

CRISTALIZACIÓN NORMAL DE LA LÁGRIMA DEL PERRO

Autores: F. J. Puerta, R. Barrera, A. Jiménez, C. Mañé, S. Andrés, J. Sánchez, C. Zaragoza y M. Benito.

Dirección: Departamento de Medicina y Sanidad Animal. Universidad de Extremadura. Avenida de la Universidad, s/n. 10071 Cáceres.

Palabras clave: Cristalización. Lágrima. Perro.

RESUMEN

Se determina el tipo de cristalización lagrimal en 50 perros carentes de patología ocular, 31 machos y 19 hembras, con edades comprendidas entre 16 y 120 meses. En todos los casos se observa una forma de cristalización muy homogénea y semejante. Concretamente en el 98% de las muestras, la lágrima cristaliza según el tipo II de cristalización de acuerdo a la clasificación realizada por Rolando en 1984 para la especie humana. El 2% restante presenta una cristalización intermedia entre los tipos I y II de dicha clasificación.

SUMMARY

Lacrimal crystallization was analyzed in tears from 50 dogs without any eye disease, 31 male and 19 female with ages between 16 and 120 months. A similar kind of crystallization was found in all the cases. In the 98% of the samples, tear crystallized in type II according to the classification made by Rolando for human beings in 1984. A sort of intermediate crystallization the types I and II was found in the rest.

INTRODUCCIÓN

La cristalización es un fenómeno físico muy característico de la lágrima. Su examen, realizado en oftalmología humana, es de fácil valoración e interpretación y permite un diagnóstico rápido de las anomalías lagrimales, además de servir de método complementario en el diagnóstico de queratitis secas (1).

Esta propiedad de la lágrima se produce por fenómenos todavía desconocidos, aunque es probable que influyan diversos factores tales como el tipo de proteínas lagrimales, su cantidad y contenido iónico (1, 2). Si bien algunos autores indican que la capa mucosa del film lagrimal contribuye a este proceso, se ha demostrado que no es así (1).

Rolando (2) establece para la lágrima humana cuatro tipos diferentes de cristalización:

– Tipo I: muestra una arborización uniforme en hojas de helecho, con un tronco bastante rígido y una ramas muy próximas entre sí y perpendiculares al tronco, que ocupan la totalidad del campo de observación, sin espacio entre las hojas.

– Tipo II: algo parecido al tipo I, pero las hojas de helecho son pequeñas, menos ramificadas y con grandes espacios entre ellas.

– Tipo III: con hojas en helecho aún más pequeñas incompletamente formadas, partidas y con escasa o ausente arborización. Aparecen cristales de diferente morfología y grandes espacios libres.

- Tipo IV: no se observa ningún tipo de cristalización y aparecen residuos y estructuras amorfas.

Este autor (2) establece que el 82,7% de las lágrimas normales cristalizan según los tipos I y II, mientras que las formas III y IV se observan en el 91,7% de los pacientes con queratoconjuntivitis seca. En casos de disproteinemias se observa una cristalización intermedia entre los tipos I y II, en la que los nervios de las hojas son más gruesos y curvados (2).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se determina el tipo de cristalización en 50 perros adultos: 33 machos y 19 hembras, carentes de patología ocular, procedentes de particulares y de las Consultas Públicas de Patología Médica y de Cirugía del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura, de diferentes razas y con edades comprendidas entre 18 y 120 meses. En todos ellos se realizó un test de Schirmer para comprobar que la secreción lacrimal es cuantitativamente normal, y una determinación de proteínas totales.

