

AUGUSTO ADAM NETTO

EFETOS AGUDOS DA LUZ FLUORESCENTE SOBRE
ESTRUTURAS DO BULBO OCULAR E ANEXOS OCULARES
DO RATO ALBINO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do grau de MESTRE EM OFTALMOLOGIA.

Orientador: Prof. Dr. Erasmo Romão

Co-Orientador: Prof. Dr. Affonso Luiz Ferreira

RIBEIRÃO PRETO, S.P.

— 1981 —

Aos meus pais Augusto e Maria,
com carinho e gratidão.

Nossas homenagens,

aos Professores Doutores:

ERASMO ROMÃO

AFFONSO LUIZ FERREIRA

OTTO FREUSBERG e

ALMIRO PINTO DE AZEREDO

pela orientação, formação profissional e
constante estímulo à pesquisa.

Nossos agradecimentos:

Ao Professor ODÉCIO SANCHES, pela orientação metodológica e estatística.

Aos amigos e funcionários dos departamentos de Oftalmologia-Otorrinolaringologia e Morfologia, pelo incentivo e ajuda.

**EFEITOS AGUDOS DA LUZ FLUORESCENTE
SOBRE ESTRUTURAS DO BULBO OCULAR E
ANEXOS OCULARES DO RATO ALBINO**

Í N D I C E

	Pág.
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	6
RESULTADOS	16
— Exame macroscópico e sob lupa binocular do bulbo ocular	17
— Medida do calibre externo dos vasos retinianos	17
— Aspectos microscópicos das retinas, músculos extraoculares e glândulas de Harder	24
— Reações histoquímicas da glândula de Harder	28
— Inervação da íris	29
— Placas motoras dos músculos extraoculares	31
DISCUSSÃO	32
CONCLUSÕES	52
SUMÁRIO	54
SUMMARY	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
APÊNDICE	63

INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da sua existência e durante um longo período de sua evolução, a única forma de energia iluminante conhecida pelo homem era a luz solar. Estava assim, dividindo o dia em duas simples etapas: a diurna, com a luz iluminando as suas atividades de sobrevivência e a noturna, com a escuridão completa ou o tênue luar obrigando-lhe ao repouso e ao abrigo dos perigos que esta lhe oferecia.

Com o passar dos milênios e a constante observação dos fenômenos que ocorriam na natureza, descobriu o fogo e os períodos de escuridão passaram a ser iluminados por esta nova forma de energia radiante, que permaneceu longa época em seus hábitos de vida.

O transcorrer do tempo e a evolução de seus conhecimentos, a realização de novas experiências e a observação permanente dos acontecimentos levaram o ser humano a descobrir os primeiros fenômenos relacionados com a eletricidade, como a atração de fragmentos de palha por um bastão de âmbar previamente friccionado num pedaço de pele de animal, verificada por THALES DE MILETO no ano 600 A. C. (HALLIDAY e RESNICK, 1974).

Apesar destas observações pioneiras sobre a eletricidade, por inúmeros séculos o homem continuou a usar o fogo como fonte de energia luminosa, quer em tochas e velas ou outros tipos de lâmpadas rudimentares de combustão, como as de combustível líquido (azeite, petróleo, etc.), de acetileno ou mesmo de gás.

Com o descobrimento da corrente elétrica por VOLTA no ano de 1800, surgem os princípios da eletrodinâmica e do eletromagnetismo e um ano mais tarde THENARD demonstrou que as correntes elétricas podem produzir a incandescência de fios metálicos, que se constituiu na primeira idéia de uma lâmpada elétrica incandescente (ENCICLOPÉDIA DELTA LAROUSSE, 1960).

A primeira lâmpada elétrica incandescente porém, começou a fazer parte da vida do ser humano somente a partir de 1880 com THOMAS EDISON e foi sucessivamente aperfeiçoada por NERNST em 1898, LANGMUIR em 1910 e CLAUDE em 1935, até atingir o estado em que atualmente se encontra. As radiações máximas destas lâmpadas situam-se na região dos raios infra-vermelhos e conseqüentemente o seu funcionamento é

acompanhado de liberação de grande quantidade de calor e razoável consumo de energia (ENCICLOPÉDIA DELTA LAROUSSE, 1960).

Apenas alguns anos mais tarde, começaram a ser fabricadas em escala comercial as lâmpadas elétricas fluorescentes, atualmente de amplo emprego no comércio, indústria e em residências. Basicamente, estas lâmpadas são constituídas por um tubo de vidro ou bulbo internamente revestido por um material fluorescente chamado fosfor ou luminóforo (holofosfato de cálcio ou tungstato de magnésio) misturado a substâncias ativadoras; dois estemes que fecham as extremidades do tubo e suportam os cátodos; uma base cimentada em cada extremidade do tubo que une a lâmpada ao circuito de iluminação; preenchendo o interior do bulbo, além de algumas gotículas de mercúrio há ainda uma pequena quantidade de argônio, que se ioniza rapidamente quando uma tensão suficiente é aplicada através do bulbo (IES, 1959).

Uma diferença de voltagem entre os dois cátodos origina um arco elétrico que salta na direção do gás de enchimento, cuja ionização causa modificações nos níveis de energia dos elétrons nos íons de mercúrio. Em conseqüência, há liberação de energia de diversos comprimentos de onda e principalmente na forma de radiações ultravioleta. Toda esta energia resultante é irradiada para as paredes do tubo onde parte dela faz com que o material fluorescente de revestimento fluoresça e emita luz. Além da luz (22%), outras formas de energia são emitidas, como a radiação ultravioleta (0,5%), radiação infra-vermelha (35,7%) e o remanescente é dissipado pela condução e convecção (41,8%) (GENERAL ELECTRIC DO BRASIL, 1980).

Desde a sua descoberta, as lâmpadas fluorescentes apresentaram maior eficiência luminosa e fluxo luminoso que as lâmpadas incandescentes, mas inúmeros aperfeiçoamentos fizeram-se necessários, visando melhorar a reprodução das cores e assim várias espécies de pós fluorescentes de revestimento interno dos bulbos foram desenvolvidos, surgindo desta maneira os tipos de lâmpadas hoje conhecidos, que de acordo com o ambiente, permitem uma perfeita reprodução das cores originais dos objetos (PHILIPS DO BRASIL, 1980).

O baixo custo operacional, alta eficiência luminosa, o alto fluxo luminoso e a perfeita reprodução das cores, tornaram este tipo de iluminação a opção preferencial, particularmente em indústrias, escritórios e ocasionalmente em residências. Estes fatores, fizeram com que exageros fossem cometidos e as condições máximas de boa visibilidade desrespeitadas, gerando desta maneira uma série de distúrbios, principalmente visuais, aos indivíduos que permanecem várias horas nestes ambientes exa-

geradamente iluminados. Além das grandes intensidades luminosas, a constante pulsação desta iluminação em corrente alternada e a composição espectral da luz emitida, são fatores importantes na gênese destas sensações oculares desagradáveis.

Queixas como “olhos vermelhos”, “cefaléia” e “cansaço visual”, passaram a ser muito freqüentes nas pessoas que trabalham nestes ambientes excessivamente iluminados pela luz fluorescente e não raramente elas estão “estressadas” e o seu rendimento no trabalho cai consideravelmente (HÖFLING, 1979). Níveis elevados de cortisol no sangue foram constatados nestes indivíduos quando comparados com pessoas cegas colocadas na mesma iluminação por igual período de tempo (HOLLWICH, 1979).

Estudos experimentais, realizados com o intuito de demonstrar os efeitos da luz fluorescentes sobre o bulbo ocular foram iniciados por NOELL e colaboradores em 1966 e externaram as alterações desencadeadas por este tipo de iluminação sobre a retina de ratos albinos. Resultados idênticos aos publicados por estes pesquisadores foram obtidos por GORN e KUWABARA (1967), KUWABARA e GORN (1968), GRIGNOLO e cols. (1969), O’STEEN (1971) e O’STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972) entre outros, utilizando intensidade luminosas e períodos de exposição variáveis.

O efeito deste mesmo tipo de iluminação sobre as glândulas pineal e de Harder, retina e órgãos reprodutivos femininos de ratas albinas foi pesquisado por REITER e KLEIN (1971), utilizando baixa intensidade luminosa e períodos de exposição prolongados.

A degeneração dos músculos extraoculares e da glândula de Harder, destes mesmos animais, após exposição prolongada à luz fluorescente em alta intensidade, foi constatada inicialmente por O’STEEN, KRAEER e SHEAR (1978) e a sua regeneração confirmada mediante a reintrodução dos animais na iluminação ambiental cíclica.

Poucos e controvertidos são os trabalhos existentes na literatura abordando a influência da luz incandescente sobre a circulação retiniana do rato albino (FRIEDMAN e KUWABARA, 1964; MORRIS, BELLHORN e HENKIND, 1970). Utilizando a iluminação fluorescente, deparamos apenas com a pesquisa de DANTZKER e GERSTEIN (1969), que concluíram não haver nenhum efeito desta sobre o comportamento normal dos vasos da retina de maior calibre, mostrando os capilares porém, áreas de degeneração. Compararam os autores os seus achados aos descritos nas distrofias hereditárias das células visuais retinianas e da decorrente à intoxicação pelo iodoacetato.

Outras estruturas, como o epitélio pigmentar da retina de camundongos pigmentados ou não, também sofrem alteração quando são expostos à luz fluorescente de alta intensidade (ROBINSON JR. e KUWABARA, 1976; FRIEDMAN e KUWABARA, 1968) e esta degeneração, segundo estes autores, exerce alguma influência sobre a regeneração das células visuais retinianas.

A necessidade da energia radiante emitida pelas lâmpadas fluorescentes nos mecanismos que desencadeiam as alterações nestas diferentes estruturas do bulbo ocular e anexos oculares é indiscutível. Permanece obscura porém, a maneira pela qual eles atuam e estudos mais detalhados, fundamentando-se no espectro de emissão das lâmpadas deverão ser realizados, procurando assim elucidá-los.

Carece a literatura também de estudos sobre o efeito da luz fluorescente na histoquímica da glândula de Harder, inervação da íris e placas motoras dos músculos extraoculares, cujas alterações não vimos descritas na bibliografia revisada.

É, pois, nosso propósito na presente investigação, estudar os efeitos produzidos pela luz fluorescente sobre algumas estruturas do bulbo ocular e anexos oculares do rato albino, procurando comparar os presentes achados com os já existentes e acrescentar novas informações sobre algumas estruturas do bulbo ocular e anexos, ainda não relatadas na literatura.

Assim, propusemo-nos a investigar, mediante tecnologia adequada, o calibre externo dos vasos retinianos, alguns aspectos histológicos da retina, a glândula de Harder, os músculos extrínsecos, a inervação da íris e a inervação motora de músculos extraoculares.

MATERIAL E MÉTODOS

1. MATERIAL:

a) Animal:

Utilizamos no presente trabalho ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da variedade Wistar (Berkernhout) de ambos os sexos, com pesos de aproximadamente 130 g, obtidos do biotério central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

b) Grupos de animais:

b.1) Grupo controle:

Constituído por 10 animais com pesos de aproximadamente 130g, de ambos os sexos, mantidos no laboratório, em iluminação cíclica (ciclo dia-noite natural), durante 48 horas depois de sua chegada do biotério central. Receberam neste período, alimentação e água “ad libitum”.

b.2) Grupo exposto à luz fluorescente:

Formado por 30 animais de aproximadamente 130 g de peso, de ambos os sexos, introduzidos em gaiola transparente de “plexiglass”, cujas dimensões eram 41 cm de comprimento x 19,5 cm de largura x 18 cm de altura. Os animais eram mantidos em câmara escura e submetidos à iluminação contínua de 6 lâmpadas fluorescentes OSRAM, 20 watts, “rapid start”, “luz do dia”, KZT, durante 48 horas. As lâmpadas foram montadas em calhas e mantidas por um suporte guardando uma distância de 30 cm do fundo da gaiola. A temperatura média no interior do receptáculo foi cerca de 34,5°C e a ventilação era normal. Durante todo o período de exposição à luz fluorescente os animais receberam água e alimentação “ad libitum”.

2. MÉTODOS:

A seleção prévia dos animais foi feita mediante exame clínico-macroscópico dos olhos de cada rato, sendo excluídos aqueles que apresentassem alguma anormalidade ocular visível. Os animais que morreram no decorrer do experimento não tiveram seus bulbos oculares e anexos analisados.

A alimentação e a água de ambos os grupos de ratos era renovada diariamente, ocasião na qual se observava o comportamento, estado geral e se inspecionava as condições oculares de cada animal.

Ao final de 48 horas, 20 animais (15 do grupo exposto à luz fluorescente e 5 do grupo controle) foram anestesiados com éter etílico e os olhos examinados "in vivo" com uma lupa binocular de 40 aumentos, após o que, procedia-se a uma abertura tóraco-abdominal ampla com tesoura e bisturi, até a perfeita visualização do coração. A aorta descendente era ligada com fio de sutura inabsorvível e o ventrículo esquerdo puncionado com seringa e agulha apropriadas. Em seguida eram injetados 0,1 ml/Kg de peso de tinta nanquim preta, marca Rotring, observando-se se ocorreu a impregnação dos territórios irrigados pelas artérias carótidas interna e externa. Caso esta tenha sido satisfatória e a morte do animal ocorrido, os bulbos oculares eram enucleados e fixados em solução de formol a 10%, durante 24 horas.

Os restantes 20 animais (15 do grupo exposto à luz e 5 do grupo controle) foram sacrificados por inalação de éter etílico, sendo em seguida realizada a exenteração da órbita, para a retirada sob lupa binocular (40x), dos músculos extraoculares, das glândulas de Harder, das retinas e das íris de ambos os olhos.

Alguns músculos extrínsecos, as glândulas de Harder e as retinas foram fixadas em solução de formol a 10% por um período de 24 horas para posterior estudo histológico. Os demais músculos extraoculares foram introduzidos, após lavagem em solução de Tyrode, numa solução aquosa de tetróxido de ósmio e iodeto de zinco a 1% durante 18 horas.

As íris de ambos os olhos, retiradas igualmente sob lupa estereoscópica (40x), eram lavadas em solução de Tyrode e colocadas numa solução aquosa de tetróxido de ósmio e iodeto de zinco a 1% por 24 horas, para evidenciar a inervação autônoma.

a) Medida do calibre externo dos vasos retinianos:

Depois de 24 horas de fixação em solução de formol a 10%, os bulbos oculares foram abertos por corte circular ao nível da região pré-equatorial e as retinas separadas das demais estruturas intraoculares sob lupa. Após, as retinas eram desidratadas em álcool a várias concentrações e diafanizadas em xilol (SPALTEHOLZ, 1914; WYBAR, 1955).

Em seguida, quatro piques foram dados na retina, a qual assumia, então, o aspecto de cruz de malta, sendo desta forma montada com bálsamo entre lâmina e lamínula, permanecendo sob suave pressão para seu perfeito estiramento.

A medida do calibre externo dos vasos das retinas dos

dois grupos de animais realizou-se mediante o auxílio de um visuscópio Reichert, com a objetiva de 10 aumentos e régua milimetrada transparente. As medidas eram tomadas diretamente na imagem dos vasos projetados no “ecran”, em pontos convencionais distintos, localizados respectivamente a 3,0cm (vasos de 1ª ordem), 9,0cm (vasos de 2ª ordem) e 15,0cm (vasos de 3ª ordem) da borda do disco óptico (Figs. 1 e 2), totalizando 15 medidas em cada um destes pontos. Os capilares, cuja medição não foi possível devido ao seu pequeno calibre, foram desenhados em papel vegetal a partir do “ecran” do visuscópio (objetiva 40 x) e a sua morfologia comparada nos dois grupos de animais (Fig. 3 e 4).

