

Marta Misiuk-Hojło i Magdalena Koziarowska

Antygeny siatkówkowe w schorzeniach narządu wzroku — znaczenie kliniczne testów diagnostycznych

Retinal antigens in ocular diseases — clinical value of diagnostic tests

Summary. Current review of data concerning the role of antigen S, IRBP and antigen CAR in various ocular diseases, including, uveitis of unknown etiology, birdshot choroidoretinopathy, vasculitis, diabetic retinopathy and retinitis pigmentosa.

Hasła: antygeny siatkówkowe, testy diagnostyczne
Key words: retinal antigens, diagnostic tests

Możliwość wywołania eksperymentalnych zapaleń naczyń siatkówkowo-siatkówkowych poprzez immunizację zwierząt doświadczalnych specyficznymi antygenami siatkówkowymi pozwala na rozważenie autoagresji jako przypuszczalnego czynnika sprawczego analogicznych chorób u ludzi^{14,16}. Dotyczyłoby to szczególnie trzech grup schorzeń: zapaleń naczyń, zapaleń siatkówki i retinopatii. Spośród wyizolowanych do chwili obecnej autoantygenów siatkówkowych znaczenie w badaniach klinicznych mają: antygen S, IRBP i antygen CAR (cancer associated retinopathy antigen)¹⁵.

Obecnie antygeny siatkówkowe wykorzystywane są w dwóch typach testów: w testach serologicznych i w testach odporności komórkowej. Dzięki metodom serologicznym można zmierzyć poziom przeciwciał siatkówkowych poprzez użycie antygenów w roztworze lub in situ, na preparatach histologicznych. Najczęściej wykonywaną metodą jest immunoenzymatyczna metoda ELISA ze względu na wysoką czułość, stosunkowo niski koszt odczynników i szybkość wykonania²⁶. Inną metodą jest immunotransfer ("Western blot"), w której różne białka oddzielane są za pomocą elektroforezy⁶. Większość przeciwciał osocza jest prawdopodobnie związana pod postacią kompleksów immunologicznych z jednej strony z antygenem, z drugiej zaś z przeciwciałami antyidiotypowymi. Technika immunotransferu pozwala na ewentualną identyfikację antygeny S w tych kompleksach¹³.

Metody immunohistochemiczne są często stosowane celem poszukiwania autoprzeciwciał. Polegają

one na wykrywaniu fiksacji przeciwciał chorego na preparatach histologicznych za pomocą przeciwciał przeciw immunoglobulinom ludzkim połączonych z markerem lub enzymem (np. peroksydazą).

Testy odporności komórkowej. W testach tych używa się jako antygenów wyciągów siatkówkowych lub oczyszczonego antygeny S. Jeśli limfocyty pacjenta są uczulone na antygen siatkówkowy; lub inkubacja in vitro z antygenem powoduje proliferację limfocytów — test transformacji limfoblastycznej oraz produkcję limfokin — test zahamowania migracji leukocytów. Test degranulacji bazyfilów: Komórki kwasochłonne pacjentów z zapaleniem naczyń siatkówkowo-siatkówkowym mogą ulec degranulacji w obecności antygeny S in vitro. Test ten, stosowany często w diagnostyce stanów alergicznych, bada fiksację specyficznych dla antygeny immunoglobulin E na błonie komórkowej bazyfilów. Jest on częściej pozytywny w nawrotach chorób zapalnych²⁰.

Odpowiedź immunologiczna na antygeny siatkówkowe w niektórych schorzeniach narządu wzroku. Dowody na komórkową odporność przeciwko bydłemu lub ludzkiemu AgS oraz IRBP w różnych typach stanów zapalnych naczyń siatkówkowych przedstawione zostały w badaniach wielu autorów, w tym *Nussenblatt*, *Forester* i *Doekesa*^{18,21,24}. Chociaż większość badaczy donosi o większej częstotliwości immunologicznych odpowiedzi komórkowych u chorych z zapaleniem naczyń siatkówkowych w porównaniu z grupą kontrolną, nie znaleziono wyraźnego związku między określoną jednostką chorobową a stanem odpowiedzi immunologicznej na antygen S lub IRBP. W jednej z prac stwierdzono nawet odpowiedź limfocytarną przeciwko antygenom siatkówkowym wywołaną in vitro za pomocą obwodowych komórek jednodąd-

