



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

**TÍTULO:
CITOTOXICIDAD CELULAR EN CULTIVOS ARPE-
19 GENERADA POR EXPOSICIÓN A LA LUZ AZUL Y
LA PROTECCIÓN DADA POR TRATAMIENTOS
ÓPTICOS COMERCIALES**

**FORMA DE TITULACIÓN: ACTIVIDAD
DE INVESTIGACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN OPTOMETRÍA**

P R E S E N T A:

ANA CECILIA CHÁVEZ GUTIÉRREZ

TUTOR: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS

ASESOR: MTRA. AMABILE VELO SILVESTRE

LEÓN GTO, 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Visualizador de documentos

ARPE-19 thesis

Por: Ana Cecilia Chavez

A partir de: 2 ago 2023 12:29:51
6,581 words - 39 matches - 31 sources

Indice de similitud

9%

Modo: Informe de similitud

Incluir citas

Incluir bibliografía

Excluyendo coincidencias < 10 palabras

Limitar el tamaño de las coincidencias a 10 palabras



Gracias la Universidad Nacional Autonoma de Mexico, ENES León, por permitirme realizar este presente proyecto en sus instalaciones. Agradezco a mi tutor, Dr. Rene Garcia Contreras, ya que sin su aportación y colaboracion nada de esto seria posible. Agradezco a mi asesora de carrera, Mtrs. Amabile Velo Silvestre por su participación a lo largo del proyecto; gracias a su aportación fue posible trabajar con celulas ARPE-19. Agradezco a cada uno de los docentes involucrados a lo largo del proyecto, gracias Dr. Luis hernandez, Dr. Daniel Malacara, Dr. Hugo. Resumen Debido a pandemia, estudios estadísticos del nuevo Digital 2021 Global Overview- Report, afirman que los seres humanos pasan más horas frente a un dispositivo electrónico, los cuales emiten energia; midiéndose en longitudes de onda; la más dañina es de 450 nm, causa daño fototóxico en las células del EPR y se relaciona con la DMRE. Para solucionar esta problemática, diversas casas comerciales han ofrecido filtros contra luz azul, buscando disminuir los daños ocasionados por la constante exposición. Sin embargo, no hay evidencia suficiente que respalde la eficacia de estos filtros.

El objetivo de esta investigación es determinar la protección brindada de 27

- 1 102 words / 2% - Internet de 20 ene 2015 12:00a. m.
ofthalmonoticias.blogspot.com
- 2 32 words / 1% - Internet
[Lara Martín Ester, "Estudio de inhibidores de Sirtuinas como futuros agentes antitumorales", 2019](#)
- 3 44 words / 1% - de 20-jun-2023 12:00a. m.
oecdاتا.dspsoc.ccu.es
- 4 20 words / < 1% coincidencia - Internet
Vicario Pereda, Mónica. "Efectos de la luz azul en la salud ocular", Universitat Politècnica de Catalunya, 2022
- 5 12 words / < 1% coincidencia - Internet
[Diaz Saura Rosa María, "Estudio bibliográfico de los efectos de la luz azul relacionados con la prevención de riesgos laborales", 2020](#)

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional Autónoma de México, ENES León, por permitirme realizar el presente proyecto en sus instalaciones.

Agradezco al “CONSEJO OPTOMETRIA MEXICO” que mediante el programa “proyectos de investigación básica, clínica o aplicada para estudiantes en optometría de la ENES León ,UNAM” el proyecto fue seleccionado para ser acreedor de una beca con beneficio económico. Gracias al apoyo el proyecto pudo realizarse.

Me gustaría reconocer la participación de mi tutor de tesis, el Dr. René García Contreras, sin duda un apoyo fundamental para la realización de la investigación, sin su aportación nada hubiera sido posible.

Agradezco a mi asesora de la licenciatura, Mtra. Amabile Velo Silvestre por su participación a lo largo del proyecto; gracias a su apoyo fue posible trabajar con las células ARPE-19.

Agradezco a cada uno de los docentes involucrados a lo largo del proyecto, gracias al Dr. Luis Hernández, Dr. Daniel Malacara, Dr. Hugo Alvarado y Dra Darinka Durán.

A todos los mencionados, gracias.

Resumen

Estudios estadísticos del nuevo Digital 2021 Global Overview-Report, afirman que debido a pandemia las personas pasan más horas frente a un dispositivo electrónico, estos emiten energía electromagnética la cual se mide en longitudes de onda; la energía que conforma la luz visible, se extiende desde los 384 nm hasta los 769 nm¹. Dentro del espectro de luz visible, las longitudes de onda de 450 nm han sido descritas como luz que genera fototoxicidad en las células del EPR (epitelio pigmentario de retina) el cual se relaciona con la degeneración macular relacionada a la edad (DMRE). Basándose en esa evidencia, diversas casas comerciales han ofrecido filtros contra luz azul, buscando disminuir los daños ocasionados por la alta exposición. Sin embargo, no hay evidencia suficiente que respalde la eficacia de estos filtros.

Por lo que, el objetivo de la investigación es determinar la protección que brindan las diferentes opciones de lentes contra luz azul en un modelo in vitro utilizando cultivo celular de la línea ARPE 19 expuesta a 450 nm. Se realizó un cultivo celular y se hizo un pase hacia placas de 96 pocillos expuestas a luz azul de 450 nm durante 4 hrs. En la placa de 96 pocillos se distribuyeron los filtros de tal manera que para cada filtro n=12 pocillos. Los grupos experimentales fueron: grupo control no expuesto, grupo control expuesto, lente blanca y filtros de luz azul del 1 al 4. Pasado el tiempo de exposición se realizó MTT por 5 horas y se analizó la placa en un espectrofotómetro para determinar la viabilidad celular. Esto se hizo por 3 ocasiones.

Los resultados muestran que la exposición de las células a la luz azul estimula directamente a la célula e incrementa su proceso metabólico; esto explica el aumento del número de células viables en los pocillos de la placa donde estuvieron expuestas frente a la luz azul o sin protección. Se concluye que el número de células viables es directamente proporcional con el tiempo de exposición. Las células del EPR aumentaron sus niveles de melanosina cuando fueron expuestas a luz azul; por lo tanto, las muestras de la marca SETO y Single Vision mostraron menor crecimiento celular. Dando por hecho que su tratamiento tiene mayor reflexión de la luz azul en comparación a las otras marcas de lentes oftálmicas.

Palabras clave: luz azul, Células ARPE-19, Filtros, DMRE.

Abstract

Statistical studies of the new Digital 2021 Global Overview-Report, affirm that due to pandemic people spend more hours in front of an electronic device, these emit electromagnetic energy which is measured in wavelengths; the energy that makes up visible light, extends from 384 nm to 769 nm¹. Within the visible light spectrum, wavelengths of 450 nm have been described as light that generates phototoxicity in RPE (retinal pigment epithelium) cells, which is related to age-related macular degeneration (AMD). Based on this evidence, several commercial companies have offered blue light filters, seeking to reduce the damage caused by high exposure. However, there is insufficient evidence to support the efficacy of these filters.

Therefore, the objective of this research is to determine the protection provided by different options of blue light lenses in an in vitro model using cell culture of the ARPE 19 line exposed to 450 nm. A cell culture was grown and passage into 96-well plates exposed to 450 nm blue light for 4 hr. In the 96-well plate the filters were distributed in such a way that for each filter n=12 wells. The experimental groups were unexposed control group, exposed control group, white lens, and blue light filters 1 to 4. After the exposure time, MTT was performed for 5 hours, and the plate was analyzed in a spectrophotometer to determine cell viability. This was done for 3 times.

