

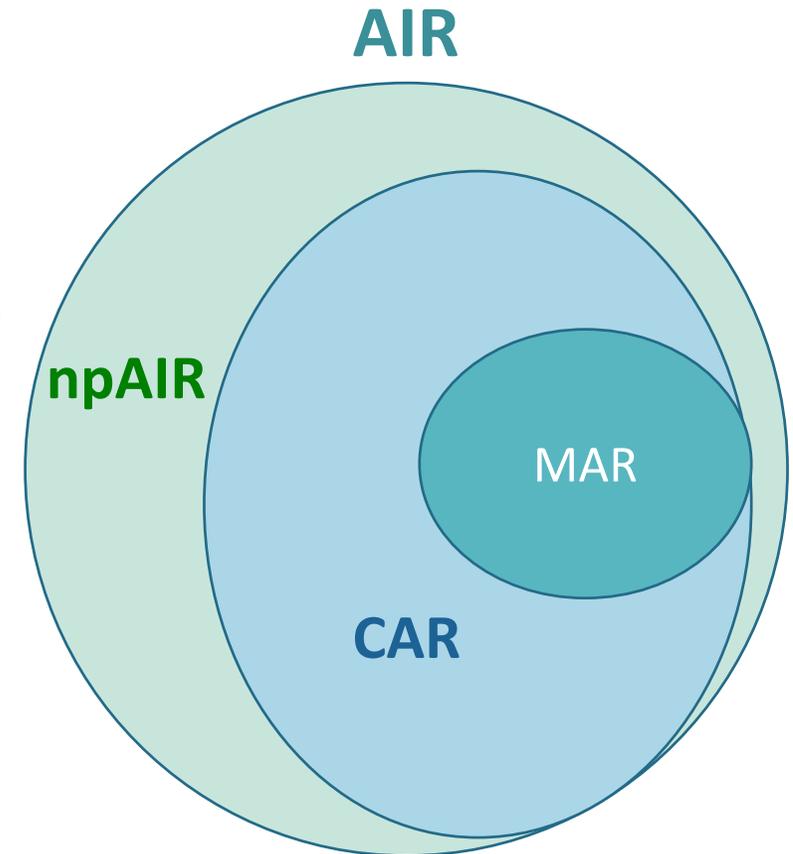
Anticorps anti-rétine

Colloque GEAI 03/06/2022

F. Fortenfant, CHU Toulouse

Rétinopathies autoimmunes (AIR)

- 1^{ère} description en 1976 par Sawyer et coll.
- AIR : Détérioration visuelle rapidement progressive
 - Paraneoplasique ou non
 - Rétinopathie autoimmune non paranéoplasiques: diagnostic d'exclusion
- Epidémiologie mal connue :
 - Très rares : moins de 1% des cas vus dans un service spécialisé d'ophtalmo
 - Sex ratio : 2F/1H pour CAR et non paranéo. Plus fréquent chez hommes pour MAR
 - Age moyen au diagnostic : 55-65 ans (npAIR << pAIR)
- Intérêt récent pour ces pathologies (irAEs, thérapeutique, physiopathologie, ...)



L'atteinte visuelle précède généralement la découverte de la tumeur.

Cancer (n=441)	Total (N)	%
Bladder	12	3%
Brain	7	2%
Breast	96	22%
Colon	21	5%
Esophagus	3	>1%
Gynecological (ovarian, endometrial, uterine, cervical)	32	7%
Leukemia	9	2%
Liver	8	2%
Lung (SCCL, NSCCL, adenocarcinoma)	47	11%
Lymphoma	17	4%
Melanoma	82	19%
Multiple myeloma	5	1%
Pancreas	7	2%
Pituitary	5	1%
Prostate	30	7%
Renal	4	1%
Sarcoma	3	>1%
Skin, not melanoma	14	3%
Testis	4	1%
Thyroid	16	4%

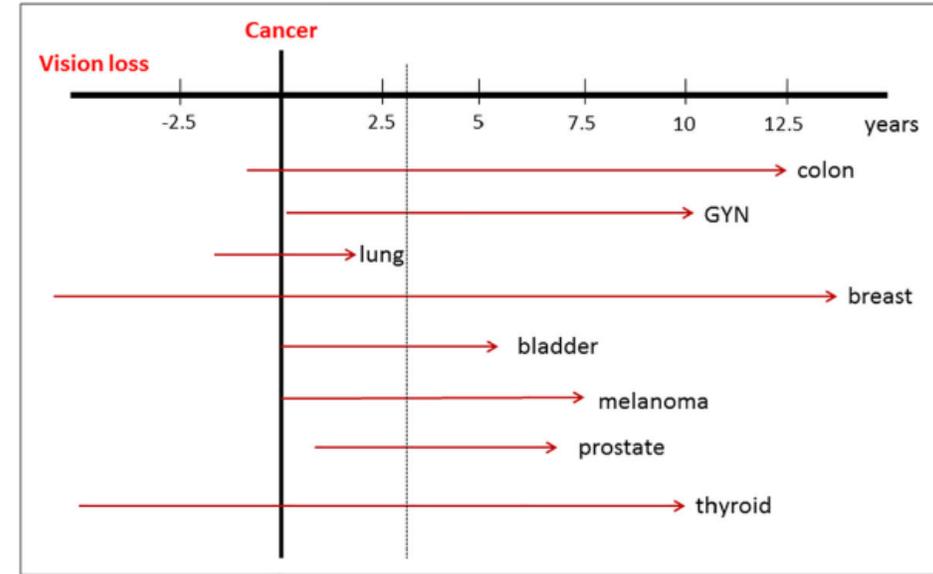


Figure 2.

