

MICROFTALMIA Y ANOFTALMIA EN EMBRION DE POLLO*

*J. Roberto Peralta R. ***

*Luis Muñoz Castellanos****

INTRODUCCION

Etimológicamente microftalmía significa ojo pequeño, de dimensiones inferiores a lo normal; sin embargo este término no refleja del todo la anomalía del desarrollo, ya que el análisis microscópico de estos ojos revelan que existe déficit en la estructura histológica de sus partes, característica típica de la hipoplasia. Anoftalmía significa ausencia del globo ocular.

Estas anomalías se han observado como resultado de la acción de diversos agentes teratógenos en varias especies;^{1,2,3,4} en el hombre están asociadas a diversas malformaciones orgánicas.^{5,6,7} Pocas son las observaciones realizadas de estas anomalías que se transmiten genéticamente en forma recesiva.

En la población mexicana, la frecuencia de microftalmía y anoftalmía se desconoce, aunque parece ser que la primera malformación se observa en uno de cada 40 mil pacientes que acuden a consulta oftalmológica. Con respecto a la anoftalmía parece ser poco frecuente ya que se acompaña de alteraciones que comprometen la vida del neonato y al morir no se informa si presentó esta alteración.⁸

El conjunto de estructuras que forman el sistema visual son importantes ya que constituyen un complejo funcional que recibe, codifica

y transmite información variada. Por tanto, es de interés estudiar los aspectos anormales del desarrollo de este sistema y en especial del ojo, que es uno de los órganos capaces de captar estímulos que permiten al hombre relacionarse con su medio ambiente (el 70% de los exeroceptores especiales se encuentran en la retina).⁹

Al estudiar la organogénesis normal del globo ocular y la función e interacción tisular durante el desarrollo, se obtiene la base para el conocimiento funcional y estructural de cada una de sus partes durante la morfogénesis, lo que permite determinar etapas críticas en la formación de este órgano.

Se utilizaron embriones de pollo de la cepa White Leghorn que presentan microftalmía y anoftalmía inducidas genéticamente y que tienen un patrón de desarrollo semejante al humano; esto permite tener bases para generalizar posibles mecanismos patogénicos.

HIPOTESIS

Ya que la agenesia e hipoplasia de ciertos órganos se origina por ausencia de inducción o inducción deficiente respectivamente, se puede pensar que anoftalmía y microftalmía podrían originarse por estas causas que operan en la morfogénesis ocular y constituyen parte de un mismo espectro de malformaciones. Debido a que éstas son inducidas genéticamente, la acción de los genes mutantes afectaría procesos de inducción, específicamente la primaria en la anoftalmía y las subsecuentes en la microftalmía. Por tanto, en la anoftalmía habrá ausencia de elementos celulares y tisulares del ojo,

*Síntesis de tesis desarrollada en el laboratorio del Departamento de Embriología del Instituto Nacional de Cardiología de México.

**Sección de Graduados de la Escuela Superior de Medicina del IPN, México.

***Director de tesis, Sección de Graduados de la Escuela Superior de Medicina del IPN, México.

que no faltarán en la microftalmía, aunque probablemente serán anormales.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron diez embriones de la cepa White Leghorn de diferentes etapas de desarrollo (26 a 36 según clasificación de Hamburger y Hamilton) que presentaron microftalmía y anoftalmía unilateral y bilateral. Estos embriones se obtuvieron de un lote de 400 huevos incubados en condiciones normales de temperatura y humedad (37.5°C y 87-88%, respectivamente). Se fijaron en líquido Bouin y se incluyeron en parafina para realizar cortes seriados de 6 μ de espesor en sentido frontal y transversal, que fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina. Se utilizaron cortes de ojo normal de la misma cepa para establecer comparaciones.

RESULTADO

Las cabezas analizadas presentaron: microftalmía unilateral (7), microftalmía bilateral (2), y anoftalmía unilateral (1).

En casos de microftalmía unilateral (Fig. 1) se observaron en el lado opuesto ojos de tamaño normal con anomalías tisulares, y en dos, ojos normales.

En relación a los casos de microftalmía bilateral, uno de ellos presentó en el lado opuesto anoftalmía aparente.