The results show that exposure of the cells to blue light directly stimulates the cell and increases its metabolic process; this explains the increase in the number of viable cells in the wells of the plate where they were exposed to blue light or without protection. It is concluded that the number of viable cells is directly proportional to the exposure time. The RPE cells increased their melanopsin levels when exposed to blue light; therefore, the SETO and Single Vision brand samples showed less cell growth. This implies that their treatment has higher blue light reflection compared to the other brands of ophthalmic lenses.

Key words: blue light, ARPE-19 cells, Filters, DMRE.

Introducción

Durante el confinamiento por pandemia de covid - 19, el uso de dispositivos electrónicos aumentó a un total de 9 horas con 1 minuto en 2020-2021, casi 1 hora más que lo reportado en 2019, con un total de 5.22 billones de usuarios en todo el mundo usando un aparato digital, según estadísticas del digital global overview report publicado en hootsuite y we are social². Este aumento fue debido a las distintas formas de socializar a través de un dispositivo electrónico, el uso de las redes sociales y la creación de nuevas plataformas de entretenimiento visualizando videos cortos y transmisiones en vivo.

El estar demasiado tiempo frente a un dispositivo puede generar diversos problemas a corto plazo como la fatiga visual, espasmos acomodativos, pseudo miopía, cefaleas y a largo y mediano plazo los cuales son más preocupantes ya que se compromete todo el organismo, pues afecta principalmente a la ausencia del sueño o insomnio³ (al estar en contacto el cerebro con luz azul este entiende que debe de estar en estado diurna, impidiendo realizar procesos fisiológicos que realiza el cerebro durante la noche). Es importante señalar que entre esos problemas el daño fotooxidativo ha sido tema de investigación por su relación con patologías oculares tales como la DMRE.

Si bien existen diversas consecuencias al uso excesivo de la luz azul, sabemos hoy en día que gran parte del mundo laboral y la educación se apoyan en el uso de tecnologías que buscan innovar y facilitar la vida, por lo cual hablar de una disminución del uso de dispositivos electrónicos parecería poco viable, sin embargo podemos pensar en una manera de evitar o disminuir mayormente los síntomas que se presentan al estar demasiado tiempo expuestos a la luz azul.

Como sabemos, la manera en cómo el cerebro recibe esta luz azul es a través del ojo, específicamente de la retina ya que el ojo a través del nervio óptico-está directamente conectado al cerebro⁴.

Es así, que pudiéramos pensar en un tratamiento especial para usar en las lentes oftálmicas durante actividades que ameriten una alta exposición a la luz azul.

Diversas casas ópticas comerciales, han propuesto tratamientos de bloqueadores de luz azul; sin embargo, no hay evidencia suficiente que respalde que estos tratamientos son eficaces para la protección que anuncian. Por lo tanto, del presente experimento se buscó identificar la protección de estos tratamientos ópticos comerciales, mediante la exposición de la línea celular del epitelio pigmentario de la retina ARPE-2019 a luz azul (450 nanómetros) en muestras in vitro.

Marco teórico

El ojo es un órgano sensorial encargado de captar la luz que pasa a través de la pupila y por los medios refringentes: córnea, humor acuoso, cristalino y humor vítreo, los cuales permiten que la luz que incide pueda estar enfocada en la retina, la cual se encuentra en la parte posterior del ojo, de manera que genera y procesa una imagen nítida⁴ (Figura 1).

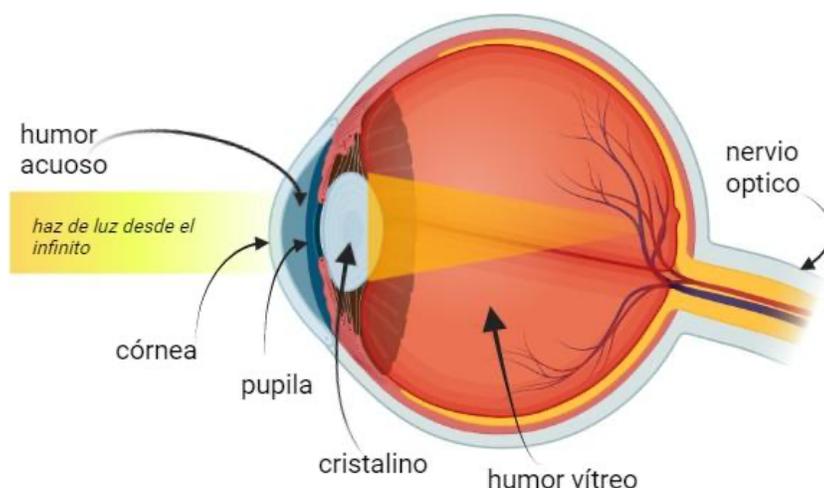


Figura 1. Representación de las estructuras oculares como medios refringentes. Fuente: Directa

En la retina, la luz se procesa en señales bioquímicas, para ser enviada a través del nervio óptico, como señales eléctricas directo al cerebro y la información que llega a este se interpreta en una imagen nítida⁴; todo esto gracias al proceso de fototransducción⁵.

En la retina, se encuentra el epitelio pigmentario de la retina, el cual es una monocapa celular y es la más externa de la retina⁶. Esta formado por células pigmentadas que forman la barrera hematorretiniana, tiene una cercana interacción con los fotorreceptores, cumpliendo múltiples funciones entre ellas el aporte de glucosa, retinol y ácidos grasos de la sangre a los

fotorreceptores^{5,6}, así como la fagocitosis de los segmentos externos de los fotorreceptores, esto los ayuda a mantener su excitabilidad.

Otra función del epitelio pigmentario de la retina es la protección contra la foto oxidación, fenómeno que ocurre cuando los niveles de estrés oxidativo aumentan en la retina como consecuencia de la fototransducción y la elevada irrigación de la retina^{6,7}.

El nivel de daño que pueda causar dependerá de la intensidad y el tiempo de exposición a la luz, lo que aumenta la producción de H₂O₂ en la membrana nuclear externa de fotorreceptores dando como resultado un proceso de lipoperoxidación⁴. En este proceso es importante mencionar a la lipofuscina, un pigmento amarillento producto no degradable que queda como desecho de la fagocitosis del segmento externo de los fotorreceptores, y el cual se acumula en el EPR a lo largo de la vida. Cuando la lipofuscina es estimulada por la luz azul produce sustancias oxidantes, por lo cual se ha propuesto como una mediadora en los efectos fototóxicos^{5,7}.

Debido a la importancia que tiene el epitelio pigmentario de la retina, se ha buscado realizar investigaciones para analizar sus propiedades y su caracterización en las actividades que realiza el EPR⁸; para esto se ha estudiado a mayor detalle una línea celular humana de origen espontáneo con cariología normal que forma monocapas epiteliales polarizadas sobre soportes de filtro poroso, la cual se llama ARPE-19, derivada de los ojos normales de un varón de 19 años que falleció a causa de un traumatismo craneoencefálico en un accidente de tráfico. Esta línea celular es un huésped de transfección adecuado⁹.

La línea celular ARPE-19 comparte las propiedades físicas con el epitelio pigmentario de la retina y por tanto su estudio ha servido como precursor para distintas investigaciones, ya que es una línea bastante generosa debido a que sus subcultivos pueden crecer casi con cualquier tipo de medio de cultivo y son muy proliferativas^{8,10,11}.

Por otro lado, la luz ha sido estudiada desde tiempos remotos, y por una multitud de científicos reconocidos, entre ellos Newton, Max Plank, Huygens, Young, Fresnel, etc. Los cuales definen de diferente manera a la luz, desde el ámbito físico, natural y químico. Broglie en 1924, unificó la teoría electromagnética (Maxwell) con la de los cuantos (Plank), demostrando la doble naturaleza de la luz¹².