A diagram showing the latency between the occurrence of vision loss and cancer diagnosis illustrated for breast bladder, colon, gynecological cancers (GYN), melanoma, lung, prostate, and thyroid cancers. The median time delay between finding cancer and ocular symptoms was ~3 years (dotted line).

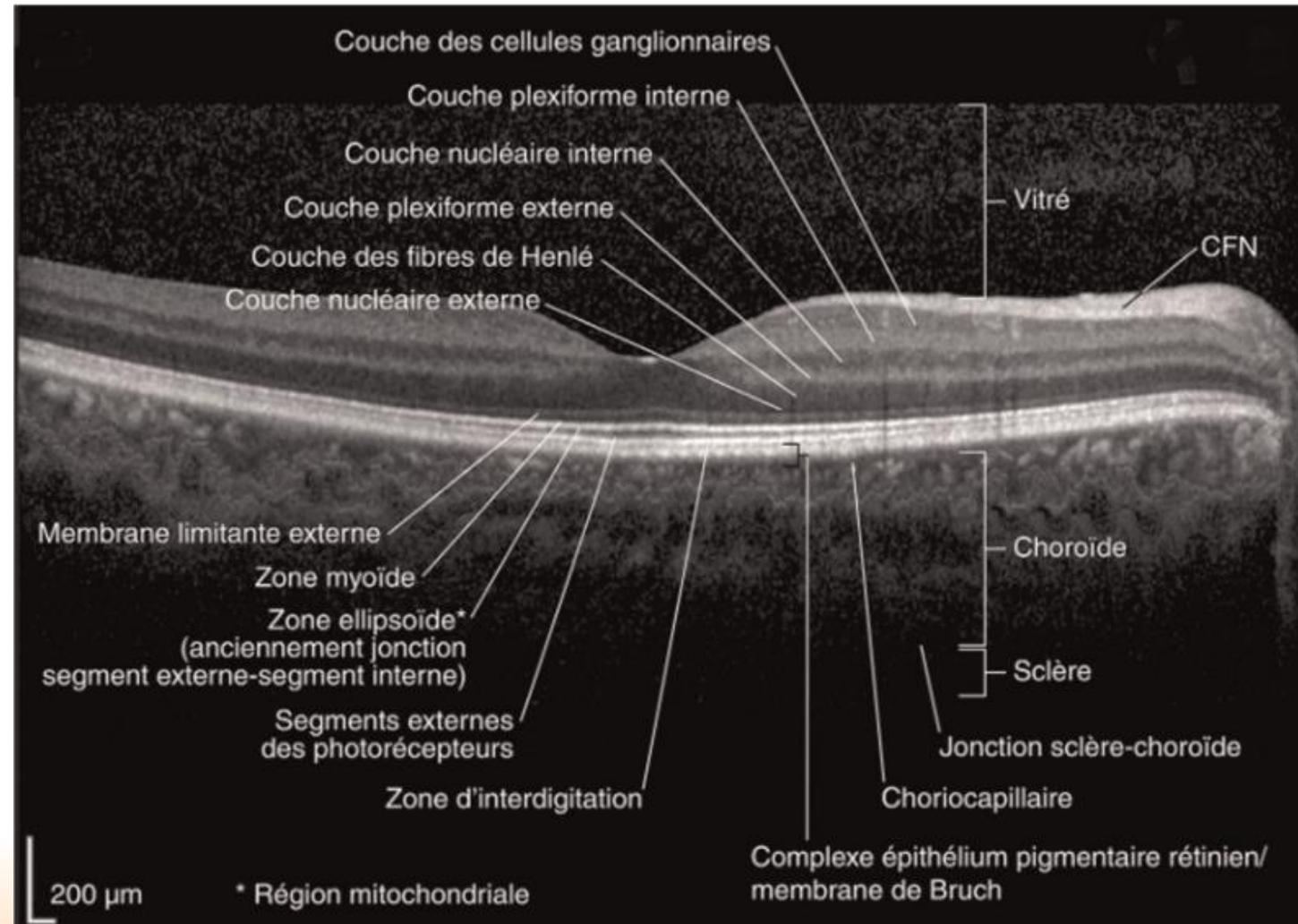
Occurrence of Major Anti-retinal Autoantibodies Associated with Paraneoplastic Autoimmune Retinopathy

Grazyna Adamus^{*}, Rachel Champaigne, Sufang Yang

Ocular Immunology Laboratory, Casey Eye Institute, School of Medicine, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, USA

