

UNIVERSIDAD NACIONAL

11234

2a. f.

AUTONOMIA DE MEXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD
EN OFTALMOLOGIA.

DR. ANITA YVETTE HAYSON ROSSERO

1992

TESIS CON
CALIFICACION



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 está 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1

INDUCCION ENZIMATICA DE DESPRENDIMIENTO DE
VITREO POSTERIOR CON ALFAQUIMOTRIPSINA

INTRODUCCION:

Existen condiciones en el ojo que causan que la visión se vea seriamente afectada. Uno de los problemas que contribuyen a la baja visión en ciertos enfermedades del segmento posterior del ojo es la presencia de tejido cicatricial en el vitreo y/o retina. La mayoría de las veces se requiere de cirugía para remover la mayor cantidad posible de éste tejido. Este tejido cicatricial necesita ser retirado ya que se encuentra traccionando la retina o causando que se repliegue lo que ocasiona muy baja visión o incluso ceguera, la mayoría de las veces debido a desprendimientos o desgarreros retinianos.

Los cambios biofísicos que ocurren dentro del vitreo en la edad avanzada y en las enfermedades aún no están definidos. La matriz de colágena, mucopolisacáridos y ácido hialurónico, todos ellos componentes del vitreo, participan dentro de él en una forma dinámica y que, en la mayoría de los individuos, resulta en un desprendimiento de vitreo posterior, de pronóstico muy favorable, mientras que los menos agraciados evolucionan el desprendimiento en forma de cono, lo cual, la mayoría de las veces se acompaña, tarde o temprano de desprendimiento de retina.

Es por ésto que, la habilidad para inducir al momento el desprendimiento posterior de vitreo (PDV) podría ser de mucha utilidad para comprender el vitreo y la estructura vitreoretiniana.

enfermedades clínicas así como su tratamiento oportuno.

Estudios recientes realizados por Von Sallmann , y después -- por Moorhead, han usado enzimas como Tripsyna, hialuronidasa y co-
lagenasa, para entender estructura vitrea, así como usarlas como -
tratamiento en hemorragias vitreas y desprendimientos de membranas.
Los resultados de éstos estudios nos demuestran de gran manera, --
que es posible liqueficiar el vitreo, lastimar la lámina limitante
interna y alterar la estructura de la retina.

En nuestro presente estudio, nos enfocaremos a la habilidad
de la alfaquimiotripsina para provocar o inducir un DVP, y tal vez
de ésta manera deducir los parámetros estructurales que rodean la
interfase vitreoretiniana.

Antecedentes:

Para poder entender la acción de la alfaquimiotripsina en el
DVP, es indispensable primero saber la estructura del vitreo y sus
componentes, a lo cual nos dedicaremos en las próximas cuartillas:

EL ESTADO DE GEL: El cuerpo vitreo se encuentra en estado de gel -
en la mayoría de los animales y en el hombre. Un gel es un sistema
sólido en el que un pequeño volumen de sólido se encuentra disper-
so en un volumen, relativamente grande, de líquido, por la propie-
dad de rigidez mecánica, y su habilidad de soportar el stress en -
reposo. Dicho sistema no tiene una viscosidad finita y no es solu-
ble en un exceso de volumen del solvente que forma su fase líquida,
sin destruir la red coherente del sólido que forma el gel.

En el cuerpo vitreo el líquido o solvente es agua, y el sólido
lo son las fibras de colágeno. El agua es el medio en el que se encuentran

cuentran justo debajo de la superficie del cuerpo vitreo, junto a la retina. De ahí que , se deben de distinguir la substancia gel en sí de ésta capa cortical, la cual, en adición a las macromoléculas, contienen células. Esta parte del gel, debe de llamarse, correctamente, la capa cortical del cuerno vitreo.