La luz se define como: "radiación electromagnética (EM), fluctuaciones de campos eléctricos y magnéticos en la naturaleza"¹². entonces, si hablamos de la luz hablamos de energía y del fenómeno del color, el cual es un producto de la interacción que hay entre la energía y la materia^{12,13}. Esta es irradiada a partir de una fuente luminosa, tal como el sol, una lámpara, un flash, etc.

Ésta puede desplazarse en el vacío a una velocidad de 300.000 km/s, y atravesar medios transparentes, de manera que cuando los atraviesa disminuye su velocidad en función de la densidad del medio que atraviesa. La luz se propaga en línea recta, de tal forma que genera ondas perpendiculares a la dirección del desplazamiento¹².

El científico Isaac Newton fue el primero en descomponer la luz visible blanca irradiada por el sol en sus componentes mediante el uso de un prisma; gracias al experimento que realizó con el prisma, pudo darse cuenta que la luz blanca está constituida por la combinación de diferentes longitudes de ondas que tienen energías semejantes, debido a esto, ninguna de estas longitudes de ondas predomina más que otra^{12,13}.

La radiación de luz visible va desde los 384×10^{12} Hz hasta los 769×10^{12} Hz. Estas longitudes de onda tienen una frecuencia y longitud específica; cuando las frecuencias son bajas, entonces presentarán con una longitud de onda larga y se perciben como rojas (tonos cálidos), mientras que las longitudes de onda de más alta frecuencia tendrán una longitud de onda corta y se expresarán en tonos violetas. La luz visible, para el ojo humano, se produce cuando se emiten ondas

electromagnéticas a partir de átomos en los cuales se genera una transición de electrones entre cualquier nivel de energía¹².

El ojo humano es capaz de percibir luz y generar una imagen con esta, sin embargo, solo es capaz de distinguir radiaciones emitidas que van de los 400 nm a los 700 nm., por debajo de los 400 nm. Se encuentra la franja de las radiaciones ultravioletas, y por encima de los 700 nm., se encuentra la franja del infrarrojo. La luz blanca es una mezcla de todas las longitudes de onda que están entre 400 y 700 nm. Estas longitudes de onda se superponen de tal manera que al mezclarse entre sí, se genera la luz blanca^{1,12,13}.

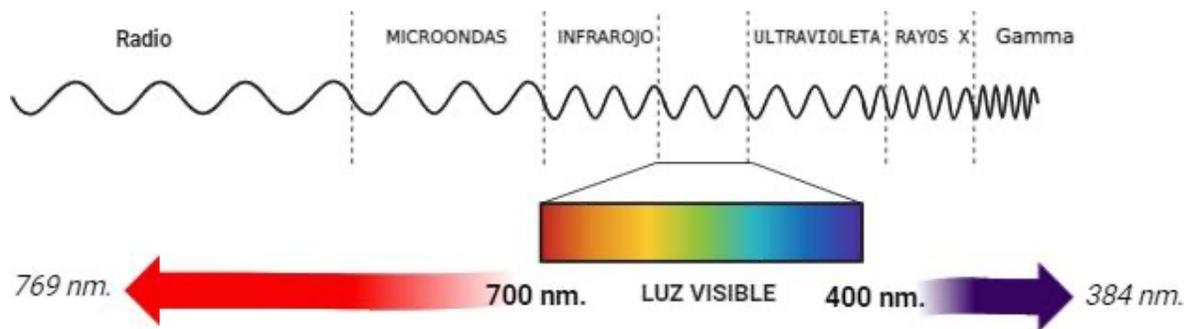


Figura 2. Representación del espectro visible. Fuente directa.

Todos estos cambios que se generan en la retina se han relacionado con la patogénesis de enfermedades tales como la degeneración macular relacionada a la edad y el incremento en su incidencia en años recientes, sobre todo en países desarrollados¹⁴.

En la actualidad las lentes oftálmicas utilizadas para uso comercial están hechas de distintos polímeros, como el CR39, el policarbonato, el hi index, el trivex entre otros más. Las diferencias entre cada uno de los materiales es básicamente su índice de refracción y su resistencia ante impactos.

El índice de refracción modifica las propiedades físicas de la lente. Entre más alto es el índice de refracción más delgada puede llegar a ser una lente y por lo tanto más ligera.

La más utilizada por las casas comerciales es el material CR39, es el más básico y por lo tanto el más económico del mercado.¹⁵

Las lentes cuentan con propiedades físicas muy particulares, como lo es la reflexión de la luz, la absorción y la transmitancia.

Los tratamientos usados para la luz azul, bloquean su paso, y reflejan la luz, bloqueando su paso a través de la lente oftálmica. Depende de la calidad que proporciona el tratamiento es la eficacia del tratamiento expuesto hacia la luz azul.¹⁵

Antecedentes

Recientes investigaciones han propuesto la línea celular ARPE-19 como modelo de estudio para afecciones del epitelio pigmentario de la retina, debido a sus propiedades químicas, anatómicas y fisiológicas que comparte con el EPR; además, esta línea celular puede mantenerse de forma viable por largos periodos de tiempo, inclusive en condiciones astringentes. Es un modelo ampliamente utilizado para estudiar in vitro. Uno de los estudios más recientes donde se ha utilizado esta línea celular, ha sido en modelos in vitro de degeneración macular relacionada a la edad¹⁴.

Existen numerosos estudios en los cuales se ha demostrado que la exposición a luz azul que se encuentran en una longitud de onda de 450 nm a 470 nm, produce un efecto negativo en las células de la retina, específicamente en el EPR donde se ha observado que se incrementan los niveles de estrés oxidativo y disminuye la viabilidad celular, sobre todo cuando se usa la luz azul de 450 nm, el daño ocasionado en el EPR lo llevaría a la muerte celular por apoptosis^{16,17}.

Ege Kaan Ozkaya y su equipo de trabajo en 2019 mencionan que la exposición a la luz azul es un factor para aumentar las especies reactivas de oxígeno en la retina y dañar la función de las zónulas ocludens que unen a las células del EPR, lo cual comprometería a la barrera hematorretiniana¹⁸.

“En México hay 80.6 millones de usuarios de internet y 86.5 millones de usuarios de teléfonos celulares: ENDUTIH 2019”². Sabemos que, debido a la pandemia generada por covid-19 y a la generación en la que nos encontramos, vivimos rodeados de dispositivos electrónicos de pantalla como la televisión, los celulares, las tabletas, etcétera; e interactuamos con ellas a menudo ya sea para el trabajo, la escuela, o pasatiempo¹⁹. Según lo confirma el nuevo Digital 2021 Global Overview Report publicado por We are Social y Hootsuite, dice que “México tiene actualmente 129 millones de habitantes, de los cuales un 80.9% vive en zonas urbanas. El número de dispositivos móviles conectados en el país es de 115.4 millones, lo que constituye un 89,1% de la población”^{2,19} estas

cifras dadas en 2021, también afirma que el promedio de horas pasadas frente a un dispositivo que se conecte a internet es de 9 horas con 1 minuto mientras que el promedio de las personas que ven televisión es de 4 horas y un minuto¹⁹.

Debido a esta constante interacción con dispositivos, se han realizado numerosos estudios para entender sobre el daño que provoca la luz azul en la retina. Gracias a estos estudios que se han realizado en su mayoría en animales o in vitro, se ha conocido acerca del daño de la luz azul de longitud de onda de 450 nm provocado directamente en Epitelio pigmentario de la retina^{19,20}.

Debido a la demanda del uso de dispositivos electrónicos, numerosos laboratorios de lentes oftálmicas ofrecen diversos tratamientos contra la luz azul, que aseguran proteger del posible daño que esta genera, sin embargo, no hay aún la suficiente evidencia que lo respalde sobre todo en modelos biológicos (ya sea in vivo o in vitro).

