

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

H. ROCHA¹ - L. ANTUNES² - P. GALVAO¹

Belo Horizonte, Brasil

"The T cells can either promote or suppress the function of other lymphocytes, depending on the circumstances".

MILLER, 1975

Herpes: es una palabra de origen griego (herpein), que significa expandir, serpentear.

Nuestro tema es el tratamiento del Herpes ocular, expresión que abarca todo lo que proviene de nuestra experiencia con la queratitis herpética (HSV 1).

En verdad lo que pretendemos hoy no es comentar el mérito (ventajas y desventajas) de la terapéutica clásica (IDU, AraA, Crioterapia, etc.), sino traer a conocimiento de este FORUM, las observaciones emanantes de nuestros trabajos clínicos y experimentales con la inmunoterapia.

Uno de nosotros (Hilton Rocha), ya abordó la materia de un modo genérico, no sólo en 1973, con ocasión del primer Congreso Venezolano de Oftalmología, como también en 1974, en trabajo publicado en la Revista Brasileira de Oftalmología, y en conferencia al V Congreso Peruano de Oftalmología (Lima, Perú).

¹ De la Clínica Oftalmológica de la Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

² Del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

Antes de resumir el problema inmunológico, recordemos que el virus del herpes fue descubierto en 1912 por el oculista GRÜTER, quien nos dio una técnica todavía utilizada para su identificación en córnea de conejos.

Los virus poseen dos partes: el nucleoide o núcleo (material genético constituido de ácido nucleico), y la cápsula o capsida (una proteína). De conformidad con la naturaleza de ese ácido nucleico (núcleo), los virus pueden ser considerados en dos grandes grupos: DNA y RNA. El virus del herpes simple es DNA (desoxirribonucleico).

Los virus DNA se diferencian en tres clases, con nueve familias entre las cuales la *herpesviridae*, perteneciendo a la clase *deoxycúbica*. Entre los diversos géneros subordinados a la familia herpesviridae, tenemos al del *herpes simple*, que por su vez ya se desdobló en dos especies o tipos (I y II), siendo que el tipo I es el responsable por el herpes ocular (y labial), en tanto que el tipo II es responsable por el herpes genital. La *tabla I*, esquematiza esta subordinación y la *tabla II* nos da la diferenciación entre los dos tipos de herpes, que en este trabajo iremos a llamar de HSV I y II; pueden también ser designados como HVH I y II.

TABLA I
VIRUS DNA

CLASES (simetría capsular)	ORDINES (con o sin involucro)	FAMILIAS (número de capsómeros)	GENEROS	TIPOS O ESPECIES
Deoxyhelica	Chitovirales	Poxviridae		
Deoxycúbica	PEPLO- VIRALES (con)	HERPES- VIRIDAE (162)	HERPES varicela-zona etc.	I (ocular) II (genital)
	Haplovirales	Papilomavir. Adenovir. etc.		
Deoxybinala	Urovirales	Phagovir.		

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

TABLA II

DIFERENCIAS ENTRE LOS VIRUS DEL HERPES SIMPLES (HSV)
(HERPESVIRUS HOMINIS (HVH)

TIPOS I y II

CARACTERISTICAS	HSV I	HSV II
1) Clínica	non genital (<i>ocular</i> , por ejemplo)	Primariamente genital
2) Epidemiológica	transmission via non genital	Transmission via genital
3) Biológica a) corioalantoide b) ratón	pequeñas pústulas menos neurotrópico	grandes pústulas más neurotrópico
4) Bioquímica DNA - moléculas guanina + citosina por 100 ml.	67	69
5) Inmunológica	ANTICUERPOS CRUZADOS	

La forma más común de infección herpética ocular es, como sabemos, la queratitis dendrítica recurrente.

La frecuencia y rebeldía del proceso corneano se agravan por la habitual recurrencia, al caracterizar la llamada forma "meta-herpética". ¿Será el propio virus que continúa ahí? Sin duda que sí, apenas discutiéndose si en la córnea, en la conjuntiva, en la glándula lacrimal, o hasta en el ganglio de Gasser.

El virus del herpes simples se puede multiplicar dentro de las células, destruyéndolas y libertándose, o puede vivir dentro de ellas en forma latente, pero siempre preparados a actuar bajo diversos estímulos.

La gran mayoría de la población adulta posee anticuerpos circulantes anti-herpes. Para Braley en 35% de las clases más ricas y 90% de los

menos favorecidos. En nuestra experiencia encontramos los siguientes números:

Apenas a título ilustrativo, y para poder dar una secuencia expositiva, recordemos que la terapéutica de la queratitis dendrítica puede ser considerada como sigue:

- 1) Raspado, debridamiento, cauterización.
- 2) Antimetabolitos (tipo IDU), Arabinosiladenina (ARaA), es promisoriosa.
- 3) Interferón.
- 4) Crioterapia.
- 5) Linfocitoterapia (factor de transferencia).

El objetivo de este trabajo es la linfocitoterapia que, como veremos, de cierto modo incluye el papel del interferón. Para consideraciones más explícitas sobre otros métodos terapéuticos, reportamos al lector a nuestro reciente relato presentado al IX Curso de Actualización en Oftalmología, en Belo Horizonte, Brasil, 1975.

Registramos arriba la alta incidencia de anticuerpos circulantes anti-herpes, en la gran mayoría de la población adulta. Si la inmunidad adquirida a infección por virus en general se considera tradicionalmente como función de anticuerpos humorales, ¿cómo conciliar este concepto con la recurrencia incoercible de la afección herpética, en personas ricas en anticuerpos circulantes? Cómo conciliar esta recurrencia herpética, con el hecho conocido de protegerse contra una infección viral con la administración pasiva de suero de una persona inmune, o con el hecho comprobado in vitro, del anticuerpo específico combinándose con el virus, protegiendo las células de la cultura del tejido contra la infección?

Es que, argumentan Valentina y Lawrence (1971), una vez establecida la infección *intracelular*, el virus no es más accesible al anticuerpo circulante, y en ausencia de otro tipo de resistencia a la infección, se puede difundir de célula para célula. Esto es: el anticuerpo circulante puede proteger al individuo de contraer una infección viral, y efectivamente limitar la viremia; sin embargo, otros mecanismos tendrán que ser buscados en la cura de una infección intracelular.

El virus del herpes puede pasar de una célula a otra, a través de puentes intercelulares, cubriéndose por lo tanto de la acción de los Ab circulantes o extracelulares. A partir de ahí, el pensamiento tendría que volverse

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

para la inmunidad celular. Y el gran avance surge cuando se puede indiscutiblemente diferenciar los linfocitos en sus dos grandes grupos: T y B, cada cual visando una reacción específica en presencia de los antígenos que los macrófagos le propician o que los propios LT procesan.

Los linfocitos inmunocompetentes, pueden ser divididos en aquellos dos tipos generales en relación de sus diferencias funcionales:

1) Las células T (LT), pequeños linfocitos que se adaptan a ciertas funciones inmunológicas específicas, bajo influencia del Timo (Timo-derivadas).

