

11234

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA
"FUNDACION CONDE DE VALENCIANA"

80

ATOPIA Y ANTIGENOS HLA EN PACIENTES
MEXICANOS CON QUERATOCONO

TESIS DE POSTGRADO
QUE PRESENTA
DRA RITA YEE CHAN
PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO CIRUJANO OFTALMOLOGO

276974

ASESOR DE TESIS: DR. TITO RAMIREZ LUQUIN
JEFE DE ENSEÑANZA: DR. RENE CANO HIDALGO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

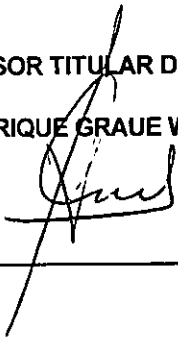
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.


PROFESOR TITULAR DEL CURSO

DR. ENRIQUE GRAUE WIECHERS



JEFE DE ENSEÑANZA

DR. RENE CANO HIDALGO



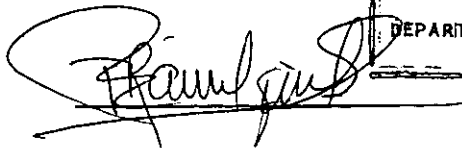
INSTITUTO DE
FARMACOLOGIA

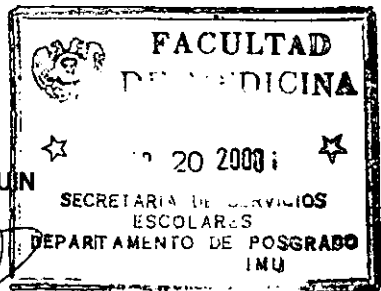
FUNDACION CONDE DE VALENZUELA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES

Chimalpopoca 14 México 8, D. F.
Col. Obrera

ASESOR DE TESIS

DR. TITO RAMIREZ LUQUIN





INDICE

INTRODUCCION	1
JUSTIFICACION	3
OBJETIVOS	4
DISEÑO DEL ESTUDIO	4
MATERIAL Y METODOS	4
RESULTADOS	8
DISCUSION	10
CONCLUSION	11
BIBLIOGRAFIA	15

INTRODUCCION

El queratocono es un desorden no inflamatorio caracterizado por adelgazamiento estromal gradual con ectasia, lo que da la forma de cono. El patrón hereditario no es predecible, la mayoría son esporádicos; sin embargo se sugiere patrón dominante de penetrancia incompleta. Generalmente son bilaterales, pero con frecuencia asimétrico (1). La edad de presentación es entre los 10 y 25 años, con un promedio de 16.1 años. Se puede asociar con una variedad de enfermedades oculares y sistémicas, incluyendo dermatitis atópica, conjuntivitis vernal, síndrome de Down, retinitis pigmentosa, degeneración tapetoretiniana, síndrome de Marfán, aniridia y esclera azul (2). En estudios epidemiológicos de queratocono han reportado una incidencia anual de 2/100,000 habitantes, con predominio en jóvenes. Describen un 59% a un 86% de bilateralidad (3). A pesar de su conocimiento desde épocas tempranas, su etiología precisa permanece inconclusa. La asociación entre queratocono y enfermedad atópica se ha descrito desde 1937 (4). Más reciente se ha reportado una asociación desde un 35% hasta un 59% con niveles altos de IgE, siendo mayor en aquellos con atopia; además IgG e IgM aumentadas, con la presencia de anticuerpos antinucleares 14% y factor reumatoide 9% (5,6). Algunos consideran que las atopias son 3 veces más frecuentes en pacientes con queratocono que en

la población normal (7). Sin embargo otros describen una asociación 10% no estadísticamente significativa entre enfermedades atópicas en pacientes con queratocono y la población general (8). Además se reporta una alta frecuencia de atopias en familiares de pacientes con queratocono 47% y aquellos queratoconos con atopias la frecuencia de familiares atópicos es de un 86% (9).