Planteamiento del problema

Existe una relación entre la exposición a la luz azul y el daño en la retina por foto-oxidación, específicamente sobre el epitelio pigmentario de la retina. Se cree que una de la patología que se puede desarrollar debido a la exposición de la luz azul es la degeneración macular relacionada a la edad, ya que los rayos de luz azul estimula directamente en zona macular produciendo un efecto de lipoperoxidación en el cual se liberan radicales libres.

La degeneración macular relacionada con la edad es la 4ta causa a nivel mundial de ceguera; según estudios publicados por la revista The lancet, estimó que para el 2020 hubiesen alrededor de 196 millones de personas padeciendo DMRE, mientras que para el 2040 se proyecta que esa cifra suba a 288 millones.

Actualmente existen diversos laboratorios de lentes oftálmicas que ofrecen tratamientos para proteger el daño contra la luz azul, sin embargo, no existe la suficiente evidencia para asegurar la efectividad del tratamiento.

Pregunta de investigación

¿Cuál es la protección brindada por los tratamientos ópticos comerciales contra la luz azul al cultivo ARPE-19 expuesto a luz de 450nm?

Justificación

En la actualidad la exposición a la luz azul se ha visto aumentada gracias a los dispositivos electrónicos, y hay estudios en los cuales se ha demostrado que la exposición a luz azul produce un efecto negativo en las células de retina, lo cual se ha relacionado con patologías en la retina. Actualmente los laboratorios de lentes oftálmicas ofrecen anti reflejantes y filtros que aseguran proteger del daño causado por la luz azul, sin embargo, no hay suficiente evidencia que lo respalde.

Hipótesis

Las lentes con tratamientos ópticos comerciales contra la luz azul proporcionarán protección a las células del cultivo ARPE-19 expuestas a luz de 450 nm.

Objetivo General

Determinar la protección dada por tratamientos ópticos comerciales contra la luz azul en cultivos ARPE-19 generada por exposición a luz de 450nm.

Objetivos Específicos

Comprobar que la luz azul emitida por los dispositivos electrónicos proyecte una longitud de onda de 450 nm.

Determinar la citotoxicidad de las células ARPE-19 expuestas a luz azul con protección dada por tratamientos ópticos comerciales.

Metodología

Tipo de estudio: Experimental in vitro, comparativo, y descriptivo.

Tamaño de muestra: Los ensayos fueron realizados por triplicado y en 3 ocasiones distintas.

Muestra: (n=24 por filtro).

<i>Variables</i>	<i>De acuerdo a su función</i>	<i>De acuerdo a su naturaleza</i>	<i>Operacional</i>	<i>Escala de medición</i>
<i>Tipo del filtro contra protección de luz azul utilizado.</i>	<u>Independiente</u>	Cualitativo	Lente oftálmica	Longitud de onda
<i>Longitud de onda de la luz azul.</i>	<u>Independiente</u>	Cuantitativo	Espectrofotómetro	Nanómetros

<i>Variable</i>	<i>De acuerdo a su función</i>	<i>De acuerdo a su naturaleza</i>	<i>Operacional</i>	<i>Escala de medición</i>
CITOTOXICIDAD	<u>Dependiente</u>	Cuantitativo	Cultivo y espectrofotómetro	Porcentaje de viabilidad.

Tabla 1 y 2. Tablas de las variables. Se encuentran definidas de acuerdo a su naturaleza, a su función y por su tipo de escala de medición.

Materiales y métodos

Para el presente experimento se utilizó un dispositivo electrónico (tableta convencional de la marca gto, del modelo bios 1, con emisión de luz a 450 nm a 60 000 unidades, el cual se calibró a partir de un espectrofotómetro del software *ocean optics*, a través de un lector en puntero para colocarlo encima de la pantalla y analizar su longitud de onda. El proceso se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigaciones en Optica (CIO), a cargo del Dr. Daniel Malacara.

Cultivo de células ARPE- 19

Siembra de la muestra. Todo el proceso se llevó a cabo en el “laboratorio de investigación interdisciplinaria”, en el área de nano estructuras y biomateriales de la ENES León UNAM.

Se realizaron cultivos de células ARPE 19. Estas se sembraron con el medio “Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutriente Mixture F-12” (DMEM-F12) suplementado con suero fetal bovino al 10%, penicilina/estreptomicina 2% (Pen/Strep) y L-Glutamina al 1%.

Dentro de la campana de flujo se sembró 1 ml de la línea celular ARPE-19 dividido en 2 cajas Petri plásticas de 60 mm y en 1 caja Petri de 100 mm ambas de marca nacional, la cantidad se dividió de manera proporcional (250 microlitros a cada una de las cajas Petri de 60 mm y 500 microlitros a la caja Petri de 100 mm).

En las cajas Petri de 60 mm se sembró 0.25 ml de la línea celular y 2.75 ml del medio (SFB 10%, Pen/estrep 2%, L-Glutamina 1%,) y a la caja de 100 mm se le sembró 0.5 ml de la línea celular ARPE 19 y 3.5 ml del medio de cultivo. Dando un contenido total de 3 ml en las cajas Petri de 60 mm en cada una, y 4 ml en la caja Petri de 100 mm.

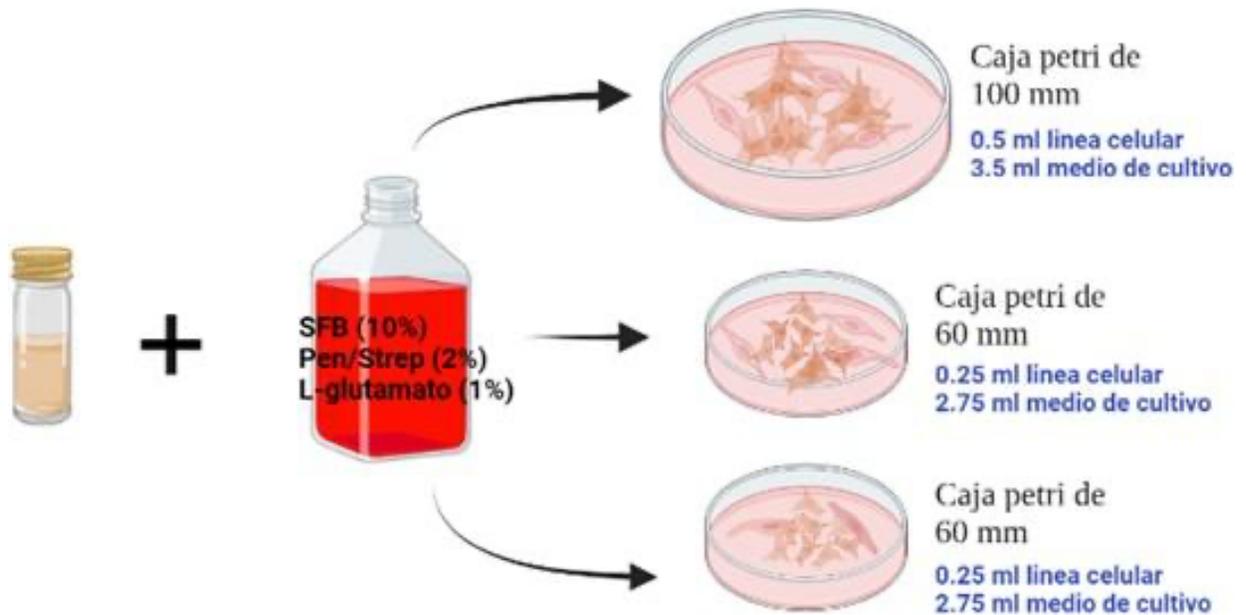


Figura 3. Diagrama *que* muestra Línea celular ARPE -19 (subdivisión 26) donde representa la distribución del contenido total en cada una de las cajas Petri utilizadas para el crecimiento celular de la línea ARPE- 19. fuelle:directa

Una vez agregado el medio, se llevó a la incubadora a una temperatura de 37°C, CO₂ 5%, humedad 5%. Se dejó en la incubadora y se revisó en periodos de 24 horas para observar su confluencia a través del microscopio. Se les hizo cambio de medio cada 72 horas.