2) Las células B (LB), pequeños linfocitos que no fueron influenciados por el Timo (bursa o médula ósea-derivados), que son los progenitores de las células plasmáticas maduras, productoras de anticuerpos.

Las células T son linfocitos que se diferenciaron bajo la influencia del Timo, y son responsables por las reacciones inmunocelulares, como son: la reacción cutánea retardada, y las reacciones a los trasplantes. Ellas no secretan anticuerpos humorales. Ya las células B son linfocitos que se diferenciaron bajo la influencia de la médula ósea (probable análogo en los mamíferos de la bursa de Fabricius), y se tornan las células efectoras de la inmunidad humoral sintetizando y secretando inmunoglobulinas (anticuerpos). (Fig. 1).

Los linfocitos T deben ser pues los de nuestra preocupación esencial aquí, cuando queremos una actuación intracelular.

Esta actuación celular, ligada esencialmente a los linfocitos (LT), se asocia a producción de *linfocinas* (DUMONDE), y a los factores de transferencia (LAWRENCE). Los linfocitos T, estimulados por el Ag, se transforman en linfoblastos T responsables principales por la inmunidad celular, con receptores ligados a su membrana plasmática, no contribuyendo para los anticuerpos circulantes.

Hoy se sabe que los LB también se reservan papel valioso en la inmunidad celular. Pero lo que es más importante es que hay una cooperación permanente entre LT y LB, en busca de *equilibrio*. El LT, ora estimula, ora frena la actividad de los LB. El efecto regulador de las células T, activadas, sobre las respuestas de los LB, puede ser pues *supresivo o estimulante*. Este hecho es muy importante en la orientación de la inmunoterapia, pues ésta podrá ser benéfica, sea con los LT muy altos o muy bajos, pues lo que se busca es el equilibrio entre las dos modalidades (T y B), y principalmente

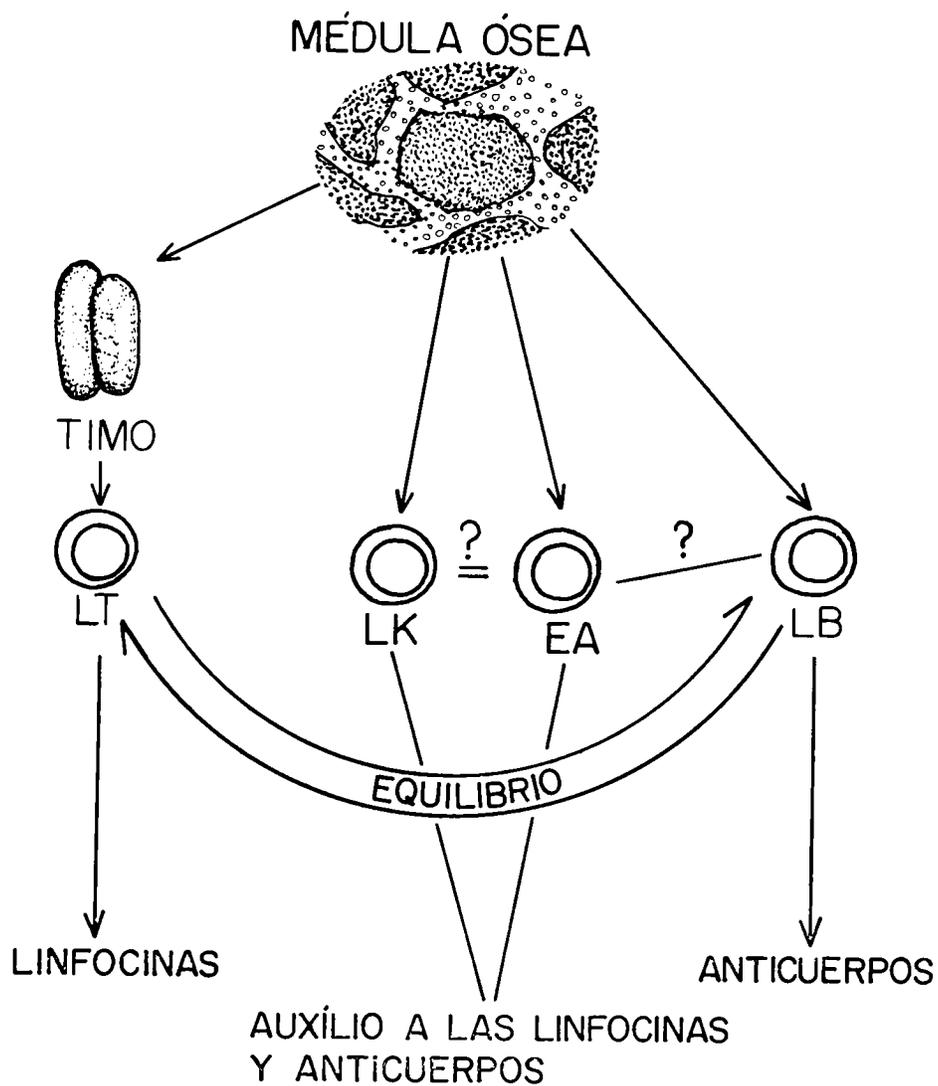


FIGURA 1

Los linfocitos LT (timo-procesados) y LB (bursa o médula-ósea procesados) son las dos modalidades básicas.

EA (o LK) son probables sub-poblaciones de LB, no procesados.

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

lo que se debe esclarecer en cada condición mórbida es el desvío porcentual del tipiaje responsable por la patología.

La primera conquista práctica, a partir de allí, fue de encontrarnos con un método relativamente simple de identificar microscópicamente los LT y LB, a través de las llamadas "rosáceas" o "rosetas". Las rosetas son imágenes características de hematíes de carnero unidas al linfocito. Los LT fijan directamente los hematíes de carnero, en tanto los LB tienen receptores para complemento (C 3). Este camino para identificación de las rosetas (inicialmente las LB), a través de marcadores específicos, nos fue abierto en 1968 por Lay y Nussensweig. (Fig. 2).

Podemos a partir de allí establecer las medidas de la normalidad para los LT y LB en sangre humana periférica (a través de las rosetas):

LT 54 \pm 8%

LB \pm 20-30%

Estos números, entre tanto, no satisfacen integralmente, porque una cosa es que sepamos el número de soldados de un ejército, y otra es conocer aquellos que realmente están capacitados para luchar. En 1973, WYBRAN et al. muestran la diferencia de tipiaje, conforme la hicimos después de 5' o 60' (incubación de los hematíes con linfocitos). Se sabe hoy que el porcentual de LT indicado a los 5' será el LT *activo*, que es el de nuestro real interés, y que en nuestra experiencia tiene los límites de la normalidad en 23 \pm 6% (contra los 54 \pm 8% de LT globales).

Aquí en el estudio de la terapéutica del herpes, ya vimos que nos interesa la inmunidad celular y casi nada los anticuerpos circulantes. Esto polarizaría nuestra atención para los LT, si no supiésemos hoy que a los LB también se les reserva un papel relevante al lado de los LT, en el complejo problema de la inmunidad celular.

