

11234

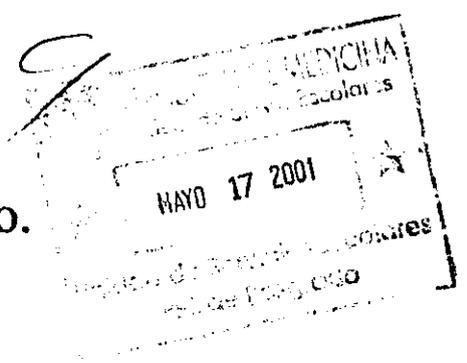
44

**UVEITIS**  
**FACOANAFILÁCTICA**  
(Experimental)

Tesis  
Que presenta el  
Dr. Noé Ortiz Solorio  
Para obtener el diplomado  
En la especialidad de  
**OFTALMOLOGÍA.**

2017382

  
Coordinador de tesis:  
Dr. Francisco Martínez Castro.



Hospital General  
Centro Médico Nal.

UNAM  
División de Estudios  
de Postgrado

México, D. F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## RECONOCIMIENTOS

Obligado es tributar un merecido reconocimiento a quienes colaboraron con nosotros en la ejecución de los diferentes aspectos de este trabajo.

Q.B.P. Víctor Manuel Sánchez Hidalgo, de la sección de Hormonas Proteicas del Laboratorio de Hormonas, Subjefatura de Investigación Básica del Instituto Mexicano del Seguro Social, a cuyo cargo estuvo el aspecto bioquímico de la tesis.

Recíprocamente al Dr. Vladimir Carazo Residente de 3er. Año y Dr. Noé Ortiz Solorio Residente de 2do. Año , Iniciador el primero y concluyente el segundo con la primera parte de la tesis.

Dra. Angélica Salas Valdez, Jefe de la Sección de Hormonas Proteicas del Laboratorio de Hormonas. Subjefatura de Investigación Básica del Instituto Mexicano de Seguro Social.

Dr. Alfredo Cortes Arcos, Jefe de la División de Cirugía Experimental de la Subjefatura de Investigación Básica del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dr. Eugenio Ushiyama González y Sr. Carlos Alarcón García, dibujantes de temas médicos, por su ayuda sin límites. Al Fotógrafo Gilberto Soria Pérez, quien no escatimó su trabajo para esta publicación; Todos pertenecen al Departamento de Ayudas Audiovisuales del Hospital General del Centro Médico Nacional del I M S S .

Maestro Dr. Alfredo Gómez Leal, Histopatólogo Ocular y Jefe de Enseñanza del Hospital de la Asociación Para Evitar La Ceguera en México, quien realizó el estudio histopatológico en la última sección de la presente investigación.

Mr. y Mrs Frederick R. Bacon, amigos que con la amabilidad de siempre hicieron la traducción del resumen al idioma inglés.

Atte.

Drs. Vladimir Carazo S. R III y Noé Ortiz S. RII

A mi padre Juan José, eterno investigador y quien desde mis primeros años me llevó por los caminos de la inquietud científica.

A mi madre Ruth, que me permitió embarcar en la gran aventura de la vida y en un póstumo homenaje.

A Julia, Juan Antonio y Rafael Edgardo, fuente de mi energía y razón de mis ilusiones.

A mi patria, COSTA RICA.

Dr. Vladimir Carazo S.

Al lejano recuerdo de mi padre Ramón y a mi madre Josefina, quienes dentro de sus posibilidades, sembraron en sus hijos la inquietud del saber y del servicio al prójimo.

A mis hermanos Ramón y Rogelio con quienes he compartido el camino de la vida.

A mi Esposa Elsa , a mis hijos Noé, Adriana, José Rubén y Arturo por su incondicional apoyo en todos los logros de mi carrera.

A Las instituciones universitarias y hospitalarias que me han formado, a mis maestros y a mi patria Mexicana.

Dr. Noé Ortiz Solorio

## INDICE

Prólogo.....	4.
Introducción.....	
Antecedentes históricos.....	5.
Filogenia del cristalino.....	7.
Embriología del cristalino.....	8.
Anatomía del cristalino.....	9.
Bioquímica del cristalino.....	10.
Conceptos de inmunología.....	16.
Facioantigenicidad.....	18.
Objetivo de la investigación.....	22.
Materiales y métodos.....	23.
Resultados.....	25.
Discusión.....	28.
Conclusiones y planes de investigación futura.....	30.
Resumen.....	32.
Referencias bibliográficas.....	37.

## PROLOGO

Al Iniciar la Residencia en el Servicio de Oftalmología del Centro Médico Nacional surgió la inquietud de ésta tesis; Dicha motivación originada, tanto en los fenómenos de inmunidad del cristalino y sus manifestaciones clínicas por una parte y por la otra y de una manera personal, por el Dr. Francisco Martínez Castro, quien es director de esta investigación.

Ahora, en las postrimerías de nuestra residencia creemos haber terminado la primera parte y en forma muy satisfactoria.

Los imponderables , los imprevistos y las barreras fueron nulificadas meced al sacrificio de nuestro "tiempo libre", ya que buena parte del trabajo fue imposible realizarlo en horario que nuestro servicio de hospital, siempre nos demandaba. Por lo anterior y al mirar lo realizado creemos que hemos llenado nuestros propósitos.

Con nuestra mayor satisfacción brindamos hoy, nuestro trabajo como un aporte al desarrollo de la investigación científica en nuestro querido Servicio de Oftalmología del Hospital General del Centro Médico Nacional del IMSS. Ojalá y sirva también de motivación a algún compañero de generaciones venideras con lo que nuestra satisfacción sería plena.

Nuestras disculpas por si algunas secciones parecieran muy extensas, pero no quisimos dejar lagunas al lector que no se dedica a la Oftalmología, a la Inmunología o que apenas se inicia en ellas.

Dr. Vladimir Carazo S. RIII

Dr. Noé Ortiz Solorio. RII

H.G. C.M.N. I.M.S.S.  
México,

1978

## ANTECEDENTES HISTORICOS.

La historia del descubrimiento del cristalino se remonta a muchos años atrás y se caracteriza por la controversia en cuanto a su existencia, posición, naturaleza y función.

Para los antiguos griegos, la cavidad del ojo estaba ocupada por un humor indiferenciado y Aristóteles consideraba al cristalino como un artefacto post mortem, \_ un acúmulo mórbido de la flegma \_ La Escuela de Alejandría, sin embargo, reconoció la presencia del "cristaloides", localizado en el centro del ojo y como órgano esencial de la visión. Es importante mencionar que ya en el siglo XIII, Averroes sugirió que la visión era función de la retina ( punto de vista aceptado por Leonardo da Vinci), pero fue hasta el siglo XVI en que Félix Platter mostró que el cristalino solo es un medio dióptrico, hecho confirmado después por Johannes Kepler.

En el año 1600, Fabricio ab Aquapendente publicó " De Oculo ", libro clásico basado en la disección cuidadosa de ojos humanos y animales , en el cual describe al cristalino en su posición correcta, detrás del iris. Durante muchos años esto no fue aceptado porque la catarata se consideraba un humor espesado y acumulado frente al cristalino, y cuando el cirujano Francés Michel Brisseau publicó su " Traité de la cataracte et du glaucome " en 1709, diciendo que la catarata es una afección del propio cristalino y colocó este tejido en su verdadera posición, pero todo el mundo oftalmológico se conmovió y no aceptaron sus aseveraciones.

En 1684, Antonio Van Leeuwenhoek, dijo que estaba compuesto por capas superpuestas y años después, el gran anatomista y cirujano Inglés John Hunter, aseguró que el cristalino está compuesto por " fibras ". Entre 1835 y 1852, fue descrito el epitelio anterior por Werneck, la presencia de la cápsula posterior por Henle y Krause y la estructura real de la cápsula por Valentin.

La más completa exposición acerca de su constitución, la hizo Sir William Bowman en 1849, y los estudios embriológicos y de anatomía comparada fueron reportados por Carl Rabl en 1900.

A partir de la lámpara de hendidura y su aplicación al estudio clínico ocular, se han efectuado las más completas observaciones " in vivo ".

En cuanto a la participación del cristalino como causa directa de algunos fenómenos de tipo inflamatorio nos remontaremos a 1899, cuando Otto Schirmer (2), en el congreso internacional celebrado en Utrecht, habló sobre las propiedades irritantes, severas y tardías que tienen las proteínas del cristalino cuando permanecen en contacto con las estructuras del ojo después de la extracción extracapsular de una catarata.

Aunque posteriormente otros investigadores se refirieron a lo mismo, fue en 1919 que Manuel Straub (3) presentó su trabajo en el cual separó tres tipos diferentes de enfermedad ocular relacionada con patología del cristalino: La que sigue a la extracción extracapsular de una catarata o a la perforación aséptica y casi siempre traumática del cristalino; La secundaria a la reabsorción de un cristalino luxado; Y la subsecuente a la reabsorción espontánea de una catarata hipermadura. También hizo mención a la presencia de un tipo similar de inflamación, diferente de una oftalmia simpática, en el ojo contralateral

y después de una extracción previa de catarata.; postuló que la reacción uveal secundaria a la ruptura de la cápsula del cristalino, se debe a la absorción de factores "tóxicos" originados en las proteínas cristaliniánas. Las características sobresalientes del padecimiento que reportó, fueron las siguientes:

- 1.- Una uveítis anterior severa y prolongada.
- 2.- Posible presentación de uveítis en el otro ojo a posteriori.
- 3.- La extracción del cristalino del ojo enfermo era lo único que curaba la enfermedad.
- 4.- Histológicamente se caracterizaba por una proliferación masiva de linfocitos, lo que la diferenciaba de un proceso séptico.
- 5.- En el caso que fuera bilateral, su cuadro histológico, era diferente del de la oftalmía simpática.

Años más tarde, Elschmig(4), Gifford y Steinberg(5) describieron lo que denominaron "uveítis facotóxica", sin saber que ya Straub la había reportado, aunque no con ese nombre.

En 1922, Verhoeff y Lemoine (6) hacen la aclaración de que, al parecer, algunos de los casos estudiados correspondían a la presencia de un factor tóxico, pero otros eran típicos de reacciones anafilácticas; para ello tomaron como base el descubrimiento de Uhlenghuth en 1903 (7) de que el suero de vacuno inmunizado con proteína cristaliniána heteróloga, contenía precipitinas que no solo reaccionaban contra cristalino de vacuno, sino también de otras especies animales y postulando propiedades antigénicas "órgano-específicas" y no especie- específicas.

En vista de que esta patología se encontraba sobre todo en niños a quienes se había hecho discisión de un cristalino cataratoso y tiempo después al repetir el procedimiento en el otro ojo, se desencadenaba una severa inflamación ocular que Verhoeff y Lemoine llamaron Endoftalmitis Facoanafiláctica.

En 1942, Courtney(8) sustentó el concepto ya enunciado por Straub de la presencia de una "uveítis inducida por el cristalino en el ojo compañero de un ojo traumatizado".

Todos estos hallazgos y reportes despertaron el interés de los investigadores cuyos trabajos tomaron dos direcciones principales:

- 1.- Se intentó reproducir el fenómeno facoanafiláctico, generalizado o localizado al ojo, en animales previamente sensibilizados mediante discisión de la cápsula del cristalino, a quien se inyectó, intracardiaco, el material cristaliniáno homólogo o autólogo y produciendo un shock anafiláctico mortal; en otros se hizo discisión simple de la cápsula del cristalino del otro ojo, provocando una reacción inflamatoria severa. Sin embargo, se encontró que las cantidades de anticuerpos producidas no eran importantes y desde entonces(1910 a 1932) se consideró que las proteínas del cristalino son antígenos débiles que necesitan asociarse a un adyuvante para despertar la reacción anafiláctica experimental.

- 2.-Desde 1894, Mörner (9) intentó separar in vitro las diferentes fracciones protéicas del cristalino, logrando obtener tres, que llamó "alfa, beta y gamma cristalinas" y trató de definir las cualidades inmunológicas de cada una de ellas.

