

Lesiones retinianas producidas experimentalmente en ratas por tiner

ROSARIO BARROSO-MOGUEL*
VÍCTOR ROMERO-DÍAZ,
JUANA VILLEDA-HERNÁNDEZ
MARK RUBÉN

Por varios años hemos estudiado microscópicamente las lesiones que se producen en el sistema nervioso de humanos, gatos y ratas, crónica y experimentalmente intoxicados con solventes industriales y particularmente con tiner.¹⁻⁵ Debido al problema social, médico, neurológico y psiquiátrico que se presenta, cada vez con mayor frecuencia, entre niños, adolescentes y jóvenes en México, por la inhalación crónica voluntaria de tiner y las complicaciones visuales que se producen en las personas que lo inhalan, en forma continua, por más de un año, decidimos estudiar microscópicamente la evolución de las lesiones oculares y en especial la retina, en ratas albinas que inhalaban experimentalmente tiner en forma crónica.

Material y Métodos

Se utilizaron 30 ratas blancas cepa Wistar, adultas, de 50 días de edad, 15 hembras y 15 machos con peso promedio de 250 g, obtenidas del Bioterio Nacional de la Secretaría de Salud.

Presentada en sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, el 8 de julio de 1987.

*Académico titular.

Todos los autores. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Secretaría de Salud.

Las ratas permanecieron en cajas especiales de policarbonato con tapas de filtro de alambre, a temperatura entre 21 a 22°C, con una humedad relativa de 50 por ciento \pm 10 y con un ciclo de 12 horas de luz y oscuridad. Se les administró alimento y agua *ad libitum*. Las ratas permanecieron en estas condiciones por un mínimo de dos semanas desde su llegada hasta el inicio de nuestro experimento. Tres machos y tres hembras sirvieron como grupo control. Las otras 24 ratas inhalaban cada una 1 ml diario de tiner por 2 minutos en una cámara cerrada con una capacidad de aire de 10 L.

Cada 15 días, 2 machos y 2 hembras fueron sacrificados, hasta completar 90 días. Tan pronto se sacrificaron, fueron perfundidas por vía intracardiaca con formol al 10 por ciento en solución isotónica de cloruro de sodio. Cinco minutos después, se extrajeron los globos oculares con sus respectivos nervios ópticos y fijados en solución acuosa de formol al 10 por ciento durante 15 días. Después fue extraído el cristalino y el resto del ojo se incluyó en parafina. Se hicieron cortes transversales de ambos ojos de 5 a 7 micras de grosor a nivel del ecuador ocular, incluyendo el nervio óptico. El fragmento estaba a 1 mm de la fovea, midiendo 5 mm² e incluía todas las capas de la retina. Fueron teñidos con el método tricrómico de Masson, hema-

toxilina y eosina y la doble impregnación de plata-oro de Río-Hortega, modificada por nosotros para parafina.

Resultados

En las ratas sacrificadas a los 15 días de inhalación diaria, se aprecian lesiones degenerativas difusas neuronales, con distinta intensidad en las diferentes capas de la retina. Los cambios morfológicos observados a los 15 días consisten en la desaparición del segmento externo y núcleos de algunos conos, con huecos visibles sobre la membrana limitante externa. (fig. 1). También desaparecieron los núcleos de algunas células horizontales, bipolares y amacrinas de la capa nuclear interna. A los 30 días se vio un discreto adelgazamiento de la capa plexiforme externa (fig. 2). El número de células degeneradas en la capa nuclear interna aumentó a los 45 días; las células bipolares tienen su núcleo picnótico y argirófilo y desaparecieron completamente en muchos sitios; además las células horizontales estaban edematosas (fig. 3).



Figura 1. Microfotografía panorámica de la retina de ratas con todas sus capas, después de 15 días de inhalar diariamente tiner. Obsérvense los huecos que dejan la desaparición de la porción externa de los conos y de sus núcleos en la capa nuclear externa. Método de Río-Hortega. 250 X.



