



# CAMBIOS INDUCIDOS POR LA LUZ VISIBLE EN RETINAS DE CONEJOS PIGMENTADOS

Sanchez-Ramos C; Vega JA.; Germana A; Moral-Martínez MI; Saenz-Francés F; A. Fernández-Balbuena A; Ochoa-Erena FJ; Langa-Moraga A; Benitez-del-Castillo JM [celiasr@opt.ucm.es](mailto:celiasr@opt.ucm.es)

Escuela Universitaria de Óptica, UCM; Facultad de Medicina, Universidad de San Pablo, CEU; Faculta di Medicia Veterinaria, Universita de Messina; Hospital Clínico San Carlos, Madrid

83 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología. Las Palmas. Septiembre-2007



## PROPÓSITO

Clásicamente se han diferenciado tres tipos de lesiones producidas por la luz:

- **•fotomecánicas** (efectos de choque de las ondas luminosas)
- **•fototérmicas** (calor local producido por las ondas) y
- **•fotoquímicas** (cambios en las macromoléculas).

Centrándonos en este último tipo, **reacción fotoquímica** es la que ocurre cuando una molécula absorbe un fotón. Como consecuencia de ello se producen moléculas de oxígeno reactivo que son **oxidantes** y, por lo tanto, muy **tóxicas** para la célula en la que se ha producido la reacción.

En la retina, las moléculas que absorben los fotones están contenidas, sobre todo, en los **fotorreceptores** y en el **epitelio pigmentario**. Por ello, estas dos capas de la retina son las que se afectan en la **foto toxicidad** inducida por la luz.

La luz, por tanto, contribuye a la **fisiopatología** de diversas enfermedades retinianas, como son la **degeneración macular asociada a la edad** o la **retinitis pigmentosa**.

Para **prevenir** las lesiones retinianas inducidas por la luz es imprescindible que se **identifique** que **longitud de onda** es la responsable del **daño**.

Por otro lado, la mayoría de los datos disponibles de los **efectos fototóxicos de la luz** están referidos a los **fotorreceptores**, y es poco conocido el efecto de la luz sobre otros tipos de células retinianas.

Este **estudio está diseñado** para **examinar las consecuencias** en la **retina** de la exposición circadiana de luz visible y evaluar el **posible efecto protector** de las **lentes intraoculares amarillas** como **filtrantes de las longitudes de onda corta**.

## MÉTODOS

Se utilizaron conejos adultos pigmentados, expuestos a **luz blanca**, **azul** o **amarilla** en ciclos circadianos, tras la **implantación** de una **lente intraocular transparente** o **amarilla**.

Después de sacrificar los animales, tanto los ojos de los animales control como de los experimentales fueron procesados, utilizándose distintas técnicas para **analizar el efecto fototóxico de la luz**:

- **Análisis cuantitativo** de los diferentes estratos nucleares de la retina, mediante la *Técnica de la Hematoxilina-eosina*.
- **Detección de la muerte celular por apoptosis**, mediante *Ensayo de luminiscencia de la actividad de la caspasa-3*, *Estudio inmunohistoquímico* y *Técnica de TUNEL*; esta última técnica permite detectar las células que están sufriendo fragmentación del DNA nuclear que ocurre durante la apoptosis.