Hektoen el 1923 (10) y posteriormente al grupo del Dr. A. C. Woods, diferenciaron, mediante métodos serológicos, la órgano-especificidad de la alfa cristalina, proteína que también mostró ser la fracción inmunológica más activa,

ya que inyectada en animales homólogos, induce la formación de precipitinas. Woods sugirió que beta y gama cristalinas, in vivo, tienen un efecto inhibitorio de la fracción alfa, por lo cual esta se comporta como antígeno débil.

En el momento actual, los estudios se dividen de nuevo en dos grupos principales:

1.- En cobayos y en presencia de adyuvante, se ha logrado producir una uveitis mediante extractos de cristalino autólogo, heterólogo u homólogo completos; el fenómeno facoanafiláctico se ha reproducido con bastante fidelidad. También se ha efectuado en conejos y usando como sensibilizante la alfa cristalina de vacuno unida a adyuvante de Freund e introduciendo, posteriormente, el antígeno solo en la cámara anterior. En estos animales también se han efectuado pruebas cutáneas con respuesta positiva a la alfa cristalina. Quienes más han experimentado en este campo son los investigadores Japoneses(11 y 12). Hasta donde sabemos, no se ha usado el cristalino humano ni sus fracciones como sensibilizante.

2.- Gracias a las técnicas modernas de separación y fraccionamiento de proteínas mediante precipitación, electroforesis, ultra centrifugación, inmunodifusión, etc., se han efectuado estudios de las proteínas del cristalino en numerosas especies animales. Se han podido separar las diferentes fracciones proteicas del cristalino humano(13), y se ha visto en qué lugar de la anatomía del cristalino están las mayores concentraciones de cada proteína en las diferentes edades(14 a 19) y se ha empezado a identificar las cadenas de aminoácidos que conforman la alfa cristalina(20), cuyas propiedades antigénicas y órgano-específicas están comprobadas. En estos aspectos, el grupo que encabeza el Dr. Abraham Spector, en Nueva York, es el pionero.

Todo este interés en el cristalino deriva del hecho de que, junto al grupo de oftalmólogos, hay muchos científicos interesados en el estudio de su formación y sus constituyentes, ya que es un tejido totalmente aislado del resto del organismo, sin soporte vascular, dotado de un triple sistema antigénico con especificidad de especie, tejido y órgano, capaz de producir una enfermedad autoinmune que representa el mejor ejemplo de autosensibilización a un antígeno secuestrado.

### Filogenia del cristalino.

En los invertebrados no se puede hablar de cristalino en el mismo sentido que en los vertebrados. Sin embargo, recordaremos que en los flagelados aparece una mancha ocular con función de organela visual; es una mancha pigmentada, fotosensible, que dirige al flagelado mediante fototaxis y ocasionalmente tiene una estructura refráctil que sirve para concentrar la luz, actuando como cristalino. En especies más complejas como poliquetos y cefalópodos, aparece un ojo vesicular más parecido al de los vertebrados, con un mecanismo acomodativo y músculos extraoculares; en ellos encontramos un cristalino verdadero pero sus proteínas no son comparables a las de los vertebrados.

En el estudio de estos últimos sí aparece como uno de los factores más importantes en el desarrollo del ojo. Según nuestros conocimientos actuales, se

forma por intervención y la inducción embriogénica de dos estructuras cercanas: las células de la vesícula óptica y el mesodermo de la cabeza. Es importante señalar que no existen formas de transición en su desarrollo, sino que una vez que aparece en una especie, ya está totalmente formado(21 y 22).

De los trabajos de Halbert y Mansky (23 y 24) podemos concluir algunos datos importantes: la órgano-especificidad solo se encuentra en los vertebrados. Partiendo de los Agnatos primitivos, cuyo origen viene de las etapas más antiguas y que se consideran uno de los puntos de partida de los vertebrados, es posible seguir la evolución de los antígenos del cristalino hasta el hombre actual. Se ha visto que en la evolución de los vertebrados no ha cambiado el número total de proteínas del cristalino, sino que en el proceso solo han sufrido modificaciones, algunas de ellas de tal manera, que desde los Agnatos hasta el hombre se pueden encontrar reacciones cruzadas al investigar antigenicidad; esto se considera una prueba de la órgano-especificidad. Las reacciones cruzadas se acentúan conforme aumenta la cercanía filogenética entre las especies. Se cree que a mayor evolución de una especie, se encuentran nuevos determinantes antigénicos agregados a las proteínas ya formadas. También se ha visto que la órgano-especificidad no es exclusiva de la alfa cristalina, pero que esta es la que menos cambia en la evolución de los vertebrados.

#### Desarrollo embriológico del cristalino.

Valentin, en 1935, fue quien primero demostró que el cristalino derive de células ectodérmicas. A partir de entonces se ha avanzado mucho en la ontogenia del cristalino. De esos estudios citaremos los principales hallazgos: al inicio de la 5ta. Semana de la vida embrionaria, cuando el producto mide 4.5 mm, las células cúbicas del ectodermo superficial que formarán la lámina del cristalino se empiezan a dividir por mitosis y asumen una forma columnar. En ese momento se encuentran antígenos específicos de lo que más tarde se conformará como cristalino(25 a 27).

A los 5 mm, hacia la mitad de la 5ta. Semana, se empieza a invaginar la lámina cristalina y a los 7 mm, final de la 5ta semana, la vesícula del cristalino se separa del ectodermo superficial. A los 9 a 10 mm, inicio de la 6ta. semana, empiezan a formarse las primeras "fibras" cristalinas a partir del epitelio posterior de la vesícula y a los 18 mm, mitad de la 7ma. Semana, ya la cavidad está totalmente llena de células, formando el núcleo embrionario que permanecerá sin cambios a través de toda la vida del vertebrado.

La cápsula del cristalino, responsable de que sus proteínas permanezcan aisladas del resto del organismo, se forma a los 8 mm, inicio de la 6ta. semana, inicialmente como un engrosamiento de lo que fue la membrana basal del ectodermo superficial, en forma independiente de la túnica vasculosa lentis, que es de origen mesodérmico.

Posteriormente se irán formando los diferentes núcleos que forman el cristalino del adulto: fetal, formado por fibras secundarias entre el 3er. y 8vo. mes de vida fetal; infantil, que empieza a conformarse en las últimas semanas de la vida fetal y termina su formación en la pubertad; adulto, que se forma desde la pubertad en adelante hasta terminar junto con la muerte del vertebrado que se trate.

En cuanto a la aparición de las proteínas del cristalino, debemos considerar los trabajos hechos en animales(28 y 29) y en humanos( 30 y 31); estos últimos, mediante técnicas de inmunolectroforesis, mostraron que desde el inicio de la vida embrionaria, aparecen alfa, beta y gama cristalinas, con predominio de la primera y la última; a los 3 a 4 meses de la vida fetal, encontraron seis líneas de precipitación de proteínas y después de los 6 meses encontraron nueve.

### Anatomía del cristalino.

Es una estructura de forma lenticular, transparente, biconvexa, con un borde redondeado llamado Ecuador; La superficie anterior es elipsoidal y culmina al formar el polo anterior y cuyo radio de curvatura es de 10 a 11 mm en el adulto. La superficie posterior es paraboloide cuyo ápex es el polo posterior y que tiene un radio de curvatura más pequeño, de 6 mm. El diámetro anteroposterior es de 2.9 a 3.76 mm medido con métodos ópticos.

Está situado inmediatamente después de la pupila y de la superficie posterior del iris. Su ecuador está separado del cuerpo ciliar por un intervalo libre de .5 mm de ancho denominado espacio circumlental. Está colocado en posición casi vertical merced a que su borde nasal y superior está ligeramente más adelantado que el temporal e inferior. Su consistencia es suave y moldeable en el joven y se va endureciendo y esclerosando con la edad. Lo rodea una cápsula fuerte y altamente elástica de donde parte la zónula de Zinn llamada también ligamento suspensor, que lo une al cuerpo ciliar y lo mantiene en su posición. En la superficie posterior tiene un círculo de unión a la hialoides anterior llamado ligamento hialóideo-capsular de Wieger, de aproximadamente nueve mm de diámetro.

Está bañado por el humor acuoso, su superficie anterior forma el límite posterior de la cámara anterior, su periferia está en la cámara posterior y su polo posterior está separado de la hialoides anterior por el espacio capilar de Berger.

Aunque es, prácticamente transparente, tiene un tinte amarillento que es más marcado en la infancia, disminuye en la adolescencia y en la juventud y de nuevo aumenta en la edad adulta y en la senilidad; no se sabe exactamente qué produce ese color. Conforme pasan los años su transparencia disminuye en porción lineal, constituyendo lo que se llama " escleriosis del cristalino".

Su peso varía de 65 Mg al nacimiento hasta más de 200 en la edad adulta; su volumen desde .163 ml. Hasta mas de .200, sin estar en relación con el peso, ya que con la edad aumenta la gravedad específica del tejido(32).

Su estructura microscópica consta de cuatro partes principales(33): la cápsula, el epitelio anterior, las células y la zónula.

La cápsula es un engrosamiento transparente ( ya lo habíamos mencionado) de la membrana basal del epitelio; su grosor varía de acuerdo con la edad en proporción directa y de acuerdo con el sitio en que se observe, de tal manera que es más gruesa en las superficies anterior y posterior comparadas con el ecuador. Tiene, como característica que es muy elástica debido a la disposición de sus componentes fibrilares, ya que no contiene tejido propiamente elástico. Está compuesta de finas láminas paralelas a la superficie pero sin orientación definida, haciendo un total de 30 a 40 y cada una de ellas mide de 300 a 400 Å°

de grosor. Las láminas, a su vez, están compuestas de fibrillas dispuestas con una periodicidad de 600 Å°.

El epitelio se sitúa detrás de la cápsula anterior y ecuatorial y no existe en el sector posterior del cristalino ya que su equivalente se "utilizó", durante el desarrollo embrionario, para constituir las células o fibrillas del cristalino. Las bases de las células están dispuestas hacia la cápsula que es su membrana basal. En general consiste en una sola capa de células poligonales o cilíndricas que en la porción ecuatorial se alargan porque es a partir de ellas que se formarán las nuevas células. En su interior tienen microtúbulos que, al parecer, son los responsables de la elasticidad del cristalino. El epitelio es el principal sintetizador de alfa cristalina.

Las células se forman continuamente durante toda la vida del sujeto, de manera que las más recientes se colocan hacia afuera (formadas a partir del epitelio ecuatorial) y desplazan hacia adentro a las más antiguas que gradualmente van perdiendo su núcleo y sus límites precisos. La mayor parte de ellas son hexagonales y alargadas, por lo que antiguamente se les denominó fibras. Se estima que en el cristalino adulto existen de 2100 a 2300 células que tienen una longitud promedio de 10 µm y un grosor de 2 a 5 µm. Todas terminan anterior y posteriormente en las suturas del cristalino, de manera que si una fibra se origina en la parte distal de la sutura posterior, termina en la más proximal de la sutura anterior. Las suturas van en aumento en complejidad conforme crece el cristalino, de manera que las que son visibles en el núcleo embrionario, tienen forma de "Y", pero en la corteza son de forma estrellada con múltiples prolongaciones dendríticas por tener que dar cabida a un número cada vez mayor de células.

La zónula está compuesta de una serie de fibras originadas en la membrana basal del epitelio no pigmentado del cuerpo ciliar, de donde se extienden en forma circunferencial hasta la cápsula del cristalino, tomando el ecuador y uno a dos mm adelante y atrás del mismo de manera que le sirven de soporte al cristalino al mismo tiempo que transportan las fuerzas mediante las cuales funciona el mecanismo de la "acomodación". La mayor parte tienen un grosor de 80 a 120 Å°, con periodicidad de 110 a 180 Å°.

#### Bioquímica del cristalino.

El cristalino es un órgano de interés especial, tanto desde el punto de vista fisiológico como bioquímico; es un tejido vivo y transparente, sin irrigación sanguínea. En algunos aspectos se parece a la córnea pero en ambos existen evidentes diferencias. El cristalino es completamente avascular, bañado totalmente por el humor acuoso, la mayor parte de las proteínas que lo forman son solubles y contiene una pequeña cantidad de mucopolisacáridos, todo esto en contraste con el colágeno insoluble de la córnea que contiene muchos más en cantidad. Mientras que la transparencia de la córnea depende en mucho de la disposición regular de las fibrillas, formadas por el colágeno, la del cristalino parece depender más de la solubilidad de sus componentes proteicos(34).