El sistema HLA (human leucocyte antigen) pertenece al complejo mayor de histocompatibilidad humano (CMH); éste ocupa un segmento del DNA en el brazo corto del cromosoma 6 y se categorizan en 3 clases según su función: Clase I (HLA-A, HLA-B, HLA-C), clase II (HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP) y clase III (determinan factores de complemento C2, C4 y factor properdina). Los antígenos clase I son expresados fuertemente en células epiteliales y estromales de la córnea, pero no en el endotelio. Desde 1973, marcadores de HLA se han asociado a 530 enfermedades específicas; generalmente las enfermedades asociadas a HLA cumplen 4 características: 1-) son de causa y patofisiología desconocida, 2-) pueden tener un patrón hereditario con pobre penetrancia, 3-) están asociadas a fenómenos inmunológicos y 4-) tienen poca o efecto no directo en la descendencia. El queratocono es una entidad que presenta éstos parámetros (10).

Una hipótesis para explicar la asociación entre el sistema HLA y el queratocono es por la teoría de la respuesta inmune, éstos antígenos no causan la enfermedad, pero por su unión genética con la respuesta inmune, actúan como marcadores para la susceptibilidad de enfermedades (11).

Si se encuentra una asociación entre el queratocono y un antígeno HLA específico, ésta relación podría ser útil en diagnosticar casos difíciles de queratocono, identificar sujetos con alto riesgo de desarrollarlo, y poder predecir que pacientes van a responder al tratamiento.

Estudios previos (12,13,14) han asociado al queratocono con alta frecuencia de HLA-B27, B5, B12, B15, BW21, A9 y A10; algunos más en casos con rechazo a queratoplastía penetrante (15); otros con baja frecuencia de HLA-B7 (16) y aún estudios sin asociación (17).

JUSTIFICACION

Conocer si existe en la población mestiza mexicana una asociación con atopias y antígenos HLA en pacientes con queratocono

Una hipótesis para explicar la asociación entre el sistema HLA y el queratocono es por la teoría de la respuesta inmune, éstos antígenos no causan la enfermedad, pero por su unión genética con la respuesta inmune, actúan como marcadores para la susceptibilidad de enfermedades (11).

Si se encuentra una asociación entre el queratocono y un antígeno HLA específico, ésta relación podría ser útil en diagnosticar casos difíciles de queratocono, identificar sujetos con alto riesgo de desarrollarlo, y poder predecir que pacientes van a responder al tratamiento.

Estudios previos (12,13,14) han asociado al queratocono con alta frecuencia de HLA-B27, B5, B12, B15, BW21, A9 y A10; algunos más en casos con rechazo a queratoplastía penetrante (15); otros con baja frecuencia de HLA-B7 (16) y aún estudios sin asociación (17).

JUSTIFICACION

Conocer si existe en la población mestiza mexicana una asociación con atopias y antígenos HLA en pacientes con queratocono

OBJETIVOS

Determinar una asociación inmunológica, correlacionado a atopias, anticuerpos IgE y antígenos HLA en pacientes mestizos mexicanos con queratocono.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Prospectivo, descriptivo y transversal

METODOS

Se realizó un estudio desde diciembre de 1996 a diciembre de 1997 en el Departamento de Oftalmología Integral del Instituto de Oftalmología "Fundación Conde de Valenciana"

Criterios de Inclusión

Se incluyeron pacientes mestizos mexicanos de cualquier edad y sexo, con diagnóstico clínico de queratocono (según criterios ya establecidos: astigmatismo, sombras en tijera, adelgazamiento corneal, estrías de Vogt, línea de Fleischer, signo de Munson, signo de Rizzutti, y en casos dudosos: topografía corneal). Se les realizó un cuestionario (página 5) y se recolectó la información en una base de datos.

OBJETIVOS

Determinar una asociación inmunológica, correlacionado a atopias, anticuerpos IgE y antígenos HLA en pacientes mestizos mexicanos con queratocono.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Prospectivo, descriptivo y transversal

METODOS

Se realizó un estudio desde diciembre de 1996 a diciembre de 1997 en el Departamento de Oftalmología Integral del Instituto de Oftalmología "Fundación Conde de Valenciana"

Criterios de Inclusión

Se incluyeron pacientes mestizos mexicanos de cualquier edad y sexo, con diagnóstico clínico de queratocono (según criterios ya establecidos: astigmatismo, sombras en tijera, adelgazamiento corneal, estrías de Vogt, línea de Fleischer, signo de Munson, signo de Rizzutti, y en casos dudosos: topografía corneal). Se les realizó un cuestionario (página 5) y se recolectó la información en una base de datos.

