

A N N A L E S
U N I V E R S I T A T I S M A R I A E C U R I E - S K Ł O D O W S K A
L U B L I N — P O L O N I A

VOL. III, 1.

SECTIO D

1948

Z Kliniki Okulistycznej Uniwersytetu M. C. S.
Kierownik: Zast. Prof. Dr M. Jasiński
I z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu M. C. S.
Kierownik: Prof. Dr L. Fleck

T a d e u s z K R W A W I C Z

Immunologiczne właściwości tylnego odcinka oka*).
I. Ciałko szkliste.

Immunological properties of the posterior part of the eye.
I. The Vitreous.

Dotychczasowe wyniki badań (cyt. wg. Schiecka i Brücknera 1931) wskazują na to, że procesy uzupełniania ciała szklanego postępują znacznie wolniej niż procesy uzupełniające w przedniej komorze oka. W związku z tym mogłoby się wydawać, że istnieją także znacznie mniej pomyślne warunki do udziału ciała szklanego w ogólnych procesach odpornościowych. Axenfeld (1909) wykazał, że wysokie czynne i bierne uodpornienie królików pneumokokami pozwala im wprowadzić wielokrotną dawkę śmiertelną pneumokoków wstrzykniętych dożylnie bez wywołania jakichkolwiek objawów chorobowych, mimo to jednak daje się wywołać u nich zakażenie pneumokokowe ciała szklanego. Przyczyną tego stanu rzeczy jest zdaniem Axenfelda (l. c.) to, że udział ciała szklanego w ogólnych procesach odpornościowych jest bardzo mały. Natomiast na pewien udział aczkolwiek bierny ciała szklanego w przebiegu ogólnych procesów immunobiologicznych wskazywałyby* badania Kleczkowskiego i Szymanowskiego (1913), którzy wykazali, że wstrzyknięcie surowicy obcej do ciała szklanego świnki morskiej uczulonej tą samą surowicą, wywołuje prawie stale zupełnie typowe ciężkie schorzenie oka ze zmętnieniem płynu przedniej komory, silnym przekrwieniem tęczówki i zapaleniem wnętrza gałki, co w ciągu 2—3 tygodni prowadzi nieuchronnie do zaniku gałki ocznej. U zwierząt zdrowych surowica obca wprowadzona do ciała

*) Patrz Annales U.M.C.S. Vol. II. 1. Immunologiczne właściwości przedniego odcinka oka. Badania dalszych części oka w toku.

szklatego nie wywoływała żadnych zmian trwałych. Według Axenfelda (l. c.) ciało szkliste w stanie prawidłowym prawdopodobnie nie posiada odporności na zakażenie i dopiero bodziec zapalny wywołany szybko rozmnażającymi się pneumokokami doprowadza w związku ze zwiększonym wysiękiem nieco substancji odpornościowych. Podobne wyniki osiągnął P o s s e k (1907). Według N e d d e n a (1907) siła bakteriobójcza ciała szklatego uzyskanego przez powtórna punkcję jest niższa od takiejże siły płynu przedniej komory po powtórnej punkcji. Dopiero kilkakrotnie wykonane punkcje ciała szklatego wyrównują zawartość niweczników ciała szklatego z poziomem niweczników we krwi.

Na brak naturalnych czynników odpornościowych w ciałku szklistym miałyby wskazywać badania K u f f l e r a (1911), według którego bacillus subtilis uważany ogólnie za mało zjadliwy może rozmnożyć się w ciałku szklistym a przez wielokrotne pasażę w ciałku szklistym może nawet stać się w wysokim stopniu zjadliwym.

Jak z powyższego zestawienia piśmiennictwa odnośnie dotychczasowych danych doświadczalnych wynika, udział ciała szklatego w przebiegu ogólnych procesów odpornościowych jest nieduży a nawet sporny. Jednakowoż z danych klinicznych wiadomo, że ciało szkliste może wykazywać odporność na zakażenie. W a g e n n m a n n (1922) opisuje przypadek natychmiastowego usunięcia z ciała szklatego ciała obcego, z którego wyhodowano ziarniaki, jednak oko zagoiło się gładko z zachowaniem pełnej bystrości wzroku. W a g e n n m a n n (l. c.), B e r g m e i s t e r (1913), v a n d e r H o e v e (1918), J a q u e a u (1913) i inni spozrzegli przypadki z rozpoczynającym się zapaleniem ropnym wnętrza gałki, które po usunięciu ciała obcego przeważnie uspokajało się, prowadząc do zadawalającego wyniku, z zachowaniem niejednokrotnie znacznego procentu widzenia.