En el caso de anoftalmía unilateral, el ojo contralateral presentó tamaño normal aunque con anomalías tisulares.

En resumen, los ojos normales fueron dos (10%), y los afectados 18 (90%).

El cuadro 1 muestra la frecuencia de alteraciones congénitas y del ojo afectado.

La reducción en tamaño varió entre 1/2 y 1/8 de la dimensión normal.

En el cuadro 2 se resumen las anomalías de las estructuras de ojos microftálmicos. (Figs. 2 y 3).

En el caso de anoftalmía, se observó ausencia de tejido ocular; la órbita presentó paredes adelgazadas, ligero desplazamiento hacia abajo y cubierta totalmente por piel, sin separación entre párpados (Fig. 4). Se acompañó de asimetría facial.

Las anomalías tisulares en las estructuras de



Fig. 1. Corte frontal de embrión de pollo en estadio 26, clasificado como microftálmico izquierdo. Se observa en este lado la retina plegada (R); el cristalino (C) oblitera la entrada de la copa óptica (109 X).

CUADRO 1

FRECUENCIA DE ALTERACIONES CONGENITAS Y OJO AFECTADO*

ALTERACION	OJO				TOTAL	
	DERECHO		IZQUIERDO		NUM.	%
	NUM.	%	NUM.	%		
MICROFTALMIA	3	16.66	8	44.44	11	61.11
ANOFTALMIA	-	-	1	5.55	1	5.55
ANOMALIAS TISULARES EN OJO DE TAMAÑO NORMAL	5	27.77	1	5.55	6	33.33

* 18 Ojos afectados = 100 %

CUADRO 2

ANOMALIAS EN ESTRUCTURAS DE OJOS MICROFTALMICOS™

ESTRUCTURA	ANOMALIAS					
	FORMA	TAMAÑO	ORGANIZACION TISULAR	LOCALIZACION	DISPOSICION	OTRAS
RETINA (9)**	Plegada (5)	—	Engrosada (5)	—	Rodea al cristalino (1)	—
CRISTALINO (8)	Gota (1) Herniado (3)	Menor (1) Mayor (1)	Vacuolas (1) Quistes (2) Disposición anormal de fibras.	Fuera y adelante de la copa (4) Dislocado (1)	—	Unión con: Cornea (1), Epit. Pigm. (1), Porción no visual de la Retina (1)
CORNEA (2)	—	—	—	—	—	Ausencia (2)
NERVIO OPTICO (1)	—	Pequeño, con cavidad irregular y amplia (1)	—	—	—	—
IRIS (1)	Plegado (1)	—	—	—	—	—

* 10 Ojos microftálmicos = 100 %

** El número en paréntesis indica el total de estructuras que presentaron la alteración.

ojos de tamaño normal se muestran en el cuadro 3.

En siete cabezas (70%) que mostraron malformaciones oculares se observaron alteraciones de encéfalo en seis casos (60%), dos de

cráneo (20%), en región facial dos (20%), dos en intestino anterior (20%), y uno en tubo neural (10%) y oído (10%).

El cuadro 4 describe las anomalías cefálicas asociadas a microftalmía y anoftalmía.

