

(147)

Przeciwciała przeciwiśiatkówkowe (PPS) w surowicy chorych z czerniakiem naczyniówki – doniesienie wstępne

Serum antiretinal antibodies (ARA) in patients with choroidal melanoma – preliminary report

Agnieszka Kubicka-Trzaska¹, Izabella Karska-Basta¹, Katarzyna Krukierek-Matec²

¹Z Katedry i Kliniki Okulistyki Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maria Starzycka

²Z Pracowni Cytoimmunologii Zakładu Biochemii Klinicznej II Katedry Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Andrzej Szczeklik

Summary: Purpose: To estimate serum antiretinal antibodies (ARA) in patients with choroidal melanoma after therapy in 3 months follow-up period.

Material and methods: 24 patients at the age 37 – 72 years (mean: 57.8 years) with choroidal melanoma were examined. In all cases routine ophthalmic examination with A- and B-scan ultrasonography and fluorescein angiography were performed. In some subjects also indocyanine green angiography was performed. Ruthenium-106 plaques were used in 16 cases, in 5 cases treatment with Iodine-125 plaques was performed. Three patients underwent enucleation. In all cases ARA were determined in a serum dilution 1:10 by indirect immunofluorescence test on normal monkey retina as a substrate and FITC-labeled anti-human IgA, IgG, IgM serum (Euroimmun – Germany). ARA were scored before and within 3 months, after the therapy was performed.

Results: Before treatment ARA were present in 15 patients (62.5%) with choroidal melanoma in serum dilution 1:10. In a control group ARA were present in 3 cases (12.5%) in serum dilution 1:10. After therapy within 3 months follow-up period ARA occurred in serum of further 7 patients, all treated with Ruthenium-106 plaques. Fluorescence of outer retinal segments was present in 7 cases, while serum of remaining 15 patients demonstrated positive reaction within the whole tissue. Indirect immunofluorescence test on normal monkey retina revealed in 11 patients the presence of other autoantibodies; antinuclear and antinucleolar antibodies, reacting with nuclei of inner and outer nuclear layers of retina. Conclusions: The presence of ARA in serum of patients with choroidal melanoma before therapy may be a result of autoimmune reaction against the tumor tissue. The detection of ARA in serum after plaque therapy may be associated with reaction due to tumor irradiation. The appearance of other serum autoantibodies in patients with choroidal melanoma may indicate at more advanced and generalized process.

Słowa kluczowe: przeciwciała przeciwiśiatkówkowe, immunofluorescencja pośrednia, czerniak naczyniówki.

Key words: antiretinal antibodies, indirect immunofluorescence, choroidal melanoma.

W ostatnich latach nastąpił wyraźny rozwój badań nad zachowaniem się przeciwciał przeciwiśiatkówkowych (PPS) w przebiegu różnych chorób oka. Znane są publikacje dotyczące obecności w surowicy PPS w przebiegu retinopatii związanej z zespołami paraneoplastycznymi (1,2,3,4,5), w zwyrodnieniu plamki związanym z wiekiem (6), we wrodzonych zwyrodnieniach siatkówki (7), w przebiegu proliferacyjnej witreoretinopatii (8). Wykazano obecność PPS w surowicy chorych z oczną postacią toksoplazmozy i onchocerkozy (9,10), w zapaleniach błony naczyniowej związanych z chorobami układowymi (11) oraz w endogennych zapaleniach błony naczyniowej (12). Dowiedziono, że PPS mogą także

pojawiać się w surowicy chorych po zabiegu laseroterapii w przebiegu proliferacyjnej retinopatii cukrzycowej (13). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono żadnych publikacji, dotyczących badań nad występowaniem PPS w surowicy chorych z czerniakiem naczyniówki.

Celem niniejszej pracy jest ustalenie, czy PPS występują w surowicy chorych z czerniakiem naczyniówki, a w przypadku potwierdzenia ich obecności – dokonanie analizy ich zachowania się po zastosowanym leczeniu. Ponadto podjęto próbę wyjaśnienia, czy występowanie PPS jest wynikiem reakcji autoimmunologicznej związanej z obecnością tkanki nowotworowej, czy też przeciwciała

te pojawiają się wtórnie po napromienianiu guza i urazie operacyjnym.