Diagnostic

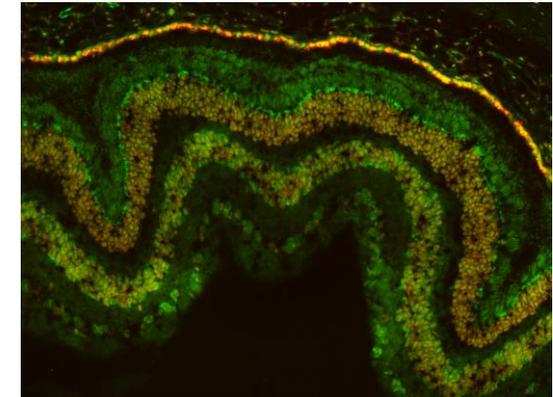
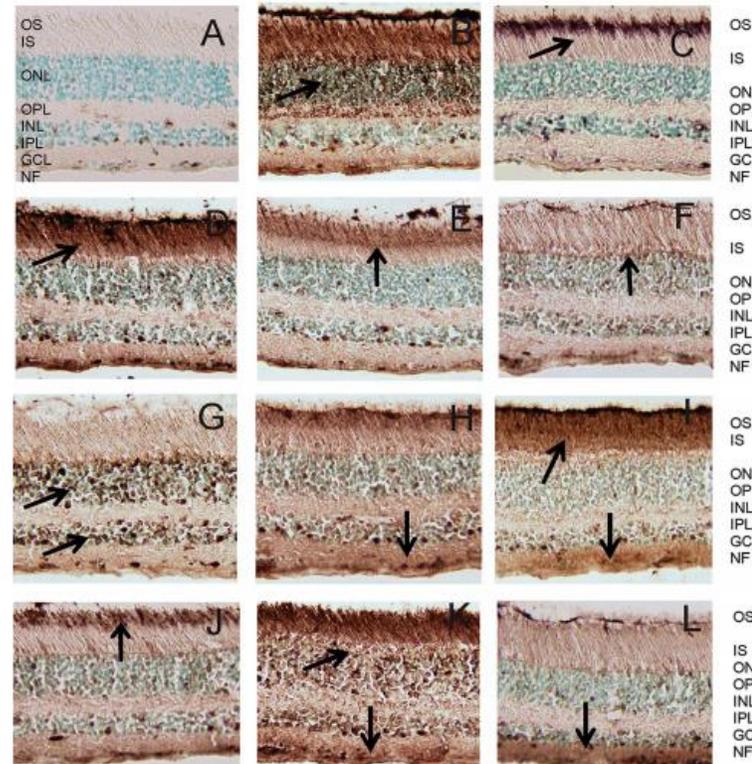
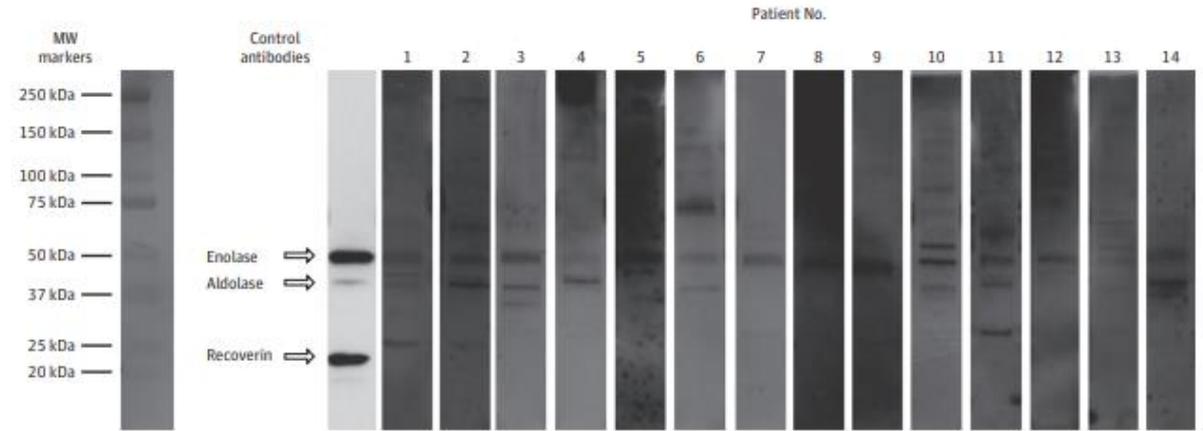
- **Clinique**
- Examen du **fond de l'œil** (angiographie)
- **OCT** : Tomographie par cohérence optique (SD-OCT)
- **Tests électrophysiologiques**
- Recherche d'**autoanticorps**



Les techniques

- Technique historique : **Western blot** sur extrait de rétine
 - (humaine , singe, porc)
- Immunohistochimie ou **immunofluorescence** sur coupe de rétine (singe)
- Techniques avec protéines purifiées
 - Immunoblot
 - ELISA
 - Luminex, ...

Figure. Western Blot at the Mayo Clinic Research Laboratory



De nombreuses cibles antigéniques potentielles

Serum Autoantibody Profiling of Patients with Paraneoplastic and Non-Paraneoplastic Autoimmune Retinopathy

Josianne C. ten Berge^{1*}, Joost van Rosmalen², Jacolien Vermeer³, Cecilia Hellström⁴, Cecilia Lindskog⁵, Peter Nilsson⁴, Ulrika Qundos⁴, Aniki Rothova¹, Marco W. J. Schreurs³