La red coherente del vitreo, que forma la fase sólida, está compuesta por macromoléculas, las que son responsables de mantener el esta de gel. Es conocido desde hace tiempo, que si se retira la fase fibrosa del vitreo, se destruye el estado de gel. El elemento fibrosos del vitreo fue identificado, por medio de microscopía electrónica y difracción de rayos X, en 1952 por Malto-sy , y Gross en 1956, respectivamente, clasificándolas como proteínas de tipo colágena.

Para corroborar éste descubrimiento, se ha visto que las enzimas proteolíticas como colagenasa y pepsina, que hidrolizan colágena, liquefican el gel, mientras que otras enzimas , también proteolíticas como tripsina y quimiotripsina, aún cuando hidrolizan la colágena no liquefican el gel.

El encogimiento por calor del cuerpo vitreo, nos da mayor evidencia de que una proteina de tipo colágena es la responsable de la estructura del gel.El encogimiento o acortamiento de las fibras de colágena también se ha efectuado por compresión por medio de fuerzas de centrifugación, y por aumento de la concentración de iones hidrógeno.

También se comprobó que al lavar el vitreo con agua o solución salina diluida, se libera a cabo una pérdida de la cantidad de sólido hidrógeno y por ende se reduce la cantidad de agua que se libera al lavar el vitreo con agua o solución salina diluida.

incluyendo al ácido hialurónico, no afectan de gran manera la formación del gel, desde el punto de vista de mediciones de turbidez. Investigaciones posteriores han notado que la gel de colágena formada por moléculas de alto pesomolecular de ácido hialurónico tiene ciertas propiedades diferentes a las de los controles.

El efecto del ácido hialurónico puede ser interpretado en términos de estabilización de estos largos polímeros de la red de colágena. El ácido hialurónico debido a su alto volumen molecular, llena el espacio entre los filamentos y las fibras de los elementos de la red.

CAPA TISULAR CORTICAL O MEMBRANA CORTICAL: Esta capa, que incluye, pero no está limitada a la membrana hialoide, mide aproximadamente 100 micras, y cubre a todo el cuerpo vítreo desde la región de la zónula hasta toda la parte posterior. Contiene tres (3) elementos estructurales que no son comunes en otras partes del vítreo: 1) membranas hechas de fibras de colágena 2) células y 3) una acumulación de proteínas y mucopolisacáridos en el espacio interfibrilar.

En contraste, en la capa cortical de la región retrolental hay pocas o no existen las células en los animales adultos y la concentración de proteínas u ácido hialurónico es más bajo.

Schwarz en 1960 demostró en el microscopio electrónico, en secciones congeladas de esta área que las fibras distribuidas al azar del gel están orientadas tipo estructura de membrana paralela a la superficie.

La orientación y concentración de las fibras en la superficie

brimeintos indican que las fibras están sobrepuestas en varias capas de láminas , que corren más o menos paralelas a la su perficie.

La alta concentración de ácido hialurónico y proteínas en el espacio interfibrilar de ésta área(Bazals 1960), indica que las células están formadas en una estructura más densa y probablemente más rígida que el resto del gel vítreo. Se consideran dos posibilidades en ésta capa de tejido cortical: que las células están colocadas en un sredo continua , la cual es más densa en la superficie del gel, o que varias capas fibrosas separan los espacios interlaminares que ocupan las células. Estos espacios corren paralelos a la superficie y contienen ácido hialurónico en alta concentración .- La membrana fibrosa en la superficie del gel arriba de las células es la llamada membrana hialina.