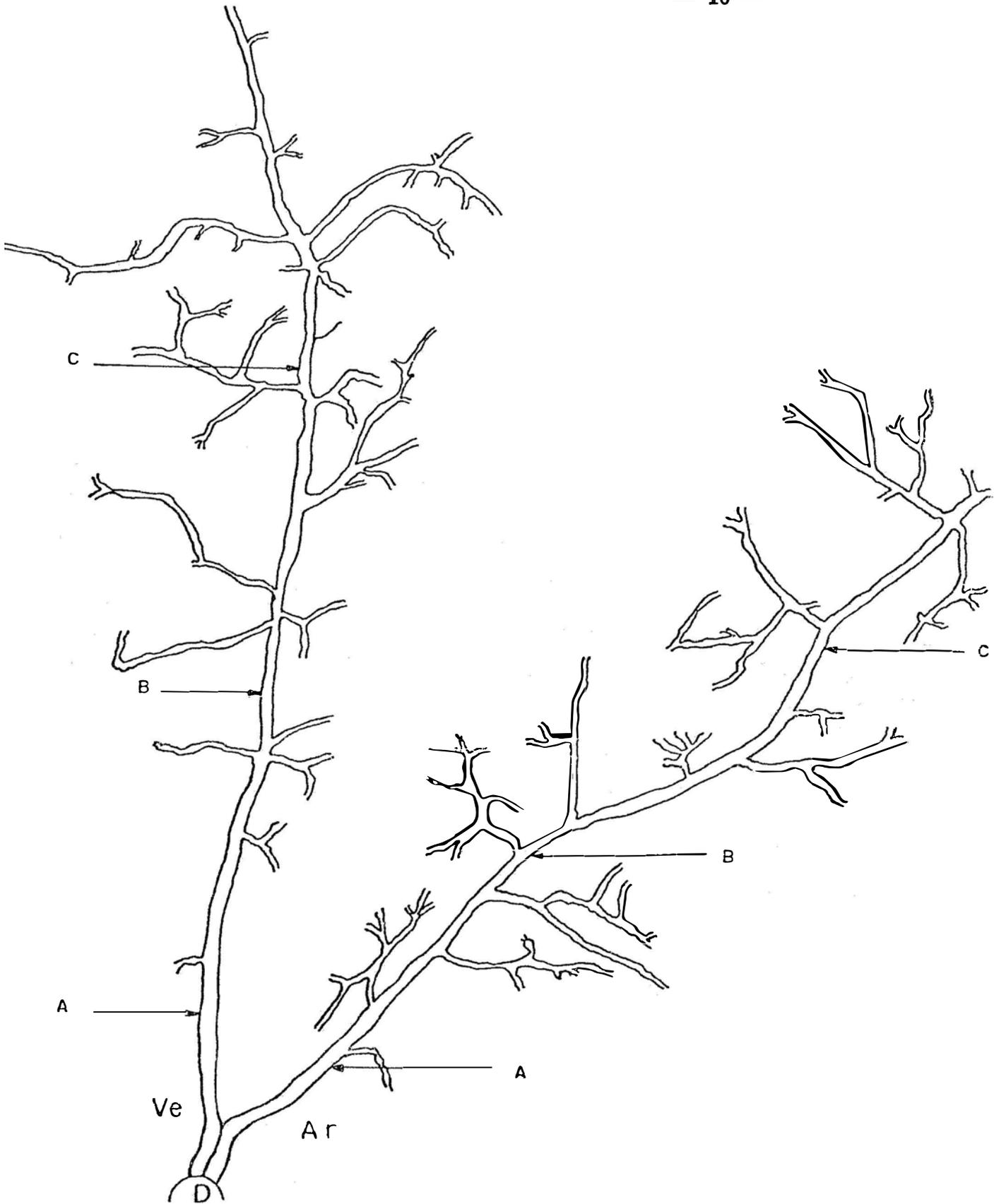


Fig. 1: Esboço direto em papel vegetal da imagem dos vasos retinianos projetados no "ecran" do visuscópio, de um rato do grupo controle (objetiva 10x). A, B e C: Pontos convencionais onde foram tomadas as medidas do calibre externo. Ar: arteríola. Ve: vénula. D: disco óptico

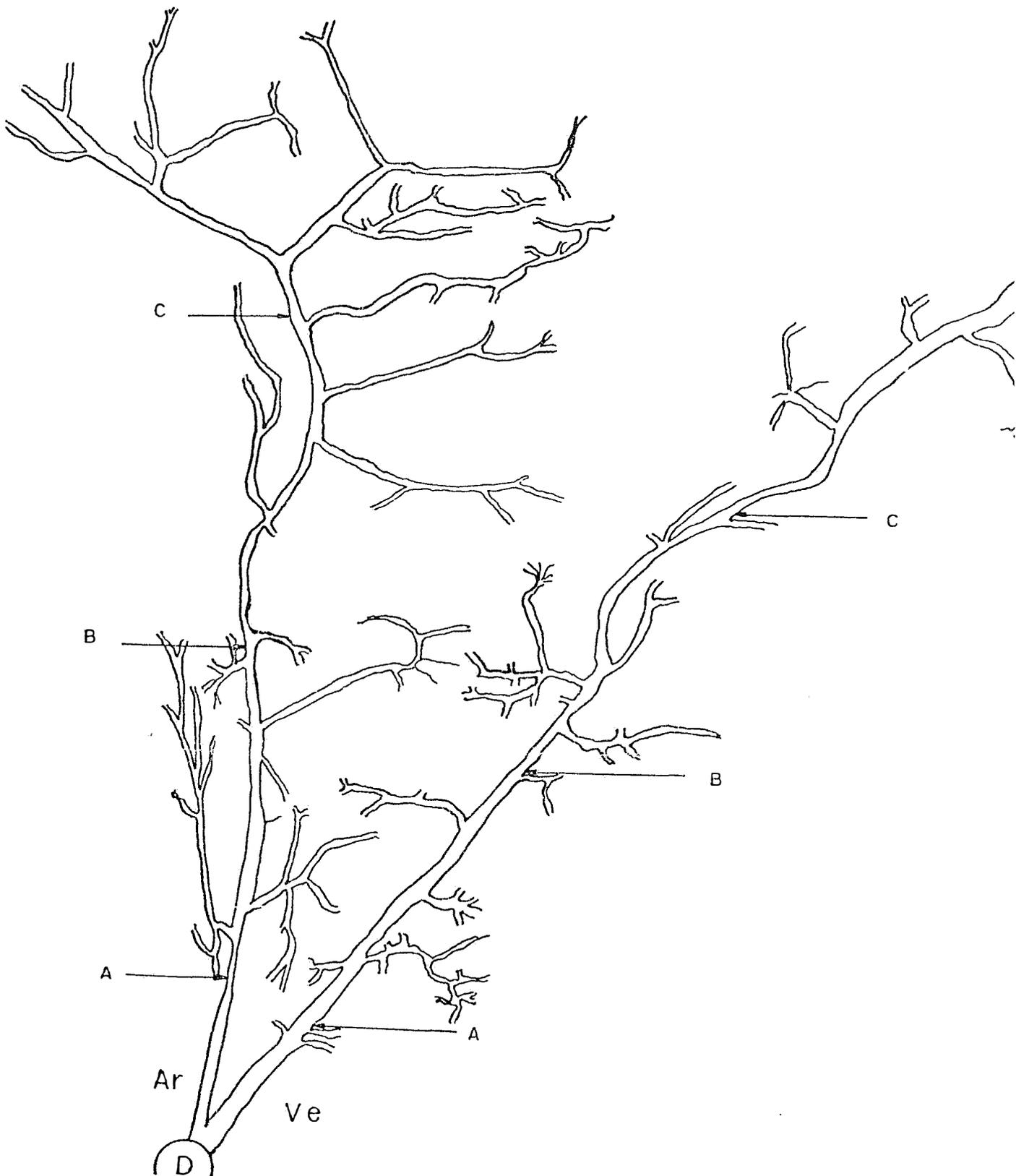


Fig. 2: Esboço direto em papel vegetal da imagem dos vasos retinianos projetados no "ecran" do visuscópio, de um rato do grupo exposto à luz fluorescente (objetiva 10x). A, B e C: Pontos convencionais onde foram tomadas as medidas do calibre externo. Ar: arteriola. Ve: vênula. D: disco óptico.

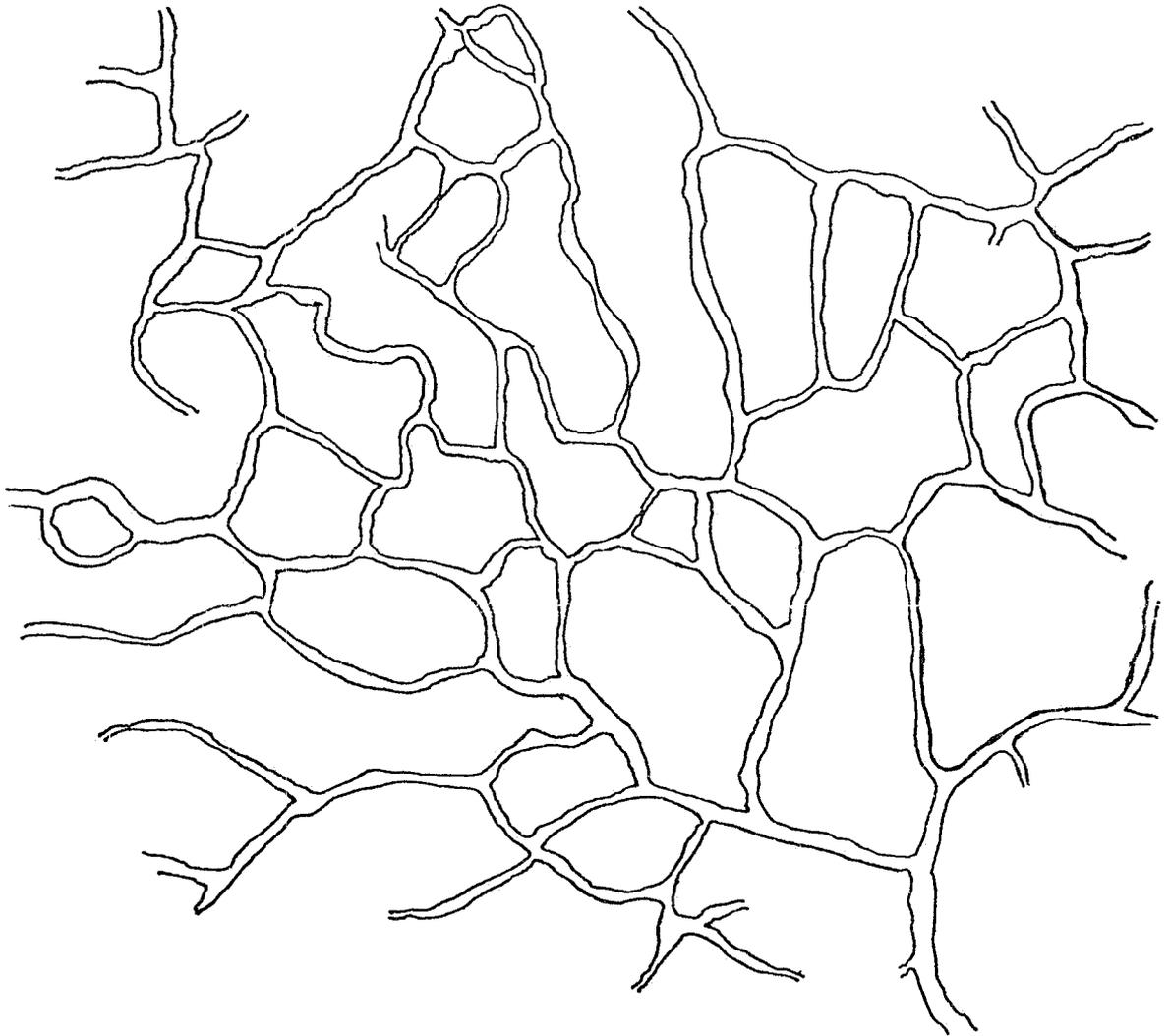


Fig. 3: Morfologia dos capilares retinianos de um rato albino do grupo controle, obtida por desenho em papel vegetal diretamente da imagem projetada no "ecran" do visuscópio (objetiva 40x).



Fig. 4: Morfologia dos capilares retinianos de um rato albino do grupo exposto à luz fluorescente, obtida por desenho em papel vegetal diretamente da imagem projetada no “ecran” do visuscópio (objetiva 40x).

b) Preparações histológicas das retinas, músculos extraoculares e glândulas de Harder:

As retinas, músculos extraoculares e glândulas de Harder depois de permanecerem por 24 horas em fixação na solução de formol a 10%, foram incluídas segundo o método rotineiro. Cortes com 7 micrômetros de espessura foram corados pelo hemalumem e eosina e tricrômico de Masson.

c) Reações histoquímicas:

A secreção de mucopolissacarídeos das glândulas de Harder foi avaliada em material fixado previamente em solução fixadora de Bouin e submetida a colorações pela reação do PAS (ácido periódico e reativo de Schiff) e Alcian blue, segundo LISSON (1960).

d) Inervação da íris:

A inervação autônoma das íris de animais controles e iluminados foi evidenciada mediante a técnica de impregnação em solução aquosa de tetróxido de ósmio e iodeto de Zn a 1% segundo MAILLET (MAILLET, 1959; FERREIRA, 1971). Após lavagem em água corrente as íris eram desidratadas em bateria de álcoois em concentrações crescentes, a seguir diafanizadas em xilol e montadas com bálsamo entre lâmina e lamínula.

Realizamos também o estudo da inervação adrenérgica da íris através da fluorescência pelo vapor de formol segundo FALCK (FALCK, 1962; FERREIRA, 1977). As íris foram inicialmente lavadas em solução de Tyrode, distendidas sobre uma lâmina, secadas ao ar em temperatura ambiente, colocadas num frasco com formalina em pó e a seguir colocadas em estufa a 80°C por 60 minutos. Após o resfriamento, as preparações eram montadas sob lamínula e nujol e a seguir examinadas sob luz ultravioleta com a combinação de filtros para a visualização da fluorescência produzida pela redução das aminas pelo vapor de formol.

e) Placas motoras dos músculos extraoculares:

As placas motoras foram evidenciadas mediante a fixação dos músculos extraoculares na solução aquosa de tetróxido de ósmio e iodeto de zinco a 1% (MAILLET, 1959; FERREIRA, 1971). Os fragmentos de músculo foram mantidos na solução cerca de 18 horas e após lavagem, foram desidratadas e diafanizadas em toluol. A seguir, sob lupa, os fragmentos musculares foram dissociados cuidadosamente com estiletos de aço, procurando-se separar o menor número possível de fibras muscula-

res. Procedida a separação, as estruturas musculares foram montadas entre lâmina e lamínula com bálsamo e observadas ao microscópio óptico.

**f) Exame e documentação fotográfica
das estruturas estudadas:**

Todas as preparações histológicas foram examinadas sob microscópio óptico para as devidas avaliações.

O exame da fluorescência de fibras adrenérgicas da íris foi executado sob luz ultravioleta, no fotomicroscópio Zeiss, utilizando o filtro de barragem I e o de excitação BG 12.

A documentação fotográfica foi feita no fotomicroscópio Zeiss, sob diferentes aumentos.

**g) Análise estatística das medidas do calibre
externos dos vasos retinianos:**

Para a análise estatística das medidas do calibre externo dos vasos retinianos, obtidas segundo as técnicas anteriormente descritas, empregamos o teste t de Student para diferença de duas médias, considerando um nível de significância de 0,005.

RESULTADOS

**a) Exame macroscópico e sob lupa
binocular do bulbo ocular:**

Nos animais que compuseram o grupo controle não foi constatada nenhuma alteração nos bulbos oculares à inspeção periódica diária ou com o auxílio da lupa binocular estereoscópica (40x), realizada no final do experimento.

No decorrer da nossa pesquisa, mais precisamente após 24 horas, notamos que todos os bulbos oculares dos animais expostos à luz fluorescente exteriorizavam discretas hiperemia cílio-conjuntival e exoftalmia bilaterais simétricas, perceptíveis macroscopicamente, as quais se acentuavam até o término da exposição na luz fluorescente.

Ao exame sob lupa, realizado após a exposição durante 48 horas na luz fluorescente contínua, verificamos existir em todas as córneas dos animais, micro-erosões epiteliais e pequeno edema, além da exoftalmia bilateral simétrica. As pupilas apresentavam-se sempre mais mióticas nestes animais quando comparadas às do grupo controle. As demais estruturas oculares não demonstram qualquer alteração ao exame macroscópico ou sob lupa no grupo de ratos expostos à luz fluorescente.

