas sustancias neurotróficas sugieren una alternativa terapéutica, a corto plazo, en las enfermedades neurodegenerativas de la retina, con gran éxito y recuperación de la función visual de las células que no han muerto, mediante la modulación del proceso de apoptosis en modelos animales con retinosis pigmentaria. Se espera que en un futuro se utilicen en combinación con otras técnicas de mayor alcance, como por ejemplo la terapia génica.

*Palabras clave:* Retinosis pigmentaria, distrofias retinianas, apoptosis, fotorreceptores, sustancias neurotróficas.

La retinosis pigmentaria (RP) es una enfermedad crónica, de carácter hereditario, que conduce a la pérdida progresiva de los fotorreceptores mediante el proceso de apoptosis. La muerte celular de los fotorreceptores parece representar un camino común en la patología de la RP. *Carmody* y otros<sup>1</sup> mediante un modelo *in vitro* de apoptosis de fotorreceptor demostraron un claro y sustancial incremento en especies reactivas del oxígeno intracelular, acompañado por una rápida depleción de glutatión intracelular. Estos cambios tempranos en el estado redox preceden la disrupción del potencial de membrana mitocondrial, condensación nuclear, ruptura del DNA, y pérdida celular, todos los cuales son eventos bien caracterizados de muerte celular por apoptosis. El mecanismo de muerte de las células

fotorreceptoras (conos y bastones) en diferentes degeneraciones retinales hereditarias no es completamente conocido. Mutaciones en un número diferente de genes como la rodopsina, la subunidad  $\beta$ ular. Estos cambios tempranos en el estado redox preceden la disrupción del potencial de membrana mitocondrial, condensación nuclear, ruptura del DNA, y pérdida celular; todos los cuales son eventos bien caracterizados de muerte celular por apoptosis. El maria es específica para los bastones, resultando en la degeneración de los fotorreceptores y ceguera. No existen datos que justifiquen la muerte de los conos, pero observaciones en modelos animales de retinosis muestran que la supervivencia de los conos depende de la presencia de los bastones. Se piensa que las retinas que contienen bastones liberan un factor trófico difusible que promueve la supervivencia de los conos. En algunos modelos se han eliminado los bastones de manera selectiva y después se mueren los conos.<sup>3</sup> Sin embargo, a pesar del hecho de que el defecto genético es expresado solamente en los bastones, por otro lado, los conos saludables invariablemente mueren, resultando en un deterioro visual severo.

*Ripps* propone un mecanismo que puede ser responsable, al menos en parte, de esta desafortunada circunstancia. Él parte de la hipótesis de que la diseminación de la enfermedad desde los bastones moribundos a conos genéticamente normales es una forma de efecto *bystander*, mediado por las brechas de unión que existen entre estos fotorreceptores (bastones-conos). Desde este punto de vista, los agentes que disparan el proceso apoptótico penetran los canales de brechas-unión intercelular, y conducen a la muerte secundaria de los conos vecinos.<sup>4</sup> Otros autores plantean la liberación por los fotorreceptores que mueren de un factor tóxico difusible que induce a las células adyacentes a entrar en apoptosis.<sup>5</sup>