OBJETIVOS

Determinar una asociación inmunológica, correlacionado a atopias, anticuerpos IgE y antígenos HLA en pacientes mestizos mexicanos con queratocono.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Prospectivo, descriptivo y transversal

METODOS

Se realizó un estudio desde diciembre de 1996 a diciembre de 1997 en el Departamento de Oftalmología Integral del Instituto de Oftalmología "Fundación Conde de Valenciana"

Criterios de Inclusión

Se incluyeron pacientes mestizos mexicanos de cualquier edad y sexo, con diagnóstico clínico de queratocono (según criterios ya establecidos: astigmatismo, sombras en tijera, adelgazamiento corneal, estrías de Vogt, línea de Fleischer, signo de Munson, signo de Rizzutti, y en casos dudosos: topografía corneal). Se les realizó un cuestionario (página 5) y se recolectó la información en una base de datos.

HOJA DE CAPTURA (BASE DE DATOS)

Pacientes mestizos mexicanos con Queratocono

1. Nombre
2. Edad
3. Sexo
4. Antecedentes heredofamiliares de queratocono, atopia y otros.
5. Antecedentes personales de atopia, asma, conjuntivitis alérgica, dermatitis, eczema, parasitosis y otros.
6. Edad de inicio del queratocono
7. Ojo afectado
8. Tiempo de evolución
9. Estadío incipiente, moderado, severo
10. Realización de queratoplastía penetrante, datos de rechazo.
11. Firma de Consentimiento
12. Pruebas de Laboratorio: Resultados
 - Anticuerpos IgE = (valores)
 - Antígenos HLA = (tipificación clase I y clase II)

Criterios de Exclusión

- ◆ Caucásicos o de origen europeo
- ◆ Enfermedad infecciosa o alérgica aguda o activa
- ◆ Datos no concluyentes de queratocono

Previo consentimiento se recolectaron muestras sanguíneas; una porción se utilizaba para analizar la fórmula blanca y otra porción era conservada a -20°C hasta ser utilizadas para las inmunoglobulinas IgE y tipificación del HLA.

La fórmula blanca se realizó para descartar cualquier proceso infeccioso o alérgico activo que nos pudiese cesgar los resultados de IgE.

Criterios de Eliminación

Se eliminaron muestras sanguíneas de pacientes que fueron manipuladas de forma inapropiada o que se coagularon por una conservación inadecuada.

• CUANTIFICACION DE LA FORMULA BLANCA

Parámetros normales de referencia se describen en la **tabla 1**.

- **MEDICION DE INMUNOGLOBULINAS E (IgE)**

Las IgE específicas se midieron por la técnica de ELISA

Rango normal de 12 a 440

- **TIPIFICACION DEL HLA**

La metodología que se empleó para analizar el polimorfismo de HLA clase I y clase II, fue la siguiente: (18)

De la muestra sanguínea se separan los linfocitos, por medio de centrifugación en gradiente de densidad sobre una mezcla de Ficoll-Hypaque. Alicuotas de linfocitos se incuban en forma individual con anticuerpos específicos conocidos de cada uno de los antígenos del HLA clases I y II, para la prueba de microcitotoxicidad; si los linfocitos presentan una lisis parcial de la célula cuando se agrega el anticuerpo específico, el sujeto tiene ese tipo de antígeno HLA. La alteración en la permeabilidad de la membrana se visualiza mediante el empleo de colorantes vitales, como azul trypan o la eosina amarillenta, los cuales penetran a través de las células que han sido dañadas, mientras que las vivas lo excluyen. La evaluación de la reacción se hace mediante la observación al microscopio calificando los resultados de acuerdo con los criterios expuestos en la **tabla 2**.

Como grupo control para el HLA, se obtuvieron muestras sanguíneas de 100 voluntarios sanos mexicanos del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

RESULTADOS

Se incluyeron 60 pacientes con diagnóstico clínico de queratocono, 37 femeninos / 23 masculinos, con un promedio de edad de 27.97 años (rango de 9 a 48 años). Todos hispanos, mestizos y mexicanos.