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0167909 December 8, 2016

Antigen	Associated with			Location in retina	Size (kDa)
	CAR	MAR	npAIR		
Recoverin [16]	x	x	x	Inner segments and nuclei of photoreceptor cells, outer plexiform layer	23
α -Enolase [17]	x	x	x	Inner segments of the cone cells, Müller cells and ganglion cell layer	46
Carbonic anhydrase II [18]	x	x	x	Ganglion cell layer, inner nuclear layer, outer segments of photoreceptors	30
Heat shock cognate protein 70 [19]	x	x	x	N/A	65
Transducin α [20] (guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1)	x	x	x	Outer and inner segments of photoreceptor cells, cytoplasm of ganglion cells	40
Transducin β [21] (guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(T) subunit β -1)	x	x		Photoreceptor cells, ganglion cell layer	35
Arrestin (S-antigen) [22, 23]		x	x	Photoreceptor cells	48
Interphotoreceptor binding protein [24–26] (retinol binding protein 3)		x	x	Outer and inner segments of photoreceptor cells	141
Rhodopsin [27, 28]		x	x	Rod photoreceptor cells	40
Photoreceptor-cell-specific nuclear receptor [29]	x			Outer nuclear layer	44.7
Müller-cell-specific antigen [30]		x	x	N/A	35
Transient receptor potential cation channel subfamily M, member 1 [31–34]	x	x	x	Bipolar cells	182
Tubby-like protein 1 [35]	x		x	Photoreceptor cells	78
Bestrophin-1 [36]		x		Basal lateral membrane of retinal pigment epithelium	68
Aldolase A and C [15]		x	x	Ganglion cell layer, inner nuclear layer (aldolase C)	39
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase [37]	x	x	x	Rod outer segments	30 and 36

Abbreviations: CAR: cancer associated retinopathy, MAR: melanoma associated retinopathy, npAIR: non-paraneoplastic autoimmune retinopathy

Mais sensibilité faible et spécificité....

Table 3. Prevalence of antiretinal autoantibodies in paraneoplastic and non-paraneoplastic autoimmune retinopathy, uveitis and cataract*.

Antigen number	Antigen	Ratio > 25							Ratio > 2						
		Prevalence of ARAs			(n)pAIR vs uveitis		(n)pAIR vs cataract		Prevalence of ARAs			(n)pAIR vs uveitis		(n)pAIR vs cataract	
		(n)pAIR	Uveitis	Cataract	OR; 2.5%–97.5%	p value	OR; 2.5%–97.5%	p value	(n)pAIR	Uveitis	Cataract	OR; 2.5%–97.5%	p value	OR; 2.5%–97.5%	p value
225	Recoverin †	12.5% (3/24)	1.3% (2/151)	4.8% (1/21)	6.3; 0.91–54.7	0.061	2.98; 0.32–6.49	0.351	20.8% (5/24)	11.9% (18/151)	14.3% (3/21)	2.21; 0.64–6.87	0.199	1.30; 0.25–7.63	0.753
303	Progressive rod-cone degeneration protein	12.5% (3/24)	8.6% (13/151)	14.3% (3/21)	2.01; 0.39–8.21	0.370	1.21; 0.19–8.23	0.837	50.0% (12/24)	34.4% (52/151)	57.1% (12/21)	1.83; 0.73–4.58	0.195	0.73; 0.20–2.50	0.611
205	Interphotoreceptor matrix proteoglycan 2	8.3% (2/24)	2.0% (3/151)	0% (0/21)	3.82; 0.46–6.43	0.195	NA	0.062	16.7% (4/24)	25.2% (38/151)	19.0% (4/21)	0.59; 0.16–1.75	0.354	1.28; 0.244–6.95	0.766
207	Photoreceptor-specific nuclear receptor †	8.3% (2/24)	0% (0/151)	0% (0/21)	NA	0.015	NA	0.062	8.3% (2/24)	1.3% (2/151)	0% (0/21)	5.15; 0.55–49.67	0.141	NA	0.062
378	G protein-coupled receptor kinase 7	8.3% (2/24)	8.6% (13/151)	0% (0/21)	1.10; 0.16–4.77	0.905	NA	0.081	41.7% (10/24)	55.6% (84/151)	57.1% (12/21)	0.67; 0.26–1.69	0.399	0.47; 0.12–1.72	0.253
245	Serotonin N-acetyltransferase	4.2% (1/24)	0% (0/151)	0% (0/21)	NA	0.126	NA	0.251	12.5% (3/24)	0% (0/151)	4.8% (1/21)	NA	0.003	3.72; 0.39–84.11	0.262
296	Retinol-binding protein 3 †	4.2% (1/24)	0% (0/151)	0% (0/21)	NA	0.018	NA	0.272	4.2% (1/24)	2.6% (4/151)	4.8% (1/21)	2.65; 0.12–22.72	0.456	0.71; 0.03–19.31	0.815
335	Cbp/p300-interacting transactivator 1	4.2% (1/24)	0.6% (1/151)	0% (0/21)	7.07; 0.27–7.13	0.203	NA	0.377	16.7% (4/24)	6.0% (9/151)	9.5% (2/21)	6.52; 1.43–28.34	0.017	1.22; 0.17–10.56	0.842
239	Retinitis pigmentosa 1-like 1 protein	0% (0/24)	0.6% (1/151)	0% (0/21)	NA	0.537	NA	NA	33.3% (8/24)	15.2% (23/151)	23.8% (5/21)	3.54; 1.23–10.02	0.020	1.90; 0.47–8.75	0.375
325	Sodium / potassium / calcium exchanger 1	0% (0/24)	1.3% (2/151)	0% (0/21)	NA	0.674	NA	NA	25.0% (6/24)	17.9% (27/151)	4.8% (1/21)	1.41; 0.46–3.93	0.530	8.67; 1.13–188.88	0.037
270	Pigment epithelium-derived factor	0% (0/24)	0% (0/151)	0% (0/21)	NA	NA	NA	NA	16.7% (4/24)	10.6% (16/151)	0% (0/21)	1.64; 0.41–5.48	0.456	NA	0.030

* Calculation of OR was not possible in case of an ARA prevalence of 0 in either group