Materiał i metodyka

Badaniami objęto 24 chorych (24 oczu), 10 mężczyzn i 14 kobiet w wieku od 37 do 72 lat (średnio 57,8 roku) z czerniakiem naczyniówki. We wszystkich przypadkach przeprowadzono rutynowe badanie okulistyczne i badanie ultrasonograficzne w prezentacjach A i B, a u wybranych osób wykonano angiografię fluoresceinową i indocyjaninową. W ocenie klinicznej guza brano pod uwagę jego umiejscowienie, kształt, ubarwienie oraz wielkość zgodnie z kryteriami COMS (Collaborative Ocular Melanoma Study) przyjętymi dla czerniaka naczyniówki (2). Brachyterapię z użyciem płytek z ^{106}Ru zastosowano w 16 przypadkach, u 5 chorych natomiast napromieniano guz za pomocą ziaren jodowych ^{125}I .

W 3 przypadkach wykonano zabieg wyluszczenia gałki ocznej. Kwalifikacja do danego typu leczenia zależała od cech klinicznych guza, w tym przede wszystkim od jego wielkości. U wszystkich chorych przed leczeniem i następnie po upływie 3 miesięcy od leczenia badano obecność PPS w rozcieńczeniu surowicy 1:10. PPS oznaczano metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem mrożonych skrawków prawidłowej siatkówki małpiej oraz koziej surowicy antyglobulinowej (anti-human IgA, IgG, IgM) związanej z fluoresceiną (Euroimmun, Niemcy).

Grupę kontrolną stanowiła surowica uzyskana ze Stacji Krwiodawstwa od 24 dawców krwi (12 mężczyzn i 12 kobiet) w wieku od 35 do 65 lat, średnio 52 lata.

Wyniki

W analizowanym materiale 11 guzów znajdowało się w okolicy równika, 9 było umiejscowionych obwodowo, a 4 w tylnym biegunie. Guzy kopulaste stwierdzono w 21 przypadkach, grzybiaste w 2 i tylko w jednym przypadku zmiana była płaska. Dane dotyczące wielkości guzów zestawiono w tabeli I.

Średnio ubarwione guzy wykazano w 21 oczach, barwę brunatną miały 2 guzy, a w jednym przypadku stwierdzono czerniaka bezbarwnikowego. W 15 przypadkach odnotowano obecność wysiękowego odwarstwienia siatkówki.

Obecność PPS w rozcieńczeniu surowicy 1:10 stwierdzono u 15 chorych (62,5%) przed leczeniem. Natomiast w grupie kontrolnej

| Wielkość guza Tumor size | Liczba oczu No of the eyes | Zakres grubości (mm) Tumor thickness | Zakres średnicy podstawy (mm) Tumor base diameter |
|-----------------------------|-------------------------------|---|--|
| mały small | 5 | 2,0-2,6 | 4,9-8,0 |
| średni medium | 16 | 3,1-7,9 | 9,0-13,6 |
| duży large | 3 | 9,3-12,0 | 14,4-20,5 |
| ogółem total | 24 | 2,0-12,0 | 4,9-20,5 |

Tab. I. Wielkość guzów w badanej grupie chorych.

Tab. I. Tumor size in a study group of patients.

PPS w rozcieńczeniu surowicy 1:10 stwierdzono tylko w 3 przypadkach (12,5%). W teście immunofluorescencji pośredniej immunofluorescencję zewnętrznych warstw siatkówki (cytoplazmy komórek fotoreceptorowych oraz komórek warstwy jądrazastej zewnętrznej) stwierdzono u 6 chorych (ryc. 1), natomiast u pozostałych 9 badana surowica dała reakcję ze wszystkimi warstwami siatkówki (ryc. 2).

U chorych, u których przed leczeniem stwierdzono w surowicy obecność PPS, guzy średniej wielkości występowały w 9, małe w 4, a duże w 2 przypadkach. PPS najczęściej występowały w surowicy chorych z guzami średnio ubarwionymi (54,2%). Wtórne odwarstwienie siatkówki wykazano w 8 oczach (53,3%).