## Composición química.

Su mayor constituyente es el agua, que ocupa aproximadamente un 63 % del tejido en el adulto y algo más en el ojo en crecimiento ( 69%). De los sólidos involucrados, la mayoría son proteínas que contribuyen el 35 al 36 % del peso del cristalino adulto. Los sólidos restantes que hacen aproximadamente el 1 %, incluyen lípidos, iones inorgánicos: principalmente sodio, potasio, cloruros y fosfatos; carbohidratos: especialmente glucosa y sus derivados, además de todas las sustancias asociadas con su metabolismo y varios otros componentes como ácido ascórbico, glutatión y aminoácidos(35).

Es muy probable que los diferentes tipos de cataratas sean una respuesta a los diferentes cambios que pueden sufrir las proteínas y se han hecho esfuerzos por aclarar su naturaleza. Con el advenimiento de nuevos métodos de separación e identificación proteica, como ultracentrifugación, cromatografía, electroforesis y gel-filtración, ha aumentado el número de fracciones identificables pero aún sigue siendo válida la clasificación original establecida por Mörner(9) y modificada por Burky y Woods en 1928(36). Es la siguiente:

1.- Alfa-cristalina que es la proteína soluble, precipitada del líquido turbio obtenido cuando se coloca el cristalino en agua y adicionándole ácido acético hasta un ph. De 5.0.

2.- Beta-cristalina, obtenida después de haber retirado la alfa y saturando la solución con cloruro de sodio.

3.- Gama-cristalina, que se obtiene después de haber retirado las anteriores y saturando la solución con sulfato de amonio.

4.- Albuminoide que está formado por la mayor parte de las proteínas insolubles.

Para las cuatro se han dado las siguientes proporciones:

Según Mörner y según Krause en % del total.

Alfa.	31.4	31.7
Beta	19.5	53.4
Gama	0.6	1.5
Albuminoide		
	48.5	12.5

Probablemente las diferencias se deban a que ambos trabajaron con cristalinos de vertebrados de diferentes edades, con lo que aumentan las fracciones insolubles y disminuyen las solubles.

Estudios más recientes han logrado aislar otras fracciones proteicas y sus métodos ya los mencionamos e incluyen electroforesis, cromatografía, ultracentrifugación, gel-filtración y métodos inmunológicos(37,38,39,40,41 y 42).

En el momento actual se pueden hacer las siguientes consideraciones al respecto:

La Alfa-cristalina es la primera en aparecer en desarrollo embriológico, en la etapa de 26 somitas, es decir, antes de los 30 días de vida intrauterina; de hecho se puede inhibir y formación del cristalino con la aplicación de suero antialfa-cristalina. Esta proteína se ha encontrado, prácticamente sin cambios, en todos los vertebrados y por lo mismo, se considera el elemento esencial de la organoespecificidad, sus variaciones son discretas en cuanto a peso molecular y

movilidad electroforéticas pero no en sus características inmunológicas(40); resiste la desnaturalización y la digestión con tripsina(43 y 44) y su especificidad no cambia desde los 22 hasta los 100°C. Es la fracción más antigénica del cristalino como lo han mostrado Manski y Cols. en 1965(45) al producir anticuerpos organoespecíficos ( autoanticuerpos) en conejos; estos anticuerpos, en inmunizaciones heterólogas, aparecen diez días después de un estímulo antigénico simple, a diferencia de los antibeta y antigama que aparecen débilmente a partir de los veinticuatro días posteriores a la primera inyección.

Aunque existen muy pocos trabajos en relación a inducir una uveítis faeoantigénica usando exclusivamente alfa-cristalina(11,12,46,47 y 48), ellos han confirmado su papel esencial en la faeoantigenicidad.

Además de ser una proteína altamente antigénica y organo-específica, la alfa-cristalina, presenta reacciones de inmunidad cruzada con otros tejidos intraoculares, fundamentalmente el iris, la córnea y la retina(49 y 50) y algunos extraoculares como la membrana basal del glomérulo renal, hígado y cerebro(51,52 y 53). Aún no se ha encontrado una explicación satisfactoria a estas reacciones cruzadas.

De los reportes de algunos investigadores que han sobresalido, en los últimos años, por sus trabajos respecto a la bioquímica del cristalino(14 a 19), podemos resaltar varios datos interesantes: la cantidad de proteínas solubles del cristalino humano varía de acuerdo con la edad, de tal manera que la alfa-cristalina aumenta, la gama-cristalina disminuye y la beta-cristalina permanece muy estable. Se ha visto que la alfa-cristalina es una macromolécula cuyo peso molecular varía desde  $7 \times 10^5$  (5) hasta más de  $50 \times 10^6$  (6) y está formada por subunidades que se mantienen unidas mediante enlaces no covalentes, cada una de ellas tiene un peso molecular que varía de 19,500 a 22,500. De esas subunidades se conocen dos tipos diferentes: ácidas y básicas(54). Mediante análisis de cristalinos de diferentes edades se ha visto que a mayor edad, aumenta hasta en 5 veces la cantidad de alfa cristalina de alto peso molecular(55).

De acuerdo con algunos investigadores(56), el peso molecular de la alfa-cristalina le impide atravesar la cápsula del cristalino, a menos que esté dañada; esto explica el hecho de que, en condiciones fisiológicas, la alfa-cristalina no es reconocida por los mecanismos de inmunocompetencia.

La Beta- cristalina también representa un grupo complejo; tiene una movilidad electroforética intermedia entre la alfa ( rápida) y la gama ( lenta) y aparece como una banda ancha de límites mal definidos. Su peso molecular es de 28,000(57).

La Gama- cristalina, de peso molecular variable entre 14,000 y 25,000, es el conjunto de hasta cinco subfracciones y al parecer, su formación esta asociada al desarrollo de nuevas células cristalinianas a partir de la región ecuatorial.

La Pre alfa-cristalina es una pequeña banda que en la electroforesis migra rápidamente cerca del grupo alfa. Los investigadores que primero la observaron creyeron que era el elemento portador de la especificidad de especie para el hombre, sin embargo, también se ha encontrado en otros mamíferos (41). Algunas de estas investigaciones han despertado interesantes controversias.

## Tolerancia "in vivo" de las proteínas solubles.

A partir de los trabajos de Woods y Cols. (36) , se ha pensado, que en condiciones normales, el poder antigénico de la alfa- cristalina, está bloqueado por las fracciones beta y gama. Esto lo han ratificado otros investigadores(58 y 59). De esta forma, teóricamente, la reacción facoantigénica aparecerá cuando se rompa el equilibrio entre la alfa por un lado y las beta y gama por el otro o bien, cuando la fracción alfa pase al humor acuoso en una proporción mayor que las otras o cuando se pierda la tolerancia natural del individuo al factor antigénico.

La fracción de Albuminoide, representa la mayor parte de proteína insoluble y se obtiene mediante simple filtración o centrifugación de un homogeneizado fresco hecho en agua; su peso molecular se ha estimado en 367,000, mucho más alto que los correspondientes a beta y gama- cristalinas y hay indicios de que no se trata de una proteína simple. La concentración de albuminoide aumenta con la edad y al disminuir la cantidad de fracciones solubles; existen reportes (60) indicando que es insoluble a ph. De 7.0 y que existe un equilibrio entre alfa- cristalina y albuminoide, pudiendo derivarse una de otra y en forma recíproca, sin alterar, significativamente, su estructura bioquímica, parece que estas conversiones, "in vivo", se relacionan con la formación de cataratas.

Glicoproteínas del cristalino y Polisacáridos de la cápsula: fue Dische(61,62 y 63) quien primero estableció la relación entre los antígenos de la cápsula del cristalino y la membrana basal del glomérulo renal, determinó también la composición y localización de las glicoproteínas en el cristalino. A partir de otros estudios(64 y 65) ha empezado a tomar importancia la valoración de los polisacáridos de la cápsula del cristalino en la producción de facoantigenicidad. Se les responsabiliza de las reacciones cruzadas entre el cristalino y órganos extraoculares, se cree que actúan como haptenos, y en unión con las proteínas, producen antígenos completos. Todavía no se cuenta con evidencia experimental al respecto.

## Localización de los antígenos en el interior del cristalino.

### Albuminoide. :

Se encuentra después del nacimiento, principalmente en el núcleo del cristalino. Su título aumenta con la edad conforme disminuyen las fracciones solubles. Mediante inmunoelectroforesis e inmunodifusión(66) se ha visto que está formado por alfa, prealfa, beta y gama cristalinas con los mismos determinantes antigénicos que ellas contienen.

### Antígenos de la fracción soluble. :

Son difíciles de analizar debido a la heterogeneidad de su forma y composición. Experimentalmente, se ha mostrado la presencia de alfa- cristalina de alto peso molecular localizada principalmente en la periferia de los cristalinos humanos, de pacientes de edad avanzada y de ojos con catarata, así como la ausencia de alfa-cristalina de bajo peso molecular en el 30 a 40 % del núcleo de cristalinos de pacientes de edad avanzada y esto es diferente de los hallazgos en cristalinos de personas jóvenes, en quienes se encuentra alfa-cristalina en todas sus capas.

Antígenos de la corteza y el núcleo. :

Mediante estudios experimentales con cristalinos de bovinos(68), se encontraron ocho líneas de precipitación de las cuales, cinco pertenecían a la corteza y tres al núcleo. En cristalinos humanos se ha visto algo similar pero no hemos determinado la correspondencia de las líneas con el sitio de origen.

Modificación de las características antigénicas con la edad. :

Se ha visto que el principal factor antigénico, la alfa- cristalina, no disminuye con la edad y más bien, en ocasiones, tiende a aumentar en cristalinos y/o de pacientes ancianos, conservando, íntegra, su capacidad antigénica. Ya hemos citado también que la fracción albuminoide, tiene el mismo poder inmunogénico, de las fracciones que le dieron origen y por lo mismo, los cristalinos cataratosos y/o de pacientes seniles, se comportan como fuentes importantes de antigenicidad.

#### Transporte de sustancias al cristalino.

El cristalino se diferencia de cualquier otro órgano o tejido de la economía en que, tanto las sustancias nutritivas que llegan, como las de desecho metabólico que expulsa, deben alcanzar los vasos capilares de manera indirecta, ya sea a través del humor acuoso que es la vía más importante, o a través del humor vítreo. Desde los experimentos de Wagenmann (69) se sabe que al bloquear las arterias que llegan al ojo o las venas que salen de él, se provoca la aparición de cataratas; es por eso que podemos encontrar cataratas de origen iatrogénico después de algunas técnicas quirúrgicas como la ciclodiatermia y las depresiones esclerales circulares, aun cuando se haga sin errores técnicos.

Un hecho importante es que, cualquier sustancia que entre o salga del cristalino, debe atravesar una barrera - la cápsula - que impide el paso a moléculas grandes y deja pasar a las pequeñas.

Es muy importante, también, recordar la influencia del contenido de agua del cristalino, si aumenta a consecuencia de traumatismo que lesione la cápsula o por cualquier variación de la osmolaridad, se edematizan las células y pierden su transparencia, alteran el volumen del cristalino o su índice refractivo y esto explica los cambios de agudeza visual detectados en el diabético y relacionados con las variaciones de las cifras de glicemia, explica, también, las cataratas "agudas" en diabéticos o en paciente con Cólera.

#### Metabolismo del cristalino.

En el metabolismo del cristalino encontramos dos procesos esenciales e interrelacionados: por una parte el aprovisionamiento de energía a partir de carbohidratos y la formación de materiales estructurales a partir de los aminoácidos. Aunque se ignoran muchas cosas, sabemos que el cristalino tiene una baja utilización de glucosa en los procesos aeróbicos que permite la poca cantidad de oxígeno que le transporta el humor acuoso. Por lo tanto, la energía que requiere, se produce por medios anaerobios en, aproximadamente, un 70%. (34).

Las cuatro vías por las que toma la energía que necesita son: a.- Glicólisis, b.- Ciclo del ácido cítrico, c.- Vía de la hexosa – monofosfato y d.- Vía del Sorbitol(35).

