

## ZONULOSIS ENZIMATICA

(NOTA PREVIA) \*

POR

JOAQUIN BARRAQUER M., M. D.

Barcelona, España.

Los conocidos inconvenientes de la extracción del cristalino por el método extracapsular, las dificultades de la extracción intracapsular motivadas por la resistencia zonular a las tracciones, especialmente en pacientes jóvenes, y las complicaciones que por este motivo se presentan, tales como roturas capsulares, pérdidas de vítreo, iridociclitis traumáticas y desprendimientos de la retina, han dado lugar a que, por diversos autores, se hayan recomendado distintos procedimientos de zonulotomía (*Stock, Lopes D'Andrade, Kirby, Larmande, etc.*).

Desde hace tiempo habíamos encaminado nuestras investigaciones hacia la consecución de una "zonulotomía" por medios químicos. El azar nos favoreció, como sucede a menudo en el campo de la investigación y así, el inyectar una solución de  $\alpha$ -quimotripsina al 1/500 en la cámara vítrea de un paciente con una hemorragia masiva en el vítreo que no se había reabsorbido después de un año de tratamiento, observamos, al efectuar la primera cura tres días después, que el cristalino se había luxado en el vítreo (28-V-57).

La  $\alpha$ -quimotripsina es un enzima proteolítico de acción semejante a la tripsina pero que difiere de esta por su mecanismo íntimo de actuación hidrolítica que le confiere cierta especificidad. Del páncreas de ternera pueden obtenerse, por activación del quimotripsinógeno mediante tripsina, varios tipos de quimotripsina (alfa, beta, gamma, delta y pi). La  $\alpha$ -quimotripsina posee mayor difusión y estabilidad que los otros tipos. Al igual que la tripsina cristalizada, es una endopeptidasa y está dotada de acción fibrinolítica y proteolítica. Difiere de la tripsina en que esta ataca los enlaces

\* Comunicación a la Real Academia de Medicina de Barcelona el 8 de abril de 1958.

peptídicos inmediatos a los aminoácidos básicos arginina y leucina, mientras que la  $\alpha$ -quimotripsina ataca los enlaces inmediatos a los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina, triptófano, así como la metionina, norleucina y norvalina.

La  $\alpha$ -quimotripsina tiene una más amplia capacidad proteolítica que la tripsina debido a que actúa también como exopeptidasa, hidrolizando aminoácidos externos que tienen un grupo amínico (aminopeptidasa). Tiene también acción esterásica sobre distintos ésteres como los del ácido fenilacético. Al parecer posee también acción desmolásica en algunos tipos de estructuras moleculares.

En el preparado comercial "Quimotrase",\* utilizado en nuestras investigaciones, la  $\alpha$ -quimotripsina es obtenida del páncreas bovino según la técnica de Kunitz y purificada hasta cristalización, después de haber sido dializada y liofilizada. Se disuelve en solución fisiológica de cloruro sódico en el momento de ser utilizada.

La luxación del cristalino anteriormente reseñada, nos sugirió que la  $\alpha$ -quimotripsina podría ser la substancia buscada por nosotros durante años anteriores y, al objeto de comprobar que dicha luxación no era debida al efecto mecánico del lavado, llevamos a cabo la siguiente:

#### LABOR EXPERIMENTAL

1º En Conejos.—Procedimos a inyectar soluciones de  $\alpha$ -quimotripsina, cuyas concentraciones oscilaban del 1/500 al 1/2.000, a una serie de conejos. En cada uno de ellos practicamos un lavado de la cámara anterior, en un ojo con la solución de  $\alpha$ -quimotripsina y en el otro con suero fisiológico. Para la punción de la cámara anterior utilizamos la aguja de Amsler y la misma técnica para todos los lavados. Se inyectaron antibióticos y antihistamínicos por vía intramuscular.