† ARAs which have been described also in previous studies as autoantibodies associated with (n)pAIR

Abbreviations: (n)pAIR: non-paraneoplastic and paraneoplastic autoimmune retinopathy, ARAs: antiretinal antibodies, OR: odds ratio, NA: not available

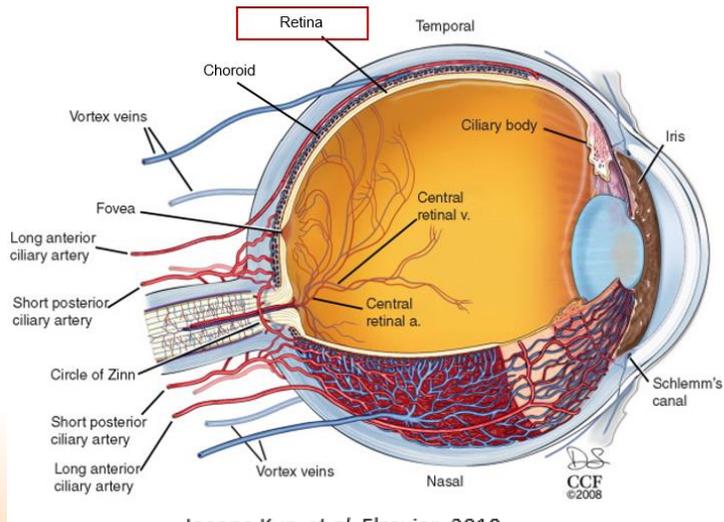
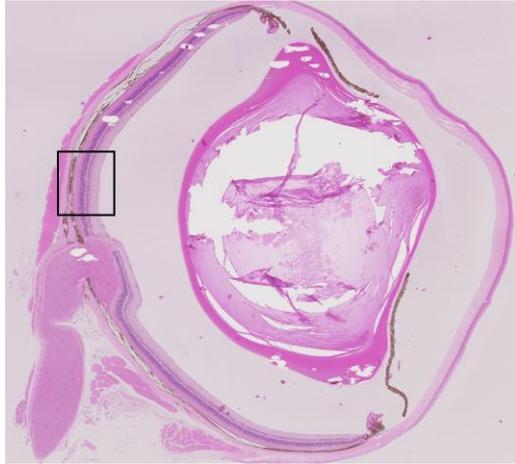
Mais variabilité selon les études : plus intéressant si les patients sont sélectionnés

Antigen	Normal (N=127)	CAR (N=441)
Aldolase	5%	16%
Arrestin	2%	14%
CAII	15%	28%
CRALBP	0	3%
Enolase	13%	43%
GAPDH	11%	17%
HSP27	1%	4%
p62	2%	15%
PKM2	4%	8%
Rab6	0	5%
Recoverin	0	3%
Tubulin	2%	5%

Analysis of Contingency Table: Overview

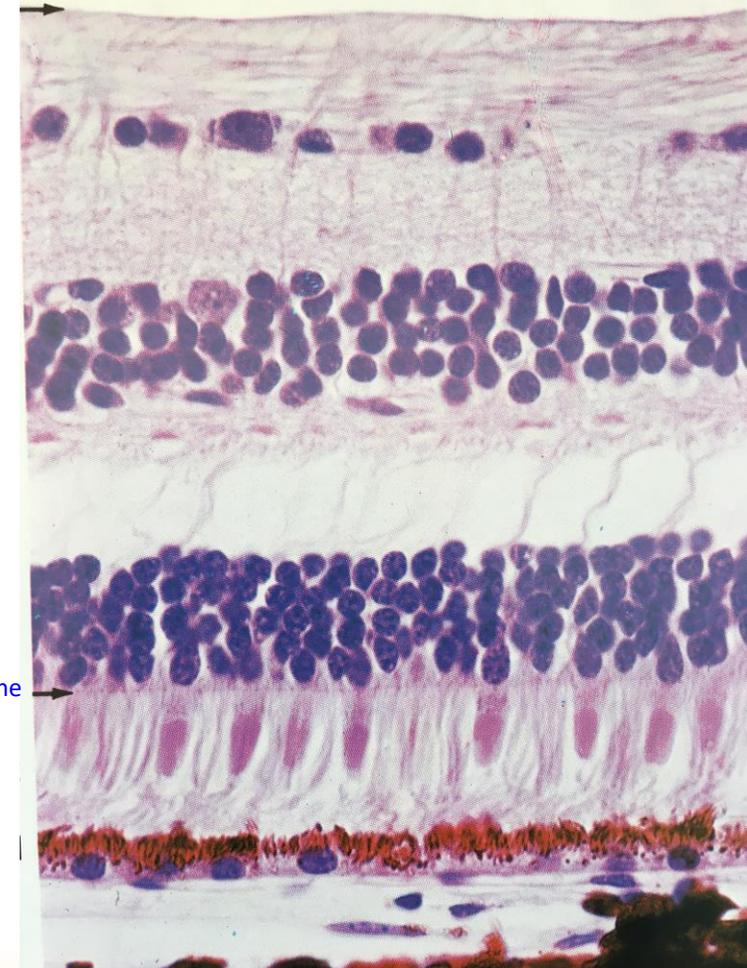
Table Analyzed	P value	Odds ratio	95% CI	Sensitivity	95% CI	Sperrifidty	95% CI	PPV	95% CI	NPV	95%
Aldolase	0.0009	3.741	1.584 to 8.833	92%	0.8340 to 0.9701	25%	0.2081 to 0.2859	16%	0.1238 to 0.1938	95%	0.9000 to 0.9825
Arrestin	<.0001	6.509	2.005 to 21.13	95%	0.8671 to 0.9901	25%	0.2086 to 0.2855	14%	0.1055 to 0.1716	98%	0.9325 to 0.9951
CAII	0.0025	2.223	1.309 to 3.778	87%	0.8003 to 0.9181	25%	0.2134 to 0.2983	28%	0.2397 to 0.3256	85%	0.7763 to 0.9075
Enolase	<0.0001	5.203	2.981 to 9.083	92%	0.8763 to 0.9547	31%	0.2588 to 0.3560	43%	0.3819 to 0.4762	87%	0.8035 to 0.9262
GADPH	0.0009	3.741	1.584 to 8.833	92%	0.8340 to 0.9701	25%	0.2081 to 0.2859	16%	0.1238 to 0.1938	95%	0.9000 to 0.9825
HSP27	0.0906	5.362	0.7084 to 40.58	95%	0.7397 to 0.9987	23%	0.1950 to 0.2670	4%	0.02437 to 0.06374	99%	0.9569 to 0.9998
p62	<0.0001	10.37	2.503 to 42.93	97%	0.8992 to 0.9965	24%	0.2007 to 0.2749	14%	0.1120 to 0.1771	98%	0.9443 to 0.9981
PKM2	0.122	2.235	0.8592 to 5.812	88%	0.7437 to 0.9602	23%	0.1965 to 0.2704	8%	0.05976 to 0.1138	96%	0.9105 to 0.9871
Tubulin	0.2306	2.274	0.6714 to 7.704	88%	0.6985 to 0.9755	23%	0.1941 to 0.2665	5%	0.03334 to 0.07723	98%	0.9325 to 0.9951