Esto es, las subpoblaciones de LB ya hace mucho se entreven, diferenciados, que son desde luego en dos grupos bien distintos: unos fijos (a los ganglios) y responsables por la inmunidad humoral (Ab) y otros circulantes, a los cuales se les incumbe la citotoxicidad.

Esto es, una subpoblación de LB, caracterizando una tercera modalidad de célula linfoide ya está perfectamente definida, inclusive con técnicas de rosetas específicas, y hasta la fijación aproximada de su porcentual encontrado en individuos normales (15%).

ROSETAS

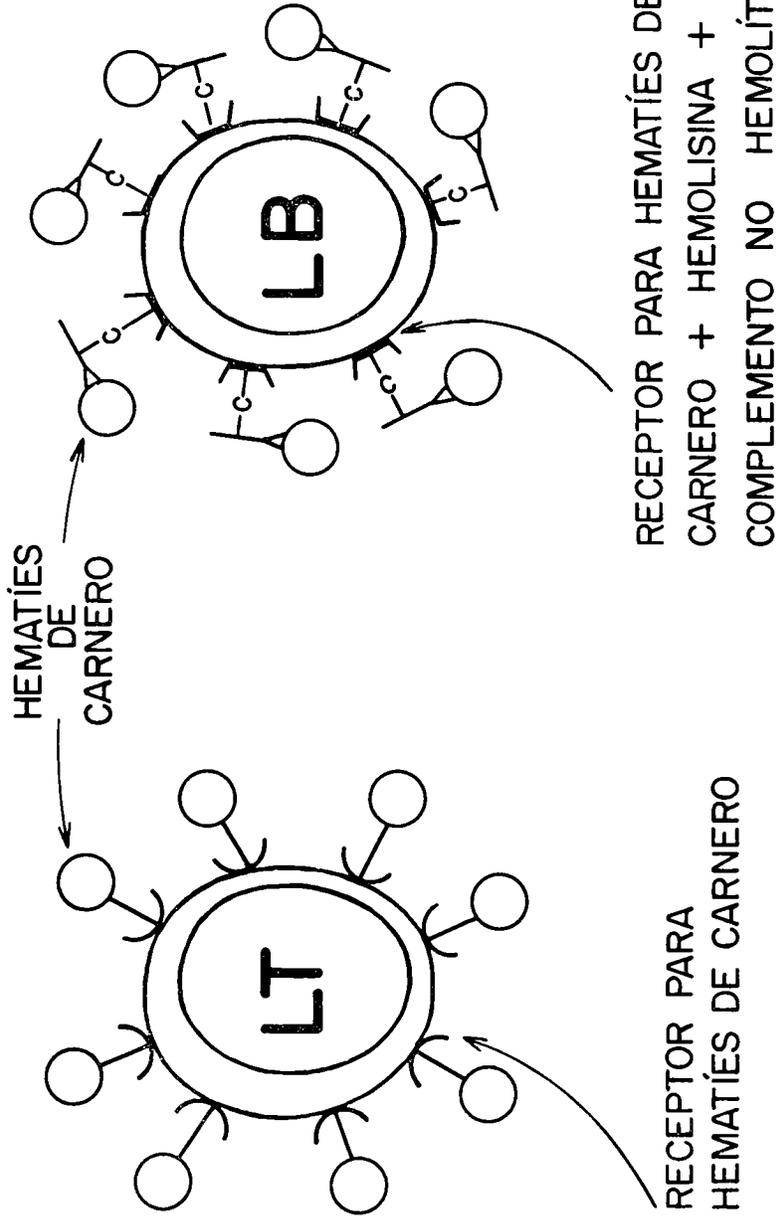


FIGURA 2

Las "rosetas" identifican fácilmente los TL o los LB. Los LT fijan directamente los hematíes de carnero. Los LB tienen receptores para complemento (C 3).

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

Curioso que independientemente tres líneas de pesquisas llevaron a los autores a identificar esta tercera población, y una tercera modalidad de rosetas: las células LK (células matadoras), a que se refieren GRANGER & KOLB (1968), las células EA-RFC, también caracterizadas por FROLAND & NATVIG (1973), y las rosetas EA, que uno de nosotros (Lucyr Antunes), ya hace mucho viene valorizando en nuestros trabajos, partiendo él de las llamadas rosetas reumatoides, descritas para el diagnóstico de artritis reumatoide y cuya incidencia es, como sabemos, baja (1.5%).

Mas este trabajo aquí no comporta mayores detalles. Ese registro es para decir que, si estamos jugando en el capítulo del herpes con la inmunidad celular, deberemos principalmente valorizar los LT activos, mas no podemos olvidar esta tercera población de células linfoides (sub-población de LB), que coopera valiosamente con los LT en los fenómenos de citotoxicidad. ¿Cómo podemos pues, en un determinado caso, conocer el perfil inmunológico del paciente, indispensable para que establezcamos una conducta inmunoterápica y poder evaluar sus resultados? Podemos contar con dos grupos de datos: in-vivo e in-vitro.

Inicialmente en cada caso deberemos verificar lo que se llama de tipiaje, esto es, el porcentual de LT activos, LB globales y EA (¿subpoblación de LB?): paralelamente deberemos dosificar las inmunoglobulinas en sangre periférica, que nos darán el grado de actividad de los LB. Los valores normales son:

TABLA III
MEDIAS NORMALES

LT activos:	23 ± 6%	IgG: ..	1.200 ± 200 mgs.%
LB global:	20-30%	IgA: ..	240 ± 120 mgs.%
EA:	15%	IgM: .	90 ± 20 mgs.%

Al lado de esos elementos in-vitro (antes de examinar las linfocinas, que consideraremos a seguir), debemos registrar como altamente valioso el test in-vivo de la reacción cutánea retardada que, como es sabido, traduce un fenómeno de inmunidad celular. Es casi patrimonio de los LT. La anergia cutánea retardada sugiere caída de la defensa inmunológica; y la

reconquista de la sensibilidad cutánea, después de la inmunoterapia, será índice valioso de la eficiencia terapéutica.

Cuando hay etiología concreta, y si poseemos el antígeno, el test deberá ser específico (por ejemplo, lepra, tuberculina, micosis, etc.). Mas cuando el test específico no es viable, nos será satisfactoriamente orientadora la respuesta inespecífica: PPD (u otros antígenos comunes), PHA (fito-hemaglutininas), DCB dinitriclorobenceno.

Antes de que nosotros prosigamos, conviene registrar un detalle de nomenclatura. CHASE propuso para la actividad de los LT la expresión "hipersensibilidad retardada", universalmente aceptada y difundida. Pero poco a poco se fue sintiendo que "hipersensibilidad retardada", focaliza apenas un efecto (aunque muy importante como acabamos de ver), del complejo fenómeno inmunológico, que hoy se prefiere rotular como inmunidad celular (cellmediated immunity). Usaremos las dos expresiones indiferentemente.