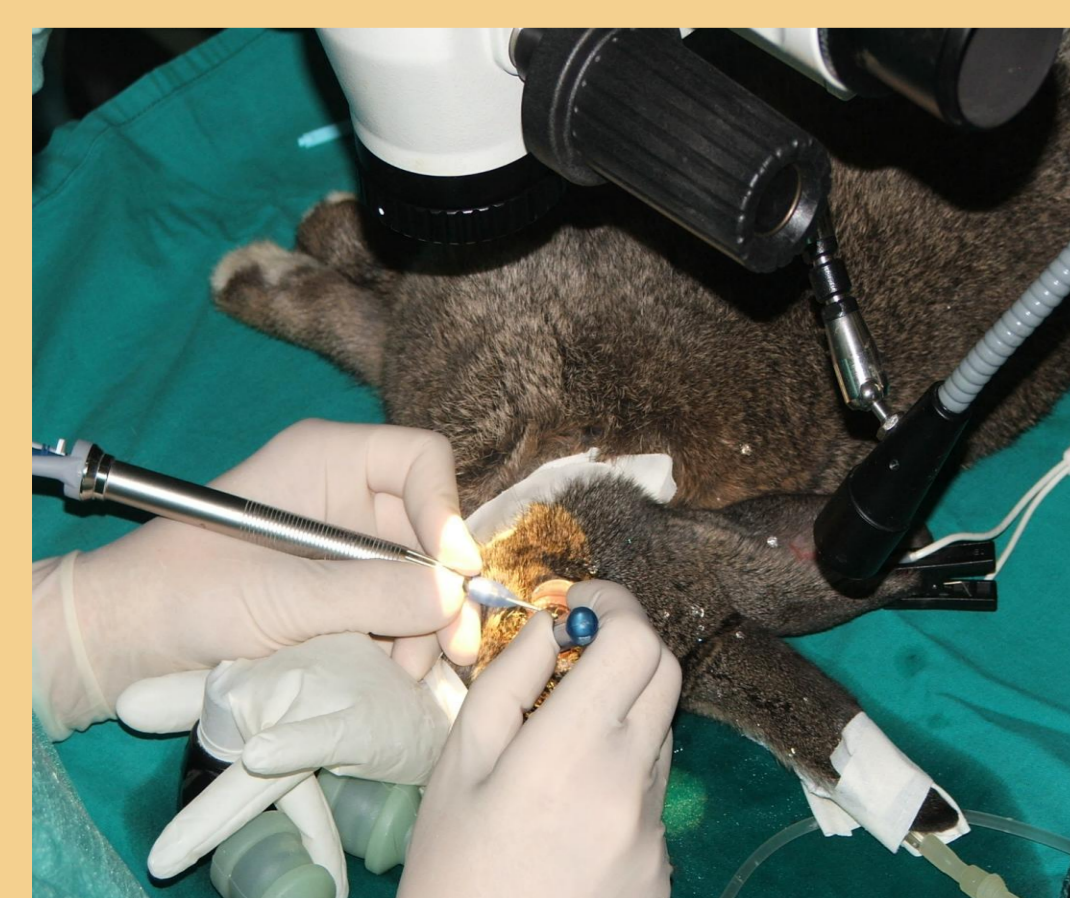


Figura 1: Animal de experimentación (Conejo pigmentado), empleado en este estudio



Figura 2: Intervención quirúrgica en los animales de experimentación para el implante de la lente intraocular transparente o amarilla LIO Acrysof y Acrysof Natural (Alcon®)



Figura 3: Instrumentación de la cirugía y quirófanos del Hospital Veterinario de la UCM

## RESULTADOS

EFECTO DE LA LUZ EN LA RETINA:			
ESTUDIO CUANTITATIVO:	Capa Nuclear interna	Sin filtro intraocular con exposición a Luz Azul:	Reducción de un 20% de Densidad Nuclear
		Sin filtro intraocular con exposición a Luz Amarilla:	Reducción Menor de la Densidad Nuclear
ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO	Células Ganglionares	Con filtro intraocular Amarillo (LIO) amarilla	Reducción menor que en el caso de exposición a Luz Azul
		Exposición a luz Azul	Reducción de un 20% en exposición a luz Azul
ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO	Capas Plexiformes	Con filtro intraocular Amarillo (LIO) amarilla	La lente intraocular (LIO) no produce ningún efecto
		Exposición a luz Azul	En la capa plexiforme interna, se reduce la tinción
			En la capa plexiforme externa no existe ningún tipo de tinción
		Exposición a luz Amarilla	La lente intraocular amarilla mejora la distribución de la tinción. Se observan resultados similares a los encontrados en animales control.

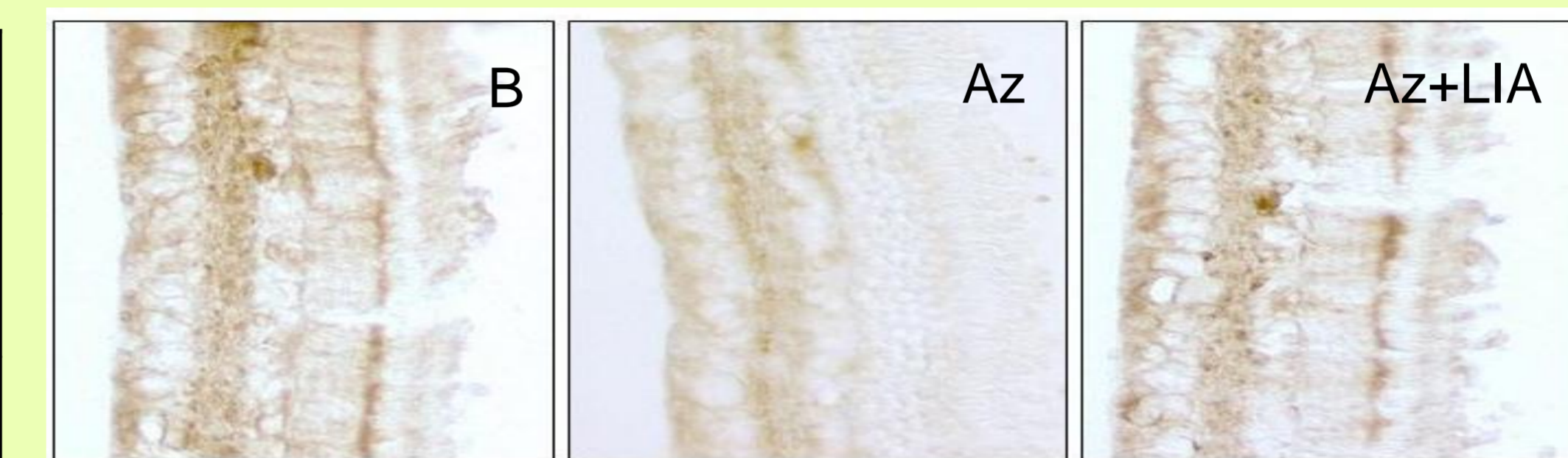


Figura 11: Detección inmunohistoquímica de las subunidades fosforiladas de los neurofilamentos en la retina de conejos expuestas a luz blanca (izquierda), azul (medio), y azul empleando LIO amarilla (derecha).

