

R. 9. 196

T.O.
M/40
TOMO I



Estudio clínico y experimental de las alteraciones
oculares por la radiación del arco de soldadura.-



Tesis Doctoral para optar al
grado de Doctor en Medicina y
Cirugía de Jesús Montero Iru-
zubieta.

Cátedra de Oftalmología Prof.:
Piñero Carrión. Facultad de Me-
dicina.

M
40



ANTONIO PIÑERO CARRION. CATEDRATICO DE OFTALMOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

CERTIFICO:

Que D. Jesús Montero Iruzubieta, ha realizado esta TESIS DOCTORAL bajo mi dirección y en la / Catedra de Oftalmologia de la Facultad de Medicina / de Sevilla.

Y para que conste, firmo el presente en Sevilla, Mayo de mil novecientos ochenta.

[Handwritten flourish]

[Handwritten signature]

DEDICATORIA

A Maria de los Angeles.

Sevilla, Junio 1980.

"AGRADECIMIENTOS"

Quiero expresar mi especial agradecimiento al Prof.Dr.D: / Antonio Piñero Carrión; quien me alentó, ayudó constantemen te en este campo tan apasionante que es la Oftalmología.

Al Prof.Dr.D. Antonio Piñero Bustamante, su dedicación su / entrega, que han hecho posible que se lleve a cabo este trabajo.

Al Prof.Dr.D. Hugo Galera Davidson; sin cuya inestimable ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Al Dr.D. Jesús Montero Marchena, mi padre, quien me introdujo en este campo que es la Oftalmología.

A D. Emilio Gallardo, Jefe del Laboratorio de Optica del Centro Nacional de Homologación, Instituto Territorial de Sevilla del Plan Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo.

A D. Francisco Bernier Herrera; Jefe del Servicio de Microscopia Optica y electrónica del Servicio Social del Instituto Territorial de Sevilla, del Plan Nacional de Higiene y Seguridad del Trabajo.

A D. Rafael Fernández, Veterinario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Al Dr.D. Ricardo González Campora, Médico Adjunto Clínico del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Al Dr.D. Alberto Hevia, Biologo, Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

A D^a Remedios y D^a Emilia Ballesteros Rodriguez, D^a M^a Teresa Cuellar de la Calle, D. Vicente Cuellar Montero, D^a Dolores Jimenez Carrión y D. Roberto Morillo Pérez.

R E S U M E N

La fotoftalmía es sin lugar a dudas el cuadro ocular más frecuente en relación con la absorción por parte del globo ocular de radiaciones electromagnéticas.

En nuestro trabajo hemos estudiado esta afección por dos vías distintas y según creemos complementarias, por un lado hemos estudiado la fotoftalmía como entidad clínica dentro de nuestra Clínica de Urgencias, es decir, encuadrar y situar la importancia de esta afección en nuestro medio; por otro lado hemos intentado reproducir experimentalmente las mismas condiciones en que a diario se producen estos accidentes.

La fotoftalmía como urgencia oftálmica en nuestro medio, la hemos estudiado en función de su frecuencia en relación con la hora del día, día de la semana, día del mes, mes del año y frecuencia relativa de la clínica general de urgencia.

Para la realización de nuestro trabajo experimental, hemos utilizado como animal de experimentación, los cuales han sido expuestos a la radiación emitida por un arco de soldadura de los que habitualmente se usa en la industria y que posteriormente fueron divididos en catorce lotes de seis animales cada uno, doce ojos cada lote, y sacrificados a distintos intervalos de tiempo, entre 1 y 120 horas tras la irradiación, a estos conejos le fueron enucleados ambos ojos para su estudio mediante microscopio

optico, electrónico de barrido y de transmisión. En nuestro estudio hemos intentado correlacionar los aspecto clínicos, macroscopicos de estos animales con aquellas lesiones observadas por los diferentes métodos de microscopia utilizados / a nivel de cornea y conjuntiva, cristalino, uvea y retina, / objetivables mediante la abundante iconografía expuesta en este trabajo.

Realizamos una crítica de nuestra metodología y resultados / obtenidos, así como una síntesis de las lesiones encontradas a los distintos niveles de las diversas estructuras oculares estudiadas.

Finalizamos con 21 conclusiones que sintetizan nuestra aportación a la fotoftalmía .

I N D I C E:

Páginas.

Introducción.....	1
Material y métodos.....	156
Resultados.....	186
Crítica de los resultados.....	348
Conclusiones.....	360
Bibliografía.....	365

CAPITULO I

LAS SOLDADURAS : SUS RADIACIONES Y EL GLOBO OCULAR.

A.- Introducción

B.- La radiación ultravioleta.

C.- Optica de los ultravioletas en el globo ocular.

D.- Valores umbrales para la exposición a la radiación ultravioleta, visible e infrarrojo.

E.- La soldadura: -Aspectos generales.

-Principales etapas evolutivas

-Accidentes laborales por soldadura.

A. INTRODUCCION

Quizás el traumatismo ocular más frecuente debido a la absorción de - energía radiante por el globo ocular, sea debido a la radiación ultra violeta.

Dentro del espectro electromagnético, las radiaciones con largas longitudes de onda pueden producir lesiones por la acción del calor, ya que actúan por agitación molecular. Por otro lado, tanto los ultravioletas, como las longitudes de onda corta, también pueden producir lesiones, pero en este caso, no van a ser debidas a la agitación molecular de origen térmico, sino que por el contrario, el cambio energético va a actuar a nivel atómico e incluso sobre los orbitales electrónicos de estos átomos, produciendo efectos fotoquímicos y/o foto--eléctricos.

El espectro ultravioleta, puede ser considerado con una extensión des de los 370 nm. hasta los 100 nm. En nuestro planeta la atmósfera que/ nos envuelve absorbe las radiaciones cuya longitud de onda sea infe--rior a los 120 nm. Los ultravioletas que tienen un origen solar van a ser en su mayoría absorbidos por la atmósfera y solo en lugares de extrema altitud, en días excepcionalmente claros, el contenido de ultra violetas solar puede ser considerado en 1-2%. Por otro lado, la luz - del sol reflejada por la nieve, el mar, etc.; pudiera llegar a repre--sentar un contenido de un 4-6% de UV.

La córnea absorbe las longitudes de onda inferiores a 400 nm, aunque una pequeña cantidad de luz ultravioleta puede atravesarla, en cuyo caso sería absorbida por el cristalino, pudiendo causar fluorescencia, es decir, emitir la energía absorbida como una radiación de longitud de onda mayor que la longitud de onda de la radiación estimuladora. Así, en el ojo del afaquico, la sensibilidad a la luz de 365 nm, aumenta unas 1.000 veces en comparación con el ojo faquico.

Las longitudes de onda comprendidas entre los 314 nm y los 250 nm, son las que tienen una mayor capacidad para producir lesiones tisulares, sin embargo, las lesiones van a variar dependiendo de las longitudes de onda.

En la córnea, la longitud de onda de 288 nm es la más lesiva, si bien el pico de la curva de absorción se encuentra en 265 nm.

La fotoftalmia es, sin lugar a dudas, el cuadro clínico más frecuente en relación con las lesiones oculares debidas a la radiación ultravioleta.

Todas las lesiones causadas por radiaciones de longitudes de onda menores al espectro visible, van a tener como características la presencia de un período de latencia o de mudez sintomática, así como el presentar un efecto acumulativo.

LA RADIACION ULTRAVIOLETA.

La radiación ultravioleta es una forma de radiación electromagnética, cuyas longitudes de onda se encuentra entre la región correspondiente al color azul del espectro de luz visible, y la región de los rayos X (FIGURA Nº 1).

La Comisión Internacional de Iluminación, ha dividido las longitudes de onda, correspondientes a la radiación ultravioleta, entre los 400 nanometros "nm" y los 100 nm en tres regiones:

- UV- A entre los 400 nm y los 315 nm.
- UV- B entre los 315 nm y los 280 nm.
- UV- C entre los 280 nm y los 100 nm.

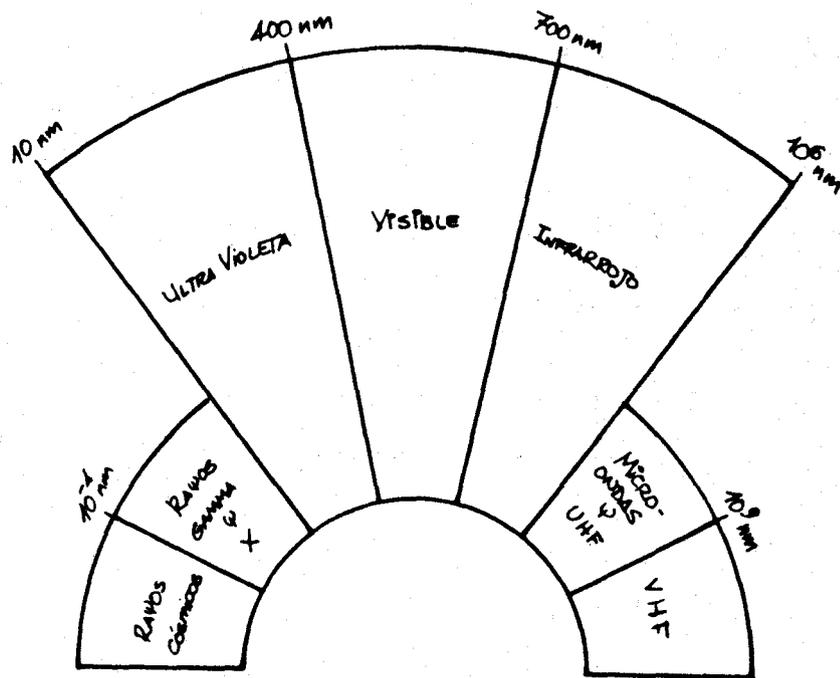
Estas regiones están ampliamente diferenciadas en cuanto a sus diferentes propiedades de potencia y penetración, como agentes causales de lesiones biológicas.

Por un lado, las radiaciones ultravioletas, de más corta longitud/ de onda, son fuertemente atenuadas por todas las sustancias comunes, incluyendo el aire, por tanto el riesgo para la salud vá a depender de las longitudes de onda superiores a los 200 nm.

Por otro lado, la principal fuente de ultravioletas naturales, es/

FIGURA Nº 1

EL ESPECTRO ELECTROMAGNETICO.



ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

el sol. La radiación ultravioleta producida por lámparas incandescentes, es en forma de espectro continuo; de modo que, si la temperatura aumenta, el total de radiación emitida y la proporción de radiaciones de longitud de onda corta (ultravioleta) aumenta, y el pico de curva de emisión se desplaza hacia las longitudes de onda/corta (FIGURA Nº 2).

Equipos con capacidad para emitir radiaciones ultravioletas, pueden ser encontrados con relativa facilidad en los procesos industriales, en la práctica médica, y en otros numerosos lugares.

Estos equipos van a poder ser usados para una gran variedad de propósitos desde el punto de vista médico, tales como servir para matar gérmenes, crear efectos fluorescentes, etc. o extramédicos.

A continuación, vamos a enumerar algunas de las fuentes de radiación ultravioleta, que son las que generalmente causan las foto-oftalmias:

A.- Foto-oftalmias laborales.

Equipos de soldadura.

Arcos eléctricos con carbón, xenón, etc.

Lámparas "bactericidas".

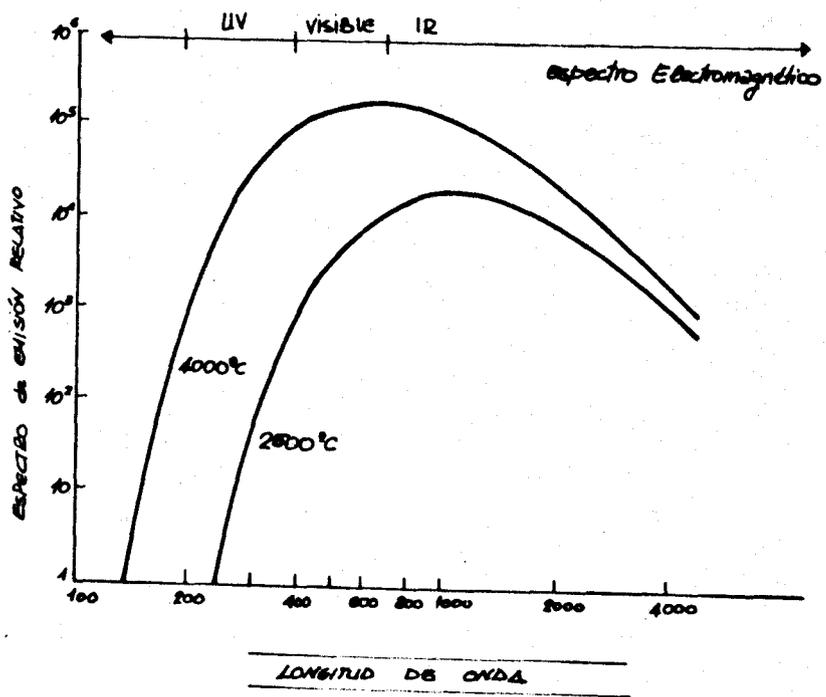
Equipos de fluorescencia.

Lámparas de mercurio.

Etc.

FIGURA Nº 2

LONGITUD DE ONDA.



B.- Foto-oftalmías no laborales:

Ultravioletas naturales.

Lámparas ultravioletas (baño de sol).

Etc.

El ejemplo común, de radiación ultravioleta en la industria, es el arco eléctrico. El espectro de emisión suele ser continuo, y en algunas bandas de emisión resultan superpuestas estas líneas van a depender de las propiedades de los constitutivos materiales de los electrodos, de los gases que los rodean y de la pieza de trabajo - que se está soldando.

OPTICA DE LOS ULTRAVIOLETAS EN EL GLOBO OCULAR.

Al considerar el globo ocular, es normal tener en cuenta su cualidad para formar imágenes sobre la retina, si lo entendemos como un sistema óptico.

Los tejidos oculares afectados por la exposición a ultravioletas, son aquellos en los cuales la radiación es absorbida. El daño va a depender de la energía absorbida, la longitud de onda de la radiación y la duración de la exposición. Por todo ello, sería adecuado recordar del comportamiento del globo ocular ante diferentes tipos de radiaciones:

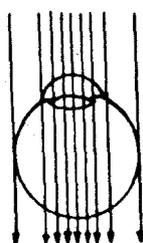
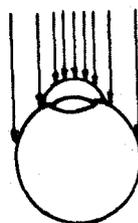
En la figura nº 3, mostramos una representación esquemática de las características de absorción del globo ocular para las radiaciones electromagnéticas, en un rango de longitudes de onda que va desde los rayos gamma hasta las microondas.

Los rayos gammas y rayos X, cuyas longitudes de onda son inferiores a 0.01 nm, generalmente atraviesan el ojo, pero las lesiones pueden ocurrir a través de ionizaciones primarias o secundarias, originadas por pequeñas fracciones que han sido absorbidas.

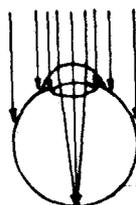
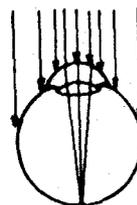
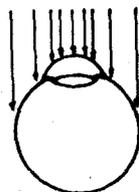
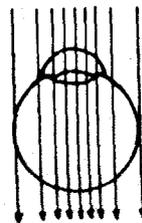
Los rayos X blandos y ultravioletas cuyas longitudes de onda se encuentran en un rango comprendido entre los 100 y los 310 nm., van/

FIGURA Nº 3

CARACTERISTICAS GENERALES DE LA ABSORCION DEL GLOBO OCULAR PARA LAS RADIACIONES ELECTROMAGNETICAS.

RAYOS γ y R-X

L. V. CORTOS

L. V. LARGOS y
LUZ VISIBLEINFRARROJOS
CORTOSINFRARROJOS
LARGOS

MICROONDAS

a ser absorbidos fundamentalmente por la córnea.

Los ultravioletas A van a ser absorbidos por la córnea y el cristalino. El cristalino absorbe las longitudes de onda cercanas a los/ 400 nm. Algunas radiaciones cercanas a estos 400 nm. pueden llegar a la retina, ya que hay alguna transmisión de cristalino a estas longitudes de onda.

La luz visible, cuyas longitudes de onda se extienden desde los 400 nm. a los 700 nm aproximadamente, van a resultar refractadas por los diversos medios oculares y va a formar la imagen en retina, gracias a la cual los organismos tendrán la información sensorial.

Los infrarrojos cercanos o cortos, cuya longitud de onda tiene un rango entre los 740 y los 1.300 nm, van a resultar también focalizada y absorbida por la retina pero sin estimular la visión.

Los infrarrojos medios y largos, cuyas longitudes de onda se encuentran entre los 1.300 nm. y las 100 milimicras, van a ser absorbidos por la córnea y los medios intraoculares antes de llegar a la retina.

Las microondas y frecuencias de radio van a ser transmitidas por el globo ocular, aún así, longitudes de onda comprendidas entre 1-10

cm. van a ser absorbidas por el cristalino y se piensan que pueden tener alguna influencia en la formación de la catarata.

Los efectos biológicos de las longitudes de onda inferiores a los/ 310 nm. se ven predominantemente en la córnea. KINSEY, 1.948(38) y BACHEM, 1.929 (3) han determinado las características de la transmisión de la córnea del conejo. Por otro lado, BOETTNER y WALTER, 1.962 (4), aportaron estos datos para corneas humanas. La comparación de la transmisión de energía radiante ultravioleta para cornea de conejo y humana se muestra en la FIGURA No 4.

En cada caso, los datos fueron obtenidos por instrumentos no específicamente diseñados para la investigación de ultravioletas, lejanos o largos y por tanto los resultados serán menos fiables que los obtenidos para los ultravioletas cortos.

Las curvas de transmisión para la córnea total de conejos y humanos, tomados de BACHEN (3) por un lado y de BOETTNER y WALTER (4), por otro, pueden compararse favorablemente en todas las longitudes de onda. Casi nunca los datos han confirmado que ultravioletas cuya longitud de onda sea inferior a los 310 nm, y pueda ser transmitidas por la córnea y que la mayor parte de esta absorpcion ocurre a nivel del epitelio corneal.

Una comparación de la transmisión espectral de la córnea del huma-

FIGURA Nº 4

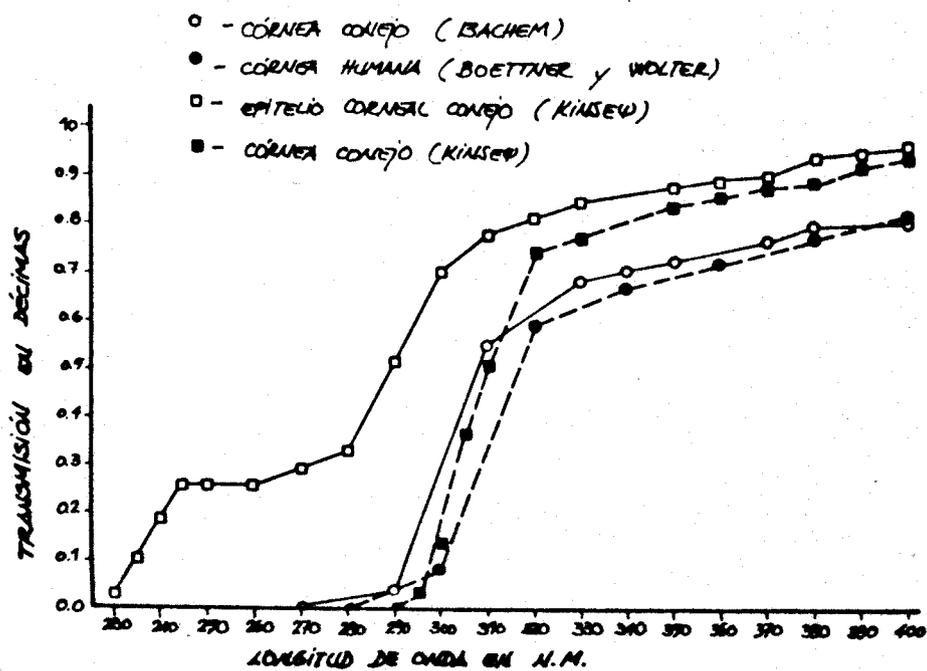
TRANSMISION DE ENERGIA RADIANTE ULTRAVIOLETA POR LA CORNEA.

Epitelio corneal de conejo - KINSEY (36)

Córnea de Conejo - KINSEY (36)

Córnea de Conejo - BACHEM (3)

Córnea Humana - BOETTNER y WOLTER (4).



no y del conejo, se muestra en la FIGURA Nº 5, para la banda comprendida entre los 270 y los 400 nm.

Estos datos, demuestran que la mayor parte de la radiación ultravioleta entre los 320 nm. y los 400 nm, (UV-A) que entran por la pupila son absorbidos por el cristalino.

Por todo ello, el cristalino puede ser un blanco para los ultravioletas A, pudiendo actuar el cristalino además, como filtro protector de Ultravioletas A, absorbiendo esta radiación antes de que pudiera llegar a la retina.

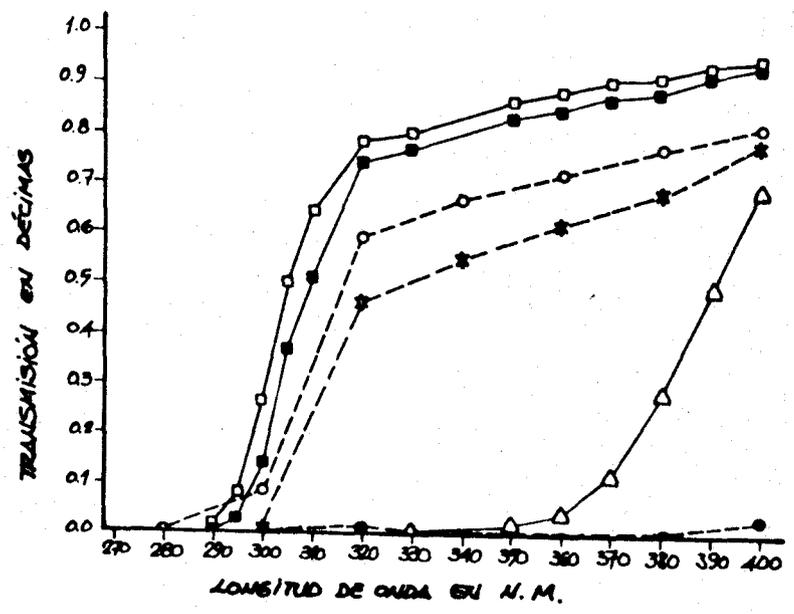
Mientras que la mayor parte de los ultravioletas A, que entran en el ojo, son absorbidos por el cristalino, los datos de BOETTNER y WALTER(4) muestran, de una forma clara, que un 8-10% de ellos son transmitidos en una banda cuyo centro lo podemos situar en los 320 nm,, para cristalinos de humanos jóvenes y en el mono Rhesus. Curiosamente, esta banda de transmisión para los ultravioletas A, se reduce hasta 0.1% en humanos de 22 años, lo cual puede ser causa de alteraciones fotoquímicas o de la maduración del cristalino. - Personas afáquicas pueden realmente recibir radiación ultravioleta A.

De todos modos, no hay una evidencia aparente de que estos sujetos afáquicos o adultos jóvenes sufran daños retinianos por parte de -

FIGURA Nº 5

COMPARACION DE LA TRANSMISION DE ULTRAVIOLETAS, PARA HUMANOS Y CO
NEJOS, A TRAVES DE LA CORNEA, HUMOR ACUOSO, CRISTALINO Y VITREO.

- = Humor acuoso humano.
- = Cristalino.
- = Vitreo
- = Humor acuoso conejo.
- = Cristalino de conejo.
- = Vitreo de conejo.



- - HUMOR ACUOSO HUMANO
- - VITREO HUMANO
- - HUMOR ACUOSO CONEJO
- - CRISTALINO CONEJO
- * - CRISTALINO HUMANO
- △ - VITREO CONEJO

los niveles ambientales normales de ultravioletas A.

Cuando se expone el ojo a radiaciones, resulta difícil determinar/ la energía radiante total incidente y absorbida, ya que las pérdidas por reflexión va estar aumentada en la superficie corneal.

Estas pérdida varían con los índices relativos de refracción de los medios y del ángulo de incidencia. Para grandes ángulos de incidencia, como la incidencia marginal de los rayos sobre la curvada superficie corneal, la reflexión puede llegar a ser mayor del 50%.

La irradiación que llega a la córnea puede también reducirse en proporción directa al coseno del ángulo de incidencia.

Debido a estas variaciones, las exposiciones experimentales cuantitativas, se refieren generalmente a irradiaciones colimadas de incidencia normal a la región central de la córnea, tomando como tal un diámetro de 4 mm. que recibirá más del 90% de la radiación incidente." De todos modos, los efectos biológicos no se limitan ciertamente a esta área central, cuando el ojo resulta expuesto a radiaciones ultravioletas.