Se conoce muy poco acerca del metabolismo proteico del cristalino, sin embargo, existe evidencia de que la síntesis proteica se efectúa con mayor rapidez en las regiones corticales anterior y ecuatorial, en comparación con el núcleo y la porción posterior. Se sabe también, que algunas de las proteínas formadas rápidamente, no llegan a constituir alfa, beta o gama- cristalinas.

La ruptura de proteínas se ha ejemplificado con la autólisis que sufren algunos cristalinos. Además de otras enzimas, el cristalino contiene proteinasas y peptidasas que se cree, son las responsables de los cambios encontrados en las etapas finales de las cataratas, en la formación de vacuolas asociadas con opacidades corticales y en la licuefacción que identifica a las cataratas morgagnianas(34)

## CONCEPTOS DE INMUNOLOGIA

Es indispensable discutir algunos conceptos de inmunología con la finalidad de un mejor entendimiento de los temas que se abordarán posteriormente.

El concepto de inmunidad abarca los mecanismos de respuesta, habitualmente de defensa, al estímulo de una sustancia extraña con la que ha estado en contacto anteriormente(7) . Por lo tanto, la principal función del sistema inmunitario es defender al inmunizado de todos los invasores que reconozca como extraños. Este sistema aparece en la evolución de las especies y abarca desde los vertebrados más primitivos y va adquiriendo mayor complejidad en su organización y respuestas conforme se asciende en la escala filogenética.

Las respuestas inmunológicas pueden ser de dos tipos: celular, cuando el organismo se defiende usando los linfocitos, las células T y las que de ellos se originen y que requiere de la presencia del timo funcionante durante la embriogénesis; el otro tipo es la respuesta humoral o plasmocitoide y que actúa en base a la presencia de anticuerpos y la síntesis de inmunoglobulinas a través de las células B que en las aves maduran en la bolsa de Fabricio y en los mamíferos se desarrollan a partir de las placas de Peyer, las amígdalas, el apéndice vermiforme y las células de la médula ósea.

La capacidad de desarrollar inmunidad bajo un estímulo apropiado es característica de los vertebrados. En estado normal, las respuestas inmunitarias no se desencadenan contra los tejidos de la propia persona, aunque no sabemos exactamente cómo es que el sistema encargado de la defensa del organismo aprende a reconocer como propios los diferentes tejidos; se considera válida la teoría de Sir F. M. Burnet, quien dice que durante el desarrollo del vertebrado, cuando se conforma el sistema inmunitario, éste reconocerá como propios todos los antígenos que se encuentren presentes y que no despertarán, posteriormente, respuesta inmune en el animal. Sin embargo, hay situaciones en las cuales, los mecanismos de inmunidad, son incapaces de reconocer algunas sustancias, células o tejidos como pertenecientes al organismo, por lo que aparecen respuestas de "defensa" encaminadas a destruir partes normales de la economía, condicionando las llamadas enfermedades por autoinmunidad. Esto se ha querido explicar diciendo que en el desarrollo de la autoinmunidad, se encuentra, por lo menos, una de las siguientes condiciones(71). :

- 1.- Una alteración en la constitución del antígeno.
- 2.-Alguna(s) mutación(es) inmunológica(s) que condicione(n) una respuesta anormal.
- 3.- Presencia de una " idiosincrasia" del paciente.
- 4.- Que el antígeno haya sido secuestrado por una barrera inmunológica antes de la formación del sistema inmunitario.

En la FACOANTIGENICIDAD, sabemos que el tejido cristalino, con el caudal antigénico que porta principalmente a través de la alfa- cristalina, se aísla del resto del organismo desde el inicio de la de la 6ta. semana de la vida embrionaria, por lo que en estado normal, sus proteínas no son reconocidas por los mecanismos de defensa; esto hace que cuando se ponen en contacto esos antígenos con el sistema inmunitario, se desencadenen reacciones dirigidas

contra dichas proteínas y provocando una inflamación severa mediada, fundamentalmente, por IgG(71).

La hipersensibilidad constituye un elemento tendiente a conservar la integridad del organismo y para llevarse a cabo necesita varias condiciones que son:

- 1.- Exposición al antígeno.
- 2.- Un período de inducción que dura de una a dos semanas.
- 3.- Nueva exposición al mismo antígeno u otro relacionado.
- 4.- Posibilidad de presentar reacciones anafilácticas.
- 5.- Transferencia de la hipersensibilidad de un sujeto sensibilizado a uno normal, mediante suero o suspensiones celulares.
- 6.- En mayor o menor grado, usando vacunas del antígeno específico se puede desensibilizar al paciente.

La reacción inmediata es de tipo humoral y mediada por anticuerpos; en tanto que la respuesta retardada es celular y se efectúa a través de los linfocitos y/o sus originados. En una reacción local participan, fundamentalmente las IgE.

Experimentalmente se puede inducir una respuesta inmune tardía inyectando proteínas unidas a adyuvante de Freund, también, experimentalmente, la inmunización de un animal con un extracto de órgano (heterólogo, homólogo o autólogo) puede originar la aparición de anticuerpos, hipersensibilidad retardada y lesiones en el órgano correspondiente.

Además del cristalino, algunos otros tejidos contienen, normalmente, "auto-antígenos naturales que casi siempre tienen órgano- especificidad como la mielina, los espermatozoides y la tiroglobulina.

Con base en lo enunciado, podemos reconocer tres tipos principales de HIPERSENSIBILIDAD:

1.- INMEDIATA ( anafiláctica ). Resulta del contacto de los fluidos tisulares con una proteína extraña; esto produce cambios en el endotelio capilar, el músculo liso y las fibras colágenas e induce la formación de anticuerpos. La reintroducción posterior de la misma sustancia hace que aparezcan grandes cantidades de anticuerpos específicos desencadenando una reacción de Ag-Ac que produce congestión, aumento de la permeabilidad capilar, hemorragia, espasmo del músculo liso y aparición de precipitinas específicas en los fluidos corporales.

Clínicamente se caracteriza por la presencia de eritema y un brote urticario si el segundo contacto es a través de la piel, edema del tracto respiratorio si el contacto es a ese nivel y puede ocasionar shock si el antígeno penetra a la circulación general.

2.- RETARDADA (alergia bacteriana). En este tipo, los tejidos se sensibilizan por el contacto con los microorganismos vivos o muertos, formándose anticuerpos en las células. Un contacto posterior provocará daño tisular severo de desarrollo lento, reacción inflamatoria y necrosis. No se demuestran anticuerpos circulantes.

3.- AUTOINMUNE. Como ya se mencionó, es la reacción en la que se destruye un tejido del mismo organismo debido a que la presencia de autoantígenos induce la formación de autoanticuerpos(73).

Aclarados estos importantes conceptos, creemos poder empezar con lo fundamental de la reacción facoantigénica.

## FACOANTIGENICIDAD

Elschnig, Gifford y Steinberg( 4 y 5) y posteriormente Woods y Duke-Elder(73 y 74) hablaron de faco-toxicidad; ese término que acuñara Schirmer el 1899(2), se usó para designar toda inflamación ocular clínicamente compleja e inespecífica en la que no se podía comprobar participación inmunológica, se sospechaba su origen en el cristalino e histopatológicamente se caracterizabapor una reacción inflamatoria no granulomatosa. Posteriormente y de acuerdo con trabajos iniciados por el mismo Woods, no se ha logrado demostrar que las proteínas del cristalino sean tóxicas; se piensa que los casos agrupados bajo ese nombre, correspondían a estados agudos de una uveitis facoantigénica o a una uveitis no relacionada con el cristalino en la que no se llegó a un diagnóstico preciso. Actualmente el término "facotóxico" se ha abandonado.

En 1922, Verhoeffy LeMoine(6) empiezan a hablar de "facoanafilaxia", término que ellos mismos consideraron poco satisfactorio por no involucrar todo lo que con él se quiso expresar; sin embargo se ha usado hasta la actualidad aunque con tendencia a hacerlo cada vez menos y principalmente porque con mas frecuencia se tiene certeza de casos que sí se pueden considerar de "anafilaxia", pero existen otros que no podrían englobarse ahí.

Witmer (75) propone usar el término de FACOANTIGENICIDAD para designar todas las inflamaciones uveales originadas en el cristalino a través de procesos inmunológicos y para referirse a los estudios encaminados a aclarar el comportamiento antigénico de las proteínas del cristalino.

En la actualidad preferimos agrupar bajo el nombre de UVEITIS DE ORIGEN CRISTALINIANO o facogenéticas a:

- 1.- Los procesos de carácter facoantigénico comprobado en forma clínica, biológica y terapéutica.
- 2.- Las uveitis de origen cristaliniiano provocadas por un mecanismo inespecifico y en las que no podemos comprobar la participación inmunológica.
- 3.- Las uveitis que acompañan al glaucoma facolítico(76) .

## UVEITIS FACOANTIGENICA

Sea de origen traumático, quirúrgico o espontáneo, tiene, como común denominador, la ruptura de la cápsula del cristalino a partir de lo cual difunden las proteínas hacia la cámara anterior, el vítreo o ambos. La reacción inflamatoria puede presentarse en forma inmediata (24 a 48 horas después de la ruptura capsular) o tardía ( semanas, meses y aún, años después).

El cuadro clínico es agudo y severo; se caracteriza por la presencia de edema palpebral, hiperemia conjuntival severa con reacción ciliar, vascularización del iris, formación de sinequias posteriores y la clásica aparición de depósitos retroqueráticos en "grasa de carnero" que se presentan entre uno a catorce días después de la ruptura capsular. La evolución es insidiosa con episodios de dolor e hipertensión ocular que puede persistir hasta la curación o la atrofia del globo ocular. Las lesiones están localizadas en el segmento anterior del ojo. El origen inmunológico de la enfermedad se ha basado en algunos hallazgos clínicos:

- 1.- Es necesaria la ruptura de la cápsula del cristalino.

2.- La reacción histológica no guarda relación con la cantidad de proteínas liberadas.

3.- No se necesita la presencia de otras alteraciones oculares concomitantes (por ejemplo infecciones agregadas).

4.- Puede involucrar al otro ojo.

5.- Aparece en individuos susceptibles, sensibilizados a las proteínas del cristalino(73).

El cuadro histopatológico se caracteriza porque el cristalino dañado se infiltra con leucocitos polimorfonucleares y en su derredor, principalmente donde se rompió la cápsula, se encuentran grandes mononucleares y algunos de ellos se transforman en células epitelioides o células gigantes. El iris y el cuerpo ciliar muestran una severa inflamación y están infiltrados con linfocitos y células plasmáticas; el iris y el cristalino se unen mediante una fuerte membrana inflamatoria. La coroides y la retina muestran moderada inflamación con presencia de mononucleares principalmente alrededor de los vasos y en la membrana limitante interna de la retina(77). Puede encontrarse, también, una intensa eosinofilia y proliferación de fibroblastos predominando en los tejidos(71). En casos raros, la inflamación involucra al ojo contralateral que no ha sido lesionado y comportándose, clínicamente, como una oftalmía simpática. Se supone que el segundo ojo desarrolla una reacción de hipersensibilidad a proteínas que han escapado de su cristalino "intacto", generalmente cataratoso. Como dato aparte, la uveítis facoantigénica y la oftalmía simpática pueden presentarse juntas en un ojo traumatizado.

Comprobación biológica: se han usado pruebas cutáneas con extractos crudos de cristalino(72) para predecir una uveítis posoperatoria de una catarata de larga evolución; o antes de la operación de un ojo, después que se ha efectuado extracción extracapsular de catarata del otro ojo. En general se han usado cristalinos heterólogos mediante métodos no comprobables entre sí, por lo que el análisis de resultados es inoperante. Podemos decir que los datos con que contamos son imprecisos y que falta hacer comprobaciones con pruebas cutáneas usando cantidades uniformes de las diferentes fracciones antigénicas del cristalino, especialmente alfa- cristalina.

En sujetos normales es raro encontrar anticuerpos anticristalino en el suero, pero algunos autores(78) los han detectado en el 49% de 185 casos, usando métodos muy sensibles. En un estudio de 64 extracciones de cataratas mediante técnica extracción extracapsular(79) se encontró que antes de la operación solo un paciente tenía anticuerpos anticristalino en el suero y en el posoperatorio lo tenían 13 pacientes de 28 que hicieron cuadros de uveítis después de la cirugía; esos anticuerpos permanecieron elevados por un tiempo prolongado, aun después de desaparecer el fenómeno inflamatorio. Se sabe que la presencia de material cristalino retenido en el ojo es esencial para que aparezcan anticuerpos los que, si se asocian a reacción inflamatoria clínicamente identificable, se encuentran a títulos elevados.