La extracción de la lágrima se realiza por capilaridad previa estimulación con vapores de cebolla, lo que produce un ligero aumento de la secreción lagrimal durante un tiempo aproximado de treinta segundos. La lágrima recogida en cada animal (cantidad media = 50 µl) se centrifuga a 9.000 r.p.m. durante cinco minutos con el fin de eliminar las posibles impurezas existentes. Con el sobrenadante se realiza la determinación de las proteínas totales lagrimales y la cristalización lagrimal. Las proteínas totales se cuantifican según el método de Lowry *et al.* (3) utilizando como patrón distintas diluciones de seroalbúmina bovina cristalizada (Laboratorios «MERK»). Para la cristalización lagrimal se utilizan 1-2 µl de sobrenadante, volumen suficiente para formar una

gota de 2-3 mm de diámetro que se coloca sobre un portaobjetos perfectamente limpio y desengrasado. Se mantiene a temperatura ambiente durante 5-10 minutos y se observa la gota en el microscopio.

El examen microscópico debe realizarse entre el centro y la periferia de la gota, pues la hiperosmolaridad de la región central y el efecto de los bordes pueden desfigurar el tipo de cristalización.

RESULTADOS

Los valores individuales obtenidos en el presente trabajo para el test de Schirmer oscilan entre 7 y 25 mm para el ojo derecho y entre 7 y 27 mm para el izquierdo. En el correspondiente estudio estadístico se aprecia una secreción lagrimal media de 15 ± 4 mm. Los valores obtenidos para ambos ojos por separado son de 15 ± 4 mm para el derecho y 16 ± 5 mm para el izquierdo (Tabla I).

En cuanto a las proteínas totales, la cifra media encontrada es de $0,6 \pm 0,3$ g/dl, con un valor mínimo de 0,1 g/dl y otro máximo de 1,2 g/dl (Tabla II).

Tabla I.-Parámetros descriptivos globales de los valores del test de Schirmer, expresados en mm (TSD: test de Schirmer en el ojo derecho; TSI: test de Schirmer en el ojo izquierdo; TST: test de Schirmer en ambos ojos. D.E.R y Coef. Var. se expresan en %).

	TSD	TSI	TST
N.º	50	50	100
Media	15	16	15
D.E.	4	5	4
D.E.R.....	27	31	27
Coef. Var.	27	30	29
Vmáx.	25	27	27
Vmín.	7	7	7
Rango	18	20	20

Tabla II.—Parámetros descriptivos de los valores de proteínas totales globales, en hembras y en machos, expresados en g/dl (D.E.R. y Coef. Var. se expresan en %).

	Total	Hembras	Machos
Nº	50	19	31
Media	0,6	0,6	0,5
D.E.	0,3	0,2	0,2
D.E.R.	5	3	4
Coef. Var.	46,9	28,3	46,0
Vmax.	1,2	0,8	1,2
Vmin.	0,1	0,2	0,1
Rango	1,1	0,6	1,1

En todos los casos se observa una cristalización lagrimal muy homogénea y semejante.

En 49 muestras (98% del total) la lágrima presenta, de forma clara e inconfundible, el tipo II de cristalización según la clasificación de Rolando (2). Como se ha explicado previamente este tipo se caracteriza por su aspecto en forma de arborización uniforme en hojas de helecho, no excesivamente ramificadas y de pequeño tamaño, dejando grandes espacios entre ellas. Las ramas de las hojas se disponen perpendicularmente al tronco y paralelas entre sí (Fig. 1).

Por último, en un solo perro (2%) la lágrima presenta una forma de cristalización intermedia entre los tipos I y II de la clasificación de Rolando (2), que se caracteriza por hojas de helecho mayores que en el tipo I, con ramas muy próximas entre sí que ocupan la casi totalidad del campo de observación sin espacio entre las hojas (Fig. 2).