D.- VALORES UMBRALES PARA LA EXPOSICION A RADIACIONES ULTRAVIOLETAS,
LUZ VISIBLE E INFRARROJOS.

Los valores de umbrales máximos para agentes físicos se refieren a las condiciones, bajo las cuales se cree, que casi todos los trabajadores pueden estar expuestos repetidamente, día tras día, sin sufrir efectos adversos.

Debido a las amplias variaciones de la susceptibilidad individual, las exposiciones individuales ocasionales deberán ser siempre inferiores.

Este umbral máximo o limite, no prevendrá de agravaciones de lesiones preexistentes o daños fisiológicos.

VALORES UMBRALES PARA LA RADIACION ULTRAVIOLETA.

Estos valores de umbrales, límites máximos, referidos a la radiación ultravioleta, en la región espectral comprendida entre los 200 y los 400 nm., representan las condiciones, bajo las cuales se cree que casi todos los trabajadores pueden sufrir exposiciones repetidas, sin sufrir efectos adversos.

Estos valores para la exposición del globo ocular o de la piel, aplicado a la radiación ultravioleta procedente de arcos eléctricos, gas, descargas de vapor, fluorescencia, fuentes incandescentes,

tes y radiación solar, no resulta aplicable al laser ultravioleta.

Estos datos no serán útiles cuando se trate de exposiciones a individuos fotosensibilizados a las radiaciones ultravioletas.

Estos valores pueden ser usados como guía en el control de exposiciones a fuentes continuas, donde la duración de la exposición sea superior a 0.1 seg.

Los valores de umbrales máximos límite, para exposiciones ocupacionales de radiación ultravioleta, donde los valores de radiación incidente son conocidos, son los siguientes:

1.- Para la región espectral de los ultravioletas comprendidos entre los 320 nm y los 400 nm. El total de radiación incidente sobre la piel u ojo, sin protección, no excederá de 1 mW/cm² para períodos mayores de 1.000 seg. (aprox. 16 minutos) y para exposiciones/ de menor duración no deberá de exceder 1 J/cm².

2.- Para la región espectral de ultravioletas actínicos, comprendido entre los 200 nm y los 315 nm. La exposición de la radiación incidente sobre ojo o piel sin protección, no deberá exceder los valores de la tabla nº 1, dentro de un período de ocho horas.

3.- Para determinar la irradiación efectiva de toda la banda de la fuente emisora, contra el pico de la curva espectral más efectivo/

TLV = Valores umbrales límites.

TODOS ESTOS VALORES UMBRALES LIMITES, PARA LOS ULTRAVIOLETAS PRECEDENTES, PUEDEN APLICARSE A FUENTES QUE TENGAN UN ANGULO MENOR DE 80°. PARA AQUELLAS FUENTES QUE TENGAN UN ANGULO DE INCIDENCIA MAYOR, NECESITARAN SER MEDIDAS SOBRE UN ANGULO DE 80°.

EFECTIVIDAD ESPECTRAL RELATIVA POR LONGITUD DE ONDA.			EXPOSICIONES A ULTRAVIOLETAS PERMISIBLES.	
Longitud de onda (nm)	TLV (mJ/cm ²)	efectividad espectral relativa	duración de la exposición/día	Irradiación efectiva E _{eff} (microW/cm ²)
200	100	0.03	8 horas	0.1
210	40	0.075	4 horas	0.2'
220	25	0.12	2 horas	0.4
230	16	0.19	1 hora	0.8
240	10	0.30	30 minutos	1.7
250	7.0	0.43	15 minutos	3.3
254	6.0	0.50	10 minutos	5
260	4.6	0.65	5 minutos	10
270	3.0	1.00	1 minuto	50
280	3.4	0.88	30 segundos	100
290	4.7	0.64	10 segundos	300
300	10	0.30	1 segundo	3.000
305	50	0.06	0.5 segundos	6.000
310	200	0.015	0.1 segundo	30.000
315	1.000	0.003		

(270 nm) podemos usar la fórmula siguiente:

$$E_{\text{eff}} = \sum E_{\lambda} \cdot S_{\lambda} \cdot \Delta_{\lambda}$$

Donde:

E_{eff} = irradiación efectiva, relativa a una fuente monocromática de 270 nm. en W/cm^2 .

E_{λ} = Irradiación espectral en $W/cm^2/nm$.

S_{λ} = Efectividad espectral relativa.

Δ_{λ} = Amplitud de banda en nm.

4.- Tiempos de exposición permitidos en segundos, para exposiciones de radiación ultravioleta actínica, incidente sobre ojo o piel sin protección, puede ser calculado dividiendo $0.003 J/cm^2$ por E_{eff} en W/cm^2 . El tiempo de exposición puede ser calculado usando la table nº 1, la cual proporciona tiempos de exposición, correspondientes/ a irradiaciones efectivas en $microW/cm^2$.

LUZ VISIBLE E INFRARROJOS CERCANOS O CORTOS.

Estos valores de umbrales límites máximo para la luz visible e infrarrojos cortos, abarca un rango de longitudes de onda, que vá - desde los 400 nm a los 1.400 nm., representando las condiciones, ba

jo las cuales se cree, que casi todos los trabajadores pueden exponerse, sin sufrir efectos adversos.

Estos valores podrán ser usados como guía para el control de exposición a la luz, no debiendo tomarse como la frontera estricta entre la seguridad y la peligrosidad de los niveles.

Los valores de umbrales límites recomendables, para exposiciones ocupacionales de la banda de luz visible e infrarrojos cortos, de radiación sobre el ojo, aplicado a una exposición de ocho horas, en un día de trabajo cualquiera, requerirá un conocimiento tanto del espectro de irradiación, como de la radiación total de la fuente, medida en la posición del ojo del trabajador.

E.- LA SOLDADURA.

Aspectos generales. Principales etapas evolutivas. Accidentes laborales por la soldadura.

ASPECTOS GENERALES.-

Soldar es unir dos metales de igual o parecida naturaleza, bajo la acción del calor, con o sin adición de metal de igual o similar composición, hecha de tal manera que el lugar de la unión constituye un todo sensiblemente homogéneo con las zonas laterales más próximas.

De aquí se deduce que esta unión, que por su constitución debe ser rígida y estanca después del enfriamiento, obedece a dos principales principios fundamentales:

a.- Interposición en la zona de contacto de ambos metales en estado líquido o pastoso por la acción del calor de una aleación fusible que forme cuerpo con ellos.

b.- Provocar la fusión de las partes a soldar y consolidar por enfriamiento las zonas de contacto.

Se distingue en esencia dos métodos de soldadura:

- 1.- Soldadura a presión.
- 2.- Soldadura por fusión.

En la primera, las dos piezas se unen entre sí en estado pastoso, - por medio de cierta presión.

En el segundo método, la unión se verifica pasando el estado líquido los lugares a soldar, en general, y con o sin aportación de nuevos materiales.

De los anteriormente expuesto, se deducen los nuevos términos o de finiciones adoptadas como soldadura a presión o soldadura por fusión; éstos dos grandes grupos pueden a su vez subdividirse en diferentes tipos de soldadura según algunas características diferenciales.

- 1.- Soldaduras a presión (material en estado pastoso).
 - a.- Soldadura por martillado (fragua, carbón de Coque).
 - b.- Soldadura por resistencia eléctrica.
 - c.- Soldadura aluminotérmica a presión.

- 2.- Soldadura por fusión (estado fluído de las piezas).
 - a.- Soldadura por fusión con gas (soldadura autógena).
 - b.- Soldadura por fusión eléctrica (fusión por arco).
 - c.- Soldadura eléctrica con gas (sistemas arcatom y arcogen).
 - d.- Soldadura de hierro fundido por el procedimiento de la colada.

En el primer grupo, en que se interpone un metal fusible distinto/ de los que se sueldan, se llama también soldadura por aleación(b).

En el segundo grupo se ligan cuerpos metálicos de la misma naturaleza, directamente por fusión, de modo que, al fundirse las partes en contacto, se mezcla la materia del uno con el otro, formando las dos piezas un todo único después del enfriamiento (a).

La expresión "Soldadura autógena", se ha incorporado al lenguaje vulgar, al difundirse en los talleres el uso del soplete oxiacetilénico. Esta circunstancia ha determinado que corrientemente se aplique el nombre de soldadura autógena a todas las realizadas con soplete.

Por el objeto del presente trabajo, centraremos nuestra atención sobre la soldadura eléctrica por arco, de la que a continuación citaremos algunas características de tipo general.

Podemos considerar que los elementos esenciales de este tipo de soldadura son:

- El calor.
- El material de aporte, es decir, los electrodos.

El calor se obtiene mediante el salto de un arco eléctrico entre el electrodo y la pieza a soldar (masa). Para este arco eléctrico, a cada valor de la intensidad de corriente corresponde una determinada tensión en función de su longitud. La relación entre estos dos valores eléctricos reproduce la característica eléctrica del arco,

observándose en ella que para el encendido del arco se necesita una tensión considerablemente mayor que para su conservación.

Cuando el arco está encendido, la diferencia de tensión entre electrodos disminuye rápidamente, mientras que la intensidad de la corriente aumenta considerablemente, presentando todo el sistema una característica descendente, lo que junto a la limitación de la intensidad de corriente, cuando el arco se ha cebado exige, para un perfecto control de ambas variables, la utilización de las máquinas eléctricas de soldadura.

Las máquinas eléctricas de soldadura, no son más que transformadores que permiten modificar la corriente de la red de distribución/ en una corriente tanto alterna como continua de tensión más baja, - ajustando según las características del trabajo a efectuar el amperaje necesario.

PRINCIPALES ETAPAS DE LA EVOLUCION DE LOS PROCEDIMIENTOS DE SOLDADURA.

<u>FECHA</u>	<u>AUTOR</u>	
1.837	Desbassyns de Richemont:	Descubre la llama aerohídrica.
1.850	H.Sainte-Claire Deville:	Estudia la llama aerohídrica.
1.856	Jaule:	Logra la soldadura a base de dos/ hilos de acero con corriente de - alta intensidad.
1.877	E. Thomson:	Realiza la soldadura a presión.
1.881	Meritens	Utiliza el arco de carbón para sol dar los bordes de plomo de las ba terias de acumuladores.
1.885	N.de Bernados y S.Olzewsky:	Utilizan el arco de carbón para - la fusión local del acero.
1.886	Zerener:	Dirige mediante una bobina soplan- te el arco creado entre dos elec- trodos de carbón.
1.887	T. Flecher:	Primeros ensayos de perforación - del acero con chorro de oxígeno.
1.891.	Slavianoff:	Utiliza el arco del hilo en acero desnudo para realizar la primera/ soldadura de dos chapas de acero.
1.892	H. Moissan	Fabrica el carburo de calcio en - horno eléctrico.
1.894	Jottrand	Logra la primera soldadura indus- trial con la llama oxihídrica.

- 1.895 H. Le chatelier: Estudia científicamente la llama oxia-
cetilénica y prevee todas sus posibi-
lidades industriales.
- 1.898 Linde Fabricación industrial de oxígeno.
- 1.901 E. Fouche y Ch. Picard: Construyen el primer soplete industrial.
- 1.901 Soc.Cöln.Musener: Primera patente sobre la combinación de
una llama de calefacción y de un chorro
de oxígeno.
- 1.902 G. Claude Fabricación industrial del oxígeno por
doble rectificación.
- 1.904 Ch. Picard. Soplete especial para el oxicorte.
- 1.905 Jottrand Presentación de la primera experiencia
de oxicorte y primeros estudios.
- 1.906 R.Grajon y P.Rosemberg. Crean en Paris la "Office Central de -
l'acetulène" para las aplicaciones de
este gas al alumbrado, que se orienta
después hacía la soldadura.
- 1.908 O.Kjellberg Descubre el revestimiento de los elec-
trodos de soldadura por arco.
- 1.910 A. Le Chatelier
1.912 Primeras construcciones industriales -
por soldadura con arco.
- 1.913 J. E. Languépin Producción industrial de máquinas para
soldar por resistencia.
- 1.924 J. Bethenod Preconiza el empleo de la corriente de
alta frecuencia para estabilizar el arco.
- 1.924 Irwin Langmuir Estudia la disociación del hidrógeno y-

- propone la soldadura con hidrógeno ató
mico.
- 1.926 Alexander Soldadura en medio reductor.
- 1.927 R. Sarazin Primera cabeza francesa de soldadura -
por arco.
- 1.930 Creación en Paris del "Institut de Soudure y de L'ecole supèrieure
de Soudure".
- 1.934 R. Sarazin y M.Moneyron Puesta a punto del electrodo básico y -
aplicaciones en la construcción naval.
- 1.935 Soldadura en medio de gases monoatómicos: Helio en los E.E.U.U. y
Argon en Inglaterra y Francia.
- 1.936 Soldadura automática bajo el flujo conductor, sistema Unionmelt -
(E.E.U.U.).
- 1.938 La General Electric Co. y la Westinghouse, proponen el control -
electrónico en las soldaduras por resistencia.
- 1.938 R.C. Reinhardt Primeras soldaduras de materias plásti
cas.
- 1.938 I.G. Farbenindustrie Soldadura de las materias plásticas en
plan industrial.

LAS SOLDADURAS: ACCIDENTE LABORALES POR SOLDADURAS.

Los riesgos y peligros del trabajo del soldador se revelan fácilmente, si se considera que el procedimiento de soldadura por arco/eléctrico lleva consigo:

- 1.- Temperatura de arco, generalmente, superior a 3.000° C.
- 2.- El arco es seguido de un violentísimo resplandor luminoso.
- 3.- La tensión en vacío necesaria para el cebado del arco es de 65 V., en corriente continua y de 65 V. a 85 V. en corriente alterna/ de 50 períodos.
- 4.- El revestimiento del electrodo se hace incandescente alrededor del arco y provoca la formación de una llama gaseosa y un salpicado de chispas de hierro y escoria.
- 5.- Una vez fundido el electrodo, el revestimiento queda recubriendo el metal depositado en forma de escoria, con un aspecto vitreo, y con aristas vivas.

De estas observaciones se deduce que los accidentes pueden ser:

- De origen mecánico.
- De origen calorífico.
- De origen eléctrico.
- Producidos por el deslumbramiento luminoso.
- De origen respiratorio.

- 1.- Accidentes de origen mecánico:

Los accidnetes pueden tener lugar cuando el obrero martillea la escoria o burilea el metal depositado. La escoria vitrea con temperatura muy elevada, al ser golpeada con el martillo o la piqueta, se desprende violentamente y las partículas pueden causar lesiones - oculares, fundamentalmente del tipo de cuerpos extraños. Mediante/ el empleo de gafas apropiadas, se evita a los soldadores gran cantidad de accidentes.

2.- Accidentes de origen calorífico.

Los peligros debidos al calor del arco, son practicamente nulos, - puesto que ninguna parte del cuerpo del soldador se encuentra ex-- puesto directamente a este calor.

El principal accidente, consiste en las quemaduras producidas por/ las chispas de hierro o de escoria, proyectadas durante la fusión/ del electrodo, las cuales al caer sobre los vestidos pueden pren-- derlos y si caen sobre la piel del soldador pueden producir quema-- duras.

Las quemaduras que se producen, suelen ser muy localizadas, por cuyo motivo pueden ser profundas y a veces llegan a interesar la dermis y los elementos nerviosos que encuentran bajo la piel, pudiendo desencadenar fuertes dolores.

Al finalizar la fusión de cada electrodo, queda en la pinza un troz

zo residual de unos cinco centímetros de longitud, a temperatura - muy elevada y que antes de poner un nuevo electrodo en la pinza se deja caer, por lo que a veces se pueden producir quemaduras en las piernas del soldador.

Este tipo de accidentes, se evita protegiendo parcialmente al soldador mediante vestidos ignifugos, o al menos compuesto de alguna materia que no prenda fácilmente.

Las manos del soldador se deben encontrar protegidas por guantes de cuero, con un remate en forma de manopla.

La cabeza, el cuello, parte del tórax y la mano izquierda, incluso el antebrazo, se protegen directamente mediante la pantalla de mano.

Es recomendable que el soldador lleve un peto de cuero que le cubra desde el cuello hasta la rodilla, puesto que no siempre se emplea la careta normal, siendo sustituida en algunas ocasiones por el casco, quedando entonces el cuerpo muy desprotegido.

En los casos de soldadura sobre el techo, donde el peligro de caída de gotas procedentes del metal en fusión es más grave, se recomienda tomar precauciones especiales, a fin de evitar accidentes.

3.- Accidentes de origen eléctrico:

Como la resistencia eléctrica del cuerpo humano es en general mayor que la del arco voltaico en condiciones normales no existe peligro alguno para el operario, mientras este establecido dicho arco.

También es conveniente señalar, que mientras la tensión de la soldadura no exceda de 35 V., puede ser considerada, como inofensiva, incluso encendido, es decir, con el circuito de corriente abierto, - hay que contar con una tensión de marcha en vacío de 70-80 V., entre el electrodo y la pieza de trabajo. A esta tensión, que no deja de ser peligrosa, se expone el operario cuando toca al mismo tiempo partes no aisladas del portaelectrodos y la pieza de trabajo, o sea cuando su cuerpo cierra el circuito de la corriente de soldar. El paso de la corriente por su cuerpo será más fácil cuando la resistencia de paso disminuya por efecto de la humedad, por transpiración por ejemplo.

Aún procediéndose con tino y cuidado, requisito indispensable para la manipulación de instalaciones eléctricas, existe siempre el peligro de "auto-conexión" en el circuito de la corriente de soldar/ especialmente en el momento de cambiar los electrodos. Debe insistirse, por consiguiente, que el operario use guantes de amianto secos, aislantes, o mejor de cuero, que carezcan de desperfectos dignos de atención como agujeros o costuras descosidad. Por otro lado,

el mango del porta-electrodos debe estar perfectamente aislado y - conservarse siempre en buen estado. El operario debe de acostumbrarse desde el principio a aplicar la tenaza del electrodo de manera que no pueda llegar a establecerse contacto con las partes conductoras de corriente, principalmente con la pieza de trabajo.

Los trabajos ejecutados en calderas y otros recipientes requieren/ un especial cuidado, puesto que el operario puede ponerse fácilmente en contacto con las partes metálicas. El operario debe trabajar en estos casos sobre tablas secas o esteras de goma, especialmente cuando está obligado a trabajar tendido y siente además mucho calor, lo cual le vá a llevar a una gran sudoración, que puede actuar fácilmente favorecer los accidentes.

Todo trabajo efectuado con la parte superior del cuerpo desnuda es temerario, como también lo es la mala costumbre, que se observa a/ veces, de colocar bajo las axilas las tenazas de soldar que están/ bajo tensión, para poder manipular con mayor comodidad y libertad.

En general, se debería de disponer de un dispositivo, como los que existen en otras industrias, que permita desconectar automáticamente el equipo de la red cuando este está trabajando en vacío.

Resumiendo, podemos decir que los peligros que se esperan de la soldadura por arco, no son mayores que los peligros a los que se exponen los que trabajan con corriente industrial; observar y seguir -

las instrucciones para prevenir los accidentes de trabajo, debe ser considerado como la cosa más natural del mundo.

4.- Accidentes debidos a la potencia luminosa del arco:

Entre los rayos luminosos emitidos por el arco, podemos distinguir:

A) Rayos infrarrojos.-

Si son de gran longitud de onda, sobrepasando 1,5 micrones, estos no son peligrosos, a menos que actúen muy concentrados.

Si su longitud de onda está comprendida entre los valores de 0.8 y 1.5 micrones, el ojo humano es generalmente, muy sensible a ellos, y por tanto deben ser suprimidos.

B) Luz visible.-

Con una longitud de onda comprendida entre 0.4 y 0.8 micrones, es la responsable del resplandor y puede llegar a producir deslumbramientos, debido a las fuertes intensidades.

C.- Radiación ultravioleta.-

La radiación con una longitud de onda comprendida entre 0.3 y 0.4 micrones, se discute su nocividad.

La radiación ultravioleta con una longitud de onda inferior a 0.3 micrones debe ser suprimida completamente.

Por consiguiente, se puede concluir que es necesario disminuir el/

resplandor de la luz visible del arco eléctrico y por otro lado eliminar los rayos infrarrojos y ultravioletas.

La luminosidad del arco eléctrico provoca un resplandor muy acusado que acuta sobre la visión del soldador y le impiden ver los objetos que le rodean, pudiendo actuar sobre el ojo de forma violenta, hasta llegar a la imposibilidad para la función visual durante un cuar-to de hora.

Los rayos ultravioleta pueden provocar querato-conjuntivitis, que/
se acompaña de los síntomas descritos en el capítulo dedicado a esta afección.

Los rayos ultravioletas pueden provocar igualmente sobre la piel,/
en este caso nos interesa la piel de los párpados y área circundante, una sensación de quemadura o insolación, lo que no es grave y/
se caracteriza por una sensación de calor y en algunas ocasiones -
de picores, así como de una sensación de arrugas en la parte del -
cuerpo sometida a la acción de esta radiación, ya sea directamente
o por reflexión.

Estos accidentes oculares pueden ser evitados, mediante la utiliza
ción de una pantalla o máscara, de forma cóncava, construída gene-
ralmente con una materia no conductora del calor o de la electrici
dad, en el centro de la pantalla se encuentra una ventana rectangular
que se destina para alojar los vidrios protectores, cuya fina-

lidad puede considerarse como triple:

- Impedir que las chispas alcancen el ojo del soldador.
- Absorber las radiaciones ultravioletas.
- Absorber los rayos luminosos e impedir el deslumbramiento producido por el arco, suprimiendo la fatiga, capítulo especialmente de dicado a esta afección.

Para evitar que las radiaciones lleguen al ojo en dosis capaces de causar reacciones perjudiciales, debe interponerse un elemento que impidiendo el paso de las bandas nocivas, permita ver a su través/ el trabajo que debe de ejecutarse. Este elemento es conocido como/ ocular filtrante.

Dependiendo de la forma en que se logra este objetivo, ha distintos tipos de filtros. De la radiación total incidente sobre el ocular, una parte será devuelta hacia atrás (reflejada), otra será detenida por el material del ocular (absorbida), y otra pasará a través/ del mismo (transmitida).

Los oculares más usados en soldadura están fabricados en vidrio co loreado y actúan por absorción de las radiaciones; por lo que suelen calentarse y convertirse a su vez en emisores de radiación a b ajas temperaturas.

Los que emplean la reflexión como mecanismo para limitar la energía radiante, suelen tener recubierta con una delgada película de material reflectante (p.e., oro, plata, etc....) la superficie en que inciden la radiación, siendo el material base el plástico coloreado, con lo cual son más livianos.

Independientemente de que actúan por absorción o por reflexión, los oculares filtrantes no dejan pasar, en igual proporción, a las diferentes radiaciones monocromáticas que existen en el espectro radiante considerado. Es decir, poseen transmisiones espectrales distintas, cuyo conjunto nos dá la curva de transmisión espectral, característica.

Fué precisamente el conocimiento de esta curva en lo que estaba basado, hace tiempo, la clasificación normalizada de los oculares - filtrantes (Norma UNE 43156), a los que se asignaba un número de - tres cifras indicadoras de la transmisión correspondiente a las bandas ultravioleta. visible e infrarrojo.

En la actualidad, es la transmisión media en la banda visible que, como criterio internacional admitido, determina el valor N., llamado grado de protección, por el que se identifica y clasifica un - ocular filtrante.

A fin de evitar la aparición de un número infinito de grados de prote

protección N, las comisiones encargadas de normalizar los oculares filtrantes, han fijado una serie de valores concretos de N, admitiendo para cada uno un margen de validez de la transmisión media/visible.

Existe un acuerdo casi unánime en estos valores normalizados en diferentes países. En España el Ministerio de Trabajo en la norma técnica Reglamentaria MT-18 presenta la siguiente clasificación:

<u>GRADO DE PROTECCION</u>	<u>TRANSMISION MEDIA AL VISIBLE EN PORCENTAJE</u>	
<u>N</u>	<u>Máxima</u>	<u>Mínima</u>
1,2	89	74,4
1.4	74,4	58.1
1.7	58.1	43.2
2.0	43.2	29.1
2.5	29.1	17.8
3	17.8	8.5
4	8.5	3.2
5	3.2	1.2
6	1.2	0.45
7	0.45	0.17
8	0.17	0.060
9	0.060	0.023
10	0.023	0.0085'
11	0.0085	0.0032
12	0.0032	0.0012

13	0.0012	0.00045
14	0.00045	0.00017
15	0.00017	0.000060
16	0.000060	0.000023

La clasificación de los oculares filtrantes, según el grado de protección N, es válida, cualquiera que sea el espectro radiante contra el que queremos protegernos; pues insistimos en que sólo es indicativo del nivel de luz con que contará el operario para ver el trabajo que está efectuando. El valor N no suministra información alguna de la proporción en que son detenidas las radiaciones ultra violetas e infrarrojos, que normalmente acompañan a la luz visible y cuyas dosis energéticas son características de cada puesto de trabajo. Es decir, esta clasificación de los filtros es válida, no sólo para la radiación de soldadura, sino también para otras radiaciones industriales.