Si se lava continuamente al vítreo con agua, se puede separar, con relativa facilidad, la capa superficial. Cuando los gels se lavan en una membrana de diálisis, en adición a las fibras, las partículas globulares de varios tamaños son visibles , por microscopía electrónica, entre las fibras. Estas partículas son probablemente macromoléculas las cuales no pudieron ser difundidas a través de la membrana de diálisis y son retenidas a nivel del gel. Cuando las macromoléculas son difundidas libremente fuera del gel, no aparece material granular en las microfotografías electrónicas. En ambos casos, sin embargo, las fibras parecen estar acomodadas en una matriz homogénea en la cual un agujero ocasional se puede observar. Mientras que estos agujeros son probablemente artefactos causados por el estrés durante el lavado, también pueden indicar la presencia de esta matriz de soporte. Las fibras parecen estar conectadas.

de ninguna otra parte del vitreo y tratadas de igual manera. La apariencia natural de ésta capa es semejante a la de las fascias. La complejidad estructural y la particularidad funcional de ésta capa cortical del cuerpo vitreo, claramente separan ésta área del resto del vitreo y justifican el nombre de "Capa tisular cortical o membrana cortical tisular" .

PAPEL BIOLÓGICO DEL ACIDO HIALURÓNICO: El papel biológico del ácido hialurónico en el espacio intercelular deriva de las siguientes dos características: a)

a) Es una macromolécula, como un políácido, lleva una alta carga eléctrica, lo que resulta en repulsión entre los elementos individuales de la cadena y al mismo tiempo presentado una una gran superficie para interacción electroestática.

b) Como una cadena independiente, tiene un gran volumen hidrodinámico, y de ahí, una relativamente baja concentración, forma una red molecular con espacios definidos entre las cadenas.

El reconocer estas dos características moleculares fundamentales así como los resultados de los experimentos realizados con él , nos dan una base para mayor especulación acerca del rol biológico de éste políácido en el espacio intercelular del tejido conectivo en gneral, y en el cuerpo vitreo en particular.

ESTRUCTURA Y FORMA ? RESISTENCIA DEL VITREO: Es evidente que el efecto estabilizador de las moléculas de ácido hialurónico es de consideración, debido al volumen molecular y al tamaño de las

encima del punto donde el espacio ocupado por las moléculas individuales se desborda, el sistema se describe de mejor manera por la comprehensión de dos redes entrelazadas ; una de ellas representada por la red de filamentos de colágena y el otro por red molecular continua de ácido hialurónico. Tal estructura bicompuesta tiene mayor estabilidad mecánica que la de las fibras de colágena sólo, como se manifiesta por la tendencia a mantener su volumen, y resistir la deformación bajo fuerzas compresivas y de tensión. Cuando uno de los componentes, el ácido hialurónico, se retira del gel, el efecto estabilizador desaparece, mientras que los filamentos de colágena, bajo fuerzas tensiles y de compresión, se agregan formando cadenas de fibras largas, lo que resulta en una -- constricción parcial de la red, y formación simultánea de espacios deliquido dentro del gel. Este mecanismo puede ser la base de los cambios patológicos en el cuerpo vitreo , descrito como formaciones de bandas fibrosas y vitreo líquido.

Según Fessler en 1957, una inmovilización parcial del agua, - la cual ocurre durante una cadena de interacciones friccionales de las estructuras, las cuales varían de dimensiones moleculares a celulares, es la responsable de la resistencia elástica a la deformación, y de la integridad mecánica del tejido conectivo.

LA BARRERA CELULAR: El efecto estabilizador y de ocupación de espacios del ácido hialurónico en los gels de colágeno, tales como el cuerpo vitreo, tiene otro aspecto importante: las células en esta red, pueden verse afectadas por la red, ya que la red se contrae y afecta a ella. (Fessler, 1957, p. 100)

no tener uniones fuertes comprobadas, existe la posibilidad de - que las células desplazen los filamentos de colágena.

La red continua de ácido hialurónico, que llena los espacios - entre los elementos de la red, es la estructura resistente principal que se encuentra en el camino de las células migratorias. Para romper esta barrera las células tienen que degradar el ácido hialurónico, lo cual puede ser por degradación enzimática o por el sistema de óxido reducción. De ahí que, el ácido hialurónico, que llena los espacios entre los filamentos de colágena, debe ser considerado como un factor importante en la mantención del cuerpo vítreo libre de células.