En los últimos 5 años se han publicado trabajos científicos sobre nuevas sustancias que inhiben la apoptosis en modelos animales con RP, con gran éxito y recuperación de la función visual de las células que no han muerto. Estas sustancias neurotróficas, sugieren una alternativa terapéutica a corto plazo en las enfermedades neurodegenerativas de la retina. La primera indicación de que esto puede ser viable fue la inyección del factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) intraocular en modelos de ratas de RP, resultando en una supervivencia de los fotorreceptores por un tiempo más prolongado.<sup>6</sup> El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factor de crecimiento nervioso (NGF) y neurotrofin 4/5 (NT 4/5), por tener una influencia relativamente específica en el tejido neural, son igualmente atractivos. Están presentes en el SNC, y desempeñan un importante papel en el desarrollo neural, diferenciación y supervivencia de este tejido.<sup>7</sup> Otro importante factor neurotrófico es el factor neurotrófico ciliar (CNTF) el cual está estrechamente relacionado con la interleuquina 6.<sup>8</sup> Existe un incremento de trabajos experimentales que ilustran el valor potencial de estos factores en el tratamiento de diversas afectaciones de la retina. Inyecciones intravítreas de BDNF, CNTF o bFGF temporalmente protegen la retina de la presión inducida por dapos isquémicos.<sup>9</sup> Ambos, BDNF y CNTF, protegen la retina de dapos producidos por la luz en ratas y ratones albinos.<sup>10,11</sup> BDNF también promueve la regeneración de los segmentos externos de fotorreceptores en modelos de desprendimiento retinal en felinos.<sup>12</sup> Se ha confirmado la habilidad del CNTF para proteger los fotorreceptores del estrés, y se plantea que este puede actuar por la modulación de eventos específicos que ocurren en el segmento externo de estas células, como la cascada de fototransducción o los canales de membrana.<sup>13</sup> La expresión incrementada del BDNF, por inyecciones intravítreas, en modelos de animales de degeneración retinal preserva la

función retinal y disminuye la muerte celular por mutación de la rodopsina o dapo oxidativo.<sup>14</sup> Se ha reportado que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es el mayor factor angiogénico del omentum majus, y es producido también por el tejido adiposo.<sup>15</sup>

Una sobreexpresión de VEGF en la retina es suficiente para causar neovascularización intrarretinal y subretinal. Mientras que la inhibición de la expresión o actividad del VEGF inhibe la neovascularización retinal. Es producido además por células gliales y de la retina neural, así como astrocitos especializados, incluidas las células de M•ller.<sup>16</sup> Células progenitoras retinales parecen ser blanco para el VEGF, y este factor puede estar involucrado en la regulación del programa de desarrollo temprano de la neurogénesis retinal.<sup>17</sup> Otros reportes señalan que los adipocitos sintetizan y secretan otros factores de crecimiento como el factor básico de crecimiento fibroblástico (bFGF), el cual es un potente regulador de la proliferación celular, diferenciación y funcionamiento celular y es críticamente importante en el desarrollo normal, mantenimiento tisular y reparación de dapos. Se conoce que muestra actividad mitogénica en células endoteliales *in vitro* y angiogénesis *in vivo*.<sup>18</sup> Otros investigadores señalan que el FGF estimula la supervivencia de fotorreceptores *in vivo* e *in vitro*.<sup>19</sup> En el sistema nervioso central, el FGF está ampliamente expresado en células neuronales y gliales y posee efecto neuroprotector en ambos, *in vivo* e *in vitro*. Dentro del sistema nervioso central, especialmente la retina, el FGF2 muestra ser prometedor en el tratamiento terapéutico de neurodegeneraciones. FGF2 retrasa la ruptura de los fotorreceptores en varios modelos en ratas, *in vivo*, y la inactivación de los FGFR de los fotorreceptores conducen a la degeneración retinal en ratones.<sup>19</sup> La expresión incrementada de FGF2 protege los fotorreceptores del daño producido por hiperoxia, pero no disminuye la muerte celular relacionada con la expresión de proteínas mutadas involucradas en el proceso de fototransducción. Esto sugiere que el FGF2 protege a los fotorreceptores del daño oxidativo, lo que puede desempeñar un importante papel en enfermedades genéticas complejas como la degeneración macular relacionada con la edad.<sup>20</sup> El VEGF fue expresado durante al menos 20 meses en la retina y el epitelio pigmentario retinal, en un modelo animal de neovascularización coroidal por inyección de VEGF, asociado a adenovirus dentro del espacio subretinal de rata. Secciones histológicas mostraron una extensiva neovascularización subretinal, degeneración de fotorreceptores y proliferación del epitelio pigmentario retinal (EPR), a partir de las 5 semanas hasta 20 meses después de la inyección.<sup>21</sup>