Mas ¿cómo actúan los LT, si no producen anticuerpos?

Inicialmente debemos resaltar el trabajo genial de LAWRENCE, que en 1955 defiende su "factor de transferencia" (TF), sustancia dializable, como el verdadero *iniciador* de la actividad inmunológica de los LT.

Los LT vírgenes poseen en su superficie receptores TR, para los antígenos Ag, potencialmente sensibilizantes. La interacción del Ag con el receptor TR tornará activo el LT. Los LT así activados van a entrar en blastogénesis y en el mismo paso sintetizar TF (factor de transferencia) y otros mediadores responsables por la inmunidad celular (linfocinas). (Fig. 3).

Y esta será la base de la inmunoterapia, que en última instancia llevará al receptor el TF del donador. El LT activado va a activar en cascada otros LT vírgenes, gracias esencialmente al factor de transferencia TF que saldrá a través de la superficie celular, para encontrar otras células vírgenes aptas a aprisionarlo. Así como existe sin duda un receptor TR para el antígeno Ag, se puede admitir (con BURNET), la existencia de minireceptores (MR), para aprisionar el TF.

El TF es el *iniciador* de la inmunidad celular en sentido amplio, que lleva todo más a acontecer, inclusive la producción de los mediadores o linfocinas. (Fig. 3) :

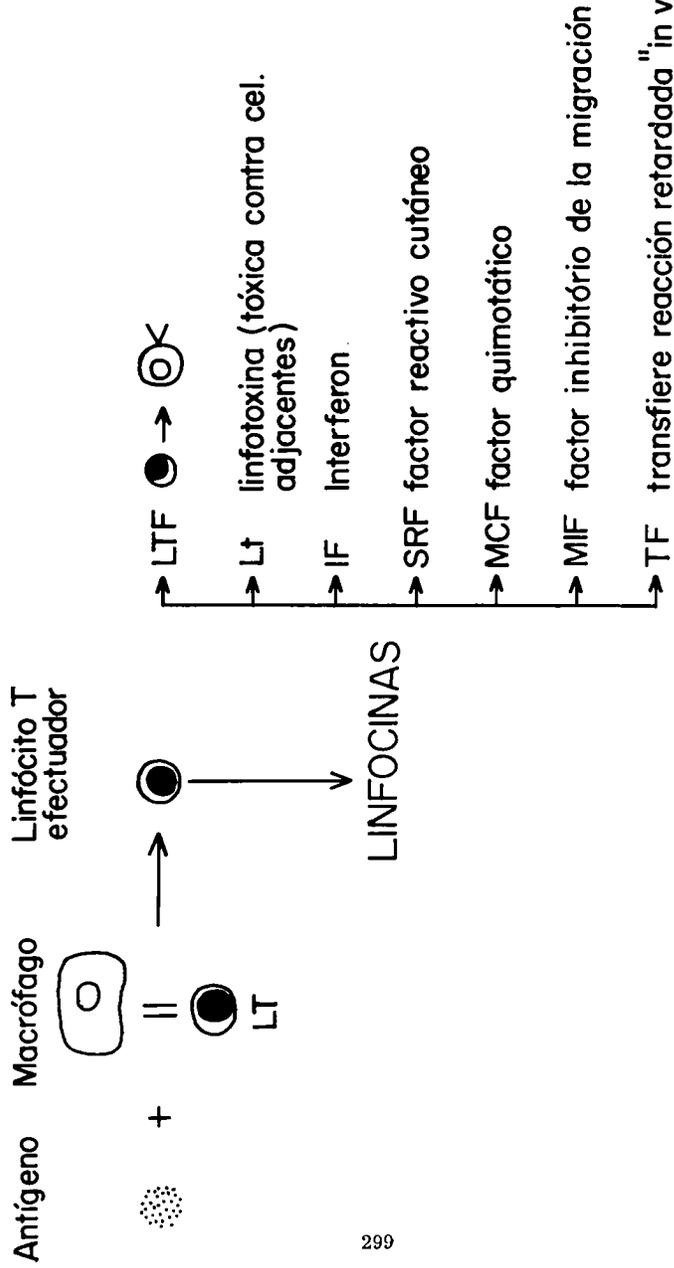


FIGURA 3

Los LT sintetizan TF (factor de transferencia) y otros mediadores responsables por la inmunidad celular (linfocinas).

MIF (factor de inhibición de la migración de los linfocitos), Lt (factor linfotóxico o linfotoxina), incorporación de la timidina (blastogénesis), interferón.

Vamos a detenernos en el MIF (factor de inhibición de la migración de los macrófagos o de los leucocitos), porque es un test relativamente fácil y porque por él se puede decir del grado de inmunidad celular presente en cada caso. Y es un método que ha sido más usado por algunos investigadores en el ámbito oftalmológico (Henley y cols., HAMMER, etc.).

El MIF, por la primera vez descrito en 1932 por RICH & LEWIS, es un método muy útil para complementar el tipiaje (a través de rosetas).

Normalmente en tubos capilares conteniendo leucocitos de sangre periférica colocados en pequeñas cámaras para cultura de células, las células migran para formar un abanico de células en la extremidad del tubo y en la presencia del Ag; esta migración será más o menos bloqueada, conforme la existencia mayor o menor de LT específicamente sensibilizados, que produce el MIF. Por la comparación entre las dimensiones del abanico con y sin Ag, podemos valorar porcentualmente el tenor de MIF existente, lo que significa decir el grado de inmunidad celular presente.

Esta técnica de determinar el MIF en tubos capilares fue bien sistematizada por GEORGE & VAUGHAN (1962), después modificada por DAVID et al. (1964), BENDIXEN & SOBORG (1970). Mas en 1972, HARRINGTON & STASTNY, propusieron una nueva técnica mucho más práctica, usando una gota de agarosa en sustitución al tubo capilar; es la técnica usada en nuestro trabajo. (Fig. 4).

Inmunoterapia

Si en verdad, desde 1942, LANDSTEINER & CHASE, mostraron que una respuesta inmunológica podía ser transferida por células linfoides vivas, el gran mérito de LAWRENCE fue mostrar desde 1955, que, contrariamente a lo esperado, la hipersensibilidad cutánea retardada podía ser transferida por células muertas o también desintegradas. Si los extractos de leucocitos son tan efectivos cuanto las células viables, un paso más y puede LAWRENCE descubrir su factor de transferencia (TF) que es una parcela dializable de las linfocinas, con peso molecular alrededor de 5.000, no inmunogénico y diferente de la inmunoglobulina. ¿Nucleótidos? ¿Polipéptidos? ¿RNA?