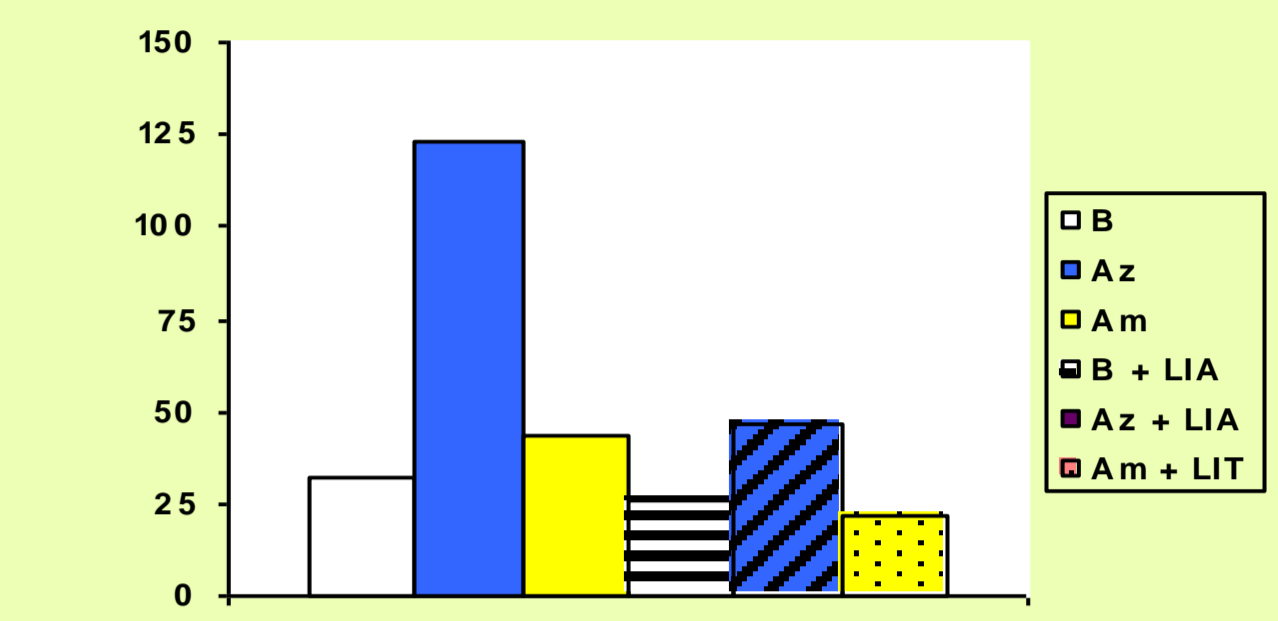


Figura 12: Número de perfiles de núcleos celulares TUNEL-positivos en la capa plexiforme externa

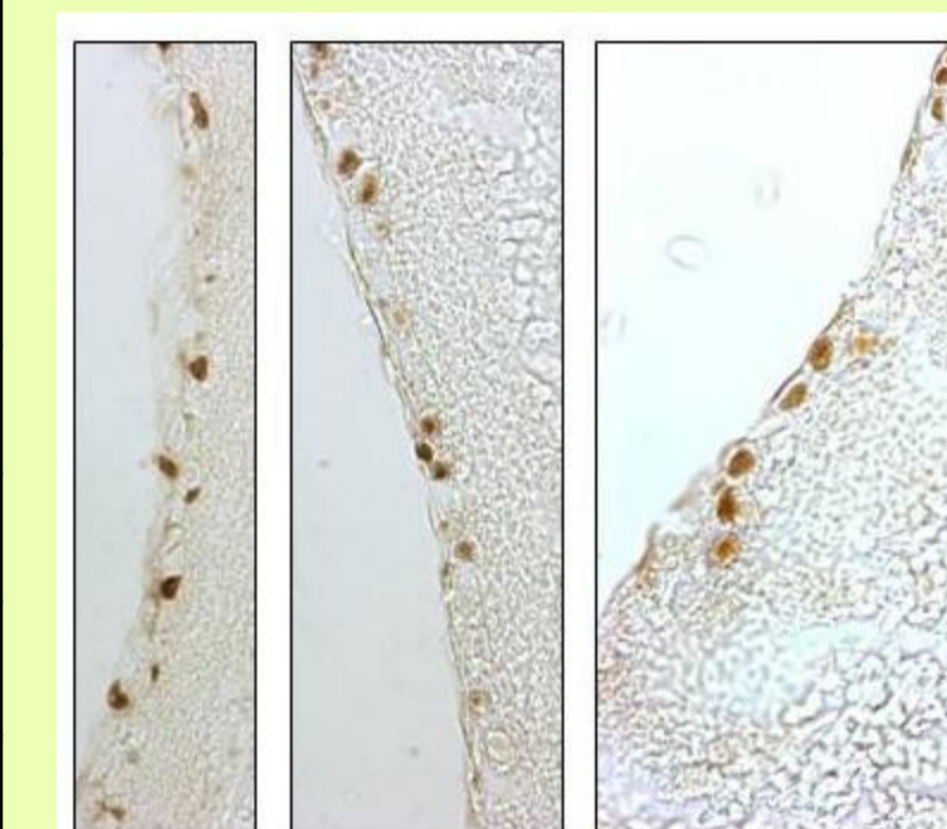


Figura 13: Detección inmunohistoquímica de la PGP 9.5 en la subpoblación de neuronas ganglionares en animales expuestos a luz blanca (izquierda), azul (medio) y amarilla empleando LIO (derecha).

