

CONCENTRACION DE LAS INMUNOGLOBULINAS G, A y M EN LAGRIMA ESPONTANEA BASAL

por

Juan MURUBE DEL CASTILLO
Antonio MILENA ABRIL
Blas ALARCÓ HERNÁNDEZ

RESUMEN ESPAÑOL: En casi todas las publicaciones sobre inmunoglobulinas lacrimales aparecidas hasta el presente, la lágrima usada para la determinación de las inmunoglobulinas no era de secreción espontánea, sino provocada por estimulación.

Nosotros hemos obtenido lágrima basal espontánea de 10 individuos sanos, adultos, de ambos sexos. A cada individuo se le recogieron a lo largo de 5 horas ininterrumpidas 100 microlitros de lágrima. Las tomas se hicieron con una micropipeta capilar del canto palpebral externo, bajo observación al fentomicroscopio, para evitar la irritación por contacto de la micropipeta con el ojo.

Por el método de inmunodifusión radial se determinaron las concentraciones y desviaciones típicas de IgG, IgA e IgM, que resultaron ser para la IgG 5.4 ± 2.3 mg./100 ml., para la IgA 24.3 ± 12.6 mg./100 ml., y para la IgM 3.6 ± 1.4 mg./100 ml.

RÉSUMÉ FRANÇAIS: Dans presque toutes les publications qui ont paru jusqu'à présent sur les immunoglobulines lacrymales, les larmes employées pour la détermination des immunoglobulines ne venaient pas de la sécrétion spontanée, mais étaient provoquées par stimulation.

Les auteurs de cette étude ont pu obtenir des larmes spontanées basales de 10 individus sains, adultes, des deux sexes. De chacun d'eux, on a recueilli pendant 5 heures ininterrompues 100 microlitres de larmes. On a effectué les recueils avec une micropipette dans le canthus externe, sous observation avec lampe-a-fente pour éviter l'irritation de l'oeil par contact.

Au moyen de la méthode d'immunodiffusion radiale, on a pu déterminer les concentrations et les déviations standards de l'IgG, de l'IgA et 5.4 ± 2.3 mg./100 ml. pour l'IgG, de 24.3 ± 12.6 mg./100 ml. pour l'IgA, et de 3.6 ± 1.4 pour l'IgM.

ENGLISH SUMMARY: In almost all publications that have appeared to date concerning lachrymal immunoglobulins, the tears used to deter-

mine the immunoglobulins were not from spontaneous secretions but were provoked by stimulation.

In this study, basal spontaneous tears were obtained from 10 healthy adults of both sexes. During an uninterrupted period of 5 hours, 100 microliters of tears were taken from each subject. The extraction was made with a micropipette and was taken from the external cathus, under observation through a slit-lamp in order to avoid irritation of the eye by contact.

Using the radial immunodiffusion method, the concentrations and standard deviations of IgG, IgA and IgM were determined. The results were as follows: IgG 5.4 ± 2.3 mg/100 ml; IgA 24.3 ± 12.6 ml. nd IgM 3.6 ± 1.4 mg/100 ml.

Las glándulas exocrinas excretan diversas inmunoglobulinas que en parte proceden de las existentes en la sangre, y en parte son sintetizadas en los elementos linfoplasmocelulares de las propias glándulas. Se cree que estas inmunoglobulinas excretorias desempeñan un importante papel en la defensa inmunológica de piel y mucosas.

La *IgG* es la inmunoglobulina más abundante en la sangre. En el recién nacido sus valores séricos son de 1.200 mg./100 ml., iguales a los maternos; al año bajan a 750, a los 5 años suben a 1.000, a los 10 años a 1.100, y en el adulto llegan a 1.200.