**b) Medida do calibre externo dos
vasos retinianos:**

b.1) Arteriolas:

As medidas do calibre externo das arteriolas retinianas (em mm), dos animais do grupo controle, nos pontos convencionais A, B e C, situados respectivamente a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm da borda do disco óptico, com a respectiva média (\bar{x}), desvio padrão (s) e coeficiente de variabilidade (c v) são mostradas na Tabela I abaixo:

Nº DA MEDIDA	PONTOS		
	A	B	C
1	2,0	1,5	1,0
2	2,5	1,5	1,0
3	2,5	1,5	1,0
4	2,0	1,5	1,0
5	2,0	1,0	0,5
6	2,5	1,5	1,0
7	3,0	2,0	1,0
8	2,5	2,0	1,0
9	2,5	2,0	1,0
10	2,0	1,5	1,0
11	2,0	1,5	1,0
12	2,5	2,0	1,5
13	2,0	1,5	1,0
14	2,0	2,0	1,5
15	2,0	2,0	1,0
Σ	34,0	25,0	15,5
\bar{x}	2,3	1,7	1,0
s	0,3	0,3	0,2
cv(%)	13,0	17,6	20,0

TABELA I: Calibre externo das arteríolas retinianas de 1ª., 2ª. e 3ª. ordem dos ratos albinos do grupo controle.

Todas as quinze medidas (em mm) do calibre externo das arteríolas retinianas nos pontos convencionais A, B e C, localizadas respectivamente a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm da borda do disco óptico, do grupo de ratos albinos expostos à luz, bem como as respectivas médias (\bar{x}), desvios padrões (s) e coeficientes de variabilidade (cv), estão demonstradas na Tabela II abaixo:

Nº DA MEDIDA	PONTOS		
	A	B	C
1	1,5	1,0	0,5
2	1,5	1,0	1,0
3	1,0	1,0	1,0
4	1,5	1,0	1,0
5	1,5	1,0	1,0
6	1,5	1,0	1,0
7	1,5	1,0	1,5
8	1,5	1,0	1,5
9	1,5	1,0	1,5
10	1,0	0,5	1,0
11	1,5	1,0	1,0
12	1,0	1,0	1,0
13	1,0	1,5	1,0
14	2,0	1,0	1,0
15	2,0	1,5	1,0
Σ	21,5	15,5	16,0
\bar{x}	1,4	1,0	1,0
s	0,3	0,2	0,2
$cv(\%)$	21,4	20,0	20,0

TABELA II: Calibre externo das arteríolas retinianas de 1ª, 2ª. e 3ª. ordem dos ratos albinos expostos à luz fluorescente.

b.2) Vênulas:

A média (\bar{x}), o desvio padrão (s), o coeficiente de variabilidade (cv) e o valor (em mm) das quinze medidas do calibre externo das vênulas retinianas do grupo de animais controle, tomadas igualmente a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm de distância da borda do disco óptico, estão expostos na Tabela III, abaixo:

Nº DA MEDIDA	PONTOS		
	A	B	C
1	3,0	2,5	2,0
2	4,0	3,5	2,5
3	4,0	3,5	2,5
4	3,5	3,0	2,5
5	3,5	3,0	2,5
6	4,0	3,5	3,0
7	3,5	2,5	2,0
8	4,0	3,0	2,0
9	4,0	3,0	2,5
10	3,5	2,5	2,0
11	3,0	2,5	2,0
12	4,0	2,5	2,0
13	3,5	3,0	2,5
14	3,0	2,5	2,0
15	3,0	2,5	2,0
Σ	53,5	43,0	34,0
\bar{x}	3,6	2,9	2,3
s	0,4	0,4	0,3
$cv(\%)$	11,1	13,8	13,0

TABELA III: Calibre externo das vênulas retinianas de 1ª, 2ª, e 3ª. ordem dos ratos albinos do grupo controle.

O valor das quinze medidas (em mm) do calibre externo das vênulas retinianas nos pontos convencionais A, B e C, localizados a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm, respectivamente, da borda do disco óptico e as respectivas média (\bar{x}), desvio padrão (s) e o coeficiente da variabilidade (cv) do grupo de animais mantidos sob luz, são encontrados na Tabela IV abaixo:

Nº DA MEDIDA	PONTOS		
	A	B	C
1	2,0	1,5	1,0
2	2,0	1,5	1,0
3	3,0	2,0	1,5
4	2,0	1,5	1,0
5	2,5	2,0	1,5
6	2,5	2,0	1,5
7	3,0	2,5	3,0
8	2,5	2,0	1,5
9	2,5	2,0	2,0
10	4,0	3,5	3,0
11	3,0	2,0	1,5
12	2,5	2,0	1,5
13	4,0	2,5	2,0
14	3,5	3,0	2,0
15	3,0	2,0	2,0
Σ	42,0	32,0	26,0
\bar{x}	2,8	2,1	1,7
s	0,6	0,5	0,6
$cv(\%)$	21,4	23,8	35,3

TABELA IV: Calibre externo das vênulas retinianas de 1^{a.}, 2^{a.} e 3^{a.} ordem de ratos albinos expostos à luz fluorescente.

Aplicando-se o teste t de Student para duas médias aos dados obtidos através da medida do calibre externo dos vasos retinianos nos pontos convencionais A, B e C, dos dois grupos de animais em estudo e considerando um nível de significância de 0,005, constatamos que ocorre uma vasoconstrição estatisticamente significativa nos pontos A e B das arteríolas (arteríolas de 1^{a.} e 2^{a.} ordem) dos ratos expostos à luz fluorescente. Não há variação estatisticamente significativa no calibre das arteríolas retinianas destes mesmos animais no ponto C (arteríolas de 3^{a.} ordem), aplicando-se o mesmo teste estatístico (TABELA I do apêndice).

Usando a mesma análise estatística para os dados encontrados nos pontos A, B e C das vênulas retinianas dos dois grupos de animais, verificamos que há vasoconstricção significativa nos três níveis estudados ou seja, as vênulas retinianas de 1^a, 2^a e 3^a ordem apresentam o seu calibre externo diminuído nos ratos expostos à luz fluorescente (TABELA II do apêndice).

A análise da ação da luz fluorescente contínua durante 48 horas sobre os capilares retinianos arteriais e venosos, mediante a comparação dos gráficos obtidos com a ajuda do visuscópio (objetiva 40x), resultou no achado de constrictões e oclusões focais, com desarranjo da morfologia normal destes vasos microscópicos (Figs. 3 e 4). A tomada de medidas destas estruturas não foi possível devido ao seu reduzido tamanho, apesar das ampliações obtidas ao visuscópio. Nas figuras 5a e b, abaixo, estão fotomicrografias de vasos retinianos visualizados mediante injeção intra-vascular de nanquim, demonstrativas das preparações utilizadas para a medida dos calibres externos vasculares.

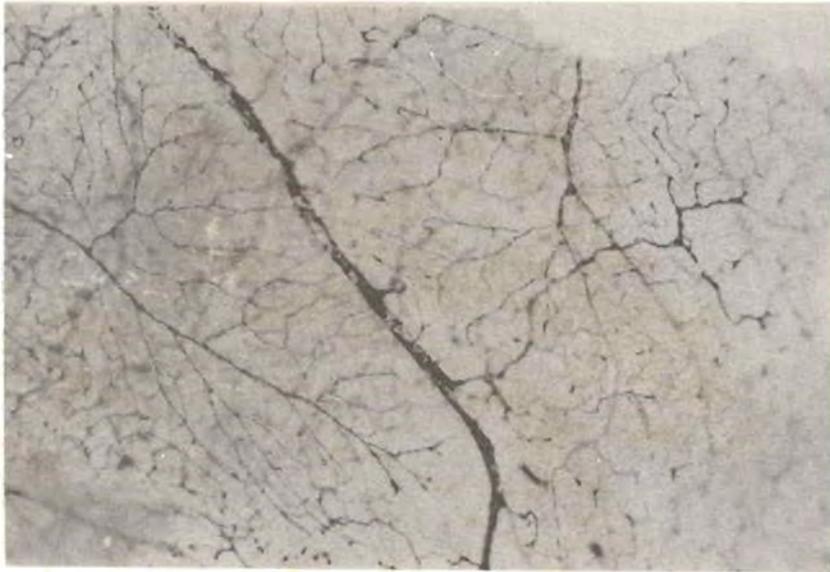


Fig. 5a: Vasos retinianos de animal controle (Aumento final: 100x).



Fig. 5b: Vasos retinianos de animal exposto à luz (Aumento final: 100x).

Como são fotomicrografias de preparações totais, o foco das estruturas vasculares retinianas não aparece uniforme.

c) Aspectos microscópicos das retinas, músculos extraoculares e glândulas de Harder:

c.1) Retinas:

A retina dos animais expostos à luz fluorescente exibe redução significativa em sua espessura total quando comparada com àquela dos animais do grupo controle. Esta menor espessura deve-se à degeneração acentuada localizada na camada das células fotorreceptoras e posterior fagocitose e formação de vacúolos nesta camada retiniana. Conseqüentemente há também redução na espessura da camada nuclear externa e camada plexiforme externa. As demais camadas retinianas, inclusive o epitélio pigmentar, não mostraram nenhuma alteração à microscopia óptica, conforme pode ser observada nas fotomicrografias abaixo (Figs. 6a e b).

c.2) Músculos extraoculares:

A exposição de ratos albinos à luz fluorescente origina sérias alterações degenerativas nos seus músculos extraoculares. Enquanto os músculos extrínsecos dos ratos do grupo controle apresentaram apenas alguns núcleos picnóticos e leucócitos entre as suas miofibrilas (Fig. 7a), àqueles mantidos sob luz mostraram um grande número de leucócitos (granulócitos e agranulócitos), macrófagos e células plasmáticas entre as miofibrilas, exibindo sinais de degeneração. Não raramente o perímio era invadido e as miofibrilas desta região apresentavam-se destruídas e substituídas por células inflamatórias. Todas as fibras musculares foram acometidas e não observamos sinais de regeneração muscular (Fig. 7b).

c.3) Glândulas de Harder:

A comparação das glândulas de Harder dos animais do grupo controle (Fig. 8a) com aquelas do iluminado, mostrou que nestas últimas há degeneração dos túbulos glandulares, destruição das células epiteliais, que não raro se encontram descamadas dentro da luz tubular e maciça infiltração de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) e macrófagos. Estas alterações são acompanhadas de rarefação do tecido conjuntivo inter-tubular e atrofia glandular (Fig. 8b). Não há evidência de sinais regenerativos nesta fase aguda de comprometimento da estrutura glandular.

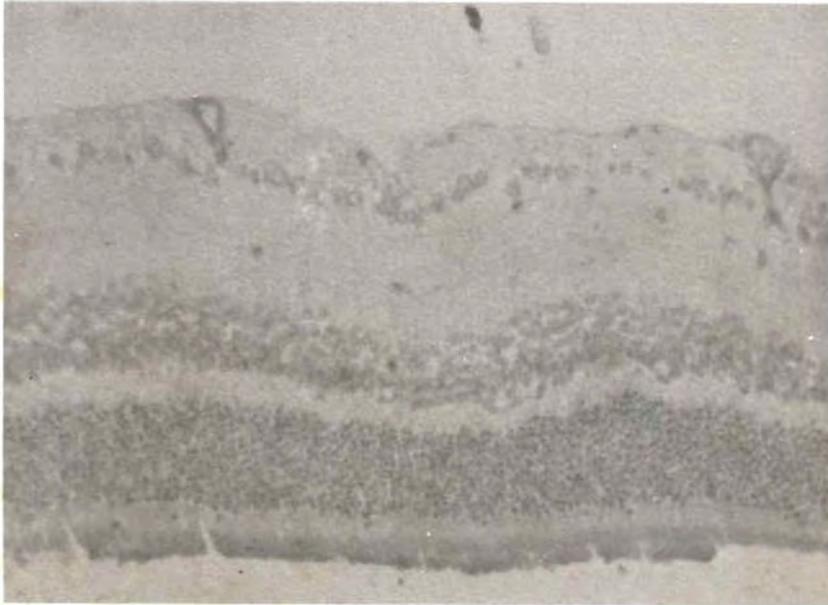


Fig. 6a: Retina de animal controle. Coloração pelo hemalum e eosina (Aumento final: 100x).



Fig. 6b: Retina de rato albino exposto à luz fluorescente. Coloração pelo hemalum e eosina (Aumento final: 100x).

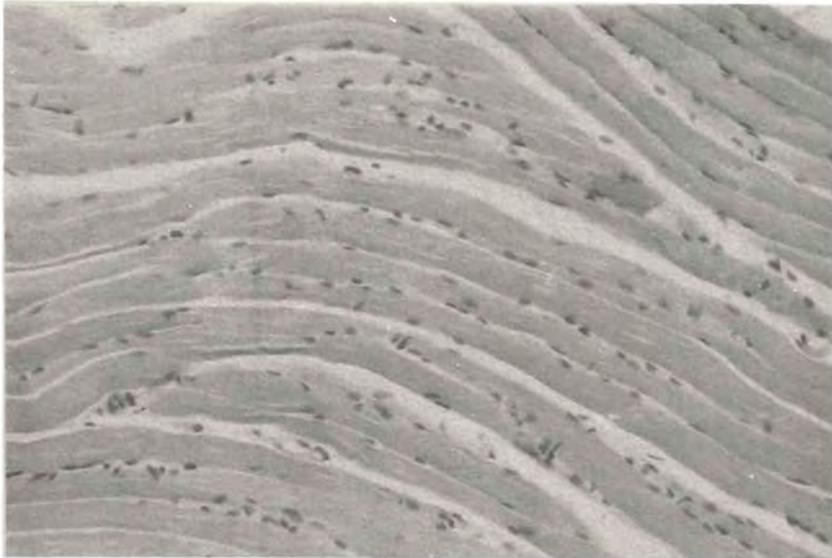


Fig. 7a: Músculo extraocular de rato albino do grupo controle. Coloração pelo hemalumem e eosina (Aumento final: 256x).

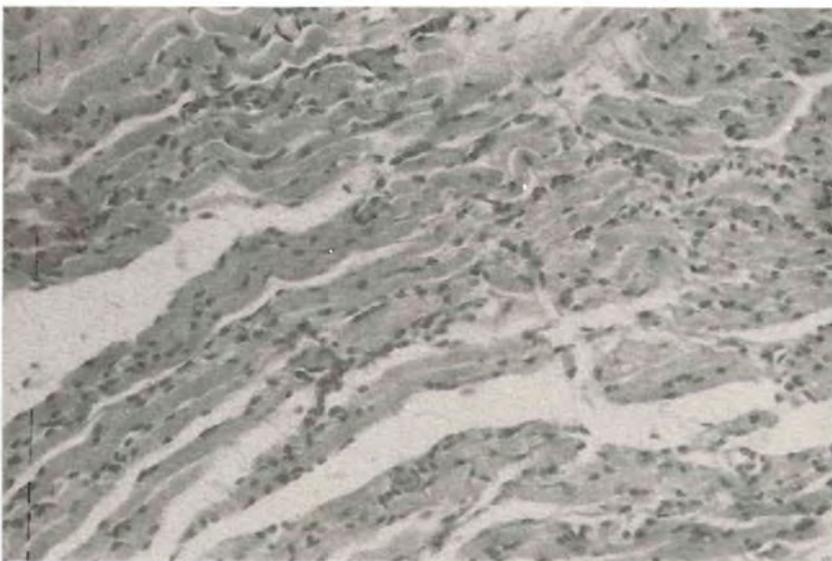


Fig. 7b: Músculo extraocular de animal do grupo exposto à luz fluorescente. Coloração pelo hemalumem e eosina (Aumento final: 256x).