En el humor acuoso aparecen los mismos anticuerpos séricos, pero en forma más precoz y a niveles más altos por lo que se ha hablado(80) de la importancia de efectuar la determinación de inmunoglobulinas en el humor acuoso y en el suero de los pacientes sospechosos, para obtener el coeficiente acuoso/suero que

siempre se encontrará muy elevado en los enfermos que tienen una Uveitis Facoantigénica.

El tratamiento específico es la remoción quirúrgica de los restos de cristalino que se encuentren en el ojo. Sin embargo se han preparado extractos crudos de cristalino en dilución de 1:1000(58) para tratar de desensibilizar a los pacientes y se han reportado buenos resultados. Creemos que hace falta investigar más a ese respecto, usando como agente desensibilizante la alfa-cristalina pura.

El papel inmunosupresor de los corticoides se ha usado para disminuir la reacción inflamatoria en el posoperatorio o en pacientes que tienen contraindicación para la cirugía, obteniendo efecto benéfico. Vale la pena aclarar que el uso más o menos rutinario que se hace de los corticoides sistémicos, subconjuntivales o tópicos en casi todas las uveitis, probablemente enmascara muchos cuadros facoantigénicos. Eso, unido a la mejor atención que se ofrece a los pacientes con traumatismos oculares y a las técnicas más depuradas que se están usando para la extracción extracapsular de catarata, permite encontrar una incidencia muy baja en los diagnósticos de Uveitis Facoantigénica.

Los trabajos experimentales han mostrado que, si después de sensibilizar un animal mediante discisión del cristalino de un ojo, se le inyecta extracto de cristalino intracardiaco, se produce un shock anafiláctico fatal en el cual la formación de complejos Ag-Ac induce la liberación de importantes cantidades de histamina(72). De acuerdo con investigadores(81) que han cuantificado la histamina y la serotonina liberadas al inyectar extracto de cristalino autólogo, homólogo y heterólogo en conejos previamente sensibilizados con extractos de su propio cristalino, las mayores cantidades se encuentran después de inyectar extractos de cristalino autólogo.

La introducción de material cristaliniano, homólogo o heterólogo, o la liberación de antígenos autólogos mediante discisión del cristalino en cobayos NO SENSIBILIZADOS, produce una reacción clínica e histológica limitadas(72).

Se han sensibilizado conejos con alfa- cristalina de vacuno unida a coadyuvante de Freund(12) mediante inyecciones intramusculares repetidas, en ellos se obtuvieron pruebas cutáneas positivas a alfa- cristalina de conejo. La introducción posterior del antígeno en la cámara anterior de los mismos conejos, originó, siempre, una reacción clínica e histológica violentas; de esta forma se mostró la órgano-especificidad de la alfa- cristalina. El mismo grupo de investigadores produjo una reacción ocular idéntica haciendo transferencia pasiva de anticuerpos a conejos sanos e introduciendo dos horas después el antígeno dentro del ojo; así se mostró que en el desarrollo de la faco-antigenicidad, es esencial el papel que juegan los anticuerpos séricos.

A través de tres cuestionamientos, trataremos de resumir el estado actual del problema:

1.- ¿ Qué se ha encontrado?

- a) Que el cristalino tiene un poder antigénico débil.
- b) Que la reacción faco-antigénica es mediada por anticuerpos anti- alfa-cristalina demostrables en el humor acuoso y en el suero.

- c) La presencia de una "uveítis primaria" que se desarrolla, desde las 24 horas hasta el 7mo día, después de la lesión capsular.
- d) La presencia de una "uveítis secundaria", explosiva e inmediata, cuando un animal sensibilizado se expone a la presencia de alfa- cristalina intraocular (Fenómeno de Arthus)
- e) Que el animal que más se presta, a este tipo de experimentación, es el cobayo por mostrar reacciones más acentuadas.
- f) Que en los animales, la uveítis no muestra tendencia a la cronicidad, como sucede en los humanos.

2.-Según nuestro criterio ¿qué errores encontramos?

- a) No se han uniformizado los métodos experimentales, de manera que los resultados reportados por diferentes autores no se pueden comparar.
- b) Las correlaciones clínico- patológicas no analizan suficientes datos que Expliquen mejor la fisiopatología de la entidad.
- c) No se ha tratado de demostrar la validez de las pruebas cutáneas ni de las determinaciones de inmuno- globulinas.

3.- ¿Qué falta por hacer antes de proseguir?

- a) purificar más las diferentes fracciones proteicas del cristalino y demostrar su poder antigénico.
- b) Cuantificar los anticuerpos séricos y de humor acuoso, antes y después de la reacción experimental.
- c) Normar criterios de preparación y validez de las reacciones y pruebas cutáneas usando fracciones purificadas, especialmente de alfa- cristalina humana.
- d) Investigar más sobre las cualidades antigénicas de las glicoproteínas y los polisacáridos de la cápsula del cristalino.
- e) Hacer estudios experimentales acerca de la sensibilidad cruzada con órganos extraoculares.
- f) Aclarar cuáles son las inmunoglobulinas directamente comprometidas en la uveítis facoantigénica.
- g) Intensificar los trabajos experimentales con fracciones de CRISTALINO HUMANO y hacer hincapié en la investigación clínica encaminada a encontrar nuevas alternativas de diagnóstico y tratamiento.

## OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Ya establecido el problema, tal y como se ha planteado, con sus antecedentes históricos y la identificación de la enfermedad según el enfoque oftalmológico actual y quedando enterados de los caminos que sigue la investigación bioquímica y de laboratorio de la facoantigenicidad hoy día, pensamos iniciar el trabajo desde el principio; esto quiere decir que debíamos, en primer lugar, separar las diferentes fracciones proteicas que conforman el cristalino y con ellas, hacer toda la investigación. El punto de partida fue trabajar con cristalinos humanos y así se hizo. A partir de ahí tomamos como metas los siguientes objetivos:

- 1.- Separación, purificación y caracterización de las fracciones proteicas del cristalino humano.
- 2.- Sensibilización de animales (cobayos) usando como antígeno la alfa-cristalina humana pura.
- 3.- Demostración de anticuerpos antialfa cristalina- humana en el suero de los cobayos e identificación de las inmunoglobulinas participantes en el proceso.
- 4.- Producción clínica de Uveitis Facoantigénica en los cobayos sensibilizados.
- 5.- Demostración histopatológica de esa Uveitis Facoantigénica.

Para tener una idea de lo que ha significado llevar a cabo los pasos citados, debemos mencionar lo siguiente:

La recopilación de datos, tabulación de la información y la estructura del protocolo del trabajo nos llevó seis meses. En la obtención de cristalinos humanos, separación, purificación y purificación de sus fracciones tardamos un año, con lo que terminó la primera parte de esta tesis. La sensibilización de los cobayos tardó cinco meses, hasta obtener títulos altos de anticuerpos. Desde la demostración de anticuerpos, pasando por la producción clínica de la enfermedad, hasta su comprobación histopatológica, transcurrieron seis meses más. En tiempo representó, prácticamente, toda la residencia del Dr. Vladimir Carazo Serrano y los dos últimos del Dr. Noé Ortiz Solorio y aún así el tiempo fue insuficiente, dada la estructura inicial del protocolo y quedan establecidos, los planes para el futuro inmediato que continuará el mismo departamento de oftalmología médica.

## MATERIALES Y METODOS

### Primera parte:

A 70 ojos humanos, enucleados de cadáveres de personas jóvenes, recién fallecidas, sin cataratas ni otro tipo de padecimiento ocular y preservados de acuerdo a la técnica del Banco de ojos, se les extrajo el cristalino empleando procedimientos asépticos. Estos cristalinós se limpiaron de todo resto de iris o vítreo y se decapsularon; mediante las técnicas establecidas se separaron las fracciones proteicas soluble de la insoluble y la primera se fraccionó en sus diferentes componentes usando cromatografía. Las fracciones proteicas se purificaron y caracterizaron; se aplicaron métodos de electroforesis que fueron cuidadosamente comparados con reportes de otros autores(67).

### Segunda parte:

Tomamos 10 cobayos hembras, procedentes de generaciones seleccionadas para uso de laboratorio, con edad similar, su peso comparable y estable y que, desde el punto de vista inmunológico, fuesen vírgenes. A cada uno se le inoculó con 10 ug de polvo identificado como alfa- cristalina y en seis ocasiones consecutivas. Para inyectar el polvo de proteína hubo de prepararse disuelto en una mezcla formada por solución isotónica de cloruro de sodio, absolutamente estéril y adyuvante completo de Freund, a partes iguales; de esa solución se aplicó 0.8 ml. A cada cobayo por vez y con el siguiente esquema:

1ª. Inyección: 0.2 ml en cada cojinete plantar anterior y  
0.2 ml en cada flanco posterior.

2ª. Inyección: 0.2 ml. En cada cojinete plantar posterior y  
0.2 ml en cada flanco posterior.

Inyecciones subsecuentes: 0.2 ml. En cuatro partes diferentes de sus flancos. Todas las inyecciones hechas en los flancos se aplicaron por vía intradérmica. Las inoculaciones se hicieron a intervalos de 2 semanas justas( 82 y 83).

### Tercera parte:

A partir de la cuarta inoculación, a semanas alternas con las inoculaciones, se hicieron sangrías a todos los cobayos mediante punción cardiaca, también a intervalos de 2 semanas justas y en 3 ocasiones consecutivas.

Los sueros obtenidos de la primera sangría se pusieron a reaccionar con alfa- cristalina humana en tubos capilares ( prueba del anillo).

Aquellos sueros obtenidos de la segunda y tercera sangrías se sometieron a pruebas de inmunodifusión en gel de agar, en placas de Petri especialmente preparadas para reaccionar con alfa- cristalina humana.

El siguiente esquema resume lo que se hizo en las secciones 2ª y 3ª.

Semana inicial-----	1ª. Inoculación.
Segunda semana-----	2ª. Inoculación.
Cuarta semana -----	3ª. Inoculación.
Sexta semana-----	4ª. Inoculación.
Séptima semana -----	1ª. Sangría.
Octava semana-----	5ª. Inoculación.
Novena semana-----	2ª. Sangría.
Décima semana-----	6ª. Inoculación.
Onceava semana-----	3ª. Sangría.

En el suero de cobayo numerado con el 10 se determinaron inmunoglobulinas.

Cuarta parte: Después de la última sangría dejamos transcurrir un tiempo de reposo determinado en 19 días, al final del cual y mediante procedimientos asépticos y técnica de microcirugía, se hizo la discisión de la cápsula del cristalino del ojo izquierdo de a cada uno de los tres cobayos sobrevivientes de la última sangría y que correspondieron a los números 2, 7 y 10; el ojo derecho se dejó indemne y como control. Dichos cobayos se mantuvieron en control clínico diario y posteriormente se sacrificaron con los siguientes intervalos en días:

- 1er. Día-----Discisión.
- 9º. Día-----Sacrificio del cobayo 2.
- 16º. Día ----- Sacrificio del cobayo 7.
- 23º. Día -----Sacrificio del cobayo 10.

Quinta parte:

A los cobayos sacrificados se les enuclearon ambos ojos y se fijaron en formol, se incluyeron en parafina y los cortes se tiñeron con Hematoxilina – Eosina. El estudio histopatológico se hizo en todos los globos oculares ( izquierdos y derechos), es decir los intervenidos y los indemnes.

## RESULTADOS

### Primera parte:

Se efectuó la cromatografía del extracto crudo de las proteínas cristalinas solubles y la primera fracción que pasó a través de la columna de Sephadex, se identificó como alfa- cristalina en base a su peso molecular ( primer pico de la gráfica de cromatografía). Esta fracción se purificó mediante precipitaciones etanólicas(13) y nuevamente se sometió a cromatografía; la proteína así obtenida, se liofilizó y el polvo obtenido con este procedimiento fue dividido en tres fracciones que se denominaron: Fracción I alfa-crist. pp EtOH-G-100 I ; Fracción I alfa-crist. pp EtOH-G-100 II ; Fracción I alfa- crist. pp EtOH-G-100 III.