La misión de la *IgG* es neutralizar las toxinas bacterianas y fijarse a los microorganismos para facilitar su fagocitosis. Parece ser que desde la sangre pasa fácilmente a las secreciones exocrinas por difusión a través de los tejidos mucoglandulares. No obstante sus valores en las secreciones exocrinas son muy bajos en comparación con los del suero: en el moco nasal son el 4'55 % de las proteínas totales (HOBDAV et alii, 1971), y en la lágrima los valores más altos encontrados han sido de 79 mg. (BAZZI et alii, 1970). Cuando las mucosas se inflaman la secreción de *IgG* aumenta, de forma que sus niveles suben no solo en lágrima, por conjuntivitis, sino también en heces por

colitis (HANEBERG et alius, 1975), en saliva por gingivitis (BRANDTZAEG et alii, 1971), etc.

La *IgA* o falta o apenas es detectable en el suero del recién nacido. Al año alcanza 80 mg./100 ml.; a los 5 años, 110; a los 10 años, 150; y en el adulto, 200. Su misión parece que es recubrir los microorganismos e impedir que éstos se adhieran a las superficies celulares e inicien así la penetración de los tejidos.

(DEUSCHL et alius, 1974), en jugrinas se cree que se sintetiza en su totalidad o en su mayor parte en las células plasmáticas de las mucosas y epitelios glandulares (TOMASI et alii, 1965; HEREMANS et alii, 1966; KAGNOFF et alii, 1973). La *IgA* del suero es un monómero con constante de sedimentación 7S, y no está aun determinado en qué medida influye en la producción de la *IgA* de las secreciones exocrinas, en las cuales predominan los dímeros con constante de sedimentación 11S.

La *IgA* es la inmunoglobulina que predomina en todas las secreciones exocrinas del cuerpo humano, siendo sus valores bastante parecidos en las distintas secreciones: en moco nasal 22'8 mg./100 ml. (COHEN et alii, 1970), en saliva 19'4 (BRANDTZAEG et alii, 1971), en secreción bronquial 23'6 (DEUSCHL et alius, 1974), en ju-

go yeyunal 21'2 (DOUGLAS et alii, 1970), y en lágrima 21'9 (JORDANO et alii, 1973). Se ha constatado el aumento de la IgA en las mucosas inflamadas: en el jugo yeyunal (AGUS et alii, 1974), en heces (HANEBERG et alius, 1975). En la lágrima McCLELLAN et alii (1973) encuentran que las inflamaciones oculares aumentan los niveles de IgA, cosa que no ha podido ser corroborada por JORDANO et alii (1973).

La IgM alcanza en el suero del recién nacido valores de 10 mg./100 ml.; al año sube a 50; a los 5 años a 100; y así se mantiene ya en la vida adulta. Su función es aglutinante y citolítica.

La IgM tiene valores bajísimos en las secreciones externas, y así en la orina no ha podido ser encontrada (BURDON, 1970), y en la lágrima la mayoría de los investigadores tampoco han conseguido detectarla.

La IgD e IgE no son estudiadas en el presente trabajo. Sus valores séricos son de 0-40 y de 0,02 mg./100 ml. respectivamente. Sus misiones fisiológicas están por aclarar. En la lágrima y en las demás secreciones exocrinas normales o no se han encontrado o se han detectado tan solo indicios de ellas (ROWE et alii, 1968).

Cuando se intentan determinar los valores normales de las inmunoglobulinas en la secreción lacrimal fisiológica espontánea, el problema más importante que se presenta es la escasez de esta secreción, y la facilidad con que se provocan hipersecreciones al intentar recogerla. La producción lacrimal basal o espontánea de un ojo normal ronda los 5-10 microlitros por minuto. Ante un estímulo apropiado la cantidad de secreción puede

aumentar 50 o 100 veces. Por ello los investigadores que han intentado determinar las concentraciones de inmunoglobulinas en lágrima han procurado hacer la recogida de ésta de la forma menos agresiva posible a fin de no modificar sus valores. Así JORDANO et alii (1973) lo hacen colocando discos de papel absorbente en el saco conjuntival. McCLELLAN et alii (1973) y ALLANSMITH et alii (1976) con esponjas absorbentes, sin que quede aclarado si con ellas se provocó o no una hipersecreción por irritación mecánica. Otros autores buscan aumentar ligeramente la secreción lacrimal mediante técnicas poco agresivas, y así SAPSE et alii (1969) lo consiguen colocando un grano de cloruro sódico en el fornix conjuntival inferior, SEN et alii (1976) por deslumbramiento, y BRAUNINGER et alius (1971) impidiendo el parpadeo.