En conclusión, se debe enfatizar que la compleja morfología del vítreo, tiene un significado funcional que no sólo determina la -- naturaleza de el espacio intercelular, sino también influencia la - función de las células dentro de él o adyacentes. En vítreo no es como el tejido celular, ni es una matriz de gel con macromoléculas - distribuidas al azar, sino mas bien una combinación de ambos, que se refleja en su complejo funcionamiento y la interrelación con los tejidos adyacentes, así como un patrón de crecimiento morfogenético.

RAZONAMIENTO:

El papel de la tracción vítreo en el desarrollo del desprendimiento de retina. Descrito primero por Muller en 1958, y expandido después por Leher en 1982 quien describió: "una degeneración fibrilar del vítreo", que causa adherencias a la retina. El siguiente paso es la formación de membranas y bandas filerosas. Estas bandas, - sufren un acortamiento de longitud por la tracción de la retina, lo cual conduce a la formación de la retina.

15

miento de retina.

Aproximadamente el 90% de todos los desprendimientos retinianos presentan estas bandas fibrosas o membranas. Pueden aparecer como membranas prerretinianas o intravitreas, o en forma de cono dentro de la cámara posterior, con su apex en la cabeza del nervio óptico.

Se han usado enzimas y roteolíticas en el análisis bioquímico del vítreo, para reabsorber hemorragias vitreas, para digerir proliferaciones, bandas fibrosas y membranas, así como para digerir la zona ^N para facilitar la extracción de catarata en pacientes jóvenes.

En un estudio llevado a cabo por O'Neall en 1973, sobre los efectos de la collagenasa en vítreo de conejos, dió como resultado que la collagenasa rompía la estructura fibrilar normal del vítreo, así como también la membrana limitante interna de la retina, y alteraciones en las capas superficiales de la retina lo que dió como consiguiente efecto hemorragias por destrucción de los vasos superficiales de la retina.

Estudios posteriores hechos por Quiroz et al en 1974 con varias enzimas como Collagenasa, Hialuronidasa, y Condroitinasa demostraron, la primera, además de la liquiefacción del vítreo, hemorragias y alteraciones retinianas, y con las dos últimas, sólo turbidez del vítreo sin ningún resultado positivo en cuanto al desprendimiento ni reabsorción de membranas fibrosas vitreas.

La alfaquimiotripsina es la única enzima que ha sido aprobada para su uso clínico por la FDA (Food and Drug Administration de USA) para digerir las bandas en la extracción de catarata. En donde existen reportes que la enzima que puede ser utilizada para

Alfaquimiotripsina es la única enzima que ha sido aprobada para su uso clínico para digerir las bandas en la extracción de catarata.

como la collagenasa, a dosis altas, así como , en estudios anteriores, no se observaron cambios en la cámara anterior ni en las estructuras extraoculares. Una explicación a ésto podría ser en que la collagenasa actúa al romper la molécula de colágena en múltiples sitios -- para producir péptidos más pequeños, no sólo en la colágena del vítreo, sino que es diferente de la colágena de la córnea, esclera y dermis. Por otro lado, la alfaquimiotripsina, una enzima proteolítica, también considerada como una endopeptidasa, esto es, la enzima que actúa en la mitad de una cadena peptídica, en varios sitios de la misma, y no sólo actúa en los extremos de la cadena. Esta enzima se distingue por su especificidad, ya que sólo rompe aquellos enlaces peptídicos donde el aminoácido contiene el grupo carbonilo del enlace peptídico es de cierto tipo, tales como: L-tirosina, L-fenilalanina, L-triptofano, L-metionina o L-leucina. La variación en la presentación de éstos aminoácidos es las proteínas del vitreo en comparación con otros tejidos oculares es de importancia.

Un dato importante es el estudio de la alfaquimiotripsina es el que su efecto se potencializa con EDTA, y disminuyen los riesgos de hemorragias y daños retinianos.