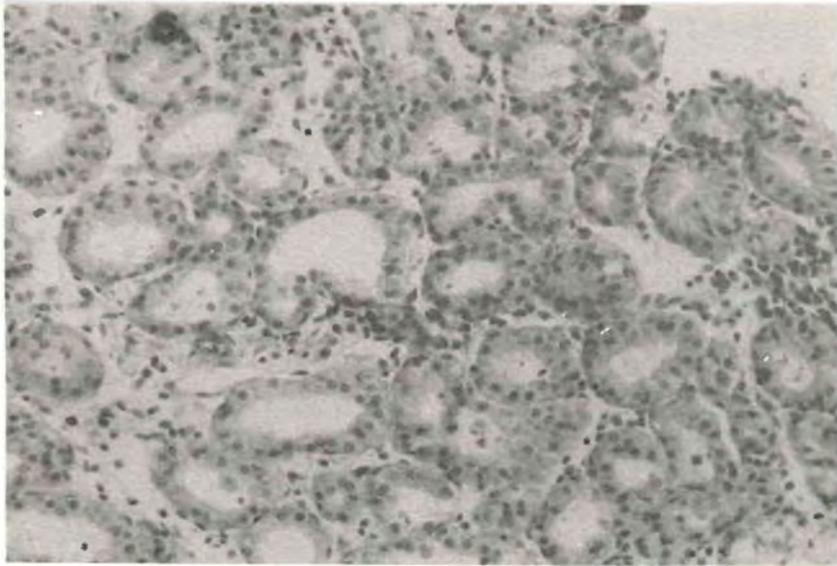


Fig. 8a: Glândula de Harder de animal do grupo controle. Coloração pelo tricrômico de Masson (Aumento final: 256x).

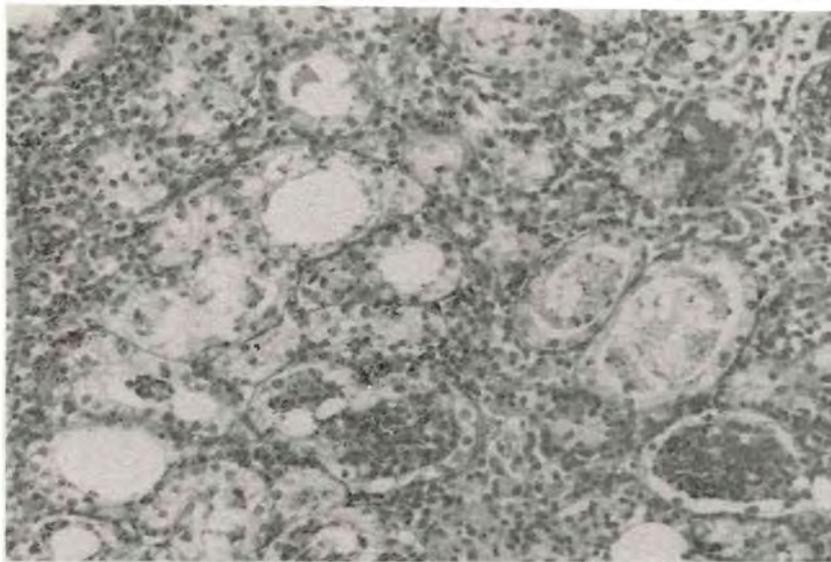


Fig. 8b: Glândula de Harder de rato albino do grupo iluminado. Coloração pelo tricrômico de Masson (Aumento final: 256x).

d) Reações histoquímicas da glândula de Harder:

A histoquímica das glândulas de Harder dos dois grupos de animais, demonstrou que naqueles expostos à luz fluorescente há uma significativa redução da secreção glandular de mucopolissacarídeos evidenciáveis pelas reações empregadas, quando comparada com àquela do grupo de animais controle. É nitidamente perceptível também, que esta diminuição da secreção é acompanhada por intensa degeneração das estruturas tubulares, infiltração celular e atrofia glandular. Não foi possível avaliar se a regeneração da glândula é seguida de recuperação da secreção (Figs. 9a e b).

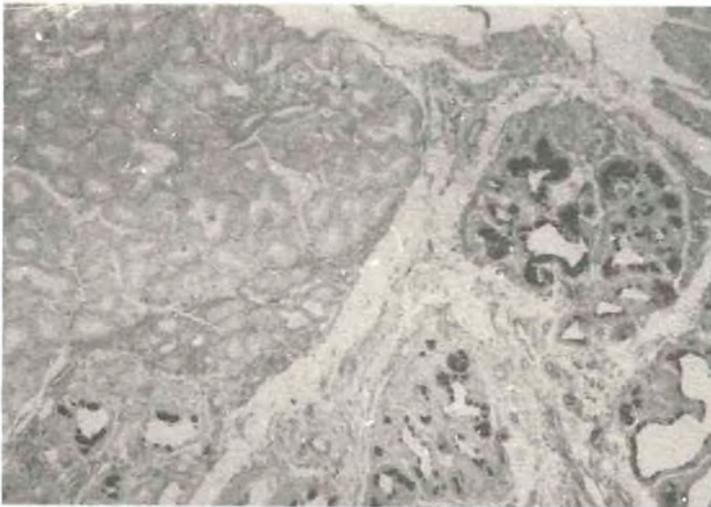


Fig. 9a: Histoquímica da glândula de Harder de animal controle. Coloração pelo PAS e Alcian blue (Aumento final: 100x).

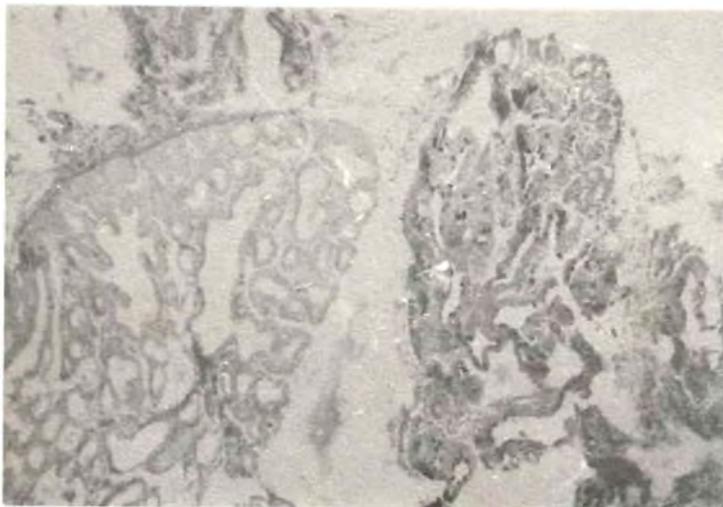


Fig. 9b: Histoquímica da glândula de Harder de um rato iluminado. Coloração pelo PAS e Alcian blue (Aumento final: 100x).

e) Inervação da íris:

A técnica de impregnação das terminações nervosas da íris com o tetróxido de ósmio e iodeto de Zn, evidenciou uma acentuada diminuição de fibras nervosas, especialmente na região do músculo dilatador da pupila e na área intermediária entre este e o músculo esfíncter da pupila, nos animais expostos à luz fluorescente por 48 horas. Aquelas de textura mais fina (provavelmente adrenérgicas) mostraram-se aparentemente mais sensíveis à iluminação, quando comparadas com as dos animais do grupo controle (Figs. 10a e b).



Fig. 10a: Inervação da íris de rato albino do grupo controle. Impregnação pelo tetróxido de ósmio e iodeto de Zn (Aumento final: 640x).



Fig. 10b: Inervação da íris de rato exposto à luz. Impregnação pelo tetróxido de ósmio e iodeto de Zn (Aumento final: 640x).

Achados idênticos podem ser demonstrados nos preparados feitos com o vapor de formol para evidenciar as fibras adrenérgicas iridianas no grupo de ratos albinos controle e naqueles do grupo exposto à luz fluorescente (Figs. 11a e b). Uma marcante redução da fluorescência pode também ser evidenciada por esta técnica ao redor dos vasos iridianos dos animais iluminados durante 48 horas.

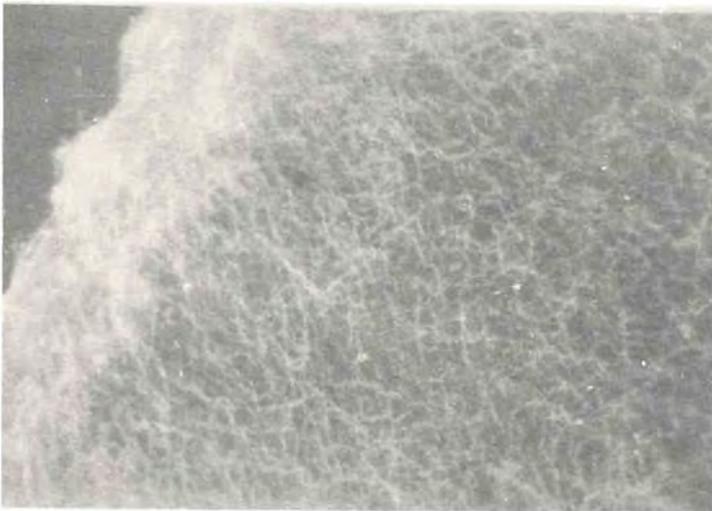


Fig. 11a: Fluorescência da inervação da íris de animal controle. Técnica do vapor de formol (Aumento final: 256x).

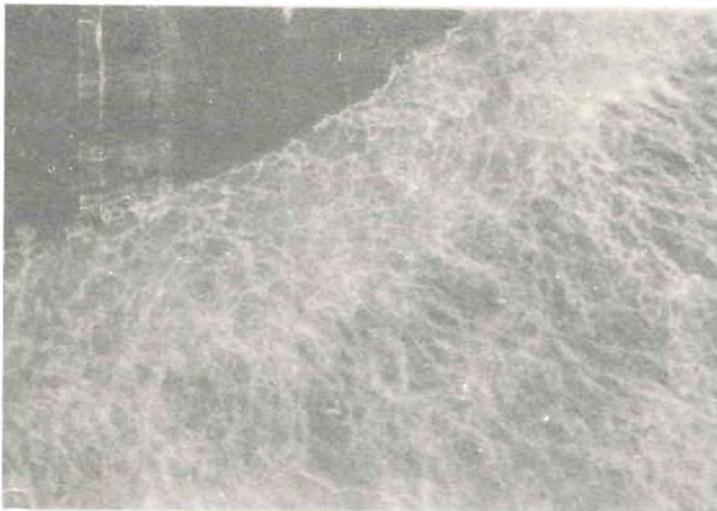


Fig. 11b: Fluorescência da inervação da íris de animal iluminado. Técnica do vapor de formol (Aumento final: 256x).

**f) Placas motoras dos músculos
extraoculares:**

As placas motoras dos músculos extraoculares dos animais do grupo controle apresentam uma configuração delicada e distribuição regular dentro da miofibrila, sendo a sua impregnação pelo tetróxido de ósmio e iodeto de Zn a 1% pouco intensa (Fig. 12a).

Nos músculos extraoculares dos ratos albinos expostos à luz fluorescente estas estruturas mostram-se irregulares, tornando-se coalescentes, enoveladas e coram-se mais profundamente na solução aquosa de tetróxido de ósmio e iodeto de Zn. Esses aspectos foram evidenciados sob microscópio óptico em praticamente todas as placas motoras observadas (Fig. 12b).



Fig. 12a: Placa motora de músculo extraocular de rato controle. Impregnação: tetróxido de ósmio e iodeto de Zn (Aumento final: 256x).



Fig. 12b: Placa motora de músculo extraocular de animal exposto à luz. Impregnação pelo tetróxido de ósmio e iodeto de Zn (Aumento final: 256x).

DISCUSSÃO

a) **Exame macroscópico e sob lupa
binocular do bulbo ocular:**

A lâmpada fluorescente “luz do dia” com temperatura de cor de 6.500°K, utilizada em nosso experimento, apresenta espectro de emissão com comprimentos de onda situados entre 3.000 e 7.500 Å (máximo em torno de 4.400 Å) (IES, 1959). A maior porcentagem da energia destas lâmpadas é emitida na forma de calor (41,8%) (condução e convecção) e radiação infra-vermelha (35,7%). Somente 22% da energia liberada é transformada em luz e os restantes 0,5% são constituídos por radiação ultravioleta, situada próxima ao espectro visível (GENERAL ELECTRIC DO BRASIL, 1980).

Todas estas formas de energia podem provocar lesões no organismo humano, em especial no bulbo ocular e anexos oculares. Nestes, têm maior poder patogênico as radiações ultravioleta e infra-vermelho (BAER e HARBER, 1965; GONÇALVES, 1977), mas experimentalmente verificou-se que a luz visível, quer incandescente ou fluorescente, também pode exercer efeito maléfico sobre estas estruturas (NOELL e cols., 1966; KUWABARA e GORN, 1968; GRIGNOLO e cols., 1969; REITER e KLEIN, 1971; O’STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1972; CAVONIUS e cols., 1974 e O’STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1975), entre outros.

É a queratoconjuntivite a lesão ocular mais comum decorrente da exposição à radiação ultravioleta (GONÇALVES, 1977), caracterizada por lesões corneais epiteliais, acompanhadas de discreto edema corneal e erosões no epitélio conjuntival. Estas alterações costumam ser acompanhadas por intensa hiperemia ocular, dor e fotofobia acentuada, algumas horas após a exposição a estas radiações.

Os animais expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas, apresentam um quadro ocular bastante semelhante ao descrito acima, quando os bulbos oculares são examinados sob lupa. Isto faz-nos pensar que estes animais apresentam um quadro de queratoconjuntivite fotoelétrica, resultante da ação da emissão de radiações ultravioleta pelas lâmpadas usadas em nosso experimento. Hiperemia conjuntival também foi observada por KUWABARA e GORN (1968), após 3 a 5 dias de exposição de seus animais a este mesmo tipo de iluminação.

A exoftalmia bilateral simétrica observada em todos os nossos ratos albinos expostos à luz, também foi descrita por

O'STEEN, KRAEER e SHEAR (1978) e é, provavelmente, conseqüente ao aumento de volume da glândula de Harder na fase aguda do experimento, decorrente do intenso infiltrado inflamatório presente nestas glândulas e mesmo em outras estruturas intra-orbitárias, como os músculos extraoculares. Acreditamos outrossim, que outras formas de energia além da ultravioleta, tenham influência na gênese dos mecanismos que levam a estas alterações oculares perceptíveis macroscopicamente ou sob lupa e entre elas certamente está a energia calorífica dissipada pelas lâmpadas fluorescentes.

b) Calibre externo dos vasos retinianos:

Escolhemos o rato para o estudo do efeito da luz fluorescente contínua sobre a circulação retiniana, porque este animal tem como o homem, uma artéria central da retina verdadeira (MICHAELSON, 1954; JANES e BOUNDS, 1954; KUWABARA e COGAN, 1960 e LEESON, 1979) e é desta forma considerado um bom modelo para estudos experimentais (FRANÇOIS e NEETENS, 1962).

Neste animal como no ser humano, o suprimento arterial para o olho provém da artéria oftálmica e o seu primeiro ramo dentro do bulbo ocular é a artéria central da retina, que emerge sobre o disco óptico. Em seguida, esta se subdivide em 5 a 7 arteríolas (50 a 100 μm de diâmetro, que se irradiam simetricamente para a ora serrata, situando-se na camada de células ganglionares (JANES e BOUNDS, 1955) ou na camada de fibras nervosas da retina (LEESON, 1979). Por divisão dicótoma única ou dupla ou ramificações em ângulo reto, estes vasos originam arteríolas de menor diâmetro (10 a 50 μm de diâmetro), arteríolas pré-capilares e os capilares (6 a 15 μm de diâmetro) da camada de fibras nervosas (WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971). Anulos arteriulares, que são observados no gato, camundongo e no cão, são também encontrados nas ramificações em ângulo reto das arteríolas do rato (KUWABARA e COGAN, 1960 e MUTLU e LEOPOLD, 1964) e em raras ocasiões nas arteríolas retinianas do homem (EVANS, 1947). Os capilares, divididos em dois plexos, um superficial, menos denso e mais espesso (arterial) e outro profundo, mais denso e delgado (venoso) (HESSE, 1880; MICHAELSON, 1954; JANES E BOUNDS, 1955 e WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971), situam-se respectivamente, nas camadas de fibras nervosas ou das células ganglionares e nas camadas nuclear interna ou plexiforme externa. Outros autores (LEESON, 1979), descrevem a presença de capilares em todas as camadas retinianas, predominando porém, os dois plexos acima descritos. Áreas livres de capilares são descritas em torno das artérias e arteríolas retinianas (MICHAELSON, 1954), fato relacionado talvez, com o alto teor de oxigênio destes vasos.