La rétine

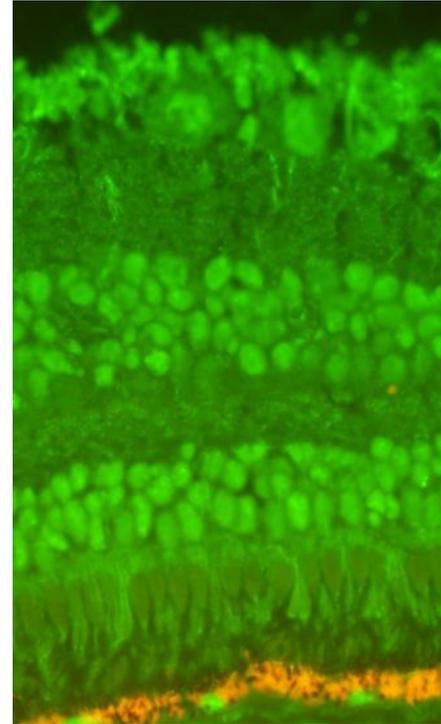
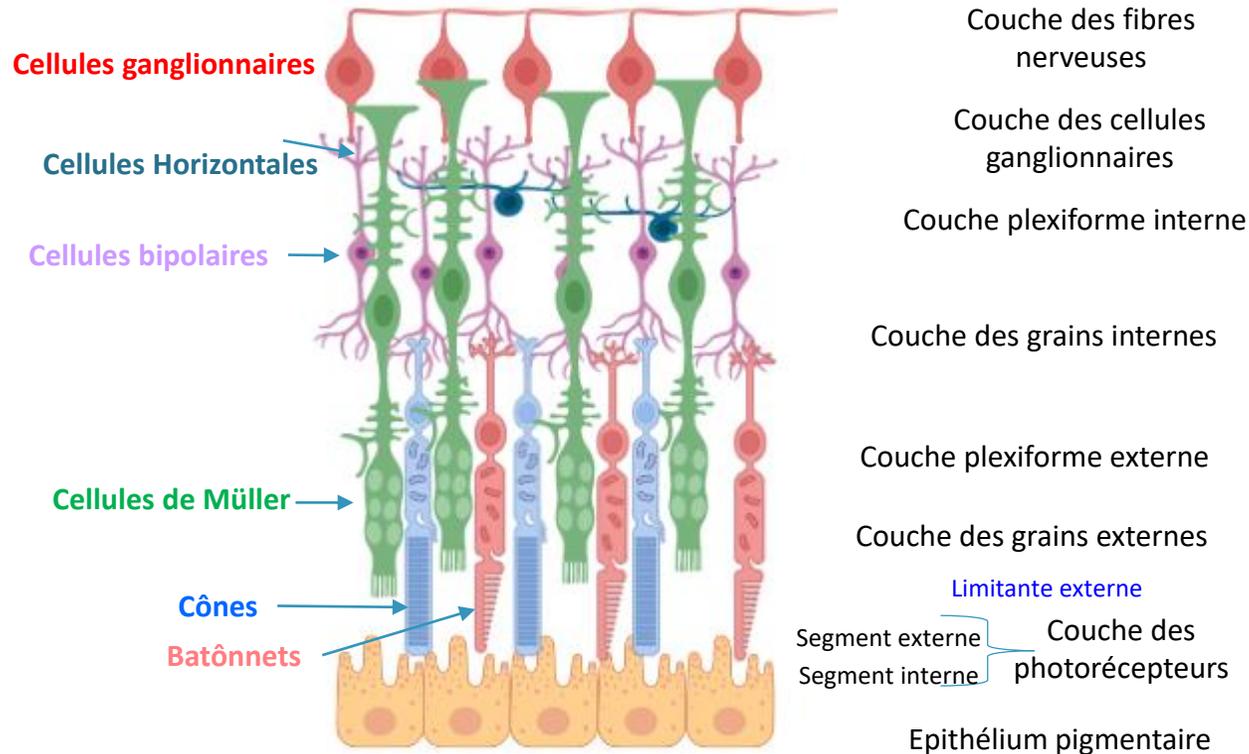