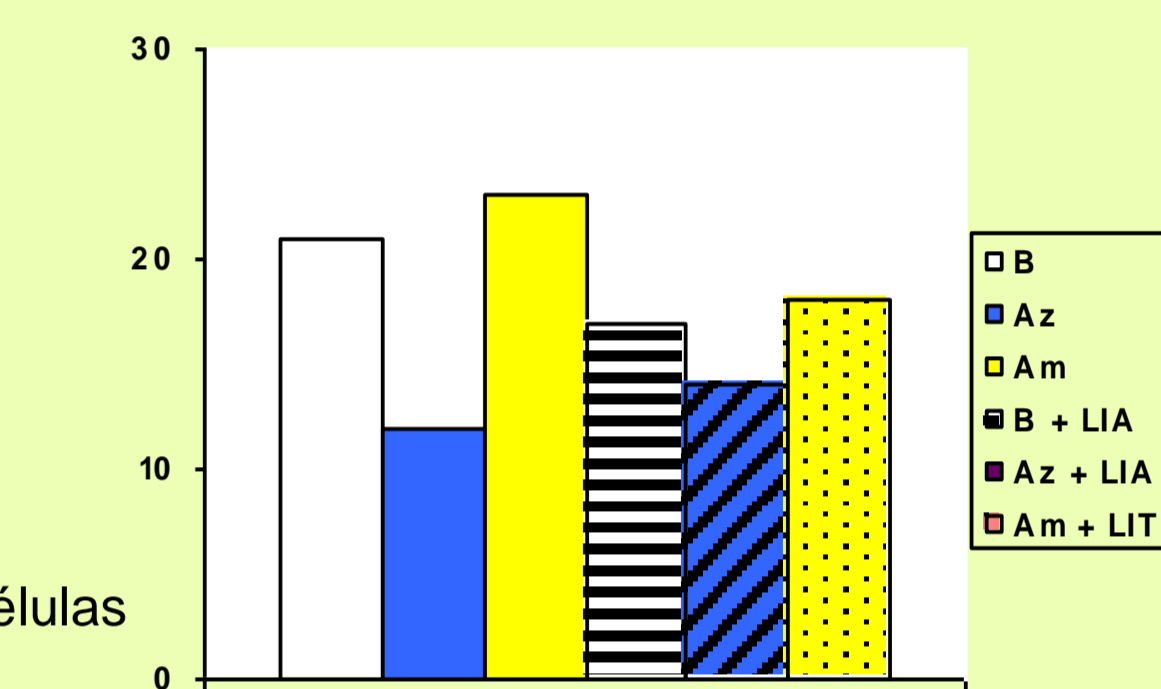


Figura 14: Densidad de la capa de células ganglionares PGP-positivas

## CONCLUSIONES

- Las longitudes de onda corta de la luz visible (luz azul) producen una reducción de la densidad nuclear en la capa nuclear interna de las retinas de conejos, por disminución del número de fotorreceptores.
- La interposición de la LIO con filtro amarillo que absorbe la banda de luz azul mejora la densidad nuclear de la capa nuclear interna
- La población de células ganglionares se encuentra reducida después de la exposición a luz azul, independientemente de la implantación de LIO amarilla.
- La luz azul en las capas plexiformes reduce el número de neurofilamentos. Al eliminar la luz azul tras la interposición de la LIO amarilla este hecho se ve mejorado.
- La distribución de las capas plexiformes fue similar en los animales control que en aquellos expuestos a luz amarilla.
- Este estudio continúa actualmente. Se están procesando nuevos resultados que serán dados a conocer en un futuro próximo.

## REFERENCIAS

1. Wenzel A, Grimm C, Samardzija M, Remé CE. Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2005; 24: 275-306.
2. Tanito M, Masutani H, Nakamura H, et al: Cytoprotective effect of thioredoxin against retinal photic injury in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43:1162-7.
3. Margrain TH, Boulton M, Marshall J, Sliney DH. Do blue light filters confer protection against age-related macular degeneration? *Prog Retin Eye Res* 2004; 23: 523-531.
4. Remé CE. The dark side of light: rhodopsin and the silent death of vision. The proctor lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 2671-2682.
5. Noell WK, Albrecht R: Irreversible effects of visible light on the retina: role of vitamin A. *Science* 1971, 172:76-9.
6. Lawill T. Effects of prolonged exposure of rabbit retina to low-intensity light. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1973;12:45-51.
7. Dureau P, Jeanny J-C, Clerc B, Dufier J-L, Courtois Y. Long Term Light-Induced Retinal Degeneration in the Miniature Pig. 1996

## AGRADECIMIENTOS

- Fondo de Investigación Sanitaria, Ministerio de Sanidad y Consumo (2005-2008).
- Centro de Mínima Incisión Jesús Usón, Cáceres.
- Organización Nacional de Ciegos Españoles (ONCE) Proyecto "Efecto de la luz visible en la DMAE" (Oct 2005- Oct2007)
- Equipo de anestesia del Hospital Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid
- Laboratorios Alcon. España