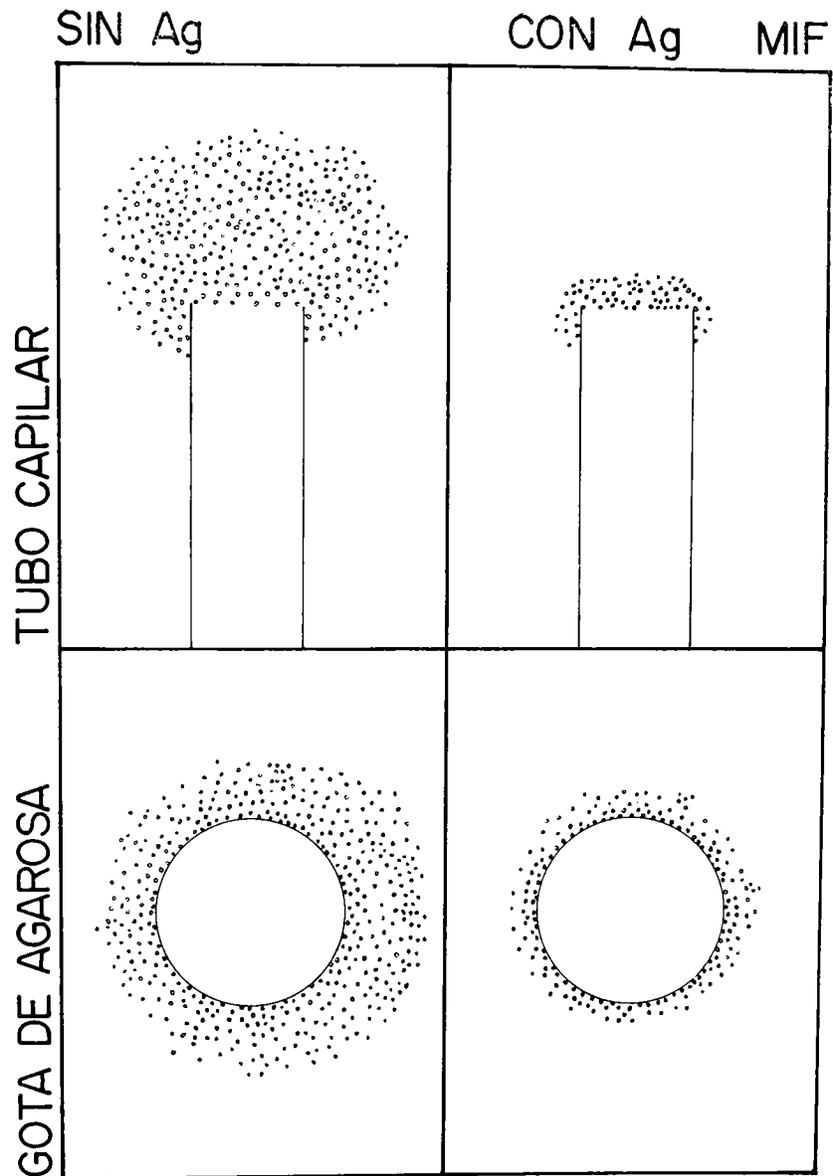


FIGURA 4

La técnica original para determinar MIF (factor inhibitorio de migración), que es una de las linfocinas sintetizadas por los LT, fue la propuesta por GEORGE & VAUGHAN (1962).

Utilizamos la modificación de HARRINGTON & STASTNY (1972), usando una gota de agarosa y no los tubos capilares.

Esto es, el extracto de leucocitos del donador lleva, al receptor inmuno-deficiente, el factor de transferencia TF que actuará en cascada sobre los LT de los receptores, liberando linfocinas inducidas por el Ag en causa. ¿Cómo prepara el extracto de leucocitos? Podemos buscar TF aislado o, como es de nuestro uso, extracto total de lisado de leucocitos (TF ± linfocinas). La selección del donador debe ser evidentemente cuidadosa, seleccionándose entre las edades de 12-35 años, no portadores de enfermedades crónicas o virosis, y que tengan negativo el test con antígeno Australia y positivo los tests de PPD y PHA.

Isolar los leucocitos, lisarlos (congelación y descongelación), centrifugar para remover las membranas, reconstituyendo en Hanks (6ª o 7ª parte del volumen inicial). (Fig. 5).

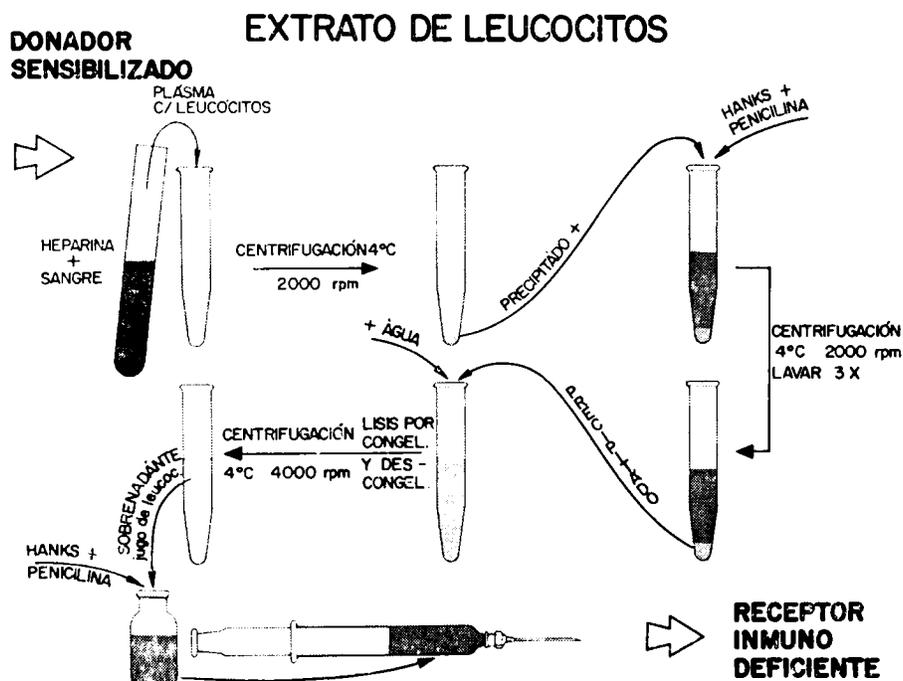


FIGURA 5

Técnica de preparación de extracto de leucocitos del donador, para llevar al receptor inmuno-deficiente el factor de transferencia TF.

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

Con más detalles la técnica es la siguiente:

- a) Retirar 20 ml. de sangre del donador adicionando 1 ml. de heparina (100 U); o, si utilizamos el banco de sangre, retirar 50 ml. sin heparina (porque ya posee anticoagulante);
- b) decantar durante dos horas;
- c) transferir el plasma sobrenadante para el tubo de ensayo estéril;
- d) centrifugar por 20' a 2.000 r.p.m., despreciar el sobrenadante. Adicionar 5 ml. de sol. de Hanks;
- e) repetir d);
- f) repetir d);
- g) adicionar para cada donador (20 ml.), 1 ml. de agua destilada estéril;
- h) colocar en una cuba conteniendo alcohol a -20°C (para congelar);
- i) baño de María a 56°C para descongelar rápidamente;
- j) repetir h e i;
- k) repetir h e i;
- l) centrifugar por 15' a 2.000 r.p.m.;
- m) transferir el sobrenadante para un vidrio de penicilina estéril;
- n) para cada donador (20 cc.), que tiene 1 ml. de agua, adicional 2,5 ml. de Hanks;
- o) Transferir del vidrio de penicilina para el tubo lacrado estéril, y
- p) aplicar 2 ml. intramuscular, en días alternados.