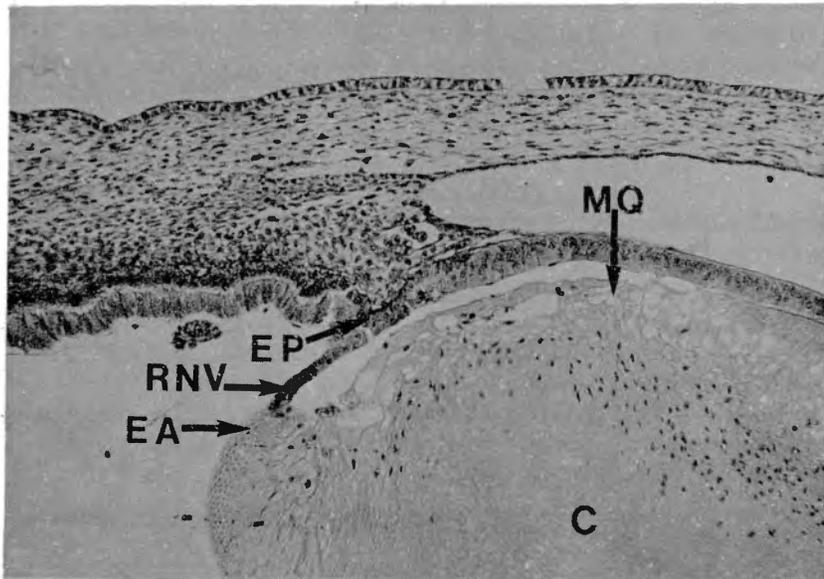


Fig. 2. Microfotografía de embrión de pollo en estadio 30, clasificado como microftálmico izquierdo; en corte transversal del ojo, aparentemente normal, el cristalino (C) presenta en su cara anterior microquistes (MQ). El epitelio anterior (EA) se continúa con el epitelio pigmentario (EP) de la copa óptica y por otro lado con su retina no visual (RNV) (437 X).

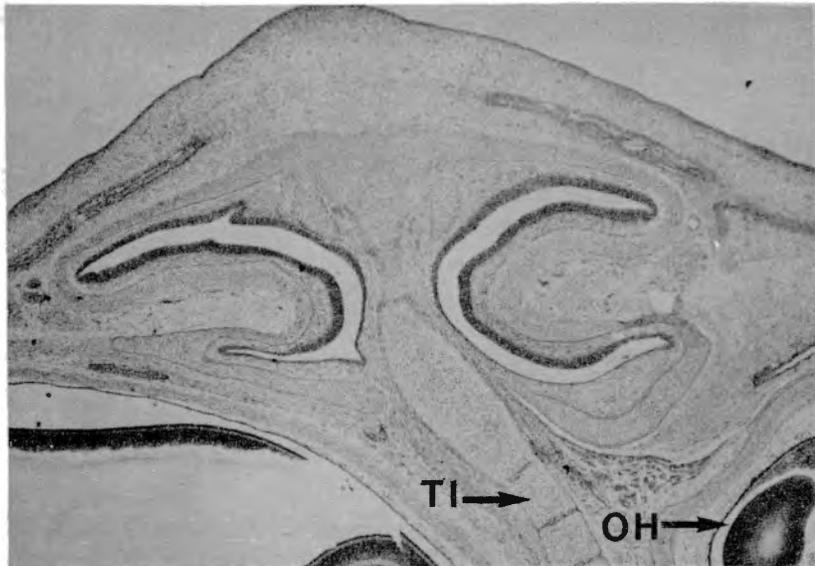


Fig. 3. Microfotografía de embrión de pollo en estadio 36, clasificado como microftálmico izquierdo. En este corte transversal se observa el tabique interorbital (TI) desplazado hacia el lado del ojo hipoplásico (OH) (109 X).

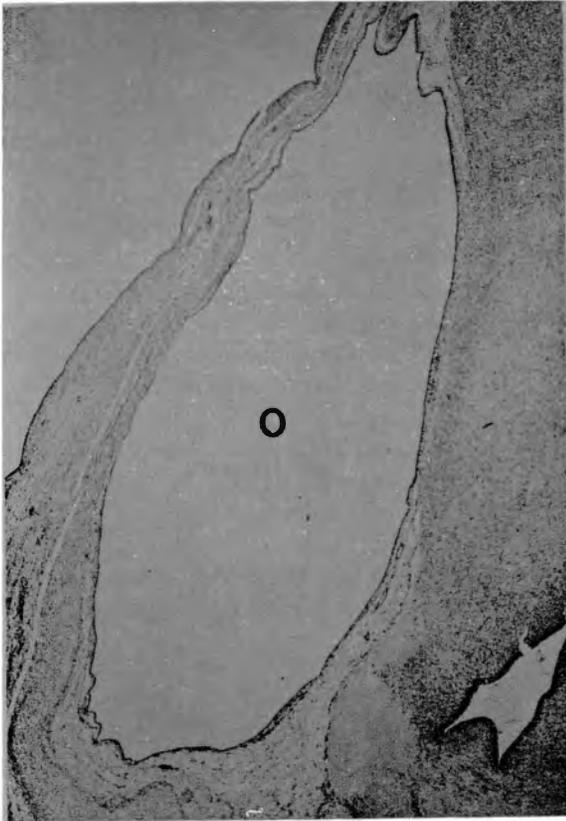


Fig. 4. Microfotografía de embrión de pollo en estadio 36, clasificado como anoftálmico izquierdo. Se observa en corte frontal la órbita (O) vacía cubierta por piel y con paredes anormales (109 X).