As vênulas pós-capilares originam-se a partir do plexo profundo de capilares e caminham para as camadas mais superficiais da retina para aí agrupar-se e constituir as vênulas e a partir destas as veias maiores, localizadas na camada de fibras nervosas da retina. Origina-se assim, um número idêntico de vênulas e arteríolas, estando uma vênula localizada entre duas arteríolas; as vênulas se unem sobre o disco óptico para formar a veia central da retina (WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971), a qual se situa do lado temporal da artéria central da retina e mantém esta relação com a artéria oftálmica ao deixar o bulbo ocular (JANES e BOUNDS, 1955).

Histologicamente, a artéria central da retina do rato é idêntica a uma pequena artéria muscular (LEESON, 1979), com 5 a 7 camadas de músculo liso em sua camada média, entremeadas por tecido conjuntivo, sem elastina, lâmina elástica interna e adventícia e com membrana basal espessa, às vezes laminada, entre as fibras musculares; a íntima é formada por células endoteliais (HOGAN e FEENEY, 1963a). As arteríolas, mais numerosas que as artérias, apresentam uma membrana basal mais fina entre as células musculares lisas e as células gliais, com redução também no número de camadas de músculo liso, isto é, 3 a 5 no equador e de 1 a 2 na periferia da retina. Como nas artérias não se encontra aqui a adventícia, lâmina elástica interna e elastina (HOGAN e FEENEY, 1963b). A íntima apresenta também uma textura mais fina que as artérias (LEESON, 1979).

Segundo KISSEN e BLOODWORTH (1961), os capilares retinianos do rato são formados por células endoteliais planas, cujo núcleo ovalar faz proeminência para dentro da luz do vaso, que repousam sobre uma lâmina basal homogênea, mais fina que a das arteríolas (HOGAN e FEENEY, 1963b), cuja espessura varia ao longo da estrutura dos vasos. Localizados em fendas da membrana basal encontram-se os pericitos (ZIMMERMANN, 1923 e WOLTER, 1962) ou células de Rouget (ROUGET, 1873 e VIMTRUP, 1922) ou células murais (KUWABARA e COGAN, 1963) ou pericitos intramurais (WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971), ocupando um plano paralelo ao eixo longitudinal do vaso. Baseando-nos na classificação morfológica dos capilares segundo BENNETT, LUFT e HAMPTON (1959), podemos incluir os capilares retinianos no tipo A1 β , ou seja, possuem membrana basal contínua, não possuem fenestrações endoteliais e possuem um revestimento peri-vascular contínuo.

De acordo com HOGAN e FEENEY (1963a), as veias retinianas de maior calibre são formadas a partir do lúmen pela íntima, constituída de células endoteliais semelhantes àquelas das artérias, uma fina membrana basal com algumas fibras co-

lágernas e sem elastina. A camada média é composta por pericitos intramurais entremeados por tecido da membrana basal; a adventícia, constituída de fibras colágenas de distribuição longitudinal forma 2/3 da espessura do vaso. Não se encontra nestes vasos membrana elástica interna e fibras musculares lisas são encontradas ocasionalmente nas veias próximas à papila óptica (WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971). As vênulas, sobre o endotélio, apresentam uma delgada membrana basal que se expande entre as células murais e se continua com estas, formando a camada média. A adventícia nestes vasos é idêntica àquela das veias, porém, é menos espessa.

A estrutura de todos os vasos retinianos está separada dos neurônios retinianos pela membrana limitante peri-vascular de Krückmann (DUKE-ELDER, 1961 e ERSKINE, 1963), que é um tecido glial constituído pelas células de Müller e por dois tipos de astrócitos: o “fibroso” e o “protoplásmico”. O “astrócito fibroso” aparentemente está mais em contato com as paredes das artérias e o “protoplásmico” com as paredes das veias (HOGAN e FEENEY, 1963c).

Esta revisão anatômica e histológica, embora aparentemente fora de nossos propósitos iniciais, faz-se necessária, pois o seu perfeito conhecimento nos permitirá fornecer elementos básicos, ao tentarmos explicar os possíveis mecanismos responsáveis pelas alterações nos calibres vasculares externos, decorrentes da exposição contínua à luz fluorescente.

Para o estudo da circulação retiniana inúmeras técnicas anatômicas e histológicas têm sido utilizadas, tais como: os preparados planos (BALLANTYNE e LOEWENSTEIN, 1944), coloração das fibras elásticas na retina íntegra (EVANS, 1947), coloração das hemácias pela benzidina-peroxidase (ASHTON, 1949; MICHAELSON, 1954; KEENEY e BARLOW, 1956 e THURÁNSKY, 1957), coloração pelo PAS da retina íntegra (FRIEDENWALD, 1949; ASHTON, 1949; KEENEY e BARLOW, 1956 e ENGERMANN, BUESSELER e MEYER, 1962), injeção intra-vascular de nanquim (MICHAELSON e STEEDMANN, 1949 e ASHTON, 1950), injeção intra-vascular de látex (ASHTON, 1952 e JANES, 1959), injeção intra-vascular de nitrato de prata a 3% (HAUSLER e SIBAY, 1959), digestão pela tripsina e coloração pelo PAS + hematoxilina ou hematoxilina + eosina (KUWABARA e COGAN, 1960), digestão pela tripsina e coloração pelo azul de metileno ou solução de paragon e suspensão em meio líquido ou embebimento em plástico e observação em microscópio de dissecação (TOUSSAINT, KUWABARA e COGAN, 1961), digestão pela tripsina e coloração pelo nitrato de prata amoniacal a 2% (WOLTER, 1961), digestão pela pepsina + tripsina e coloração pelo PAS + hematoxilina ou hematoxilina +

eosina (ASHTON, 1963), injeção intra-vascular de azul de Berlin solúvel a 5% e digestão pela tripsina ou pepsina + tripsina (KNIGHT, 1966), injeção intra-vascular de gelatina corada (POTTS, 1968) e finalmente a injeção intra-vascular de borracha de silicone corada (ANDERSON, 1970 e 1971). Todas apresentam uma série de vantagens e desvantagens.

Das técnicas clínicas, usadas para o estudo “in vivo” da circulação retiniana e coroídea, as mais difundidas e empregadas universalmente são a angiofluoresceinografia (NOVOTNY e ALVIS, 1961) e a oftalmodinamometria (WEIGELIN e LOBSTEIN, 1963).

A medida do calibre dos vasos retinianos, de grande importância em algumas retinopatias e na confirmação de dados experimentais, pode ser realizada de diversas maneiras, todas apresentando restrições e variações em seus resultados finais (DUKE-ELDER e DOBREE, 1967).

Devido à controvérsia que existe na escassa literatura que aborda o efeito da luz sobre a circulação retiniana é que decidimos incluir no presente trabalho experimental o comportamento do calibre externo dos vasos retinianos, quando expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas. A técnica da injeção intra-vascular de nanquim, que apesar de apresentar uma série de desvantagens, foi por nós considerada ideal, por preencher toda a luz dos vasos, bem como impregnar a sua parede, dando assim uma imagem completa de seu calibre externo, ser de baixo custo e de fácil execução e preencher a grande maioria dos pequenos vasos da retina.

A medição do calibre externo das estruturas vasculares através do visuscópio e régua milimetrada pareceu-nos um método seguro e preciso. Erros existiram e estavam relacionados e confinados aos arredondamentos que se fizeram necessários para a obtenção de valores inteiros ou então inteiros acrescidos de meia unidade, que facilitaríamos os cálculos e mesmo a leitura no “ecran” do visuscópio com a régua milimetrada transparente.

O primeiro trabalho que encontramos na literatura e que estuda o efeito da luz incandescente “in vivo” sobre a microcirculação retiniana do gato, cão e macaco, através da observação microscópica (1000x) por uma janela esclero-coroideana, foi o de FRIEDMANN, SMITH e KUWABARA (1961). Porém, somente um pequeno setor temporal da circulação retiniana destes animais pode ser observado, que se situava abaixo da janela esclero-coroideana, quando um feixe de luz incandescente, ultravioleta e infravermelha era focalizado sobre a retina, procedente de um “microflash” e refletido por um espelho. O diâme-

tro dos vasos retinianos foi medido através de uma ocular micrométrica. Concluíram, que a incidência destes tipos de iluminação sobre a retina não provoca qualquer alteração no diâmetro dos vasos retinianos dos animais estudados.

A técnica empregada pelos autores acima apresenta, sob o nosso ponto de vista, uma série de limitações: a profundidade de foco limitada, que permite uma má visualização dos vasos retinianos mais profundos, de maior calibre; somente uma pequena área da retina, onde incidiu a luz e localizada imediatamente abaixo da janela esclero-coroidena, pode ser observada; o trauma cirúrgico e finalmente a concentração da luz em uma área reduzida da retina, poderiam gerar alterações locais que afetariam o comportamento dos vasos, diferente daquele resultante da ação luminosa incidindo através dos meios dióptricos do bulbo ocular.

Assim, pensamos que aquele não é um bom modelo experimental para o estudo do efeito da luz sobre a circulação retiniana, principalmente porque as condições em que foi realizado, de incidência focal, são totalmente anormais em relação as quais normalmente ocorre a exposição dos vasos retinianos à luz. Outrossim, somente o diâmetro dos pequenos vasos (capilares), próximos à objetiva do microscópio, pode ser avaliado o que impossibilita a extrapolação do seu comportamento para os demais, principalmente aos de maior calibre, situados mais profundamente na retina.

O segundo trabalho que encontramos na literatura, versando sobre o efeito da luz incandescente sobre os vasos retinianos de ratos e gatos, é o de MORRIS, BELLHORN e HENKIND (1970). Utilizaram-se estes autores, da técnica de coloração das hemácias pela benzidina-peroxidase e avaliaram o comportamento dos vasos retinianos, baseando-se na distribuição das células impregnadas pelo corante retidas na luz do vaso.

Diversos métodos de estimulação luminosa foram por eles utilizados, como: 1) exposição à luz ambiente por 30 minutos; 2) exposição a um "flash" de 20 pulsações por segundo, durante 30 segundos e 3) exposição a uma forte luz difusa por 15 minutos.

Nenhuma alteração no padrão de enchimento da luz dos vasos pelas hemácias coradas pela benzidina-peroxidase foi notada pelos pesquisadores, comparando as fotografias obtidas dos animais dos grupos controle e expostos aos diferentes tipos de iluminação incandescente. A dilatação da pupila, a tarsorrafia, a maneira de sacrificar os animais, a posição da cabeça e a ordem de enucleação dos bulbos oculares, não exerceram qualquer influência sobre o calibre dos vasos retinianos nos dois grupos de animais em estudo.

A técnica de coloração das hemácias pela benzidina-peroxidase, empregada por MORRIS, BELLHORN e HENKIND (1970) para estudar o comportamento dos vasos retinianos do rato e do gato frente à estimulação luminosa de diversos tipos e vários períodos de tempo foi previamente utilizada por uma série de outros autores para o simples estudo da circulação retiniana de animais. Apresenta esta técnica como desvantagem o não preenchimento de todos os capilares retinianos ou então estes se esvaziam durante o desenrolar do processo (KEENEY e BARLOW, 1956). Além disso, somente as hemácias são coradas no interior da luz do vaso, ficando a parede invisível, tornando difícil a observação de qualquer reação vasomotora durante a estimulação luminosa.

A comparação fotográfica simples dos vasos retinianos dos animais expostos à luz com os dos animais do grupo controle, sem a tomada de uma medida numérica nos parece uma metodologia merecedora de crítica, pois variações pequenas no calibre, talvez estatisticamente significativas, nem sempre são perceptíveis pela visão humana (vide Figs. 5a e b). cremos assim, que resultados de maior confiança e exatidão só poderiam ser obtidos, unindo a esta técnica de demonstração anatômica dos vasos retinianos, algum método de avaliação direta dos seus calibres, como nos propusemos a fazer.

O último trabalho que encontramos na literatura, versando sobre a ação da luz na circulação retiniana e o único a empregar a luz fluorescente, foi realizado por DANTZKER e GERSTEIN (1969). Expuseram estes autores ratos albinos à luz fluorescente de intensidade variada por períodos de tempo de duração variável, seguidos de adaptação ao escuro. Utilizaram para o estudo da circulação retiniana nos diversos grupos de animais, a técnica de digestão pela tripsina e coloração pelo PAS + hematoxilina e observaram que constrições e oclusões ocorriam somente ao nível dos capilares retinianos, permanecendo o calibre dos demais vasos retinianos inalterado, independentemente da duração da exposição à luz. Concluem estes autores que os seus achados são idênticos àqueles observados nas distrofias hereditárias das células visuais da retina e na intoxicação pelo iodoacetato.

Igualmente estes pesquisadores pecam por não tomarem medidas numéricas do calibre vascular, baseando-se na simples observação direta de seus preparados histológicos e anatômicos.

Divergindo da maioria dos resultados encontrados pelos autores que até agora estudaram o efeito da luz, quer incandescente ou fluorescente, sobre a circulação retiniana, observamos que nos nossos ratos albinos expostos à luz fluorescente

contínua ocorre efetivamente, uma vasoconstricção estatisticamente significativa, nas arteríolas de 1ª e 2ª ordem, nas vênulas de 1ª, 2ª e 3ª ordem e também nos capilares, onde não raro se observam oclusões focais. As arteríolas de 3ª ordem não exteriorizaram constricções estatisticamente significativas, talvez devido à sua localização periférica, onde os efeitos da luz fluorescente fazem-se sentir mais tardiamente, especialmente sobre a retina (DANTZKER e GERSTEIN, 1969), que a este nível exibe histologia normal mesmo após vários dias de exposição. Variações mínimas no calibre destes vasos podem ter ocorrido e não foram detectadas pela técnica de medida usada. Embora não possamos afirmar, este fato talvez esteja relacionado a particularidades da própria estrutura da parede destes vasos, não reativos à luz ou talvez a um mecanismo de proteção.

A teoria mais aceita e que procura explicar a constricção ou oclusão dos capilares retinianos dos animais expostos à luz fluorescente é a seguinte: Com a degeneração das camadas de células visuais, nuclear externa e plexiforme externa, as camadas mais internas da retina, nutridas por estes vasos, se aproximam da coriocapilar. Esta aproximação eleva a tensão de oxigênio na retina atrofiada, degenerando-se então os capilares retinianos por efeito tóxico direto do oxigênio sobre os seus elementos celulares ou então ocorre o colapso do vaso, desencadeado pelo efeito vasoconstrictor deste gás, que reduz drasticamente a pressão intracapilar (DANTZKER e GERSTEIN, 1969).

Segundo GERSTEIN e DANTZKER (1969), ao efeito tóxico do oxigênio somam-se outros fatores, como: A liberação de substâncias químicas pelas células visuais degeneradas, que são tóxicas ou, então, têm ação vasoconstrictora sobre a circulação retiniana; a ausência do fator trófico da camada nuclear externa sobre os vasos da retina e finalmente a ausência de uma substância trófica para estes vasos, normalmente liberada pelas células fotorreceptoras.

Ainda, esta vasoconstricção constatada, poderá ser conseqüente a um engurgitamento das células endoteliais da íntima dos vasos, observado por FRIEDMAN, SMITH e KUWABARA (1964) e por eles atribuído ao trauma cirúrgico a que o bulbo ocular foi submetido em seu experimento. Este mesmo tipo de edema celular foi descrito por ZWEIFACH (1961) como uma conseqüência da estimulação elétrica e alterações súbitas no tônus vascular.

Percebe-se pelo exposto acima, que continuam bastante obscuros os mecanismos desencadeadores das alterações vasculares retinianas decorrentes da exposição à luz fluorescente. Estudos mais profundos, fundamentados na microscopia eletrônica e na histoquímica dos vasos retinianos deverão ser realiza-

dos, procurando correlacionar o espectro de emissão das lâmpadas, principalmente a radiação ultravioleta, com os danos causados às estruturas vasculares da retina.