Llegamos a la utilización de la inmunoterapia en afecciones oculares por lo entusiasmados que quedamos con los resultados obtenidos en afecciones sistémicas, como: hepatitis crónica agresiva, tuberculosis pulmonar anérgica, blastomicosis suramericana (pulmonar y cutánea), lepra, lepromatosa, etc. Antes de registrar nuestros hallazgos en las manifestaciones del herpes simples, vamos sucintamente a registrar lo que observamos (muy poco, es verdad), en la enfermedad de Harada, en los melanomas uveales, y en las degeneraciones tapeto-retinianas. Nuestras observaciones sobre "uveitis endógenas", serán oportunamente objeto de la tesis doctoral de uno de nuestros residentes: el doctor Jaco Lavinsky. Ilustramos nuestros resultados en algunos casos en la *Tabla IV*.

TABLA IV

UVEITES ENDOGENAS

	PRIMER EXAMEN		SEGUNDO EXAMEN (después de la linfocitoterapia)	
	<i>LTa</i>	<i>LB</i>	<i>LTa</i>	<i>LB</i>
M.L.	40	28	40	51
M.C.	38	40	23	25
T.J.	26	47	45	17
N.L.	20	23	27	21
M.M.	17	10	46	17
G.H.	9	26	28	21
S.R.	16	18	27	24
D.F.	19	15	38	28
L.J.	30	26	26	28
C.T.	10	38	19	32
MEDIAS	22,5 ± 10,8	27,1 ± 11,7	31,9 ± 9,5	26,4 ± 9,9
VALORES NORMALES <i>LTa</i> 23 ± 6%				
<i>LB</i> 20-30%				

Enfermedad de Harada:

Tenemos una pequeña experiencia con esta enfermedad, que tanta afinidad posee con Vogt-Koyanagi y con oftalmía simpática, siendo hoy admitida la posibilidad de una auto-inmunidad, quizá con la colaboración deflagadora de una virosis. Nuestra experiencia, en tres casos, es realmente alentadora, por los resultados sorprendentes.

Uno de esos casos es altamente expresivo, pues es de una paciente cuya enfermedad se arrastraba hacía meses, rebelde a las más variadas terapéuticas (corticoides, sulfas y antibióticos). Su visión inicial era de 1/100 en cada ojo; actualmente la visión es de 20/40.

En esta paciente, enero de 1974, fundus oculi de intensa neurorretinitis AO, con grande edema retinal. OAV = 1/100. *LT*tativo 26% *LB* 12%.

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

Instituida la linfocitoterapia intramuscular (24 dosis).

Junio 1974, visión 20/40 en cada ojo. L_{Ta} 36% L_B 20%.

Las mejoras fueron rápidas, y se mantienen hasta hoy (enero 1975).

La *Tabla V*, revela los valores obtenidos en tres casos. Recientemente (1974), HAMMER, nos trajo su experiencia en el mismo sentido, estudiando sus casos en función al MIF, y no con inmunoterapia. Estudió dos casos de Vogt-Koyanagi-Harada, cuatro casos de oftalmia simpática, comparándolos con ocho individuos normales. Tanto en los casos de Vogt-Koyanagi-Harada, como en los casos de oftalmia simpática, HAMMER, demostró la existencia de auto-anticuerpos anti-melanina, y linfocitos melanina-sensibles en sangre periférica.

TABLA V
ENFERMEDAD DE HARADA

	PRIMER EXAMEN		SEGUNDO EXAMEN (después de la linfocitoterapia)	
	L _{Ta}	L _B	L _{Ta}	L _B
I.B.	52	22	37	17
A.C.	8	8	24	20
E.H.	26	12	28	27
M.G.S.	9	17 (Vogt-Koyanagi)	PPD non reactor	
N.T.	16	24 (Vogt-Koyanagi)	PPD non reactor	
A.G.	17	28 (Harada)	PPD non reactor	
R.M.	14	18 (Harada)	PPD non reactor	

Melanoma uveal

Estamos ingresando, por las comprobaciones que se acumulan, en la era inmuno-diagnóstica e inmunoterápica de los melanomas. Hace 15 años sería poco más que fantástico relacionar el virus del herpes con el del cáncer. Hoy, la evidencia se acumula fortaleciendo esta relación, tanto en el hombre como en varios animales. Bastaría ejemplificar con la relación:

HSV I - carcinoma espinoceleular del labio.

HSV II - carcinoma cervical de la mujer.

En el capítulo del cáncer, y de un modo especial de los melanomas malignos, se impone hoy el tratamiento inmunológico, que evidentemente no debe interferir con la orientación terapéutica ortodoxa, más asociarse a ella con evidentes promesas.

Las células neoplásicas pueden ser vistas como las de un alo-injerto. Si el efecto citotóxico de los LT destruye el alo-injerto, tenemos el derecho de esperar que por lo menos impida la metástasis del tumor.

En seis casos de melanoma ocular que observamos (dos sin cirugía mutiladora), en todos realizamos la inmunoterapia. El plazo es corto (4 a 18 meses), mas hasta ahora no hemos tenido ninguna metástasis ni recurrencia. Lejos de una conclusión, apenas registramos el hecho como línea de pesquisas ulteriores. Anexamos nuestra *Tabla VI*, con los valores de nuestras tipiajes, antes y después de la serie inmunoterápica.

TABLA VI
MELANOMAS MALIGNOS OCULARES

	PRIMER EXAMEN		SEGUNDO EXAMEN (después de la linfocitoterapia)	
	<i>LTa</i>	<i>LB</i>	<i>LTa</i>	<i>LB</i>
V.S.	12	12	30	35
A.M.	22	19	28	35
R.C.	19	30	19	19
D.M.	27	26	27	27
R.A.	42	27	21	26
MEDIAS	20,0 ± 6,7	20,7 ± 7,9	23,25 ± 6,4	24,75 ± 8,1
VALORES NORMALES	<i>LTa</i> (activos) .. -23 ± 6% <i>LB</i> 20-30%			

Degeneración tapeto-retinal

En estos casos, que se admite como una abiotrofia alcanzando primariamente el neuro-epitelio, se puede indagar ¿no habrá un substrato auto-inmune, al organismo, extrañando su propio neuro-epitelio? Esta hipótesis

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

todavía se robustece más en presencia de algunos casos que estamos observando, en que la retinosis pigmentar termina con las características integrales de una retinosis primaria: (ceguera nocturna, papila cética, campo tubular antes de la ceguera total, ERG extinguido, bilateral), pero que se inicia tardíamente con discretas manifestaciones de uveítis posterior, difusa.

