

# RETINITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL

Dr. Hugo N. Champredonde<sup>(1)</sup>

## RESUMEN

1. - *Se logra la producción de RAE mediante la aplicación de la técnica apropiada.*
2. - *Se estudian los aspectos histopatológicos consecuentes al proceso que desencadena la administración de una emulsión de retina de bovino con adyuvante de Freund completo*
3. - *La administración del material inmunógeno (retina eteróloga más adyuvante de Freund completo) repetida, origina una retinitis demostrable histológica y clínicamente; esta última por la hiperreflexia palpebral, buftalmía, exoftalmía y congestión de los capilares de la retina.*

## SUMMARY

### EXPERIMENTAL AUTOINMUNE RETINITIS

- 1 - *It was obtained the production of EAR by means of adequate method.*
- 2 - *After the process was desencadenated by the administration of bovine retina emulsified in Freund's adjuvant, the histopathological features were studied.*
- 3 - *Repeated administration of immunogenic material, originate a retinitis which could be histological and clinically demonstrated; the last, manifested by palpebral hyperreflexas, buphthalmia and congestion of the retina capillary blood-vessels.*

(1) Jefe de Trabajos Prácticos "Part-time". Cátedra Patología General Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, República Argentina.

## INTRODUCCION

### *Procesos Inmunológicos Normales:*

Se entiende por proceso inmunológico normal a aquel que desarrolla un organismo, cuando se introduce en forma paraentérica una sustancia capaz de hacer desencadenar una respuesta inmune. La respuesta inmunitaria inducida por un antígeno (Ag), puede producirse de dos maneras:

A.— *Cuando el organismo “desconoce” al Ag:* En este caso, la respuesta se caracteriza por la aparición de unas proteínas sanguíneas, los anticuerpos (Ac) y/o células sensibilizadas (de comportamiento particular), que reaccionarán contra el Ag. En general, los Ac y dichas células tienden a facilitar la desaparición del Ag.

B.— *Cuando el organismo “reconoce” al Ag:* Esta circunstancia se da siempre y cuando permanezca el Ag en el interior del organismo. Se caracteriza por la ausencia de producción de Ac y/o células sensibilizadas que reaccionen con el Ag, que es considerado por el organismo, como una sustancia “propia”. Este tipo de respuesta se denomina “fenómeno de tolerancia inmunológica”. La tolerancia inmunológica es una propiedad del sistema inmunocompetente, donde no se sabe si se debe a que todas sus células o sólo un grupo de ellas dejan de ejecutar la respuesta inmune clásica.

La decisión del organismo de reaccionar frente a un Ag “reconocido” está influenciada por múltiples factores propios de él (edad, salud, ciertos tipos de enfermedades, etc.), del Ag (características físico-químicas, vías y formas de su introducción, etc.) y de ambos (gran similitud química entre las sustancias del organismo huésped y el Ag).

### *Procesos Autoinmunes:*

Se entiende por fenómeno autoinmune a aquel que se produce como

consecuencia del “desconocimiento” por parte del organismo, de ciertos componentes propios, originándose lo que se conoce como sustancias que van a actuar “auto-antigénicamente” (auto-Ag).

Las condiciones que transforman a los componentes propios del organismo en auto-Ags, resultan de:

- a) Ruptura de la tolerancia inmunológica, ya sea por modificaciones estructurales o topográficas en los componentes propios; ó
- b) Por alteración en el sistema inmunocompetente.

En ambos casos, las células inmunocompetentes reconocen a los componentes propios como extraños y reaccionan contra ellos en igual forma que si lo “desconociesen”, produciendo auto-Acs y/o células auto-sensibles.

Lo importante es que el equilibrio inmunológico normal, representado por la tolerancia del sistema inmunocompetente a las sustancias o determinantes propios, se pierde y este trastorno del equilibrio representa una situación patológica.

Normalmente existen distintos componentes propios con los cuales las células inmunocompetentes nunca tienen contacto en condiciones normales. Entre ellos pueden mencionarse: la mielina, los espermatozoides, la tiroglobulina, la retina, etc., determinando el contacto de éstas con aquellas células, procesos patológicos que ocasionarán alteraciones histológicas y anatómicas importantes, dando origen así, a signos y síntomas clínicos de una enfermedad autoinmune.

Durante los últimos diez años, diferentes grupos de investigadores, han realizado valiosos aportes sobre problemas relacionados con los fenómenos autoinmunes. Así, han sido estudiados intensa y profundamente los

distintos aspectos relacionados con las EncefalomiELITIS, Tiroiditis, Nefropatías, Orquitis, etc., Autoinmunes, siendo los fenómenos oculares, entre otros, los actualmente estudiados.