El CNTF ha mostrado ser un promotor de la supervivencia de un número de diferentes tipos celulares neuronales, incluidos los fotorreceptores. *Liang* y otros probaron que la liberación del gen que codifica el CNTF por mediación de un adenovirus asociado, retarda la muerte de los fotorreceptores en ratón rodopsina *knockout*, un modelo animal de RP.<sup>22</sup> La administración exógena de NGF en ratones C3H/HeJ afectados por RP retarda la degeneración retinal y la baja presencia de NGF en ojos de ratas RCS durante la vida posnatal temprana puede ser un factor crítico implicado en la RP.<sup>23</sup>

Estudios recientes demostraron por primera vez que la liberación intraocular prolongada de BDNF influyó en la supervivencia, migración, integración y diferenciación de células madres neurales, derivadas de hipocampus de ratas adultas con transplante en la retina de ratas en desarrollo.<sup>24</sup> Este es el primer reporte sobre el efecto *in vivo* de BDNF en el transplante retinal de células madres neurales. El efecto de las diferentes familias de factores tróficos sobre la supervivencia de los bastones en cultivo de

órganos de ratones rd (homocigóticos para la subunidad de la fofodiesterasa mutada) demostró que la degeneración de los fotorreceptores no fue bloqueada por CNTF, BDNF, FGF2, GDNF, individualmente. Sin embargo, la combinación de estos demuestra que su interacción sinérgica promueve la supervivencia de los fotorreceptores.<sup>25</sup> El trasplante subretinal de células Schwann puede prolongar la supervivencia de fotorreceptores en ratones rodopsina *knockout*. Esto fue demostrado por la presencia de CNTF, BDNF, GDNF en los cultivos de células Schwann. Las células Schwann injertadas produjeron un rescate estadísticamente significativo de fotorreceptores en un área restringida de la retina, la PN70.<sup>26</sup> Inyecciones subretinales de GDNF en modelos de animales de degeneración retinal hereditaria, similar a la mayoría de las formas de RP, demuestran un rescate de fotorreceptores.<sup>27</sup> El FGF2 junto con la insulina fueron inyectados en la cámara vítrea de pollos posnatales y se encontró que se indujo la producción de células ganglionares a partir de progenitores del margen retinal. En el desarrollo normal de la retina los progenitores neurales producen células amacrinas y bipolares, de lo cual concluyen que el tipo celular producido por estos progenitores puede ser alterado por factores de crecimiento exógeno.<sup>28</sup>

Los fotorreceptores tienen un fenotipo complejo, único y altamente específico, muchos aspectos de los cuales pudieran incrementarse a partir de la interacción con otras células. Fuentes potenciales de interacción pudieran ser células en el entorno inmediato, como la célula de la Glia de Muller y células horizontales, así como tejidos adyacentes como el epitelio pigmentario retinal. Pequeñas moléculas solubles de señalización pudieran mediar la interacción entre el desarrollo de los fotorreceptores y otros tipos celulares retinales. El EGF y el TGF alfa fueron los primeros factores reportados que inhiben la diferenciación de los bastones.<sup>29,30</sup> Anchan y otros primero reportaron que estos factores fueron mitogénicos a partir de células precursoras de retina (RPCs) y subsecuentemente demostraron que eran mitogénicos para células progenitoras en muchas áreas del sistema nervioso central.<sup>31</sup> Aunque ellos son mitogénicos, el efecto inhibitorio de cada uno, no impide la diferenciación de las RPCs porque otros tipos de neuronas retinales, diferentes a bastones, son generadas en presencia de concentraciones saturadas de cada factor. En adición, otros mitógenos para RPCs, como TGF beta 3, no inhiben la diferenciación a fotorreceptor. Por ello la estimulación mitogénica no es determinante para bloquear la diferenciación a fotorreceptor. Se ha encontrado que la activación del EGFR suprime selectivamente la diferenciación de bastones. La eliminación del EGF o TGF alfa, del medio de cultivo, permite a algunas de las RPCs diferenciarse a bastones.<sup>29</sup>