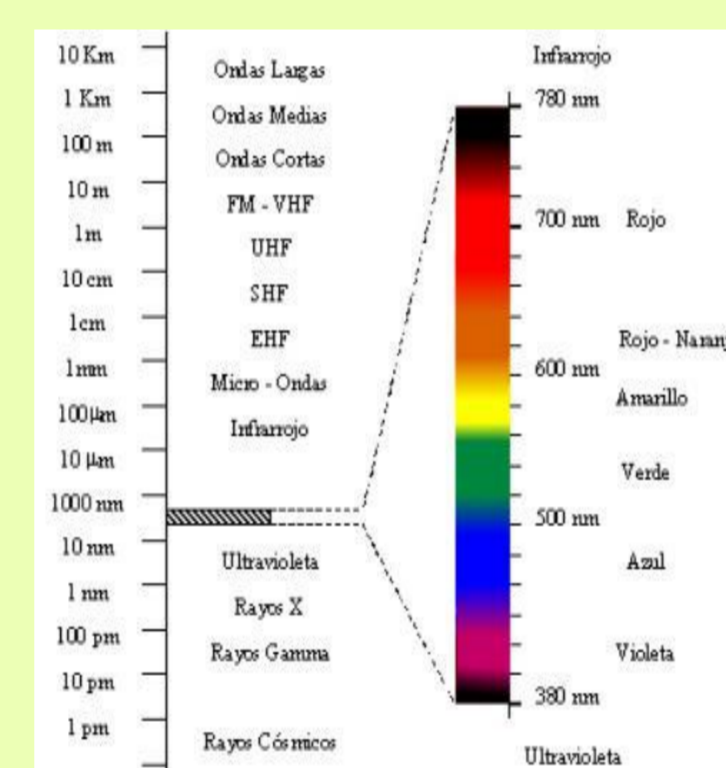


Figura 4: Porción del Espectro electromagnético que constituye el Espectro Visible.

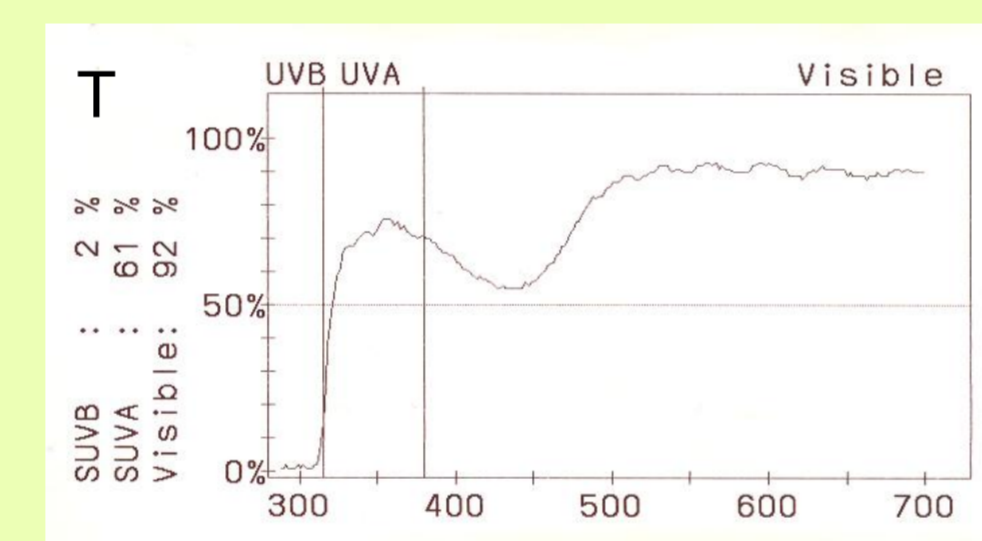


Figura 5: Curva de transmitancia del filtro amarillo. Absorción y Transmisión de parte de espectro visible.

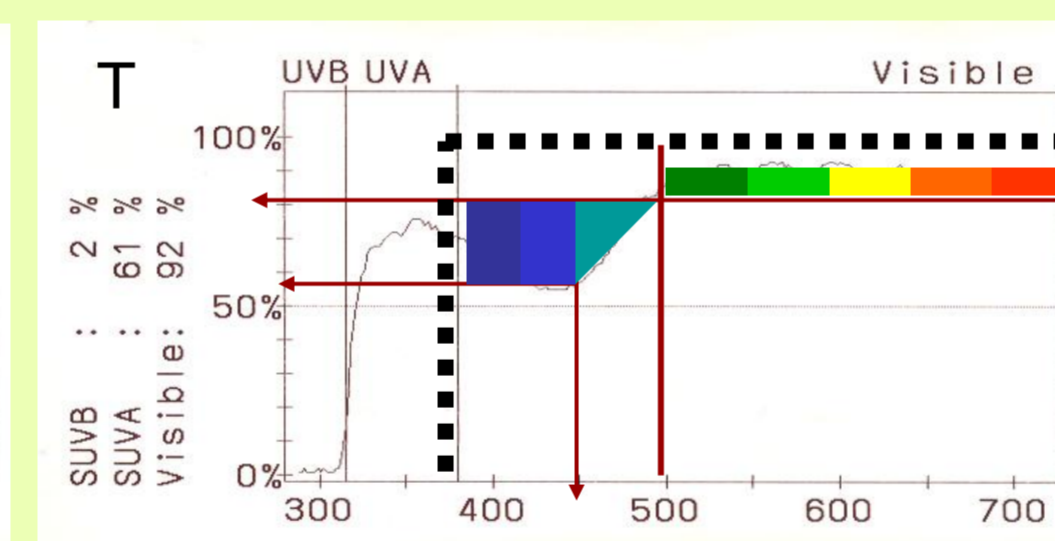


Figura 6: Esquema del Espectro visible. Zona de actuación de los filtros.