rzastych u osób zdrowych⁴. Inni autorzy donoszą o jednakowej częstości występowania przeciwciał przeciw ludzkiemu i bydłemu AgS u pacjentów z różnymi formami zapaleń naczyń siatkówkowych i grupą kontrolną³. Większość badaczy stosowała bydłęcy AgS w swoich testach biorąc pod uwagę fakt, że jego struktura uważana jest za prawie niezmienną w procesie ewolucyjnym. *Nussenblatt* i wsp.¹⁷ przedstawili wyniki badań świadczące o wysokiej korelacji między reaktywnością na bydłęcy i ludzki antygen S. Jednakże, mimo znacznych podobieństw fizycznych i immunochemicznych własności tych antygenów, stwierdzono istotne różnice w ich budowie aminokwasowej. Obserwowano, iż przeciwciała reagowały silniej z homologicznymi (ludzkimi) antygenami. Wynikałoby z tego, iż należałoby używać ludzkich antygenów siatkówkowych do badań odpowiedzi immunologicznych u chorych z zapaleniami naczyń siatkówkowych. *Usitalo* i wsp. przebadali grupę 75 dzieci z ostrym i przewlekłym zapaleniem przedniego odcinka naczyń siatkówkowych. Znaleziono statystycznie znaczącą różnicę w poziomie przeciwciał przeciwko AgS między grupą osób z postacią przewlekłą schorzenia a grupą kontrolną. Jednakże różnicy tej nie stwierdzono w przypadku postaci ostrej, a także nie znaleziono korelacji między stopniem zaawansowania zmian zapalnych z poziomem przeciwciał²³. *Klass* i wsp. stwierdzili wyższą częstość występowania przeciwciał przeciwko AgS u chorych z zapaleniami naczyń siatkówkowych (zarówno w przednim jak i tylnym odcinku) nie znaleźli jednak korelacji specyficznej dla określonego typu stanu zapalnego¹⁰. *Froebel* i wsp. w grupie pacjentów z przewlekłym zapaleniem tylnego odcinka naczyń siatkówkowych nie znaleźli statystycznie znaczącego wzrostu poziomu przeciwciał przeciwko AgS w porównaniu z grupą kontrolną⁴. Notowane przez niektórych autorów rezultaty pozytywne omawianych testów w grupach kontrolnych mogą być artefaktem związanym ze stosowaniem przeciwciała anti-Ig w celu uzyskania fiksacji na płycie. Gdy zastąpi się je stafylokokowym białkiem A związanym z perodyktydą artefakty znikają i spada częstotliwość pozytywnych rezultatów w grupach osób zdrowych. Interesujące wydawały się wyniki testów badaczy holenderskich, którzy stwierdzili znacząco wysokie poziomy przeciwciał anty — AgS i anty — IRBP u chorych z onchocerkozą z Sierra Leone w porównaniu z endemiczną grupą kontrolną²⁴. dalsze badania wykazały jednak, że nie dotyczyło to tylko osób z zapaleniem naczyń siatkówkowo-siatkówkowym na tle onchocerkozy, ale również zakażonych filarią z Papuy i Nowej Gwinei i to niezależnie od tego czy infekcji towarzyszyły zmiany oczne. W grupie zapaleń naczyń siatkówkowych o określonej etiologii uwagę badaczy zwróciło również zapalenie na tle toksoplazmy. Istnieją sugestie, iż autoagresja siatkówkowa odgrywa istotną rolę w powstaniu zmian ocznych w tej chorobie¹. *Nussenblatt* i wsp. uzyskali 40% pozytywnych odpowiedzi in vitro na AgS u pacjentów z omawianym schorzeniem¹⁸. W choroidoretinopatii typu birdshot