La citoquina CNTF exhibe un fuerte efecto en el desarrollo de fotorreceptor en pollos y ratas *in vivo* e *in vitro*. En la Glia de Muller de retina y en retina embrionica, se ha comprobado la expresión de CNTF. Hasta ahora el factor está presente en el tiempo apropiado durante el desarrollo retinal *in vivo*.<sup>32-34</sup> El CNTF puede coordinar la diferenciación de bastones por retardo de la maduración final hasta que otros componentes retinales hayan alcanzado un apropiado estado funcional.<sup>35</sup> Se ha encontrado que la adición de FGF2 a cultivos de células retinales de rata causa un incremento en el número de fotorreceptores que expresan rodopsina. Este efecto fue específico para FGF2 porque ni el EGF ni el NGF mostraron una respuesta similar. Por otra parte, en su ensayo otros tipos celulares no fueron afectados y el incremento en los fotorreceptores que expresaron rodopsina no parece estar unido al incremento en la proliferación o supervivencia. Por lo tanto, sugirieron que el FGF2 es un factor de

diferenciación para los bastones inmaduros que están limitando el cultivo de monocapas.<sup>36</sup> El papel preciso del FGF2 en el desarrollo de fotorreceptores no es tan simple. *Zhao and Barnstable*<sup>37</sup> reportaron que en explante de retina de ratas E12, el FGF2 exógeno no tiene un efecto en la expresión de rodopsina, aunque las numerosas condiciones de cultivo pudieron influir en los resultados; otra explicación es que la respuesta a FGF2 en el desarrollo de los fotorreceptores cambia en el tiempo. Consistentemente con esto, se ha observado que el FGF2 no incrementa el número de células que expresan rodopsina en cultivos monocapas disociados de células de retina de rata E18.<sup>38</sup> Por otra parte, después del pase 7, el FGF2 deja de estimular la expresión de rodopsina.

La mayoría de los trabajos han utilizado una batería de cultivos *in vitro*, mientras que el papel preciso de estos factores en la regulación del desarrollo de los bastones *in vivo* no está bien establecido; la aproximación *in vitro* ha sido tanto informativa como productiva.

Los hallazgos *in vitro* pueden revelar un alto número artificial de factores de diferenciación de bastones; pero *in vivo* la concentración de estos factores debe ser mucho menor que la alcanzada en cultivo. Puede ser que la selección del destino particular de la célula y su subsecuente diferenciación esté regulada por una combinación de señales de bajo nivel, pero *in vitro* una cantidad sobreexpresada de señal simple puede conducir el proceso en una dirección particular, quizás hacia la diferenciación de bastones.<sup>35</sup> El uso de las sustancias neurotróficas en el tratamiento de las degeneraciones retinales, tiene la ventaja de que pueden ser efectivas en enfermedades con mutación genética desconocida. La eficacia de estas sustancias depende de su permanencia durante grandes períodos de tiempo en la retina, solamente alrededor de 1 mes en animales; sin embargo puede ser mucho más largo en humanos.<sup>39</sup> Inyecciones repetidas mensualmente pudieran representar dificultades ergonómicas e inevitablemente estar acompañadas por riesgos como el desprendimiento de la retina y endostalmitis. Sistemas biológicos y bioquímicos, de liberación lenta, están siendo desarrollados y pueden vencer este problema.<sup>40</sup> Esto es esperanzador porque además de la RP existen numerosas enfermedades que podrían beneficiarse de estos avances y cabe esperar que aumente el interés y su estudio en la actualidad. En el corto tiempo de 5-10 años es posible que el uso de los factores tróficos sea la terapia más prometedora, aunque no es la mejor solución a largo plazo. Recién se han abierto varias vías para el tratamiento de la RP, entre las que se encuentran: el trasplante de células sanas, el uso de las células madres y la terapia génica. Un trasplante de células sanas en la RP no sería efectivo, porque las células nuevas sufrirían la apoptosis debido a las células enfermas que se mantienen en la retina. Sin embargo, los tratamientos antes citados abren expectativas a más largo plazo al trasplante de células sanas en individuos. Una vez controlada la apoptosis de las células es posible trasplantar células sanas sin riesgo a que estas sufran apoptosis. Entonces el trasplante de células adquiriría su aplicación restableciendo la función visual en pacientes cuya cantidad de células muertas es elevada, debido al estado avanzado de la enfermedad y que de otra manera tampoco podrían recuperar función visual completa con los factores inhibidores de la apoptosis. Sería un tratamiento complementario. El trasplante puede ser útil para preservar la visión central mientras que el implante retinal artificial está dirigido al mantenimiento del campo visual.<sup>41</sup> Algunos trabajos refieren el rescate de fotorreceptores, mediante el implante de células madres derivadas de médula ósea en modelos de animales de degeneración retiniana (rd1, rd10); sin embargo pocos reportan su actividad funcional.<sup>42,43</sup> Aun cuando el implante de células madres fuera exitoso, las alteraciones de