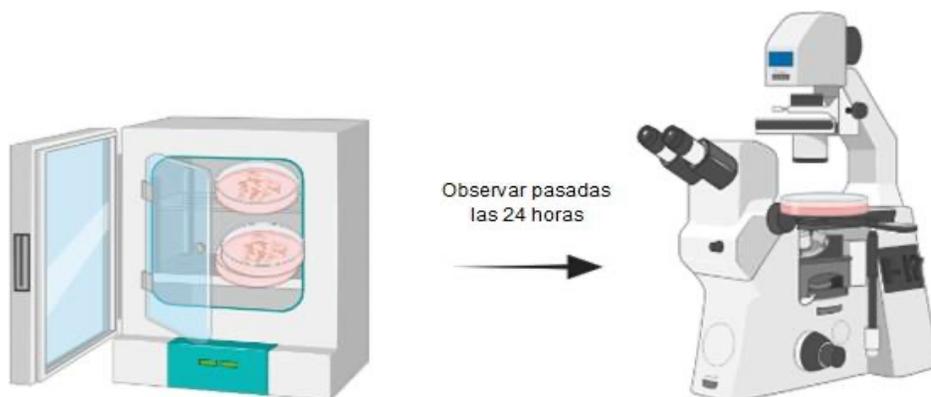


Figura 4. Representación animada de las cajas Petri de línea celular ARPE-19 guardadas en incubadora y señalización de observación al microscopio pasadas las 24 horas. fuelle:directa

Cambio de medio. Se realizó cambio de medio en 4 ocasiones; para realizar el cambio de medio, debe realizarse dentro de la campana de flujo previamente estéril y apoyados de una bomba de vacío, se retiró el antiguo medio y se enjuagó con PBS (Buffer fosfato salino), y a este se le agregó medio de cultivo (4 ml).

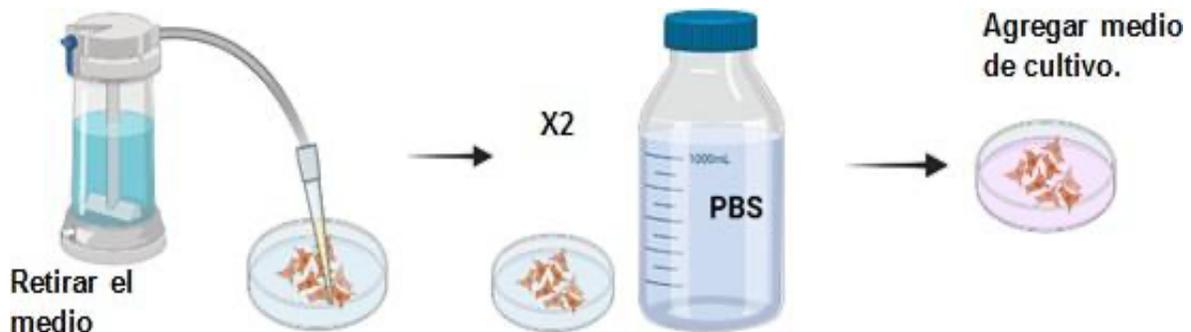


Figura 5. Representación animada del proceso de succión del medio para retirarlo y secuencia de los siguientes 2 procesos (enjuague con PBS X2 y Agregar nuevo medio). f. fuente directa

Subcultivos. Para hacer el pase de una caja a otra fue necesario retirar el medio con bomba de vacío y enjuagar las células con PBS 2 veces (3 ml de PBS), una vez enjuagadas, se les agregó 1 ml de tripsina (reactivo cuya función es despegar a las células que se encuentran adheridas en el fondo de la caja Petri), después se sacó la caja Petri de la campana de flujo y se llevó por 5 minutos a la incubadora, a una temperatura de 37°C, con CO₂ al 5% y una humedad de 5%. Pasados los 5 min se revisó en el microscopio que efectivamente estuvieran despegadas las células. Una vez que se despegaron las células, se agregaron 3 ml del medio de cultivo sin retirar la tripsina. Ya agregado el medio de cultivo se regresó a la incubadora y se revisó su confluencia pasadas las 24 horas. Estas células se rotularon nuevamente pero como un subcultivo diferente (uno más arriba, de 26 a 27 por ejemplo).

Teniendo una confluencia al 90%, se pasarón las células a una placa de 96 pocillos.

Para realizar el pase de igual manera se retiró el medio de cultivo de la caja Petri de 100 mm, y se enjuagó con PBS 2 veces (3 ml de PBS), se le agregó 1 ml de tripsina y se pasó a la incubadora por 5 minutos; después, se observó en el microscopio que las células estuvieran despegadas del fondo de la caja Petri.

Confirmado lo anterior se pasó a la campana de flujo y se le adicionó 9 ml de medio de cultivo, y con una pipeta multicanal se pasó el contenido de la caja Petri a la placa de 96 pocillos, en este proceso fue indispensable pipetear con el multicanal 5 veces el contenido cada que se realizó el vaciado por 5 veces. Esto ayudó a que no se asentaran las células y que el número de células por pocillo fuera equivalente entre los pocillos.



Figura 6. Demostración del pase de contenido de la caja Petri a una placa de 96 pocillos mediante un multicanal. f fuente directa.

Ya pasado el contenido de la caja Petri a la placa de 96 pocillos, se realizó el conteo celular a través de la cámara de Neubauer la cual se esperaba un resultado aproximado de 150 a 200 $\times 10^5$ esto con el fin de lograr que pasadas las 48 horas, en cada pozo se encontrarán poco más de 400 mil células por microlitro.

Exposición a la luz azul

Una vez lista la placa de 96 pocillos se sometieron las células a una exposición de 4 horas frente un dispositivo que emite luz de longitud de onda de 450 nm a una intensidad de 60 000 unidades y una variación de longitud de onda de 530 nanómetros a 12 000 unidades.

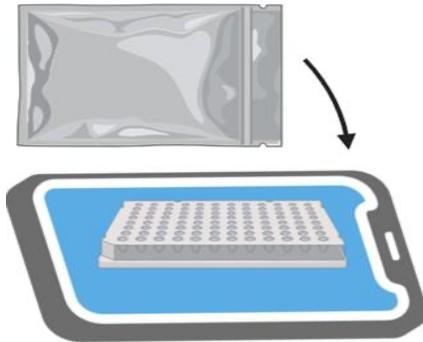


Figura 7. Distribución del experimento ya expuesto a la luz azul de 450 nanómetros a una intensidad de 60 000 unidades y una variación de una longitud de onda de 530 nanómetros a una intensidad de 15 000 unidades. fuente:directa.

Se aisló al grupo control y se tomó un segundo grupo control, pero este si estuvo expuesto a luz azul, se tomaron 12 pocillos para cada lente oftálmica, tanto la blanca en CR-39 como para los 4 filtros de protección de luz azul.

Durante la exposición del experimento, este se mantuvo en la incubadora para que las células recibieran CO₂ y evitar una muerte por factores externos, este experimento se aisló completamente por medio de papel aluminio.