CUADRO 3

ANOMALIAS TISULARES EN OJOS DE TAMAÑO NORMAL*

CUADRO N° 3

ESTRUCTURA	ANOMALIAS			
	FORMA	TAMAÑO	ORGANIZACION TISULAR	LOCALIZACION
RETINA (6)**	PLEGADA (4)	_____	ENGROSADA (2)	_____
CRISTALINO (5)	CIRCULAR (1) HERNIADO (1)	MENOR (1)	VACUOLAS (3) INVERSION DEL EPIT. ANT. (1)	FUERA Y ADELANTE (1) INCRUSTADO EN EL BORDE DE LA COPA (1) UNIDO A LA PARED DE LA COPA (1)
CORNEA (3)	IRREGULAR (1)	_____	ENGROSADA (1) CARENTE DE TEJIDO PROPIO (1)	_____
IRIS (1)	PLEGADO (1)	_____	_____	_____

*. (6) OJO DE TAMAÑO NORMAL CON ANOMALIAS TISULARES = 100% .

** . EL NUMERO ENTRE PARENTESIS, INDICA EL TOTAL DE ESTRUCTURAS QUE PRESENTARON LA ALTERACION.

CUADRO 4
ANOMALIAS CEFALICAS ASOCIADAS A MICROFTALMIA
Y ANOFTALMIA*

ESTRUCTURA	ANOMALIAS				
	FORMA	TAMAÑO	ORGANIZACION TISULAR	LOCALIZACION	OTRAS
ENCEFALO (6)**	ASIMETRICA (1) PLEGADA (1) APLANADA (1)	MENOR (1)	ENGROSADO (2)	_____	_____
CRANEO (2)	APLANADA (1)	_____	_____	_____	AUSENCIA (1)
REGION FACIAL (2)	CORNETES HIPO-TROFICOS (1)	_____	TABIQUE NASAL ENGROSADO (1)	DESVIACION DE LA RAMA SUPERIOR DEL PICO (1)	_____
INTESTINO ANTERIOR (2)	CAVIDAD ORAL AMPLIA	_____	_____	DESPLAZAMIENTO DE BOCA Y FARRINGE (1)	_____
TUBO NEURAL (1)	INVAGINACION (1) LUZ IRREGULAR (1) PAREDES PLEGADAS (1)	_____	INVERSION DE CAPAS (1) TECHO ADELG. (1) PLACA BASAL EN GRO. Y ADELG. (1)	_____	SUPERNUMERARIOS (1)
OIDO (1)	PLEGADA (1)	_____	_____	_____	_____

* 10 CABEZAS = 100 %

** EL NUMERO EN PARENTESIS INDICA EL TOTAL DE ESTRUCTURAS QUE PRESENTARON LA ALTERACION.

DISCUSION

Existen diversas teorías que explican el desarrollo de microftalmía. Elchlepp menciona la existencia de un factor de desarrollo ocular que se sintetiza en diversas etapas de la oftalmogénesis.¹⁰ Podría pensarse que la carencia de este factor provoca microftalmía, lo que sería probable si se observara microftalmía bilateral.

Coulombre menciona que la baja presión intracerebral podría causar desarrollo pobre de la vesícula óptica; esto, a su vez, repercutiría en el desarrollo del encéfalo, ya que además de originar microftalmía bilateral se relacionaría directamente con alteraciones encefálicas. En este estudio no se observó esta relación.

Otra teoría de Coulombre propone que durante la organogénesis ocular se pueden presentar alteraciones en la compleja cadena de interacciones que provoca, entre otras anomalías, microftalmía;¹² lo que es probable, ya que toda alteración morfológica puede ser resultado de alteraciones bioquímicas.