Catorce horas después y bajo anestesia general por vía endovenosa, procedimos a la exploración biomicroscópica y oftalmoscópica de los globos oculares de todos los conejos y a la extracción del cristalino en algunos de ellos. En todos los casos pudimos comprobar que la córnea estaba completamente transparente, que el iris, de aspecto normal, reaccionaba bien a la luz, que el cristalino se mantenía "in situ" sin tremulación y conservando su transparencia, que el fondo ocular continuaba normal y que el ojo, en suma, se mantenía completamente tranquilo.

\* Preparado por "Laboratorio P. E. V. Y. A.", Molins de Rey (Barcelona).

## ZONULOSIS ENZIMATICA

A pesar de que en ningún caso se había luxado ni subluxado el cristalino, al proceder a su extracción mediante ventosa, en los globos en que la *a*-quimotripsina se inyectó a mayor concentración, la zónula parecía romperse con mayor facilidad que en el ojo testigo. Sin embargo, las pruebas de resistencia zonular no fueron concluyentes.

En otros lotes de conejos, en los que no efectuamos la extracción del cristalino sino al cabo de diferentes períodos de tiempos, y en los que las concentraciones de *a*-quimotripsina fueron más fuertes, tampoco pudimos comprobar alteraciones inflamatorias ni degenerativas.

De esta experimentación en conejos no pudimos sacar conclusiones positivas respecto a la acción del fermento sobre la zónula, probablemente por su diferente estructura en relación a la humana. En cambio, quedó demostrada su inocuidad para las estructuras intraoculares.

2º En *ojos humanos enucleados*.—Todos estos ojos procedían de cadáveres y fueron enucleados antes del término de seis horas después del óbito.

a) En un lote de globos procedimos al lavado de la cámara anterior con soluciones de *a*-quimotripsina a diversas concentraciones y, con la misma técnica, al lavado del ojo congénere con suero fisiológico. Pudimos comprobar, en todos los casos, la luxación o subluxación del cristalino en el ojo tratado con *a*-quimotripsina, y la integridad zonular en el ojo testigo. Siempre, lo mismo la cápsula cristaliniana que la membrana hialoidea, se conservaron íntegras. Tampoco se presentaron alteraciones a nivel de la córnea ni del iris.

De la mayoría de estos casos disponemos de piezas anatomopatológicas, en las que puede comprobarse la ausencia de lesiones.

b) A partir de otro lote, preparamos diversas parejas de globos, cada una de ellas correspondiente al mismo cadáver, de la siguiente manera: la córnea y el iris fueron extirpados y la esclerótica suturada a un anillo metálico, algo por delante del ecuador del globo, resecaando a continuación el resto de esclerótica un poco por detrás de dicho anillo; esta técnica debe ser realizada con sumo cuidado para evitar roturas zonulares de origen mecánico. De cada pareja de globos así preparados, uno fue sumergido en una solución de *a*-quimotripsina y el otro en suero fisiológico. Las soluciones de *a*-quimotripsina oscilaban del 1/5.000 al 1/50.000. Las soluciones al 1/50.000 se mostraron completamente ineficaces, las otras concentraciones produjeron una lisis zonular con caída espontánea del cristalino a las pocas horas (3-4 horas por término medio). Los ojos testigo permanecieron inalterados.

3) "*In vivo*", en globos humanos funcionalmente inútiles.—Comprobada la inocuidad del método en diversos lotes de animales, y la falta de alteraciones anatomopatológicas en las membranas endoculares de los ojos humanos enucleados, procedimos al lavado, con soluciones de *a*-quimotripsina, de la cámara anterior de ojos humanos funcionalmente inútiles por lesiones del fondo ocular, y con polo anterior normal. Esto lo realizamos aprovechando que el ojo congénere debía ser intervenido, y bajo protección con antibióticos, antihistamínicos y esteroides antiinflamatorios. La técnica utilizada fue idéntica a la descrita anteriormente.