**c) Cortes histológicos das retinas
músculos extraoculares e
glândulas de Harder:**

c.1) Retinas:

Os efeitos destrutivos-degenerativos da luz fluorescente sobre a retina de ratos albinos são conhecidos desde 1966 (NOELL e cols.) e estão na dependência de fatores como: temperatura do meio ambiente e corporal, tempo de exposição e intensidade luminosa. Segundo estes autores, a hipertermia acelera e intensifica as alterações retinianas, mas estas também se manifestam quando o animal está em temperatura ambiental e corpórea normais. Concluem, que a iluminação "standard" de um laboratório é insuficiente para causar danos retinianos, estando a temperatura corporal do animal em níveis normais. Danos retinianos irreversíveis, baseados em dados histológicos e eletrorretinográficos, são por eles descritos após a exposição contínua de ratos albinos à luz fluorescente durante 24 horas, em alta intensidade luminosa e temperatura corporal elevada. Os animais, sejam pigmentados ou não, exteriorizam danos retinianos de intensidade idêntica e a regeneração retiniana, quando a exposição não atingia os níveis considerados críticos em temperatura corporal elevada, ocorria 24 horas após a colocação dos animais em completa escuridão.

As alterações histológicas retinianas provocadas pela exposição contínua à luz fluorescente e que estão na dependência dos fatores anteriormente citados, variam desde a degeneração total da retina até modificações estruturais mínimas das células fotorreceptoras. Em consequência, a espessura da retina (O'STEEN, 1970 e O'STEEN, KRAEER e SHEAR, 1978), o peso total da retina (O'STEEN, 1970) e do bulbo ocular (REITER e KLEIN, 1971), podem apresentar-se reduzidos.

Os valores limiares necessários para produzir as alterações estruturais da retina variam conforme a maior ou menor intensidade de pigmentação do animal. Para os coelhos pigmentados, por exemplo, o limiar de irradiação para determiná-las situa-se acima de 0,7 cal/cm²/segundo (De MOTT e DAVIS, 1955). Em animais albinos estes limiares são muito maiores, pois uma quantidade menor de energia é absorvida pelo epitélio pigmentar da retina (GEERAETS e RIDGEWAY, 1963). No homem de olhos castanhos, o valor do limiar encon-

trado foi de 3,2 calorias/cm²/segundo e mais ou menos duas vezes maior no indivíduo de olhos azuis (CAVONIUS e cols., 1974).

GORN e KUWABARA (1967), repetindo os experimentos de NOELL e cols. (1966), não identificaram alterações retinianas irreversíveis após 48 horas de exposição contínua à luz fluorescente intensa e temperatura ambiental e corporal normais, seguidas de escuridão relativa por 14 dias. Somente em exposições superiores a uma semana nesta intensidade luminosa e temperaturas, apareciam as degenerações retinianas irreversíveis, demonstrando a maior susceptibilidade retiniana às temperaturas ambiental e corporal elevadas e à alta intensidade luminosa.

Em intensidade luminosa baixa e temperatura ambiental baixa e exposição de 4 dias consecutivos, alterações retinianas reversíveis foram demonstradas por O'STEEN (1970), acompanhadas de supressão das reservas de serotonina retiniana e do nervo óptico após o 16º dia de exposição contínua. Lesões retinianas irreversíveis foram encontradas por este autor após 16 dias de exposição e os animais tornavam-se amauróticos com 30 dias de manutenção contínua nesta intensidade de iluminação.

Nas mesmas condições de iluminação e temperatura acima descritas, O'STEEN e LYTLE (1971) descreveram a presença de danos retinianos iniciantes em ratos albinos após 48 horas de exposição contínua e cíclica à luz fluorescente. Alterações retinianas irreversíveis foram por eles observadas no 4º dia de iluminação constante, seguida de 8 dias de manutenção em iluminação cíclica (14 horas de luz e 10 horas de escuridão).

Os danos retinianos mais freqüentes ocorrem ao nível das células visuais, sendo aí também o sítio das alterações iniciais, caracterizadas do ponto de vista da microscopia óptica por fragmentação e desorientação dos segmentos externos dos fotorreceptores (O'STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1972), que assumem um aspecto estratificado, devido à sua coloração mais acentuada na porção interna e menos intensa na porção externa (O'STEEN e LYTLE, 1971) e os núcleos destas células tornam-se bastante picnóticos (NOELL e cols., 1966). Iniciam-se estas alterações, no pólo posterior e progressivamente se estendem a todos os setores retinianos (O'STEEN, 1970). Neste estado, as demais camadas retinianas apresentam-se normais.

Prolongando-se a exposição à luz fluorescente, haverá a progressiva degeneração dos fotorreceptores, acompanhada da sua separação do epitélio pigmentar (O'STEEN e LYTLE, 1971), até o seu completo desaparecimento após alguns meses, com a conseqüente destruição da conexão com as células bipolares e

redução da espessura das camadas nuclear externa e plexiforme externa (O'STEEN e LYTLE, 1971 e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1972). Para REITER e KLEIN (1972), há também redução no número das células bipolares. Ficará assim, a camada nuclear interna praticamente encostada no epitélio pigmentar, entremeada pelos prolongamentos das células de Müller.

A remoção dos resíduos provenientes da destruição dos fotorreceptores será feita por "células fagocitárias" (NOELL e cols., 1966 e O'STEEN e LYTLE, 1971), que começam a aparecer na retina degenerada, mais especificamente na camada plexiforme externa, após 60 horas de exposição contínua à luz fluorescente. Para outros autores, como KUWABARA e GORN (1968) e GRIGNOLO e cols. (1969), a maneira pela qual estes resíduos são eliminados da retina é desconhecida.

A destruição e posterior remoção dos detritos das células visuais dá à retina um aspecto "vacuolizado ou cístico", característico para os animais expostos à luz fluorescente contínua (NOELL e cols., 1966). Estes vacúolos ou cistos localizam-se em todas as camadas retinianas e a área destruída é posteriormente ocupada por tecido glial (O'STEEN e LYTLE, 1971).

Em nosso experimento, estes vacúolos ou cistos localizaram-se preferencialmente ao nível da camada de células fotorreceptoras previamente destruída, indicando talvez, alguma atividade de "remoção ou encistamento" dos detritos ou então, um preparo inicial para a posterior fagocitose, imediatamente após o início da degeneração das células visuais na fase aguda ou precoce do comprometimento retiniano (vide Figs. 6a e b).

Discrepâncias também ocorrem na literatura quanto ao acometimento ou não do epitélio pigmentar da retina nos animais iluminados. No estudo pioneiro de NOELL e cols. (1966), realizado em altas temperaturas ambiental e corpórea, as lesões desta estrutura já apareciam na fase inicial do experimento e ao seu final ela havia desaparecido por completo. Estas mesmas alterações foram confirmadas por KUWABARA e GORN (1968) e GRIGNOLO e cols. (1969). Já para O'STEEN e LYTLE (1971) e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972), o epitélio pigmentar da retina permanece íntegro, mesmo após 6 meses de exposição contínua à luz fluorescente de baixa intensidade.

As discordâncias existentes nestes estudos devem-se principalmente às diferentes temperaturas (ambiente e corpórea) e intensidades luminosas empregadas. Nos primeiros, as variáveis acima foram elevadas, o que provavelmente originou a degeneração precoce do epitélio pigmentar da retina, devido à maior absorção de calor. As temperaturas normais nos restan-

tes estudos, fizeram com que esta camada retiniana permanecesse intacta, mesmo após longos períodos de exposição.

Igualmente não observamos qualquer alteração no epitélio pigmentar da retina na nossa pesquisa, devendo-se isto à pouca intensidade luminosa empregada e às temperaturas ambiental e corporal, que permaneceram nos níveis também empregados por O'STEEN e LYTLE (1971) e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972) e a fase precoce em que os olhos foram enucleados para a preparação dos cortes histológicos.

A separação dos fotorreceptores do epitélio pigmentar da retina observada por O'STEEN e LYTLE (1971), também ocorreu em nosso experimento e pensamos tratar-se de um artefato de técnica, ao invés de uma característica inerente à exposição prolongada da retina à luz fluorescente.

A microscopia eletrônica das retinas dos animais expostos à luz fluorescente contínua foi realizada por KUWABARA e GORN (1968), GRIGNOLO e cols. (1969) e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972), exibindo as mesmas alterações fundamentais descritas pela microscopia óptica. Persistem aqui também as discrepâncias quanto ao acometimento ou não do epitélio pigmentar da retina, existente para alguns (KUWABARA e GORN, 1968 e GRIGNOLO e cols., 1969) e inexistente para outros (O'STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1972).

Estudos realizados por NOELL e cols. (1966), demonstraram que não há maior sensibilidade das retinas dos animais pigmentados à ação degenerativa da luz fluorescente contínua. Porém, o epitélio pigmentar costuma exteriorizar maiores alterações nos animais albinos do que nos pigmentados (ROBINSON JR e KUWABARA, 1976), inferindo-nos assim, a hipótese de lesão fótica e não térmica ou termocoagulante.

Várias são as teorias existentes na literatura, que procuram explicar o mecanismo pelo qual ocorreriam as lesões retinianas consequentes à exposição contínua à luz fluorescente. Inicialmente pensou-se que elas seriam decorrentes do efeito térmico (termocoagulação), mas esta hipótese foi abandonada após os experimentos de NOELL e cols (1966), que não verificaram qualquer dano retiniano após a exposição de ratos albinos ao calor intenso em escuridão completa. Para estes pesquisadores, os danos retinianos poderiam ser consequentes a: "ações fotodinâmicas", com desencadeamento de oxidações fotosensibilizadas e com formação de peróxidos; alteração de vias metabólicas que controlam a função da membrana celular; ou formação de um produto tóxico, pela ação contínua da luz fluorescente, ao qual a retina estaria pouco protegida. Segundo GORN e KUWABARA (1967), a degeneração retiniana seria re-

sultante do “descoramento crônico do pigmento visual”, induzido pela longa permanência dos animais na iluminação. Para a maioria dos autores porém, o mecanismo pelo qual ocorrem as alterações retinianas permanece ainda obscuro.

Acrescentaríamos ainda às hipóteses anteriores, a ação direta de algum componente do espectro de emissão das lâmpadas fluorescentes, em especial as radiações ultravioleta, que apesar de apresentarem baixo poder de penetração nos tecidos, poderiam alcançar a retina do rato, pois o bulbo ocular deste animal tem um pequeno diâmetro antero-posterior.

A regeneração das células fotorreceptoras da retina após a exposição contínua à luz fluorescente, depende aparentemente, da integridade do epitélio pigmentar (NOELL e cols., 1966 e ROBINSON JR e KUWABARA, 1976). Porém, estudos realizados por O'STEEN e LYTTLE (1971) e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972) demonstraram que apesar de existir a integridade do epitélio pigmentar da retina, não há a regeneração dos fotorreceptores e concluíram que a irreversibilidade das lesões retinianas está na dependência direta do tempo de exposição à luz fluorescente, que como já frisamos, quanto mais prolongado, torna as lesões retinianas mais extensas e acentuadas.

c.2) Músculos extraoculares:

Os trabalhos de O'STEEN (1970), O'STEEN e LYTTLE (1971) e O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1972) realizados com ratos albinos expostos à luz fluorescente de baixa intensidade, por vários períodos de tempo, não demonstraram qualquer alteração nos músculos extraoculares, apesar da intensa degeneração retiniana que ocorria.

A exposição dos mesmos animais por pequenos intervalos de tempo à luz incandescente intensa, sob elevada temperatura, causava porém, danos típicos aos músculos extrínsecos, caracterizados pelo desaparecimento das linhas Z e das faixas I das miofibrilas, acompanhados de intensa infiltração de leucócitos (granulócitos e agranulócitos). As porções dos músculos mais acometidas eram aquelas situadas próxima à sua inserção escleral. Estas alterações aparecem após 7 horas de exposição e a regeneração ocorre quando os animais são reintroduzidos na iluminação e temperatura do meio ambiente (O'STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1975).

As fibras de atividade espasmódica ou rápida e as de atividade lenta ou tônica (HESS, 1961 e HESS e PILAR, 1963) são acometidas de forma idêntica durante a exposição contínua à luz incandescente (O'STEEN, SHEAR e ANDERSON, 1975).

Pensava-se assim, que os danos musculares fossem causados pela elevada temperatura gerada pelas lâmpadas incandescentes, mas estudos paralelos realizados por O'STEEN, SHEAR e ANDERSON (1975), mostraram que ratos albinos expostos à altas temperaturas em completa escuridão não exteriorizavam nenhuma lesão em seus músculos extraoculares. Concluíram, que a energia radiante era a principal responsável pela degeneração dos músculos e que a interação desta com a energia calorífica intensifica estes danos.

Estudos posteriores de O'STEEN, KRAEER e SHEAR (1978) externaram as primeiras observações sobre as alterações provocadas pela luz fluorescente contínua e intensa, por períodos de tempo variáveis, nos músculos extraoculares do rato albino, estando a temperatura do meio ambiente em níveis normais. Verificaram estes pesquisadores, que após 24 horas de exposição, grande número de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) e macrófagos havia invadido o perímio, formando-se áreas de degeneração das miofibrilas. A infiltração celular inicia-se na inserção muscular na esclera e pela periferia do músculo e se estende posteriormente, para as porções mais centrais. Decorridas 48 horas de exposição, inicia-se a regeneração muscular, com aparecimento de mioblastos e a formação de microtubos dentro da área muscular previamente degenerada. Apesar do animal permanecer exposto à luz fluorescente por longos períodos de tempo, a regeneração do músculo extraocular continuará, podendo no entanto, surgir novas áreas de degeneração no tecido muscular neo-formado.

Nossas observações coincidiram com as de O'STEEN, KRAEER e SHEAR (1978), mas não constatamos, após 48 horas de exposição, a presença de sinais de regeneração muscular, mas pelo contrário, uma intensa degeneração das miofibrilas se fez presente, acompanhada de intensa infiltração de células inflamatórias (vide Fig. 7b). A temperatura mais elevada dentro da gaiola de "plexiglass" e a maior intensidade luminosa por nós empregada poderiam explicar as discrepâncias entre nossos achados e os daqueles autores.

As causas que levariam a estas degenerações musculares permanecem obscuras, mas com certeza estão ligadas ou então são diretamente dependentes da energia radiante emitida pelas lâmpadas fluorescentes. Estudos em nível de microscopia eletrônica tornam-se necessários, com o intuito de observar a possível similitude entre as alterações observadas nas fibras musculares dos animais expostos à luz incandescente e naqueles submetidos à iluminação fluorescente. A importância do espectro de emissão das lâmpadas fluorescentes deverá ser observada, dando especial atenção às radiações ultravioleta.

c.3) Glândulas de Harder:

As glândulas de Harder são estruturas grandes, lobuladas, compostas de elementos apócrinos túbulo-alveolares, situadas na cavidade orbitária, atrás do bulbo ocular (GRAFFLIN, 1942), que apresentam crescimento alométrico (VIANNA, 1966). No rato estas glândulas são ricas em porfirinas, mas a sua função ainda não é perfeitamente conhecida (AURELI, 1957 e KENNEDY, 1970).

WETTERBERG e cols. (1970) aventaram a hipótese de que esta glândula funcionaria como um fotorreceptor e as suas alterações induzidas pela luz fluorescente foram primariamente descritas por REITER e KLEIN (1971) e confirmadas por O'STEEN, KRAEER e SHEAR (1978).

O peso da glândula de Harder após exposição contínua e prolongada à luz fluorescente reduz-se em 20% nas primeiras 24 horas, decorrente das alterações histológicas em sua estrutura (REITER e KLEIN, 1971). Estas alterações histológicas neste período se caracterizam por ruptura dos túbulos, destruição de células epiteliais e maciça infiltração de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) na área degenerada (O'STEEN, KRAEER e SHEAR, 1978). Não raro, o revestimento epitelial do túbulo glandular encontra-se livre dentro da luz tubular (REITER e KLEIN, 1971).

Após 3 dias de exposição, inicia-se intensa proliferação epitelial, formando-se novos túbulos e cordões celulares sólidos, o que indica possivelmente, o início da regeneração glandular. No 4º dia de exposição, macrófagos e leucócitos preenchem as áreas degeneradas entre e dentro dos túbulos e a proliferação epitelial mostra-se mais acentuada. Decorrida uma semana de exposição, a glândula apresenta-se ainda intensamente degenerada, persistindo igualmente a atividade regenerativa, representada por proliferação epitelial e formação de cordões celulares rígidos e novos túbulos glandulares (O'STEEN, KRAEER e SHEAR, 1978).