Figura 2. Detalle de la porción externa de la retina de rata después de inhalar diariamente tiner durante 30 días. Muchos conos y sus núcleos han desaparecido dejando huecos y la capa plexiforme externa está adelgazada por atrofia de las fibras nerviosas que la unen a la capa nuclear interna. Método de Río-Hortega. 500 X.



Figura 3. Gran aumento de la capa nuclear interna de la retina de la rata a los 45 días de inhalar diariamente tiner. Varias células bipolares tienen su núcleo picnótico y argirófilo, otras han desaparecido dejando huecos. Algunas células horizontales están edematosas. Método de Río-Hortega. 1000 X.

La capa nuclear interna continuó adelgazándose; a los 60 días mostraba numerosos huecos dejados por las células bipolares y amacrinas desaparecidas. La disminución del grosor de la capa plexiforme externa se debió a atrofia y desaparición de gran número de fibras nerviosas (fig. 4).



Figura 4. Retina de la rata después de inhalar por 60 días tiner. A gran aumento se muestra la capa nuclear interna con numerosos huecos que han dejado las células horizontales y bipolares desaparecidas. Además aumenta el adelgazamiento de la capa plexiforme externa por atrofia de las fibras nerviosas. Método de Rio-Hortega. 1000 X.

A los 75 días de inhalación diaria la capa ganglionar estaba aún más adelgazada, debido a que la mayoría de las neuronas habían desaparecido. Las neuronas sobrevivientes estaban desorganizadas, con signos degenerativos de retracción citoplásmica y núcleos picnóticos y argirófilos, sus prolongaciones retraídas y la capa de fibras nerviosas adelgazada. En algunos sitios sólo quedaba la membrana limitante interna y algunas células neuróglícas (fig. 5).

Después de 90 días de inhalación diaria la porción externa de los conos había desaparecido y la parte externa de los bastones estaba muy alterada, formando una banda hialina; los núcleos habían desaparecido en muchos lugares y en diferentes niveles, algunos de ellos haciendo protrusión en forma de esferas que tendían a desprenderse (flechas, fig. 6).



Figura 5. Retina de ratas a los 75 días de inhalación diaria de tiner. Imagen a gran aumento de la capa ganglionar adelgazada. La mayoría de las neuronas han desaparecido por degeneración, dejando grandes huecos; varias de las neuronas restantes tienen núcleos picnóticos. Método de Rio-Hortega. 1000 X.



Figura 6. Retina de rata a los 90 días de inhalar diariamente tiner. Microfotografía a gran aumento que muestra desaparición de conos e intensa alteración de los bastones con desprendimiento esférico de su parte externa. Método de Rio-Hortega. 1000 X.

En una imagen panorámica tomada a los 90 días, que abarca todas las capas de la retina, la membrana limitante externa estaba engrosada y había numerosos huecos por ausencia de conos y bastones. En la capa nuclear externa, existían muchos espacios dejados por los núcleos de estas células destruidas. La capa plexiforme externa estaba adelgazada. En la capa nuclear interna también había numerosos huecos por la desaparición de las células horizontales y núcleos de las bipolares y amacrinas. En la capa ganglionar la mayoría de las neuronas habían desaparecido en extensas áreas quedando sólo sus núcleos picnóticos, y células neuróglicas de Müller conservadas (fig. 7), abundantes fibras del nervio óptico en diferentes grados de degeneración y atrofia con aspecto esponjoso. Las células neuróglicas de oligodendroglía mostraban una discreta alteración por edema.

En los cortes estudiados a partir de los 45 días de inhalación existía una esclerosis incipiente en la pared de los vasos sanguíneos que irrigan las paredes de la retina, más intensa y difusa a los 90 días, produciendo obstrucción de la luz sobre todo a nivel de las capas profundas, lo que favorecía su adelgazamiento y atrofia (fig. 8).



Figura 7. Imagen panorámica de todas las capas retinianas, después de inhalar por 90 días tiner. Todas las capas están muy alteradas por degeneración, atrofia y desaparición de las células y fibras nerviosas. Método de Río-Hortega. 300 X.



Figura 8. Microfotografía panorámica de las capas retinianas que muestran la esclerosis de los vasos que la irrigan. Algunos tienen ya su luz obstruida. Método de Río-Hortega. 200 X.