El 84% manifestaban una presentación bilateral, aunque la mayoría eran asimétricos; la edad promedio de inicio de síntomas fue de 22.5 años (rango de 6 a 47 años). Doce (20%) de los pacientes con queratocono tenían antecedente de rinitis (1), conjuntivitis alérgica (6), dermatitis (4), fiebre reumática (1), hipertiroidismo (1) y alergia al polvo (3). Diecisiete (28%) tenían antecedentes heredofamiliares de queratocono (9), asma (2), rinitis (1), conjuntivitis alérgica (2), dermatitis (2) y alergia al polvo (2). Alguno de éstos pacientes tenían antecedentes múltiples.

•Las muestras presentaron en la **fórmula blanca** un promedio de leucos 6615 x mm³, linfocitos 2993 x mm³, monocitos 61 x mm³, eosinófilos 49 x mm³, basófilos 0 y neutrófilos 3957 x mm³; todos los resultados dentro de límites normales.

Como grupo control para el HLA, se obtuvieron muestras sanguíneas de 100 voluntarios sanos mexicanos del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

RESULTADOS

Se incluyeron 60 pacientes con diagnóstico clínico de queratocono, 37 femeninos / 23 masculinos, con un promedio de edad de 27.97 años (rango de 9 a 48 años). Todos hispanos, mestizos y mexicanos.

El 84% manifestaban una presentación bilateral, aunque la mayoría eran asimétricos; la edad promedio de inicio de síntomas fue de 22.5 años (rango de 6 a 47 años). Doce (20%) de los pacientes con queratocono tenían antecedente de rinitis (1), conjuntivitis alérgica (6), dermatitis (4), fiebre reumática (1), hipertiroidismo (1) y alergia al polvo (3). Diecisiete (28%) tenían antecedentes heredofamiliares de queratocono (9), asma (2), rinitis (1), conjuntivitis alérgica (2), dermatitis (2) y alergia al polvo (2). Alguno de éstos pacientes tenían antecedentes múltiples.

•Las muestras presentaron en la **fórmula blanca** un promedio de leucos 6615 x mm³, linfocitos 2993 x mm³, monocitos 61 x mm³, eosinófilos 49 x mm³, basófilos 0 y neutrófilos 3957 x mm³; todos los resultados dentro de límites normales.

•Las concentraciones séricas de *inmunoglobulina IgE* en promedio fueron de 131.5; todas dentro de niveles adecuados.

Treinta muestras fueron recolectadas para la tipificación de HLA, de éstas, 2 fueron eliminadas (las # 21 y 25) por mala manipulación; los resultados de los 28 pacientes restantes se demuestran en la **tabla 3**.

Se utilizaron 140 sueros para tipificar antígenos clase I y 60 sueros para antígenos clase II.

•Los *antígenos HLA* más frecuentes en los pacientes con queratocono fueron el HLA-A1 (12/28): 42.8%, HLA-DR4 y DR5 (9/28):32.1%, HLA DR1, DR2, DR3 y DR30 (7/28): 25%.

En la población control la frecuencia de HLA-A1 es del 13.7%, lo que nos da una diferencia estadísticamente significativa $p=0.002$ (**gráfica 1**). Además observamos la presencia de los HLA-A23 y HLA-DR8 aunque en baja frecuencia, fueron estadísticamente significativos al compararlo con la población control, con una $p=0.003$ y $p=0.004$ respectivamente.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

DISCUSION

La asociación entre queratocono, atopias, IgE y HLA se ha descrito en numerosas publicaciones ya referidas; sin embargo éstos son de autores y de poblaciones europeas en un 100%, en donde su genética y medio ambiente son muy diferentes al nuestro. La manifestación bilateral y la edad promedio de inicio de síntomas es similar a reportes previos.

Las enfermedades atópicas e historia familiar mostraron una menor incidencia comparada con otros estudios.

Niveles séricos de IgE no demostraron asociación con queratocono, a diferencia de publicaciones anteriores.

Nuestros resultados muestran una asociación entre queratocono y los antígenos HLA- A1, HLA-DR4 y HLA-DR5, siendo el HLA-A1 estadísticamente significativo $p=0.002$, al contrario del HLA-B27, HLA-B5 y HLA-B15 que son los más descritos.