El ojo más afectado por microftalmía fue el izquierdo, lo que parece deberse a dos causas: la primera, perturbaciones en la velocidad de desarrollo de este ojo. Rychter observó que el ojo derecho se desarrolla inicialmente más rápido que el izquierdo; sólo durante el segundo tercio del periodo de desarrollo se asemejan en tamaño.¹³ La segunda se apoya en las observaciones de Langman y Byerlyn en embrión de pollo. Mencionan que durante su desarrollo el embrión gira sobre su eje longitudinal, lo que provoca que el ojo izquierdo se apoye sobre el saco vitelino y esto quizás impida la difusión adecuada de oxígeno, lo que no sucede en el ojo derecho.^{14,15} Aunque esta idea no es convincente debido a que el oxígeno no sólo se difunde en forma directa sino por transporte sanguíneo, tal vez el saco vitelino actuaría como factor mecánico que obstaculiza el desarrollo ocular.

Estudios realizados en pollos por Gruenwald y Jeffrey indican que la reducción del tamaño de los ojos llega a la mitad del diámetro normal,^{2,3} y concuerdan con los datos obtenidos en

este trabajo. Es probable que el tamaño anormal del ojo dependa del efecto que ejerza el factor mecánico y de la susceptibilidad del tejido ocular, o bien del grado de alteración en los procesos bioquímicos que determinan el desarrollo ocular y la etapa en que se produce.

Las estructuras afectadas en los ojos microftálmicos observados, corresponden a las mencionadas por Duke-Elder, Gruenwald y Tonneyck-Muller, quienes comentan que las alteraciones se manifestaron principalmente sobre la forma y organización tisular,^{3,16,17} pero no mencionan alteraciones en localización.

Los plegamientos observados en retina, probablemente fueron resultado de fuga de células que formarían vítreo a través de la fisura coroidea, ya que actúan como factor mecánico que impide el plegamiento, según Coulombre¹⁸ y Domenech;¹⁹ tal vez el engrosamiento se debió a que las mismas células controlan la proliferación. Glucksman menciona que el incremento gradual en grosor y complejidad citoarquitectónica de la retina se acompaña de muerte celular en ella.²⁰ Es probable que al no ocurrir esta última la retina se engruesa anormalmente.

La causa de modalidades en la forma del cristalino pudo ser alteración en los procesos bioquímicos durante la organogénesis. Armstrong y Wyangarden observaron que al alterar las concentraciones de glutamina y ácido fólico aparece hernia del cristalino y diferenciación defectuosa de la retina,^{21,22} lo que hace pensar que tal vez se presentaron fenómenos de este tipo en los ojos observados; otra causa sería la existencia de factores mecánicos y no sólo bioquímicos.

Con respecto a la alteración dimensional del cristalino, es probable que sólo un número pequeño de células fueron inducidas, según lo menciona Balinsky.²³ Twitty opina que el tamaño del cristalino influye en el tamaño del ojo, lo cual no se observó en este trabajo²⁴ y tal vez esta influencia ocurra en determinada etapa del desarrollo.

Parece ser que las alteraciones de tipo celular observadas en cristalino son resultado de irregularidades y trastornos durante la interacción entre el desarrollo de la retina y cristalino, pues de ella dependen la inducción, organización de fibras y orientación del cristalino, según lo han

observado Spemann²⁵ y DeHann.²⁶

Las anomalías de localización del cristalino tal vez fueron producto de su desplazamiento durante la etapa de vesícula debido a proliferación excesiva de células mesenquimatosas que formarían vítreo, por factores mecánicos, o porque la copa óptica se desplazó.

Es probable que el adelgazamiento y cortedad del nervio óptico se debió a proliferación celular deficiente.

La falta de diferenciación de la córnea tal vez resultó de inducción deficiente del cristalino sobre el ectodermo superficial o por incompetencia de este último.

Con respecto a anoftalmía, es una entidad poco estudiada en pollo y otras especies; en este trabajo su frecuencia es baja. El caso observado corresponde, según la clasificación de Mann, al tipo de anoftalmía primaria, provocada posiblemente por ausencia o supresión del campo morfogénico ocular.¹⁶ Se considera que en este caso se llevó a cabo inducción primaria, ya que en el lado contralateral se observaron anomalías tisulares en ojo de tamaño normal. No se descartan factores de tipo genético, del mismo embrión y teratógenos durante la gametogénesis, como responsables de esta alteración.