Discusión

Los efectos neurotóxicos del tiner sobre la retina son indiscutibles. Su mecanismo de acción no está bien establecido; es posible que llegue por vía sanguínea y lesionando directamente a las células de las diferentes capas en forma alternante e inespecífica. Desde los primeros 15 días de inhalación, existe destrucción progresiva, tanto de los conos como de las células horizontales, bipolares y amacrinas de la capa nuclear interna. Estas lesiones se acentúan más después de los 30 y 45 días, siendo más intensa a los 90 días, acompañándose de destrucción amplia de las capas ganglionar y de fibras nerviosas.

Las lesiones de esclerosis vascular, evidentes en todas las capas de la retina, similares a las descritas en el cerebro y cerebelo por Costero y Barroso-Moguel²⁻⁴ y Barroso-Moguel y col.,⁵ que aparecen en esta investigación a partir de los 45 días contribuyen de manera importante a la atrofia de las capas plexiformes y a la destrucción, por isquemia, de muchas neuronas de las capas nuclear externa, interna y ganglionar.

Trabajos hechos por Coyle y col.⁶ usando ácido kainico, a bajas concentraciones, inyectado *in situ* en el ojo de conejos; así como los de Hampton y col.,⁷ usando ácido kainico y ácido glutámico, en el ojo de conejo y otros mamíferos; los de Tapia y Arias⁸ que describen los efectos neurotóxicos del ácido kainico en algunas áreas del sistema nervioso central, incluyendo el núcleo estriado y la retina de pollo, y los de Peichel y Bolz⁹ con ácido kainico inyectado en el humor vítreo de gatos y conejos adultos, demostraron experimentalmente las alteraciones de la retina debi-

das a sustancias tóxicas. En humanos Rubinstein y col.¹⁰ demostraron la gran sensibilidad de la retina a nivel de los fotorreceptores en individuos que recibieron tratamiento crónico intravenoso con desferrioxamina, en los que se produce ceguera nocturna y pérdida de la visión a los colores, escotoma central y anillo pigmentario macular. Estas lesiones son lentamente reversibles al suspenderse el tratamiento.

Creemos que la inhalación crónica de tiner demuestra la vulnerabilidad temprana de la retina, especialmente de los conos y células horizontales; y más tarde, de las células bipolares, amacrinas y ganglionares que desaparecen. Postulamos que es debido a tres factores: 1) una lesión directa del tiner que llega por vía sanguínea; 2) atrofia por inactividad cuando muchas dendritas de las células horizontales, bipolares y amacrinas desaparecen, y 3) isquemia debida a la esclerosis capilar. Estos factores causan una desaparición de las fibras nerviosas en la capa ganglionar y en el nervio óptico. Los bastones son más resistentes, aun cuando parecen alterarse y destruirse algunos desde el principio; en la fase final la capa nuclear externa no sólo disminuye de grosor, sino que desaparecen los núcleos.

El porcentaje de células destruidas y de la progresión de la esclerosis vascular a los 90 días, en relación con la dosis de tiner inhalado se muestran en la fig. 9. El porcentaje de destrucción de los diferentes elementos de la retina, a los 90 días, se presenta en la figura 10.

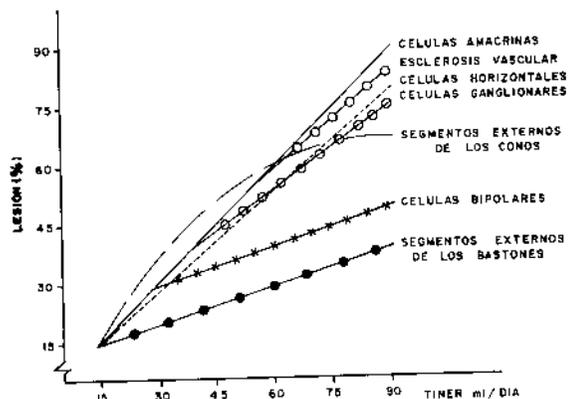


Figura 9. Gráfica que indica el porcentaje de lesión celular en las capas de la retina, en relación con la dosis diaria de 1 ml de tiner inhalado.