CONCLUSION

De éstos datos podemos concluir que en la población mestiza mexicana existe una:

- * Pobre asociación entre queratocono y enfermedades atópicas.
- * No asociación con IgE séricas elevadas
- * Fuerte asociación con antígeno HLA-A1; no descrita antes en la literatura.

Tabla 1. FORMULA BLANCA (Parámetros normales de referencia)

Leucocitos	5000-9000 x mm ³
Linfocitos	1150-4000 x mm ³
Monocitos	0-720 x mm ³
Eosinófilos	0-360 x mm ³
Neutrófilos totales	1750-5850 x mm ³
Mieloblastos y mielocitos	0 %
Metamielocitos	0 %
Bandas	0-5 %
Segmentados	35-60%

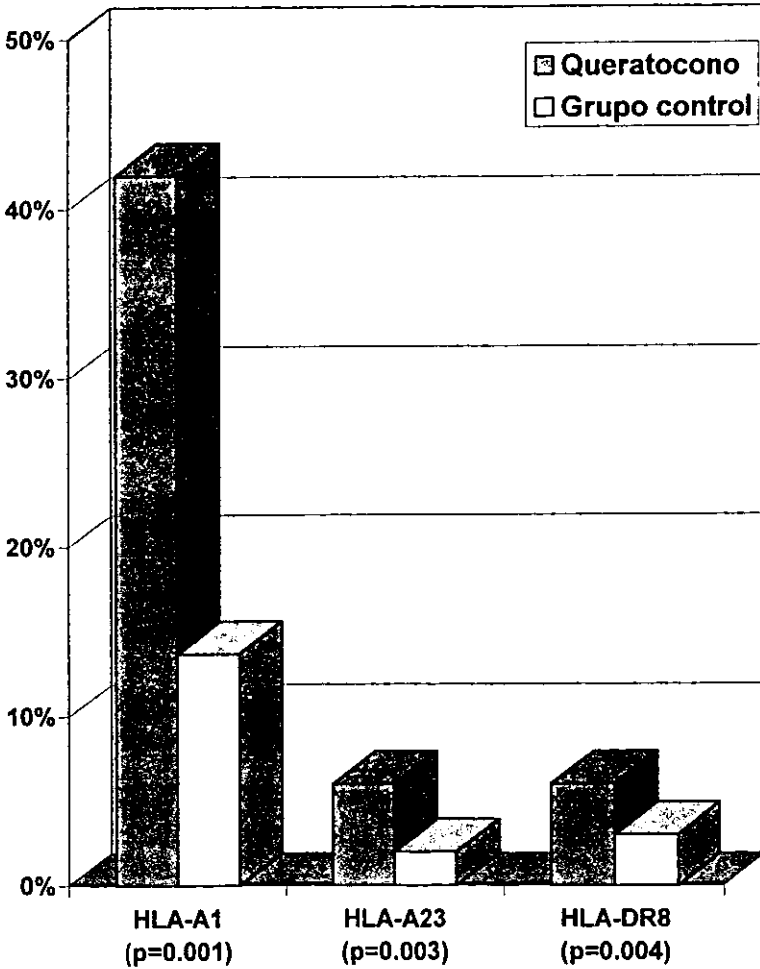
Tabla 2. Tipificación de antígenos HLA (interpretación)

Células muertas (%)	Calificación	Interpretación
0-10	1	Negativo
11-20	2	Negativo
21-30	4	Dudoso
31-80	6	Positivo
81-1006	8	Positivo