En esta línea inmunológica ya existen algunos trabajos; por ejemplo, RAHI (1973), en 52 casos de retinosis pigmentar, verificó un aumento significativo de IgM, cuya interpretación él deja en suspenso.

Estamos observando varios casos, no sólo anotando su perfil inmunológico, sino también sometiendo a la inmunoterapia. Vamos a registrar en la *Tabla VII*, algunos resultados. Nos parece un capítulo promisor, principalmente relevante, cuando nada en general podemos hacer en su beneficio, y cuya línea terapéutica nos podrá abrir una perspectiva, principalmente en los casos iniciales o probables antes que el proceso atrófico definitivo, se instale.

Recientemente (1974), CHAR et al. estudiaron 20 pacientes con degeneraciones pigmentar retiniana, verificando, en 17 de ellos, un aumento significativo de la citotoxicidad contra células provenientes de retinoblastomas (ricas en antígeno de retina normal), esto es, un nítido aumento de la inmunidad celular, en esos 17 casos.

La inmunidad celular ¿podrá ser responsabilizada por la patogénesis de esas degeneraciones, o esa respuesta inmunológica es secundaria al sufrimiento de los fotorreceptores?

Herpes simples

Ya vimos que el anticuerpo neutralizante no desempeña función protectora en la cura de la infección herpética, imponiéndose por lo tanto que se averigüe el papel de la inmunidad celular.

A propósito de Herpes corneano (HSV I), hay una serie de trabajos interesantes, tanto clínicos como experimentales (para estos últimos, reservamos unas palabras finales).

En el hombre, las observaciones son escasas.

En 1972, SHORE et al., utilizando el MIF como test de inmunidad celular, verificaron curiosamente que en casi todos los pacientes hubo inhi-

bición de la migración con antígeno corneano, pero sólo ocasionalmente con antígenos virales o de otros tejidos oculares.

TABLA VII
DEGENERACION TAPETO-RETINAL

	PRIMER EXAMEN		SEGUNDO EXAMEN (después de la linfocitoterapia)	
	<i>LTa</i>	<i>LB</i>	<i>LTa</i>	<i>LB</i>
F.S.	30	23	38	33
A.C.	15	26	20	29
M.P.	14	3,5	33	20
M.A.T.	8	20	19	20
V.L.B.	37	36	37	17
M.A.	20	17	23	18
N.P.	16	28	17	21
R.S.	27	36	35	36
M.S.	24	27	23	17
MEDIAS	21,22 ± 9,09	24,06 ± 10,02	27,22 ± 8,41	23,44 ± 7,26

MEDIAS NORMALES *LTa* (activos) .. 23 ± 6%
LB 20-30%

Resolvimos, hace 2 o 3 años, iniciar la observación de la inmunoterapia en la queratitis herpética, después de haber comprobado su magnífico resultado en casos rebeldes de herpes genital (HSV II). *Tabla VIII*.

Nuestro cuadro sintetiza los 10 casos que ya podemos utilizar para esta comunicación (otros varios todavía en estudio). Los resultados terapéuticos son invariablemente buenos, y la inmunodeficiencia habitualmente se comprueba a través del tenor más bajo de *LT*, que en general (aunque no siempre) se eleva después de la terapéutica.

TABLA IX

HERPES OCULAR (HSV I)

	PRIMER EXAMEN		SEGUNDO EXAMEN (después de la linfocitoterapia)	
	<i>LTa</i>	<i>LB</i>	<i>LTa</i>	<i>LB</i>
T.A.	11	24	35	19
C.R.L.	8	21	31	15
A.C.	17	19	11	16
H.S.	18	31	29	25
M.A.	31	15	35	24
D.V.	19	12	20	22
O.L.	31	32	37	24
E.A.	20	24	32	29
M.M.	29	14	22	15
L.G.	14	15	29	27
M.F.	37	19	32	26
MEDIAS	21,4 ± 9,3	20,5 ± 6,7	28,45 ± 7,8	22,0 ± 5,0
VALORES NORMALES <i>LTa</i> (activos) .. 23 ± 6%				
<i>LB</i> 20-30%				

En el herpes procuramos estimular los LT para que las linfocinas vengán a ayudarnos a destruir las células infestadas y con ellas los virus que allí se albergan, inaccesibles como sabemos a los Ab circulantes, pues los virus transitan de células para células, a través de puentes intercelulares.

La linfocitoterapia surge pues como arma valiosa en la terapéutica del herpes simples, no sólo cicatrizando el proceso actual (lo que es indiscutible), como tal vez bloqueando las recurrencias.

Merece un registro por la originalidad el interesante trabajo de SMOLIN et al. (1974), concluyendo que la aplicación *tópica* de un extracto de lin-

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

focitos, fue capaz de mejorar el curso de una queratitis herpética, en cobayos, como también de reducir el título de virus en las córneas afectadas. Antes de encerrar esta comunicación, queremos consignar nuestros hallazgos iniciales de experimentación en cobayos, destacando entre otros el trabajo experimental de TABBARA et al. (1974).

Dos hechos importantes para los que pretenden hacer estudio experimental inmunológico de la queratitis herpética, son los siguientes:

- 1) El conejo no es buen modelo para el estudio de la inmunidad celular. Debe ser escogido el cobayo.
- 2) Cuando se pesquisa el LT en sangre humana, usamos hematíes de carnero, mas este animal no sirve como marcador para los LT del cobayo. En otras palabras, los hematíes de *conejo*, se constituyen en marcador para los LT de cobayo, así como los hematíes de *carnero*, lo son para los LT humanos (WILSON & COOMBS, 1973; JOHANSEN et al., 1974). Para la pesquisa de los LB, utilizamos la misma técnica usada para el hombre, esto es: hematíes de carnero sensibilizados con anticuerpo y complemento (EAC).

Nuestras observaciones en cobayos, utilizando el "foot-pand" como vía de inoculación (inmunización comprobada pela reacción cutánea y retardada y pelo MIF - *Tabla X*), ya nos pueden ofrecer los siguientes datos:

Cobayos normales:

LTa 19,88 ± 3,16 LB 5,77
± 2,07 Ab 1:20 MIF 6,33
± 6,18

Cobayos inmunizados (15 días):

LTa 17,08 ± 5,62 LB 4,04
± 1,95 Ab 1:307 MIF 27,81
± 15,84

(en cobayos, la sangre es tomada por punción cardíaca).

La *Tabla X*, resume nuestros hallazgos en 20 cobayos, antes y después de la inmunización (15,22 y 30 días).

TABLA X

MEDIAS DE LOS HALLAZGOS EXPERIMENTALES

(20 cobayos albinos inoculados con HSV 1 + adyuvante completo de Freund)

	LTa	LB	Ab	MIF	Reacción cutánea retardada (1:80)	
					24 hs (diámetro)	48 hs (diámetro)
Antes de la inmunización	19,88 ± 3,16	5,77 ± 2,07	20	6,33 ± 6,18	negativa	negativa
15 días después	17,08 ± 5,62	4,04 ± 1,95	307	27,81 ± 15,84	11,8 mm.	5,8 mm.
22 días después	20,04 ± 8,83	11,44 ± 3,94	597	21,50 ± 12,74	9 mm.	4,4 mm.
30 días después	23,36 ± 8,83	13,24 ± 6,09	500	12,12 ± 8,3%	4,4 mm.	1,9 mm.