Concluimos que las alteraciones visuales que aparecen en los niños y jóvenes que inhalan crónicamente tiner, están producidas por mecanismos semejantes a los descritos en esta investigación y que el tiner inhalado crónicamente produce un daño permanente e irreversible en la retina.

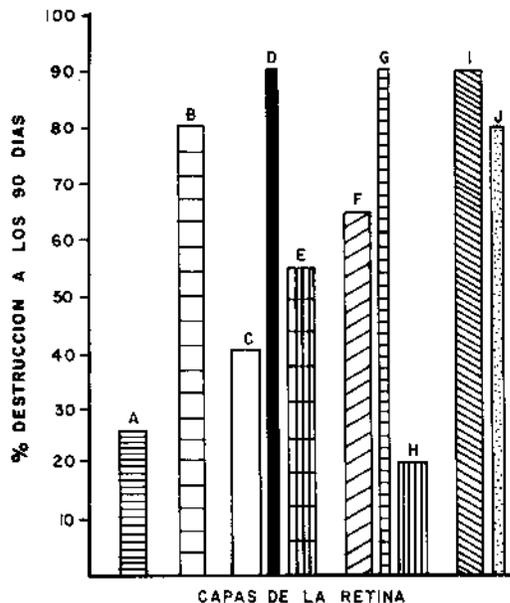


Figura 10. Gráfica que demuestra la distinta labilidad de las células que integran las capas de la retina, en ratas que inhalaban diariamente 1 ml de tiner durante 90 días.

REFERENCIAS

1. BARROSO-MOGUEL, R.: *Alteraciones morfológicas producidas por inhalantes*. Cuadernos Científicos CEMESAM. México. 1975; 2: 97.
2. COSTERO, I. y BARROSO-MOGUEL, R.: *Alteraciones encontradas en gatos intoxicados experimentalmente con inhalación de solventes industriales*. En: Contreras, C.: *Inhalación Voluntaria de Disolventes Industriales*. México. Trillas. 1977, pág. 163.
3. COSTERO, I. y BARROSO-MOGUEL, R.: *Alteraciones microscópicas encontradas en el sistema nervioso central de gatos y ratas albinas relacionables con la intoxicación de solventes industriales (tolueno y tiner)*. Cuadernos Científicos CEMESAM, México. 1978; 8: 91.
4. COSTERO, I. y BARROSO-MOGUEL, R.: *Cytological changes in cats exposed to industrial solvents*. En: Sharp Ch. W. y Carroll, Th. (Eds.): *Voluntary Inhalation of Industrial Solvents*. National Institute on Drug Abuse. U.S. Department of Health. Education and Welfare, USA. 1978, pág. 246.
5. BARROSO-MOGUEL, R.; AZNAR, T. y VAZQUEZ, V.E.: *Lesiones microscópicas cerebelosas en humanos, gatos y ratas producidas por tiner y tolueno*. Cuadernos Científicos CEMESAM, México. 1980; 12: 137.
6. COYLE, J.T.; MOLLIVER, M.E. y KUCHAR, M.J.: *In situ injection of kainic acid: A new method for selectively lesioning neuronal cell bodies while sparing axons of passage*. J. Comp. Neurol., 1978; 180: 301.
7. HAMPTON, C.K.; GARCIA, CH. y BANDBURN, D.A.: *Localization of kainic acid-sensitive cells in mammalian retina*. J. Neurosc. Res. 1981; 6: 99.
8. TAPIA, R. y ARIAS, C.: *Selective stimulation of neurotransmitter release from chick retina by kainic and glutamic acids*. J. Neurochem., 1982; 39: 1169.
9. PEICHL, L. y BÖLS, J.: *Kainic acid induces sprouting of retinal neurons*. Science, 1984; 223: 503.
10. RUBINSTEIN, M.; DUPONT, P.; DOPPEE, J.P.; DECOBU, J. y HAINAUT, J.: *Ocular toxicity of desferrioxamine*. Lancet, 1985; 8432: 817.