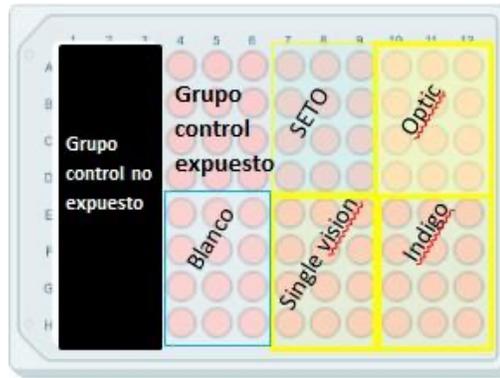


Figura 8. Distribución de las lentes con filtro azul. Todos los filtros se colocaron bajo la placa de 96 pocillos. fuente directa

Las condiciones que tuvimos fueron las siguientes:

- **Control:** cultivos celulares sin exposición a luz azul.
- **Luz azul:** células expuestas a luz azul de 450nm.
- **Filtro 1 al 4:** células expuestas a luz azul de 450nm con protección de una lente oftálmica adicionadas con el tratamiento contra luz azul entre la fuente de luz y el cultivo. Utilizaremos un total de 4 lentes de diferente marca.
- **Blanco:** células expuestas a luz azul led de 450 nm con una lente oftálmica sin tratamientos para medir la protección del plástico por sí mismo.

<i>Lente</i>	<i>NOMBRE</i>
<i>1</i>	FILTRO - SETO
<i>2</i>	FILTRO - Single vision
<i>3</i>	FILTRO - Optic
<i>4</i>	FILTRO - Indigo
<i>5</i>	BLANCO - CR-39 W (Máximo)

Tabla 2. Representación en tabla de las marcas usadas para el experimento, describiendo el tipo de lente (filtro o blanco), acompañado de su marca comercial. Cada una de las lentes usadas será de valor dióptrico neutro, y en el material CR-39.

Posteriormente se midió la citotoxicidad del contenido en los pocillos mediante el kit de detección de citotoxicidad utilizando el kit de viabilidad celular MTT.

Ensayo de Citotoxicidad

La viabilidad celular se midió a través de ensayos colorimétricos basados en la acción de las deshidrogenasas celulares, este ensayo se basó en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizado por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en formazán, permitiendo determinar la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. Es un método utilizado para medir supervivencia y proliferación celular. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producida, se mide a una absorbancia de 570 nm en un espectrofotómetro de placas. Para esto se usó una actividad metabólica de MTT.

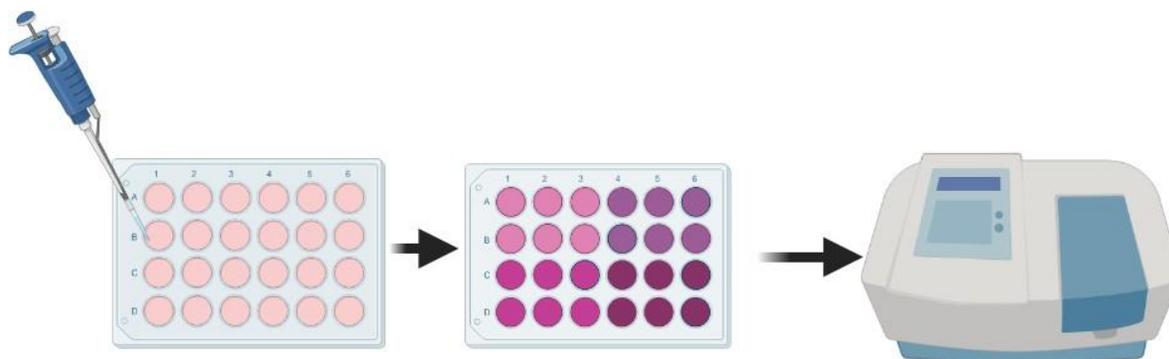


Figura 9. Representación animada del proceso de colorimetría rápida y análisis de la viabilidad celular a través del espectrofotómetro. fuente directa

Pasadas las 4 horas expuestas las células a luz azul, se les agregó MTT para realizar el estudio colorimétrico para viabilidad celular, una vez agregado el reactivo se pasó a la incubadora por 4 horas más.

Al sacarlas de la incubadora se les agregó un reactivo llamado DMSO (dimetilsulfóxido). Este reactivo reacciona la membrana celular lo que permite observar pequeños cristales de formazán y de este modo obtener la viabilidad celular con la lectura del espectrofotómetro.

Todos los resultados fueron reportados con la media por triplicado de al menos 3 experimentos independientes (n=9). La significancia se evaluó utilizando ANOVA de una vía y una prueba Pos hoc de Tukey para realizar comparaciones múltiples.

Análisis estadísticos

Se calculó la estadística descriptiva con el promedio, desviación estándar y porcentaje. La estadística inferencial se realizó con pruebas de normalidad de Saphiro-Wilks y Kruskal - Wallis, U-Mann-Whitney . La significancia estadística se determinó con un valor $p < 0.05$.

Resultados

Calibración del dispositivo

La figura 10 muestra la gráfica de calibración del dispositivo (bios I M1092R 2015) donde se capturó el valor exacto de la longitud de onda que emite la pantalla del dispositivo electrónico. El valor calibrado fue a una longitud de onda de 450 nm a un valor total de 60 000 unidades de intensidad, se expresó en la gráfica una longitud de onda adicional de 530 nm de 12 000 unidades de intensidad la cual va por default en todos los dispositivos, en proporciones similares. El gráfico se tomó del software ocean optics USB 4000.