LTa - LT activos LB - LB globales Ab - Anticuerpos anti-herpes humorales (media de los títulos)

MIF - Factor inhibitorio de migración. 1:80 - dilución del antígeno HSV 1.

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

Al lado de los valores registrados en la referida Tabla, debemos también notar un hecho de interés, que se repitió prácticamente sin excepción: las manifestaciones inflamatorias de la córnea fueron mucho más intensas (y más duraderas) en estos animales inmunizados, que en el grupo control (20 cobayos), no inmunizado. Este hallazgo gana valor, cuando lo encontramos idénticamente en las experiencias con uveitis herpética, inoculando el mismo virus (HSV 1), en la cámara anterior de cobayos (inmunizados y no inmunizados).

Conclusión

La linfocitoterapia (factor de transferencia), es una promisoro arma terapéutica contra la queratitis herpética y varias otras enfermedades oculares, en que se compruebe o se sospeche de la inmunodeficiencia celular.

No observamos hasta hoy (con más de una centena de casos de linfocitoterapia), ninguna manifestación indeseable o colateral.

SUMMARY

After a brief revision of the theory on virus and organic immunological systems, the author explains in detail the procedure of "Lymphocyte-therapy" as a new attack formula for Corneal Herpes.

His experiment consists of an intra-muscular injection of a leucocyte extract previously prepared according to a technique described in detail, trying to introduce into the immuno-deficient receptor the transference factor which will provoke the liberation of Lymphocines. This substance would be responsible for the cell immunity, which is deficient in corneal herpes relapses.

Next, the author shows the results obtained in some cases of corneal herpes, Harada's disease, Uveal melanoma, and tapeto-retinal degeneration.

He ends by stating that up to the present, and after more than 100 cases treated, no collateral manifestations have resulted.

C. B.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BRALEY, A. E.: **Experimental herpes simplex.** Am. J. Ophthal. 35: 1737-1747, 1952.
- BENDIXEN, G. & SOBORG, M.: **Comments on the leucocyte migration technique as an in vitro method for demonstrating cellular hypersensitivity in man.** J. Immunol. 13: 198-203, 1974.
- BURNET, F. M.: **Transfer factor —a theoretical discussion.—** J. Clin. Immunol. 54: 1-13, 1974.
- CHARD, D. H. et alii: **Cell-mediated immunity to retinal antigens in patients with pigmentary retinal degenerations.** Invest. Ophthal. 13: 198-203, 1974.
- DAVID, J. F. et alii: **Delayed hypersensitivity in vitro.** J. Immunol. 93: 264-282, 1964.
- DUMONDE, D. C. et alii: **"Lymphokines" -Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation.** Nature 224: 38-42, 1969.
- FROLAND, S. S. & NATVIG, J. B.: **Identification of three different human lymphocyte populations by surface markers.** Transpl. Rev. 16: 114-162, 1973.
- GEORGE, M. & VAUGHAN, J. H.: **In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity.** Proc Soc. Exp. Biol. Med. 111: 514-521, 1962.
- GRANGER, G. A. & KOLB, W. P.: **Lymphocyte in vitro cytotoxicity: mecanismos of immune and no immune small lymphocyte mediated target L cell destruction.** J. Immunol. 101: 111-120, 1968.
- HAMMER, H.: **Cellular hypersensitivity to uveal pigment confirmed by leukocyte migration test in sympathetic ophthalmitis, and the Vogt-Koyanagi-Harada syndrome.** Brit. J. Ophthal. 58: 773-776, 1974.
- HARRINGTON, J. T. & STASTNY, P.: **Macrophage migration from an agarose droplet: development of a micromethod for assay of delayed hypersensitivity.** J. Immunol. 110: 752-759, 1973.
- HUMPHREY, J. H.: **Cell-mediated immunity - General perspectives.** Br. Med. Bull. 23: 93-97, 1967.
- IRVINE, W. J.: **Immunological aspects of endocrine disease.** Proc. Roy. Soc. Med. 67: 449-502, 1974.
- JOHANSEN, K. S.: **T cell rosette formation in primates, pigs and guinea pigs.** J. Allergy Clin. Immunol. 54: 86-93, 1974.
- LANDSTEINER, K. & CHASE, M. W.: **Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds.** Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 49: 688, 1942.
- LAY, W. H. & NUSSENZWEIG, V.: **Receptors for complement on neukocytes.** J. Exp. Med. 128: 991-1007, 1968.
- LAWRENCE, H. S.: **The transfer in human of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leukocytes.** J. Clin. Immunol. 34: 219-230, 1955.
- RAHI, A. S.: **Autoimmunity and the retina. II. Raised serum IgM in retinitis pigmentosa.** Brit. J. Ophthal. 57: 904-909, 1973.
- RICH, A. R. & LEWIS, M. R.: **The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue cultures studies.** Bull. Johns Hopkins Hosp. 50: 115-132, 1932.
- ROCHA, H.: **A crio-imunologia dentro da auto-imunidade.** Rev. Bras. Oftal. 33: 13-43, 1974.

TERAPEUTICA DEL HERPES CORNEAL

- ROCHA, H.: *Linfocitoterapia en Otolmologia*. V. Congreso Peruano de Oftalmología, Lima, Perú, 1974.
- ROCHA, H.; ANTUNES, L. & GALVAO, P.: *Herpes corniano (HSV I). Considerações terapêuticas e imunológicas*. IX Curso de Atualização em Oftalmologia. Belo Horizonte, Brasil, 1975.
- SHORE B.; LEOPOLD, I. H. & HENLEY, W. L.: *Cellular immunity in chronic ophthalmological disorders. 2. Leukocyte migration inhibition in diseases of the cornea*. Am. J. Ophthal. 73: 62-67, 1972.
- SMOLIN, K. F.; TABBARA, K. & OKUMOTO, M.: *Guinea pig herpes simplex keratitis treated with a lymphocyte extract*. Am. J. Ophthal. 78: 921-925, 1974.
- TABBARA, K. F.; OKUMOTO, M. & SMOLING, G.: *Experimental herpetic keratitis in the guinea pig*. Canad. J. Ophthal. 9: 363-366, 1974.
- VALENTINE, F. T. & LAWRENCE, H. S.: *Cell —mediated immunity—*. Adv. Int. Med. 17: 51-93, 1971.
- WILSON, A. B. & COOMBS, R. R. A.: *Rosette-formation between guinea pig lymphoid cells and rabbit pythrocytes a possible T cell marker*. Int. Arch. Allergy 44: 544-552, 1973.
- WYBRAN, J. & FUDENBERG, H. H.: *Thymus derived rosette forming celss in various human disease states*. J. Clin. Invest. 52: 1026-1032, 1973.