Z naszych obserwacji klinicznych również nie wynika, ażeby ciało szkliste miało być pozbawione zupełnie odporności naturalnej i niejednokrotnie mieliśmy możność stwierdzenia, że przy ogólnym bodźcowym wzmożeniu sił odpornościowych ustroju, wzmacnia się również odporność miejscowa ciała szklatego.

I. G. B e l l o w s (1947) podając zestawienie 300 przypadków zranień oka z czasów ostatniej wojny zwraca uwagę na grupę 65 przypadków zranienia oka z obecnością ciała obcego wewnątrzgałkowego. W tej grupie przypadków jedynie w czterech wypadkach zaobserwowano ropne zapalenie wnętrza gałki (Endophalmitis). Również H. B. S t a l l a r d (1947) w zestawieniu 72 przypadków zranienia oka z ciałem obcym wewnątrzgałkowym zaobserwował tylko w dwu przypadkach ropne zapalenie wnętrza gałki ocznej, mimo że w 7 miu przypadkach była wypadnięta naczyniówka a w 5-ciu przypadkach ciało szkliste. Francuzcy autorowie D e s v i g n e s i B o u d o n (1947) na podstawie obserwacji

418 przypadków zranień oka od 1940 — 1945 roku, nie sądzą ażeby samo zakażenie było decydującym czynnikiem dla rozwoju procesu chorobowego oka zranionego lecz raczej rozległość zranienia, wypadnięcie naczyniówki lub upływ ciała szklistego.

Ze względu na rozbieżność dotychczasowych danych doświadczalnych z danymi klinicznymi, w ramach naszych badań ogólnych nad immunologią oka postanowiliśmy zająć się bliżej tym zagadnieniem. Przede wszystkim postanowiliśmy ustalić miano aglutynacyjne ciała szklistego u zwierząt uodpornionych drogą zastrzyków podskórnych i śródżylnych, oraz odwrotnie wpływ wprowadzenia antygeny do ciała szklistego na poziom niweczników we krwi. Nadto staraliśmy się zaobserwować wpływ uodpornienia drogą ciała szklistego jednego oka na przebieg procesów odpornościowych w ciałku szklistym oka drugiego.

Staraliśmy się wreszcie zaobserwować zachowanie się bakterii wprowadzonych do ciała szklistego zwierzęcia uodpornionego tym samym szczepem bakterii.

Badania własne

A) Metodyka Badań.

Doświadczenie przeprowadziliśmy na 12 królikach albinosach. U jednych stosowaliśmy podskórną i dożylną zastrzyki zawiesiny zabitych i żywych hodowli odmienia X19. Dążąc do uzyskania wysokiego uodpornienia ogólnego i badając drogą odczynu aglutynacyjnego zachowanie się niweczników w ciałku szklistym, staraliśmy się poznać warunki w których niweczniki najłatwiej dadzą się ściągnąć do ciała szklistego oraz określić dokładnie ich poziom. Ciało szkliste pobieraliśmy bezpośrednio po usunięciu gałki wykonując nożem Graefego szeroką tylną sklerotomię. Wydobytą próbkę rozcieraliśmy w próbówce pałeczką szklaną i wirowaliśmy, aby otrzymać klarowny płyn ponad stałym osadem. Z tym płynem, ewent. po rozcieńczeniu roztworem fizjologicznym soli wykonywano odczyn zlepek.

W drugiej grupie zwierząt wstrzykiwaliśmy zawiesinę zabitych hodowli odmienia X19 wprost do ciała szklistego, aby zaobserwować wpływ wprowadzonego do ciała szklistego antygeny na poziom niweczników we krwi. Odczyn aglutynacyjny wykonywano we krwi w różnych odstępach czasu po jednorazowym wprowadzeniu do ciała szklistego zawiesiny odmienia X19.