Joanna Kur, et al. Elsevier. 2010

- Couche des fibres nerveuses
- Couche des cellules ganglionnaires
- Couche plexiforme interne
- Couche des grains internes
- Couche plexiforme externe
- Zone des fibres de Henlé
- Couche des grains externes
- Limitante externe
- Couche des photorécepteurs
- Epithélium pigmentaire

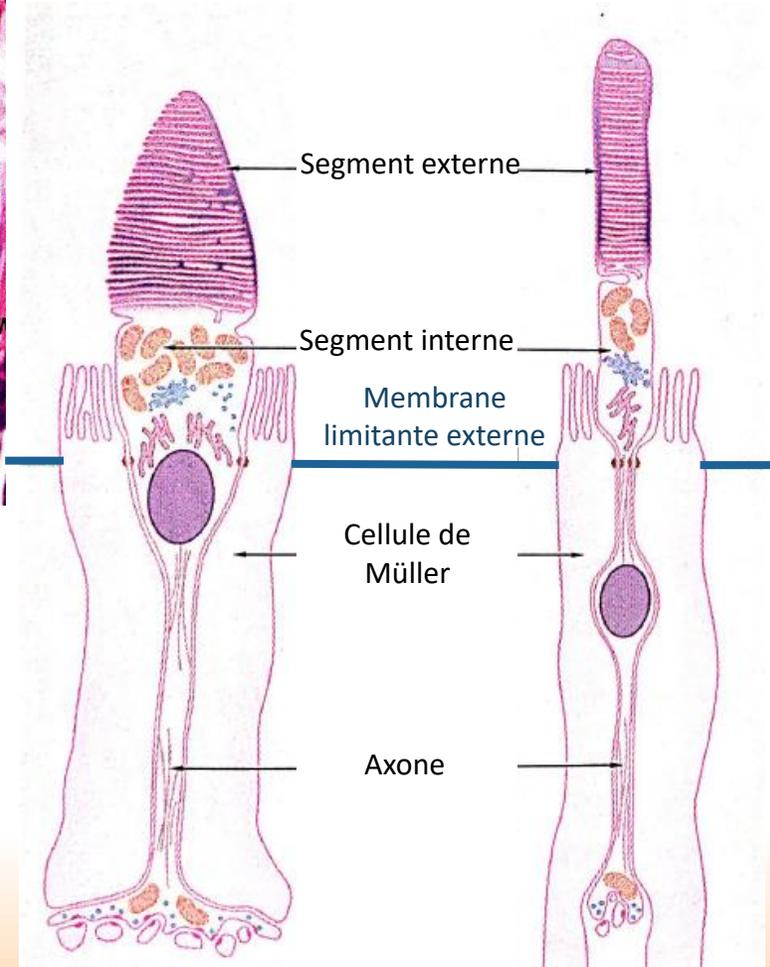
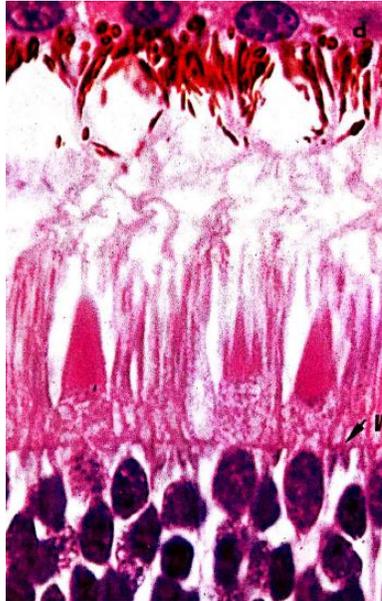


La rétine



- Composée de
 - cellules épithéliales pigmentées, neurones, cellules de soutien
 - corps cellulaires situés dans la couche des grains internes
- 3 catégories de neurones
 - Photorécepteurs
 - Neurones intégrateurs : cellules bipolaires, horizontales, amacrines
 - Cellules ganglionnaires (traversent la papille pour former le nerf optique)

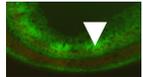
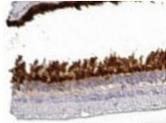
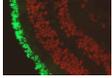
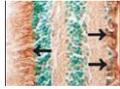
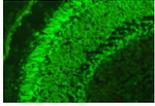
Zone des photorécepteurs



- Cellules de l'épithélium pigmentaire
 - Contiennent de la mélanine, des mitochondries +++ et de la lipofuscine
 - Rôle : phagocytose, support structural et métabolique pour les photorécepteurs. Absorbent la lumière
- Les photorécepteurs :
 - Bâtonnets :
 - segment externe contenant le pigment (rhodopsine)
 - Segment interne avec appareil de golgi et riche en mitochondries
 - Cônes : id (mais avec d'autre pigments)
 - Les corps cellulaires des cônes et bâtonnets sont dans la couche granuleuse externe
- Les cellules de Müller :
 - Leur prolongement entoure les segments externes des photorécepteurs
 - Noyaux dans la couche granuleuse interne
 - S'étendent du segment externe des photorécepteurs à la membrane limitante interne