DISCUSIÓN

Comprobar que la secreción lagrimal es cuantitativamente normal constituye un paso fundamental y previo para establecer la cris-

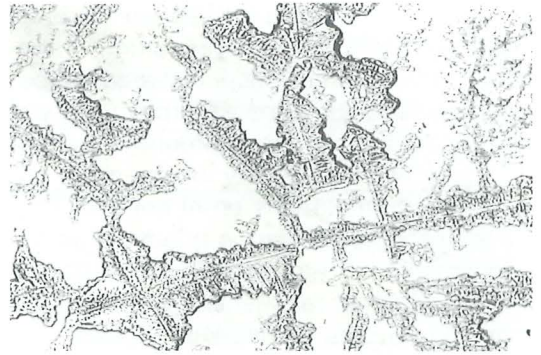


Figura 1.—Cristalización de la lágrima tipo II, observada por microscopia (x400).

talización lagrimal normal del perro. Así, el valor medio obtenido para el test de Schirmer es algo inferior al obtenido por otros autores como Rubin *et al.* (4) que aportan una media de 19,80 mm, Gelatt (5), que obtiene una media de 21 mm y Slatter (6) con $19,8 \pm 5,3$ mm. Se encuentra comprendido dentro del rango señalado por Helper (7), Sanson y Barnett (8) y Barnett y Sanson (9), cuyos valores medios encontrados son de 15,00 a 20,00 mm. Por último, es muy semejante al valor medio obtenido por Wyman (10), 15 mm, y ligeramente superior al encontrado por Barrera *et al.* (11), de $13,65 \pm 0,69$ mm. La variabilidad de los datos encontrados en la bibliografía no es fácil de explicar, aunque pueden influir una serie de factores tales



Figura 2.—Cristalización de la lágrima canina intermedia entre los tipos I y II, observada por microscopia (x400).

como: la variabilidad de las condiciones medioambientales de temperatura, humedad y presión atmosférica, la marca del papel empleado [Hawkins y Murphy (12)] y el tiempo de duración de la prueba. En el perro es de un minuto, muy inferior a los cinco minutos empleados en el hombre. Este menor espacio de tiempo puede influir negativamente en aquellos animales de secreción lagrimal más lenta, que necesitan más tiempo para humedecer el papel.

Para la determinación de las proteínas totales lagrimales se ha elegido el método de Lowry *et al.* (3) por su gran sensibilidad, de hasta 100 veces superior a la reacción de Biuret, lo que lo convierte en una técnica válida para medir cantidades muy pequeñas de proteínas (3). La bibliografía existente respecto a este parámetro lagrimal en el perro es muy escasa. Sólo disponemos de los valores aportados por Roberts y Erickson (13), que señalan una concentración proteica de 0,31 g/dl y los encontrados por Barrera *et al.* (14), de $0,63 \pm 0,04$ g/dl.

La diferencia entre ambos autores es considerable, aproximadamente el doble entre uno y otro. En nuestro caso, los valores son más próximos a los obtenidos por Barrera *et al.* (14). Esta diferencia entre los autores consultados puede ser debida a la influencia de dos factores. El primero de ellos es la técnica de extracción, que puede producir diferentes grados de irritación, que ocasionan una mayor o menor dilución de las proteínas totales, como consecuencia del lagrimeo reflejo que se produce. El segundo factor es la sensibilidad del método utilizado para su determinación. En este sentido, la exactitud del método de Lowry *et al.* (3) ha sido probada por numerosos autores en oftalmología humana (15, 16, 17, 18, 19).

Debido a que no existe bibliografía sobre la cristalización de la lágrima en el perro, hemos comparado nuestros resultados

con los obtenidos por Rolando (2) para la lágrima humana por su gran similitud.

En este sentido, el 98% de las muestras de lagrime cristalizaron según el tipo II de la clasificación de este autor y tan sólo un 2% presentó una cristalización intermedia entre los tipos I y II de acuerdo con esta misma clasificación. Ambos tipos se consideran normales en oftalmología humana.

Se desconocen los factores que influyen en la cristalización, aunque, como ya hemos comentado anteriormente, posiblemente ejerzan una importante influencia la concentración proteica, los diferentes tipos de proteínas presentes en la lágrima y su carga eléctrica, mientras que no parecen influir la cantidad de mucopolisacáridos que intervienen en su composición (1).