w idiopatycznym zapaleniu naczyń siatkówkowych pozytywny test stymulacji limfocytów i test degranulacji bazyfilów z AgS wskazywały wartości znacznie wyższe w okresie poprzedzającym nawrót chorób, natomiast w okresie czynnym nie wykazywały istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną⁸. *Kasp* i wsp. stwierdzili w ostrym zapaleniu naczyń siatkówkowych niższy poziom przeciwciał AgS niż w grupie osób zdrowych, przy prawidłowym poziomie krążących kompleksów immunologicznych⁹. Mogłoby to wskazywać na uszkodzenie w regulacji autoagresji siatkówkowej i gdyby zostało potwierdzone w liczniejszych pracach, mogłoby pociągnąć za sobą istotne implikacje patogenetyczne. Poszukiwania etiologii zapalenia części pośredniej błony naczyń siatkówkowych badaczy do przetestowania odporności komórkowej na AgS u grupy pacjentów z tym schorzeniem. Znacznie wyższy procent tych chorych wykazał pozytywną odpowiedź komórkową na AgS niż grupa kontrolna i pacjenci z zapaleniem przedniego odcinka naczyń siatkówkowych. Fakt ten jest tym bardziej interesujący, iż dotyczył również tych chorych, u których nie obserwowano uszkodzenia siatkówki i naczyń siatkówkowych¹².

W retinopatii cukrzycowej poziom przeciwciał przeciw AgS podnosi się znacznie po fotokoagulacji i opada do poziomu wyjściowego po kilku miesiącach. Szereg prac podjęto celem wyjaśnienia roli antygenów siatkówkowych w wyrodnieniu barwnikowym siatkówki. W większości z nich wykazano wyższy poziom przeciwciał przeciw antygenom siatkówkowym niż w grupach kontrolnych^{7,25}. *Heredia Garcia* stwierdził również wzrost poziomu przeciwciał wraz z ewolucją retinitis pigmentosa. Analizy genów kodujących AgS, IRBP i transucynę nie wykazały delecji u żadnego pacjenta ze zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki¹⁹.

Przeciwciała przeciwsiatkówkowe znalezione zostały w osoczu chorych z zespołem CAR (cancer-associated retinopathy)^{6,11,22}. Rolę antygeny odgrywałoby tu białko o ciężarze cząsteczkowym 23 daltonów określane jako antygen CAR. Przeciwciała tych nie stwierdzono u osób z chorobą nowotworową bez utraty wzroku na tle tzw. retinopatii nowotworowej. Omawiane przeciwciała należą prawdopodobnie do cytotoksycznych immunoglobulin zdolnych do powodowania stopniowej utraty wzroku w wyniku reakcji autoimmunologicznych. Potwierdzenie tej hipotezy usprawiedliwiłoby konieczność ich wczesnego wykrywania. Umożliwiłoby to odnalezienie pacjentów z chorobą nowotworową należących do grupy ryzyka utraty wzroku i ewentualne wczesne zapobieganie tym zmianom przez ingerencję w ich system immunologiczny.

Omówienie

Autoagresję definiuje się jako utratę immunologicznej tolerancji na własne antygeny. Jednakże w ostatnim dziesięcioleciu zaczyna dominować pogląd, iż

zjawisko to może być fizjologiczne i odgrywać istotną rolę w eliminacji uszkodzonych cysteczek³. Tak więc obecność autoprzeciwciał nie musiałaby w każdym przypadku pociągać za sobą konsekwencji chorobotwórczych.