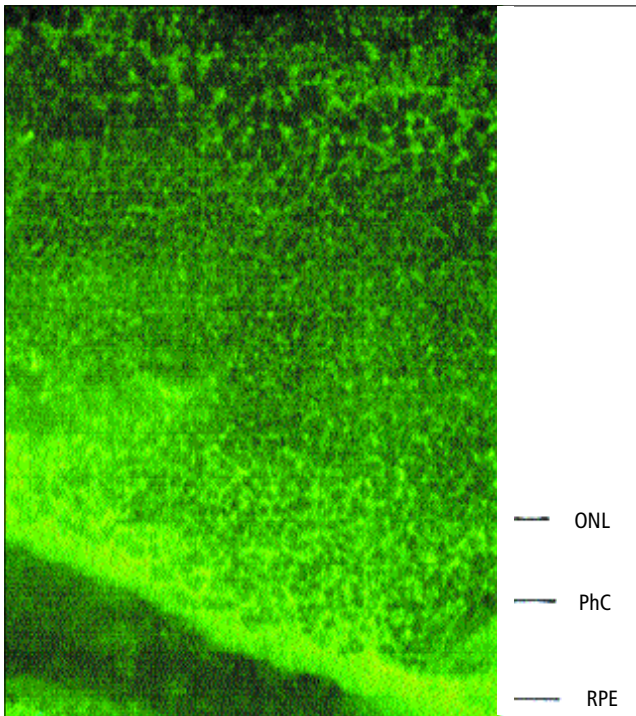
Po leczeniu PPS pojawiły się w surowicy kolejnych 7 chorych, u których zastosowano napromienianie czerniaka radioaktywnym ^{106}Ru . We wszystkich oczach wykazano obecność guzów średniej wielkości: w 3 przypadkach były to guzy kształtu kopulastego, w 2 kształtu grzybiastego, a u jednego chorego zmiana była płaska. U 5 chorych stwierdzono guzy o średnim ubarwieniu, natomiast w 2 przypadkach guzy miały barwę ciemnobrunatną.

W teście immunofluorescencji pośredniej surowica 6 chorych reagowała ze wszystkimi warstwami siatkówki, a u jednego chorego PPS były skierowane przeciwko zewnętrznym warstwom siatkówki. Ponadto w surowicy 11 chorych w teście immunofluorescencji pośredniej stwierdzono występowanie innych autoprzeciwciał – przeciwciał przeciwjądrowych (ryc. 3) oraz u jednego chorego dodatkowo przeciwciał przeciwjądrowych (ryc. 4), reagujących z jądrami warstwy jądrazastej wewnętrznej i zewnętrznej siatkówki użytej jako substratu. Przeciwciała te występowały u chorych z guzami średniej wielkości (8 przypadków) i guzami dużymi (3 przypadki).