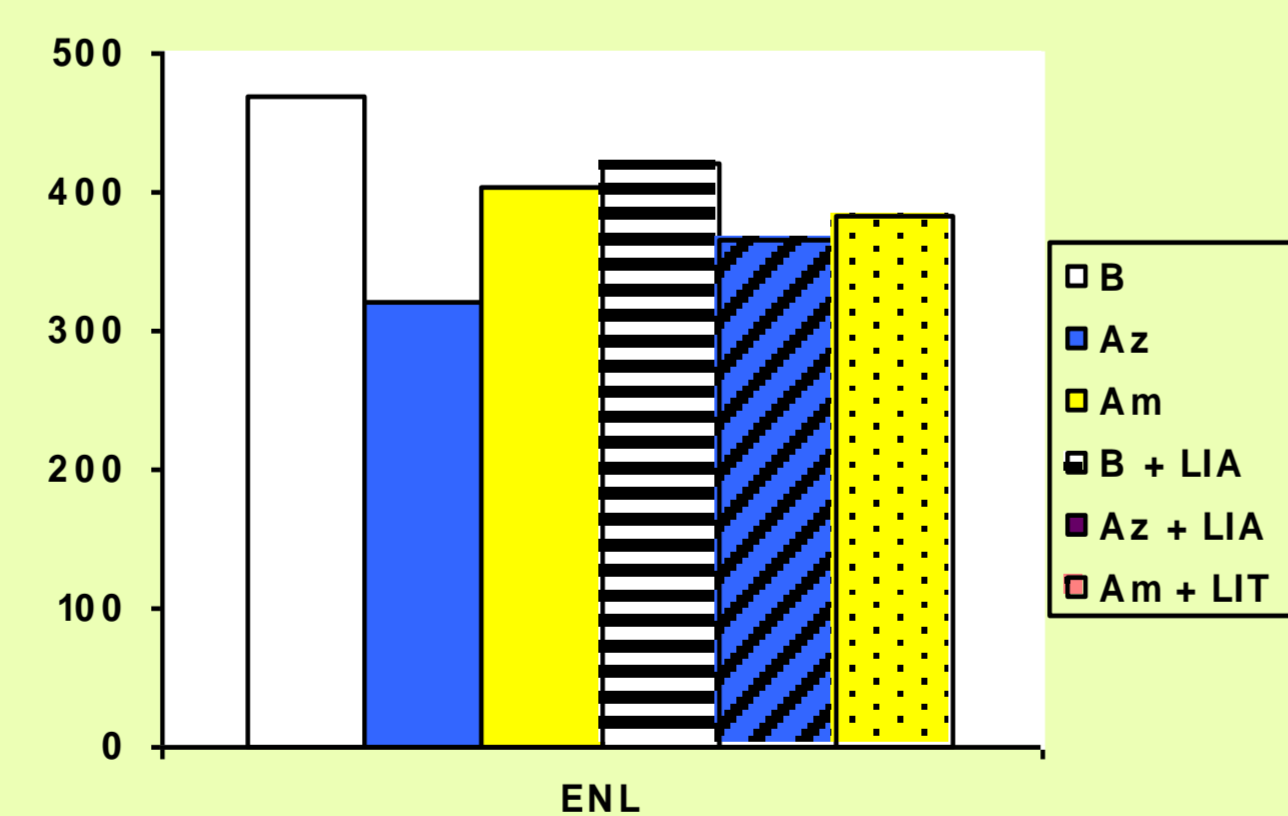
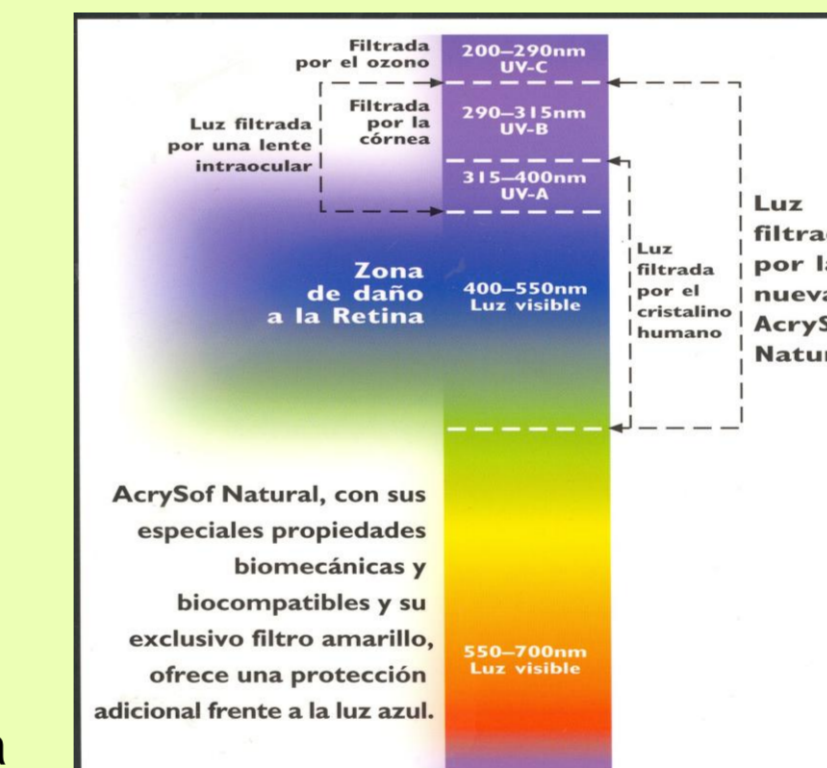


Figura 7: Resultados obtenidos en el análisis cuantitativo de la capa nuclear externa.