La determinación de proteínas, dio como resultado, una concentración de 885 ug de proteína /Mg de liofilizado.

### Segunda parte:

Desde las 24 a 48 horas posteriores a la primera inoculación, todos los cobayos empezaron a manifestar una importante reacción inflamatoria en los sitios de la inyección: los cojinetes plantares, los dedos y las regiones interdigitales aparecieron cianóticas, edematosas y con tendencia a formar costras superficiales y necrosis profunda; en los flancos se hizo manifiesta la necrosis y caída del pelo. Sin embargo, conforme pasaron las semanas y se hicieron inoculaciones sucesivas, ese proceso inflamatorio, no supurativo, fue desapareciendo sin dejar cicatriz ni deformidad. El peso de los cobayos no varió significativamente.

### Tercera parte:

Después de la cuarta inoculación, creímos conveniente iniciar las sangrías. De la primera obtuvimos sueros que se pusieron a reaccionar en tubos capilares con la alfa- cristalina humana; se encontraron anillos de precipitación en los tubos que contenían los sueros de los cobayos numerados 10, 7, 9 y 5, en ese orden de importancia ( el cobayo no. 9 falleció a consecuencia de esa primera sangría); hubo discreta precipitación en los tubos que contenían los sueros de los cobayos 1, 2, 3, 4 y 6 y ninguna precipitación con el suero del cobayo No. 8. De los resultados de esta primera sangría no se tomaron fotografías ya que los anillos de precipitación fueron muy tenues para poder ser registrados satisfactoriamente.

Los sueros de la segunda y tercera sangrías, sometidos a difusión en gel de agar dieron francas bandas de precipitación y correspondieron las más anchas al suero del cobayo No. 10( que fue el que mostró mayor actividad en la prueba del anillo después de la primera sangría). Por lo anterior, una muestra de dicho suero se procesó en el laboratorio del Servicio de Inmunología del Hospital General del Centro Médico Nacional, usando las laminillas para el efecto con anti IgA, IgM e IgG humanas. Para nuestra sorpresa, el suero no mostró precipitación en las anti IgA ni IgM pero sí y francamente con anti IgG y en la misma laminilla se mostró la reacción de varias alícuotas del suero del cobayo No. 10 y del suero de un paciente con niveles altos de IgG debidos a otro tipo de patología.

### Cuarta parte:

Después de la discisión quirúrgica de la cápsula del cristalino en los ojos izquierdos de los cobayos 2, 7 y 10, se observó en los tres, la aparición de una reacción inflamatoria aguda desde las primeras horas del post operatorio y con tendencia a hacerse más aparente conforme pasó el tiempo y hasta el día de su sacrificio. Es importante recalcar que en los cuadros inflamatorios observados, no se detectaron cuadros sépticos agregados ni concomitantes a nivel extraocular. Clínicamente no se detecto proceso bacteriano en los ojos intervenidos y los ojos tomados como control no mostraron signos de inflamación. Vale la pena mencionar que posterior a la intervención quirúrgica, se hizo evidente una pérdida de peso en los tres cobayos.

#### Quinta parte:

El estudio histopatológico de los tres pares de ojos enucleados mostró los siguientes hallazgos:

#### Cobayo No. 2:

Ojo derecho: (control) " las secciones muestran un corte de globo ocular de cobayo que tiene características normales".

Ojo izquierdo: al examen macroscópico " se recibe un globo ocular de cobayo que mide 12 mm en sentido antero-posterior y 10 mm en sentido transversal. La córnea se ve opaca y engrosada. El vítreo turbio y lechoso, se confunde con la cara posterior del cristalino. El examen microscópico " muestra un globo ocular de cobayo. La córnea se ve engrosada y repleta de polimorfonucleares, estos separan en su cara posterior la membrana de Descemet formando abscesos localizados en donde se puede encontrar, además de los polimorfonucleares, células gigantes y secreción eosinófila. El proceso inflamatorio se extiende hacia el limbo, destruye en uno de sus lados, el cuerpo ciliar y el iris, infiltra el vítreo y rodea masa cristaliniánas. Al parecer, el proceso inflamatorio comienza por el sitio de la entrada del cuchillete. En el lado opuesto se observa el cuerpo ciliar y el iris, los que presentan reacción inflamatoria subaguda con polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas. El cristalino se pierde parcialmente pero permite ver una cápsula rota, un epitelio que se ha transformado en tejido conjuntivo con fibroblastos y abundantes polimorfonucleares que rodean las masas cristaliniánas. Aquí podemos ver, también, algunos histiocitos. La retina se conserva intacta, pero por debajo de ella, separándola de la coroides, se ve muy celular sobre todo del ecuador hacia delante, infiltrada principalmente por linfocitos y células plasmáticas. En las preparaciones estudiadas no aparece nervio óptico. Nota: Se trata indudablemente de un proceso agudo, una endoftalmía secundaria a la herida penetrante. No hay reacción faeoanafiláctica. Diagnóstico: Córnea: absceso; inflamación : Endoftalmía exógena purulenta ( por herida penetrante).

#### Cobayo No. 7:

Ojo derecho (control): "Las secciones muestran un globo ocular de cobayo que tiene características normales".

Ojo izquierdo: " Las secciones muestran un globo ocular de cobayo. El cristalino se pierde en gran parte delante de la preparación, pero conserva su cápsula intacta. No hay reacción inflamatoria alrededor del cristalino ni de las masas cristaliniánas. En lo que correspondería a la base del vítreo y en uno de los lados, se observan tenues bandas fibrinosas y sin reacción inflamatoria. El

desprendimiento de retina es artificial. NOTA : “ no parece haber sido incidida la cápsula del cristalino ni existe reacción inflamatoria alguna”.

Cobayo No. 10:

Ojo derecho (control): “Las secciones muestran un ojo de cobayo que tiene características normales”.

Ojo izquierdo: “Las secciones muestran un globo ocular de cobayo. Existe intensa reacción inflamatoria rodeando las masas cristalínicas y cápsula rota. El proceso está constituido por linfocitos, células plasmáticas, abundantes eosinófilos, algunos histiocitos, escasos polimorfonucleares y dudosas células epitelioides. El proceso inflamatorio, está dentro de la cápsula cristalínica y rodea las masas de cristalino; pueden verse algunas células abortivas. El epitelio sub- capsular muestra hiperplasia, transformándose en tejido conjuntivo fibroso. La cápsula gruesa y tortuosa se ve rodeada por detrás por tejido conjuntivo que le une a los procesos ciliares. Hacia delante también el cristalino se une a la cara posterior del iris; tanto el cuerpo ciliar como el iris muestran igualmente reacción inflamatoria del mismo tipo observado en el cristalino. Las masas cristalínicas aparecen traccionadas hacia un lado, mismo en donde la membrana de Descemet se ve rota y el iris se adhiere a la cara posterior de la córnea. Aquí la unión esclero-corneal muestra reacción inflamatoria crónica. El resto de la córnea no tiene alteraciones. El ángulo de la cámara en el lado opuesto solo muestra una que otra célula redonda. La coroides moderadamente celular, con discreta reacción inflamatoria crónica. El vítreo por detrás del cristalino tiene formaciones fibrinosas y abundantes histiocitos, algunos llevando material eosinófilo. La retina no muestra alteraciones. El nervio óptico es normal. NOTA: se trata de una reacción de tipo granulomatosa en un cristalino que ha sufrido un traumatismo”.

## DISCUSIÓN

Con fines principalmente analíticos, dividimos la discusión en tres aspectos: bioquímico, biológico e histopatológico.

### Discusión bioquímica:

Creemos que un hecho de cardinal importancia, es el haber podido adaptar el método usado para la separación, purificación y caracterización de las proteínas del cristalino en animales, al trabajo con cristalinos humanos. Esto nos ha permitido comprobar la aseveración de que no existen grandes variaciones en cuanto a constituyentes proteicos en cristalinos de las diferentes especies de vertebrados, aun cuando estén filogenéticamente distantes. También es importante recalcar que, comparando nuestros resultados con los que reporta Spector(67, 85 y 86) en sus investigaciones con alfa- cristalina de nueva síntesis y con el análisis de cristalinos cataratosos, encontramos similitudes que no dejan lugar a dudas sobre la consistencia de nuestros hallazgos.

La separación de alfa- cristalina mediante cromatografía, su purificación y caracterización mediante electroforesis, nos permitió trabajar con un extracto puro de la sustancia inmunoactiva del cristalino humano y nos coloca en disposición de intercambiar resultados, métodos y materiales con los grupos de trabajo que investigan la facoantigenicidad en diversas partes del mundo. Además, creemos que el haber obtenido la proteína pura es el primer paso para lograr elaborar preparados que cumplan los requisitos farmacológicos con los cuales poder intentar un proceso de desensibilización en pacientes.

Otro punto importante es que se pudo efectuar todo el trabajo con los mínimos medios y empezando por crear la infraestructura necesaria, ya que no se disponía de ella. Fue posible gracias a nuestro convencimiento de que la investigación era factible aunque tuviéramos que empezar por enseñar a las diferentes personas, desde los fundamentos del problema, hasta los logros más recientes; con la motivación suficiente, podemos asegurar que investigaciones de este tipo se pueden hacer en cualquiera de nuestros países, sin tener gastos exagerados.

Debemos tener presente que el estudio de la facoantigenicidad ha pasado por un largo camino en el cual se trató de comprobar la reacción usando cristalinos de animales, enteros y fraccionados. La obtención de proteínas cristalinas puras y de origen humano, permite que la investigación se dirija hacia cada una de las fracciones, obteniendo resultados más reales y específicos.

### Discusión biológica:

Como se ha citado, en un principio se creyó que la uveítis secundaria a la salida de material cristalino hacia el humor acuoso, el vítreo o ambos, se debía a un efecto tóxico de las proteínas "per se", que aumentaban si provenían de un cristalino cataratoso y cuando ello no se pudo demostrar, se pensó que la inflamación era secundaria a un fenómeno inmune local, de tipo anafiláctico y con gran componente tisular.

Los estudios posteriores han mostrado que la reacción facoantigénica es un proceso generalizado, de inmunidad humoral mediada por IgG, que se manifiesta en forma local porque es precisamente en el ojo donde se está liberando el antígeno. Esto ha sido demostrado nuevamente por nosotros al

lograr comprobar niveles elevados exclusivamente de IgG en el suero de los cobayos sensibilizados con alfa- cristalina humana.

En el estudio experimental, ha constituido un paso importante, el sensibilizar los animales por vía general y no local en el ojo como lo hicieron algunos investigadores, ya que esto produce muchas fuentes de error, empezando con el hecho mismo de penetrar a la cámara anterior, lo que puede originar respuestas a cuerpo extraño que den resultados engañosos.

Pensamos que en los pacientes se pueden hacer determinaciones de IgG en suero y simultáneamente en acuoso cuando el paciente se va a operar, lo que permitirá comprobar la validez de la relación acuoso/suero que ha sido señalada por otros investigadores(80) como dato pronóstico en la evolución de los pacientes.

En el estudio experimental, el adyuvante completo de Freund, permite usar las diferentes fracciones de proteína en forma aislada ya que de otra manera, tendríamos que usar el extracto crudo de cristalino, lo que da factores de error.

Debemos aceptar que aún no hemos investigado la antigenicidad de beta y gama cristalinas ni del albuminoide y no hemos efectuado controles usando en forma separada el adyuvante de Freund y la alfa- cristalina.

Desde el punto de vista clínico, nos faltó hacer estudios con lámpara de hendedura y tomar registros fotográficos que nos permitieran cuantificar en forma objetiva, la reacción clínica.

#### Discusión histopatológica:

El ojo del cobayo no es comparable con el ojo humano, principalmente por su menor tamaño y las dimensiones desproporcionadas que tiene el cristalino, por lo que no es el órgano ideal para mostrar la reacción facoantigénica experimental. Sin embargo, lo usamos de manera incidental, ya que pensamos que estando sensibilizados los animales y teniendo que sacrificarlos, era una ganancia tratar de evidenciar, en ellos, la uveítis.