Por lo tanto, no basta con este valor numérico N, para saber contra que tipo de espectro radiante puede ser utilizado un determinado ocular filtrante.

Atendiendo a la similitud de las proporciones en que aparecen las radiaciones ultravioletas e infrarrojos en sus curvas de radiación espectral, las emisiones de procesos industriales y fuentes naturales

les se agrupan en las siguientes categorías:

- Radiación solar.
- Radiación de soldadura.
- Radiación infrarroja.
- Radiación ultravioleta.
- Radiación laser.

Tanto la radiación solar como la de soldadura contienen en su espectro las bandas ultravioletas, visible e infrarrojo, en dosis de importantes, aunque con distintas intensidades energéticas. Los puestos de trabajo con emisión de infrarrojos (hornos, laminaciones, fundición, etc...) tienen un espectro rico en infrarrojos y visible, pero muy poco importante en ultravioleta. Por el contrario, en aquellos radiadores de ultravioletas (lámparas germicidas, bactericidas, fotocopiadoras, etc.) no se dan en proporción significativa radiaciones de infrarrojos.

Los láseres tienen una emisión prácticamente monocromática, pero con enorme energía, por lo que representan un caso aparte.

Así pues, en los procesos de cada grupo anterior, se emiten ultravioletas e infrarrojos en proporciones y dosis energéticas diferentes; también deberán poseer distintas características de transmisión a estas bandas los filtros utilizados como protección en cada caso.

Será inútil protegerse en un puesto de soldadura con un filtro de/ grado de protección N adecuado, pero cuyas características de transmisión lo catalogan como "contra radiación ultravioleta", pues sólo hay garantía de que el operario tiene la debida protección contra/ los ultravioletas existentes y las dosis excesivas de luz visible.

Pero como dichos oculares no tienen porque detener los infrarrojos pues no están concebidos para ello, y en la soldadura hay emisión/ notables de radiaciones infrarrojas, las dejarán pasar alcanzando/ los distintos medios oculares en que serán absorbidas y produciendo lesiones o enfermedad a largo plazo, tal como veremos posteriormente.

Según lo dispuesto en la Norma MT-18, los oculares filtrantes podrán ser considerados válidos para protección en soldadura, cuando dependiendo del grado de protección N que posean, tengan una transmisión en las bandas ultravioletas e infrarrojo no superior a los indicadores en la TABLA Nº 2.

Para la banda comprendida entre los 200 y los 313, no existirán valores que superen la transmisión a los 313 nm; igualmente para la banda comprendida entre 313 y 365, no se superará el valor de la transmisión a 365 nm.

La transmisión espectral media entre 365 y 400 nm. deberá ser menor

Grado de protección N	Transmisión máxima en Ultravioleta. %.		Transmisión máxima en Infrarrojo. %.	
	313 nm	365 nm	Cercano 780-1300 nm	Medio 1300-2000 nm
1.2	0,0003	50	37	20
1.4	0,0003	35	33	19
1.7	0,0003	22	26	16
2.0	0,0003	14	21	13
2.5	0,0003	6,4	15	9,6
3	0,0003	2,8	12	8,5
4	0,0003	0,95	6,4	5,4
5	0,0003	0,30	3,2	3,2
6	0,0003	0,10	1,7	1,9
7	0,0003	0,037	0,81	1,2
8	0,0003	0,013	0,43	0,68
9	0,0003	0,0045	0,20	0,39
10	0,0003	0,0016	0,10	0,25
11	Valor inferior o	0,00060	0,050	0,15
12	igual al	0,00020	0,027	0,096
13	factor de	0,000076	0,014	0,060
14	transmi -	0,000027	0,007	0,04
15	sión para	0,0000094	0,003	0,02
16	365 nm	0,0000034	0,003	0,02

TABLA Nº 2

o igual al valor obtenido para la transmisión media al visible.

Estos valores máximos de transmisión, indicados en la tabla nº 2, han sido determinados basándonos en el supuesto de considerar la fuente radiante como cuerpo negro a una determinada temperatura, con el conocimiento previo de que la emisión real será considerablemente menor, por lo que ya implica un cierto margen de seguridad.

Es sólo, la detección de la parte visible del espectro la que el usuario puede conocer a la vista de un ocular filtrante. Le queda como incógnita el que las radiaciones ultravioletas e infrarrojas/ invisibles para el ojo, sean suficientemente eliminadas, ya que no poseen medios materiales para averiguarlo. Son precisos un instrumental y unos métodos de ensayo para que sólo puedan realizarse en un laboratorio y por personal técnicamente preparado para ello.

Gracias a la puesta en vigor de la Norma MT-18, este problema quedará resuelto. Pero para que el técnico o el operario puedan resolver este problema, además de poder contar con oculares con identificación única y marca de homologación indicadora de su calidad, deberán conocer cual es el grado de protección adecuado en cada puesto de trabajo.

A modo de recomendación, y de acuerdo con los estudios y proyectos

realizados por organismos internacionales. El Servicio Social de - Higiene y Seguridad en el Trabajo ha preparado para su divulgación la siguiente tabla nº 3..

Con ella, es posible elegir, de acuerdo con las características del puesto de trabajo, el valor N del ocular filtrante conveniente en/ la mayoría de los casos.

Hacemos hincapié en el carácter orientativo de esta tabla, pues además de las variables en ella indicadas, hay otras que influirán en la decisión final, tales como:

- Iluminación ambiental existente y la presencia o no de superficies reflectantes.
- La posición del operario y distancia al punto de soldadura durante el trabajo.
- Las características de visión del soldador, pues es sabido, que/ no todas las personas tienen la misma sensibilidad a un determinado nivel de iluminación.

TABLA Nº 3

SERVICIO SOCIAL DE HIGIENE Y SEGURIDAD DEL TRABAJO

CENTRO NACIONAL DE HOMOLOGACION
OCULARES CONTRA RADIACIONES DE SOLDADURA.
GRADO DE PROTECCION RECOMENDADO (N)

SOLDEO Y ACANALADO CON ARCO ELECTRICO							CORTE TERMICO AL PLASMA							
I Amp.	100	200	300	400	500	600	I Amp.	≤ 150	150 - 250	250-400				
							N	11	12	13				
	9	10	11	12	13	14	SOLDADURA AL MICROPLASMA							
		10	11	12	13	14	I Amp.	0.5-1	1-2.5	2.5-5	5-9	9-15	15-30	
		10	11	12	13	14	15	N	5	6	7	8	9	10
	9	10	11	12	13	14	SOLDEO A LA LLAMA							
		10	11	12	13	14	15	I/h ACETILENO						
		10	11	12	13	14	15		≤ 70	70a 200	200a 800	> 800		
								Resacas	4	5	6	7		
								con Fluj	4a	5a	6a	7a		
								OXICORTE MANUAL						
								I/h de O.	Ø en mm.	N				
								900 a 2000	10/10	5				
								2000 a 4000	15/10	6				
								4000 a 8000	20/10	7				

CAPITULO II

LA FOTOFTALMIA.

I.- Alteraciones corneales.

A.- Antecedentes históricos.

B.- Lesiones abióticas.

C.- Antecedentes experimentales.

D.- Espectro de acción en las alteraciones corneales por la radiación ultravioleta.

E.- Mecanismo del daño corneal inducido por U.V.

F.- Efectos histológicos de la radiación ultravioleta sobre la córnea.

G.- Acción de los ultravioletas sobre el DNA.

H.- Homeostasis de los tejidos mamíferos adultos.

I.- Cuadro clínico. Profilaxis y tratamiento.

II.- Alteraciones del cristalino.

A.- Introducción y anatomía.

B.- Acción de la radiación ultravioleta sobre el cristalino.

C.- Efectos de los ultravioletas de larga longitud de onda sobre el cristalino.

D.- Mecanismos bioquímicos de las lesiones cristaliniánas inducidas por ultravioletas.

III.- Alteraciones del segmento posterior.

- A.- Acción de la radiación ultravioleta sobre el segmento posterior.
- B.- Acción de la radiación infrarroja sobre el segmento posterior.
- C.- Umbrales de energía para las lesiones termicas sobre la -
retina.

I.- ALTERACIONES CORNEALES.

A.- Antecedentes históricos.

La reacción inflamatoria que ocurre en el polo anterior ocular, -- tras la exposición con luz ultravioleta, fué llamada "Fotoftalmia" por PARSONS, en 1.910, esta afección ha sido conocida desde la antigüedad, Jenofonte en su Anabasis, la menciona como "enrojecimiento o dolor de la nieve".

SAINT- IVES, en 1.722 (60), la observó en las personas que habían permanecido en la nieve y 1.838, du VILLARS (74), también tuvo ocasión de observarlo en un campamento militar.

El primer antecedente en la literatura científica, parece deberse/ a FOULCALT, 1.849, y desde el punto de vista médico parece deberse a CHARCOT en 1.858, la primera descripción adecuada, al detallar - la experiencia de dos químicos que después de realizar unos experimentos sobre la fusión y vitrificación de ciertas sustancias por - medio de una batería eléctrica, sintieron en sus ojos una severa - irritación que a lo largo de la tarde y durante la noche les impidió dormir.

Tras la introducción general del arco eléctrico luminoso en 1.879, la aparición de síntomas típicos comenzaron a ser fácilmente reconocidos y hoy día se encuentra como un accidente relativamente frecuente entre los que trabajan con radiaciones ultravioletas, tanto

en la clínica como en la industria, o en aquellos que han sufrido/ una exposición a un corto circuito de corriente eléctrica de alta/ tensión a cualquier otra fuente rica en luz ultravioleta.

Los primeros investigadores, daban mucha importancia a los disturbios funcionales visuales que sufrían los individuos que habían estado expuestos a la luz ultravioleta atribuyendo el problema inflamatorio a reflejos o influencias simpáticas desde la retina (TERRIER, 1.888, G. MARTIN, 1.912) (43), pero en la clásica investigación experimental de WIDMARCK, en 1.888 estableció la patogenia, - tal como nosotros la conocemos, correlacionando la experiencia y - los problemas industriales con los datos encontrados bajo las condiciones naturales como "irritación ocular" demostrando que la causa común era las radiaciones ultravioletas.

Puede asegurarse que las radiaciones con longitud de onda de 314 - milimicras (VOGT, 1.925) ó 305 milimicras (VERHOEF y BELL, 1.916) - (73) a 250 milimicras, son capaces de desarrollar una reacción de fotoftalmia, sin embargo el grado de intensidad requerido varía - considerablemente, dependiendo de la longitud de onda (FISCHER, YERMEULEN y EYMERS, 1.935)(22).

Tomando como signo de reacción mínima la aparición granular del - epitelio corneal y la positividad de la tinción con fluoresceína, - COGAN y KINSEY en 1.946, encontraron que la banda más efectiva es-

taba alrededor de 288 milimicras.

Es particularmente interesante, que este valor del espectro de radiación ultravioleta, difiera de la curva de absorción por el epitelio corneal, en el cual, el pico máximo de absorción corresponde a la nucleoproteína 265 milimicras, COGAN y KINSEY, 1.946.

Pudiera pensarse que la reacción abiótica que ocurre en la córnea/ no es debida a la absorción por nucleoproteína sino debido a la absorción selectiva por proteínas citoplasmáticas, del tipo de la albúmina o de la globulina.

El grado de energía necesario para excitar la reacción fotoftálmica en el conejo, cuando el ojo es irradiado con todo el espectro de luz ultravioleta, es del orden de 2.000 erg.-seg./cm² (VERHOEFF y/ BELL, 1.916; DUKE-ELDER, 1.926) la intensidad en el pico de sensibilidad, 288 milimicras, es alrededor de 150 erg.seg./cm².

Hay que señalar, para el caso datos obtenidos experimentalmente, - que el ojo del conejo es menos sensible que el ojo humano, así como que los sujetos morenos son menos afectados que los rubios.

<u>FECHA</u>	<u>AUTOR</u>	<u>COMENTARIOS</u>
	Jenofonte	La oftalmia de las nieves, es mencionada por primera vez.
1.722	YVES	La "Oftalmia de las nieves", es <u>investigada</u> en la gente que había <u>estado</u> en la nieve.
1.838	VILLAVERDE	Se investiga la "oftalmia de las - nieves" en las personas que habían permanecido en el campo militar de Mont Cenis.
1.894	FOCAOULT	La "Oftalmia solar", es mencionada en la literatura científica, <u>probablemente</u> por primera vez.
1.858	CHARCOT	La oftalmia de las nieves es <u>considerada</u> en la literatura médica.
1.871	GARDNER	La oftalmia de las nieves es <u>descrita</u> en los norteamericanos que - viven en zonas donde nieva mucho - durante una parte del año.
1.878	REICH	Describe casos de <u>fotoftalmia</u> encontradas en el Cáucaso.
1.881	ROSSI	Se describe que los osos polares - son víctimas de la <u>fotoftalmia</u> solar.
1.881	NODIER	Describe la <u>fotoftalmia</u> industrial.

- | | | |
|-------|-------------------|--|
| 1.882 | ROCKLIFE | Describe la fotoftalmia industrial |
| 1.883 | LITTLE | Se consigue reproducir experimentalmente en el laboratorio fotoftalmía. |
| 1.887 | PHILLIPS | La fotoftalmia es producida de forma experimental en el laboratorio. |
| 1.877 | DEFONTAINE | Se describe la fotoftalmia industrial. |
| 1.888 | BERLIN | La Fotoftalmia es descrita en los individuos que viven en Escandinavia. |
| 1.888 | TERRIER
MARTIN | La fotoftalmia es considerada como un problema inflamatorio debido a reflejas o influencias simpáticas/ desde la retina. |
| 1.889 | WINDMARK | Se establece la patogenia de la fotoftalmia, la causa originaria son las radiaciones ultravioleta. |
| 1.893 | ENVAL | Algunos casos de fotoftalmia son descritos en los habitantes de Escandinavia. |
| 1.904 | KLIKOW | La forma crónica de la fotoftalmia se describe como "queratitis solar exfoliativa". |
| 1.908 | GUENIN | Algunos casos de fotoftalmia son - |

- | | | |
|--------|------------------|---|
| 1.908 | GUENIN | descritos en Europa. |
| 1.908 | BIRCH-HIRSCHFELD | La fotoftalmia industrial es descrita en relación con los trabajos de fotografía y cinematografía. |
| 1.09 | BIRCH-HIRSCHFELD | Se produce fotoftalmia experimental en conejos mediante la exposición/ durante 180 días de sus ojos a una lámpara de vapor de mercurio. |
| 1.910. | PARSON | Introduce la literatura científica el término de "Fotoftalmia". |
| 1.912 | SHORNEY | Se encuentra casos de fotoftalmia/ en Australia. |
| 1.916 | VERHOEFF y BELL | Encuentran que las radiaciones con longitudes de onda de 250 a 305 nm son capaces de desencadenar la reacción fotoftálmica. |
| 1.917 | DALAND | Se encuentran casos de fotoftalmia en esquimales de Alaska, Siberia, y Región Artica. |
| 1.925 | VOGT | El espectro de acción de la radiación ultravioleta esta entre 250--314 nm. |
| 1.926 | DUKE-ELDER | Cifra el umbral de sensibilidad en 150.000 erg. cm ² . |
| 1.930 | CORTESE | Observa que repetidas exposiciones provocan intolerancia. |

- | | | |
|-------|-------------------------|---|
| 1.932 | MIESCHER y
WIESLI | Igual que autor anterior. |
| 1.936 | FISCHER et al. | El umbral de intensidad de energía requerida varía considerablemente/ dependiendo de la longitud de onda. |
| 1.943 | KINSEY et al. | La fotoftalmía industrial es descri <u>ta</u> . |
| 1.943 | RIEKE | Se describe la fotoftalmía industrial por soldadura con oxi-acetileno. |
| 1.945 | ROOKS | Describe la fotoftalmía industrial por lámparas antigérm <u>enes</u> . |
| 1.950 | BONNET y BARNT
BARNT | Fotoftalmía debida a lámparas anti <u>ultravioleta</u> esta entre 250-314 nm. |
| 1.951 | DOWNING et al. | Fotoftalmía por lámparas antigérm <u>enes</u> . |
| 1.951 | SYKOROSKI | El arco de soldadura como origen - de la fotoftalmía. |
| 1.956 | COGAN y KINSEY | La banda más efectiva está alrede <u>edor</u> de 288 nm. |
| 1.961 | SANCHEZ PEÑA | Algunos casos de fotoftalmía son - descritos en individuos que viven/ en los Andes. |

B.- LESIONES ABIOTICAS.

taurar progresivamente.

La reacción celular a la radiación ultravioleta, ha podido ser convenientemente estudiada en organismos unicelulares, del tipo del/paramecio por BOVIE y HUGHES en el año 1.918, así como GIESE en el año 1.945. En cultivos de tejidos por MAYER y SCHEREIBER en el año 1.934, así como SPERTI, LOOFBOUROW y LANE, en el año 1.937. En tejid_os embiológicos por SCHECHTMANN en el año 1.944, CARLSON y HOLLANDER en el año 1.944. En tejidos adultos de superficie como la piel, la córnea por DUKE-ELDER en el año 1.929, BUSCHKE, FRIEDENWALD y MOSES, en el año 1.945, FRIEDENWALD, BUSCHKE, CROMWELL y HOLLANDER en el año 1.948, así como otros autores.

Cuatro tipos de reacciones características han sido descritas en - las lesiones producidas por radiación ultravioleta:

1.- Inhibición de la mitosis, es el cambio temprano que se encuentra constantemente, y puede observarse después de pequeñas dosis de radiación. Existen evidencias que apoyan la hipótesis de que la - inhibición se afecte preferentemente a la profase temprana (CARLSON y HOLLANDER 1.944).

2.- Fragmentación nuclear, ocurre cuando se administran altas dosis y probablemente representa anómalos esfuerzos durante la mitosis, - que le llevaron a la destrucción celular. El proceso puede dividirse esquemáticamente en cuatro fases. Inicialmente, el núcleo apare

ce hinchado ; luego aparece cromatolisis, el retículo cromático - comienza a agregarse en zonas más densas dispersadas por el núcleo hasta llegar a adherirse a la membrana nuclear (picnosis). Después de la membrana nuclear se rompe y el material cromático se dispersa por el citoplasma (kariorrhexis). Finalmente el cuerpo celular se hincha, muere y es descamado.

Este proceso de fragmentación nuclear está asociado a un aumento - de nitrógeno no proteico. Al igual que en otras reacciones fotoquímica, tiene un coeficiente de baja temperatura. El proceso puede - ser inhibido mediante frío y anaerobiosis, sugiriendo estos hechos/ que la reacción no depende de la acción directa de la luz, pero resulta de la interferencia con procesos oxidativos.

3.- Una reacción eosinofílica, ocurre, tanto en el núcleo como en/ el citoplasma, las proteínas desnaturalizadas tienen una mayor capacidad para unirse al DNA nuclear dispersos por el citoplasma. Estos cambios son particularmente evidentes en el cuerpo celular, - donde pueden observarse gránulos eosinófilos, semejantes a cuerpos citoplasmáticos de inclusión, frecuentemente asociados con vacuolas.

4.- Pérdida de la capa epitelial, debido a la pérdida de cohesión, con la capa inferior, esto ocurre con todo el epitelio, que acaba por desprenderse y caer, este proceso se distingue de la exfoliación, ya que en este último se produce una muerte celular, como consecuencia de la fragmentación nuclear. Este proceso puede ocurrir/

independientemente, si bien es generalmente tardío. Tiene un coeficiente de temperatura diferente, aparece dependiendo de la actividad oxidativa, ya que éste fenómeno, no ocurre en anaerobiosis.

Después de una exposición no muy intensa, los cambios abióticos pueden detenerse en cualquier estado y las células volver a la normalidad, en apariencia, y estacionar la reacción. En el proceso de resolución encontramos dos hechos característicos:

- La rapidez de recubrimiento de las células traumatizadas y la proliferación de células nuevas para reemplazar las células muertas y exfoliadas.
- La escasez de mitosis en el proceso de reparación.

La causa de esta inusual actividad es desconocida, pero se puede observar en la aceleración por radiación del epitelio que ha sanado después del trauma (HOFFMAN, 1.925).

El fenómeno de emigración celular para cubrir los pequeños defectos epiteliales, no parecen alterarse en su intensidad, en relación con el tiempo (BUSCHKE, FRIEDENWALD y MOSES, 1.945).

Es interesante que la inhibición de la mitosis sea un efecto semejante en el caso de las radiaciones ionizantes, al igual que celu-

lar y el aumento de nitrógeno no proteico, se encuentra también en los traumas causados por agentes químicos, como la mostaza nitrogenada (FRIEDENWALD, 1.948).

Como reacción depende directamente del grado de absorción de energía deberá ser necesario un umbral crítico, mínimo de radiación y de intensidad, para que se produzca la excitación.

Una cierta cantidad de actividad abiótica, puede ser evidenciada con radiaciones cuyas longitudes de onda oscilarían entre las 365-350/milimicras (COBLENTZ y FULTON, 1.924) (NEWCOMER, 1.917), si las condiciones son favorables y la exposición fué lo suficientemente intensa, si bien, la evidencia es mucho mayor si se trabaja con longi--tudes de onda de 305 milimicras (HERTEL, 1.903, HENRY, 1.912), pero/ se encontró que, para propósitos prácticos, sólo las radiaciones - con longitudes de onda superiores a 300 milimicras, pueden ser consideradas con actividad abiótica y además tienen que ser utiliza--das con una intensidad de alrededor de 2.000 erg. seg/cm². (VERHOEFF y BELL, 1.916, DUKE-ELDER, 1.926).

En general, la mayoría de las bandas de radiación ultravioleta con actividad abiótica, corresponden a la máxima absorción por nucleo/ proteínas (265 milimicras) o albúmina y globulinas (280 milimicras).

En la práctica, el grado de radiación con el cual se produce excitación, varía directamente con el tiempo de exposición, varía inversa

mente al cuadrado de la distancia desde la fuente de radiación, así como directamente al coseno del ángulo de incidencia. Además, el efecto de exposiciones repetidas con períodos intermedios, en general, es muy similar a su equivalente en una única exposición prolongada, sobre todo si tenemos en cuenta que los intervalos no deben de exceder las 24 horas, por encima de este tiempo los factores reparativos fisiológicos comienza a actuar.

C.- ANTECEDENTES EXPERIMENTALES.

Los estudios experimentales de la acción de la luz ultravioleta, sobre la córnea y la conjuntiva, han sido objeto de investigación por parte de numerosos autores, estableciendo los cambios histológicos/ que ocurren tras la exposición del globo ocular a una fuente de luz ultravioleta. La mayoría de estos estudios han sido realizados en conejos.

Tras la exposición, existe un período de latencia, durante el cual ningún signo puede ponerse de manifiesto, ni clínica, ni histológicamente; el primer signo evidenciable es desde el punto de vista clínico, la apariencia granular de la córnea, vista con lámpara de hendidura, los gránulos son redondos y pequeños, tamaño semejante/ a una célula epitelial, al principio escasos en número, presentando una distribución central, pero llegando a formar un mosaico homogéneo. Esta misma apariencia puede observarse mediante el lavado continuo de la superficie corneal con agua, de modo que, se ha interpretado que estos gránulos representan células epiteliales hinchadas.

Si los ojos han estado sometidos a grandes exposiciones, podemos observar áreas de tinción fluoresceína e irregularidades corneales, / en algunos casos con formación de vesículas, acompañando de hiperemia conjuntival y la presencia de algún exudado.

En estas circunstancias, como cabía esperar, la córnea muestra un/

aumento de la permeabilidad a las drogas (SCUDERT, 1.950).

En el caso de grandes exposiciones, podemos observar, también, como el epitelio corneal central sufre un proceso de exfoliación casi - completa, observándose a la lámpara de hendidura, una córnea que/ tiñe de una forma difusa con fluoresceína. Desde el punto de vista anatomo-patológico, cabe señalar, aparte de lo ya dicho, que en los alrededores de este área hay una zona en la cual el número de célu las en mitosis, observadas al microscópio, esta disminuída (DUKE-- ELDER, 1.929).

Aún con mayores exposiciones, podemos observar la aparición de un/ haz intersticial central o incluso una marcada opacidad central y/ algunas zonas pequeñas igualmente afectadas marginales.