Tomando en cuenta las observaciones de Rychter,¹³ es probable que el ojo izquierdo sea más susceptible a presentar anoftalmia, debido a que manifiesta periodos en que disminuye la proliferación celular; esto tal vez determine etapas críticas durante la organogénesis, donde pueden actuar factores que la afecten.

Las alteraciones de la órbita anoftálmica coinciden en parte con los datos de Kennedy,²⁷ Limborg y Tonneyck-Muller,²⁸ ya que es de menor tamaño; ellos no mencionan alteraciones como adelgazamiento de las paredes, que puede resultar de deficiencia en número de células mesenquimatosas que formarán hueso o bien de alteraciones en la producción de este tejido.

Con respecto a las anomalías tisulares en ojo de tamaño normal, la incidencia tal vez se deba a que las condiciones de desarrollo de éste son mejores, por lo que el tamaño no se ve afectado y las anomalías citadas son producto de alteraciones bioquímicas durante el desarrollo de las estructuras oculares.

La córnea presentó irregularidades en su forma, tal vez por efecto mecánico de la cuchilla durante el corte. Es probable que en el caso observado de fuerte engrosamiento de la córnea, exista sobreproducción de material de una o varias cepas.

La carencia de tejido propio de la córnea quizás se deba a que no se diferenció a partir del endotelio.

Retina, cristalino e iris presentaron las mismas alteraciones que en los ojos microftálmicos, por lo que las posibles causas que las originaron serían las mencionadas para los casos de microftalmía.

Las alteraciones del encéfalo coinciden con las observadas por Gruenwald,²⁹ quien considera que estos efectos son provocados por fallas en la determinación de las partes adyacentes a la copa óptica durante la etapa temprana del tubo neural. Aunque algunas de ellas, como el tamaño, pudieran ser provocadas por determinación menor del número de células, el plegamiento podría resultar de hipotensión intracerebral y el aplanamiento tal vez se deba a efecto mecánico del saco vitelino, lo que da lugar también a asimetría del encéfalo.

Con respecto a las alteraciones de cráneo, específicamente de forma, Limborgh y col.²⁸ observaron también aplanamiento en los casos de microftalmía unilateral; ellos mencionan que esto puede deberse a que el crecimiento ocular influye en el desarrollo de los huesos que forman la órbita y al estar éstos poco desarrollados, se produce aplanamiento del cráneo del lado de la microftalmía. Sin embargo, Wyngarden menciona que deficiencia de derivados de ácido fólico durante el desarrollo embrionario provoca malformaciones en cráneo, región facial, porción anterior del tubo neural y techo de la cavidad bucal,²² debido a que estos compuestos son los precursores para la síntesis de ácidos nucleicos.

En relación a la ausencia de cráneo, Giroud considera que tal vez es provocada por falta de cierre de los pliegues neurales en la porción anterior de la placa neural.³⁰

Las alteraciones en la región facial, relacionadas con anoftalmía, coinciden con las observaciones de Limborgh,²⁸ Tonneyck-Muller³⁰ y Keeneth y col.³¹ La desviación de la rama supe-

rior del pico hacia el lado de la anoftalmía posiblemente se deba a que el ojo actúa como factor mecánico para alinear dicha rama con la inferior, aunque Tonneyck-Muller considera que se debe, principalmente, a la reducción del ángulo entre los huesos pterigoideo y palatino.

Ya que las cápsulas nasales limitan hacia adelante la órbita, es posible que el globo ocular tenga papel importante en el desarrollo de los cornetes y tabique nasal. Es probable que la presencia de paladar hendido sea resultado de deficiencia de derivados fólicos durante el desarrollo.

El desplazamiento de boca y faringe hacia el lado izquierdo corresponden con microftalmía del mismo lado; la desviación de los esbozos de estas estructuras tal vez se deba a alteraciones en el desplazamiento normal.