Observações idênticas às publicadas pelos autores acima foram por nós constatadas, no período de tempo correspondente, ou seja, até 48 horas de exposição contínua (vide Fig. 8b). Não realizamos a pesagem das glândulas, mas pelos danos observados, certamente o seu peso apresentar-se-ia reduzido em relação àquelas dos animais do grupo controle, pois é evidente também, a atrofia das mesmas.

O estudo da regeneração glandular não foi realizado e nem constituiu objetivo da presente pesquisa.

A origem desta intensa degeneração da glândula de Harder foi inicialmente atribuída ao calor dissipado pelas lâmpa-

das fluorescentes, mas a colocação de uma lente de contato opaca diante de um dos olhos do animal demonstrou apenas lesões mínimas nos túbulos mais superficiais na glândula da órbita correspondente, enquanto a glândula da órbita sem lente de contato opaca, evidenciou as alterações intensas já descritas (O'STEEN, KRAEER e SHEAR, 1978). Assim, os fatos aqui relatados são compatíveis com a hipótese de que a degeneração da glândula de Harder depende diretamente da energia radiante emitida pelas lâmpadas fluorescentes. É nosso consenso de que estudos mais aprofundados, em nível de microscopia eletrônica, tornam-se necessários, bem como a correlação do espectro de emissão da lâmpada com os danos verificados.

d) Histoquímica da glândula de Harder:

Com a troca do meio aquático pelo terrestre, o desenvolvimento de um aparelho secretor em conexão com os olhos tornou-se necessário para a maioria dos animais e desta maneira, as glândulas lacrimal e de Harder se desenvolveram a partir de uma mesma origem, diferenciando-se posteriormente, histológica e fisiologicamente (SUNDWALL, 1916).

A função primária da glândula de Harder aparentemente é a de lubrificar a membrana nictitante, a terceira pálpebra, liberando secreção lipídica (DUKE-ELDER, 1958 e BJÖRKMAN e cols., 1960) e porfirina (COHN, 1955), sendo por isto também chamada "Glândula nictitans" por alguns autores (SHINODA, 1958). Para outros pesquisadores porém, a sua função permanece pouco esclarecida (AURELI, 1957 e KENNEDY, 1970).

Como no rato a membrana nictitante é formada por uma diminuta cartilagem semilunar (GREENE, 1955) e a glândula de Harder apresenta um padrão de crescimento muito semelhante ao da glândula lacrimal durante a vida pós-natal, outra função, diferente da de lubrificar uma estrutura rudimentar deve existir para esta glândula (VIANNA, 1966).

Utilizando as técnicas do PAS e Alcian blue para o estudo da secreção da glândula de Harder, observamos uma diminuição acentuada da secreção de mucopolissacarídeos, evidenciáveis por essas técnicas, após 48 horas de exposição contínua dos animais à luz fluorescente (vide Figs. 9a e b). Esta alteração provavelmente está correlacionada à grande desorganização da estrutura glandular observada nos cortes histológicos corados pelo hemalum e eosina e tricrômico de Masson (Fig. 8b), onde há ruptura de túbulos, deslocamento do revestimento epitelial para dentro da luz tubular e grande infiltração de células inflamatórias, originando áreas de degeneração de vários tamanhos, com função secretória diminuída ou mesmo ausente. E, embora não possamos confirmar, poderia haver alguma alteração da inervação secretora autônoma.

A recuperação da atividade secretória, após a regeneração glandular não foi por nós pesquisada, contudo, como a estrutura da glândula retorna aos seus padrões antigos (O'STEEN, KRAEER e SHEAR, 1978), cremos que esta função também se recupere após alguns dias da reintrodução do animal à iluminação e temperatura ambientais, como ocorre com outras estruturas do bulbo ocular e anexos.

Análises histoquímicas das outras estruturas oculares acometidas pela exposição contínua à luz fluorescente, deverão ser efetuadas para obter dados comparativos e assim buscar um denominador comum para a etiologia destas alterações, dando especial atenção ao espectro de emissão das lâmpadas empregadas neste experimento.

e) Inervação da íris:

As primeiras fibras adrenérgicas surgem na íris (músculo dilatador da pupila) do rato no 18^o dia de gestação e a sua densidade aí aumenta até a 4^a semana de vida pós-natal, especialmente na região entre os músculos dilatador e esfíncter da pupila (TERVO e cols., 1978).

As fibras nervosas colinérgicas, acetilcolinesterase positivas, por sua vez, costumam aparecer no músculo esfíncter da pupila após o 19^o dia de gestação e raramente são vistas no músculo dilatador da pupila. Sua densidade aumenta ao nível do esfíncter da pupila nos dias subsequentes, até a 2^a ou 3^a semanas de vida pós-natal (TERVO e cols., 1978).

As varicosidades das fibras nervosas, indicativas de um tipo terminal de inervação, aparecem nestas fibras nervosas da íris no 4^o dia de vida pós-natal, período em que os músculos dilatador e esfíncter da pupila já estão completamente desenvolvidos. O padrão definitivo da inervação da íris é encontrado depois da 4^a semana de vida pós-natal (TERVO e cols., 1978).

Pelas técnicas de impregnação pelo tetróxido de ósmio e iodeto de zinco a 1% e fluorescência pelo vapor de formol, ambos os tipos de fibras nervosas iridianas são demonstradas e a sua distribuição é relativamente uniforme, predominando umas no músculo dilatador da pupila (adrenérgicas) e as outras no músculo esfíncter da pupila (colinérgicas).

Quando os ratos albinos são expostos à luz fluorescente contínua por um período de 48 horas, observa-se uma acentuada redução na impregnação das fibras adrenérgicas no músculo dilatador da pupila e na região intermediária entre este e o esfíncter da pupila (Figs. 10a e b e 11a e b). Esta diminuição do número de fibras adrenérgicas impregnadas deve-se provavelmente, à redução de aminas simpaticomiméticas circulantes

e conseqüentemente também nas terminações nervosas autônomas iridianas. Isto decorre do certo grau de atrofia das glândulas supra-renais observada nestes animais (REITER e KLEIN, 1971), conseqüente ao desaparecimento do pico diurno da secreção do hormônio adrenocorticotrófico (HALBERG, 1953).

Devido às alterações acima descritas, as pupilas dos animais submetidos à luz fluorescente apresentam miose acentuada e os vasos iridianos mostram-se mais dilatados e tortuosos, quando observados sob lupa.

Estudos mais detalhados, visando estudar as fibras adrenergicas isoladamente, deverão ser realizados, com o intuito de confirmar as observações acima descritas e paralelamente afastar a possibilidade de destruição das fibras nervosas por algum componente do espectro de emissão das lâmpadas fluorescentes.

f) Placas motoras dos músculos extraoculares:

Segundo HESS e PILAR (1963), existem dois tipos de fibras musculares nos músculos extraoculares dos mamíferos, que podem ser diferenciadas entre si pela sua resposta aos estímulos nervosos.

As fibras musculares grandes, de inervação única e com atividade rápida ou espasmódica, são semelhantes às fibras contráteis dos músculos esqueléticos. Cada uma destas fibras musculares está inervada por um único neurônio motor, que pode terminar em várias placas motoras terminais típicas ou também chamadas placas motoras terminais “en plaque”, com muitas pregas posteriores a esta união neuro-muscular (MOSES, 1980).

As fibras musculares pequenas, de inervação múltipla, com atividade lenta ou tônica, não são encontradas nos músculos esqueléticos dos mamíferos, sendo exclusivas dos músculos extrínsecos do bulbo ocular e do músculo intrínseco do ouvido médio (ERULKAR e cols., 1964 e MOSES, 1980). Apresentam inervação múltipla em todo o seu comprimento e a terminação nervosa se faz em placas neuro-musculares “en grappe” e não se observam pregas posteriores a esta união.

Assim, as placas motoras “en plaque” estariam relacionadas com os movimentos “sacádicos” e as “en grappe” com os movimentos persecutórios (DUKE-ELDER e WYBAR, 1973).

Ambos os tipos de placas motoras encontradas nos músculos extraoculares do rato albino sofrem danos quando estes animais são submetidos à iluminação fluorescente contínua durante 48 horas. Estes danos se caracterizam por perda da textura delicada de suas estruturas microscópicas, por aparente

“edema” da terminação nervosa, decorrente talvez, da profunda degeneração muscular, conforme foi demonstrado nos cortes histológicos corados pelo hemalumem e eosina (vide Figs. 7a e b). Consequentemente, a placa motora assume aspecto de coalescência de suas estruturas, apresentando-se mais intensamente corada pelo tetróxido de ósmio e iodeto de zinco a 1%, quando comparada às placas motoras dos músculos extraoculares dos animais do grupo controle (vide Figs. 12a e b).

O mecanismo etiológico destas alterações deverá ser pesquisado com o auxílio da microscopia eletrônica; a influência da luz fluorescente parece indiscutível, mas a participação mais ativa de algum componente do espectro de emissão das lâmpadas, como a radiação ultravioleta deverá ser cuidadosamente averiguada. Outrossim, a temperatura (34,5°C) em que foi realizado o experimento, pode ter efeito somatório ao acima questionado, levando a degenerações mais sérias desta delicada estrutura neuro-muscular.

Finalizando nossa discussão e frente aos achados, acreditamos poder presumir que haveria necessidade de se imaginar meios para estudos do efeito da iluminação fluorescente sobre o olho humano.

O emprego de lâmpadas fluorescentes apresenta inegavelmente uma série de vantagens (economia, maior luminosidade, boa reprodução de cores, pouca dissipação de calor, etc.) e em face das mesmas têm sido largamente utilizadas. Infelizmente não contamos, por ora, de meios que permitissem a avaliação da fração ultravioleta emitida por essas lâmpadas. Nossos dados a respeito do espectro da luz emitida têm se baseado apenas nas informações oferecidas pelos fabricantes.

Portanto, uma decorrência natural do nosso trabalho seria, futuramente, imaginar meios e parâmetros para avaliação de eventuais danos desse tipo de luz sobre o olho humano.

CONCLUSÕES

O nosso estudo permite tirar as seguintes conclusões em relação aos efeitos agudos da luz fluorescente contínua durante 48 horas, sobre algumas estruturas do bulbo ocular e anexos oculares do rato albino:

1) Há vasoconstricção estatisticamente significativa ($P < 0,005$) das arteríolas de 1ª e 2ª ordem e duas vênulas de 1ª, 2ª e 3ª ordem. Os capilares arteriais e venosos apresentam constricções e oclusões focais, com certo grau de desarranjo em sua morfologia normal.

2) Ocorre atrofia da retina, com degeneração e vacuolização da camada de células fotorreceptoras e redução da espessura das camadas nuclear externa e plexiforme externa.

3) Os músculos extraoculares sofrem degeneração e infiltração intensa de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) e macrófagos.

4) As glândulas de Harder sofrem intensa degeneração, com ruptura de seus túbulos, destruição de células epiteliais e infiltração de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) e macrófagos.

5) As reações histoquímicas da glândula de Harder são compatíveis com acentuada diminuição da secreção de mucopolissacarídeos.

6) O estudo da inervação da íris mostrou a presença de menor número de fibras nervosas adrenérgicas ao nível do músculo dilatador da pupila, compatível com uma depleção de aminas ou eventualmente com degeneração destas fibras.

7) As placas motoras das fibras dos músculos extraoculares apresentaram-se com morfologia alterada e mais intensamente impregnadas pela substância corante, aspectos que seriam compatíveis com a hipótese de degeneração.

SUMÁRIO

Com a finalidade de constatar os efeitos agudos da luz fluorescente sobre algumas estruturas do bulbo ocular e anexos oculares, 30 ratos albinos de ambos os sexos, com peso de aproximadamente 130g, foram mantidos durante 48 horas sob iluminação fluorescente contínua de 6 lâmpadas “luz do dia”, 20 watts, numa caixa de “plexiglass” transparente. A água e a alimentação foram fornecidas “ad libitum” e a temperatura no interior do receptáculo foi de 34,5°C. Dez animais da mesma espécie, de ambos os sexos e com o mesmo peso corporal compuseram o grupo controle e foram mantidos em iluminação ambiental cíclica e temperatura do meio ambiente.

Em 15 animais iluminados e 5 do grupo controle realizou-se a injeção intra-vascular de nanquim, para o estudo do calibre externo dos vasos retinianos. Nos ratos restantes (15 do grupo submetido à luz e 5 do grupo controle), estudou-se a histologia da retina, músculos extraoculares e glândulas de Harder, a histoquímica da glândula de Harder, a inervação da íris e as placas motoras dos músculos extraoculares.

Concluiu-se haver vasoconstrição estatisticamente significativa nas arteríolas de 1ª e 2ª ordem e nas vênulas de 1ª, 2ª e 3ª ordem e os capilares apresentam constrictões e oclusões focais. A retina apresentou-se atrófica, por degeneração e vacuolização da camada dos fotorreceptores e redução na espessura das camadas nuclear externa e plexiforme externa. Os músculos extraoculares e a glândula de Harder sofreram degeneração e infiltração inflamatória aguda e a secreção diminuída de mucopolissacarídeos. Redução no número de fibras nervosas adrenérgicas foi constatada nas íris examinadas e as placas motoras apresentaram alterações de sua morfologia normal e coraram-se mais intensamente, características sugestivas de degeneração.

Frente à literatura relacionada com os aspectos aqui enfocados, procurou-se discutir os eventuais mecanismos envolvidos no desencadeamento das alterações demonstradas.

SUMMARY

The effects of fluorescent light on structures of the eye and adnexa were studied in thirty Wistar albino rats, female and male, weighing approximately 130g, by keeping for forty-eight hours in a clear polyethylene cage under illumination from six fluorescent lamps, daylight, 20 watts. Food and water was given "ad libitum" to the animals, the temperature in the cage was approximately 34,5°C. Ten animal, females and males, having the same weight were kept under cyclic illumination and enviromental temperature, as the control group.

In fifteen illuminated rats and five of the control group, vascular injection of Indian ink was performed to study the external diameter of the retinal vessels and in the others (fifteen illuminated and five of the control group), an optical microscopic study of the retinal, extraocular muscles and Harderian glands histology, histochemistry of the Harderian glands, iris inervation and motor end-plate of the extraocular muscles, was performed.

The author concluded that important constriction ocured in medium and great arterioles and small, medium and great venules. The capillaries showed constrictions and focal occlusions. The retina appeared atrophic, with degeneration of the photoreceptor cells layer and reduction of the width of external nuclear and external plexiform layers. The extraocular muscles and Harderian glands showed degeneration and acute inflammatory infiltration with reduction of mucopolysaccharides secretion in the glands. A reduced number of adrenergic fibers in the iris was found and the motor end-plate showed signs of degeneration.