Autoagresja przeciwko antygenom siatkówkowym może stanowić przyczynę omawianych schorzeń gałki ocznej bądź też może być wtórnym wyrazem uszkodzenia struktur ocznych przez inne mechanizmy. Sensybilizacja pacjentów na antygeny siatkówkowe występuje w wielu schorzeniach siatkówkowo-naczyniówkowych. Jeśli wykonuje się wiele testów odporności komórkowej (test transformacji limfoblastycznej, test zahamowania migracji leukocytów chorego z antygenem S) jednocześnie u tych samych chorych, często rezultaty ich nie są zgodne, ponieważ testy te badają odmienne funkcje limfocytów, które w danym momencie mogą być skojarzone lub niezależne od siebie². Jeszcze większą rozbieżność obserwuje się pomiędzy TTL i testem degranulacji bazo-filów (TDB)²⁰. Jeśli zsumowałoby się rezultaty licznych testów, byłoby można zaryzykować stwierdzenie, że sensybilizacja na Ag S jest stała w zapaleniach błony naczyniowej. Ale nadal niejasna jest odpowiedź na pytanie czy autoagresja odgrywa rolę patogenetyczną w omawianej grupie chorób, tzn. czy powoduje ich powstanie (przyczyna pierwotna), czy odgrywa istotną rolę w ich przebiegu (czy jest przyczyną zaostrzeń lub przejścia w stan chroniczny), czy jest też jedynie ich konsekwencją, nie będąc sama przez się chorobotwórcza. Czy dostępne obecnie testy na autoagresję są użyteczne w pracy klinicznej? Mogą jedynie stanowić pewną pomoc w diagnostyce i w zasadzie nie upoważniają nas do nadania nazwy schorzeniu, ponieważ często są pozytywne w różnych chorobach zapalnych. Być może potwierdziłyby diagnozę szczególnie w retinopatii typu birdshot, gdzie bardzo często są pozytywne⁸. Testy te mają bez wątpienia walor prognostyczny ponieważ wg niektórych autorów istnieje pewna korelacja między pozytywnym wynikiem testu i stopniem zaawansowania choroby, a test, który z negatywnego staje się pozytywny mógłby zapowiadać zbliżający się nawrót. Jednak pojedyncze izolowane badanie, wykonywane tylko raz, nie ma znaczenia dla lekarza praktyka. Może być ono użyteczne jeśli zostanie powtórzona. Badania powinny być wykonywane w momencie wykrycia choroby jeszcze przed leczeniem, następnie w okresie zaostrzenia lub poprawy, wreszcie w okresie remisji w czasie wizyt kontrolnych. Wiemy już, że zidentyfikowane zostały fragmenty cząsteczek stanowiące epitopy odpowiedzialne za aktywność immunopatogenetyczną. Te aktywne peptydy będą syntetyzowane w stosunkowo dużych ilościach i będą użyteczne jako naturalne białka do eksperymentów lub testów diagnostycznych. Można mieć nadzieję, że niewielkie modyfikacje sekwencji tych peptydów umożliwiają użycie ich do zmiany odpowiedzi immunologicznej w badaniach nad schorzeniem szczepionki, która byłaby stosowana w zapaleniach błony naczyniowej.