Nadto po wprowadzeniu bakterii do ciała szklistego jednego oka, badaliśmy poziom niwecznika w ciałku szklistym oka drugiego. Wstrzykiwano zazwyczaj rzadką zawiesinę zabitej hodowli odmienia X19 w ilości 0,1 ccm cienką igłą przebijając twardówkę w okolicy przyrównikowej pod spojówką. Ważne jest oczywiście takie przeprowadzenie

zabiegu, ażeby możliwie wykluczyć przedostanie się zawiesiny do innych tkanek za wyjątkiem ciała szklстого. W tym celu zmieniano zawsze igłę po nabraniu zawiesiny. Do strzykawki nabierano zawsze tylko tę ilość zawiesiny, którą zamierzano wstrzyknąć w całości. Po wstrzyknięciu całej zamierzonej zawartości podciągano igłę niemal pod twardówkę i zmieniając kierunek wkłucia bardziej ku tyłowi nakładano drugą strzykawkę z nieznaczną zawartością powietrza, przedmuchując w ten sposób i przecyszczaając igłę przed jej wyjęciem.

W trzeciej grupie zwierząt z wysokim poziomem niweczników anti X19 we krwi (aglutynacja 1:6000) staraliśmy się zaobserwować zachowanie się wprowadzonej do ciała szklстого zawiesiny zabitej hodowli odmienia X19 w ilości 0.05-0.1 ccm. W szczególności chodziło nam o uzyskanie danych doświadczalnych co do możliwości występowania w ciałku szklстым zwierzęcia uodpornionego zjawiska aglutynacji.

Równocześnie dla porównania wykonywano to samo doświadczenie u zwierząt zdrowych.

W znieczuleniu miejscowym 2% kokainą wprowadzano cienką igłę krótko ściętą pod spojówkę przy rąbku w miejscu pomiędzy mięśniem prostym górnym a zewnętrznym dochodząc do równika gałki lub części przyrównikowej i nakłówano twardówkę, wprowadzając 0.05 ccm zawiesiny do ciała szklстого. Powieki rozwierano szwami. Zachowanie się zawiesiny w ciałku szklстым obserwowano w świetle ogniskowym i przepuszczonym przez okres od 2 — 48 godzin i dłużej. Następnie gałki oczne wyjmowano i zaraz po wyjęciu rozcinano ostrym nożykiem jednym ruchem i dokładnie obserwowano charakter i kształt zmętnienia lub ewent. abscesu w miejscu zastrzyku. Następnie do obu powierzchni rozciętego ciała przykładano szkiełka podstawowe celem uzyskania możliwie bez większych przemieszczeń preparatów mikroskopowych, które pozwoliłyby na dokładną ocenę zachowywania się wprowadzonych do ciała szklстого bakterii zarówno u zwierząt uodpornionych jak i zdrowych. W dalszym ciągu odcinano małe skrawki ciała szklстого nożyczkami Weckera z miejsca makroskopowo zmienionego lub z miejsca wstrzyknięcia. Skrawki układano możliwie płasko i bez miażdżenia na szkiełku podstawowym oraz wysuszano je. W ten sposób przygotowany szereg preparatów po utrwaleniu podbarwiano błękitem metylenowym lub rozcienczoną fuksyną.

2. Wyniki badań.

Kilku królikom wstrzykiwano przez dłuższy okres czasu dożylnie i podskórną zawiesinę zabitej i żywej hodowli odmienia X19 aż do uzyskania wysokiego poziomu niweczника we krwi, celem prześledzenia wpływu uodpornienia ogólnego na przebieg procesów odpornościowych

w ciałku szklistym. Odczyn aglutynacyjny we krwi dla X19 wynosił od 1:2000 do 1:8000 a nawet 1:16000.

U tak przygotowanych zwierząt badaliśmy poziom niwecznika w ciałku szklistym przy pomocy odczynów aglutynacyjnych. Miano aglutynacyjne wynosiło w zależności od uodpornienia ogólnego od 1:2 do 1:32. Przy najwyższym poziomie niwecznika we krwi, który w naszym doświadczeniu wynosił 1:16000 poziom niwecznika w ciałku szklistym dochodził do 1:64.