Estos resultados han demostrado que es posible producir Desprendimiento de Vitreo Posterior, lo que se ha demostrado de ser un factor de buen pronóstico en las enfermedades proliferativas tales como la retinopatía diabética, ya que en éstos casos sería preferible producir un desprendimiento de vitreo posterior en etapas tempranas de la enfermedad proliferativa, a efectuar una vitrectomía en etapas posteriores, lo que a hasta cierto punto, peligroso, ya que se refiere al riesgo de complicaciones que se producen de forma natural entre la cámara anterior y la retina. En consecuencia,

vez, muy importante en la neovascularización del iris.

HIPOTESIS:

Se tratará de producir Desprendimiento de Vítreo Posterior, específicamente, con alfaquimi tripsina, a diferentes concentraciones con y sin inhibidores, para obtener el óptimo resultado.

HIPOTESIS:

La alfaquimi tripsina produce Desprendimiento de Vítreo Psoterior, el cual es de buen pronóstico en las enfermedades proliferativas.

OBJETIVOS:

- 1.- Inyectar en cámara posterior la alfaquimi tripsina en diferentes concentraciones, , con y sin inhibidor específico .
- 2.- Formar 4 grupos de conejos, con un grupo control.
- 3.- Observar los cambios en el vítreo, retina con el lente de Bayadi-Kajiura, así como pro oftalmoscopia indirecta, durante un periodo de 3 semanas.
- 4.- Se sacrificarán los conejos de los grupos así como los - controles, tras lo que se enuclearán los ojos para ser estudiados bajo microscopia de luz y tenidos con fluoresceína.
- 5.- Comprovar el DPV por medios de microscopia electrónica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se usará 10 conejos, los cuales se les repartió en 4 grupos de 25 mg cada uno, los cuales se les inyectó en la cámara posterior del ojo con la alfaquimi tripsina en las siguientes concentraciones: 0, 1, 2 y 3 mg/ml.

se les aplicará la alfaquimiotripsina de la siguiente manera:

Grupo # 1 Alfaquimiotripsina 15 U.

Grupo # 2 Alfaquimiotripsina 30 U.

Grupo # 3 Alfaquimiotripsina 15 U más inhibidor EDTA ó TPCR

Grupo # 4 Alfaquimiotripsina 30 U más inhibidor EDTA ó TPCR

Para poder inyectar la quimiotripsina, se anestesiara a los conejos por vía endovenosa, a través de la vena marginal de la oreja, con pentobarbital sódico, diluido con solución fisiológica al 20%, y a dosis respuesta. La inyección será por medio de una aguja calibre 27, a 1mm del limbo a la cavidad posterior del vitreo, para visualizar el procedimiento se usará un lente de contacto para vitrectomía y microscopio quirúrgico.

Se tomarán fotos al mismo tiempo que se estudiará la parte posterior del vítreo con el lente de Byadi-Kajiura. Se efectuará revisión con oftalmoscopia indirecta, para valorar el resto de las estructuras del segmento posterior. Esto se realizará inmediatamente después de la inyección y con seguimiento diario durante un periodo de tres semanas, al tiempo en que serán sacrificados los conejos y los ojos enucleados para ser procesados primero en una solución de glutaraldehido durante 24 hs, después en solución de formaldehido por otras 24 hs. Se sacan de la solución de formaldehido para ser seccionados en los meridianos de las 3 y las 9 hs del reloj, de manera que se lastime el vitreo lo menos posible. Antes de cortar la segunda carátula, se tiza el vitreo con fluoresceína al 2% y se sumerge en agua para ser estudiada y fotografiada en el microscopio de luz, y así poder observar, al mover el eje de inclinación, los distintos niveles de la retina. Después de esto se procede a

ilina y eosina, y Pass-Schiff, para ser observados histológicamente con microscopía de luz.

Para probar el desprendimiento de vitreo posterior, los ojos s serán procesados trasmisión de microscopía electrónica.