Las primeras investigaciones inmunológicas, tendientes a esclarecer el mecanismo de producción de la enfermedad autoinmune, fueron seriamente obstaculizadas por la carencia de información relacionada con la exacta naturaleza química de los constituyentes antigénicos propios. Particularmente relacionados con las retinitis autoinmunes, sólo recientemente, se dieron a conocer dos Ags retinianos, el P y el S.

Experiencias publicadas en los últimos meses del año 1971(6), confirman la presencia en retina, de estos dos Ags y dejan esclarecidas sus di-

ferencias desde el punto de vista inmunológico. El Ag P (particulado) hace producir mayor cantidad de Acs séricos. El Ag S (soluble), origina una mayor respuesta de hipersensibilidad retardada en relación al Ag P.— Por otra parte, el Ag. S demuestra ser inmunogénico hasta en animales carentes de evidencias de Ac humorales, reaccionando frente a los test cutáneos de hipersensibilidad retardada en forma notoria, aún administrándose en muy pequeñas dosis inmunógenas.

El presente trabajo tiene como objetivos, aplicar las técnicas necesarias para producir una Retinitis Autoinmune Experimental, observar los aspectos generales histopatológicos consecuentes al proceso y las correlaciones clínicas con otros fenómenos autoinmunes.

## MATERIALES Y METODOS

### a) *Animales de experimentación:*

Fueron utilizados diez cobayos hembras, cuyos pesos oscilaban entre los 250 y 450 gramos. La alimentación consistió en alfalfa fresca y concentrados balanceados.

### b) *Preparación del material antigénico:*

- 1.— Un gramo de retina de bovino.
- 2.— 5 cc. de solución salina estéril al 0,91 gramos por ciento.
- 3.— 5 cc. de Adyuvante de Freund Completo (Difco).

Una vez lograda la suspensión en un homogeinizador VIR - TIS de la retina en la solución salina, se añadió el adyuvante en proporción de 1:1.

### c) *Inoculación de la mezcla antigénica:*

La suspensión así lograda, fue inyectada intraepidérmicamente en la almohadilla plantar de las dos patas traseras, en cantidad de 0,1 cc. por pata a 8 cobayos. Los animales testigos (dos), recibieron en idéntica forma y cantidad únicamente el adyuvante de Freund completo en salina 1:1.

A los 35 días fue repetida la administración de la mezcla antigénica, en forma intramúscular, en cantidad de 0,4 cc. en cada muslo. A los testigos se les administró en igual cantidad, únicamente el adyuvante completo en salina 1:1 por la misma vía.

A la séptima semana del primer inóculo, se aplicó nuevamente 0,5 cc. del material antigénico, en forma subcutánea. A los dos animales testigos, igual cantidad y en la misma forma, pero adyuvante completo en salina 1:1 solamente.

d) *Observaciones diarias:*

La observación diaria directa, como la efectuada mediante el empleo de un oftalmoscopio, permitió advertir una serie de modificaciones del ojo de los animales en experimentación, como puede observarse en el Cuadro 1. Es de hacer notar que, el animal identificado como N° 1, murió accidentalmente a los 15 días de iniciada la experiencia.

e) *Test cutáneo de Hipersensibilidad retardada:*

Retina de bovino fue homogeneizada en solución salina estéril al 1:20 (p/v). Los animales fueron sometidos 19 días después de la tercera inmunización, a una inyección intradérmica de 0,1 cc. en la zona del costillar depilada. Los lugares inyectados fueron examinados durante las primeras 8 horas, siendo fotografiadas a las 24 hs. dichas reacciones de hipersensibilidad retardada. (Foto N° 3).

f) *Prosedimiento post-mortem:*

Todos los animales fueron sacrificados por sobredosificación con éter sulfúrico, con el objeto de extraérseles los ojos.

Dicho material fue fijado en formol neutro al 10 %, prosiguiendo luego con los pasos de la técnica apropiada para la coloración con hematoxilina y eosina.

## RESULTADOS

*Cuadro 1* — Modificaciones oculares presentadas por los animales afectados a la experiencia.

Cobayo N°	Reflejo foto motor aumentado a partir de	Hiperreflexia palbrabal a partir de:	Buftalmía y Exoftalmia a partir de:	Congestión de los capilares de la Retina
2	22 días	29 días	40 días	* * *
3	22 días	30 días	41 días	* *
4	20 días	27 días	39 días	* * * *
5	23 días	30 días	40 días	* * *
6	22 días	30 días	41 días	* * *
7	21 días	29 días	38 días	* * * *
8	23 días	31 días	41 días	* * * *
9'	—	—	—	—
10'	—	—	—	—

' Testigos.