Jak z powyższego doświadczenia wynika przy wysokim uodpornieniu ogólnym zwierzęcia zawiesiną zabitej hodowli odmienia X19 część niweczników anti X19 przedostaje się również do ciała szklanego gdzie poziom ich wynosił około 1/250 poziomowi we krwi.

TAB. Nr 1.

Zestawienie miana aglutynacyjnego królików uodpornionych przez zastrzyki podskórne i śródżylnie odmienia X19.

Królik	Miano agl. we krwi	Miano agl. płynu z ciała szklanego	Stosunek miana we krwi do miana w ciałku szkl.
Nr 6	1:8000	1:32	1:250
Nr 7	1:16000	1:64	1:250
Nr 8	1:4000	1:4	1:1000

W następnej grupie zdrowych królików u których odczyn aglutynacyjny dla X19 we krwi wynosił 1:2 (—) wstrzyknięto do ciała szklanego zawiesinę zabitej hodowli *Proteus* X19 w ilości od 0.05—0.1 ccm chcąc się przekonać, czy przez wprowadzenie antygeny do ciała szklanego możemy wpłynąć na podniesienie poziomu niwecznika we krwi.

U tak przygotowanych zwierząt wykonywano począwszy od 7-go dnia po wstrzyknięciu zawiesiny do ciała szklanego odczyny aglutynacyjne we krwi dla X19 co kilka dni przez okres około 20 dni. W wyniku tych badań okazało się, że miano aglutynacyjne dla X19 we krwi wynoszące po 7-miu dniach 1:160, wzrastało wyraźnie przez okres przeszło 2 tygodni przyjmując kolejno wartości do 1:640. Po tym okresie czasu zaznaczał się już stały spadek poziomu niweczników anti X19 we krwi, który po miesiącu wyrażał się mianem 1:100.

Już w 24 godzin po wstrzyknięciu do ciała szklanego zawiesiny występowało silne zadrażnienie oka z nastrzykiem okołorogówkowym. Z dna oka widoczny był zwykle szarawy reflex. Objawy zapalenia wnętrza oka nasilały się przeważnie przez 10 dni, poczym prowadziły przeważnie do następowego zaniku gałki.

Z powyższego doświadczenia wynika, że przez wprowadzenie antygeny do ciała szklatego możemy doprowadzić do uodpornienia ogólnego, które wyraża się w naszym doświadczeniu wzrostem poziomu niwecznika we krwi

Wykonując w tej grupie zwierząt odczyny aglutynacyjne dla X19 w ciałku szklistym drugiego oka mogliśmy się przekonać, że miano aglutynacyjne wynosiło 1:2 lub 1:2 do 1:4. Jak z tego można wywnioskować przez wprowadzenie antygeny do ciała szklatego jednego oka możemy doprowadzić do pojawienia się niweczników zarówno we krwi jak również w ciałku szklistym oka drugiego. Trzecia grupa zwierząt doświadczalnych obejmowała króliki uodpornione z mniej lub bardziej wysokim poziomem niweczników anti X19 we krwi (od 1:300 do 1:8000) oraz króliki zupełnie zdrowe, dla których odczyn aglutynacyjny we krwi dla X19 wynosił 1:2 (—). Staraliśmy się tym razem zaobserwować sposób zachowania się odmienia X19 wprowadzonego w zawiesinie do ciała szklatego zwierzęcia uodpornionego i zdrowego.

U królika, u którego miano aglutynacyjne dla X19 we krwi wynosiło 1:8000, wstrzyknięto do ciała szklatego 0,05 ccm zawiesiny zabitej hodowli *Proteus* X19. Równocześnie wstrzyknięto tę samą ilość zawiesiny do ciała szklatego królika zdrowego. Już po 24 godzinach zarówno u zwierzęcia uodpornionego jak i zdrowego wystąpiło silne zadrażnienie oka z wyraźnym nastrykiem okołorogówkowym. Z dna oka wyraźny szarawy reflex z rozwijającego się abscesu ciała szklatego. Po 48 godzinach objawy te jeszcze bardziej nasiliły się. W tym czasie wykonano sekcję obu gałek ocznych przyczym makroskopowo można było zaobserwować zaledwie to, że absces w ciałku szklistym oka królika uodpornionego był znacznie ostrzej odgraniczony niż u królika zdrowego.

W preparatach mikroskopowych wykonanych powyżej opisanym sposobem w ciałku szklistym królika uodpornionego nie stwierdziliśmy ani śladu obecności pałeczek odmienia X19. Widoczne były liczne leukocyty.

U królika zdrowego poza licznymi leukocytami widoczne były gdzieś pojedyncze rozpadające się pałeczki X19.

Jak z powyższego doświadczenia wynikało, brak w obrazie mikroskopowym bakterii wstrzykniętych do ciała szklatego wskazywał by na to, że okres pomiędzy wprowadzeniem zawiesiny X19 do ciała a pobraniem materiału był zbyt długi i drobnoustroje uległy rozpadowi.

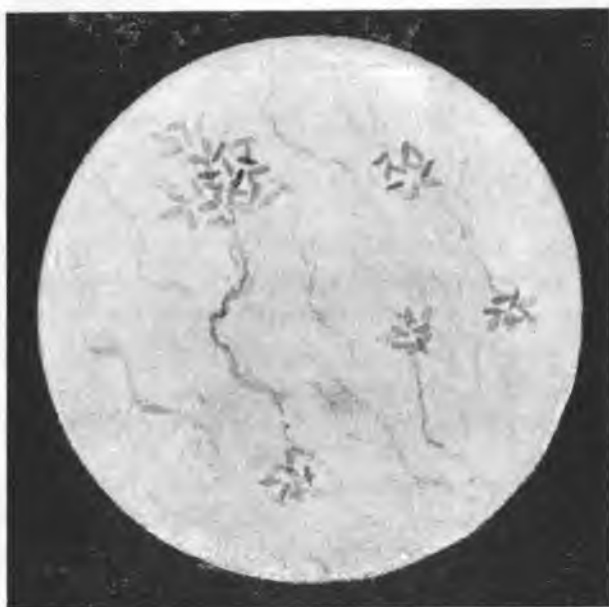
W następnym doświadczeniu skróciliśmy czas pomiędzy wstrzyknięciem zawiesiny a pobraniem materiału do 24 godzin. Jednak i w tym doświadczeniu nie zdołaliśmy zaobserwować zachowania się pałeczek odmienia X19 w ciałku szklistym oka zwierzęcia uodpornionego i zdrowego, gdyż uległy one i tym razem w międzyczasie rozpadowi.

Że jednak istnieją różnice w zachowaniu się pałeczek odmienia X19 w ciałku szklistym oka zwierzęcia uodpornionego i zdrowego, przekonało nas doświadczenie, w którym już po 2 i $\frac{1}{2}$ godzinach po wstrzyknięciu do ciała szklistego zawiesiny zabitej hodowli X19 pobraliśmy ciało szkliste do badania mikroskopowego.

Po wstrzyknięciu zawiesiny w ilości 0.05 ccm do ciała szklistego po 2 i $\frac{1}{2}$ godzinie przy prześwietlaniu oka i w świetle ogniskowym widoczne były lekkie obłoczkowate zmętnienia w ciałku szklistym. Jakichkolwiek różnic w nasileniu zmętnienia u zwierzęcia uodpornionego i zdrowego nie zauważyliśmy. Brak było u obojga jakiegokolwiek reakcji zapalnej.

W preparatach mikroskopowych natomiast uwidoczniła się wyraźnie różnica w sposobie zachowania się pałeczek X19 u zwierzęcia uodpornionego i zdrowego.

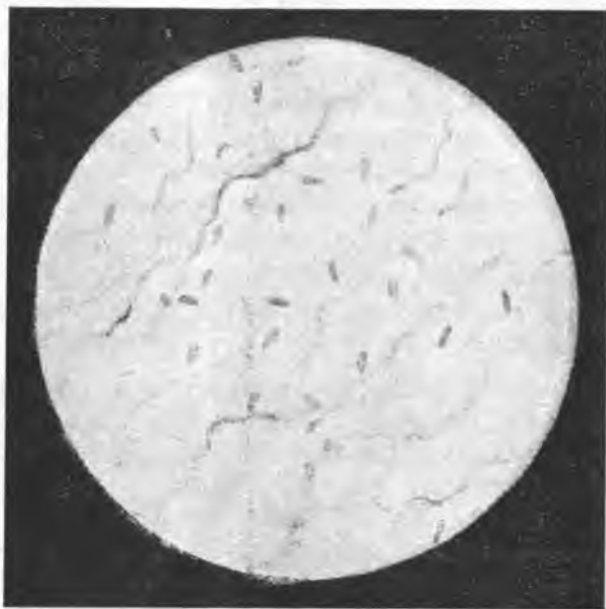
U zwierzęcia uodpornionego, u którego poziom niwecznika we krwi wynosił 1:6000, pałeczki odmienia X19 układały się w liczne skupienia i zlepy dając typowy obraz aglutynacji. Gdziekolwiek widoczne formy rozpadające się. (Ryc. 1.)