Por otra parte la secreción lacrimal que afluye al mare lacrimale no es uniforme. La glándula lacrimal principal está situada en el ángulo superolateral del saco conjuntival, mientras que las glándulas accesorias están esparcidas por el resto del saco. Incluso la secreción de las glándulas de Meibomius participa en la formación de la película lacrimal que baña la córnea y la conjuntiva expuesta. Por ello es posible que el contenido en inmunoglobulinas de la lágrima sea algo distinto según ésta se haya tomado de una u otra parte del mare lacrimale.

En el presente trabajo hemos intentado determinar las concentraciones de inmunoglobulinas G, A y M en la lágrima que podemos considerar más representativa, es decir, en la producida por un individuo normal, en circunstancias nor-

males, y recogida a nivel del espacio interpalpebral.

MATERIAL Y METODO

A diez individuos adultos, sanos, la mitad varones y la mitad hembras, se les tomaron 100 microlitros de lágrima a cada uno. Para la toma se colocó a cada paciente en la lámpara de hendidura, y bajo control fentobiomicroscópico, sin anestesia tópica, entre 8 a. m. y 1 p. m., a lo largo de 5 horas para cada uno, se le recogió lágrima en cantidad de cinco pipetas de 20 microlitros cada una. La toma se hizo del menisco lacrimal formado en el canto externo de la hendidura palpebral, usando para ello una micropipeta que se llenaba por capilaridad. En todo momento se procuró que la pipeta no tocara la conjuntiva bulbar a fin de evitar una hipersecreción lacrimal refleja; pese a las precauciones tomadas se tiene la impresión de que en algunos momentos se influyó con el inevitable contacto del parpadeo en la secreción, por lo que la lágrima tomada quizás no pueda considerarse plenamente como de secreción basal espontánea, aunque sí muy cercana a ella.

Las micropipetas así tomadas se guardaron a 4°C, y aproximadamente dos semanas tras la toma se determinó su contenido en inmunoglobulinas, G, A y M por el método de inmunodifusión radial de MANCINI et alii (1965). Para ello se utilizaron inmunoplasmas del Instituto Behring S. A., modalidad LC-Partigén, conteniendo agar-gel y el antisuero específico frente a las inmunoglobulinas a determinar. Las inmunoplasmas, una vez colocados 20 microlitros de lágrima en cada respectivo pocillo, fueron incubadas

durante 3 días, al final de los cuales se hicieron las lecturas de los halos de difusión. Para la IgA se usó un estándar de IgA sérica, se dobló el tiempo de incubación a fin de que las moléculas de IgA exocrina, más pesadas, completasen su difusión, y se aplicó al cálculo el coeficiente de corrección correspondiente.

Las concentraciones de inmunoglobulinas obtenidas fueron las siguientes:

Caso Nº	IgG	IgA	IgM
1	4'4	23'0	3'6
2	6'6	12'5	2'8
3	5'8	16'0	2'2
4	5'8	24'0	4'0
5	10'7	18'0	4'0
6	3'2	58'0	6'0
7	6'6	25'0	5'0
8	2'6	25'0	3'6
9	3'4	24'6	1'1
10	5'0	16'9	3'2
Media	5'41	24'30	3'61
Desviación típica	± 2'34	± 12'65	± 1'41