Cuadro 2 — Reacciones cutáneas de hipersensibilidad retardada.

Cobayo Nº	Cantidad de inóculo intraepidérmico	Lectura a las 12 hs. en mm. de diámetro	Lectura a las 24 hs. en mm. de diámetro
2	0,1 cc.	10 mm.	15 mm.
3	0,1 cc.	13 mm.	20 mm.
4	0,1 cc.	8 mm.	12 mm.
5	0,1 cc.	10 mm.	15 mm.
6	0,1 cc.	10 mm.	13 mm.
7	0,1 cc.	10 mm.	14 mm.
8	0,1 cc.	12 mm.	19 mm.
9'	0,1 cc.	—	—
10'	0,1 cc.	—	—

' Testigos.

*Estudio Histopatológico:*

Al examen histopatológico de las retinas de los animales afectados a la experiencia, se observó una neta infiltración linfocitaria y de elementos mononucleares en las láminas plexiforme interna (IPL) y externa (OPL), como así también en las láminas sinóptica (SL), nuclear interna (INL) y nuclear externa (ONL), pudiéndose apreciar además, (Foto-

grafía número 1), la edematización de la retina en general, que en ciertos casos, aumenta su espesor al triple de lo normal o más. Es de hacer notar que, tanto la lámina de fibras nerviosas (NFL) como la de las células ganglionares (CGL) y la de Conos y Bastones (R&C), manifiestan importantes alteraciones de tipo degenerativo, alteraciones que resultan evidentes del cotejo entre las fotos Nº 1 y Nº 2 (normal).

DISCUSION

La producción de retinitis o uveítis alérgicas experimentales en cobayos, lograda mediante la administración de una serie de inmunizaciones con una emulsión oleosa adicionada de los Ags. retinianos, confirma la sugerida relación que algunos investigadores sospecharan entre uveítis y autoinmunidad. (1,2)

En la presente experiencia, realizada en cobayos inmunizados con retina de bovino emulsionada en adyuvante de Freund completo, los principales hallazgos fueron: 1) la producción de Retinitis Alérgica Experimental (RAE) con Ags. retinales heterólogos, los cuales, conjuntamente con los homólogos, hasta hace no mucho tiempo, no se sospechaban como probable

etiología: 2) la eficiencia inmunopatológica de la inyección por sí sola; 3) el relativamente corto período de inducción del fenómeno autoinmune; 4) la aparición de signos clínicos concordantes con las manifestaciones histopatológicas; y 5) la susceptibilidad del cobayo a la retinitis o uveítis inducida por los Ags. de retina.

La ineficacia de una como de varias sustancias de otros tipos de tejidos intraoculares, inyectados repetidas veces, (5) en la producción de un fenómeno similar al descrito en el presente trabajo, indica que la respuesta inmunológica estuvo dirigida hacia el tejido retiniano inyectado. Esta interpretación esta sustentada, además, por la demostración de las

respuestas de hipersensibilidad retardada de estos animales a los Ags. retinales específicos.

La necesidad de repetidas inmunizaciones con tejido retiniano para obtener el proceso inmunopatológico, podría ser debido a la escasa cantidad de material antigénico específico en la retina, o a la mayor o menor cantidad administrada de Ags. S y/o P.—

El proceso inflamatorio que afecta a la retina, producido por la sensibilización con Ags. retinales, puede llegar a ser una de las características importantes para el estudio de la patogénesis en la presentación de trastornos uveales de orígenes inmunopatológicos.

El hecho de que las principales tónicas vasculares del ojo esten involucradas en los procesos de RAE como de UAE, hace recordar, en forma particular, a las inflamaciones perivasculares de los tejidos nervioso central y meninges en la EAE (3). Ambos tipos de procesos experimen-

tales (RAE y EAE) pueden tener mecanismos similares, difiriendo esencialmente en los Ags. tisulares que las producen y en el órgano que afectan.

De los datos aportados hasta el presente, (8) en relación a proporción de los constituyentes del inóculo, se desprende que la frecuencia y severidad de la RAE, es una función que depende no solamente de la cantidad de Ag inyectado, sino de la proporción relativa entre Ag y *Mycobacterium* en el inóculo.

Según estudios recientes, se ha logrado determinar que, sobre distintas concentraciones de *Mycobacterium*, solamente en ciertas proporciones óptimas entre el Ag y dicha bacteria, se logra inducir RAE o UAE, mientras que, dosis algo mayores a las óptimas, suprimen su desarrollo completamente. Aquí también con esto se demuestra que, a similitud de lo que ocurría en la EAE, es necesario una estricta relación entre Ag y Adyuvante.