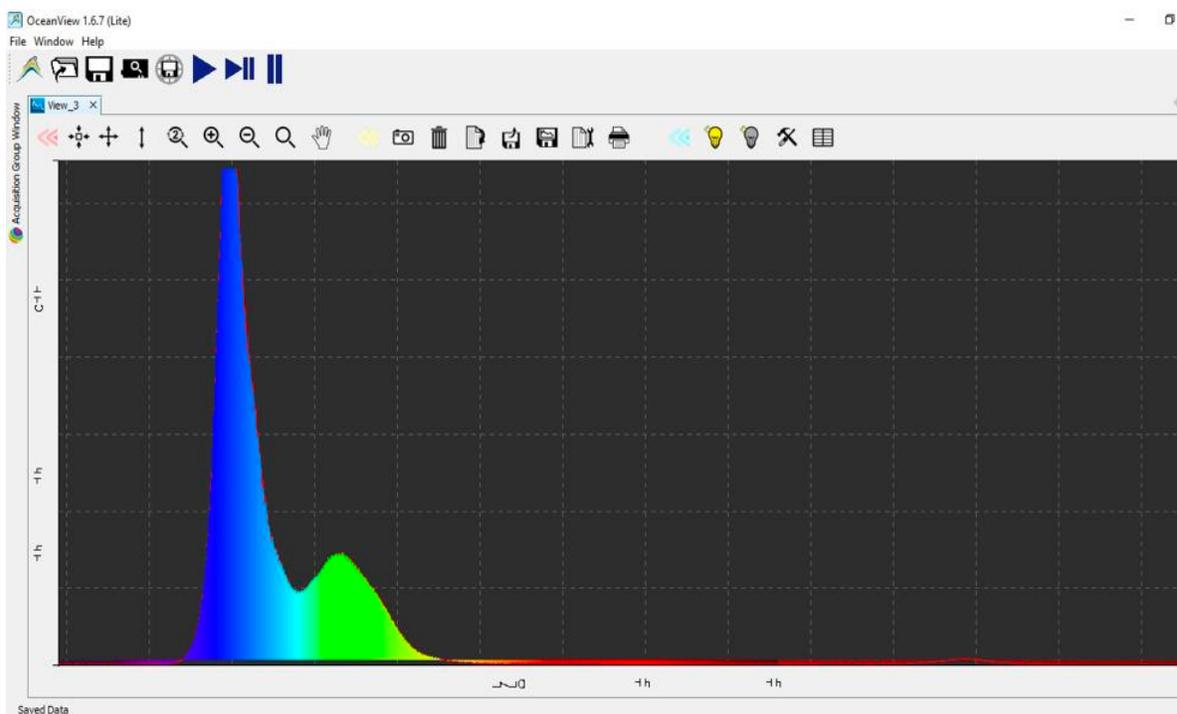
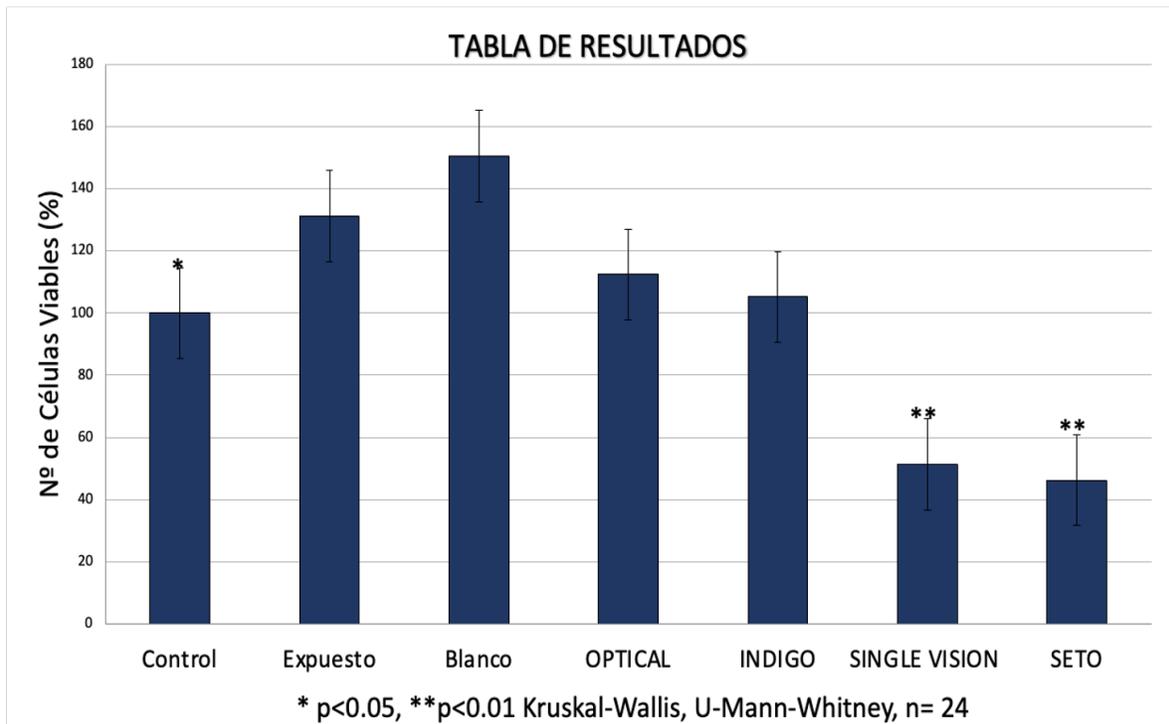


Figura 10. Representación gráfica tomada directamente del software ocean optics, donde se observa la lectura de la longitud de onda captada del dispositivo electrónico. ^{(fuente directa).}

Viabilidad celular

La *gráfica 1* muestra la citotoxicidad (%) de las células ARPE-19 donde se encontró que el filtro SETO presenta menor viabilidad celular después de exponerse a luz azul de 450 nm en un período de 4 horas. 200 ± 6 . Single vision muestra resultados estadísticamente significativos y los resultados son similares al tratamiento que se usa en las lentes oftálmicas SETO.



Discusión

Gracias a la revisión de diversos artículos, sabemos que la luz azul afecta directamente a las estructuras oculares, particularmente al epitelio pigmentario de la retina causando fototoxicidad. La luz causa daños irreversibles en estructuras oculares principalmente la degeneración macular relacionada con la edad.

La Dra. Villegas Pérez del departamento de oftalmología en la universidad de España, menciona en su artículo, el daño fototóxico que causa la luz azul en los tejidos oculares²², sobre todo en el epitelio pigmentario de la retina; y coincide con otros autores como Serge Picaud et. Al., con la idea de que el daño por fotooxidación depende de la intensidad de la luz, de la longitud de onda y del tiempo de exposición²³.

Sin embargo hay autores que mencionan que la luz azul no es del todo dañina, ya que el investigador francés François Vital-Durad, menciona que exponer los ojos a la luz azul (de manera natural) es fundamental para la estimulación visual en los primeros años de vida, ya que gracias a la estimulación mediante luz azul, se terminan de desarrollar ciertas estructuras oculares, como la fovea y foveola, esto implica que la agudeza visual del infante se completará con la estimulación luminosa²⁴. Aunque menciona algunos beneficios de la estimulación con la luz azul, enfatiza que el tiempo de exposición es importante ya que excederse al uso y estimulación de la misma, su punto de vista si coincide con otros autores de que esta causa daño fototóxico.

La degeneración macular es un tema en común con varios autores que hablan acerca de las consecuencias de la alta exposición hacia la luz azul. Autores como Kumari Neelam et. al., Martínez Castro et. al. y Perez Villegaz, mencionan en sus investigaciones más recientes que la DMRE es una consecuencia grave e irreversible que es causada por la alta exposición a la luz de longitud de onda corta. Todos estos autores coinciden con que se debe de buscar una protección o medidas preventivas para disminuir la exposición hacia la luz de alta energía^{22,25,26}.

Actualmente se conocen diversos tratamientos oftálmicos para disminuir la exposición directa de los ojos hacia la luz azul, sin embargo no hay artículos de investigación que sustenten tal protección; Únicamente artículos como el de la Dra. Kumari Neelam et. al.²⁵ mencionan que cadenas comerciales están intentando implementar filtros de bloqueo para la luz azul, en los cuales se permita atenuar de manera selectiva la luz nociva, sin embargo aun se encuentra en trámite para evaluar su eficacia.

No hay investigaciones recientes que sustenten dicha protección de los filtros bloqueadores de luz azul. Sin embargo hay trabajos publicados como el de Lidia Redondo Fernández²⁷, que sustentan la absorbancia de los materiales de lentes oftálmicas y son puestas a prueba para dar a conocer que gracias a la absorbancia y transmitancia que tienen ciertos materiales, la luz que se propaga dentro del medio disminuyendo su intensidad al pasar a través de la lente oftálmica²⁷. Concluyendo así que, la luz que pasa de un medio (lente oftálmica de bloqueo para la luz azul) a otro provoca una disminución en la intensidad de la luz y por lo tanto atenúa de manera selectiva las longitudes de onda corta (380 nm – 450nm).

Limitantes del estudio

La evidencia científica sobre la eficacia de las lentes oftálmicas para bloqueo de la luz azul es escasa. En la actualidad hay excesiva información acerca del daño de la luz azul hacia tejidos oculares, sin embargo no hay investigaciones experimentales que puedan sustentar que las lentes oftálmicas den dicha protección para la luz azul. Aunque hay numerosos artículos de interés comercial que hablan acerca de las ventajas de sus propias lentes.

Experimentos a futuro

La finalidad del presente proyecto es ampliar el conocimiento científico, y dar bases científicas para futuras investigaciones acerca de la protección de las lentes oftálmicas.

En base a este proyecto se puede intentar estandarizar, el tiempo de exposición permitido o sugerido para una persona frente a un dispositivo electrónico con y sin protección de lentes oftálmicas con bloqueo de luz azul. Estos valores tendrían ya un sustento científico y mejoraría la calidad de vida de personas que se exponen todos los días frente a un dispositivo de emisión de luz azul.