Tabla I. Valores de IgG, IgA e IgM expresados en mg./100 ml, determinados en la lágrima basal de diez individuos normales.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En la tabla siguiente exponemos los valores de las inmunoglobulinas lacrimales halladas por diversos investigadores. En ella incluimos los encontrados por nosotros

INMUNOGLOBULINAS EN LAGRIMA , EXPRESADAS EN mg/100 ml

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
1963 CHODIRKER et alii	0'00	7'00	----	----	----
1968 BRACCIOLINI	indic.	85'00	0'00	----	----
1968 BARNETT	3'00	31'00	1'00	----	----
1969 LITTLE et alii	indic.	21'00	----	----	----
1970 BAZZI et alii	79'00	23'00	0'00	----	----
1971 BRAUNINGER et alius	-----	8'8-50	----	----	indic.
1973 JORDANO et alii	-----	21'97	----	----	----
1973 McCLELLAN et alii	14'00	17'00	0'00 ⁺	0'00	0'025
1976 ALLANSMITH et alii	-----	-----	----	----	0'00061
1976 SEN et alii	indic.	24'60	0'00 ⁺⁺	0'00	----
1976 Presente estudio	5'41	24'30	3'61	----	----

---- = no determinado.

Indic. = indicios.

+ = entre 61 individuos solo encontró 2 con valores entre 5'00 y 7'00. mg./100 ml.

++ = entre 50 individuos solo encontró uno con indicios.

En la lágrima de secreción espontánea hemos encontrado para la *IgG* unos valores medios de 5'4 mg./100 ml., cifras éstas muy cercanas a las de BARNETT (1968), pero muy dispares de las de la mayoría de los autores que o no las encuentran o solo detectan indicios, y de las de BAZZI et alii (1970) que hallan valores de 79 mg.

Para la *IgA* encontramos unos valores medios de 24'3 mg./100 ml., lo cual concide con lo hallado por la mayoría de los investigadores.

Para la *IgM* nuestros valores medios fueron de 3'6 mg./100 ml. BARNETT es el autor que más se acerca

a estas cifras, dando 1 mg. La mayoría de los autores o no la encuentran (BRACCIOLINI, 1968; SAPSE et alii, 1969; BAZZI et alii, 1970) o solo lo hacen en casos aislados (McCLELLAN et alii en 2 casos de 61; SEN et alii en 1 caso de 50)

BIBLIOGRAFIA

AGUS, S. G.; FALCHUK, Z. M.; SESSOMS, C. S.; WYATT, R. G. & DOLIN, R.: "Increased jejunal IgA synthesis in vitro during acute infectious nonbacterial gastroenteritis". Amer. J. Dig. Dis. 19:127 (1974)

ALLANSMITH, M. R.; HAHN, G. S. & SIMON, M. A.: "Tissue. tear, and

serum IgE concentrations in vernal conjunctivitis". *Amer. J. Ophthal.* **81**:506 (1976)

BARNETT, E. V.: "Quantitation of immunoglobulins and L-chains by complement fixation tests". *J. Immunol.* **100**:1093 (1968)

BAZZI, C.; CATTANEO, R.; MIGONE, V. & FARMA, M.: "Further observations on immunoglobulins of external secretions". *Prog. Immunobiol. Stand.* **4**:333 (1970)

BRACCIOLINI, M. R.: "Le immunoglobuline nelle lacrime". *Ann. Ottal. e Clin. Ocul.* **94**:490 (1968)

BRANDTZAEG, P.: "Human secretory immunoglobulins. II. Salivary secretions from individuals with selectively excessive or defective synthesis of serum immunoglobulins". *Clin. exp. immunol.* **8**:69 (1971)

BRAUNINGER, G. E. & CENTIFANTO, Y. M.: "Immunoglobulin E in human tears". *Amer. J. Ophthal.* **72**:558 (1971)

BURDON, D. W.: "Quantitative studies of urinary immunoglobulins in hospital patients, including patients with urinary tract infection". *Clin. exp. Immunol.* **6**:189 (1970)