Piśmiennictwo

1. *Abrahams J. W., Gregerson D. S.*: Longitudinal study of serum antibody responses to bovine retinal S-antigen in endogenous granulomatous uveitis. *Brit. J. Ophthalmol.* 67: 681-684 (1983).
2. *Bloch-Michel E., Belehradek J., Youes Y. K., de Kozak Y., le Hoang P., Tanoë A., Lexuan T. C., Niessen F., Campinchi R., Faure J. P.*: Evaluation of the reactivity of human lymphocytes to retinal antigen using different in vitro methods in patients with posterior or total uveitis. *Ber Dtsch. Ophthalmol. Ges.* 78: 169-173 (1981).
3. *Forrester J. V., Stott D. I., Hercus K. M.*: Naturally occurring antibodies to bovine and human retinal S-antigen: a comparison between uveitis patients and healthy volunteers. *Brit. J. Ophthalmol.* 73: 155-159 (1989).
4. *Froebel K. S., Armstrong S. S., Cliffe A. M., Urbaniak S. J., Forrester J. V.*: An investigation of the general immune status and specific immune responsiveness to retinal S-antigen in patients with chronic posterior uveities. *Eye* 3: 263-270 (1989).
5. *Gregerson D. S., Abrahams J. W., Puklin J. E.*: Serum antibody responses to bovine retinal S-antigen and rod inter segments in proliferative diabetic retinopathy before and after argon laser photocoagulation. *Ophthalmology* 89: 767-771 (1982).
6. *Grunwald G. B., Klein R., Kornguth S. E., Simmonds M. A.*: Autoimmune basis for visual paraneoplastic syndrome in patients with small cell lung carcinoma. *Lancet* 1: 658-621 (1985).
7. *Heredia Garcia C. D., Garcia Calderon P. A.*: Evolution time and longitudinal studies of the anti-S-antigen antibody titers in retinitis pigmentosa. *Retina* 9: 237-241 (1989).
8. *Jobin D., Thillaye B., De Kozak Y., Sainte-Laudy J., Faure J. P., Le Hoang P.*: Severe retinochoroidopathy variations of humoral and cellular immunity to S-antigen in a longitudinal study. *Curr. Eye Res.*, 1990, Suppl: 91-96 (1989).
9. *Kasp E., Phil D., Whiston R., Dumonde D., Graham E., Stanford M., Sanders M.*: Antibody affinity to retinal S-antigen in patients with retinal vasculitis. *Amer. J. Ophthalmol.* 113: 697-701 (1992).
10. *Klass M., Boehnke M., Damms T., Knosp V.*: Humoral immune response to retinal S-antigen in patients with uveitis. *Fortschr. Ophthalmol.* 88: 450-454 (1991).
11. *Kornguth S. E., Klein R., Appen R.*: Occurrence of anti-retinal ganglion cell antibodies in patients with small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 50: 1289-1293 (1982).
12. *La Hey E., Broersma L., Van der Gaag R., Baarsma G. S., Rothova A., Kijlstra A.*: Does autoimmunity to S-antigen play a role in Fuchs' heterochromic cyclitis? *Brit. J. Ophthalmol.* 77: 436-439 (1993).
13. *Matsuo T., Nakayama T., Tsuji T., Koyama T., Matsuo N., Koide N.*: Immunological studies of uveitis. 2. Immune complex containing retinal S-antigen in patient with chronic intractable uveitis. *Jpn. J. Ophthalmol.* 30: 480-486 (1986).
14. *Musiuk-Hojło.*: Zapalenia naczyniówkowo-siatkówkowe: formy kliniczne a modele doświadczalne. *Klin. Oczna* 96: 30-33 (1994).
15. *Misiuk-Hojło M.*: Autoantygeny siatkówkowe. *Klin. Oczna* 96: 69-71 (1994).
16. *Musiuk-Hojło M., Ruiz-Moreno J., Thillaye B., De Kozak Y.*: Eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie naczyniówki i siatkówki wywołane immunizacją antygenem S. *Klin. Oczna* 95: 101-104 (1993).
17. *Nussenblatt R. B., Gery J., Ballintine E. J., Wacker W. B.*: Cellular immune responsiveness of uveitis patients to retinal S-antigen. *Amer. Ophthalmol.* 89: 173-179 (1980).
18. *Nussenblatt R. B., Mittal K. K., Fuhman S., Sharma S. D., Palestine A. G.*: Lymphocyte proliferative responses of patients with ocular toxoplasmosis to parasite and retinal antigens. *Amer. Ophthalmol.* 107: 632-641 (1989).
19. *Ringens P. J., Fang M., Shinohara T., Bridges C. D., Lerea C. L., Berson E. L., Dryja T. P.*: Analysis of genes coding for S-antigen interstitial retinol binding protein, and the alpha subunit of cone transducin in patients with retinitis pigmentosa. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 1421-1426 (1990).
20. *Sainte-Laudy J., Faure J. P., De Kozak Y., Bloch-Michel E., Le Hoang P., Benveniste J.*: Immediate hypersensitivity in human retinal autoimmunity. *W: O'Connor G. R., Chandler J. W.*: Advances in Immunology and Immunopathology of the Eye 122-124, Masson, New York 1985).
21. *Smet M. D. De, Yamamoto J. H., Mochizuki M., Gery I., Singh V. K., Shinohara T., Wiggert B., Chader G. J., Nussenblatt R. B.*: Cellular immune responses of patients with uveitis to retinal antigen and their fragments. *Amer. J. Ophthalmol.* 110: 135-142 (1990).
22. *Thirkill Ch. E., Roth A. M., Keltner J. L.*: Cancer

- Associated Retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 105: 372-375 (1987).
- 23. *Uusitalo R. J., Uusitalo H., Mahlberg K.*: Anterior uveitis in children. An analysis of 75 cases with special reference to retinal anti-S antibodies. *Graef's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 229: 1-7 (1991).
- 24. *Van der Lelij A., Doekes G., Hwan B.S., Vetter J.C.M., Rietveld E., Stijma J. S., Kijlstra A.*: Humoral autoimmune response against S-antigen and IRBP in ocular onchocerciasis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 1374-1380 (1990).
- 25. *Yamamoto J. H., Okajima O., Mochizuki M., Schinohara T.,*

Wiggert B., Chader G. J., Gery J., Nussenblatt R. B.: Cellular immune responses to retinal antigens in retinitis pigmentosa. *Graef's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 230: 119-123 (1992).

— 26. *Zaal J., Doekes G., Breebaart A. C., Kijlstra A.*: Quantitative determination of S-antigen in human ocular tissues, aqueous humour and serum. *Curr. Eye Res.* 5: 763-774 (1986).

Praca wpłynęła: 15.08.1994 (192)