Conclusión.

El resultado expresado en las muestras de células ARPE-19 en exposición a luz azul durante 4 horas, muestra un crecimiento celular de acuerdo a la transmitancia del material y el tratamiento para la luz azul. De acuerdo con el valor estandarizado para exponer a las células (4 horas), se reportó en las muestras viabilidad celular; esto, debido a que las células del epitelio pigmentario de la retina expresan una peculiar característica, gracias a sus niveles de melonopsina, estas pueden modificar su morfofisiología de acuerdo a la estimulación luminosa, sobre todo en longitudes de onda corta; la células del epitelio pigmentario de la retina aumentaron sus niveles de melanopsina cuanto fueron expuestas a luz azul.

Con esto, concluimos que las células que estaban protegidas con las lentes oftálmicas de la marca SETO y Single Vision, muestran una menor viabilidad celular incluso comparado con el grupo control, esto nos indica que la lente oftálmica atenúa en mayor cantidad las longitudes de onda corta siendo así la lente que nos proporciona mayor protección frente a dispositivos electrónicos, dentro de la gama de lentes oftálmicas de uso promedio para uso de bloqueo de luz azul.

Las lentes oftálmicas Single vision y SETO son lentes que están proporcionando una protección donde la luz es lo suficientemente reflejada para disminuir la alta cantidad de luz azul transmitida hacia el ojo durante el transcurso del día.

Bibliografía

- 1.- Universidad Nacional Autónoma de México [UNAM]. (2018, julio). *Espectro visible*. UNAM. http://leias.fa.unam.mx/wp-content/uploads/2018/07/1.5.-ILUM-ARQ_Espectro-electromagn%C3%A9tico.pdf
- 2.- Kemp, S. (2021). Digital 2021: Informe general global – DataReportal – Global Digital Insights. DataReportal: conocimientos digitales globales. <https://datareportal.com/reports/digital-2021-global-overview-report>
- 3.- Fatiga ocular - Síntomas y causas - Mayo Clinic. (2023, 27 de enero). <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/eyestrain/symptoms-causes/syc-20372397>
- 4.- Cómo funcionan los ojos | National Eye Institute. (s. f.). <https://www.nei.nih.gov/espanol/aprenda-sobre-la-salud-ocular/vision-saludable/como-funcionan-los-ojos>.
- 5.- Kaufman Paul. (2003) Adler Fisiología del ojo. Mosby
- 6.- Prado Serrano, A. (2006). Fototransducción visual. Fototransducción visual. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexoft/rmo-2006/rmo066j.pdf>

7.- DÍAZ MARRÓN, M. C. (2016, 30 mayo). El epitelio pigmentario de la retina Histología y propiedades fagocitarias. Optometría. Recuperado 4 de abril de 2022, de https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/120087/maria.carmen.diaz%20%20EPR%20HISTOLOGIA%20Y%20PROPIEDADES%20FAGOCITARIAS_fitxer

8.- Steinberg RH. Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Doc. Ophthalmol* 60: 327–346, 1985.

9.-Kc, D., Aotaki-Keen, A. E., Putkey, F. R., & Hjelmeland, L. M. (1996). ARPE-19, A Human Retinal Pigment Epithelial Cell Line with Differentiated Properties. *Experimental Eye Research*, 62(2), 155-170. <https://doi.org/10.1006/exer.1996.0020>

10.- Yamashita, H., Horie, K., Yamamoto, T., Nagano, T., & Hirano, T. (1992). Light-induced retinal damage in mice. Hydrogen peroxide production and superoxide dismutase activity in retina. *Retina* (Philadelphia, Pa.)

11.- Reme CE. The dark side of light: rhodopsin and the silent death of vision the proctor lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 2671-2682.

12.- La luz: ondas electromagnéticas, espectro electromagnético y fotones (artículo). (s. f.). Khan Academy. Recuperado 4 de marzo de 2022, de <https://es.khanacademy.org/science/ap-chemistry/electronic-structure-of-atoms-ap/bohr-model-hydrogen-ap/a/light-and-the-electromagnetic-spectrum>

13.- Newton y la descomposición de la luz. (s. f.). Astronomia. Recuperado 4 de marzo de 2022, de <https://www.astromia.com/astronomia/newtonluz.htm>

14.- Moon, J., Yun, J., Yoon, Y. D., Park, S.-I., Seo, Y.-J., Park, W.-S., Kang, J. S. (2017). Blue light effect on retinal pigment epithelial cells by display devices. *Integrative Biology*, 9(5), 436–443.

15.- essilor. (s. f.). MATERIALES. essilor academy. Recuperado 21 de septiembre de 2023, de <http://www.essiloracademy.eu/sites/default/files/Materiales%20l.pdf>

16.- Ege Kaan Ozkaya, Graham Anderson, Baljean Dhillon, Pierre-Olivier Bagnaninchi, Blue-light induced breakdown of barrier function on human retinal epithelial cells is mediated by PKC- ζ over-activation and oxidative stress (2019), *Experimental Eye Research*, Volume 189.

17.- Boulton M and Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye* 15: 384–389, 2001.

18.- Diaz, R. M. (2019, julio). Estudio bibliográfico de los efectos de la luz azul relacionados con la prevención de riesgos laborales - Google Zoeken. ds pace. Recuperado 13 de enero de 2022, de <https://www.google.com.mx/search?q=Estudio+bibliogr%C3%A1fico+de+los+efectos+de++la+luz+azul+relacionados+con+la++prevenci%C3%B3n+de+riesgos+laborales>.

19.- Alvino, C. (2021, 3 junio). Estadísticas de la situación digital de México en el 2020–2021. Branch. Recuperado 20 de diciembre de 2021, de <https://branch.com.co/marketing-digital/estadisticas-de-la-situacion-digital-de-mexico-en-el-2020-2021/>.

20.- Tejedor, J. V., Marchena, M., García, D., & Sánchez, C. (2018, 15 marzo). Removal of the blue component of light significantly decreases retinal damage after high intensity exposure. *PLOS ONE*. Recuperado 13 de enero de 2022, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5854379/>

21.- Kozlowski MR. The ARPE-19 cell line: mortality status and utility in macular degeneration research. *Curr Eye Res.* 2015 May;40(5):501-9. doi: 10.3109/02713683.2014.935440. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24977298.

22.- Villegas-Pérez, M. (s. f.). Exposición a la luz, lipofuschina y degeneración macular asociada a la edad. https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0365-66912005001000002&script=sci_arttext

23.- Picaud, S., & Arnault, E. (2013). New discoveries and therapies in retinal phototoxicity. *Points de Vue*, 68.

24.- Vital-Durand, F. (2011). EL OJO DEL BEBÉ Y LA LUZ: ¿DÓNDE EMPIEZA LA PROTECCIÓN DE LA VISTA? *Points de Vue*, 71.

25.- Neelam, K., Wenting Zhou, S., & Au Eong, K.-G. (2014). EL PAPEL DE LA LUZ AZUL EN LA PATOGENESIS DE LA DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD. *Points de Vue*, 71.

26.- Martínez Castro, S. (2025). Drusas y la enfermedad retinal, degeneración macular relacionada con la edad [Trabajo de fin de grado de titulación]. Universidad de Valladolid.

27.- Redondo Fernández, L. (2020). FILTROS DE LUZ AZUL: CARACTERIZACIÓN ESPECTRAL Y ANÁLISIS DE SU USO. [Trabajo de fin de grado de titulación]. Universidad de Valladolid.

FUENTE DIRECTA: Las imágenes se realizaron en BioRender 2021.