Los resultados obtenidos variaron en relación a las concentraciones del producto:

a) Al 1/1.000. Dos casos. Primer caso: después del lavado camerular el paciente permaneció en reposo con vendaje binocular. La primera exploración la realizamos doce horas más tarde comprobando la luxación del cristalino. Segundo caso: consecutivamente al lavado camerular, la pupila fue dilatándose hasta que el globo alcanzó aspecto de anirídico. A los diez minutos el cristalino estaba trémulo. Dos horas más tarde flotaba sobre la membrana hialoidea.

b) Al 1/30.000. Tres casos. Media hora después del lavado no pudimos comprobar ninguna tremulación del cristalino. Practicamos la extracción con ventosa y nos pareció que la zónula era algo menos resistente que la del ojo congénere operado durante el intervalo de espera. Sin embargo, no pudimos llegar a ninguna conclusión definitiva, excepto en lo que a la ausencia de alteraciones en el resto del globo se refiere.

c) Al 1/20.000 y al 1/10.000. Seis casos. Las conclusiones fueron las mismas que las que obtuvimos utilizando concentraciones al 1/30.000.

d) Al 1/5.000. Veinte casos. Aquí iniciamos dos variantes en la técnica del lavado. En la primera éste se realizó por detrás del iris, para conseguir una acción más directa sobre la zónula, mediante una cánula roma pasada a través de una paracentesis limbar y, sucesivamente, a través de la pupila. Quince-veinte minutos después (según la duración de la intervención en el otro ojo) comprobamos la tremulación del cristalino. Al realizar la extracción pudimos comprobar que el cristalino estaba suelto, reposando sobre la hialoides íntegra. No se presentaron alteraciones de ninguna clase en el resto del globo, observables por biomicroscopía, ni en el período postoperatorio inmediato, ni en el tardío.

En la segunda variante efectuamos el lavado después de haber tallado

## ZONULOSIS ENZIMATICA

el colgajo córneoescleroconjuntival, y lo repetimos después de la iridectomía. Colocamos tres puntos previos, para ganar tiempo mientras la substancia actuaba, practicando a continuación un tercer lavado. Con esta técnica comprobamos que el resultado obtenido era similar al de la variante anterior, por lo que parece ser la de elección.

Como resultado de estas experiencias, hemos sistematizado la siguiente:

### TECNICA OPERATORIA

- 1) Buena anestesia general potencializada.
- 2) Incisión córneoescleroconjuntival.
- 3) Lavado con solución de *a*-quimotripsina al 1/5.000 (se añaden 5 c. c. de suero fisiológico al frasco que contiene la *a*-quimotripsina cristalizada, se toma un c. c. de la solución, que a su vez se diluye en 4 c. c. de suero).
- 4) Iridectomía periférica.
- 5) Nuevo lavado a través de la misma.
- 6) Colocación de tres puntos córneoesclerales con seda virgen.
- 7) Nuevo lavado (facultativo).
- 8) Extracción con ventosa, vacío inferior a 40 cm. Hg.
- 9) Lavado con aceticolina para contraer la pupila.
- 10) Sutura complementaria (4 puntos córneoesclerales).
- 11) Inyección de aire en cámara anterior.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Nuestra casuística es aún muy reducida para poder sentar conclusiones definitivas. Sin embargo, en todos los casos, hemos podido comprobar durante la operación, y junto a la lisis zonular, la absoluta integridad de la membrana hialoidea y de la cápsula cristaliniiana.

El curso postoperatorio ha sido siempre completamente normal, no ha-

## ZONULOSIS ENZIMATICA

el colgajo córneoescleroconjuntival, y lo repetimos después de la iridectomía. Colocamos tres puntos previos, para ganar tiempo mientras la substancia actuaba, practicando a continuación un tercer lavado. Con esta técnica comprobamos que el resultado obtenido era similar al de la variante anterior, por lo que parece ser la de elección.