### CONCLUSIONES

Según se desprende de los Cuadros 1 y 2, como así también de las evidentes alteraciones observables en la foto 1, se pueden arribar a las siguientes conclusiones:

- A.— La técnica utilizada para la producción de retinitis autoinmune experimental fue la apropiada.
- B.— Del estudio histopatológico de las retinas de los animales objeto del presente trabajo, se desprende que aquellas sufren un proceso de Infiltración linfocitaria y mononuclear, además de edematización general y alteraciones de tipo degenerativo, tanto de las células ganglionares como de las fotorreceptoras (conos y bastones).
- C.— Que efectivamente, la introducción de un Ag emulsionado en

adyuvante de Freund completo, provoca un tipo de respuesta inmunitaria, donde el organismo "desconoce" al Ag (auto-antigénico), suscitando, además de la producción de Ac séricos, la sensibilización de las células inmunocompetentes.

La reacción de estos Acs. y/o células sensibles con los Ags. propios, (reacción ésta de tipo cruzada, debida a la gran similitud química), origina un proceso inflamatorio que hace factible la posibilidad de que entren en contacto las células inmunocompetentes con los determinantes antigénicos propios (auto-antígenos), continuando así, con la producción de nuevos Acs., éstos sí ya auto-Acs., los que desencadenarán el fenómeno autoinmune, autodestruyéndose.

BIBLIOGRAFIA

- ARONSON, S. B. and col.: ARCH, OPHTH, 69: 105, 1963.
- COLLINS, R. C.: Amer. J. Ophth, 32: 1687, 1949.
- EPSTEIN, B. y CHAMPREDONDE H. N.: Rev. Fac. C. Vet. La Plata, Año IV-Tercera Epoca; 15: 175, 1965.
- GREEP, R. O.: "Histología". El Ateneo, PERES TAMAYO y cols.: "Inmunología". México. La Prensa Médica Mexicana; 1968.
- WACKER, W. B. and col.: J. of Immunol. 101 - 1 : 151; 1968.
- WACKER, W. B. and col.: J. of Immunol. 101 - 1 : 151; 1968.
- WACKER, W. B. and. col: Invest. Ophthal. 8 - 2 : 381; 1969.
- WACKER, W. B. and. col.: Int. Arch. Allergy 41 - 2-3 : 370; 1971.

*Agradecimiento:*

a la colaboración prestada en la realización del presente trabajo a las Srtas. Amalia Lascano y María Fernanda Núñez, como así también a la que me brindara el Sr. Rubén Trebucq, ayudante alumno rentado de la cátedra.