Un enturbamiento difuso, generalizado, ocurre tan sólo en los casos en que el ojo ha sido expuesto a una radiación de tal intensidad, - que penetrando en todo su espesor la córnea, llega a producir una/ reacción en el endotelio (COGAN y KINSEY, 1.946).

En lo que se refiere a los datos y signos observables en la conjun tiva, debemos mencionar que ésta puede aparecer marcadamente infla mada, con un grado considerable de edema asociado con exudados - mucopurulentos y en algunos casos es posible observar equimosis.

Tras los estudios realizados, se ha llegado a la conclusión que las alteraciones anatomopatológicas llegan a su cénit en un plazo de - cuarenta y ocho horas, a partir del cual y de una forma gradual estos cambios desaparecen.

La tasa de crecimiento vá a incidir sobre la tasa de recubrimiento del epitelio corneal dañado, pero esta tasa de recubrimiento vá a variar directamente, dependiendo de la intensidad de la radiación.

Se ha dado el límite de cinco días, en el caso de exposiciones, no demasiado severas, para que el epitelio se encuentre reformado y - en un examen clínico podamos evidenciar alteraciones patológicas - de la córnea.

En los casos en que se ha formado una densa opacidad corneal, ésta puede llegar a vascularizarse en un plazo de seis a ocho días, pero posteriormente tiende a aclararse de un modo sorprendente en un plazo de cuatro a seis semanas, dejando un haz intersticial traslúcido.

Con dosis desmesuradamente intensas, pueden observarse alteraciones corneales mucho más dramáticas del tipo de necrosis córneal, profundas ulceraciones con destrucción de la capa endotelial y gran edema del estroma que llega a tener tres o cuatro veces su grosor normal.

El cuadro final en estos casos, en animales de experimentación (conejo) puede ser el de una ulceración profunda, una perforación o la formación de un estafiloma.

En el iris, también se han descrito algunas alteraciones, del tipo de congestión vascular, en algunos casos la aparición de pequeñas hemorragias intersticiales, dependiendo del grado de reacción, asociado con miosis y a menudo, presencia de una exudación fibrinosa en la cámara anterior.

Los exámenes histológicos practicados, demuestran un cuadro típico con determinadas dosis de radiación ultravioleta, la reacción celular es muy evidente en el epitelio corneal:

- Inhibición de las mitosis.
- Cambios eosinófilos, en primer lugar en el núcleo y posteriormente en el citoplasma.
- Fragmentación nuclear.
- Formación de vacuolas en el interior de las células.

Estos cambios, van a producirse, preferentemente, en las capas superficiales del epitelio, que posteriormente se irá descamando desde la Bowman así como la formación de vesículas extracelulares de contenido líquido.

En la mayoría de las lesiones abióticas, totalmente desarrolladas/

el grado de alteraciones patológicas vá disminuyendo en severidad, comenzando el fenómeno reparativo desde la periferia de la córnea.

En la zona central de la córnea, cuarenta y ocho horas después de una exposición moderada, la superficie epitelial puede estar completamente ausente; en zonas cercanas, sólo algunas capas epiteliales están exfoliadas, dejando la capa de células basales intacta; en la periferia, el epitelio es normal y las capas más cercanas al área afectada, pueden presentarse edematizadas y mostrar una menor tinción con la eosina, algunas células muestran fragmentación nuclear y los cambios citoplasmáticos típicos de la muerte celular.

También podemos encontrar un infiltrado masivo de poliomorfonucleares y eosinófilos.

Tanto la membrana de Descemet como el endotelio corneal permanecen normales, aunque las dosis puedan haber sido bastantes intensas.

Los estudios anatómopatológicos practicados a los diez o quince días, después de exposiciones con dosis controladas, no mostraban alteraciones que se hayan podido evidenciar.

En el epitelio conjuntival, podemos encontrar una descamación similar a la observada en las células del epitelio corneal, así como, algunas áreas en las que encontraremos células basales degeneradas

Pequeñas hemorragias, infiltración de polimorfonucleares y células/plasmáticas, también pueden observarse en el desarrollo de este - procesos.

En el tejido conectivo sub-epitelial, podemos encontrar degeneración hialina.

Si analizamos la secreción, durante la fase aguda, podemos detectar la presencia de células eosinófilas.

La forma crónica de la fotoftalmia ha sido investigada experimentalmente por BIRCH-HIRSCHFELD, en el año 1.909, mediante la exposición de ojos de conejo, durante 10 minutos, diariamente, a lo largo de 180 días, usando como fuente de radiación ultravioleta una lámpara de vapor de mercurio.

En la forma crónica de la fotoftalmia, después de que los síntomas usuales de la fase aguda había pasado, el cuadro se desarrolla, finalmente, fué una conjuntivitis crónica, no muy severa, de tipo folicular, que se desarrolló en la conjuntiva que había sido expuesta durante la experiencia; el cuadro observado era muy semejante al que se desarrolla en el curso de un catarro invernal.

D.- ESPECTRO DE ACCION EN LAS ALTERACIONES CORNEALES
POR RADIACION ULTRAVIOLETA.

Algunos autores, buscando definir la acción ocular del espectro ultravioleta, han usado distintas fuentes de radiación monocromática en animales de experimentación.

Distintos criterios, han sido establecidos para medir las lesiones oculares y llegar a establecer de este modo el umbral límite.

En general, las lesiones corneales van a ser el resultado final para la mayoría de las longitudes de onda estudiadas, menores de 320 nm.

Usando córnea de conejos, COGAN y KENSEY, 1.946, aportaron datos - cuantitativos, acerca de la exposición umbral, para la región espectral de longitudes de onda menores de 320 nm. Usando la apariencia granular de la capa epitelial de la córnea, observada con examen - biomicroscópico, fueron incapaces de producir efectos corneales, - utilizando radiaciones con una longitud de onda superior a los 313 nm. El umbral de exposición para una radiación, capaz de lesionar/ la córnea del conejo, era de 15 mJ/cm², con el máximo de sensibilidad localizado en los 288 nm.

SHERASHOV, 1.970, investigando igualmente sobre la acción espectral, utilizó un haz de luz sobre la córnea y observó el máximo de sensibilidad a los 289 nm y 253,7 nm, así como que las longitudes de onda encima de los 300 nm no causaban efectos observables a las dosis usadas.

SHERASHOV, 1.970, COGAN y KINSEY, 1.947, usando lámparas de mercurio y monocromadores de cuarzo, ya que las lámparas de mercurio suministraban una fuerte emisión lineal, en intervalos irregulares del espectro ultravioleta. Exposiciones de los mismo intervalos de longitudes de onda, a través del espectro ultravioleta, no pueden ser conseguidos en la práctica. Por tanto, puede no adecuarse, como para proveer de unas resoluciones suficientes de la acción espectral.

En 1.969, PITTS y KAY, también establecieron la acción del espectro sobre la córnea, utilizando para ello un arco eléctrico, con gas - argón y monocromadores rayados; lo que le permitía producir bandas con un intervalo de 10 nm. Un total de 232 ojos de conejo, fueron/ expuestos a intervalos espectrales de 10 nm., desde los 200 a los/ 350 nm., la presencia de una haz granular epitelial sobre la córnea y la fotofobia, fueron los criterios usados para establecer el umbral de respuesta corneal, con observación, mediante biomicroscopia.

En la figura nº 6, se comparan los datos de PITTS y KAY con los de COGAN Y KINSEY. El espectro de acción ultravioleta sobre la córnea de conejo, para la producción de fotoqueratitis, tiene un rango - que vá desde los 210 nm., hasta los 310 nm., la longitud de la onda más efectiva para la producción de fotoqueratitis, es la de 270 nm., necesitándose una dosis de exposición de 5.0 mJ/cm².

Usando la misma instrumentación, por tanto, PITTS, 1.970, como PITTS

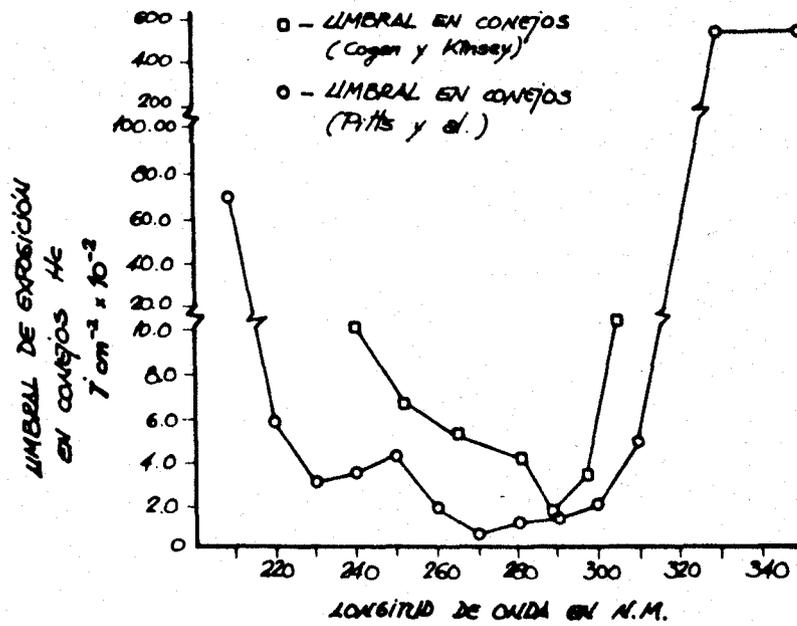


FIGURA Nº 6. COMPARACION DEL ESPECTRO DE ACCION DE LOS ULTRAVIOLETAS SOBRE EL CONEJO SEGUN PITTS Y KAY, CON COGAN y KINSEY.

y TREDICI, 1.971, estudiaron el espectro de acción ultravioleta, en 83 ojos de monos Rhesus, y compararon los datos obtenidos con los del conejo. Figura nº 7. Cuatro criterios fueron usados para establecer el umbral:

- Detritus epitelial.
- Haz epitelial.
- Granulado epitelial.
- Fotofobia.

El espectro de acción abiótico para la córnea del primate, abarca/ las longitudes de onda comprendidas entre los 210 nm. y los 320 nm. con unas dosis umbral mínima de 4 mJ/cm² a 270 nm. Exposiciones de longitudes de onda mayores que 250 nm, resultan generalmente poco/ lesivas sobre las células superficiales de la córnea. Los detritus superficiales aumentan marcadamente con longitudes de onda inferiores, en la región comprendida entre los 210 nm y los 250 nm.

La muerte de células epiteliales en la superficie corneal es muy - numerosa, al tiempo que resulta difícil observar el granulado profundo del epitelio.

PITTS, 1.974, encontró que el espectro de acción para la córnea humana, juzgando con los mismos cuatro criterios, y sumándole la sin tomatología subjetiva de agudeza visual, y dispersión corneal de - la luz, tenía un rango entre los 220 nm. y los 310 nm. La curva de

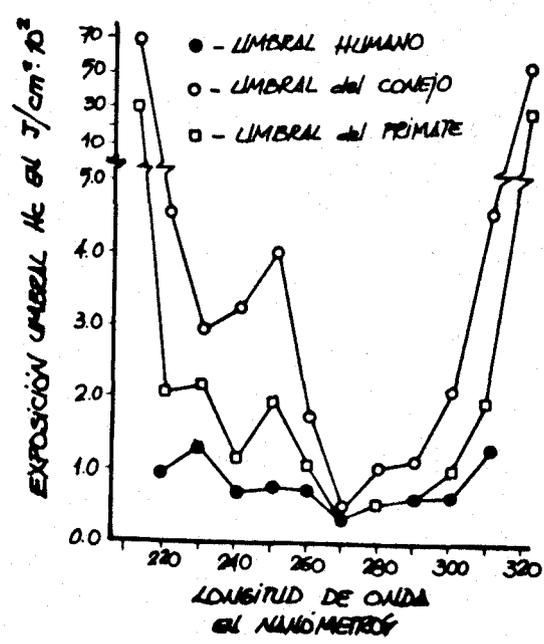


FIGURA Nº 7.- COMPARACION DE LOS UMBRALES DE EXPOSICION RADIANTE PARA LA CORNEA DE HUMANOS, PRIMATE Y CONEJO.

umbral humano no es materialmente distinta de la del primate, para las longitudes de onda de 260 nm, mayores. Sin embargo, para longitudes de onda de 250 nm y menores, la curva de umbrales para el ojo humano, muestra valores menores para la exposición radiante, que las del primate o conejo. Los datos de umbral humano muestran una curva con un mínimo de 270 nm., para una intensidad de 4 mJ/cm². Exposiciones de longitudes de onda mayores que 310 nm. no se administrarán a humanos, debido a la posibilidad técnica de desarrollar futuras anomalías lenticulares, causadas por exposiciones experimentales.

Al igual que en la córnea del primate, la reacción de la córnea humana a longitudes de onda de 250 nm y menores, son cualitativamente diferentes a las que se producen con longitudes de onda superiores. Los signos clínicos valorables por biomicroscopia y los síntomas subjetivos ocurren mucho más pronto tras la exposición a longitudes de onda de 250 nm. e inferiores. La agudeza visual disminuye rápidamente y vuelve a la normalidad tras seis horas; y los síntomas subjetivos siempre desaparecen entre las cuatro y seis horas. Para exposiciones con longitudes de onda mayores de 250 nm., los signos y síntomas clínicos fueron observados más tardíamente; la reducción de la agudeza visual causadas por longitudes de onda mayores de 250 nm., no se encontraba antes de las cuatro a diez horas, tras la exposición permanecían alteradas hasta las 24 horas. La dispersión de luz corneal, fué investigada en humanos, por un método

todo objetivo, para determinar los efectos de los ultravioletas so
bre el ojo. Los datos de dispersión luminosa, no fueron material--
mente distintos de los umbrales establecidos biomicroscópicamente.

E.- MECANISMO DEL DAÑO CORNEAL INDUCIDO POR ULTRAVIOLETAS.

Los mecanismos fotoquímicos y bioquímicos que subyacen en la respuesta de la córnea a longitudes de onda menores de 300 nm. son aún,-- una cuestión de debate.

COGAN y KINSEY, 1.946, concluyen que el espectro de acción para la córnea del conejo corresponde muy estrechamente con la curva de absorción de albúmina y globulinas, más que con la de las nucleoproteínas; de todos modos, el espectro de acción ocular presentan un/pico de 289 nm., menor que el 270 nm, como máximo de sensibilidad/observada.

PITTS, 1.970, publicó que la absorción de ultravioletas por extractos corneales de proteínas libres, era debido a los nucleopéptidos y que el pico de máxima absorción fué encontrado a 220 nm, y a 260 nm, Es una hipótesis razonable, que la absorción de ultravioletas/por las nucleoproteínas esté comprometida en la producción de las/afecciones corneales observadas.

HAMERSKI y ZAJACZKOWSKA, 1.969, usando técnicas electroforéticas para investigar los cambios en las proteínas del epitelio corneal, - que tiene lugar durante las seis a ocho horas de periodo de latencia asintomático, observó una reducción en las beta-globulinas con un aumento simultáneo de las gammaglobulinas; cambios en el patrón proteico comienzan a las cuatro horas tras la exposición, apreciandose un pico en su intensidad a las ocho horas, comienza a regre--

sar a las doce horas tras la exposición. En todo momento, los cambios en el patrón electroforético preceden a la fotoqueratitis.

En posteriores investigaciones HAMERSKI, 1.969, dijo que la instilación de una solución de cisteína dentro del ojo, antes de una exposición, prolongarían el período asintomático y reduciría la severidad de los síntomas, así como, que una solución de glicerol prevenía los signos de fotoftalmía.

Los cambios histoquímicos que se producían durante el período de seis horas asintomático, eran fundamentalmente en los grupos SH- y uniones S. Menos extensos fueron los cambios encontrados en las fosfatasas alcalinas y ácidas. ATPasa y 5-nucleotidasa.

TAPASZTO y VASS, 1.969, estudiaron los mucopolisacáridos y de la lágrima y epitelio corneal de conejos albinos, tras la exposición a la radiación UV-C. Las córneas de conejo recibieron 1 J/cm² de exposición radiante procedentes de una lámpara de mercurio de baja presión. Encontraron 3 proteínas, 2 mucopolisacáridos neutros, 3 mucopolisacáridos ácidos y la fracción de lipoproteínas de la capa lagrimal del conejo. Tras la exposición, los tres componentes proteícos disminuyeron a 1 y disminuyó la fracción lipoproteínica. La concentración de los dos mucopolisacáridos neutros disminuyó tras cinco minutos de exposición; mostrando un aumento de la exposición era superior. Los primeros cambios en el epitelio corneal ocurren/

más primariamente a las tres horas tras la irradiación, pero los cambios más significativos se encontraron entre las 8 y las 16 horas tras la exposición. Mientras la fracción lipídica aumenta, los mucopolisacáridos permanecen constantes. TAPASZTO y VASS emitieron la hipótesis de que la fotqueratitis por ultravioletas podría ser anulada si las alteraciones químicas de la capa lagrimal pudieran ser prevenidas.

F.- EFECTOS HISTOLOGICOS DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA SOBRE
LA CORNEA.

La radiación ultravioleta es invisible para los humanos. Numerosos casos de queratitis, e incluso de cataratas, han sido descritos como resultado de la exposición a este tipo de radiación, procedente de arcos de soldadura, lámparas de mercurio o por reflexión de la radiación solar por la nieve, arena del desierto o el agua. Todas/ estas fuentes, contienen ultravioletas, con longitud de onda próxima a los 310 nm.

Las cataratas han sido demostradas como resultado de la irradiación con ultravioletas de animales de experimentación. Las cataratas por ultravioletas en ojos humanos no han sido aún demostradas por observaciones científicas controladas.

VERHOEFF et al., 1.916, BUCHANAN et al., 1.960 , CRISTNER, et al., 1.965 han aportado extensas revisiones de la literatura, acerca de los - efectos de la radiación ultravioleta con longitudes de onda comprendidas en el rango desde los 200 nm. a los 300 nm, aproximadamente.

VERHOEFF et al., 1.916, estudiando ojos de conejos, formularon alguno de los postulados básicos relativos al daño ocular causado por este tipo de radiación. Las dosis de radiación que fueron menores/ que el umbral para cualquier defecto observable, fueron repetidas/ a intérvalos, desde pocos minutos a 1 hora., los efectos abióticos de cada exposición fueron aditivos dentro de las 24 horas, la exposición acumulativa total era la responsable del efecto.

Una exposición equivalente a $1/6$ de la dosis umbral, repetida cada 24 horas, no era capaz de producir fotoftalmia, pero una exposición de la $1/2$ de la dosis umbral, repetida en un plazo de 14 horas producía el mismo efecto que una única exposición de la dosis umbral.

DUKE-ELDER, en el año 1.929, expuso córneas de conejo a una lámpara de cuarzo con mercurio a media presión, no usando filtros y tomando como control un ojo no expuesto; esta fuente contenía ultravioletas A, B y C, así como radiación visible. Los conejos fueron sacrificados y los ojos enucleados para su estudio histológico a distintos períodos de tiempo, desde las 2 horas a los diez días tras la exposición. La secuencia de los cambios histológicos observados en la córnea se pueden sintetizar:

1. A las cuatro horas, tras la exposición, el efecto consiste, fundamentalmente, en hinchazón de algunas células del epitelio basal/ o superficial. Tanto el endotelio como el estroma permanecen normales.
- 2.- A las seis horas tras la exposición, un amplio número de células epiteliales tienen su núcleo teñido por el rojo de eosina, y las células basales están ampliamente espaciadas, lo que indica un edema de las células más superficiales de la capa epitelial escamosa/estratificada, que presenta una alineación irregular.

3.- Estos cambios siguen progresando hasta llegar a su máximo a las 12 horas tras la exposición. En algunas células epiteliales, aparece su núcleo lleno de unos gránulos, que generalmente están rodeados de un espacio vacuolado, alternando con otras células que permanecen normales. Subsecuentemente, ocurre una descamación en el área central de la córnea. El núcleo de los queracitos del estroma tiñen débilmente con azul de metileno y comienzan a fragmentarse.

4.- Estos efectos continúan aumentando con severidad a las 15 horas tras la exposición, en este tiempo el hinchazón de laminillas/ de las fibras colágenas del estroma se hace más manifiesto.

5.- A las 24 horas las laminillas del estroma aparecen hinchadas y el endotelio muestra un tinción anormal, similar a la del epitelio, pero sin descamación.

6.- Hay algunos cambios adicionales en el período de tiempo desde las 24 horas a las 36 horas tras la exposición.

7.- El proceso reparativo comienza a las 130 horas tras la exposición, Las células epiteliales comienzan a tomar una adecuada alineación y los cambios progresan lentamente hasta los siete días tras/ la exposición, que es cuando la córnea se presenta normal.

Además estos cambios corneales, DUKE-ELDER, encontró cambios en el humor acuoso, iris, cristalino y retina. El humor acuoso mostraba un marcado aumento de las proteínas y azúcares. El iris se presenta congestivo a las 12-16 horas tras la exposición, mostrando además una cierta alteración del pigmento iridiano; todas estas alteraciones iridianas vuelven a la normalidad en un periodo de 80 horas. El cristalino muestra cambios intercelulares en el área pupilar del epitelio anterior cercano a la cápsula, que comienza tras las 13-16 horas de la exposición, regresando a la normalidad a los diez días. Tanto las fibras del estroma cristalino, como su núcleo se presentan hinchadas, perdiendo su ordenada dirección. El daño retiniano, se encontró restringido a la región del polo posterior, consistiendo estos cambios en una desintegración y blanqueamiento de la cromatina de las células ganglionares; así como un hinchazón de los núcleos de la capa nuclear interna; los conos y los bastones permanecen normales.

Los cambios retinianos más marcados se encuentran entre las ocho y las veinte horas tras la exposición y regresan a la normalidad en un período de tiempo que oscila entre las 50 y 60 horas.

Aunque las reacciones celulares descritas por DUKE ELDER, eran severas, estas parecen reversibles. Resulta difícil comparar estos datos con los de otros investigadores, debido a las distintas fuentes de ultravioletas utilizadas y porque la medida de la radiación no es descrita; por otro lado, su trabajo nos describe el proceso,

tanto destructivo, como reparativo que resulta de la exposición a la radiación de todo el espectro ultravioleta.

BUSCHKE et al., 1.945 observó cambios histológicos y en la actividad mitótica de las células epiteliales corneales tras la exposición/ a la radiación ultravioleta; su investigación se fundamenta en los efectos destructivos de los ultravioletas sobre el núcleo de las - células del epitelio corneal; la pérdida de unión de las células - epiteliales a la membrana de Bowman y el efecto inhibitor de la ra diación ultravioleta sobre los procesos reparativos de las células tras la exposición.

G.- ACCION DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA SOBRE EL ADN

- Consideraciones generales.
- Mutagénesis por ultravioletas.

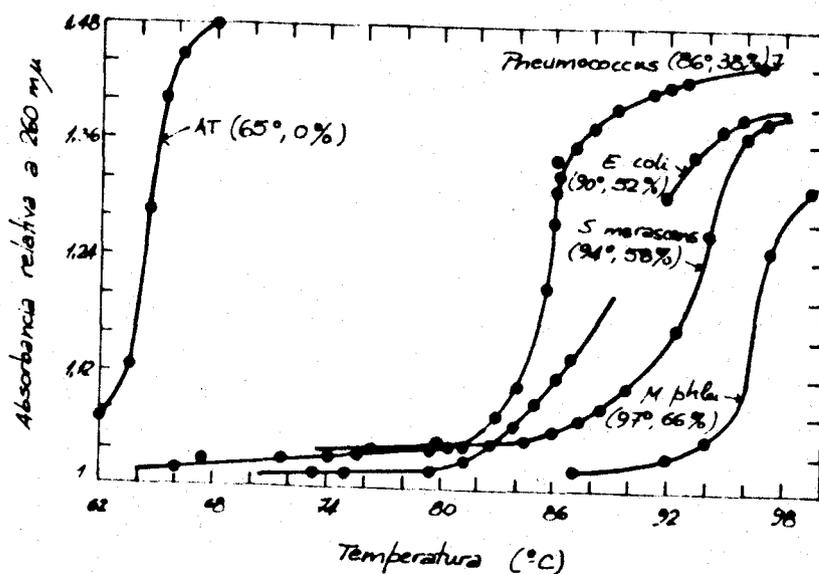
Entre las consecuencias de la absorción de la radiación ultravioleta por una solución de ADN, es la desorganización del doble hélice y la dispersión de las bases de sus pilas, lo cual va a provocar un aumento inmediato en la absorción, de la luz UV, ya que el estrecho apilamiento de las bases en la doble hélice intacta produce una reducción de su absorción intrínseca, por debajo de la manifestada por las bases libres. En la figura nº 8, se muestra el resultado de un experimento en que midió la absorción de UV del DNA de cuatro especies bacterianas diferentes a diversas temperaturas. Como puede verse, cada una de estas especies de DNA muestra un súbito incremento en la absorción a la luz cuando se alcanza, una cierta temperatura, el llamado "punto de fusión". Sin embargo, el punto de fusión es muy diferente para cada especie de DNA, variando desde aproximadamente 86° C a 97° C.