Tabla 3. Tipificación antígenos HLA en pacientes con Queratocono

Pac. #	HLA Clase I	HLA Clase II	Pac. #	HLA Clase I	HLA Clase II
1	A1, A2, B62, B13	DR4, DR5	15	A28, A29, B13, B62	DR3, DR4
2	A1, A11, B57, B14	DR4, DR7	16	A1, A30, B7, B8	DR1, DR8
3	A1, A2, B39, B57	DR1, DR5	17	A23, A30, B14, B7	DR5, DR7
4	A1, A26, B44, B49	DR2, DR5	18	A28, A29, B14, B51	DR1, DR5
5	A1, A31, B39, B55	DR3, DR5	19	A2, A31, B18, B55	DR2, DR4
6	A23, A30, B7, B49	DR2, DR3	20	A1, A30, B7, B62	DR4, DR5
7	A1, A3, B51, B60	DR1, DR7	22	A24, A26, B51, B44	DR6, DR8
8	A24, A31, B13, B55	DR2, DR4	23	A23, A26, B7, B42	DR9, DR10
9	A1, A28, B14, B52	DR3, DR8	24	A2, A23, B57, B62	DR3, DR8
10	A2, A26, B7, B39	DR4, DR5	26	A1, A2, B13, B35	DR5, DR7
11	A1, A30, B51, B62	DR4, DR6	27	A3, A23, B44, B60	DR3, DR6
12	A11, A23, B7, B55	DR1, DR2	28	A3, A30, B52, B49	DR2, DR8
13	A30, A28, B27, B62	DR8, DR3	29	A2, A11, B52, B39	DR1, DR6
14	A1, A2, B35, B44	DR1, DR2	30	A11, A28, B52, B57	DR4, DR7

GRAFICA 1. ANTIGENOS HLA



Antígenos HLA Estadísticamente Significativos

BIBLIOGRAFIA

1. External disease and cornea. Basic and clinical science course, 1996-1997.
2. Kenyon, K.R.; et al: Corneal dysgenesis, dystrophies and degenerations. En: Duane's Clinical Ophthalmology, Philadelphia, 1994. p. 31-35.
3. Kennedy, R.H.; Bourne, W.M.; Dyer, J.A.: A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. AJO 1986; 101(3):267-73.
4. Hilgartner, H.D.; Hilgartner, H.L. Jr.; Gilbert, J.T.: Keratoconus succesfully treated with organotherapy, radium and shortwave diathermy, AJO 1937; 20:1032-39.
5. Rahi, A.; Davies, P.; et al: Keratoconus and coexisting atopic disease. Br J Ophthalmol 1977; 61:761-4.
6. Kemp, E.; Lewis, C.: Measurement of total and specific IgE levels in the management of a family exhibiting a high incidence of keratoconus. Acta Ophthalmol 1984; 62:524-9.
7. Ridley, F.: Contact lenses in treatment of keratoconus. Br J Ophthalmol 1956; 40:295-304.
8. Lowell, F.C.; Carroll, J.M.; Mass, B.: A study of the ocurrence of atopic traits in patients with keratoconus. J Allerg 1970; 46:32-9.
9. Harrison, R.; Klouda, P.; Easty, D.; Manku, M.; Stewart, M.: Association between keratoconus and atopy. Br J Ophthalmol 1989; 73:816-22.

10. Sheppard, J.; Garovoy, M.: The Major Histocompatibility Complex. En: Duane, T.: Foundations of Clinical Ophthalmology. Vol 2. Lippincot, Philadelphia 1994, Cap. 38
11. McKinney, P.; Yolton, D.: Histocompatibility (HLA) antigens in keratoconus. *Am J Optom & Physiol Optics* 1984; 61(8):528-31.
12. Gasset, A.R.; Richman, A.V.; Frias, J.L.: HLA antigens and keratoconus. *Ann Ophthalmol* 1977; 9:767-8.
13. Klouda, P.; et al: HLA and keratoconus. *Tissue Antigens* 1983; 21:397-9.
14. Klouda, P.; Harrison, R.; Corbin, S.; Bradley, B.; Easty, D.: HLA-A, B and DR antigens in patients with keratoconus. *Tissue Antigens* 1986; 27: 114-5.
15. Vannas, S.; Vannas, A; Tilikainen A.: Corneal transplantation reaction in avascular keratoconus patients due to HLA-associated immune aberration against infection. A hypothesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977; 16:644-6.
16. Damgaard-Jensen, L; et al: HLA types in corneal diseases. *Acta Ophthalmol* 1979; 57:982-5.
17. Wachtmeister, L.; Ingemansson, S.; Moller, E.: Atopy and HLA antigens in patients with keratoconus. *Acta Ophthalmol* 1982; 60:113-22.
18. Terasaki, P.: Histocompatibility Testing 1980; Report of the 8th International Histocompatibility Workshop. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory.