



Prenumerata
1998

VOLUMED

Ryszard Kacała & Józef Kokoszka

**Prenumerata –
To się opłaca!**

18,00 zł
dla odbiorców
indywidualnych

22,00 zł
dla instytucji

Cena egzemplarza
poza prenumeratę
12,00 zł
(2 numery 24,00 zł)

KLINIKA
CHORÓB ZAKAŻNYCH
I ZAKAŻENIA
SZPITALNE

'98



VOLUMED
Wrocław

Pamiętaj! W prenumeracie taniej!

Volumed sp. z o.o., 51-423 Wrocław, ul. Olsztyńska 3, Konto: Bank Zachodni S.A. III Oddział Wrocław nr 11201737-296504-130-3000

Prace oryginalne

Klinika Oczna 1997, 99 (6): 365-368
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

Biologiczna aktywność płynu podsiatkówkowego w wybranych testach *in vitro*

Biological activity of subretinal fluid in chosen *in vitro* tests

Alina Bakunowicz-Łazarczyk, Tadeusz Moniuszko¹, Andrzej Stankiewicz, Małgorzata Mrugacz

Purpose: The aim of this study was to evaluate the ability of SRF to activate autologous leucocytes derived from the peripheral blood.

Material and method: We studied 49 patients with idiopathic retinal detachment. Leucocyte migration inhibition, proliferation of T-lymphocytes after PHA stimulation, nonspecific suppressor activity induced by Con A, T-lymphocytes IL-2 production and basophils histamine release were assessed.

Results: Lymphocytes obtained from patients with retinal detachment lasting 3-4 weeks exhibited *in vitro* in the presence of SRF: increased ability to produce IL-2, increased proliferation after PHA stimulation and increased nonspecific T-suppressor activity induced by Con A. SRF enhanced also leucocyte migration inhibition and release of histamine from basophils.

Słowa kluczowe: płyn podsiatkówkowy, odwarstwienie siatkówki

Key words: subretinal fluid, retinal detachment

Początkowe badania dotyczące płynu podsiatkówkowego (SRF) sięgają lat sześćdziesiątych (2, 3, 5). Na przestrzeni lat stwierdzono w nim obecność białek, enzymów, lipidów i pochodnych kwasu arachidonowego oraz zbadano jego skład morfologiczny (1, 4, 6-9, 13).

Wszystkie te badania miały na celu wyjaśnienie patomechanizmu odwarstwienia siatkówki. W 1973 r. Niebrój wykazał pobudzający wpływ SRF na zdolność fagocytarną leukocytów krwi obwodowej, sugerującym samym istnieniu jego właściwości biologicznych (10).

Nasze prace stanowią kontynuację tych badań, a ich przedmiotem jest ocena zdolności SRF do akty-

wacji komórek immunologicznych krwi obwodowej w wybranych testach *in vitro*.

Material i metodyka

Do badań stosowano płyny podsiatkówkowe oraz krew obwodową z żyły łokciowej pobierane od 49 chorych (26 kobiet i 23 mężczyzn w wieku od 18 do 80 lat) operowanych w latach 1988-1994 z powodu samoistnego odwarstwienia siatkówki. U 15 osób stwierdzono krótkowzrostowość, w tym u 1 osoby – małą, u 5 – średnią, a u 9 – wysoką. Czas trwania odwarstwienia wyniósł w 15 przypadkach od 1 do 3 tygodni, w 14 – od 3 do 4 tygodni, w 11 – od 5 do 8 tygodni, zaś u pozostałych 9 osób powyżej 8 tygodni. W 32 przypadkach stwierdzono zmiany zwyrodnieniowe obwodu siatkówki w oku z odwarstwieniem. W 21 oczach było to zwyrodnienie rozwarstwiające siatkówki, w 6 – kraciaste, w 2 – typu śladów ślimaka, w 3 – zaniki siatkówkowo-naczyniówkowe. Odwarstwienie siatkówki u 22 chorych dotyczyło 2 kwadrantów, u 17 – 3 kwadrantów, a u 10 było to całkowite odwarstwienie siatkówki. W 29 oczach znaleziono pojedynczy otwór w siatkówce, w 3 dwa otwory, w 6 przypadkach występowały liczne otwory. Ode-

¹Z Katedry Okulistyki AM w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. Andrzej Stankiewicz

²Z Katedry Alergologii AM w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. Sabina Chyrek-Borowska

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
Dr med Alina Bakunowicz-Łazarczyk
ul. Jaworowa 5
15-808 Białystok

rwanie siatkówki od rąbka zębatego stwierdzono w 3 oczach, u 8 zaś otworu nie udało się znaleźć. PVR stopnia C wykazano w 11 przypadkach, stopnia B w 14, a stopnia A w 12 oczach.

Chorych operowano metodą Schepensa z użyciem wszczepu śródtwardówkowy (gąbka odcinkowa – 24 osoby, silikon + opaska – 7 osób, opasanie gąbką z odcinkiem śródtwardówkowym – 14 osób). U 4 osób założono wszczep nadtwardówkowy (gąbka). SRF pobierano przez nakłucie twardówki nożem Graefego, w miejscu największego uniesienia siatkówki, ale najdalej od otworu. Z badań wyeliminowano SRF zanieczyszczony krwią. Pobierano od 0,3 ml do 1,1 ml SRF. W przypadku małej ilości płynu podsiatkówkowego, nie udało się wykonać wszystkich testów, dlatego badana grupa różniła się liczebnością.

Oceniano wpływ SRF na aktywność autologiczną leukocytów krwi obwodowej w teście zahamowania migracji, na transformację blastyczną limfocytów, na nieswoistą aktywność supresorową indukowaną Concanawaliną A wg Valverde i wsp. (14), na zdolność limfocytów do produkcji interleukiny 2 (IL-2) – metoda Gillisa, i uwalnianie histaminy z autologicznych bazofilów krwi obwodowej (metoda Skora i Norna) (11, 12). Analizę wyników przeprowadzono metodą statystyczną opartą na teście t-Studenta, uwzględniając odchylenie standardowe $p < 0,05$.

Wyniki

Analizując wyniki, stwierdzono brak różnic zależnych od wieku chorych. Istotny przy ocenie okazał się jedynie czas trwania odwarstwienia. Stwierdzono, że SRF z odwarstwienia trwającego 3-4 tygodnie hamuje migrację leukocytów krwi obwodowej. Przy innym czasie trwania odwarstwienia nie obserwowano tego zjawiska. SRF o 3-4-tygodniowym czasie odwarstwienia powoduje proliferację limfocytów krwi obwodowej stymulowanych nieswoistym mitogenem. Takiego wpływu nie wykazano w przypadku SRF pochodzącego zarówno z odwarstwień trwających krócej, jak również dłużej niż 3-4 tygodnie (tab. I).

Tabela I: Wpływ SRF na migrację leukocytów oraz przemiany blastyczne limfocytów krwi obwodowej chorych z odwarstwieniem siatkówki

Table I: The effect of SRF on the migration inhibition of leucocytes and PHA-stimulated lymphocyte proliferation from patients with retinal detachment

Lp	Liczba chorych Number of patients	Czas trwania odwarstwienia (tygodnie) Duration of retinal detachment (weeks)	Rozległość odwarstwienia siatkówki (kwadranty) Width of retinal detachment (quadrants)	Indeks migracji (%) Index of migration	PHA (a) % komórek blastycznych % of blastic cells	PHA+SRF (b) % komórek blastycznych % of blastic cells
				średnia±SD mean±SD	średnia±SD mean±SD	średnia±SD mean±SD
1	10	1-2	2-3	1,05±0,21	64,0±7,4	60,1±7,8
2	10	3-4	2-4	0,60±0,23 p 1/2<0,01	59,0±6,4	72,8±7,6 p 1/2<0,01 p a/b<0,01
3	8	5-8	2-4	0,80±0,31	61,7±7,0	64,5±8,4
4	9	>8	2-4	0,98±0,25	57,8±6,2	58,1±7,4

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

Stwierdzono, że komórki supresorowe indukowane w obecności SRF pochodzącego z 3-4-tygodniowego odwarstwienia wykazywały istotny statystycznie wzrost aktywności supresorowej. Obecność SRF w środowisku limfocytów wskaźnikowych powodowała obniżenie aktywności supresorowej układu (tab. II).

SRF pochodzący z 3-4-tygodniowego odwarstwienia zwiększał produkcję IL-2 przez limfocyty krwi obwodowej stymulowane nieswoistym mitogenem. Uwalnianie histaminy pod wpływem SRF było znamienne statystycznie wyższe niż pod wpływem anti-IgE w grupie z odwarstwieniem od 3 do 4 tygodni (tab. III).

Omówienie

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że SRF hamuje migrację autologicznych leukocytów w teście kapilarnym. Przemawia to za obecnością w SRF czynników stymulujących produkcję takich limfokinów, jak czynnik hamujący migrację makrofagów (MIF) i czynnik hamujący migrację leukocytów (LIF). Nie jest wykluczona antygenowa natura tych czynników. W powyższym mechanizmie działania należy również brać pod uwagę wzrost ekspresji receptorów dla MIF i LIF na powierzchni odpowiednich komórek.

W badaniach wykazano również pobudzający wpływ SRF na przemiany blastyczne autologicznych limfocytów krwi obwodowej w teście transformacji blastycznej z użyciem PHA. Zjawisko to może być związane z działaniem IL-2. Produkcja tej interleukiny przez autologiczne limfocyty wyraźnie wzrastała, gdy stymulujący mitogen działał na komórki w obecności SRF.

Za aktywnością przynajmniej niektórych subpopulacji limfocytów w SRF przemawia fakt, że płyn ten wykazuje zdolność stymulacji procesu indukcji limfocytów supresorowych.