Ryc. 1.

W preparatach ze zwierząt kontrolnych pałeczki X19 nie wykazywały żadnych tendencji do aglutynacji i rozmieszczone były dość równomiernie. (Ryc. 2).

Doświadczenia powyższe wskazywałyby na przenikanie niwecznika ze krwi do ciała szklistego, gdyż dowodzą bezpośredniego działania aglutynin.



Ryc. 2.

Na podstawie zatym przeprowadzonych doświadczeń dochodzimy do wniosków:

1. Wywołując odporność ogólną przez śródżylną i podskórną zastrzyki zawiesiny odmienia X19 możemy uzyskać także odporność w tylnym odcinku oka, ponieważ niwecznik przenika do ciała szklistego i może być wykazany odczynem zlepnym *in vitro* i *in situ* w ciałku szklistym.

2. Przez wprowadzenie antygeny do ciała szklistego możemy uzyskać wysoki poziom niwecznika we krwi.

3. Ciało szkliste ma więc swój udział w stanie odporności ogólnej organizmu mimo braku unaczynienia. Zarówno niwecznik ze krwi jak substancja antygenowa do krwi mogą przenikać poprzez stosunkowo grubą warstwę ciała szklistego.

4. Powyższe dane rozstrzygają spór między dawniejszymi doświadczeniami laboratoryjnymi a obserwacjami klinicznymi na korzyść tych ostatnich.

PIŚMIENNICTWO

- 1) Axenfeld, H.: Klin. Mbl. f. Augenheilk. 1909. 47 II. 330.
 - 2) Bellows, J. C.: Amer. J. Ophthal. 30. 309 — 323. 1937.
 - 3) Bergmeister: Kl. Mbl. f. Augenheilk. 52. 256. 1913.
 - 4) Desvignes, P. and Bouden C.: Arch. d'Ophtal. 7. 28 — 50. 1947.
 - 5) Van der Hoeve: Zschr. f. Augenheilk. 39. 20. 1918.
 - 6) Jaqueau: Clin. Ophth. 1915.
 - 7) Kleczkowski t. Szymanowski Z.: Postęp Okulistyczny 281 — 286. 1913.
 - 8) Kuffler O.: Graefcs Arch. 78. 227. 1911.
 - 9) Nedden M.: Graefes Arch. 65. 268. 1907.
 - 10) Possek R.: Klin. Mbl. Augenheilk. 44. II. 500. 1006. 451. 357. 1907.
 - 11) Stallard H. B.: Brit. J. Ophthal. 31. 12 — 40. 1947.
 - 12) Wagenmann: Augenärztliche Operationslehre herausgegeben v. Elsch-nig 1922.
 - 13) Schieck, Brückner: Kurzes Hb. der Ophth. Band VII. 1931.
-

S U M M A R Y

On the basis of his experiments the author comes to the following conclusions:

1. By producing a general immunity through intravenous and subcutaneous injections of proteus X19 suspension we can also produce immunity in the posterior part of the eye, since the antibody penetrates the vitreous, which can be shown by means of agglutination in vitro and in situ in the vitreous.

2. By introducing an antigen to the vitreous we can raise the antibody titer in the blood.

3. Thus the vitreous has its participation in the state of general immunity of organism in spite of the fact that it lacks vessels. The antibody as well as the antigenic substances can penetrate the relatively thick layer of the vitreous, the former from, the latter to, the blood.

4. It seems that the disagreement between the results of experiments made by quoted authors and clinical observations as to the participation of the vitreous in the general immunity of organism, can be resolved for the benefit of clinical observations.