Como resultado de estas experiencias, hemos sistematizado la siguiente:

### TECNICA OPERATORIA

- 1) Buena anestesia general potencializada.
- 2) Incisión córneoescleroconjuntival.
- 3) Lavado con solución de  $\alpha$ -quimotripsina al 1/5.000 (se añaden 5 c. c. de suero fisiológico al frasco que contiene la  $\alpha$ -quimotripsina cristalizada, se toma un c. c. de la solución, que a su vez se diluye en 4 c. c. de suero).
- 4) Iridectomía periférica.
- 5) Nuevo lavado a través de la misma.
- 6) Colocación de tres puntos córneoesclerales con seda virgen.
- 7) Nuevo lavado (facultativo).
- 8) Extracción con ventosa, vacío inferior a 40 cm. Hg.
- 9) Lavado con aceticolina para contraer la pupila.
- 10) Sutura complementaria (4 puntos córneoesclerales).
- 11) Inyección de aire en cámara anterior.

### RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Nuestra casuística es aún muy reducida para poder sentar conclusiones definitivas. Sin embargo, en todos los casos, hemos podido comprobar durante la operación, y junto a la lisis zonular, la absoluta integridad de la membrana hialoidea y de la cápsula cristaliniiana.

El curso postoperatorio ha sido siempre completamente normal, no ha-

biéndose observado reacciones inflamatorias de las estructuras vecinas ni alteraciones de los medios transparentes.

Nuestras experiencias nos inducen a creer que la zonulolisis enzimática abre un nuevo camino en la cirugía del cristalino que permitirá la facoéresis en todas las edades, desplazando las extracciones extracapsulares y eliminando, por lo tanto, las retracciones capsulares, las cataratas secundarias y las sinequias iridocapsulares de una parte y, de otra, las distintas técnicas de zonulotomía, las roturas capsulares, los desprendimientos de retina por tracción excesiva para romper la zónula, las reacciones inflamatorias del cuerpo ciliar por traumatismo mecánico y las pérdidas de vítreo debidas a las maniobras de presión-tracción destinadas a conseguir la ruptura zonular.

La extracción total del cristalino transparente en la alta miopía se podrá realizar en todas las edades, eliminándose la clásica operación de Sperino-Fukala-Vacher con todos sus inconvenientes. Los supuestos peligros de desprendimiento de retina disminuirán al ser suprimidas las tracciones necesarias para romper la zónula mecánicamente.

En una próxima comunicación presentaremos amplia y demostrativa documentación gráfica.

#### S U M M A R Y

The author has discovered a lytic action of a proteolytic enzyme on the zonule. It deals with *a*-chymotrypsin, an endopeptidase grafted with fibrinolytic and proteolytic action.

This substance, injected in the anterior chamber of the human eye, seems to have a selective lytic action on the zonule, while respecting the remaining endocular structures. This action is made evident by the sublaxation of the lens a few minutes after the zonulocamerular irrigation with this enzyme. When the lens has been extracted, the author has noted by means of biomicroscopy during the post-operative period the absence of corneal, irideal, hyaloid, retinal etc., alterations, which can be attributed to said ferment or enzyme.

The author believes that enzymatic zonulolysis opens a new surgical field of the crystalline lens seeing that:

- 1) The intracapsular extraction is possible at any age, which.
- 2) Renders extracapsular extractions unnecessary and in consequence its inherent complications are not presented, such as:
  - capsular retraction;
  - secondary cataract;
  - iridocapsular synechiae.
- 3) The following accidents that sometimes occur during and after intracapsular extractions are eliminated:
  - tearing of the capsule;

## ZONULOSIS ENZIMATICA

- iridocyclitic operational injuries;
  - loss of vitreous humor due to push and-pull manœuvres employed for the extraction;
  - retinal detachment due to excessive tractive efforts as mentioned above.
- 4) It advantageously substitutes the mechanical zonulotomy technique employed up to the present.

Muntaner 314, Barcelona