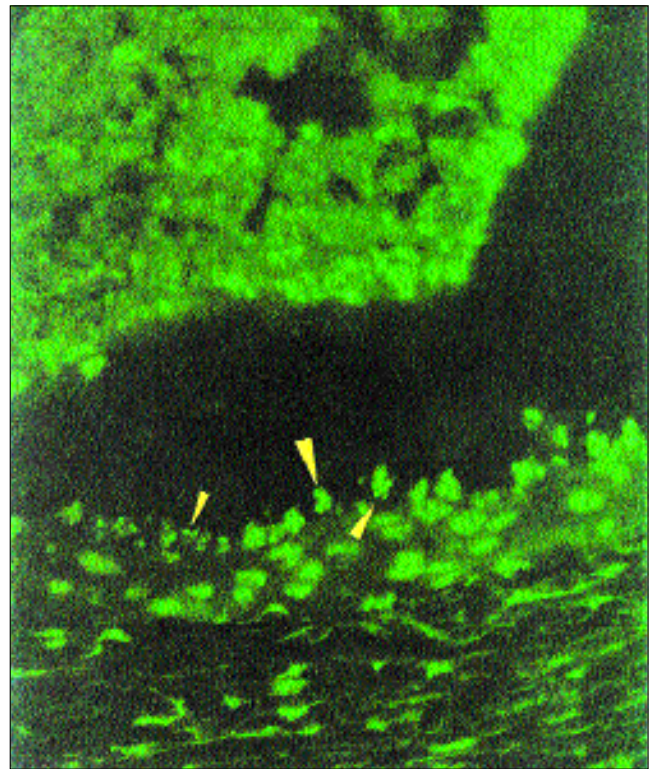
Omówienie

Zdaniem niektórych autorów przeciwciała przeciwsiatkówek biorą udział w patomechanizmie wielu chorób oka (1,6,7,8,9,10,12), inni natomiast twierdzą, że autoprzeciwciała te pełnią funkcję regulacyjną i odgrywają prawdopodobnie rolę czynnika chroniącego przed autoagresją w stosunku do ocznych antygenów (3,4). Nie wiadomo jednak, czy stanowią one pierwotną przyczynę choroby, czy pojawiają się wtórnie jako wynik uszkodzenia tkanek oka.

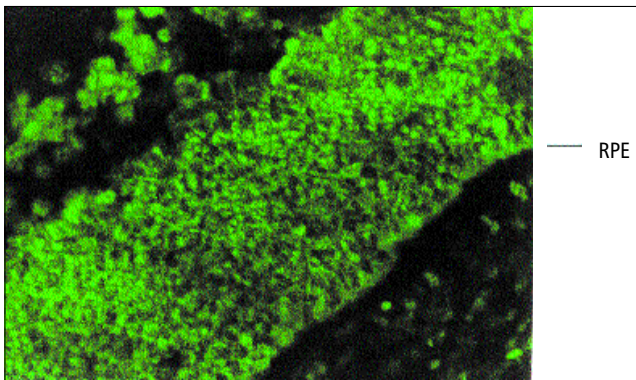
Najlepiej poznane są reakcje autoprzeciwciał z siatkówką w przebiegu zespołów paraneoplastycznych (1,2,4,5,14). Charakteryzują się one występowaniem retinopatii o podłożu automimmunologicznym, związanej z obecnością przeciwciał, które powstają przeciwko różnym antygenom nowotworowym i które reagują krzyżowo z białkami siatkówki. Istnieją dwie postacie retinopatii związanych z zespołami paraneoplastycznymi: MAR (melanoma-associated retinopathy) i CAR (carcinoma-associated retinopathy). W retinopatii towarzyszącej czerniakowi skóry stwierdzono obecność przeciwciał skierowanych przeciwko komórkom dwubiegunowym (3,5), podczas gdy w retinopatii rozwijającej się u chorych z rakiem drobnokomórkowym płuc oraz innymi nowotworami, np. rakiem piersi, rakiem szyjki macicy, rakiem nerki, zaobserwowano występowanie przeciwciał przeciwko fotoreceptorom i komórkom warstwy jądrazastej zewnętrznej lub fotoreceptorom i warstwie spłotowatej zewnętrznej, lub tylko komórkom zwojowym siatkówki (1,4). Różne typy reakcji w teście immunofluorescencji pośredniej u chorych z zespołem CAR wynikają prawdopodobnie z odmiennej budowy antygenowej nowotworów (1,4). Nie wiado-



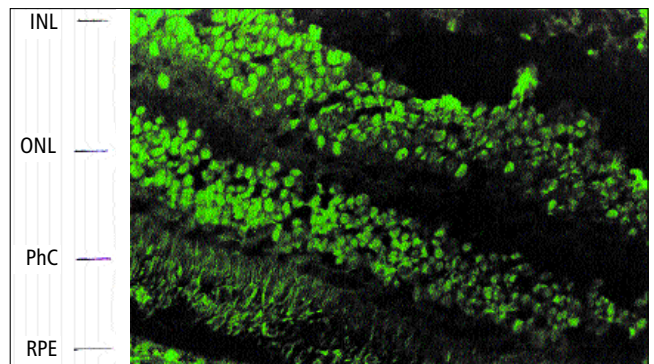
Ryc. 1. Immunofluorescencja zewnętrznych warstw siatkówki (cytoplazmy komórek fotoreceptorowych oraz warstwy jądrazstej zewnętrznej).
Fig. 1. Immunofluorescence of retinal outer layers (cytoplasm of photoreceptors and outer nuclear layer cells).



Ryc. 3. Immunofluorescencja jąder warstw jądrazstej wewnętrznej i zewnętrznej.
Fig. 3. Immunofluorescence of nuclei of inner and outer nuclear layers.



Ryc. 2. Immunofluorescencja wszystkich warstw siatkówki.
Fig. 2. Immunofluorescence of all retinal layers.