Mediante experimentación, se ha podido comprobar que el punto de fusión aumenta al aumentar el contenido del par (G + C). Esta correspondencia se explica por la estabilidad térmica, relativamente mayor, de los tres puentes de hidrógeno.

Por tanto existe la posibilidad que si un sector de la cadena polinucleótida de una molécula de DNA está dañada, la otra puede servir, no sólo para recuperar la información genética, sino también para reparar el daño.

FIGURA Nº 8

La transición de hélice a ovillo o "fusión" de las moléculas de doble hélice de DNA, sintetizado artificialmente, que contiene una secuencia alternante de bases A.T.L. a ordenada representa la absorción relativa de la luz UV (260 milimicras) de las distintas soluciones de DNA, a las temperaturas indicadas en las abscisas. Los números entre paréntesis, junto a cada curva, indican el "punto de fusión o temperatura a que la parte ascendente de la curva alcanza la mitad del incremento final de absorción ultravioleta y el contenido de G + C de la muestra (Según J. MARMUR, P. DOTY, Nature 183:1.427,1.959).



La existencia de dichos procesos de reparación de DNA, fué observada por vez primera, por los investigadores de los efectos letales/ de la luz UV sobre las bacterias.

Desde 1.877, se sabía que la radiación ultravioleta mataba a las bacterias, y las fantasmales lámparas azules de UV son ahora una instalación frecuente donde quiera que se desea aire o superficies estériles por razones de higiene.

En 1.928, se realizaron una serie de experimentos con bacterias que fueron irradiadas con luz UV monocromáticas, demostraron que los cuanto más letales de UV tienen una longitud de onda de 260 milimicras, que resultaron ser los cuantos más fácilmente absorbidos por las bases púricas y pirimidínicas del ADN.

Este descubrimiento junto con otros, condujo a la deducción que el ADN, más que las proteínas, era el "blanco" real de la luz UV. Cuando aproximadamente, veinte años más tarde se descubrió por fin que el ADN, era el material genético, pudo considerarse fácilmente el/ que una células no sobreviva a la producción de lesiones fotoquímicas en sus polinucleótidos hereditarios.

Los análisis químicos del ADN irradiado con luz UV, revelaron pronto una diversidad de modificaciones de los restos de purina y de pirimidina inducidos por la luz. Pero la lesión fotoquímica que se

se conoce hoy como principal responsable de la muerte por luz UV /
fué descubierta en 1.960, es la dimerización de dos restos de tim
ina adyacentes, pertenecientes a la nucleótidos de la misma cadena/
polinucleótida de DNA.

Este ligamiento de timina adyacentes, que se produce cuando un residuo
absorbe un quantum de luz UV, induce una deformación local de/
la estructura secundaria de la doble hélice de DNA y aborta la función
del gen de cuya secuencia de nucleótidos . las dos timinas forman
parte.

Estudios detallados de los supervivientes, después de su exposición
a la luz UV, demostraron con el tiempo que la probabilidad de que
una dosis de UV, sea letal para cualquier células depende mucho de
las condiciones fisiológicas exactas a las que esta células ha sido
sometida después de su irradiación. Este descubrimiento, a su vez,
condujo a la conclusión de que se pueden reparar algunas de las lesi
ones fotoquímicas del ADN, y que las lesiones letales son aque--
llas que no han sido reparadas. Esta opinión recibió sólido apoyo/
cuando se descubrió que la mutación de varios genes *uvr* de *E. Coli*
(localizados en tres regiones ampliamente separadas del mapa gené-
tico) aumenta mucho la sensibilidad de las células mutantes a la -
luz UV, ya que pudo entonces deducirse que el alelo normal del gen
mutado dirige la formación de un enzima que toma parte en los pro-
cesos de reparación.

La naturaleza de uno de estos procesos de reparación fué descubierta por R. Setlow en 1.964. El cual llegó a la conclusión de que - las bacterias normales de E. Coli poseen un sistema enzimático que puede reparar la mayoría de las lesiones primarias producidas por/ ultravioletas, por escisión de los dímeros de timina perniciosos - de las cadenas polinucleótidas irradiadas y reemplazarlos por nuevos nucleótidos de timina.

La substitución de los nucleótidos escindidos que envuelven el dímero de timina se produce por replicación reparadora. Este proceso - puede ser seguido llevando a cabo el experimento de orden de la replicación del DNA.

El resultado fué que en contraste, con la replicación normal, la - cual se produce en un punto único de replicación, el proceso de replicación reparadora, se produce en muchos puntos separados del genoma.

Todo proceso de reparación por "corte y remiendo" de las lesiones/ de los dímeros de timina, está representado esquemáticamente en la figura nº 9.

Según este esquema, una o más moléculas de enzima recorren constantemente todo el genoma bacteriano circular, vigilando la doble hélice de DNA para detectar anomalías estructurales. Cuando dicho

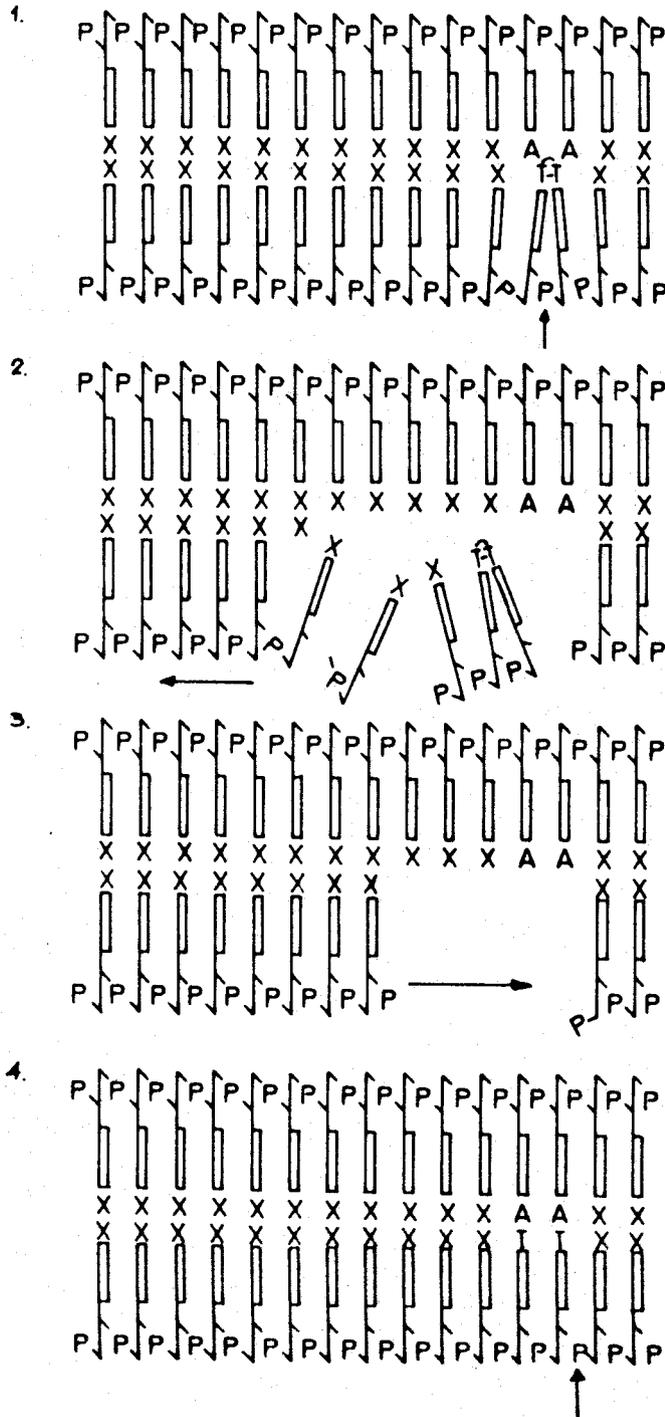
FIGURA Nº 9.

El proceso de reparación por "corte y remiendo" de las lesiones -- producidas por la función de un dímero de timina (propuesto por SETLOW y por HOWARD-FLANDERS, en 1.966).

- 1.- Segmento de una doble cadena DNA, irradiada por UV que contiene un dímero de timina.
- 2.- Un fragmento de cadena sencilla que contiene lesión es escindido por un enzima.
- 3.- Una DNA-polimersada de separación, incorpora nucleótidos complementarios a aquella cadena opuesta intacta, en el hueco producido por la incisión.
- 4.- La reconstrucción del DNA de doble hélice, se termina con la formación del último enlace diésterfosfato, catalizada por el enzima DNA-ligasa.

Las moléculas de DNA, que contienen otras lesiones distintas de los dímeros de timina, inducidos por UV, como las producidas por distintos mutágenos, químicos, también pueden ser reparadas por este mecanismo. (Según P. HOWARD-ELANDERS, R.P. BOYCE, Radiarion Resarch. Suplemento 6,156,1.966).

FIGURA Nº 9



enzima monitor encuentra una deformación de la doble hélice producida por una lesión debida a la formación de un dimerio de timina, efectúa dos cortes de la cadena polinucleótida que escinde el dimerio de timina, efectúa dos cortes de la cadena polinucleótida que escinde el dimerio de timina y unos pocos de sus nucleótidos adyacentes. El hueco resultante, es entonces rellenado por la acción de una DNA polimerasa aislada por KORNBERG. Esta polimerasa añade/ el "parche" de nucleotidos al OH 3' del nucleótido final de antigua cadena polinucleótida y utiliza como molde la cadena de DNA complementaria intacta, que no presentaba una lesión por ultravioleta en el mismo sector. Finalmente, se complementa la reconstrucción de la doble hélice de DNA formando un enlace diésterfosfato entre el OH 3', del último nucleótido que se ha añadido por replicación reparadora y el OH 5' del nucleótido del otro extremo de la antigua cadena polinucleótida, este acto es realizado por la enzima-ligasa.

La función terapéutica de este proceso de reparación del DNA no se limita a la eliminación de las lesiones de los dimeros de timina inducidos por la luz UV, sino que se extiende a la corrección de una amplia diversidad de otras alteraciones potencialmente letales del genoma celular.

Creemos que para finalizar debemos de hacer dos consideraciones:

- Mientras que algunos organismos poseen sistemas de reparación muy

eficaces y por tanto son muy resistentes a la lesión de su DNA, -- otros son ineficaces en la reparación o carecen totalmente de sistema de reparación, y por consiguiente son propensos a morir después del más ligero trauma.

- Incluso aquellos organismos que tienen un sistema de reparación/ eficaz, las condiciones fisiológicas en las que se encuentran cuando se está llevando a cabo la reparación, tales como temperatura - o estado nutricional, ejercen una gran influencia sobre la probabilidad de que el DNA dañado sea realmente restablecido a su condición normal.

MUTAGENESIS POR LUZ ULTRAVIOLETA.

En 1.914, V. Henri, encontró entre los supervivientes de bacterias diadas con UV una gran proporción de lo que parecieron variantes hereditarias, que diferían del tipo normal en aspectos tales como la forma de la colonia, y patogenicidad. Henry, dedujo de esta observación, que la luz UV era mutagénica para las bacterias.

La prueba de esta deducción tuvo que esperar al desarrollo de la genética bacteriana en los años cuarenta, cuando se demostró que entre los 10^{-4} supervivientes de una estirpe Ton^8 de E. Coli, expuesta a una dosis de UV, la proporción de mutantes Ton^r es más de mil veces mayor que el nivel espontáneo de mutación entre bacterias no irradiadas. Pronto la irradiación ultravioleta se convirtió en uno de los mutágenos más comunmente empleados para el aislamiento de mutantes bacterianos.

Una de las personas que más contribuyó a la aclaración del mecanismo de la mutagénesis por UV fué Evelyn Witkin, quién empezó estudiando los efectos genéticos de UV sobre E. Coli en 1.946. Su trabajo demostró que el efecto mutágeno de la mayoría de las lesiones por luz UV sufridas por el DNA bacteriano, es sólo potencial, en el sentido de que la probabilidad de supervivencia celular, está muy influenciada por el tratamiento posterior a la radiación de la bacteria.

Esto le indujo a proponer la existencia de procesos de reparación/

dependiente de las fisiología, mucho antes de que fueran descubiertas sus bases moleculares. Una vez conocido el papel de los dimeros de timina, el de su reparación por "corte y remiendo", y de los mutantes de las células supervivientes, Witkin realizó una serie de experiencias que le llevó a las siguientes deducciones.

El dimero de timina debe ser la lesión primariamente responsable - del hecho mutagénico potencial.

La secuencia de reparación por "corte y remiendo", no puede ser el proceso que convierte el hecho mutagénico potencial en real.

Por tanto, puede concluirse que la mutación se produce por dimeros de timina "no reparados", en células que sobreviven, a pesar de la presencia de esta lesión no reparada.

Pero puesto que la supervivencia de dichas células parece dpender/ de la reacción pos-replicadora, Witkin razonó que las mutaciones inducidas por UV, deben atribuirse a desemparejamiento de cadenas o/ errores de copia que se producen en la secuencia de recombinación/ molecular que sirve de base a este proceso.

Por consiguiente puede concluirse que: de complemento acuerdo con lo propuesto por Witkin, la incapacidad de realizar el proceso de reparación eventual del potencial mutagénico de los dimeros de timina/

no reparados.

H.- HOMEOSTASIS DE LOS TEJIDOS EN MAMIFEROS ADULTOS.

En el pasado se había prestado cierta atención a los extractos de/ sustancias tisulares, en el sentido de que pudieran influir positivamente o negativamente en el crecimiento y funciones del propio tejido.

Indudablemente, el que este tipo de sustancia existiera, era una idea de que descasaba en la antigua práctica médica

Actualmente, la acción de los extractos tisulaes está siendo estudiada con mayor profundida.

En 1.960, BULLOUGH y LAURENCE descubrieron porqué una pérdida de sustancia, en la piel causaba una reversión en la actividad mitótica de las células epidermales adyacentes, las cuales comenzaban a/ sintetizar queratina, refiriéndose al control mitótico de las chalonas tisulares.

Se ha creído, generalmente, que esta rversión era una reacción a la producción por el tejido dañado de una hormona que estimulaba la mitosis.

Tras los estudios de BULLOUGH y LAURENCE en 1.960-61; BULLOUGH, HE- WETT y LAURENCE, en 1.964, se han podido aclarar los siguientes -- puntos:

1.- El aumento de la actividad mitótica adyacehte a una lesión, se

debe a la desaparición de un inhibidor mitótico presente previamente, llamado chalona, cuyas acciones son específicas de estos tejidos.

2.- En la epidermis y otros tejidos, el poder antimitótico de las chalonas se incrementa por acción de la adrenalina, tal vez por actuar como co-factor. Como las chalonas desaparece del tejido lesionado y por consiguiente aumenta la actividad mitótica, la capacidad de la adrenalina para suprimir la mitosis se pierde

3.- En algunos tejidos normales, la acción de la adrenalina, es regular el ciclo mitótico diurno, el cual es inverso al ciclo diurno de secreción de adrenalina, Ningún ciclo mitótico diurno, se encuentra en ningún tejido normal o dañado, en los cuales hay razones para creer que las chalonas se encuentren ausentes.

4.- Extractos acuosos de epidermis maceradas y que, por tanto, con chalonas epidermales, pueden mostrar in vitro que estas sustancias sólo ejercen toda su capacidad de inhibición mitótica en presencia de adrenalina.

5.- Aunque la chalona epidermal es específica para su tejido, no es específica para la especie.

La regeneración tisular ha sugerido, que la alta actividad mitótica adyacente a las zonas lesionadas, sea la respuesta a un fallo local en la concentración de chalonas debido al tejido lesionado. El daño

es tan local que no hay efecto significativo sobre el resto del -- tejido.

En circunstancias normales, la concentración tisular de chalonas - regulará la tasa mitótico tisular, esta concentración vendrá determinada por el balance entre la tasa de producción de chalonas dentro de las células y la tasa de chalonas perdidas, tanto por degradación, como por difusión especialmente hacia el torrente sanguineo.

El punto de equilibrio de este balance, deberá ser relativamente alto, en la concentración de chalonas dentro del tejido y relativamente bajo la concentración de chalonas, dentro del resto del espacio corporal.

Cuando ocurre una lesión, en un primer momento, la concentración de chalonas seguirá siendo más alta en el tejido que en el resto del -- espacio corporal, pero ocurrirá también una pérdida casi inmediata por difusión desde el tejido, por un lado, y por otro, debido a la lesión tisular, la tasa de chalonas no subirá, por todo ello, bajará la concentración de chalonas dentro del tejido a este nivel. -- Cuando este fallo en la concentración de chalonas alcance proporciones significativas, se desarrollará un aumento de la actividad mitótica.

Las características esenciales de cualquier tejido dependen, en primer lugar, del patrón que se derivó durante la diferenciación em--

biogénica y en segundo lugar de la naturaleza del control impuesto sobre algunas alternativas genéticas remanentes.

Este control de las alternativas de mitosis y función tisular, que supone el control de la homeostasis tisular, se pueden extrapolar/ 3 puntos importantes.

- 1.- En todos los tejidos pertenecientes a individuos mamíferos, que han sido estudiados, existe un patrón común de producción celular, maduración y muerte celular. Todo ello, está en favor de la existencia de un tipo común de mecanismo homeostático.
- 2.- En un tejido cualquiera, la forma precisa del patrón viene determinada por el modo de acción de estos mecanismos característicos. Este mecanismo contiene, evidentemente, un efecto semejante al componente chalona, el cual es sintetizado dentro del tejido y opera/controlando la expresión genética.
- 3.- Ciertos tejidos tendrán que crecer y funcionar en respuesta a los acontecimientos, que generalmente, se originan fuera de él, lo cual ha permitido el desarrollo de algunos sistemas de control secundario: Estos dependen, por otro lado, de la diferenciación de la célula primitiva, la cual es añadida al tejido, incluso, por estímulos mitogénicos ejercidos por una hormona mitógena.

Está claro, desde la evidente especificidad de tejidos de las chalonas, la obvia especificidad de tejidos de las hormonas mitogénicas; indudablemente la vía por la cual actúan todos los tejidos individualmente y el mecanismo por el cual, ellos reaccionan, es específico, del tejido, por tanto, la diferenciación embriogénica envolverá también el establecimiento de los mecanismos de las chalonas específicas de los tejidos, las cuales controlarán la actividad de los genes de mitosis y los genes tisulares.

El mecanismo homeostático de un tejido, puede comprender a la vez/ una serie de mecanismos interconectados:

El control de función específica del tejido y el dependiente, aunque de otra manera, del control general de mitosis.

Indudablemente, aunque todavía es poco lo que se conoce, parece que tendría que haber también otro mecanismo, dependiente del cual, se determinaría la expectativa de vida de las células tisulares funcionantes.

Considerando, también, que parte de los mecanismo que inician y controlan la función tisular, están conectados con el mecanismo de ruptura del vendaje iónico del DNA, por el cual se libera de la capa de histonas (proteínas) y paso necesario antes de que cualquier grupo de genes pueda ser activado.

La activación general del DNA se consigue experimentalmente, mediano

te una separación no específica de las histonas y su DNA (TS'0 y - BONNER, 1.964).

Si consideramos la activación específica del DNA, debería estar com prometida en la ruptura de las uniones iónicas, tan sólo en la zona de los genes específicos. Por lo tanto, es aún más evidente que el mecanismo de activación debe ser capaz de reconocer una específica secuencia de bases nucleótidas.

Resulta obvio, que mucha más información se requerirá para evidenciar todo este complejo mecanismo de su control. De todos modos, - hay datos necesarios para mantener la hipótesis de que las células de tejidos mamíferos, tengan un patrón de control, que pueda ser - explicado en términos de un sistema de interacción entre .efecto-- res y genes, análogos a los encontrados en un microorganismo.

II.- ALTERACIONES DEL CRISTALINO.

A.- INTRODUCCION Y ANATOMIA.

Debido a las longitudes de onda superiores a los 290 nm, son am---
pliamente transmitidas por la córnea, tanto el cristalino como el/
iris, van a resultar expuestos a los ultravioletas A.

El cristalino absorbe todos los ultravioletas A que le llegan y pue
de ser el tejido ocular especialmente susceptible a las lesiones *
por exposición a estos ultravioletas.

La posible producción de cataratas en humanos por ultravioletas A,
es por consiguiente, una posibilidad a tener en cuenta.

Cualquier alteración, tanto del cristalino como de su cápsula, que
originará, en principio, una disminución de la transmisión o au--
mento de la dispersión de la luz visible, puede ser llamado catara
ta.

Pequeñas alteraciones, detectables por un cuidadoso examen biomicros
cópico, no originan cambios en la normal agudeza visual, otras alte
raciones, más marcadas de la transmisión de la luz, pueden impedir -
eliminar la visión.

El término catarata, reservado a menudo para estas disminuciones de
visión sintomática, puede ser el resultado de:

- Lesión de las células epiteliales, que se están diferenciando en-
tre las fibras cristalinas, en este caso, las fibras fabricadas/
tras la lesión pueden dispersar más luz que las normales. Este tipo'

de alteración puede no convertirse en evidente durante meses, ya que las fibras cristalinas se diferencian lentamente. Las cataratas inducidas por corticoides son también, el resultado de la síntesis defectuosa de fibras por la afectación de las células epiteliales.

- Desequilibrio osmótico agudo. En este caso, el agua penetra bruscamente en el cristalino, alterando las propiedades de la dispersión luminosa, debido a los cambios en el índice de refracción. Un ejemplo de catarata osmótica es la catarata por azúcar, pero cambios similares pueden ocurrir en lesiones traumáticas, químicas o térmicas.

- Alteraciones del metabolismo cristalino resultante en los intercambios en agua, calcio, sodio, potasio y fosfato, en su contenido con la consiguiente disminución de la transmisión de la luz visible.

- Alteración de las proteínas lenticulares, ya que las proteínas de alto peso molecular se pueden agregar y como consecuencia lógica - dispersan la luz. La hinchazón osmótica y la posterior inhibición/acuosa llevan a desarrollar algunas lagunas de baja densidad con material de bajo índice de refracción, interpuesto con material de alta densidad y materiales de alto índice de refracción, este pudiera ser el mecanismo originario de la catarata.

Se conoce relativamente poco, acerca de los mecanismos básicos y -

los cambios fundamentales que resultan en los procesos cataratogénicos.

En afáquicos, la retina resulta expuesta a los ultravioletas A, debido a la pérdida del cristalino. Teóricamente los UV-A inducen alteraciones fotoquímicas de la retina.

Anatómicamente el cristalino es una estructura biconvexa, situada/inmediatamente por detrás del iris y anterior al cuerpo vitreo.

El cristalino humano, tiene de 9 a 10 mm. de diámetro y 4-5 mm. de grosor, su superficie anterior es menos convexa (9 mm. de radio - de curvatura).

El ecuador es el borde donde se unen ambas superficies, anterior y posterior. Su polo anterior, es el centro de la superficie anterior.

El cristalino consta:

- La cápsula.
- El epitelio anterior.
- Las fibras cristalinianas.
- La sustancia de unión.

La cápsula es una membrana transparente, envolvente, que encapsula por completo al cristalino. Es altamente elástica, siendo más delgada en su porción anterior y posterior y más gruesa en la periferia y ecuador.

El epitelio anterior es una monocapa de células cuboides, que se/

localiza inmediatamente debajo de la cápsula anterior, cubriendo completamente la superficie frontal del cristalino. No existe epitelio posterior, debido a que las células epiteliales posteriores, llenaron la cavidad central de la vesícula cristaliniana durante el desarrollo embriológico del cristalino. Las células del epitelio anterior se van haciendo gradualmente columnares y se elongan entre las fibras, como aproximándose al ecuador; cuando las células del epitelio anterior pasan por detrás del ecuador, esta porción posterior de la fibra y la parte anterior de la célula se convierte en fibra anterior, en el ecuador el núcleo de las células epiteliales originan una zona de nucleos en forma de ese, a través de toda la circunferencia del cristalino.

La substancia de unión coge todo el material cristaliniano y no resulta visible en las secciones histológicas ordinarias. Esta substancia esta cercana a la cápsula, más profunda que el epitelio anterior y forma el reborde central; el borde de este anillo central asemeja un eje desde el polo anterior al posterior. La substancia de unión axial proyecta tres ramas de rayos hacia atrás del ecuador, lo cual divide al cristalino en tres sectores. Bajo biomicroscopía, estos bordes de la substancia de unión forman una Y, siendo cada brazo de la misma longitud, separados por un ángulo de 120° y extendiéndose desde el polo hacia el ecuador. La "Y" anterior es vertical y la posterior invertida, estas "Y" son conocidas con el nombre de suturas anterior y posterior del cristalino, respectivamente. En el adulto, la rama del borde central puede ser muy com--

plicada, con las seis primarias más las suturas secundarias. Las "Y" fetales, persisten a lo largo de la vida, delante y detrás del núcleo embrionario.