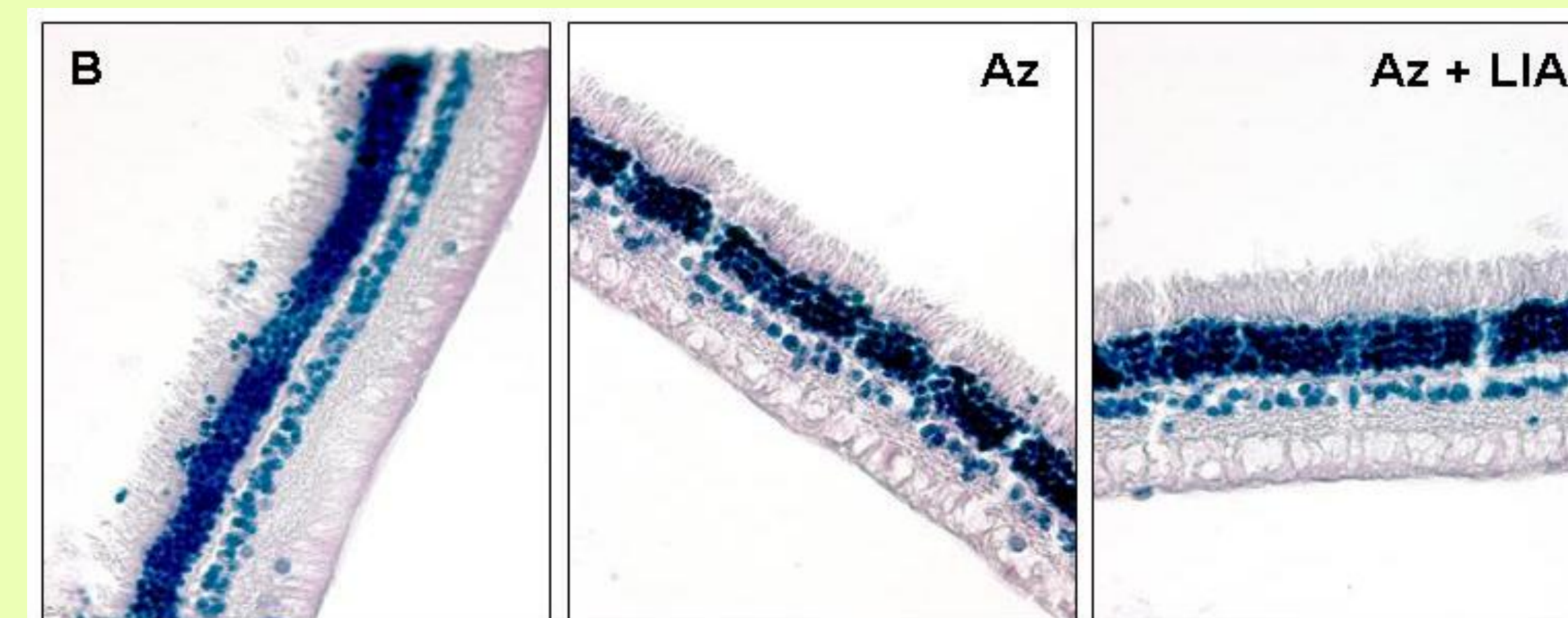


Figura 9: Secciones histológicas retinianas de conejo expuesto a luz Blanca (B), expuesto a luz Azul (Az) y expuesto a luz Azul con lente intraocular amarilla (Az+LIA).