Ryc. 4. Przeciwciała przeciwiąderkowe w teście immunofluorescencji pośredniej (strzałki).
Fig. 4. Antinuclear antibodies in indirect immunofluorescence test (arrows).

Wyjaśnienia do rycin:

- RPE – (retinal pigmented epithelium) nabłonek barwnikowy siatkówki
- PhC – (photoreceptor cells) komórki fotoreceptorowe
- ONL – (outer nuclear layer) warstwa jądrazsta zewnętrzna
- INL – (inner nuclear layer) warstwa jądrazsta wewnętrzna

mo natomiast, czy pierwotne guzy wewnątrzgałkowe mogą być odpowiedzialne za wywołanie reakcji autoimmunologicznych w stosunku do ocznych autoantygenów.

Zakcs i wsp. (15) opisali ciekawy przypadek retinopatii, która rozwinęła się w jednym oku u chorej 23 lata po zabiegu wyluszczenia gałki ocznej lewej z powodu pierwotnego czerniaka naczyniówki. Autorzy nie wykonali jednak testów diagnostycznych w kierunku obecności PPS w surowicy tej chorej.

Przeprowadzone przez nas wstępne badania nad występowaniem PPS w surowicy chorych z czerniakiem naczyniówki mają charakter nowatorski. Pod wpływem różnorodnych czynników endo- i egzogennych może dojść do uszkodzenia siatkówki i uwolnienia jej antygenów, które z kolei mogą prowadzić do wyzwolenia reakcji z udziałem PPS (1,6,8,13). W naszym materiale klinicznym wśród 22 chorych, u których w okresie 3-miesięcznej obserwacji stwierdzono występowanie w surowicy PPS, u 8 występo-

wały nieprawidłowości siatkówki w postaci jej wysiękowego odwarstwienia. Obecność PPS w surowicy pozostałych 14 chorych może zatem sugerować, że występowanie tych organo-swoistych autoprzeciwciał może być wynikiem reakcji na obcą tkankę guza wewnątrzgałkowego. Pojawienie się PPS w surowicy chorych, u których zastosowano naświetlanie czerniaka naczyniówki ¹⁰⁶Ru, może być z kolei odpowiedzią na zmiany zachodzące w tkance nowotworowej lub otaczającej siatkówce w wyniku uszkodzeń związanych z napromienianiem guza. W badanym materiale kli-

nicznym w czasie obserwacji nie stwierdzono pojawienia się PPS w surowicy chorych, u których przeprowadzono zabieg wyłuszczenia gałki ocznej, co może pośrednio sugerować konieczność uszkodzenia tkanek oka w celu wywołania reakcji z udziałem przeciwciał przeciwiświatkówekowych.

W teście immunofluorescencji pośredniej w 68,2% przypadków odnotowano immunofluorescencję wszystkich warstw siatkówki, a w 31,8% reakcja dotyczyła cytoplazmy komórek fotoreceptorowych oraz komórek warstwy jądrzastej zewnętrznej.

Wyniki naszych badań nad występowaniem PPS w surowicy chorych na endogenne zapalenie tylnego odcinka błony naczyniowej wykazały obecność w teście immunofluorescencji pośredniej reakcji w obrębie cytoplazmy komórek zewnętrznych warstw siatkówki w 75% przypadków, natomiast u 2,5% chorych odnotowano fluorescencję wszystkich warstw siatkówki (12,16). Uzyskane różne wyniki testu immunofluorescencji pośredniej u chorych z zapaleniem błony naczyniowej oraz czerniakiem naczyńki mogą świadczyć o udziale różnych typów PPS w patomechanizmie tych schorzeń.

Wstępne wyniki przeprowadzonych przez nas badań sugerują, że obecność PPS w surowicy chorych z czerniakiem naczyńki przed leczeniem może być wynikiem reakcji autoimmunologicznej związanej z obecnością samego guza. Pojawienie się PPS dopiero po brachyterapii może wskazywać na ich związek z napromienianiem zmiany. Występowanie innych autoprzeciwciał w surowicy chorych z czerniakiem naczyńki może świadczyć o bardziej zaawansowanych i uogólnionych uszkodzeniach. W celu dokładnego określenia znaczenia występowania PPS oraz innych autoprzeciwciał w surowicy chorych z czerniakiem naczyńki konieczne jest kontynuowanie badań obejmujących większą liczbę przypadków w dłuższym okresie obserwacji.