Las anomalías del tubo neural están de acuerdo con las observaciones de Holtfreter,³² pues en este caso la notocorda estuvo ausente.

Es posible que el plegamiento y engrosamiento de las vesículas óticas obedezcan a alteraciones en la inducción por parte de la porción inferior del rombencéfalo.

CONCLUSIONES

De los resultados se deduce lo siguiente:

1. La predicción mencionada en la hipótesis referente a que en microftalmía y anoftalmía las estructuras serán anómalas y ausentes, respectivamente, fue confirmada ya que se observaron elementos tisulares anormales en microftalmía e inexistencia de ellos en anoftalmía.
2. La otra predicción propuesta que sugiere que microftalmía se origina por inducción deficiente y anoftalmía es resultado de ausencia de inducción primaria, no fue posible demostrarla, pues existen otros factores que influyen en la oftalmogénesis.
3. El término "ojo de tamaño común" no es signo de normalidad estructural, ya que algunos de los ojos examinados muestran anomalías tisulares.
4. El ojo izquierdo de los animales estudiados es más susceptible a presentar alteraciones durante el desarrollo, las cuales se manifiestan

tan al término de la organogénesis como anomalías morfofuncionales.

5. En la formación del ojo y estructuras cefálicas hay interacción recíproca, o bien, de un mismo factor; el desarrollo ocular alterado se refleja sobre la morfogénesis de las estructuras cefálicas adyacentes (por ejemplo la órbita). El grado de alteración de esta porción depende de la importancia de las lesiones oculares.

RESUMEN

Microftalmia y anoftalmia son dos malformaciones de una variedad que puede presentar el aparato ocular. La primera, además de consistir en tamaño menor, se acompaña de alteraciones histológicas en los elementos que constituyen el ojo; en la anoftalmia se observa ausencia de estructuras oculares. Ambas malformaciones no sólo se deben a alteraciones en los procesos de inducción primaria y subsecuentes, sino es probable que intervengan otros factores que ameritan ser investigados, ya que el ojo izquierdo es más susceptible a presentar malformaciones severas.

El desarrollo ocular y el de la porción cefálica son paralelos y armónicos, por lo que alteraciones significativas del ojo se reflejarán en ella.

SUMMARY

Microphthalmia and anophthalmia are two malformations of a variety which could be present in the eye. The first one consisting in smaller size is further accompanied by histologic alterations of the constituent elements of the eye; in anophthalmus there is lack of eye structures. Both malformations are not only due to alterations of primary and subsequent induction process but it is probable that other factors intervene which deserve being investigated, since the left eye is more susceptible to present severe malformations.

The eye and the cephalic portion development are parallel and harmonic, therefore significant alterations of the eye will reflect on it.