The possibles mechanisms related to these alterations were discussed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, D.R.: Vascular supply to the optic nerve of primates. *Am. J. Ophthalm.* **70: 31, 1970.**
2. ANDERSON, D.R.: The retinal capillary bed at the posterior pole of primate eyes. *Am. J. Ophthalm.* **71: 815, 1971.**
3. ASHTON, N.: Vascular changes in diabetes with particular reference to the retinal vessels. *Brit. J. Ophthalm.* **33: 407, 1949.**
4. ASHTON, N.: Injection of the retinal vascular system in the enucleated eye in diabetic retinopathy. *Brit. J. Ophthalm.* **34: 38, 1950.**
5. ASHTON, N.: Observations on the choroidal circulation. *Brit. J. Ophthalm.* **36: 465, 1952.**
6. ASHTON, N.: Studies of the retinal capillaries in relation to diabetic and other retinopathies. *Brit. J. Ophthalm.* **47: 521, 1963.**
7. AURELI, G.: La ghiandola di Harder nel maiale. *Rev. Istocem. Norm. Pathol.* **3: 113, 1957** (citado por VIANNA, 1966).
8. BAER, R.L. e HARBER, L.C.: Light sensitivity in biologic systems. Phototoxicity and photoallergy related to visible light. *Fed. Proc.* **24 (supl. 14): 19: 1965.**
9. BALLANTYNE, A.J. e LOEWENSTEIN, A.: Retinal micro-aneurisms and punctate haemorrhages. *Brit. J. Ophthalm.* **28: 593, 1944.**
10. BENNETT, H.S.; LUFT, J.H. e HAMPTON, J.C.: Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. *Am. J. Physiol.* **196: 381, 1959.**
11. BJÖRKMAN, N.; LENNART, N. e SCHANTZ, B.: On the histology and ultrastructure of Harderian gland in rabbits. *Z. Zellforsch.* **52: 93, 1960.**
12. CAVONIUS, C.R.; ELGIN, S. e ROBBINS, D.O.: Thresholds for damage of the human retina by visible light. *Exp. Eye Res.* **19: 543, 1974.**
13. COHN, S.A.: Histochemical observations on the Harderian gland of the albino mouse. *J. Histochem. Cytochem.* **3: 342, 1955.**
14. DANTZKER, D.R. e GERSTEIN, D.D.: Retinal vascular changes following toxic effects on visual cells and pigment epithelium. *Arch. Ophthalm.* **81: 106, 1969.**
15. De MOTT, D.W. e DAVIS T.P.: Irradiance thresholds for chorioretinal lesions. *Arch. Ophthalm.* **62: 653, 1959.**
16. DUKE-ELDER, S.: System of Ophthalmology, vol. I. The eye in evolution. Henry Kimpton, London, 1958.
17. DUKE-ELDER, S. e WYBAR, K.C.: System of Ophthalmology, vol. II. The anatomy of the visual system. Henry Kimpton, London, 1961.
18. DUKE-ELDER, S. e DOBREE, J.H.: System of Ophthalmology, vol. X. Diseases of the retina. Henry Kimpton, London, 1967.
19. DUKE-ELDER, S. e WYBAR, K.C.: System of Ophthalmology, vol. VI. Ocular motility and strabismus. Henry Kimpton, London, 1973.
20. ENCICLOPÉDIA DELTA LAROUSSE, Tomo XI. Editora Delta S.A., Rio de Janeiro, 1960.
21. ENGERMANN, R.L.; BUESSELER, J.A. e MEYER, R.K.: Periodic acid Schiff staining of retinal whole mounts. *Arch. Ophthalm.* **68: 62, 1962.**
22. ERSKINE, C.A.: Neuroglial relationships in the human retinal capillary network. *Brit. J. Ophthalm.* **47: 601, 1963.**
23. ERULKAR, S.O.; SHELANSKI, M.L.; WHITSEL, B.L. e OGLE, P.: Studies of muscle fibers of the tensor tympani of the cat. *Anat. Rec.* **149: 279, 1964.**
24. EVANS, J.N.: The capillary sphincter in the human retina. *Arch. Ophthalm.* **37: 182, 1947.**
25. FALCK, B.: *Acta physiol. scand.* (supl. 197): 1, 1962 (citado por FERREIRA, 1977).
26. FERREIRA, A.L. e ROSSI, M.A.: A desnervação na cardiopatia chagásica, demonstrada através da fixação com o tetróxido de ósmio-iodeto de zinco. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* **13 (6): 391, 1971.**
27. FERREIRA, A.L.: Monoamine-containing cells in atrioventricular valves of the opossum heart. *Experimentia* **33: 202, 1977.**

28. FRANÇOIS, J.; NEETENS, A. e COLLETE, J.M.: Microangiographie oculaire. *Ophthalmologica* 129: 145, 1955.
29. FRIEDENWALD, J.S.: A new approach to some problems of retinal vascular disease. *Am. J. Ophthalm.* 32: 487, 1949.
30. FRIEDMAN, E.; SMITH, T.R. e KUWABARA, T.: Retinal microcirculation in vivo. *Invest. Ophthalm.* 3: 217, 1964.
31. FRIEDMAN, E. e KUWABARA, T.: The retinal pigment epithelium. 4. The damaging effects of radiant energy. *Arch. Ophthalm.* 80: 265, 1968.
32. GEERAETS, W.J. e RIDGEWAY, D.: Retinal damage from high intensity light. *Acta Ophthalmologica* (supl. 76): 109, 1963.
33. GENERAL ELECTRIC DO BRASIL S.A.: Catálogo geral de lâmpadas fluorescentes. São Paulo, 1980.
34. GERSTEIN, D.D. e DANTZKER, D.R.: Retinal vascular changes in hereditary visual cell degeneration *Arch. Ophthalm.* 81: 99, 1969.
35. GONÇALVES, P.: Traumatismos oculares e infortunistica ocular. 2ª. Edição, Livraria Ateneu, Rio de Janeiro, 1977.
36. GORN, R.A. e KUWABARA, T.: Retinal damage by visible light. A physiologic study. *Arch. Ophthalm.* 77: 115, 1967.
37. GRAFFLIN, A.L.: Histological observations upon porphyrin-excreting Harderian gland of the albino rat. *Am. J. Anat.* 71: 43, 1942.
38. GREENE, E.C.: Anatomy of the rat. Hafner Publishing Co., New York, 1955 (citado por VIANNA, 1966).
39. GRIGNOLO, A.; ORZALES, N.; CASTELLAZO, R e VITTONI, P.: Retinal damage by visible light in albino rats. *Ophthalmologica* 57: 43, 1969.
40. HALBERG, F.: Some physiological and clinical aspects of 24 hour periodicity. *J. Lancet* 73: 20, 1953.
41. HALLIDAY, D. e RESNICK R.: Física II, vol. I. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 1974.
42. HAUSLER, H.R. e SIBAY, T.M.: A contribution to the injection technique for studying retinal blood vessels. *Am. J. Ophthalm.* 48 (II): 138, 1959.
43. HESSE, F.R.: Über die Vertheilung der Blutgefäße in der Netzhaut. *Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch.* 219, 1880 (citado por JANES e BOUNDS, 1955).
44. HESS, A.: The structure of vertebrate slow and fast extrafuscular muscle fibers in the extraocular muscles and their nerve endings in guinea pigs. *J. cell Physiol.* 58: 63, 1961.
45. HESS, A. e PILAR, G.: Slow fibers in the extraocular muscles of the cat. *J. Physiol.* 169: 780, 1963.
46. HOGAN, M.J. e FEENEY, L.: The ultrastructure of the retinal blood vessels. I. The large vessels. *J. Ultrastruct. Res.* 9: 10, 1963a.
47. HOGAN, M.J. e FEENEY, L.: The ultrastructure of the retinal blood vessels. II. The small vessels. *J. Ultrastruct. Res.* 9: 29, 1963b.
48. HOGAN, M.J. e FEENEY, L.: The ultrastructure of the retinal blood vessels. III. Vascular-glial relationships. *J. Ultrastruct. Res.* 9: 47, 1963c.
49. HÖFLING, G.: Gute Beleuchtung des Arbeitsplatzes. *Der Augenoptiker*, 34 (1979) 1.
50. HOLLWICH, F.: The influence of ocular light perception on metabolism in man and in animal. Springer, New York, 1979.
51. IES LIGHTING HANDBOOK. Third Edition, Illuminating Engineering Society, New York, 1959.
52. JANES, R.G. e BOUNDS, G.W.: The blood vessels of the rat's eye. *Am. J. Anat.* 96: 357, 1955.
53. JANES, R.G. The relationship between eye and kidney pathology in the diabetic retinopathy. *Arch. Path.* 67: 386, 1959.
54. KEENEY, A.H. e BARLOW, F.D.: Histologic methods in the study of retinal vascular patterns. In the albino rat. *Am. J. Ophthalm.* 42: 554, 1956.
55. KENNEDY, G.Y.: Harderoporphyrin: a new porphyrin from the Harderian glands of the rat. *Com. Biochem. Physiol.* 36: 21, 1970.

56. KISSEN, A.T. e BLOODWORTH JR, J.M.B.: Ultrastructure of retinal capillaries of the rat. *Exp. Eye Res.* 1: 1, 1961.
57. KNIGHT, G.E.: Injeccion-digest method for studying retinal vessels. *Brit. J. Ophthalm.* 50: 144, 1966.
58. KUWABARA, T. e COGAN, D.G.: Studies of retinal vascular patterns. Part I: Normal architecture. *Arch. Ophthalm.* 64: 904, 1960.
59. KUWABARA, T. e COGAN, D.G.: Retinal vascular patterns. VI: Mural cells of the retinal capillaries. *Arch. Ophthalm.* 69: 492, 1963.
60. KUWABARA, T. e GORN, R.A.: Retinal damage by visible light. An electron microscopic study. *Arch. Ophthalm.* 79: 69, 1968.
61. LEESON, T.S.: Rat retinal blood vessels. *Canad. J. Ophthalm.* 14: 21, 1979.
62. LISON, L.: *Histochimie et Cytochimie animales*. 3eme Edition, Gauthier-Villars, Paris, 1960.
63. MAILLET, M.: Modification de la technique de Champy au tétraoxyde d'osmium-iodure de K. Résultats de son application à l'étude des fibres nerveuses. *C. R. Soc. Biol.* 153: 939, 1959.
64. MICHAELSON, I.C. e STEEDMANN, H.C.: *Brit. J. Ophthalm.* 33: 376, 1949 (citado por ASHTON, 1950).
65. MICHAELSON, I.C.: *Retinal circulation in man and animals*. Springfield, Ill., Thomas, 1954.
66. MORRIS, D.A.; BELLHORN, R.N. e HENKIND, P.: Study of the retinal circulation. I. Effect of light. *Brit. J. Ophthalm.* 54: 99, 1970.
67. MOSES, R.A.: *Fisiologia del ojo de Adler*. Aplicación clínica. Panamericana, Buenos Aires, 1980.
68. MUTLU, F. e LEOPOLD, I.H.: Structure of the retinal vascular system. Of the dog, monkey, rat, mouse and cow. *Am. J. Ophthalm.* 58: 261, 1964.
69. NOELL, W.K.; WALKER, V.S.; KANG, B.S. e BERMAN, S.: Retinal damage by light in rats. *Invest. Ophthalm.* 5: 450, 1966.
70. NOVOTNY, H. R. e ALVIS, D.L.: A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation*, 24: 82, 1961.
71. OSÓRIO, L.A.: *Hemorragias intraoculares*. Estudo anátomo clínico, experimental e terapêutico. Co-edição URGs Editora Mc Graw-Hill do Brasil, Porto Alegre e São Paulo, 1977.
72. O'STEEN, W.K.: Retinal and optic nerve serotonin and retinal degeneration as influenced by photoperiod. *Exp. Neurol.* 27: 194, 1970.
73. O'STEEN, W.K. e LYTLE, R.B.: Early cellular disruption and phagocytosis in photically-induced retinal degeneration. *Am. J. Anat.* 130: 227, 1971.
74. O'STEEN, W.K.; SHEAR, C.R. e ANDERSON, K.V.: Retinal damage after prolonged exposure to visible light. A light and electron microscopic study. *Am. J. Anat.* 134: 5, 1972.
75. O'STEEN, W.K.; SHEAR, C.R. e ANDERSON, K.V.: Extraocular muscle degeneration and regeneration after exposure of rats to incandescent radiant energy. *J. Cell. Sci.* 18: 157, 1975.
76. O'STEEN, W.K.; KRAEER, S. e SHEAR, C.R.: Extraocular muscle and Harderian gland degeneration and regeneration after exposure of rats to continuous fluorescent illumination. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 17: 847, 1978.
77. PHILIPS DO BRASIL LTDA.: *A aparência visual da cor e a reprodução de cor das lâmpadas fluorescentes*. São Paulo, 1980.
78. POTTS, A. M.: Anatomic methods for study of the bulbus oculi. *Am. J. Ophthalm.* 65: 155, 1968.
79. REITER, R.J. e KLEIN, D.C.: Observations on the pineal gland, the Harderian glands, the retina, and reproductive organs of adult female rats exposed to continuous light. *J. Endocr.* 51: 117, 1971.
80. ROBINSON JR, W.G. e KUWABARA, T.: Light-induced alterations of retinal pigment epithelium in black, albino and beige mice. *Exp. Eye Res.* 22: 549, 1976.

81. ROUGET, C.: *Mémoire sur le développement, la structure, et les propriétés physiologiques des capillaires sanguins et lymphatiques.* Arch. Physiol. Norm. Path. 5: 403, 1872 (citado por WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971).
82. SHINODA, S.: Harder's gland in some mammals. *Igaku Kenkiu* 28(12): 4623, 1958. *Biol. Abstracts* 36: ref. 1170, 1961.
83. SPALTEHOLZ, W.: *Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten.* Ed. 2, Hirzel, Leipzig 1914 (citado por OSÓRIO, 1977).
84. SUNDWALL, J.: The lacrimal gland. *Am. J. Anat.* 20: 148, 1916 (citado por VIANNA, 1966).
85. TERVO, K.; TERVO, T. e PALKAMA, A.: Pre- and postnatal development of catechoiamine-containing and cholinesterase-positive neives of the rat cornea and iris. *Anat. Embryol.* 154: 253, 1978.
86. THURÁNSZKY, K.: *Der Blutkreislauf der Netzhaut.* Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest, 1957 (citado por MORRIS BEL-LHORN e HENKIND, 1970).
87. TOUSSAINT, D.; KUWABARA, T. e COGAN, D.G.: Retinal vascular patterns. Part II. Human retinal vessels studied in three dimensions. *Arch. Ophthal.* 65: 575, 1961.
88. VIANNA, G.F.: *Crescimento alométrico da glândula lacrimal e da glândula de Harder do rato, durante a vida pós-natal.* Tese de Doutorado, Ribeirão Preto, 1966.
89. VIMTRUP, B.: *Beitrage zur Anatomie der Capillaren. I. Über Kontractile Elemente in der Gefasswand der Blutcapillaren.* *Z. Ges Anat.* 65: 150, 1922 (citado por WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971).
90. WEIGELIN, E. e LOBSTEIN, A.: *Ophthalmodynamometry.* Hafner, New York, 1963.
91. WETTERBERG, L.; GELLER, E. e YUWILER, A.: Harderian gland: and extra-retinal photoreceptor influencing the pineal gland in noenatal rats?. *Science* 167: 884, 1970.
92. WISE, G.N.; DOLLERY, C.T. e HENKIND, P.: *The retinal circulation.* Harper & Row Publishers, New York, 1971.
93. WOLTER, J.R.: Diabetic capillary microaneurisms of the retina. *Arch. Ophthal.* 65: 847, 1961.
94. WOLTER, J.R.: The pericytes of the human retina. *Am. J. Ophthal.* 53:981, 1962.
95. WYBAR, K.C.: Anastomoses between the retinal and ciliary arterial circulation. *Brit. J. Ophthalm.* 40: 65, 1965.
96. ZIMMERMANN, K.W.: *Der feinere Bau der Blutcapillaren.* *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 68: 29, 1923 (citado por WISE, DOLLERY e HENKIND, 1971).
97. ZWEIFACH, B.W.: Biologic properties of vascular endothelium. *Angiology* 12: 507, 1961.

APÊNDICE

TABELA I: Média(\bar{x}), desvio padrão(s) e coeficiente de variabilidade (cv) do calibre externo das arteríolas retinianas do rato albino nos pontos convencionais A, B e C, situados respectivamente a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm da borda do disco óptico, dos grupos de animais controle(C) e expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas(T).

GRUPOS DE ANIMAIS	\bar{x}			s			cv%		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
C	2,3	1,7	1,0	0,3	0,3	0,2	13,0	17,6	20,0
T	(*) 1,4	(*) 1,0	(*) 1,0	0,3	0,2	0,3	21,4	20,0	30,0

(*) $P < 0,005$

TABELA II: Média(\bar{x}), desvio padrão(s) e coeficiente de variabilidade(cv) do calibre externo das vênulas retinianas do rato albino, nos pontos convencionais A, B e C, situados respectivamente a 3,0cm, 9,0cm e 15,0cm da borda do disco óptico, dos grupos de animais controle(C) e expostos à luz fluorescente durante 48 horas(T).

GRUPOS DE ANIMAIS	\bar{x}			s			cv%		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
C	3,6	2,9	2,3	0,4	0,4	0,3	11,1	13,8	13,0
T	(*) 2,8	(*) 2,1	(*) 1,7	0,6	0,5	0,6	21,4	23,8	35,3

(*) $P < 0,005$