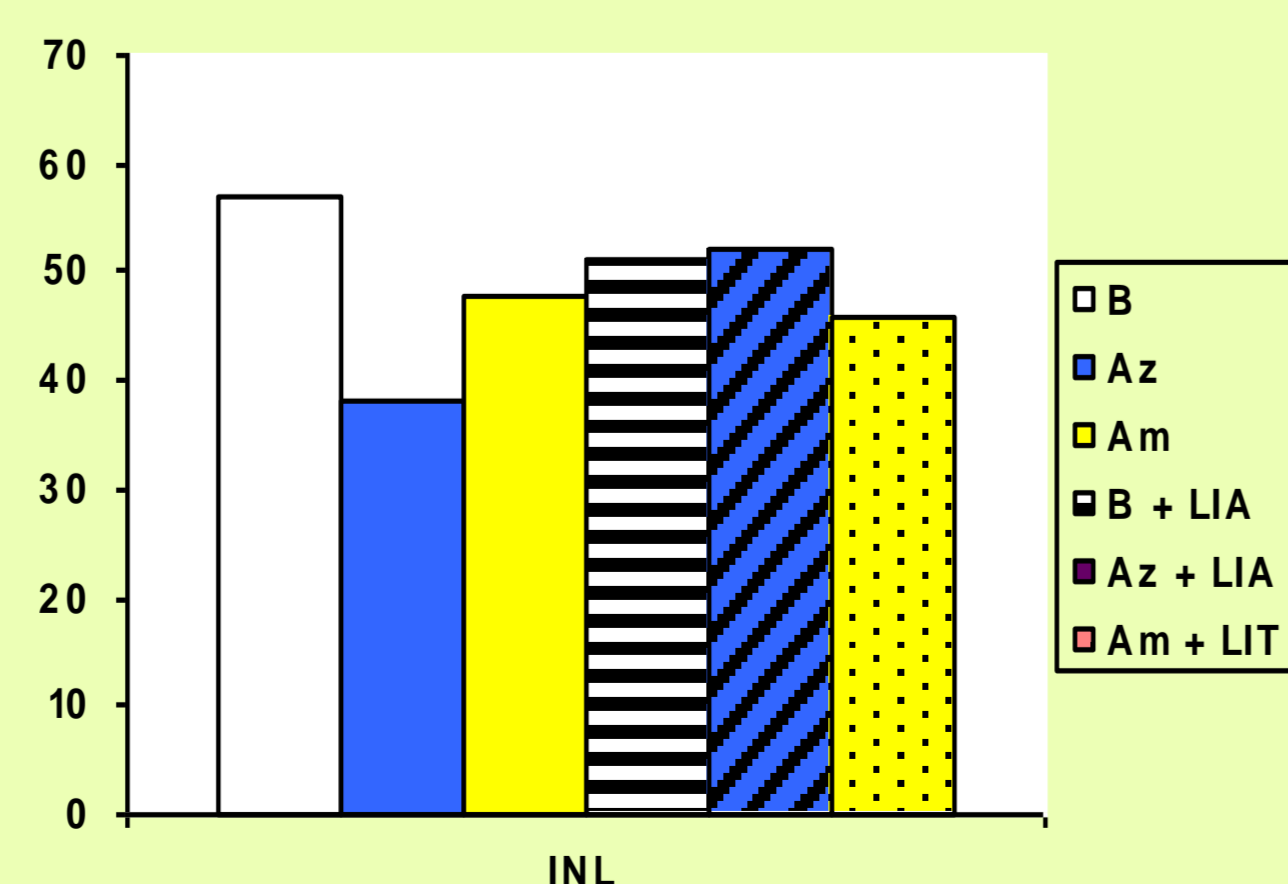


Figura 8: Resultados obtenidos en el análisis cuantitativo de la capa nuclear interna.

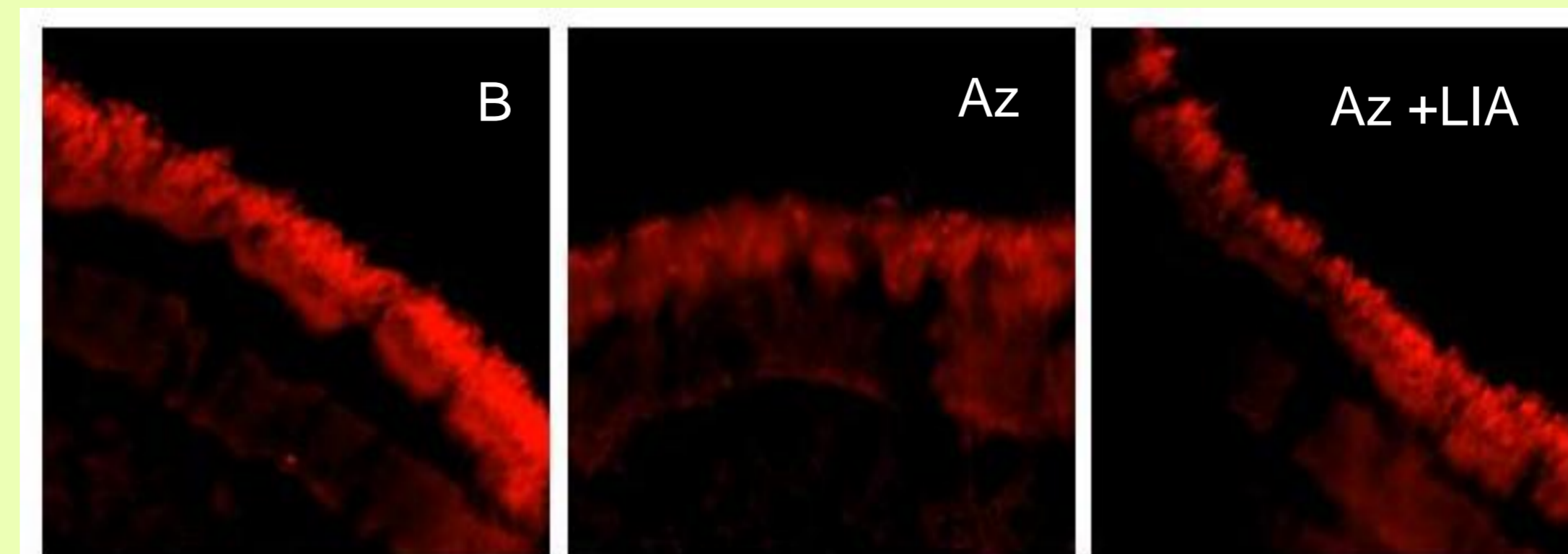


Figura 10: Localización inmunohistoquímica de la opsina para bastones en la retina de conejos sometidos a Luz Blanca (B), a luz Azul (Az) y sometidos a luz Azul con lente intraocular amarilla (Az+LIA)