BIBLIOGRAFIA

1. Yuđkin, A. M.: "Congenital anophthalmia in a family of albino rats" *Am. J. Ophth.* **10**: 341-345, 1927.
2. Jeffrey, F. P.: "Hereditary microphthalmia in the domestic fowl". *J. Hered.* **32**: 310-312, 1941.
3. Gruenwald, P.: "Studies on developmental pathology. I. The morphogenesis of a hereditary type of microphthalmia in chick embryos". *Anat. Rec.* **88**: 67-83, 1944.
4. Lythogoe, J. N.: *The Ecology of Vision*. Oxford University Press. New York, 1979, p. 108.
5. Walsh and Hoyt.: *Clinical Neuro-Ophthalmology*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1979, Vol. 1, pp. 648-649, 651, 652.
6. Joseph, R. A.: "Pedigree of Anophthalmos". *Br. J. Ophthal.* **41**: 541-543, 1957.
7. Capella, J. A., Kaufman, H. E., Lill, F. J. and Cooper, G.: "Hereditary cataracts and microphthalmia". *Amer. J. Ophthal.* **56**: 454-458, 1963.
8. Heatly Green, J.: Entrevista efectuada el 28 de enero de 1983. Jefe de la Unidad de Oftalmología del Hospital General de la S.S.A.
9. Noback, C. R., Demarest, R.: *El sistema nervioso humano*. Ed. McGraw Hill. México, 1978, p. 267.
10. Elchlepp, J. C.: "Development chick eye: Relation of ground substance change to organ growth". *Anat. Rec.* **126**: 425-432, 1956.
11. Coulombre, A. J.: "Regulation of ocular morphogenesis. Symposium embryonic development investigative ophthalmology, pp. 25-31, 1969.
12. Coulombre, J. L. and Coulombre, A. J.: "Lens development IV. Size, shape and orientation". *Invest. Ophthalmol.* **8**: 251, 1969.
13. Rychter, Z.: "The development of the size ratio of left and right eye in chick embryo". *Cs. Morphol.* **11**: 317-327, 1963.
14. Langman, J.: "The effect of lens antisuerum on chick embryos". *Anat. Rec.* **137**: 135-139, 1960.
15. Byerly, T. C.: "Studies in growth. L. Suffocation effects in the chick embryo. *Anat. Rec.* **32**: 249-271, 1940.
16. Duke-Elder, S.: *System of Ophthalmology*. Vol. III. Part 2, Edit. Mosby, Co. St. Louis, 1964, pp. 317-329, 416-428, 488-495.
17. Tonneyck-Muller, I.: "The growth of eyes and orbits in the chick embryo II. The relationships between the share of eyes orbits in 11-19 day's embryos with artificial unilateral microphthalmia". *Acta. Morphol. Neerl. Scand.* **8**: 211-230, 1970.
18. Coulombre, A. J.: "The role of the intraocular pressure in the development of the chick eye". *J. Exp. Zool.* **133**: 211-223, 1956.
19. Domenech-Ratto, G.: "Ocular malformation chick embryo resulting from diminished intraneural pressure. *Acta Anat.* **89**: 287-297, 1974.
20. Glucksman, A.: "Development and Differentiation of tadpole eye". *Brit. J. Ophthalmol.* **24**: 153-178, 1940.

21. **Armstrong, C. and Elias, J.:** "Development of embryonic rat eyes in organ culture. Effect of glutamine on normal and abnormal development in a chemically defined medium". *J. Embriol. exp. morph.* **19:** 397-405, 1968.
22. **Wingarden, J. B., Stanbury, J. B. and Frederickson, D. S.:** *The metabolic basis of inherited disease*, Edit. McGraw Hill Book Co., New York, 1978, p. 444.
23. **Balinsky, B. I.:** "On the factors determining the size of the lens rudiment in amphibians embryos". *J. Exptl. Zool.* **135:** 255-299, 1957.
24. **Twitty, C.:** *Eye. Analysis of Development*. Eds. B. H. Willier, P. Weiss and Hamburger. Edit Saunders, Philadelphia, 1955 pp. 403-414.
25. **Spemann H.:** *Embryonic Development and Induction*. Hafner Publishing Co., New York, 1963, pp. 40-76.
26. **DeHaan, R. and Ursprung, H.:** *Organogenesis*. Copyright Holt Rinehart and Winston Inc. New York, 1965, pp. 219-240.
27. **Kennedy, R. E.:** "Growth retardation and volumetric determinations for the anophthalmic orbit". *Am. J. Ophthalmol.* **76:** 294-302, 1973.
28. **Limborg, J. and Tonneyck-Muller, I.:** "Experimental studies on the relationships between eye growth and skull growth". *Ophthalmologica Basei*, **173:** 317-325, 1976.
29. **Gruenwald, P.:** "Studies on Developmental Pathology II. Sporadic unilateral microphthalmia and associated malformations in chick embryos". *Am. J. Anat.* **74:** 217-257, 1944.
30. **Tonneyck-Muller, I.:** "The growth of the skull in chick embryo IV. The growth of the skull in 11-19 day's embryos which experimentally produced unilateral microphthalmia". *Acta Morphol. Neerl. Scand.* **8:** 303-319, 1971.
31. **Kenneth, L. J. and cols.:** "Determining role of the optic vesicle in orbital and periocular development and placement". *Pediatr. Res.* **14:** 703-708, 1980.
32. **Holtfreter, L.:** *Tissue affinity a means of embryonic morphogenesis*. Foundations Experimental Embryologic Eds. Willer, B. H. and Oppenheimer, J. M. Edit Prentice Hall, New Jersey, 1964, pp. 292-305.