Las fibras cristalinianas son alargadas, con una sección primática de seis lados de material albuminoideo, acabando en punta como si se clavaran en las suturas anterior y posterior desde el ecuador. Las fibras del cristalino se forman por las células del epitelio anterior y localizadas en las proximidades del ecuador y radiadas anterior y posterior, su fin es insertarse en las ramas de la sutura de la substancia de unión. Las nuevas fibras se forman por fuera de las viejas fibras y fuerzan a las viejas hacia el centro del cristalino en capas concéntricas, como parte de un proceso activo.

Las viejas fibras pierden su núcleo al ser empujadas centralmente. El proceso de crecimiento único de las fibras del cristalino, hace que adopte una apariencia en dos zonas, la zona externa en donde se encuentran las relativamente nuevas fibras nucleadas, el llamado cortex, y la zona interna, en donde se localizan las viejas fibras, densas y sin núcleo, es el llamado núcleo.

Cualquier lesión, desequilibrio osmótico, alteración del metabolismo cristaliniano o alteración de sus proteínas, pueden alterar la estructura cristaliniana y originar una catarata.

B.- ACCION DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA SOBRE EL CRISTALINO.

El cristalino puede absorber una considerable cantidad de radiación con longitudes de onda larga, dentro del espectro ultravioleta, por lo que podría suponerse que esta radiación produjese efectos lesivos sobre el cristalino; sin embargo, existe una cierta dificultad para producir lesiones agudas en animales de experimentación. Quizás la acción de esta energía, absorbida durante un largo patogénesis de la catarata senil.

Antecedentes experimentales.-

Las radiaciones comprendidas dentro del espectro ultravioleta, pueden producir experimentalmente, opacidades del cristalino, pero sólo en el caso de que las dosis hayan sido tan grandes que habremos producido importantes lesiones corneales incluso lesiones del iris, aún así, las lesiones a nivel del cristalino se ven escasamente y/ con dificultad.

Algunos autores no obtuvieron alteraciones cataratogénicas:

OGNEFF 1.896, STREBEL, 1.903; BIRH HIRSCHFELD 1.904-9. MARTIN 1.912 VERHOEFF y BELL 1.916, CHOTZEN y KUZNITSKY 1.918, JESS y KOSCHELLA 1.923, TRUMPY 1.925, TOULANT 1.926, VOGT 1.930-1.

Sin embargo, otros autores, sí encontraron una relación, siempre// que el grado de irradiación hubiese sido lo suficientemente intenso, describiendolo como un haz de opacidad en las capas más superficiales de la zona más anterior del cristalino. Entre ellos: WIDMARK - 1.889, HERZOG 1.903, SCHANZ 1.915-22, BUCKLERS 1.928, ROHRSCHEIDER 1.936.

Histológicamente se puede apreciar una degeneración de las fibras/ más superficiales, que puede asociarse a degeneración eosinofílica. En el epitelio capsular los cambios son más marcados, pudiéndose encontrar una ausencia completa de mitosis y degeneración eosinofílica, así como fragmentación nuclear con desintegración celular en la zona expuesta a través del agujero pupilar, mientras que en la/ zona protegida por el iris, sobre todo en el margen entre ambas - áreas. estas células pueden proliferar activamente para formar una barrera epitelial, por amontonamiento celular, pero sin evidenciar una gran actividad mitótica (VON HESS 1.907-13, VERHOEFF y BELL, - 1.916, DUKE ELDER, 1.929, SCOTTI 1.930-31, ROHRSCHEIDER 1.936).

Además de estos cambios histológicos, algunas alteraciones químicas han sido estudiadas experimentalmente, irradiando cristalin^{os} aislados con luz ultravioleta, los cambios encontrados se pueden resumir a tres:

- Desnaturalización proteica.
- Disminución del contenido en glutation(ADAMS 1.925, SHOJI 1.931.
- Presencia de aminoácidos nitrogenados, lo cual no ocurre en cris^{talinos} no irradiados (COLOMBI 1.950).

C.- EFECTOS SOBRE EL CRISTALINO DE LOS ULTRAVIOLETAS DE LARGA
LONGITUD DE ONDA.

Hay una cantidad relativamente escasa de datos de investigación, - como para establecer los efectos oculares tras la exposición a longitudes de onda comprendidas entre los 300 nm y los 400 nm.

La mayoría de los trabajos, en los cuales se utilizaba estas longitudes de onda, empleaban una banda de ultravioletas o una fuente, - para los cuales el espectro de emisión no fué adecuadamente medido, la reciente posibilidad de los laseres de ultravioletas A, han añadido un mejor conocimiento de los umbrales de exposición para los efectos agudos de los ultravioletas A, pero su alta irradiancia -- puede comprometer la significación práctica de los datos.

En 1.916 VERHOEFF, et al., usando lámparas de descarga de mercurio y un sistema filtrante acuoso, así como lámparas de arco con electrodo de hierro magnético, ambos en combinación con un cristal filtrante (absorción del espectro visible y transmisión de los ultravioletas), realizaron exposiciones con lámparas de mercurio durante cinco minutos o más, para longitudes de onda superiores a los 295 nm., produjeron cambios en el epitelio anterior del cristalino que alcanzaba un máximo entre las 48-72 horas, tras la exposición, consistiendo en un hinchazón celular y una alteración persistente del tamaño y forma del núcleo, aparición de gránulos citoplasmáticos, así como formación de un anillo de tinción profundo de las células cercanas a la periferia del área expuesta. Algunos cambios en la substancia cristaliniiana fueron hallados, pero sólo a muy escasa profundidad. Dos lentes de cuarzo fueron utilizadas para focalizar

la imagen del arco del electrodo de hierro magnético, directamente sobre el ojo, de aquí el que las dosis de exposición, actualmente/ en discursión, resulten desconocidas. Un hallazgo, ignorado a menudo, de estos primeros estudios, era el que el endotelio corneal podía ser destruido por longitudes de onda mayores de los 295 nm, la pérdida del endotelio se acompañaba de un marcado edema del estroma corneal, el cual llegaba a alcanzar dos veces el doble de su grosor normal.

La amplísima región espectral usada por VERHOEFF, et al., así como otros primeros investigadores, hacían difícil interpretar, cuantitativamente las observaciones, ya que se desconocía las longitudes de onda que eran específicamente responsables de los diversos efectos observados.

En 1.925, TRUMPY expuso ojos de conejo a longitudes de onda desde los 313 nm. a los 435 nm, pero tampoco suministró los datos radiométricos detallados de su fuente. Describió cambios lenticulares cualitativos, que no se podían comparar a los de otros investigadores. VAN DER HOEVE, criticó esta investigación, comparando estos datos con los obtenidos por él.

En 1.936, FISHER et al., usando un ventana de banda estrecha, y recorriendo desde los 250 a los 350 nm, observó cambios en la imagen reflejada (reflexión especular de la imagen) de la cornea, establecieron en 450 mJ/cm² como el umbral para 350 nm; para estos efec--

tos en la córnea del conejo, utilizando como fuente un arco de carbón o una lámpara de tungsteno, focalizada a través de un doble monocromador, la irradiación medida variaba desde los 200 a los 2.000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ y la duración de la exposición variaba desde 2-60 minutos.

Estos autores usaron biomicroscopía para observar los cambios tanto acuosos como cristalinos.

En 1.956, BACHEM, observó que repetidas exposiciones de ultravioletas largos pueden causar cataratas, mediante un efecto acumulativo. Reportó que el espectro de acción cataratogénico comenzaba de una forma abrupta entre los 293 nm y los 297 nm, disminuyendo también de una forma rápida a los 393 nm. Con repetidas exposiciones/en bada, desde los 297 a los 365 nm, observó opacidades lenticulares, irreversibles tras un período de latencia que variaba entre 2,5 y/ 15 meses. BACHEM, sin embargo, fue incapaz de producir opacidades/lenticulares usando una irradiación de 254 nm. Por tanto, exposiciones de 0.2 J/cm^2 a 297 y longitudes de onda superiores, producirán opacidades en el cristalino del conejo.

Para producir opacidades lenticulares en el conejo, fueron requeridas dosis de exposición acumulativa de 15 J/cm^2 , para una longitud de onda de 302 nm. y superiores; 5.000 J/cm^2 se necesitaron - cuando la radiación era entre 334-365 nm.

PITTS y CULLEN, 1.977, han estudiado los efectos de la banda de longitudes de onda comprendidas entre 300 y 400 nm. en el ojo del co-

nejo "in vivo". Han utilizado una fuente de mercurio y xenon de - 5.000 W., un doble monocromador para producir una irradiación ultravioleta con una banda de 6.6 nm. Ojos de conejos pigmentados, - fueron expuestos a la radiación ultravioleta, con 6.5 nm. de paso/banda, incrementado en 5 nm. desde 295 a 320 nm, así como algunas/longitudes de onda mayores de los 320 nm.

Tras las primeras exposiciones, cada ojo fué examinado con biomi--croscopía y los conejos que presentaban anomalías del segmento anterior, fueron rechazados. El criterio usado para determinar el daño corneal fué:

- Detritus epitelial.
- Tinción epitelial.
- Granulado epitelial.
- Haz epitelial.
- Exfoliación epitelial.
- Haz estromal.
- Opacidades estromales.
- Alteraciones endoteliales.

Los criterios para la alteración del cristalino fueron:

- Opacidades subcapsulares.
- Haz estromal y capsular.
- Opacidades estromales.
- Aumento de la prominencia de la sutura anterior.

Los signos de la cámara anterior incluyeron: detritus celulares y

fenómeno de tyndall.

Los criterios para los cambios introducidos por los ultravioletas/ y fenómenos en el iris, incluyeron la presencia de los signos de - la cámara anterior y los cambios en la transparencia del estroma - iridiano, así como la velocidad de respuesta pupilar.

La tabla nº 4, muestra los umbrales de exposición para la córnea y el cristalino del conejo, en un rango de longitudes de onda entre/ los 295 y los 395 nm. A partir de los 300 nm, las curvas de córnea y cristalino son relativamente paralelas, especialmente a partir de los 320 nm. En longitudes de onda superiores, aunque el umbral corneal aumenta hasta 50 J/cm², no se producen daños lenticulares por alta que sea la exposición radiante usada.

El espectro de acción de los umbrales corneales, se extiende hasta los 365 nm, para altas dosis de exposición. El espectro de acción/ para efectos lenticulares, se extiende desde 295 nm. hasta 325 nm, pero sobre todo parece que la banda de longitudes de onda más efectiva vá desde 295 nm hasta 315 nm. El hallazgo más sorprendente es la relativamente baja exposición radiante en la banda comprendida/ entre los 295 nm y los 315 nm., que se requiere para producir opacidades lenticulares. Los grandes tiempos de exposición usados y - la brusca transición en el espectro de acción lenticular, indica - que los efectos térmicos no son los responsables de las opacidades observadas.

VALORES DEL UMBRAL U.V. PARA CORNEA Y CRISTALINO de CONEJO		
LONGITUD DE ONDA	UMBRAL DE EX-POSICIÓN RADIANTE	ÍD. EN CRISTALINO
290	0.012	> 3.00
295	0.02	0.75
300	0.05	0.15
305	0.07	0.30
310	0.075	0.75
315	2.25	4.50
320	7.25	12.60
325	18.00	> 50.00
335	30.00	> 60.00
345	50.00	> 50.00
355	50.00	> 70.00
365	67.00	> 162.00
375	> 58.80	> 58.80
385	> 28.80	> 28.80
395 nm.	> 23.50 j/cm^2	> 23.50 l/cm^2

TABLA Nº 4. UMBRALES DE EXPOSICION PARA LA CORNEA Y EL CRISTALINO DEL CONEJO.

La absorción casi completa de la irradiación ultravioleta por la córnea ocurre a 290 nm y longitudes de onda menores, causando una brusca elevación por debajo del umbral cristaliniano a 300 nm. La exposición radiante requerida para producir una respuesta umbral a 295 nm era 5 veces el valor necesario a 300 nm (750 mJ/cm² y 150 mJ/cm²), lo cual sugiere que los límites de longitudes de onda más cortos del espectro de acción, es aproximadamente 290 nm., para opacidades lenticulares. De tal modo que, exposiciones de 3 J/cm² a 290 nm no producen daños lenticulares en conejos.

En general, la severidad de las alteraciones corneales aumentan al incrementar las dosis de exposición. La cantidad de detritus epitelial, aumenta con el aumento de la exposición, de la dosis umbral.

Reacciones corneales severas se acompañaron de una uveítis anterior secundaria, caracterizada por inyección ciliar, Tyndal acuoso y deposición de productos membranosos inflamatorios en el endotelio/corneal; este tipo de cambios hace difícil la observación del cristalino. La uveítis anterior generalmente regresa de una forma espontánea, dentro de un período de dos días. En la tabla nº 5, se expresan los datos sobre longitud de onda, dosis de exposición, tiempo de latencia y tiempo de reparación de la uveítis anterior.

La aparición de uveítis anterior, no puede ser inducida por exposiciones de radiación ultravioleta, cuyas longitudes de onda sean su

UVEITIS ANTERIOR (CONEJOS)			
LONGITUD DE ONDA	EXPOSICIÓN RADIANTE	TIEMPO de COMIENZO	TIEMPO de RECUPERACIÓN
295	0.75	1	24
300	0.90	24	48
305	0.80	24	48
310	1.00	2	24
315	<i>7/cent</i>	<i>horas</i>	<i>horas</i>
320	<p>No se encontró Uveitis Anterior con los máximas niveles de exposición.</p>		
335			
345			
355			
365			
375			
385			
395			

TABLA Nº 5. UVEITIS ANTERIOR.

periores a 315 nm.

Debido a que la totalidad del globo resulta expuesto "in vivo" desde el exterior de la córnea, las propiedades ópticas de cada capa/ y los umbrales relativos para los distintos cambios, deberán ser - considerados en conjunto. En adelante, expondremos algunos ejemplos sobre ojos de conejos, con lesiones inducidas por diversas bandas/ de ultravioletas.

A 295 nm., la exposición radiante requerida para producir alteraciones lenticulares, producen además una reacción corneal inmediata/ que se manifiesta por un haz epitelial, formación granular, tinción y haz estromal anterior sobre toda la zona irradiada. El epitelio/ tiñe extensamente con fluoresceína sódica, confirmando la respuesta inmediata. La severidad de la reacción aumenta hasta la completa exfoliación. El haz estromal anterior de la córnea también aumenta hasta la completa exfoliación. El haz estromal anterior de la - córnea aumenta al aumentar la exposición radiante, debido a ello la cámara anterior, iris y cristalino, se ven con dificultad una hora después de la exposición, con una exposición radiante de 0.75 J/cm². La recuperación fué casi completa en las 24 horas siguientes a la - exposición.

A 300 nm, exposiciones de alrededor de 0.3 J/cm², dos veces el valor umbral del cristalino, resultaba una alteración corneal casi inmediata, los animales desarrollaban una fotofobia extrema como resultado de una lesión epitelial, estromal y endotelial. El iris se -

edematizaba, mostrando una perezosa respuesta pupilar. En la cámara anterior se observaba un tyndall y algunas células se observaban en el acuoso. Con una exposición radiante de 0.2 J/cm^2 , se observaba lo anterior pero en un grado menor y regresaba a la normalidad en un período de 3 días. Por debajo de 0.2 J/cm^2 , no se encontraron cambios en la vez anterior.

A los 305 nm, exposiciones radiante de 0.3 J/cm^2 originaban granulación opacidades y tinción fluoresceínica del epitelio corneal. Añadiéndose un aspecto traslúcido del estroma corneal y desarrollando estrías opacas alrededor de ocho días después de la exposición. Dentro de las 24 horas, aparecieron fuertes depósitos fibrinosos endoteliales. En el humor acuoso podía apreciarse un tyndall, a partir de las 4 horas tras la exposición, que cedía en su severidad hacia las 24 horas. Todos los signos de inflamación uveal anterior desaparecían en ocho días. Había una exfoliación de tejido iridiano - dentro de las 24 horas posteriores a la irradiación, cuando esta era de 1 J/cm^2 . Por debajo de 0.3 J/cm^2 , no se encontraron cambios en la uvea anterior a 305 nm. Se encontró un incremento general de las lesiones corneales, cuando se aumentaba la exposición radiante por encima del umbral de radiación corneal de 0.04 J/cm^2 .

El primer signo biomicroscópico de lesión cristaliniana en los estudios de PITTS, fueron:

- Perdida o reducción de la aparente "piel de naranja" de la capsula anterior.

- Aumento de la prominencia de la línea sutural anterior.

Estos dos signos regresaban a la normalidad dentro de un período/ de tiempo comprendido en las 24 horas tras la exposición; si la ra diación durante la exposición se aproximaba al umbral, algunas opa- cidades blancas y pequeñas aparecen en la subcapsular anterior - del epitelio cristalino. Estas opacidades subcapsulares anteriores aparecen similares a los gránulos epiteliales corneales.

Estas exposiciones superiores al umbral cristalino originaban --- opacidades lenticulares de carácter permanente (cataratas). El cam bio desde el pequeño y discretamente blanco granulado subcapsular anterior, hasta las opacidades permanentes sigue el desarrollo si- guiente:

- Las opacidades finas se organizan entre ellas, formando opacida- des más densas.
- Estas finas opacidades emigran hacia la línea sutural anterior - y posteriormente hacia el interior del cortex anterior del crista- lino.
- Se detectaba el consiguiente aumento del haz, localizado a nivel del cortex cristalino.

Las opacidades permanentes, generalmente se desarrollan en la proxi midad de la línea sutural anterior. Añadiéndose a las opacidades - permanentes la presencia de vacuolas, lo cual se observó de una for ma ocasional. Los animales seguidos durante tres meses, tras la ex

posición, no se encontraron opacidades nucleares o subcapsulares - posteriores.

Usando exposiciones únicas de ultravioletas, el umbral para ocasionar lesiones corneales pudiera ser menor que el necesario para ocasionar daño cristaliniano en todas las longitudes de onda. Pero no es posible producir cataratas sin producir fotoqueratitis. Sin embargo, esto podría no ser cierto para exposiciones subumbrales repetidas, alteraciones acumulativas o lesiones inducidas por combinaciones de bandas espectrales ultravioletas. Además, la aparición de las características manchas cristalinianas, inducidas por ultravioletas sin previa uveitis anterior, indica que los efectos lenticulares son esencialmente independiente de la uveitis anterior.

En suma, se sugiere que el cristalino resulta alterado por su absorción de energía radiante de una forma directa.

D.- MECANISMO BIOQUIMICOS DE LAS LESIONES CRISTALINIANAS INDUCIDAS
POR U.V.

El cristalino normal presenta emisión de fluorescencia en la región correspondiente al azul, primariamente desde los pigmentos cristalinianos que absorben en la región de los ultravioletas A.

Probablemente, en el cristalino existen varios pigmentos con capacidad para absorber ultravioletas; la mayoría de los que han sido identificados son productos de degradación del triptofano por oxidación. Esta cualidad parece que capacita al cristalino como protector y filtro de los ultravioletas A, previniendo el que esta radiación pudiera alcanzar la retina. Las personas afáquicas, pueden ver longitudes de onda mucho menores de los 400 nm, percibiendo los ultravioletas A como violetas. Al aumentar la edad, en el cristalino humano ocurre un aumento de la concentración de sustancias con capacidad para absorber ultravioletas. Desgraciadamente, este aumento en su pigmentación puede acarrear alteraciones en las propiedades ópticas del cristalino, el cual puede disminuir su capacidad para la transmisión del espectro visible.

La capacidad de fluorescencia del cristalino humano aumenta con la edad, la emisión fluorescente oscila entre el azul y el azul-verde.

En 1.969, CLARK et al., observaron que una proteína albuminoidea, insoluble, se incrementa en los cristalinos humanos normales, desde un 3% a los 10 años, hasta un 40% a los 80-85 años, encontrando además una gran disminución en la concentración de una pequeña proteína gamma cristalina, una pequeña disminución en proteínas beta-cris-

talina y un aumento en las proteínas alfa-cristalina.

Aminoácidos específicos de proteínas cristalinianas y sus productos de fotooxidación podrían estar comprometidos en el proceso cataratogénico, así como que las proteínas del cristalino podrían llegar a unirse a los cromóforos derivados metabólicamente con capacidad para absorber ultravioletas A y actuar de este modo como fotosensibilizadores.

Los aminoácidos aromáticos libres, pueden ser foto-oxidados dentro de los componentes pigmentarios con una fuerte afinidad por las proteínas cristalinianas.

La coloración marrón-amarillenta del material cristaliniano, puede juzgar un papel en la formación de cataratas brunescentes.

Substancias fluorescentes y pigmentadas con capacidad para absorber ultravioletas A, se han encontrado unidas a péptidos específicos de proteínas cristalinianas.

Numerosos estudios han sugerido que el triptofano juega un importante papel en los cambios cristalinianos inducidos por los ultravioletas A. Un producto de la foto-oxidación del triptofano. La N-formilquinurena, presente en los cristalinos humanos, puede fotosensibilizar hasta la oxidación del triptofano por los ultravioletas A.

El triptófano puede ser fotolisado por los ultravioletas A dentro/ de algunos pigmentos no identificados y componentes fluorescentes.

PIRIE y VAN HEYNINGEN, en 1.971 y 1.975, respectivamente, sugieren que las proteínas del cristalino son foto-oxidadas por destrucción del grupo triptofano en la proteína.

Sustancias fluorescentes libres, que pueden sensibilizar la foto-- oxidación de las proteínas cristalinianas, se encuentran en los - cristalinos humanos y parecen derivarse del metabolismo del triptófano.

Productos de la oxidación del triptófano han sido localizados en - cristalinos humanos por espectroscopia ESR (VAN HEYNINGEN, 1.973) - (ZIGMAN, S. et al. 1.976).

Fotoproductos pigmentados fluorescentes, podrían unir proteínas de color marrón, insolubles a las proteínas cristalinianas como mecanismo de formación de cataratas en humanos.

Una fracción de las sustancias fluorescentes cristalinianas son de derivados del triptofano, la fluorescencia y fosforescencia estudiada en cristalinos totales, sugiere que estos fotoproductos del triptófano están conectados a las proteínas cristalinianas cataratogénicas humanas, y que los cristalinos profundamente pigmentados, especialmente las cataratas brunescientes, presenten una depleción de/ proteínas con triptófano. Los fotoproductos del triptófano, pueden

resultar, además citotóxicos para el epitelio cristalino, inhibiendo o inactivando las enzimas necesarias para la formación o mantenimiento de las proteínas, o bien causando una agregación de proteínas estructurales, tanto de una forma directa como por interconexiones inducidas por los ultravioletas A.

Para determinar el papel de los ultravioletas A "in vivo" ZIGMAN et al., 1.974, irradiaron ratones albinos con un ambiente de ultravioletas A, esta irradiación de ultravioletas A, variaba desde 200 microwatios a 600 microwatios, durante el curso de la experiencia/ con un intervalo de 6-7 semanas, los animales fueron sacrificados/ para su estudio tanto histológica como bioquímicamente. El efecto/ de los ultravioletas A "in vivo", en esta experiencia, fué la inhibición de la acumulación de proteínas solubles en el cristalino. - Esta inhibición, podía ser el resultado de un efecto directo sobre el sistema de sensibilización proteica o por un bloqueo directo - del suministro de aminoácidos, como resultado de las alteraciones/ de la capsula y fibras cristalinas.

Los cristalinos expuestos mostraron además de un marcado aumento en proteínas insolubles entre las 16 y 43 semanas. Por todo ello, parece que los ultravioletas A puedan acelerar el envejecimiento del cristalino en estos animales, mediante el cambio de cristalinos solubles en insolubles. Estos autores, estudiaron además los efectos de la exposición a los ultravioletas A sobre cristalino de ojos recién

temente enucleados "in vitro", observando un aumento en las proteínas cristalinas insolubles, así como una disminución de las proteínas solubles, tras una exposición de 24 horas a 3 mW/cm² de ultravioletas A (lámparas fluorescentes que emitían a 320-380 nm), estos cambios fueron inhibidos por la adición de ácido ascórbico.