De esa forma, por una casualidad, logramos ver algunos hechos importantes:

a). Que de forma indudable se desencadena, el fenómeno antigénico, alrededor de la alfa- cristalina humana.

b). Que dicha proteína es órgano- específica, ya que los cobayos sensibilizados con proteína humana, reaccionaron contra la propia.

c). Que la respuesta histológica es característica y selectiva contra las proteínas del cristalino y no solamente una reacción a cuerpo extraño, ya que en un cobayo se hizo la punción con aguja y por casualidad no se tocó el cristalino y el ojo no mostró alteraciones.

Creemos que esta parte del trabajo cerró de manera significativa, la demostración biológica e histopatológica de la producción experimental de uveítis facoantigénica, usando como antígeno la alfa- cristalina purificada humana.

Omitimos involuntariamente efectuar biopsia de las patas y los flancos de los cobayos sensibilizados para identificar el tipo de inflamación que presentaron en los sitios de entrada del complejo antígeno- adyuvante de Freund.

## CONCLUSIONES

Y

## PLANES DE INVESTIGACIÓN FUTURA.

Con la información obtenida a partir de los trabajos de diferentes autores que han investigado acerca del potencial inmune del cristalino y tomando en cuenta los hechos confirmados por nosotros, podemos concluir que el cristalino humano está formado por diferentes fracciones proteicas distinguibles mediante cromatografía, purificables en el laboratorio y caracterizables mediante electroforesis; que de ellas, la alfa- cristalina, tiene franca actividad antigénica de tipo órgano- específica y que, probablemente, es un factor importante en la producción de las uveitis originadas por inmunidad hacia el cristalino.

Es posible asegurar que experimentalmente, la uveitis facoantigénica se puede reproducir con bastante fidelidad y que está mediada por inmunoglobulinas del tipo de la IgG y que se pueden cuantificar en el suero de los sensibilizados.

Ahora bien, ¿ cómo pensamos continuar esta investigación, de manera que tenga una aplicación clínica práctica?

Tenemos protocolizados varios estudios cuya ejecución ya ha comenzado:

1.- Usando monos, como especie animal más cercana al hombre, se les tratará de inmunizar con alfa, beta y gama cristalinas por separado y juntas en cantidades equilibradas; con ello queremos comprobar el poder antigénico de beta y gama en relación a la alfa y deseamos ver si, experimentalmente, aparece inhibición inmune, al aplicarse juntas.

2.- En los monos ya sensibilizados, trataremos de detectar niveles de anticuerpos en suero y humor acuoso y queremos ver, si es posible, diseñar una intradermoreacción que de resultados confiables, usando la fracción proteica purificada que muestre mayor antigenicidad.

3.- Posteriormente dividiremos, el total de animales, en dos grupos tomados al azar; a uno de ellos se le tratará de desensibilizar usando patrones ya establecidos y el otro grupo permanecerá sensibilizado. Efectuada la desensibilización del primer grupo, se efectuará disción de la cápsula del cristalino de un ojo en todos los monos, observando si aparece, la reacción inflamatoria uveal, tomando registros fotográficos de su evolución clínica y efectuando después, el estudio histopatológico de los ojos de manera similar a como se hizo con los cobayos en la primera parte del experimento.

Con lo anterior trataremos de verificar si la reacción inflamatoria se presenta con las mismas características en especies animales cercanas al hombre, si es posible detectarla mediante intradermoreacción específica y si es factible desensibilizar al animal que muestre niveles altos de anticuerpos específicos.

La segunda parte es la comprobación clínica de la utilidad de nuestras conclusiones y para llevarla a cabo ya hemos empezado a formar grupos de personas con las siguientes características:

1- Sanos que actuarán como grupo control.

2- Pacientes con catarata senil sin uveitis concomitante.

3- Enfermos con uveitis que clínicamente corresponde a la de tipo facoantigénico.

4- Pacientes con catarata congénita a quienes se haya efectuado discisión y aspiración de la catarata de un ojo.

5- Pacientes que muestren uveitis y catarata en los que no aparece claramente el elemento inmunológico.

6- Pacientes con glaucoma facolítico.

A algunos pacientes de estos grupos se les han tomado muestras de suero y de humor acuoso si se han intervenido quirúrgicamente. En estas muestras se determina la presencia de IgG y sometidos a reacción de inmunodifusión con alfa- cristalina humana a manera de Ag. De la misma manera se ha estado tratando de diseñar una intradermoreacción a la alfa-cristalina, sobretodo para comparar los resultados del análisis serológico y de la cutirreacción.

Como planes a mas largo plazo tenemos:

a). Intento de desensibilización en pacientes que por sus condiciones oculares y generales, estén propensos a desarrollar una uveitis antigénica.

b). La comprobación de antigenicidad cruzada entre los constituyentes del cristalino humano y elementos tisulares extraoculares.

## RESUMEN.

La presente TESIS DE POSTGRADO reporta el trabajo experimental efectuado durante dos y medio años acerca de UVEITIS FACOANTIGENICA.

La investigación estuvo constituida por los siguientes pasos:

1.- Separación, purificación y caracterización de las proteínas constituyentes del cristalino humano no cataratoso y con énfasis hacia la alfa cristalina humana.

2.- Sensibilización de cobayos usando como antígeno la alfa- cristalina humana purificada y unida a coadyuvante completo de Freund.

3.- Demostración de anticuerpos antialfa- cristalina en esos cobayos, mediante reacciones de inmunodifusión y determinación de inmunoglobulinas séricas específicas participantes en el proceso.

4.- Producción clínica de uveitis en los animales sensibilizados mediante la disección de la cápsula del cristalino en uno de sus ojos.

5.- Demostración histopatológica de la Uveitis Facoantigénica.

Creemos importante recalcar que todo el trabajo se hizo con cristalinos humanos sanos, usando equipo y técnicas sencillas.

Los resultados obtenidos se pueden resumir en la siguiente forma:

- a) Aplicando técnicas diseñadas para trabajar con material obtenido de animales y modificadas por nosotros, logramos separar, purificar y caracterizar las proteínas solubles del cristalino humano. Comparamos nuestros resultados respecto a la alfa-cristalina humana con los que reporta el Dr. Abraham Spector, usando material humano obtenido por nuestros medios y encontramos concordancia entre ambos.
- b) Se pudo efectuar la sensibilización de cobayos mediante inyecciones intradérmicas y obtuvimos niveles altos de anticuerpos específicos demostrables mediante reacciones de inmunodifusión. Se buscó en el suero de dichos cobayos IgA, IgM e IgG y solo se encontró la última en niveles altos. Es importante mencionar que estas pruebas se hicieron usando anti- inmunoglobulinas humanas y en los que respecta a la IgG, hubo reacción evidente contra la proteína del suero del cobayo.
- c) Clínicamente se obtuvo inflamación ocular aguda en los tres ojos lesionados en su cápsula y no se encontraron alteraciones en los ojos " control ". Sin embargo en el estudio histopatológico vimos que el primero de los tres estudios mostró una endoftalmitis purulenta, el segundo tenía el cristalino íntegro y no había inflamación a pesar de la introducción del instrumental en la cámara anterior y en el tercero fue evidente el cuadro de uveitis facoantigénica. Ninguno de los ojos control mostró alteraciones.

La investigación futura va encaminada hacia la obtención de anticuerpos en monos y usando las fracciones alfa, beta y gama cristalinas por separado y en aplicación simultánea. Determinación de IgG en el suero y en el humor

acuoso de dichos experimentales y la búsqueda-aplicación de una cutirreacción específica e intento de desensibilización en animales previamente sensibilizados.

Los trabajos posteriores se encaminarán a la aplicación clínica de los resultados obtenidos, en el diagnóstico y tratamiento de pacientes humanos

## ENGLISH SUMMARY

## SUMMARY.

This POSTGRADUATE THESIS reports the experimental work on PHACOANTIGENIC UVEITIS, that took place during the last two and a half years.

The investigation was constituted by the following steps:

1.- Separation, purification and characterization of the proteins which constitutes the human non cataractous lens. Emphasizing the human alpha-crystalline

2.- Sensitization of specimens using human alpha-crystalline bounded to a complete Freund's adjuvant as an antigen.

3.- Demonstration of anti- human alpha- crystalline antibodies in those specimens by means of immunodiffusion reactions and determination of specific seric immunoglobulins participating in the process.

4.- Clinical production of uveitis in sensitized animals, when dissecting the lens' capsule in one of its eyes.

5.- Histological demonstration of Phacoantigenic uveitis.

We believe it is important to stress that all the work was made with normal human lenses and using simple techniques and equipment.

The results can be summarized as follows:

- a) Applying techniques designed for working with material obtained from animals, modified by us, we were able to separate, purify and characterize the soluble proteins of the human lens. We compared our results relating to the human alpha- crystalline with those reported by Dr. Abraham Spector, using human material obtained by other means and we found that both agreed.
- b) It was possible to carry out sensitization of specimens through intradermic injections, obtaining high levels of specific antibodies demonstrable through reactions of immunodiffusion . IgA, IgM and IgG were observed in the serum of this specimens, finding, only, the last one in high levels. It is important to say that these tests were made using human anti- immunoglobulins and, in respect to IgG, there was an evident reaction against the protein of the specimen.
- c) Clinically, an important ocular inflammation was obtained in the three different specimens' eyes to which a discision in the capsule of the lens was made and no alterations was observed in the "control" eyes. Nevertheless, in the histological study, we saw that, the first one eye had a septic endophthalmitis , the second had an intact lens and there was not inflammation in spite of the needle introduction into the anterior chamber and in the third eye there existed a phacoantigenic uveitis. The eyes used as " control " did not show pathology.

The future investigation is heading towards the attainment of antibodies in monkeys, using alpha, beta and gamma crystalline, separately and jointly. Determination of IgG in serum and aqueous humor of those monkeys, design of a specific skin reaction and intent of desensitization in the animals. The posterior work will head towards the clinical application of the results obtained, in the diagnosis and treatment of human patients.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Duke-Elder, S. : System of ophthalmology. Vols. I, II, IX. London. Henry Kimpton. 1961.
- 2.- Schirmer, O. : Ueber benign postoperative cyklitis auf infectiöser basis. Acta IX int. Congr. ophthal., Utrecht, 1899, pp. 402 (citado por Woods, 1961).
- 3.- Straub, M. : A propos d'une inflammation de l'oeil provoquée par la résorption de matière cristalliniene dans les tissus lymphatiques de l'œil. Amsterdam, J. H. de Bussy, 1919.
- 4.- Elschmig, A. : Studien zur sympathischen ophthalmie. I. Warkung von antigenen Vom Augeninnen aus. Graefes Arch. Ophthal. 75: 459 – 473, 1910.
- 5.- Gifford, S. R. y Steinberg, A. A. : Allergic and toxic properties of lens protein. I. Immune reactions to lens protein. Trans. A. M. A. Sect. Ophthal. 76 : 82, 1925.
- 6.- Verhoeff, F. H. and LeMoine, A. N. : Endophthalmitis phacoanaphylactica. Amer. J. Ophthal. 5: 737 – 745, 1922.
- 7.- Uhlenhuth, P. : Zur lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweissartenmit Hilfe spezifischer Sera. Festchr. Geburtst. Von Robert Koch, Jena, 1903, pp. 49 – 74.
- 8.- Courtney, R. H. : Endophthalmitis with secondary glaucoma accompanying absorption of the crystalline lens. Trans. Amer. Ophthal. Soc. 40 : 355- 369, 1942.
- 9.- Möerner, C. T. : Untersuchungen der Proteinsubstanzen in den lichtbrechenden Medien des Auges. Z. Physical. Chem. 18 : 233, 1894. (citado por Woods, 1961).
- 10.- Hektoen, L. : Immune reactions of the lens. Amer. J. Ophthal. 6 : 276 – 279, 1923.
- 11.- Kida, H. : Experimental endophthalmitis phacoanaphilactica in rabbits sensitized with the purified bovine alpha- crystalline. Folia Ophthal. Jap. 12 : 304 – 311, 1961.
- 12.- Kida, H. : Experimental endophthalmitis phacoanaphilactica in rabbit sensitized with a small amount of the purified bovine alpha- crystalline. Folia Ophthal. Jap. 12: 511 – 514, 1961.
- 13.- Sánchez, V. M. : Carazo-Serrano, V. : Martínez, F. Y Salas, A. : Alfa Cristalina humana: caracterización de una proteína soluble del cristalino humano (en prensa).