COHEN, A. B.; GOLDBERG, S. & LONDON, R. L.: "Immunoglobulins in nasal secretions of infants". *Clin. exp. Immunol.* **6**:753 (1970)

CHODIRKER, W. B. & TOMASI, T. B.: "Gammaglobulins: Quantitative relationships in human serum and non-vascular fluids". *Science* **142**: 1080 (1963)

DEUSCHL, H. & JOHANSSON, S. G. O.: "Immunoglobulins in tracheo-bronchial secretion with special reference

to IgE". *Clin. exp. Immunol.* **16**:401 (1974)

DOUGLAS, A. P.; CRABBÉ, P. A. & HOBBS, J. R.: "Immunochemical studies of the serum, intestinal secretions and intestinal mucosa in patients with adult celiac disease and other forms of the celiac syndrome". *Gastroenterology.* **59**:414 (1970)

HANEBERG, B. & AARSKOG, D.: "Human faecal immunoglobulins in healthy infants and children, and in some with diseases affecting the intestinal tract or the immune system". *Clin. exp. Immunol.* **22**:210 (1975)

HEREMANS, J. F.; CRABBÉ, P. A. & MASSON, P. L.: "Biological significance of exocrine gamma A immunoglobulin". *Acta med. scand.*, 179 supplement. 445, 84 (1966)

HOBDAY, J. D.; CAKE, M. & TURNER, K. J.: "A comparison of the immunoglobulins IgA, IgG and IgE in nasal secretions from normal and asthmatic children". *Clin. exp. Immunol.* **9**:577 (1971)

JORDANO, J.; CERES, J. & PEÑA, J.: "Estudio cuantitativo de la inmunoglobulina A en lágrima humana". *Rev. Clín. Españ.* **130**:481 (1973)

KAGNOFF, M. F.; SERFILIPPI, D. & DONALDSON, R. M.: "In vitro kinetics of intestinal secretory IgA secretion". *J. Immunol.* **110**:297 (1973)

KIELAR, R. A.; CUNNINGHAM, G. C. & GERSON, K. L.: "Occurrence of herpes zoster ophthalmicus in a child with absent immunoglobulin A and deficiency of delayed hypersensitivity". *Amer. J. Ophthal.* **72**:555 (1971)

LITTLE, J. M.; CENTIFANTO, Y. M. & KAUFMAN, H. E.: "Immunoglobulins in human tears". *Amer. J. Ophthal.* **68**:898 (1969)

MANCINI, G.; CARBONARA, A. O. & HEREMANS, J. F.: "Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion". *Immunochemistry* **2**:235 (1965)

McCLELLAN, B. H.; WHITNEY, Ch. R.; NEWMAN, L. P. & ALLANSMITH, M. R.: "Immunoglobulins in tears". *Amer. J. Ophthal.* **76**:89 (1973)

ROWE, D. S.; CRABBÉ, P. A. & TURNER, M. W.: "Immunoglobulin D in serum, body fluids and lymphoid tissues". *Clin. exp. Immunol.* **3**:477 (1968)

SAPSE, A. T.; BONAVIDA, B.; STONE, W. & SERCARZ, E. E.: "Proteins in Human Tears. Immunoelectrophoretic Patterns". *Arch. Ophthal. Chicago* **81**:815 (1969)

SEN, D. K.; SARIN, G. S.; MANI, K.: & SAHA, K.: "Immunoglobulins in tears of normal Indian people". *Brit. J. Ophthal.* **60**:302 (1976)

TOMASI, T. B.; TAN, E. M.; SOLOMON, A. & PRENDERGAST, R. A.: "Characteristics of an immune system common to certain external secretions". *J. Exp. Med.* **121**:101 (1965)

La petición de separatas hágase a los autores, al Departamento de Oftalmología de la Facultad de Medicina de La Laguna - Tenerife (España)