las células enfermas afectarían a las nuevas desarrolladas. Sin embargo, en un futuro, a largo plazo podrían tener aplicación si existiera un control de la muerte celular con las sustancias encargadas de la supervivencia.<sup>41</sup> En relación con la terapia génica se puede plantear que aunque es la esperanza futura, aún falta mucho por hacer en este campo. La corrección de la mutación en etapas tempranas podría evitar la alteración y la apoptosis. La dificultad es que la cantidad de mutaciones y genes implicados son innumerables, por lo que se requieren múltiples terapias génicas para el tratamiento de la RP. Por estas razones; además de que no son bien conocidos los mecanismos de acción de las mutaciones que inducen la RP, la terapia génica apunta a largo plazo. Se propone la combinación de terapia génica y factores neurotróficos al reintroducir células hospederas modificadas genéticamente que sean capaces de liberar factores neurotróficos.<sup>44</sup> En un modelo de degeneración de fotorreceptores en el que se generó un ratón transgénico doble con doxiciclina, que induce la expresión de BDNF en la retina, se logró un significativo retardo de la muerte de los fotorreceptores y el mantenimiento de la función retinal. La expresión de BDNF también causó una fuerte protección de los fotorreceptores a partir del daño oxidativo inducido por muerte celular. Esta data sugiere que la continua expresión de BDNF a diferencia de la inyección intravítrea, resulta en un beneficio morfológico y funcional en modelos de animales de degeneración retinal hereditaria.<sup>45</sup> En tan solo unos pocos años los avances en la comprensión de los mecanismos de la RP han sido muy satisfactorios y, aunque quedan muchas preguntas sin responder, bastantes autores están considerando posibles tratamientos farmacológicos. Es importante resaltar que los tratamientos que bloquean la apoptosis, probablemente no sean terapias definitivas, porque son una consecuencia final en muchas enfermedades y no son la causa de RP. Pero estos tratamientos pueden ser terapias útiles usadas en combinación con otros tratamientos dirigidos a la causa principal.

## **Use of neurotrophic substances as therapeutics in retinitis pigmentosa**

### **Summary**

A review of the neurotrophic substances as therapeutics in retinitis pigmentosa, one the most studied retinal dystrophies, was made. It is a chronic and noncommunicable disease with great clinical and genetical heterogeneity that is characterized by the progressive loss of the photoreceptors, which leads to blindness. Its treatment is one the serious problems that have not been solved yet at the world level. There have been published scientific papers on new substances that may have a neuroprotective, angiogenic, and mitogenic effect on the nervous system, specifically on the cellular elements of the retina. These neurotrophic substances suggest a therapeutic alternative on the short term in the neurodegenerative diseases of the retina with great success and recovery of the visual function of the cells that have not died by the modulation of the apoptosis process in animal models with retinitis pigmentosa. It is expected that in a future they will be used combined with other techniques of larger scope as, for example, the genic therapy.

*Key words:* Retinitis pigmentosa, retinal dystrophies, apoptosis, photoreceptors, neurotrophic substances.