Aktywowane limfocyty wydzielają wiele mediatorów odgrywających główną rolę w procesie zapalnym przez uwalnianie histaminy przy udziale czynnika HRF, degranulację komórek tucznych oraz wytwarzanie limfokiny uwalniającej leukotrieny z granulocytów. SRF uwalnia więcej histaminy z autologicznych bazofilów krwi ob-

Tabela II: Wpływ SRF na nieswoistą aktywność supresorową indukowaną Concanawaliną A (%)
Table II: The effect of SRF on the non-specific suppressor activity induced by Con A

Lp.	Liczba chorych Number of patients (n)	Czas trwania odwarstwienia (tygodnie) Duration of retinal detachment (weeks)	Rozległość odwarstwienia siatkówki (kwadranty) Width of retinal detachment (quadrants)	Nieswoista aktywność supresorowa wyrażona w % Non-specific suppressing activity as %		
				a średnia±SD mean±SD	b średnia±SD mean±SD	c średnia±SD mean±SD
1	10	1-2	2-3	34,8±10,06	33,5±9,3	28,9±9,2
2	10	3-4	2-4	31,0±12,8 p 1/2<0,05	47,7±11,8	14,6±11,8 p 1/2<0,01 p a/b<0,01 p a/c<0,01
3	8	5-8	2-4	32,0±12,8	36,3±12,0	28,6±10,5
4	9	>8	2-4	29,9±10,8	30,8±10,3	33,4±12,1

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

a – nieswoista aktywność supresorowa indukowana Con A bez obecności SRF / non-specific suppressing activity induced by Con A without SRF

b – układ, w którym komórki supresorowe indukowano w obecności SRF / induction of suppressor cells in the presence of SRF

c – układ, w którym komórki wskaźnikowe znajdowały się w środowisku SRF / responder cells incubated in the presence of SRF

Tabela III: Wpływ SRF na produkcję IL-2 przez limfocyty oraz na uwalnianie histaminy z bazofilów krwi obwodowej chorych z odwarstwieniem siatkówki

Table III: Effect of SRF on production of IL-2 by peripheral blood lymphocytes and on histamine release from peripheral blood basophils of patients with retinal detachment

Lp.	Liczba chorych Number of patients (n)	Czas trwania odwarstwienia (tygodnie) Duration of retinal detachment (weeks)	Rozległość odwarstwienia siatkówki (kwadranty) Width of retinal detachment (quadrants)	Produkcja IL-2 bez obecności SRF (%) Production of IL-2 without SRF (%)	Produkcja IL-2 w obecności SRF (%) Production of IL-2 with SRF (%)	% uwalniania histaminy % of histamine release	
				a średnia±SD mean±SD	b średnia±SD mean±SD	a anti-IgE (4000 IU/ml) średnia±SD mean±SD	b SRF (20 µl) średnia±SD mean±SD
1	10	1-2	2-3	26,4±7,7	24,7±8,0		
2	10	3-4	2-4	28,6±7,0	39,5±10,6 p 1/2<0,01 a/b<0,05	35,6±11,3	49,8±12,1 p p a/b<0,05
3	8	5-8	2-4	31,0±8,9	36,7±11,3	30,9±9,7	39,1±13,4
4	9	>8	2-4	27,3±7,4	28,8±7,9		

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

wodowej niż anti-IgE. W procesie tym uczestniczą prawdopodobnie mediatory uwalniane przez makrofagi, limfocyty i komórki nabłonka barwnikowego.

Ponieważ w piśmiennictwie okulistycznym dane na temat podobnych badań są nieliczne, nasze wyniki mogą jedynie sugerować końcowe wnioski.

SRF z odwarstwienia „świeżego” zawiera różnorodne komórki i uwalniane przez nie mediatory, które stanowią o jego biologicznych właściwościach.

Wnioski

1. SRF z krótko trwającego odwarstwienia (3-4 tygodnie) wpływa na biologiczną aktywność limfocytów i bazofilów.

2. Można przypuszczać, że w mechanizmach odwarstwienia siatkówki udział bierze proces zapalny o charakterze immunologicznym.

Piśmiennictwo

- Andrzejewska-Buczko J., Stankiewicz A., Kieñ E.: *Zawartość tromboksanu 2 i prostaglandyny 6-keto-F1 w płynie podsiatkówkowym*. Klin. Oczna, 1987, 89, 295-297.
- Appleyard M.E., McDonald B., Benjamin L.: *Presence of a soluble form of acetylcholinesterase in human ocular fluids*. Br. J. Ophthalmol., 1991, 75, 276-278.
- Cooper W.C., Halbert S.P., Manski W.: *Immunochemical analysis of vitreous and subretinal fluid*. Invest. Ophthalmol., 1963, 2, 369-372.
- Fojudzki E., Kałuźny J.: *Immunoelktroforeza białek płynu podsiatkówkowego w samoistnym odwarstwieniu siatkówki*. Klin. Oczna, 1969, 39, 813-816.
- Heath H., Beck T.C., Foulds W.S.: *Chemical composition of subretinal fluid*. Br. J. Ophthalmol., 1962, 46, 385-388.
- Kałuźny J., Fojudzki E.: *Poziom cukru w płynie podsiatkówkowym w samoistnym odwarstwieniu siatkówki*. Klin. Oczna, 1969, 39, 219-221.