14.- Dilley, K. J. : The proportion of protein from the normal and cataractous human lens which exists as high molecular weight aggregates in vitro. *Exp. Eye Res.* 20 : 73 – 78, 1975.

15.- Roy, D., Spector, A. : Absence of low molecular – weight alpha-crystalline in nuclear region of old human lenses. *Proc. Natl. Sci. USA* 73 : 3484 – 3487, 1976.

16.- Satoh, K. : Age – related changes in the structural proteins of human lens. *Exp. Eye Res.* 14 : 53 – 57, 1972.

17.- Spector, A., Freund, T., Li, Lu-Ku., Augesteyn, R. C. : Age – dependent changes in the structure of alpha crystalline. *Invest. Ophthalmol.* 10 : 677 – 686, 1971.

18.- Van Kamp, G. J., Hoenders, H. J. : The distribution of the soluble proteins in the calf lens. *Exp. Eye Res.* 17 : 417 – 426, 1973.

19.- Van Heyningen, R. : The human lens . III. Some observations on the postmortem lens. *Exp. Eye Res.* 13 : 155 – 160, 1972.

20.- Schoenmakers, J. G. J., Hoenders, H. J., Bloemendal, H. : Investigations on the polypeptide chains of alpha – crystalline. *Exp. Eye Res.* 7 : 172 – 181, 1968.

21.- Duke-Elder, S. : System of ophthalmology. Vol. I. London. Henry Kimpton. 1958 pp. 113 – 507.

22.- Storer, T. I. : and Usinger, R. L. : Zoología general. Barcelona. Ediciones Omega S.A., 1961. pp191-210.

23.- Halbert, S.P. and Mansky, W. : Organ specificity with special reference to the lens. *Progr. Allergy.* 7: 107-186, 1963.

24.- Langman, J. : Biological aspects of autoimmune reactions in the lens. *Invest. Ophthalmol.* 4.: 516- 530, 1965.

25.- Duke-Elder, S.: System of ophthalmology. Vol. III, 1. London, Henry Kimpton, 1963. pp. 127-135.

26.- Langman, J.: The appearance of specific antigens during development of the lens. In G.K. Smelser: The structure of the eye. New York, Academic Press, 1961. pp. 235-247.

27.- Langman, J. and Maisel, H. : Lens antibodies and eye development. *Invest. Ophthalmol.* 1: 396-405, 1962.

28.- Maisel, H and Langman, J. : An immunoembryological study on the chick lens. *J. Embryol. Exp. Morph.* 9:191-201, 1961.

29.- Eherlich, G., Halbert, S. P., Mansky, W.: Cytotoxicity of antitissue antibodies. II. Effects of antilens sera in tissue culture. *J. Immunol.* 89: 391-399, 1962.

- 30.- Maisel, H. and Goodman, M. : The ontogeny and specificity of human lens proteins. *Invest. Ophthalmol.* 4.: 129-137, 1965.
- 31.- Maisel, H and Goodman, M. : Comparative electrophoretic study of vertebrate lens proteins. *Amer. J. Ophthalmol.* 59: 697-704, 1965.
- 32.- Duke-Elder, S. : System of ophthalmology. Vol. II. London, Henry Kimpton, 1961, pp 311-324.
- 33.- Hogan, M. J., Alvarado, J. A. And Weddell, J. E. : Histology of the human eye. An atlas and textbook. Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1971, Chapter 12.
- 34.- Duke-Elder, S. : System of ophthalmology. Vol. IV. London, Henry Kimpton, 1968. pp 365-391.
- 35.- Graymore, C. N. : Biochemistry of the eye. London, Academic Press, 1970. pp. 183-371.
- 36.- Woods, A. C., and Burky, E. L. : Lens proteins and its fractions. Preparation, immunologic and chemical properties. *J. A. M. A.* 89: 102-110, 1927.
- 37.- Hesselvik, L. : An electrophoretical investigation on the proteins of the eye lens and the vitreous body. *Skandinav. Arch. Physiol.* 82: 151, 1939.
- 38.- Spector, A. : Fractionation of calf lens protein. *Biochem. Biophys. Acta.* 39 : 191, 1960.
- 39.- Spector, A. : The soluble proteins of the lens. *Invest. Ophthalmol.* 4: 579-591; 1965.
- 40.- Björk, I., : Comparative studies of alpha-crystalline from lenses of different mammalian species. *Exp. Eye Res.* 7: 129-133, 1968.
- 41.- Francois, J., and Rabaey, M. : Nouvelle technique de fractionnement des proteines de l'humeur aqueuse par la micro-électrophorese sur gélose. *Bull. Soc. Belge. Ophthal.* 114 : 593-604, 1956.
- 42.- Little, J., Ikeda, A., Zwann, J., and Langman, J. : The immunologic specificity of human lens protein. *Exp. Eye Res.* 4: 187-195, 1965.
- 43.- Mimura, Y., Yoshida, R., Uyama, K., Kida, H., and Izekawa, K. : Studies on soluble proteins of human cataractous lenses. *Folia Ophthal. Jap.* 11: 530, 1960.
- 44.- Mimura, Y., Yoshida, R., Uyama, K., Kida, H., and Izekawa, K. : Studies on allergic reaction due to lens substances . Report III. Studies on antigenicity of lens proteins. *Acta Soc. Ophthal. Jap.* . 64: 1578-1583, 1960.
- 45.- Mansky, W., Halbert, S. P., Keller, H. E. and Mendes, L. N. : Analysis of the number of antigenic determinant groups involved in the organ specific properties of the lens protein : a computer approach. En : J.W. Rohen : Die struktur des auges. II symposium. Stuttgart, Schattauer, edit., 1965. pp. 403-418.
- 46.- Maeda, K. : Experimental studies of endophthalmitis phacoanaphilactica. *Acta Soc. Ophthal. Jap.* 58: 756-761, 1954.
- 47.- Maisel, H. : The immunologic specificity of lens antigens. *Amer. J. Ophthalmol.* 55: 1208- 1216, 1963.
- 48.- Mizukawa, T., and Mimura, Y. : Studies on endophthalmitis phacoanaphilactica from the view of autoallergic diseases. *Folia Ophthal. Jap.* 13: 6-16, 1962.
- 49.- Maisel, H., and Harmison, C. : Immunoembryological study of chick iris. *J. Embryol. Exp. Morph.* 11 : 483-491, 1963.

50.- Clayton, R. M., Campbell, J. C., and Truman, D. E. S. : A re-examination of the organ specificity of the lens antigens. *Exp. Eye Res.* 7 : 11-29, 1968.

51.- Roberts, D. C. : Studies on the antigenic structure of the eye using the fluorescent antibody technique. *Brit. J. Ophthalmol.* 41: 338-347, 1957.

52.-Nozaky, M., Foster, L., and Sery, T. W. : Reactions of eye tissues to heterologous antiglomerular antibodies. *Arch. Ophthalmol.* 70 : 85-95, 1963.

53.- Zwaan, J. : Analyse immunochimique du cristallin au cours de son développement. Tesis universitaria, Amsterdam, 1963.

54.- Bloemendal, H., Bont, W. S., Jongkind, J. F., and Wisse, J. H. : Splitting and recombination of alpha-crystallin. *Exp. Eye Res.* 1: 300, 1962.

55.-Spector, A., Li, L. K., Meretsky, D., and Augusteyn, R. : What is alpha crystalline?. *Amer. J. Ophthalmol.* 71: 386-390, 1971.

56.-Francois, J., and Rabaey, M. : High tension gelose electrophoresis of the water soluble proteins of the lens. *Bull.Soc. Belge Ophthal.* 119 : 474-491, 1958.

57.- Van Dam, A. F. : Isolation and some properties of bovine alpha crystalline. *Biochem. Biophys. Acta.* 121 : 183-186, 1966.

58.-Cooper, S.N. : Immunological study of lens proteins. *J. All. India Ophthal.Soc.* 5: 23-50, 1957.

59Izumi, K. and Kano, M. : Immunochemical studies on the soluble protein of the lens ( homologous immunity). *Acta Soc. Ophthal. Jap.* 68: 1121-1125, 1964.

60.- Rao, S.S., Mehta, P. D., and Cooper, S. N. : Antigenic relationship between insoluble and soluble lens proteins. *Exp. Eye Res.* 4: 36-41, 1965.

61.- Dische, Z. : Glycoproteins of the lens. *Invest. Ophthalmol.* 4: 759-778, 1965.

62.- Dische, Z. : The Glycoproteins and glycolipoproteins of the bovine lens and their relation to albuminoid. *Invest. Ophthalmol.* 4 : 759- 778. 1965.

63.- Dische, Z., And Borendfreund, E. : Composition of the polysaccharide of the lens capsule and its topical distribution. *Amer. J. Ophthal.* 38 : 165-173, 1954.

64.-Fgrancois, J. and Rabaey, M. : The protein composition of the human lens. *Amer. J. Ophthal.* 44 : 347-357, 1957.

65.- Francois, J., Rabaey, M., Wieme, R. J., and Kaminsky, M. : Study of the antigens of the crystalline lens by immunochemical methods of protein fractionation. *Amer. J. Ophthal.* 42: 577-584, 1956.

66.- Pirie, A., and van Heyningen, R. V. : *Biochemistry of the eye.* Oxford, Blackwell Scientific publications. 1956, pp 115- 128.

67.- Duke-Elder, S. : *System of ophthalmology.* Vol. IX. Changes in the constitutes of the lens. London. Henry Kimpton. 1969. pp 63- 75.

68.- Van Kamp, G. J. : Precipitation and fragmentation of the alpha crystalline in bovines. *Exp. Eye Res.* 18: 543-554, 1973.

69.- Hogan, And Zimmerman, E. : *Ophthalmic Pathology ( an atlas and textbook).* Biochemistry of the normal and cataractous lens . W. B. Saunders Co. Philadelphia, London. 1962, pp. 661-665.

70.-Zwaan, J. : Lens specific antigens and cytodifferentiation in the developing lens. *J. Cell Physiol.* 72 : 47 ( suppl. 1) , 1968.

- 71.- Zwaan, J. : Immunochemical analysis of the eye lens during development. Thesis, University of Amsterdam, pp. 85-103. 1963.
- 72.-Abramoff, P., and La Via, M. F. : Biology of the immune response. McGraw-Hill, 1970.
- 73.- Duke-Elder. S. : System of ophthalmology. Vol. IX. London, Henry Kimpton. Reprint. 1971 pp. 500-511.
- 74.-Norman, T., Ken, F., and Haralampos, M. : Autoimmunity. Chp. 14. Basic and Clinical Immunology. Lange Medical Publications. Los Altos, California. 1976. pp. 151-159.
- 75.- Witmer, J. : Phacoantigenicity phenomenon induced by lens proteins. *Acta Ophthalmol.* 133: 326-334. 1957.
- 76.- Flocks, M., Littwin, C. S., and Zimmerman, L. E.: Phacolytic Glaucoma; a clinicopathologic study of one hundred thirty eight cases of glaucoma associated with hypermature cataract. *A.M.A. Arch. Ophthal.* 54: 37-45. 1955.
- 77.-Woods, A. C. Allergy and its relations to sympathetic ophthalmia. *New York J. Med.* 36: 67-85. 1936.
- 78.-Irvin, S. R., and Irvine, A. R. Jr. : Lens-induced uveitis and glaucoma. Part I. Endophthalmitis phaco-anaphylactica. *Amer. J. Ophthal.* 35: 177- 186, 1952.
- 79.- Irvine, S. R., and Irvine, A. R. Jr. : Lens-induced uveitis and glaucoma. Part II. The "Phacotoxic" reactions. *Amer. J. Ophthal.* 35: 370- 375, 1952.
- 80.- Irvine, S. R., and Irvine, A. R. Jr. : Lens-induced uveitis and glaucoma. Part III. "Phacogenetic glaucoma" ; Lens induced glaucoma; Mature or hypermature cataract; Open iridocorneal angle. *Amer. J. Ophthalmol.* 35: 489-499, 1952.