## Referencias bibliográficas

1. Carmody RJ, McGowan AJ, Cotter TG. Reactive oxygen species as mediators of photoreceptor apoptosis *in vitro*. *Exp Cell Res* 1999;248(2):520-30.
2. Wong P.: Apoptosis, retinitis pigmentosa, and degeneration. *Biochem Cell Biol* 1994;72 (11-12):489-98.
3. Saddek Mohand. Normal retina releases a diffusible factor stimulating cone survival in the retinal degeneration mouse. *Neurobiology* 1998;95(14):8357-62.
4. Ripps H. Cell death in retinitis pigmentosa: gap junctions and the "bystander" effect. *Exp Eye Res* 2002;74(3):327-36.
5. Burns J, Clarke G, Lumsden CJ. Photoreceptor death: spatiotemporal patterns arising from one-hit death kinetics and diffusible cell death factor. *Bull Math Biol* 2002;64(6):1117-45.
6. Faktorovich EG, Steinberg RH, Yasumura D. Photoreceptor degeneration in inherited retinal dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature* 1990;347:83-6.
7. Thoenen H. The changing scene of neurotrophic factor. *Trends Neurosci* 1991;14: 165-70.
8. Richardson PM. Ciliary neurotrophic factor: a review. *Pharmacol Ther* 1994;63:187-98.
9. Inyecciones intraviteales de BDNF, CNTF o bFGF. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:907-15.
10. La Vail MM, Unoki K, Yasumura D. Multiple growth factor, cytokines, and neurotrophins rescue photoreceptors from the damaging effects of constant light. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:11249-53.
11. La Vail MM, Yasumura D, Matthes MT. Protection of mouse photoreceptors by survival factor in retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:592-602.
12. Fisher SK, Guerin CJ, Linberg KA. BDNF promotes outer segment regeneration in experimentally detached retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:963.
13. Valter K. Location of CNTF Ralpha on outer segments: evidence of the site of action of CNTF in rat retina. *Brain Res* 2003;985(2):169-75.
14. Okoye G. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor preserves retinal function and slows cell death from rhodopsin mutation or oxidative damage. *J Neurosci* 2003;23(10):4164-

- 72.
15. Zhang OX, Magoven CJ, Mack CA, Budenbender KT, Ko W, Rosengart TK. Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum: mechanism of the omentum-mediated angiogenesis. *J Surg Res* 1997;67(2):147-54.
16. Penn JS, Li S, Naash MI. Ambient hypoxia reverses retinal vascular attenuation in a transgenic mouse model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(12):4007-13.
17. Yorey PA. Vascular endothelial cell growth factor promote the *in vitro* development of rat photoreceptor cells. *J Neurosci* 2000;20(18):6781-8.
18. Bussolino F, Albin A, Camussi G, Presta M, Viglietti G, Ziche M, et al. Role of soluble mediators in angiogenesis. *Eur J Cancer* 1996;32:2401-12.
19. Kinkl N, Sahel J, Hicks D. Alternate FGF2 - ERK1/2 signaling pathways in retinal photoreceptor and glial cells *in vitro*. *J Biol Chem* 2001;276(47):43871-8.
20. Yamada H. Fibroblast growth factor-2 decreases hyperoxia-induced photoreceptor cell death in mice. *Am J Pathol* 2001;159(3):1113-20.
21. Wang F, Rendahl KG, Manning WC, Quiroz D, Coyne M, Miller SS. AAV-Mediated expression of vascular endothelial growth factor induces choroidal neovascularization in rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(2):781-90.
22. Liang FQ. AAV-Mediated delivery of ciliary neurotrophic factor prolongs photoreceptor survival in the rhodopsin knockout mouse. *Mol Ther* 2001;3(2):241-8.
23. Amendola T. Developmental expression of nerve growth factor in the eye of rats affected by inherited retinopathy: correlative aspects with retinal structural degeneration. *Arch Ital Biol* 2002;140(2):81-90.
24. Takuya S. Effects of prolonged delivery of brain derived neurotrophic factor on the fate of neural stem cells transplanted into the developing rat retina. *Biochem Biophys Res Comm* 2003;309:843-7.
25. Olgivie JM. Growth factors in combination, but not individually, rescue rd mouse photoreceptors in organ culture. *Exp Neurol* 2000 Feb; 161 (2): 676-85.
26. Keegan DJ. Transplantation of syngenic Schwann cells to the retina of the rhodopsin knockout (rho(-/-)) mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(8):3526-32.
- 27.