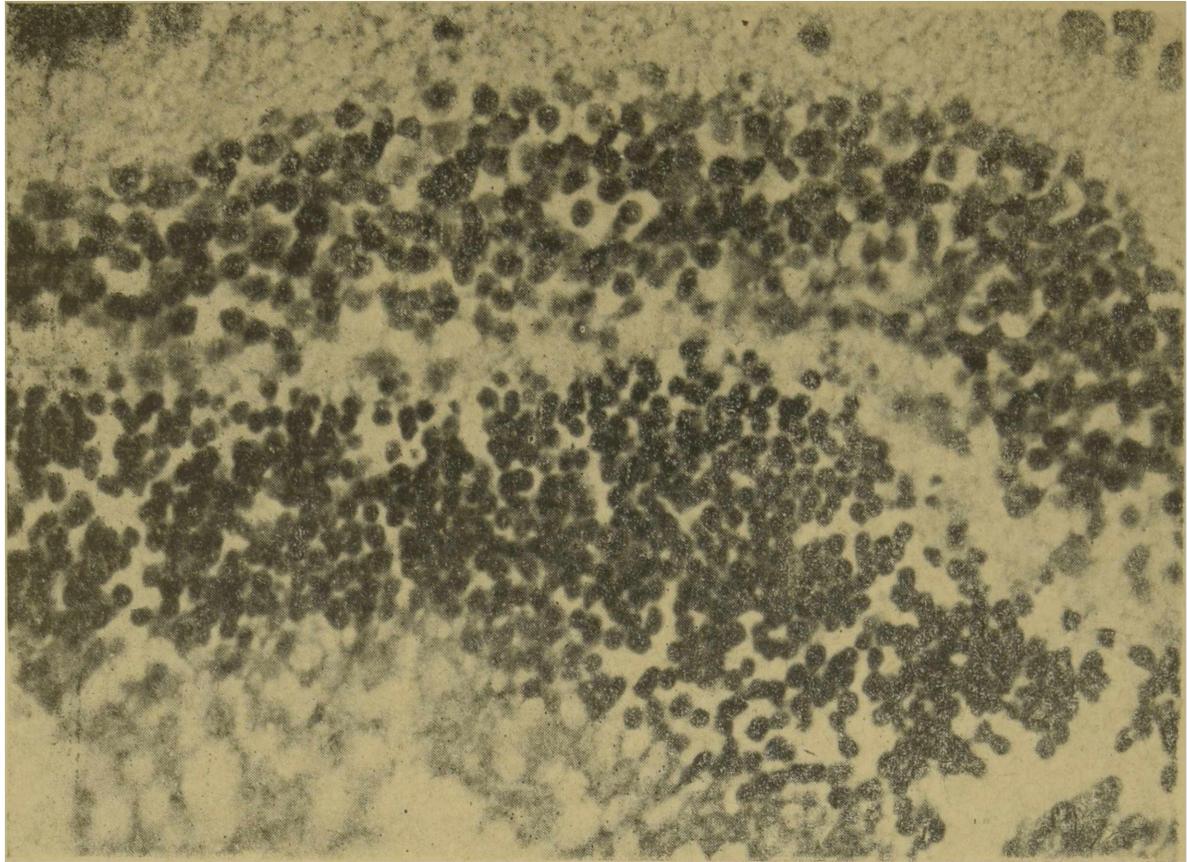


Foto N° 1 — Retina afectada

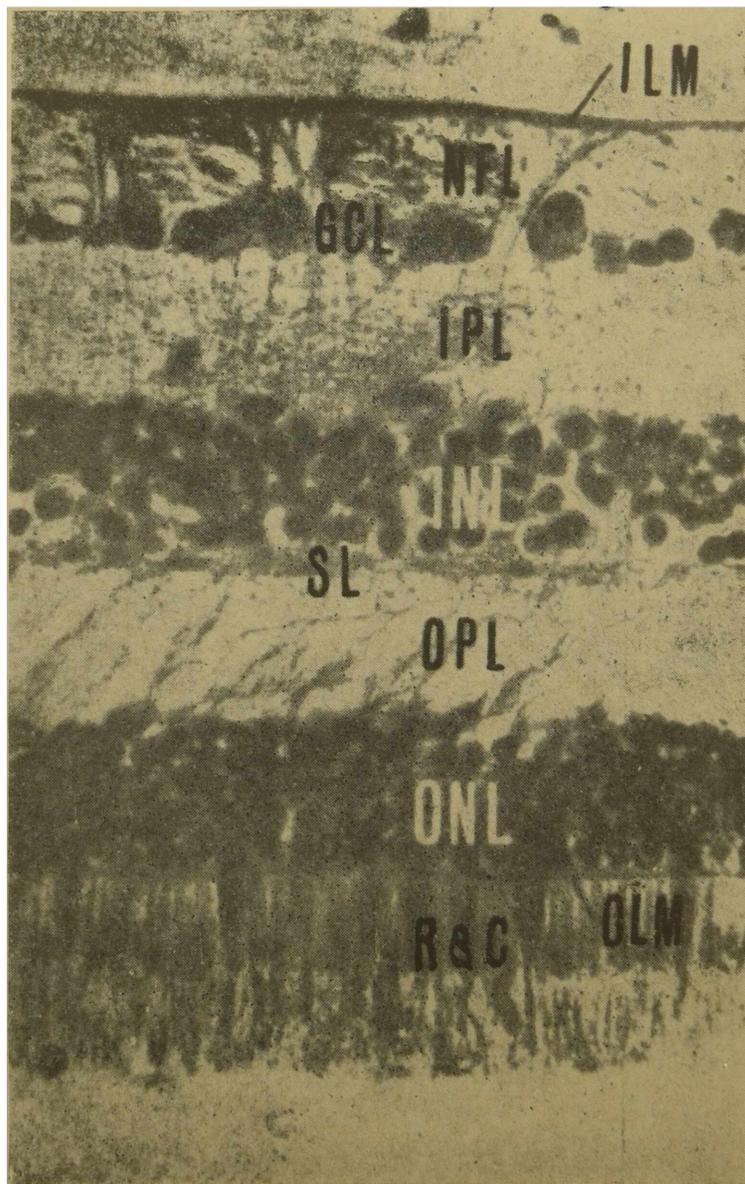


Foto N° 2 — Láminas de una retina



Foto N° 3—Zona del costillar depilada  
donde se puede apreciar  
la respuesta al test cuta-  
neo de hipersensibilidad  
retardada.