ZIGMAN et al., en 1.974, estudiaron tejido ocular del ratón lesionado tras una intermitencia de 12 horas diarias de exposición a ultravioletas A (lámparas fluorescentes). las células epiteliales del cristalino parecen perder su capacidad para diferenciarse en células fibrosas tras treinta cinco semanas de exposición. Cataratas anteriores y posteriores, se desarrollan a las cincuenta semanas. Los fotorreceptores retinianos de estos ratones se adelgazaron posteriormente fueron invadidos por células fagocitantes, resultando destruidos. Este adelgazamiento de los fotorreceptores se apreciaba a las catorce semanas y la pérdida total ocurrió a las setenta semanas. Pequeñas o inexistentes alteraciones corneales fueron observadas, aunque los ratones expuestos tenían en ambos ojos cataratas y extensas alteraciones retinianas.

El espectro de acción para los ultravioletas con capacidad de inducir cataratas, finaliza de una forma relativamente abrupta alrededor de los 290 nm, debido a que la absorción corneal aumenta enormemente con longitudes de onda menores de los 300 nm, se extiende en los resultados de los ultravioletas A y sus longitudes de onda mayor

res coinciden con el espectro de acción fosforescente del triptófano. Otros productos de aminoácidos, citocromos o la presencia de fotosensibilizadores desconocidos, pueden explicar además, la porción de ultravioletas del espectro acción, pero las evidencias experimentales apuntan directamente hacia el papel del triptófano.

KURZEL et al., en 1.973, han revisado los datos para la inducción/por ultravioletas de cataratas proponiendo un modelo químico describiendo el importante papel del triptófano. En el pico del espectro de acción para la catarata, la mayor parte de la radiación resulta absorbida por los residuos del triptófano. El espectro de acción de los ultravioletas con capacidad para inducir cataratas podría, por tanto, resultar del daño o lesión de las proteínas cristalinas, mediado por dos procesos fotoquímicos, cuya vía de procedimiento sería la excitación del estado singlete del triptófano. La mayor parte de la reacción tiene su máximo a los 293-313 nm, ocurriendo una fotoeycción electrónica. Esta fotoionización parece ser el primer proceso resultante en la descomposición del triptófano. El segundo proceso resulta de un clivaje o ruptura de las uniones N-H del triptófano y una ruptura del anillo indol. Debido a que la unión N-H, es una unión débil, sólo 75-80 Kcal/mol, esta reacción puede resultar de una radiación poco energética, 300-365 nm., pudiendo explicar el espectro de acción de los ultravioletas A largos.

Materiales fluorescentes con 360 nm de longitud de onda de excitación y 440 nm de longitud de onda de emisión, similares a los que/

normalmente acumula en cristalinios viejos, pueden ser generados fotoquímicamente en cultivos de cristalinios humanos y de rata en cristalinos de ratón "in vivo". Cuando se ha irradiado con ultravioletas, la intensidad fluorescente de cristalinios de rata incubados - aumenta de una forma lineal con el tiempo, sugiriendo que la reacción fotoquímica no resulta inhibida por sus propios fotoproductos. ^

El espectro de acción para la producción de estos 360/440 nm, de - fluorogenesis, ha sido determinado y muestra una pequeña acción a/ 360-320 nm., aumentando a los 300 nm, permaneciendo constante en el rango 300-280 nm. y luego exhibe una gradual elevación desde 270 nm; si la absorción es calibrada en cantidades, este espectro de acción es estrechamente paralelo al espectro de acción para la destrucción química del triptofano en solución.

En cristalinios totales homogenizados, la presencia de fotoproductos del triptofano, ha podido ser demostrado con una mayor intensidad - por la acción de los ultravioletas (360-440 nm. fluorescencia) sugiriendo que el triptófano foto-oxidado pueda actuar además como fotosensibilizador.

Todos estos estudios, apoyan la hipótesis de que la absorción de luz por aminoácidos aromáticos en las proteínas cristalinianas, es el perimer paso de las lesiones cristalinianas inducidas por ultravioletas. Aunque algunos investigadores, apoyan la hipótesis de que - la catarata nuclear senil, tiene lugar en la porción frontal del -

cristalino, es el nucleo el que se presenta pigmentado.

La ausencia de cualquier cambio pigmentario en la parte anterior - del cristalino no podría ser explicada por efectos de focalización o por diferencia en la susceptibilidad de la foto-oxidación.

Proteínas procedentes del cortex del cristalino normal humano, son foto-oxidados "in vitro", en la misma cantidad a como lo son las del núcleo. Además, aunque la foto-oxidación solar "in vitro", de las proteínas cristalinianas destruye el triptófano, el mismo contenido en las proteínas nucleares de cataratas seniles marrones, es el encontrado en los cristales normales. Estos argumentos resultan menos válidos, si uno comprende que "in vivo", es el hombre, este puede tener desde años o décadas para la iniciación de las lesiones fotoquímicas por ultravioletas, hasta alterar las propiedades ópticas y físicas de las proteínas cristalinianas y que estas proteínas alteradas, son parte, tanto las más viejas y las proteínas más centrales serán pues las alteradas. Además "in vivo", proteínas de cierta edad con propiedades de solubilidad, podrían ser más susceptibles a los cambios inducidos por ultravioletas.

GIRGUS et al., 1.977, encontraron diferencias entre estimaciones de densidad de pigmentación y estimaciones de exposición ultravioleta, en portadores de gafas y personas normales; concluyendo que la exposición de ultravioleta solar no causaba pigmentación del crista-

lino humano "in vivo". De todos modos, debido a que los individuos tenían una edad entre los 18 y 25 años, y debido a que muchas gafas transmiten cantidades significativas de ultravioletas A y por que/ las historias de exposición solar, son a menudo, difíciles, este tipo de estudios necesita una confirmación más convincente.

Otros de los "blancos" para la agresión de ultravioletas es el DNA del tejido cristalino. La reparación del DNA del epitelio cristalino, seguido de una radiación lesiva, ha podido ser demostrado en cristalinios cultivados. Tras una radiación de 254 nm, alteraciones de la síntesis del DNA fué observada en el núcleo de las células epiteliales. El proceso de reparación estaba también presente en estas células, las cuales habían comenzado a diferenciarse en fibras. En otros síntomas celulares, el daño reparable del DNA, ha sido también causado por radiaciones de mayor longitud de onda. Aunque los ultravioletas A son mucho menos eficientes para causar lesiones en el DNA, la reparación puede ser diferente. Una gama de agentes como rayos X y agentes alquilantes, dañan el DNA además de causar catarata.

El papel exacto del daño y reparación del DNA en la carcinogénesis, es conocido. Al igual que en la piel, la radiación ultravioleta podría causar tumores de la córnea. Los pigmentos cristalinos pueden jugar un papel en la protección del DNA. Los derivados del indol, incluyendo el triptófano, protegen el DNA de la radiación ultravioleta por un mecanismo de transferencia de energía que envuel

ve la transferencia de energía triplete-triplete desde las bases del ácido nucleico a los tripletes de menor nivel energético del triptófano.

Cuidadosos estudios del espectro de acción y de los umbrales para lesiones de los ultravioletas sobre el ojo, muestran, que usando fuentes continuas convencionales, a cualquier longitud de onda estudiada, el umbral para fotoqueratitis es menor que para la inducción de cataratas. Podemos concluir, que cualquier agresión de ultravioletas cataratogénicos, podrían ser conocida debido a la fotoqueratitis sintomática resultante. Deberá acordarse, sin embargo, que la mayoría de la información y datos sobre respuesta dosis disponible proviene de experiencias con una sola exposición y que exposiciones crónicas o intermitentes de ultravioletas A de baja intensidad, menores del umbral para fotoqueratitis, pueden conducir a un riesgo cataratogénico, debido a las diferencias para la capacidad de reparación entre la córnea y el cristalino. Además, el cristalino no excluye de forma rutinaria celular y proteínas tal y como lo hace la córnea.

Cualquier alteración proteica, por pequeña que sea, es acumulativa debido a la naturaleza del metabolismo proteico del cristalino, en el cual el contenido macromolecular permanece dentro de la cápsula durante todo el tiempo de vida. Finalmente, ha sido argumentado que debido a que el componente ultravioleta de la radiación solar es pequeño y que es una gran parte de esta radiación resulta absorvi-

da por la córnea, la inducción de cataratas humanas por ultravioletas "in vivo", es poco probable. Este argumento es difícil de mantener cuando se considera que cambios fotoquímicos significativos/ pueden ser causados por pequeñas exposiciones y que esta pequeña - fracción de luz solar afecta a la piel. El cristalino absorbe más/ ultravioleta A que la córnea y contiene pigmentos que pueden actuar como fotosensibilizadores.

Extrapolaciones de los datos de experiencias en animales a los humanos deberán ser cualificados, las cataratas humanas muestran un/ aumento de proteínas insolubles y/o presentan materiales pigmentarios de color marrón con algunas características comunes a los fotoproductores del triptófano. Adicionalmente, el cristalino humano absorbe la mayor parte de los ultravioletas A que alcanzan el globo ocular con un ángulo apropiado. Cataratas inducidas por ultravioletas, han sido producidas de forma experimental en ratones, conejos, monos y otros animales y tras exposiciones tanto única como múltiples, sobre una amplia gama de ultravioletas A. Por todo ello pensamos que los ultravioletas A están implicados como una causa potencial de la catarata en humanos.

III.- ALTERACIONES DEL SEGMENTO POSTERIOR.

A.- ACCION DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA SOBRE EL SEGMENTO POSTERIOR.

Si bien el ojo normal no es permeable a las radiaciones con longitudes de onda inferiores a los 400 milimicras, puede pasar una pequeña cantidad de radiación con longitud de onda en la zona de 320 milimicras.

En el ojo afáquico, esta sensibilidad está fuertemente aumentada, casi 1.000 veces mayor que en el fáquico, en las proximidades de longitudes de onda de 365 milimicras (WALD 1.945-49).

Experimentalmente, tras la irradiación de animales con ultravioletas filtrados, se ha podido observar algunos cambios sobre una amplia/ área de retina en el polo posterior, que consiste, esencialmente, en cromatolisis y en tendencia acidofila de las células ganglionares, de la capa nuclear interna (BIRCH HIRSCHFELD, 1.909, DUKE ELDER 1.929).

Esto pudiera, ser debido, a un desconocido factor de su sensibilización por otro lado, también pudiera deberse a una intensificación patológica de los procesos que fisiológicamente se producen en la visión, más que a la directa acción abiótica.

Desde el punto de vista clínico, cierto deterioro funcional de la/ visión ha sido demostrado tras la exposición a radiación ultravioleta, defecto que ha podido observarse más obviamente en ojos afáquicos (HAYASHI, 1.924). La presencia de escotomas centrales (BEST y HAENEL, 1.907, BIRCH HIRSCHFELD, 1.908-27, SIMON, 1.950) e incluso una baja de la sensibilidad diferencial tanto de conos como de -

bastones, tanto retina central como periférica (ZIGLER,1.951).

Estos hallazgos clínicos, son de alguna manera indefinidos, y la// correlación de los efectos debidos específicamente a la radiación/ ultravioleta no ha sido, por lo general, corroborado experimentalmente (SJEFGRIED,1.928, LUDVIGH y KINSEY, 1.946, WALD,1.952).

Quizá lo más probable sea que las radiaciones ultravioletas puede/ dañar la retina, pero sin consecuencia, estas radiaciones, si alcanzan la retina, no han mostrado lesiones orgánicas ni funcionales de este tejido de importancia en la práctica.

B.- ACCION DE LA RADIACION INFRARROJA SOBRE EL SEGMENTO POSTERIOR.

Los límites de transmisión de infrarrojos para filtros de soldador, se basaban en el conocimiento de la radiación de estos procesos, estimándose el valor más bajo de intensidad energética que era capaz de producir alteraciones permanentes en la función de la retina humana.

Con exposiciones de alrededor de 10 minutos, se considera ya implicado en la estimación del umbral de intensidad de $1,8 \text{ cal/cm}^2/\text{min}$. Este valor umbral de intensidad, se basa en los trabajos experimentales de VERHOEFF y BELL 1.916, quienes usando un arco magnético - encontraron que había producido lesiones retinianas en conejos albinos, con 12 minutos de exposición, sobre un área de retina de 3 mm de diámetro, calculando la intensidad de $4.2 \cdot 10^6 \text{ erg/cm}^2/\text{seg}$. $\approx 6 \text{ Ocal/cm}^2/\text{mi}$.) VERHOEFF y BELL aceptaron que $1/3$ de energía de la radiación con longitudes comprendida entre 295 milimicras y $1,4 \text{ milimicras}$, se dispersaba al atravesar los medios oculares prerretinianos.

Posteriormente, BOETTNER y WOLTER, en 1.962, midieron la transmisión directa del ojo humano, obteniendo que alrededor del 40% de las radiaciones con longitudes de onda comprendidas entre 295 a 1.4 nanómetros , alcanzaban la retina. Sin embargo, fueron los valores obtenidos por VERHOEFF y BELL aplicados, tomándose como valor umbral el de $3.6 \text{ cal/cm}^2/\text{min}$. Por otro lado, esta evidencia fué citada - para mostrar los cambios permanentes en la función de la retina.

Radiaciones con longitudes de onda comprendidas entre los 350 nm y los 1.350 nm desde una fuente distante, que focaliza sobre o cercana a la retina de un ojo situado enfrente de la citada fuente, la intensidad de la radiación en la retina puede ser calculada por:

$$I_r = (D/d)^2 T I_c.$$

I_r = intensidad de radiación en la retina.

D = diámetro de la pupila.

d = diámetro de la imagen retiniana.

T = Fracción de la energía transmitida por los medios oculares pre retinianos desde la fuente de radiación considerada.

I_c = Intensidad de la radiación incidente sobre la córnea.

Parte de la energía que alcanza el polo posterior, resulta absorbida por el epitelio pigmentario y parte de la coroides; como resultado del calentamiento local, si este llega a ser excesivo, puede ocurrir el desarrollo de lesiones.

HAM y cols. en 1.957, encontraron que para la producción de "lesiones umbrales" la absorción de energía por el epitelio pigmentario era de primera importancia, mientras que la energía absorbida por la coroides se difunde, generalmente en todo su grosor, resultando por ello, menos efectiva en la subida de la temperatura, origen de las lesiones.

GEERAETS y colaboradores, en 1.962, midieron la absorción de ener-

gía por el epitelio pigmentario y coroides de 24 ojos humanos enucleados, de la radiación procedentes de un cuerpo negro a 5.800^o K. Los límites superiores e inferiores de los valores de absorción por el epitelio pigmentario fueron 6%-16.6% respectivamente y es muy probable que estos valores puedan ser sobrepasados en una población amplia.

La mayor parte de la información relativa a las intensidades umbrales, han sido obtenidas por experimentación en conejos, estos datos pueden ser usados para suplementar nuestro conocimiento de las lesiones térmicas en las retinas humanas, para ello, habrá que establecer previamente la relación de los umbrales de energía para lesiones retinianas tanto en humanos como en conejos.

C.- UMBRALES DE ENERGIA PARA LESIONES TERMICA SOBRE RETINA.

Los datos citados por los distintos autores recogidos en la literatura, presenta una gran variabilidad de unos a otros, en lo que a los valores de umbrales de energía se refiere, para la aparición de lesiones térmicas sobre retina, sin embargo, algunas de estas divergencias pueden ser debidas a los siguientes factores:

- 1.- Tipo de sujeto, (hombre, conejo, etc.) y densidad de la pigmentación del fondo ocular (GEERETS, et al. 1.962).
- 2.- Tiempo de exposición. En casos individuales, con tiempos de exposición cortos, los umbrales de intensidad aumentan, pero el umbral de densidad total de energía o dosis (cal/cm²) en la retina es reduce (GEERETS et al., 1.965, HAM et al., 1.965).
- 3.- Variación en el valor para la energía transmitida por los medios oculares, usados por varios autores en los calculos de densidades de energía sobre la retina.
- 4.- Distinta distribución espectral de las diversas fuentes de luz utilizadas (sol, lámparas de Zenón, tungsteno, laser de ruby, etc.)
- 5.- Diversos métodos para detectar el deterioro de la función retiniana (oftalmoscopia, reflectometría del fondo (WEALE, 1.962) examen microscopico de secciones de retina, test de agudeza visual, etc.)
- 6.- Exactitud del foco de la fuente de energía en la retina.
- 7.- Variación entre los distintos sujetos, COGAN, 1.950, cita varios investigadores que encontraron amplias variaciones en los efectos/ objetivos y subjetivos de la retinitis solar, con una explicación/ de que los efectos más extremos pueden ser debidos a una fotosensibilización nutricional de la retina (IRVINE, 1.945, OBAL, 1.950, SCHOL-

TYLSSEK et al. 1.950).

A pesar de todo, cuando estos factores fueron tomados en cuenta,-- las observaciones siguieron siendo contradictorias.

El umbral de intensidad de 1.8 cal/cm²/mi. para largas exposiciones usando pnteriormente (CLARK,1.967) se derivaba de las experiencias VERHOEFF y BELL, sobre conejos alginos y fueron explicados direc-- tamente como umbrales de energía válidos para retinas humanas.

Aunque la retina del conejo parece ser más sensible al trauma térmico que la retina humana, (POMERANTZEFF et al. 1.964, por un factor de dos o más; FLOCKS y PEABODY 1.966 por un factor de diez me-- más, WEALE, 1.964). Los conejos albinos son alrededor de diez ve-- ces menos susceptibles de daño retiniano térmico que los conejos pigmentados (GEERARTS y RIDGEWAY,1.963).

Esto es coherente con los resultados de medidas de GEERAETS et al. 1.960, sobre la absorción de energía en la coroides de conejos para una fuente de energía igual, la absorción en conejos pigmentados oscilaba entre el 25-41%, comparado con el 5.5% de los conejos albinos, es decir, un factor de aproximadamente seis veces entre conejos albinos y pigmentados.

ROSEN, en 1.948, refirió el caso de tres pacientes, los cuales manifestaron un deterioro de la agudez visual como consecuencia de la fijación del reflejo de la imagen solar, procedente de una superficie acuosa (la supeficie acuosa refleja sólo un 3% de la energía -

solar incidente, cuando la distancia al zenit solar es pequeña) la proporción de energía solar reflejada aumenta al incrementarse la distancia al zenit, sin embargo, todo ello es variable, dependiendo de la absorción de energía por la atmósfera.

El valor de 1.8 cal/cm²/min. adoptado por CLARK en 1.967, es la más baja intensidad de energía que es capaz de causar daño permanente en la retina humana, en cuanto a su función para largas exposiciones. (asumiento como un 40% la transmisión de energía por los medios oculares prerretinianos).

Los límites de transmisión de infrarrojos para filtros de soldadura que se derivan de estos resultados, pueden prevenir los posibles daños retinianos.

MATERIAL Y METODOS

-Planteamiento del trabajo.

-I.La fotoftalmía como urgencia.

-II.Parte experimental.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La realización de nuestro trabajo se ha desarrollado por dos vías distintas pero complementarias.

Por un lado hemos estudiado la fotoftalmía desde el punto de vista clínico, para ello, hemos revisado todas las urgencias asistida por el Departamento de Oftalmología desde la apertura del Hospital Clínico Universitario de Sevilla desde el año 1975.

Hemos analizado su incidencia en relación con la edad, hora / del día, día de la semana, mes del año, etc...A fin de obtener una visión de conjunto de la fotoftalmía en la clínica de urgencia oftalmológica.

Por otro lado, hemos realizado un estudio experimental, acerca de la radiación emitida por el arco de soldadura sobre ojos de conejos; estos fueron posteriormente procesados para su estudio mediante microscopia optica, electrónica de transmisión y electrica de barrido.

Observando las secuencias de producción de lesiones, así como su posterior reproducción, sacrificando diversos lotes a distintos intervalos de tiempo tras la irradiación.

MATERIAL Y METODOS.-I.de Fotoftalmía como urgencia.

Hemos revisado las historias archivadas en nuestro servicio de oftalmología, que corresponden a las urgencias atendidas por nosotros durante el periodo de tiempo que discurre entre la apertura del Hospital Universitario de Sevilla (H.U.S), a mediados de 1975, hasta finales de 1978.

Estudiamos un total de 5.707 historias de urgencias, correspondientes al periodo anteriormente citado.

En la siguiente tabla exponemos el volumen de urgencias por / año, el número de fotoftalmías por año y el porcentaje que di chas fotoftalmías representan dentro del volumen global de / las urgencias.

<u>AÑO</u>	<u>TOTAL URGENCIAS</u>	<u>FOTOFTALMIAS</u>	<u>PORCENTAJES</u>
1975	475	15	3'15%
1976	1.625	63	3'87%
1977	1.993	70	3'51%
1978	1.614	60	3'71%
TOTAL.....	5.707	208	3'64%

Refiriéndonos selectivamente a las fotoftalmías, objeto de / nuestro trabajo, hemos estudiado su incidencia en relación a la edad del sujeto afectado, hora de presentación en la con-

sulta de urgencias, distribución según los días de la semana, día del mes, y así mismo su frecuencia en cada uno de los meses del año.

MATERIAL Y METODOS II.-Parte experimental.

Las muestras utilizadas para nuestro estudio han sido obtenidas por enucleación de globos oculares de conejos, inmediatamente después de ser sacrificados.

Los conejos utilizados para este estudio han sido tomados del Animalario de la Facultad de Medicina de Sevilla. Universidad de Sevilla. Conejos de raza Neozelandesa, de aproximadamente cinco meses de edad, con un peso medio de dos Kilos y medio, no hemos tenido en cuenta el sexo en este estudio, por considerar que las alteraciones investigadas no dependen del sexo.

Los conejos han llevado un ritmo de vida circadiano: 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad, con una temperatura ambiente / media de 16° C., una humedad relativa del 75%. Han sido alimentados con piensos Sanders, especial para conejos.

Para la producción experimental de queratitis actínica, hemos expuesto los conejos a un arco de soldadura eléctrica.

Para la realización del arco de soldadura hemos utilizado / electrodos tipo CITOFIX de 2'5 mm. de diámetro y hemos trabajado con intensidades que oscilaban entre los 70 A. a los 100 A., el periodo de exposición medio ha sido de 60 segundos, a una distancia entre foco de soldadura y el ojo del conejo de 50 cm. (tabla nº 5).

LOTE	Nº	DISTANCIA	DURACION	INTENSIDAD	PERIODO DE TIEMPO	EDAD
1	6	50 cm.	60-68	75-85 A	1 hora	5
2	6	50 cm.	61	80-100 A	3 horas	5,5
3	6	50 cm.	63	80-100 A	5 horas	5
4	6	50 cm.	58	80-100 A	6 horas	4,5
5	6	50 cm.	62	80-100 A	7 horas	4,5
6	6	45 cm.	68	75-85 A	9 horas	5
7	6	50 cm.	60	80-100 A	11 horas	5
8	6	45 cm.	65	80-100 A	16 horas	5
9	6	45 cm.	67	80-100 A	24 horas	4,5
10	6	45 cm.	64	80-100 A	36 horas	5,5
11	6	45 cm.	60	80-100 A	48 horas	4,5
12	6	45 cm.	64	80-100 A	72 horas	5
13	6	45 cm.	66	80-100 A	96 horas	5,5
14	6	45 cm.	60	75-80 A	120 horas	5,5

Para asegurarnos que los ojos han sido expuestos durante el tiempo que han permanecido ante la soldadura, hemos utilizado un blefarostato, tipo colibrí, que fue colocado entre los párpados durante la exposición. Posteriormente estos conejos fueron explorados mediante biomicroscopia, utilizando para ello los siguientes colorantes: Fluoresceína, Rosa de Bengala y Azul de Metileno

Los conejos han sido divididos en lotes y sacrificados a distintos intervalos de tiempo a contar desde el momento de la exposición, tal como muestra la tabla 5

Los datos expuestos en la tabla nº 5 , hacen referencia a los lotes de conejos que han sido expuestos al arco de soldadura, además de estos lotes, hemos tomado otros seis conejos de iguales características y que han compuesto un lote de normales, para obtener una idea lo más exacta posible de las características del ojo del conejo, en condiciones normales y a fin de poder determinar si algunas de las alteraciones encontradas, pudieran corresponder al sistema de proceso de los globos oculares, en cuyo caso, estas alteraciones deberían aparecer con mayor o menor incidencia en la mayoría de las muestras examinadas.

Este lote de conejos normales, llevará el número 0, en la ordenación.

Las diferencias en distancia, son debidas a que en determinadas exposiciones el soldador ha recorrido con el electrodo una determinada distancia durante el tiempo de soldadura y tomamos el valor medio más aproximado.

La duración está marcada en segundos y salvo el primer lote en que se expresa como un intervalo, todos los demás lo que hemos tomado es el valor medio del lote. Hemos de tener en cuenta que los tiempos han sido contados desde que comienza a realizarse la soldadura, no incluyendo los primeros destellos correspondientes al cebado del electrodo.

La intensidad viene expresada como intervalo, debido a que esta va cambiando, dependiendo de la distancia existente entre la pieza y el electrodo.