Consideramos que el establecimiento de un patrón normal de cristalización de la lágrima canina, es un paso muy importante en su posterior aplicación a diferentes patologías oculares, tal como se ha hecho en oftalmología humana.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) LIOTET, S.; MORIN, Y. (1988): Guide pratique des examens de laboratoire en ophtalmologie. Masson, Paris.
- (2) ROLANDO, M. (1984): Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. *Chibret Int. J. Ophthalmol.* 4: 32-39.
- (3) LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- (4) RUBIN, L.F.; LYNCH, R.K.; STOCKMAN, W.S. (1985): Clinical estimation of lacrimal function in dogs. *J.A.V.M.A.* 147: 946-947.
- (5) GELATT, K.N. (1991): Ophthalmic examination and diagnostic procedures. En. *Veterinary ophthalmology*. 2.^a ed. Gelatt, K.N. (ed.), pp. 195-236. Lea & Febiger, Philadelphia.
- (6) SLATTER, D.H. (1990): *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. 2.^a ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia.

- (7) HELPER, L.C. (1976): Keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Am. Ac. Ophthal. Otolaryngol.* 81: 624-628.
- (8) SANSON, J., BARNETT, K.C. (1985): Keratoconjunctivitis sicca in the dog: a review of two hundred cases. *J. Small Anim. Pract.* 26: 121-129.
- (9) BARNETT, K.C.; SANSON, J. (1987): Diagnosis and treatment of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Vet. Rec.* 120: 340-345.
- (10) WYMAN, M. (1988). Manual de oftalmología de los pequeños animales. Salvat Editores S.A., Barcelona.
- (11) BARRERA, R.; JIMÉNEZ, A.; MAÑÉ, M.C.; LÓPEZ, R.; MOLLEDA, J.M. (1991): Etude immunoelectrophorétique des larmes canines. *Rev. Méd. Vét.* 142: 389-393.
- (12) HAWKINS, E.C; MURPHY, Ch. J. (1986); Inconsistences in the absorptive capacities of schirmer tear test strips. *J.A.V.M.A.* 188: 511-513.
- (13) ROBERTS, S.R.; ERICKSON, O.F. (1962): Dog tear secretion and tear proteins. *J. Small Anim. Pract.* 3: 1-5.
- (14) BARRERA, R.; JIMÉNEZ, A.; LÓPEZ, R.; MAÑÉ, M.C.; RODRÍGUEZ, J.F.; MOLLEDA, J.M. (1992): Evaluation of total protein content in tears of dogs by polyacrylamide gel disk electrophoresis. *Am. J. Vet. Res.* 53: 454-456.
- (15) BLUESTONE, R.; EASTY, D.L.; GOLDBERG, L.S.; JONES, B.R; PETTIT, T.H. (1975): Lacrimal immunoglobulins and complement quantified by counter-immunoelectrophoresis. *Br. J. Ophthalmol.* 59: 279-281.
- (16) DOHLMAN, C.H.; FRIEND, J.; KALEVAR, V.; YAGODA, D.; BALAZS, E. (1976): The glycoprotein (mucus) content of tears from normal and dry eye patients. *Exp. Eye Res.* 22: 359-365.
- (17) GACHON, A.M.; VERRELLE, P.; BÉTAIL, G.; DASTUGUE, B. (1979): Immunological and electrophoretic studies of human tear proteins. *Exp. Eye Res.* 29: 539-553.
- (18) JOSEPHSON, A.S.; WEINER, R.S. (1968): Studies of the proteins of lacrimal secretions. *J. Immunol.* 100: 1080-1092.
- (19) ZAVARO, A.; SAMRA, Z.; BARYISHAK, R.; SOMPOLINSKY, D. (1980): Proteins in tears from healthy and diseased eyes. *Doc. Ophthalmol.* 50: 185-199.