PIŚMIENNICTWO:

- De Potter P.: *Ocular manifestations of cancer*. Curr. Opin. Ophthalmol., 1998; 9 (6): 100-104.
- Feigl B., Faschinger C., Soyer P.: *Melanoma – associated retinopathy versus abnormal retinal function due to interferon-alpha/Isotretinoin therapy in cutaneous malignant melanoma*. Ophthalmologica, 2000; 214 (4): 271-276.
- Lei B., Bush R. A., Milam A. H., Sieving P. A.: *Human melanoma – associated retinopathy (MAR) antibodies alter the retinal ON-response of the monkey ERG in vivo*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000; 41 (1): 262-266.
- Ling C. P., Pavesio C.: *Paraneoplastic syndromes associated with visual loss*. Curr. Opin. Ophthalmol., 2003; 14 (6): 426-432.
- Potter M. J., Adamus G., Szabo S. M., Lee R., Mohaseb K., Behn D.: *Autoantibodies to transducin in patients with melanoma-associated retinopathy*. Am. J. Ophthalmol., 2002; 134 (1): 128-130.
- Gurne D. H., Tso M. O., Edward D. P., Ripps H.: *Antiretinal antibodies in serum of patients with age-related macular degeneration*. Ophthalmology, 1991; 98 (5): 602-607.
- Chant S. M., Hechenlively J., Meyers-Elliott R. H.: *Autoimmunity in hereditary retinal degeneration. I. Basic studies*. Br. J. Ophthalmol., 1985; 69: 19-24.
- Grisanti S., Heimann K., Wiedermann P.: *Immune response to specific molecules of the retina in proliferative vitreoretinal disorders*. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1994; 32: 302-307.
- Van der Lelij A., Rothova A., Stijlma J. S., Vetter J. C., Hoekzema R., Kijlstra A.: *Humoral and cell-mediated immune response against human retinal antigens in relation to ocular onchocerciasis*. Acta Leiden, 1990; 59 (1-2): 271-283.
- Whittle R. M., Wallace G. R., Whiston R. A., Dumonde D. C., Stanford M. R.: *Human antiretinal antibodies in toxoplasma retinochoroiditis*. Br. J. Ophthalmol., 1998; 82 (9): 1017-1021.
- Kahn M., Pepose J., Green R., Miller J., Foos R.: *Immunocytologic findings in a case of Vogt-Koyanagi-Harada syndrome*. Ophthalmology, 1993; 100 (8): 1191-1198.
- Kubicka-Trząska A.: *Poziom przeciwciał przeciwiświatkówekowych (PPS) w surowicy chorych na endogenne zapalenie tylnego odcinka błony naczyniowej w okresie 12-miesięcznej obserwacji*. Klin. Oczna, 2002; 104 (3-4): 226-230.
- Gregerson D. S., Abrahams W. I., Puklin J. E.: *Serum antibody responses to bovine retinal S antigen and rod outer segments in proliferative diabetic retinopathy before and after argon laser photocoagulation*. Ophthalmology, 1982; 89: 767-771.
- Solomon S. D., Smith J. H., O'Brien J.: *Ocular manifestations of systemic malignancies*. Curr. Opin. Ophthalmol., 1999; 10 (6): 447-451.
- Zakcs D. N., Pinnolis M. K., Berson E. L., Gragoudas E. S.: *Melanoma – associated retinopathy and recurrent exudative retinal detachments in a patient with choroidal melanoma*. Am. J. Ophthalmol., 2001; 132 (4): 578-581.
- Kubicka-Trząska A.: *Typy przeciwciał przeciwiświatkówekowych (PPS) u chorych na samoistne zapalenie tylnego odcinka błony naczyniowej w teście immunofluorescencji pośredniej*. Klin. Oczna, 2004; 106 (1-2): 45-49.

Praca wpłynęła do Redakcji 10.10.2004 r. (653).

Zakwalifikowano do druku 30.09.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Agnieszka Kubicka-Trząska
ul. J. Lea 244/7
30-133 Kraków