El periodo de tiempo, hace referencia al tiempo transcurrido desde que se produjo la radiación hasta que el lote de animales fue sacrificado.

La edad viene expresada en meses y procuramos que los lotes fueran lo más homogéneos posible en lo que se refería a estas variables, ya que en caso contrario, nos podría llevar a cometer errores de identificación de estructuras tanto normales como patológicas.

METODO PARA MICROSCOPIA OPTICA:TECNICA DE LA PARAFINA

El globo ocular una vez enucleado, deberá ser fijado inmediatamente en formol al 10% en un volumen unas 20 veces superior al suyo (aproximadamente 300 cm³).

La fijación se obtiene normalmente en 48 horas, la pieza se / encuentra preparada para ser tratada o para su envío según el caso. En nuestro caso, se practicó una incisión con bisturí a nivel de pars plana, con el fin de obtener un mayor difusión del formol y una mejor fijación del globo ocular.

Una vez que la pieza, en nuestro caso el globo ocular, llega al laboratorio, la técnica empleada es la siguiente:

- 1.-Lavar todo el globo ocular en agua corriente.....8 a 24 horas
- 2.-Alcohol al 60%.....8 a 24 horas
- 3.-Descripción microscópica.
 - a.-Describir el aspecto externo, anotando las medidas, aspecto general y lesiones.
 - b.-Abrir el globo, para ello utilizaremos hojas de / afeitar o bisturí bien afiladas; desde el nervio optico hasta la cornea, apoyando la pieza sobre / una lámina de cera.
 - c.-Describir el aspecto de las estructuras internas y lesiones sospechosas.
 - d.-Escribir cualquier dirección específica que deba ser seguida por el técnico para demostrar las es

estructuras y lesiones observadas en el examen macroscópico.

e.-Incluir las directivas a fin de mantener la orientación de la pieza incluida sobre la etiqueta o / marca de identificación.

4.-Si se observarna areas calcificadas, la pieza deberá colocarse en líquido descalcificador por diversos días; esta eventualidad, no se ha presentado en nuestro caso.

5.-Alcohol al 80%, hasta que se coloque en un procesador de tejidos o para su tratamiento manual.

6.-Esquema de procesamiento:

a.-Alcohol 95%.....	2 horas
b.-Alcohol 95%.....	2 horas
c.-Alcohol absoluto.....	1 hora
d.-Alcohol absoluto.....	1 hora
e.-Alcohol absoluto.....	1 hora
f.-Cloroformo.....	1 hora
g.-Cloroformo.....	1 hora
h.-Cloroformo.....	1 hora
i.-Parafina.....	2 horas
j.-Parafina.....	2 horas
k.-Parafina.....	2 horas.

7.-Esquema para procesar o tratar a mano.

- a.-Alcohol 95%, varios pases.....8 a 24 horas
- b.-Alcohol absoluto, varios pases.....8 a 24 horas
- c.-Cloroformo, varios pases.....3 horas
- d.-Parafina, varios pases.....5 horas.

8.-Inclusión. Bioloid-56° 58° M.P Scientific Products Division
American Hospital Supply Corp. Evanston, Illinois.

9.-Bloque.

10.-Corte. Para facilitar los cortes de tejidos, especialmente cristalino y/o sangre recortar el bloque (prepararlo) para exponer el tejido y humedecer con un trozo de algodón saturado con agua del grifo (temperatura ambiente) / por varios minutos. Luego se procederá a enfriar el bloque y el bisturí (cuchilla) con hielo y cortar. Dejar flotar la cinta en un baño de agua, al cual se le habrá añadido aproximadamente cinco cucharaditas de te de una solución de gelatina al 5%, que actuará como un adhesivo para fijar el corte de parafina al porta. Es importante que el baño de agua se vacie al final de cada día de trabajo y se limpie bien el contenedor a fin de evitar el desarrollo de hongos y bacterias que más adelante pudieran adherirse a los cortes y provocar confusiones diagnósticas.

11.-Tinción. En nuestro caso hemos utilizado la Hemotoxilina eosina.

12.-Montar en "Permout" o bálsamo.

13.-Observación. En nuestro caso hemos utilizado un Microscopio fotográfico de la marca Zeiss. Las fotografías se han realizado con películas Agfachrome profesional para luz artificial.

Hemos realizado el procesado de todos los globos para microscopía óptica y Microscopía electrónica de transmisión en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, que dirige el Prof.Dr.D.Hugo Galera Davidson.

METODO PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

- 1.-Fijación en glutaraldehido 5%, durante 2 horas.
- 2.-Tallar en fragmentos pequeños.
- 3.-Refijación en glutaraldehido al 5% durante 1 hora.
- 4.-Pasar la pieza a tampón 0'1 M., se puede conservar hasta una semana.
- 5.-Osmio al 1% durante 3 horas.
- 6.-Alcohol 70%, 5 minutos.
- 7.-Alcohol 95%, 5 minutos
- 8.-Alcohol 100%, 10 minutos.
- 9.-Acetato de uranilo 0'1%, en alcohol 100%, 20 minutos.
- 10.-Alcohol 100% 10 minutos.
- 11.-Oxido de propileno, 10 minutos. Dos pases.
- 12.-Preinclusion, en bote destapado, 1 noche.
- 13.-Mezcla de inclusión, en capsula de gelatina:24 horas a 37°C
+72 horas a 60°C

Dejar enfriar las capsulas al cabo de este tiempo antes de / tocarlas . Inclusion de material en resina "SPURR":

- 1.-Fijación convencional.
- 2.-Tetroxido de osmio.
- 3.-Lavar en agua destilada.
- 4.-Acetato de uranilo 2% en solución acuosa, 30 minutos a temperatura ambiente.
- 5.-Colocar las piezas en viales, y estos en un "Slow mechanical rotator":

5.-Diferenciar en alcohol etílico 70% (según intensidad de color))

Corte ultrafino:

- 1.-Colocar los cortes en rejillas.
- 2.-Colocar el corte en forceps de relojero y rociarlo con / "inhibisol spray" y dejar secar.
- 3.-Pasar a solución diluida de agente humidificante.
- 4.-Acetato de uranilo en metanol al 5%, 5 minutos.
- 5.-Lavar en metanol.
- 6.-Dejar secar.
- 7.-Citrato de plomo de Reynold, 5 minutos.
- 8.-Lavar en agua destilada.
- 9.-Dejar secar.
- 10.-Examinar con microscopio electrónico de transmisión.

El examen y preparación de muestra para microscopio electrónico de transmisión ha sido realizado en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, que dirige el Prof.Dr. D.Hugo Galera Davidson.

Preparación de reactivos:

GLUTARALDEHIDO 5%

20 cc de glutaraldehido comercial (25%)

50 cc de buffer fosfato 0'2 M.

Agua destilada hasta 100 cc.

- Acetona 70%, 5 minutos, dos pases.
- Acetona 90%, 5 minutos, dos pases.
- Acetona 100%, 15 minutos, dos pases.
- +Acetona resina Spurr (1:1), 30 minutos.
- Acetona resina Spurr (1:3), 30 minutos.
- Resina Spurr, 2 horas o más.

6.-Colocar las piezas en las capsulas de gelatina, rellenarlas con resina fresca y dejarlas durante una noche en estufa a 70°C

Corte semi-fino: 1-2 micras.

1.-Colocar el corte en una gota de adhesivo de gelatina, sobre el porta:

Sol.stock A:0'5% gelatina, en agua destilada.

Sol.stock B:0'5% chrome-alum, en agua destilada.

Para su uso mezclar partes iguales de A y B (cada día)

2.-Calentar el porta con un mechero.

3.-Secar en estufa a 70°C

4.-Teñir con:Acido peryodico 1%, en agua destilada a temperatura ambiente, 1 m.

-Lavar en agua destilada.

-Teñir durante 3 m. a 70°C con:-Azul de metileno 1%
en borax 1%
-Azul II 1% en agua destilada.

Mezclar a partes iguaels, filtrar en frasco "COPLIN", calentar antes a 70°C

Se puede conservar en nevera.

BUFFER (TAMPON) FOSFATO 0'2 M. pH 7'4

Sol.A: 6'9 gr de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pm= 137'90)
250cc de agua destilada

Sol B: 17,952 gr de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (pm=358'16)
250 cc de agua destilada.

Las dos soluciones se conservan en nevera para evitar la formación de hongos, se puede añadir cloroformo.

La solución de BUFFER 0,2 M. se hace con: 16 cc de Sol.A
84 cc de Sol.B

Se añade cloroformo, se controla el pH a 7'4 y se guarda en nevera.

BUFFER FOSFATO 0'1 M. pH 7'4:

Diluir a partes iguales el buffer 0'2 M. en agua /
destilada.

OSMIO 1%:

- 1 ampolla de 0'1 gr, bien limpia y desengrasada.
- 4 cc de buffer 0'2 M.
- Agua destilada hasta 10 cc.
- Hacerlo en frasco de cristal, bien limpio y desengrasado, los vapores son tóxicos.

MEZCLA DE EPON PARA INCLUSION:

10 cc de sol. A + 20 cc de sol. B, mezclar muy bien
y añadir 0'47 cc de DMP-30

MEZCLA DE EPON PARA PREINCLUSION:

30 cc de solución de inclusión.
25 cc de oxido de propileno.

MEZCLA A DE EPON:

31 cc de EPIKOTE.
50 cc de DDSA

MEZCLA B DE EPON:

50 cc de EPIKOTE
45 cc de MNA

Las dos soluciones A y B. Pueden conservarse en nevera.

RESINA SPURR:

Se mezcla con ayuda de un mezclador en un contene-
dor de Politeno

ERL 4206.....10 gr

DER 736..... 6 gr

NSA26 gr

Procurar que no quede aire en la mezcla.

Para su uso, añadir gota a gota.

GLUTARALDEHIDO AL 0'6%:

Preparación de Glutaraldehido al 0'6%:

Glutaraldehido comercial (25%).....	2'5 cc
Tampon fosfato de Sorensen.....	97'5 cc
Rojo Neutro.....	1 gota
Hidróxido sódico.....	1 gota

Preparación del tampon fosfato de Sorensen, pH 7'4

- 80 cc de sol. A: Fosfato sódico anhidro (Na_2HPO_4):
9'46 gr/1 l. agua destilada.
- 20 cc de sol. B: Fosfato potásico (KH_2PO_4): 9'07 gr
1/ 1. de agua destilada.

PREPARACION DE MUESTRAS BIOLÓGICAS(M.E.B.)

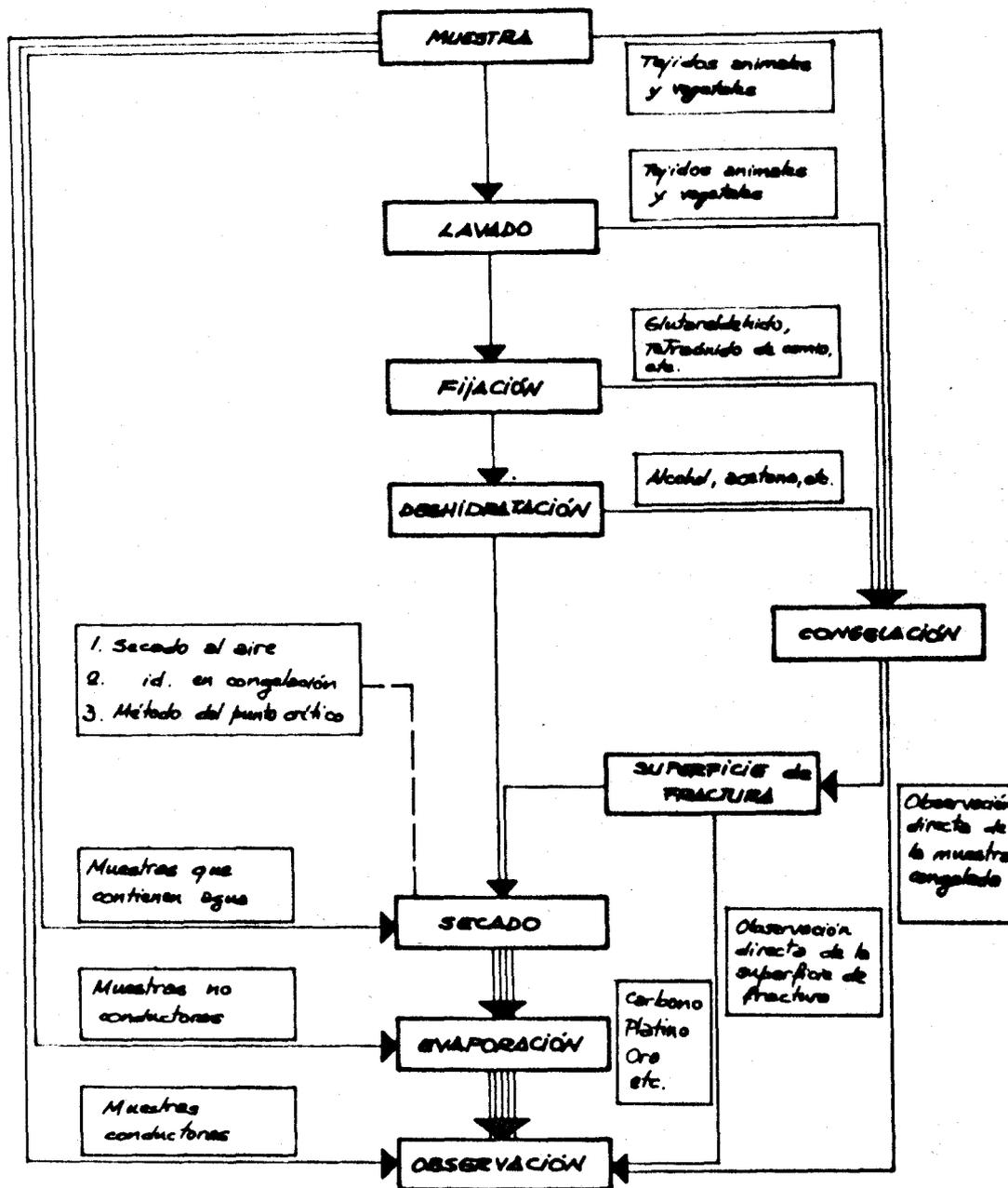
El requerimiento básico para la preparación de muestras, tanto para el Microscopio electrónico de barrido como para cualquier otro tipo de instrumento, es la obtención de una imagen de los tejidos reproducida con la mayor fidelidad posible en relación al tejido vivo. La inevitable necesidad de observar el tejido en alto vacío, es la causa por la cual este método ha resultado, en cierta manera.

Los tejidos vivos contienen, habitualmente, una gran cantidad de agua como parte constituyente, por la cual una de / nuestras principales tareas será la deshidratación y secado del tejido con el mínimo daño posible para la estructura de la célula o del tejido.

El grado de preparación de la muestra variará según la constitución de la misma y la necesidad de conservación de su / integridad, que exija el trabajo que se quiera realizar.

En principio la conservación de la estructura de la muestra deberá ser la mejor posible ; en la figura nº 10 vemos esquemáticamente los distintos modos en que se puede preparar una muestra y los problemas que se plantean en cada caso.

En los tejidos animales ricos en agua, y el ojo es uno de / ellos, podemos descartar de antemano la observación sin fi-



PROCESOS de PREPARACIÓN de MUESTRAS para SEM

jación previa, debido a los problemas que plantea, fundamentalmente la presencia de carga eléctrica en la superficie de la muestra, que se produce especialmente en el caso de materiales de baja conductividad eléctrica, como son precisamente las muestras biológicas, ya que al ser aislantes, no pueden / eliminar de su superficie esta carga electrostática. La presencia de esta carga, produce en la pantalla de observación una serie de defectos ya sean brillos, ya sean efectos de / distorsión de la imagen, que pueden llegar a hacer imposible su observación.

Una forma de paliar este defecto es disminuir la intensidad de la emisión del haz electrónico, pero el sistema más usado es recubrir la superficie de la muestra con una fina capa / conductora, obtenida por evaporación al vacío de un metal / adecuado, tal como oro, paladio u otros . El grosor de esta capa deberá ser el mínimo posible para no deformar la superficie de la muestra, debiendo ser por otra parte tanto más grueso cuanto más rugosa sea ésta; este grosor vá a oscilar entre 5 a 300 armstrong de espesor.

Podemos por tanto dejar de lado, desde un principio, la vía correspondiente al lado izquierdo de la figura nº10 y considerar sólo los métodos siguientes:

1.- LAVADO DE LA SUPERFICIE DE LA MUESTRA=

Es habitual, que ésta superficie esté contaminada con varios

elementos como moco, eritrocitos, gérmenes etc. Estos contaminantes deben lavarse en una solución salina isotónica, pero puede ocurrir que este medio no sea suficiente para eliminarlos y entonces hay que recurrir a otras sistemas tal como baños con ultrasonidos, lavados con enzimas, etc. Cualquiera de estos métodos tiene el inconveniente de que no sólo eliminan los contaminantes, sino que, también dañan la superficie de la muestra.

Aunque la fidelidad de la imagen que tengamos depende en / gran parte del efecto del lavado, se puede admitir que actualmente no tenemos ningún método ideal de lavado.

2.-FIJACION, DESHIDRATAACION Y SECADO CONVENCIONALES.

La fijación es similar a la usada para el microscopio electrónico de transmisión: es generalmente las muestras son fijadas con glutaraldehido, tetroxido de osmio o con ambas cosas. A continuación, el tejido fijado es deshidratado con alcohol o acetona y secado al aire.

Ocurre entonces una serie de deformaciones, dependientes de los distintos procesos de fijación de los solventes empleados para la deshidratación, pero se admite que la rpincipal causa de deformación de los tejidos es el secado después de la deshidratación, debidos a los cambios que ocurren en la / tensión superficial de los solventes, y que pueden producir contracciones y fisuras en el tejido o en las células, y agregación y comprensión de microestructuras, tal como cilios.

Es difícil, decidir que método de fijación y deshidratación es el mejor, ya que el grado de deformidad varía según cada tipo de tejido.

3.-CONGELACION.

La observación de muestras congeladas se ha desarrollado como una posibilidad para observar las piezas sin fijación previa, pero sin que se produzca en su superficie fenómenos de acumulación de cargas electrónicas. La muestra se sumerge / primero en una solución de crioprotector, tal como glicerina, para evitar en lo posible la formación de cristales de hielo, y luego se refriega rápidamente a 170°C., en nitrógeno líquido, la observación se hace a bajo voltaje.

El método permite la observación directa de la muestra pero a pesar de todo, se ven cristales de hielo, sin contar con los efectos que produce la glicerina sobre la superficie de la muestra. No obstante, el principal inconveniente del método, es que resulta casi imposible conseguir observaciones / con un número de aumentos superior a 100 ϕ .

Alternativamente, la congelación se puede usar en combinación con procedimientos de fijación y deshidratación convencionales.

4.-METODO DE FRACTURA DE CONGELACION.

Es un método mediante el cual no podemos observar verdaderos cortes, sino la superficie de fractura producida mediante la acción mecánica. La preparación es similar a la que / hemos especificado anteriormente.

Asimilables a este mismo sistema son los métodos de inclusión en resina, tal como el método de TANAKA, consistente en que la muestra fijada y deshidratada se impregna con una resina epoxy y se refrigera hasta que solidifica la resina, en cuyo momento se fractura la pieza, la resina es eliminada mediante un solvente adecuado, y la muestra se deja secar.

5.-METODO DEL PUNTO CRITICO DE SECADO.

Para resolver los problemas que presenta el secado convencional al aire, debido a la tensión superficial de los solventes que quedan en la pieza, se ha ideado el método de secado en punto crítico.

Recordemos que en condiciones de volumen constante, hay una serie de presiones y temperatura, en las cuales alcanza una fase de equilibrio entre un líquido y un gas, existiendo un estado en el que no hay diferencia entre ambos estados de la materia.

El denominado punto crítico, corresponde a unas condiciones únicas de volumen-presión-temperatura, en las cuales coexisten en punto de equilibrio los estados sólidos, líquido y / gaseoso de la materia.

En realidad, no es en este punto crítico donde se realiza el secado, sino en un punto más favorable de la curva correspondiente a la fase líquido-gas.

De los fenómenos físicos que se producen en este punto crítico, lo que nos interesa es que pueda eliminarse un solvente de una forma rápida y sin que se produzcan fenómenos debidos a la tensión superficial, con lo cual la muestra preparada / de esta manera conserva la estructura de superficie de una forma más perfecta que en el caso del secado al aire.

6.-EVAPORACION.

La muestra, una vez preparada por cualquiera de los métodos ya expuestos, es habitualmente recubierta con oro o carbono-oro, en cantidades variables, según el espécimen.

Esto se consigue con un evaporador, en cuyo interior la muestra puede girar y orientarse en cualquier dirección durante el proceso de evaporación, para conseguir que la película / sea lo más uniforme posible, independientemente de la estructu

tura de la muestra.

Además del oro, se suelen usar para la evaporación aleaciones de oro-paladio, platino-paladio, platino-carbono, etc.

METODO PARA LA PREPARACION DE MUESTRAS. (M.E.B.)

En todos los casos hemos obtenidos globos oculares completos que habían sido previamente enucleado. En los casos en que fue necesaria, la muestra se lavó con suero fisiológico y luego se introdujo en un frasco con fijador.

La solución de fijación, era glutaraldehído al 3% (también puede ser usada al 2%) en Tampon cacodilato, preparada con 12 cc de glutaraldehído al 25% y 88 cc de cacodilato 0.1 molar (también se puede usar tampon fosfato) ajustándose / al pH entre 7.2-7.4, con clorhídrico 0.1 normal.

En esta solución se mantienen las piezas un tiempo, que puede oscilar entre las 4 horas y las 24, dependiendo del tamaño y del tipo del tejido, durante el tiempo de fijación, se colocarán los frascos a una temperatura de 4°C.

Una vez fijados, se procede a lavar los tejidos con tampon, se lavará dos o tres veces con tampon frío durante 5 o 15 minutos por lavado, puede mantenerse en tampon durante semanas antes de la deshidratación, manteniéndose la pieza bañada / por el tampon y a 4°C.

Posfijación, se puede realizar con tetróxido de osmio al 1% en tampon fosfato o cacodilato, durante 1 hora 4°C. Este paso puede ser omitido, nosotros no lo hemos realizado en ningún

caso.

Lavado, en tampo fosfato o cacodilato, dos o tres veces durante 5 o 15 minutos cada vez, a temperatura ambiente.

La deshidratación se realizará a temperatura ambiente con / una serie de alcoholes etílicos:

a-50%.....10 minutos	d-95%.....10 minutos
b-80%.....10 minutos	e-100%.....10 minutos
c-95%.....10 minutos	f-100%.....10 minutos

Esta ha sido la serie alcohólica usada por nosotros, pero si se desea, puede prolongarse con cuatro pases más como detallamos a continuación:

- g - 1:1, solución de etanol 100% + Freon 113.....15 minutos.
- h - 1:1, solución de etanol 100% + Freon 113.....15 minutos.
- i - Freon 113 durante 15 minutos
- j - Freon 113 durante 15 minutos.

El tejido puede dejarse en Freon 113 durante toda la noche.

Secado, nuestro método de secado ha sido realizado dejando las muestras sobre un papel de filtro, al aire durante unos minutos.

La pieza así preparada se coloca sobre un portaobjetos del

microscopio, al que se adhiere mediante un papel celo que ha sido previamente recubierto por una fina capa de oro, / el fragmento de muestra deseado se terminará de fijar al / portaobjetos mediante una solución de plata coloidal.

Como portaobjetos, se utilizan unos cilindros de aluminio de 12 mm. de diámetro.

A continuación, el portaobjetos con la muestra, se introducen en la cámara de evaporación de alto vacío, en nuestro caso una Hitachi HUS-4GB que es el modelo de que hemos dispuesto, recubriéndolo con una fina película de carbón-oro.

De este modo, las muestras están ya preparadas para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido.

METODO PARA LA OBSERVACION DE LAS MUESTRAS(M.E.B.)

La observación de las muestras se ha realizado en microscopio electrónico de barrido, del Departamento de Higiene del Instituto Territorial de Sevilla del Plan Nacional de Higiene y Seguridad del Trabajo.

Hemos utilizado un modelo HHS-2R de la casa Hitachi, obteniéndose las microfotografías a partir de las imágenes de electrones secundarios, con una tensión de aceleración de 25 Kv, para el haz incidente y utilizando una distancia de trabajo de 25 mm.

Las microfotografías han sido realizadas con películas Kodak tipo tri-X, con una sensibilidad de 400 ASA, utilizando el dispositivo fotográfico del propio microscopio, el cual viene equipado con una cámara Canon, modelo FTB. La exposición / para la obtención de microfotografías se ha realizado mediante un barrido lento de la pantalla de 90 segundos de duración.