- Frasson M. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces histologic and functional protection of rod photoreceptors in the rd/rd mouse. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 1999;40 (11):2724-34.
28. Fischer AJ, Dierks BD, Reh TA. Exogenous growth factors induce the production of ganglion cells at the retinal margin. *Development* 2002;129:2283-91.
29. Reh T. A.: Cellular interactions determine neuronal phenotypes in rodent retinal cultures. *J Neurobiol* 1992;23:1067-83.
30. Lillien L, Cepko C. Control of proliferation in the retina: temporal changes in responsiveness to FGF and TGF alpha. *Development* 1992;115:253-66.
31. Anchan RM, Reh TA, Angello J, Balliet A, Walker M. EGF and TGF-alpha stimulate retinal neuroepithelial cell proliferation *in vitro*. *Neuron* 1991;6:923-36.
32. Hofmann HD. Ciliary neurotrophic factor stimulates choline acetyltransferase activity in cultured chicken retina neurons. *J Neurochem* 1988;51:109-13.
33. Hofmann HD. Development of cholinergic retinal neurons from embryonic chicken in monolayer cultures: stimulation by glial cell-derived factors. *J Neurosci* 1988;8:1361-9.
34. Kirsch M, Lee MY, Meyer V, Wiese A, Hofmann HD. Evidence for multiple, local functions of ciliary neurotrophic factor (CNTF) in retinal development: expression of CNTF and its receptors and *in vitro* effects on target cells. *J Neurochem* 1997;68:979-90.
35. Levine EM, Fuhrmann S, Reh TA. Soluble factors and development of rod photoreceptors. *CMLS Cell Mol Life Sci* 2000;57:224-34.
36. Hicks D, Courtois Y. Fibroblast growth factor stimulates photoreceptor differentiation *in vitro*. *J Neurosci* 1992;12:2022-33.
37. Zhao S, Barnstable CJ. Differential effects of bFGF on development of the rat retina. *Brain Res* 1996;723:169-76.
38. Anchan RM. Regulation of rat retinogenesis by peptide growth factors. Dissertation. Seattle: University of Washington;1994.
39. La Vail MM, Yasumura D, Matthes MT. Protection of Mouse photoreceptors by survival factors in retinal degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:592-602.
40. Maysinger D, Krieglstein K, FilipovicGrcic J. Microencapsulated ciliary neurotrophic factor: physical properties and biological activities. *Exp Neurol* 1996;138:177-88.

- Chong NHV, Bird AC. Management of inherited outer retinal dystrophies: present and future. *Br J Ophthalmol* 1999;83:120-22.
42. Otanil A, Dorrell MI, Kinderl K. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage- negative hematopoietic stem cells. *J Clin Invest* 2004;114:765-74.
43. Tomita M, Adachi Y, Yamada H. Bone marrow-derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina. *Stem Cells* 2002;20:279-83.
44. Cayouette M, Gravel C. Adenovirus-mediated gene transfer of ciliary neurotrophic factor can prevent photoreceptor degeneration in the retinal degeneration (rd) mouse. *Hum Gene Ther* 1997;8:423-30.
45. Okoye G. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor preserves retinal function and slows cell death from rhodopsin mutation or oxidative damage. *J Neurosci* 2003;23(10):4164-72.

Recibido: 3 de octubre de 2004. Aprobado: 11 de abril de 2005.

Lic. *Yelamy Travieso González*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”. Avenida 146. No 3102 esquina a 31, reparto Cubanacán, municipio Playa. Ciudad de La Habana, Cuba. CP 11600. Teléf: 2084877. Correo electrónico: [yelamy@giron.sld.cu](mailto:yelamy@giron.sld.cu)