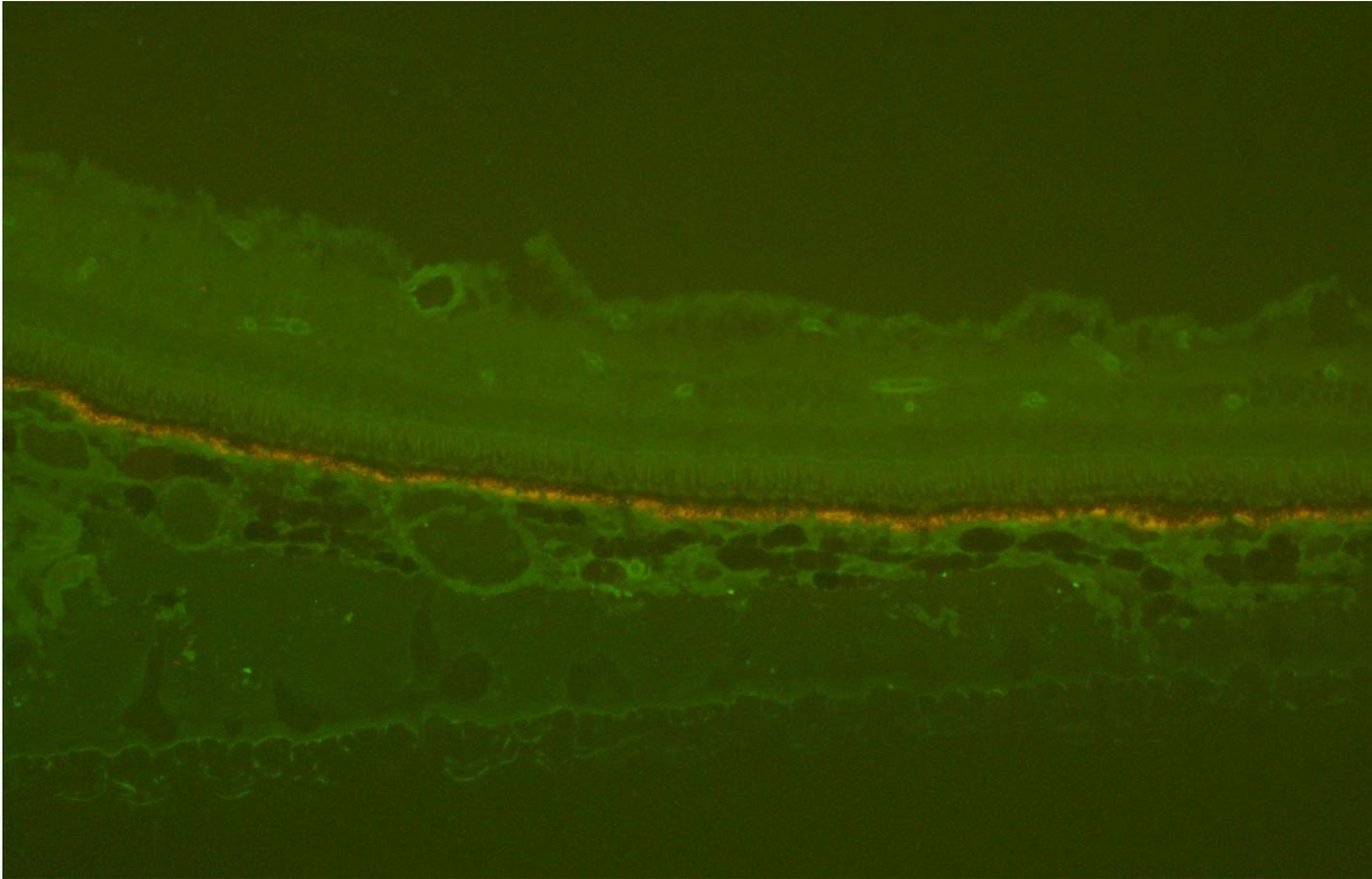
De nombreuses cibles antigéniques potentielles

Ac anti-	Epithélium pigmentaire	Aspect sur rétine					Couche des cellules ganglionnaires
		Couche des segments externes (photorécepteurs)	Couche des grains externes	Couche plexiforme externe	Couche des grains internes	Couche plexiforme interne	
Recoverine		segments internes des photorécepteurs	noyaux des photorécepteurs	axones des photorécepteurs	(+/- noyau cellules bipolaires)		
α éolase		segment interne des cônes			cellules de Muller		cellules ganglionnaires
Anhydrase carbonique II		segments externe des photorécepteurs			Positif		positif
Arrestine		photorecepteurs	(+/- noyaux des photorecepteurs)				
Transducine		segments internes et externes					cytoplasme des cellules ganglionnaires
Rhodopsine		"tige" des photorecepteurs					
Aldolase A/C					positif (aldolase C)		positif
Interphotoreceptor binding protéin (retinol binding protein 3)		segments internes et externes des photorecepteurs					
Tubby-like protein		Photorecepteurs					
Glyceraldéhyde 3-phosphate deshydrogénase		segment externe des cônes					
Photoreceptor cell spécifique nuclear receptor			Positif noyaux				
Calbindine					cellules horizontales		
Antigène spécifique des cellules de Muller					cellules de Müller		
Transient receptor potential cation channel subfamily M member 1					cellules bipolaires		
Bestrophin	membrane basale latérale						
hsp70							

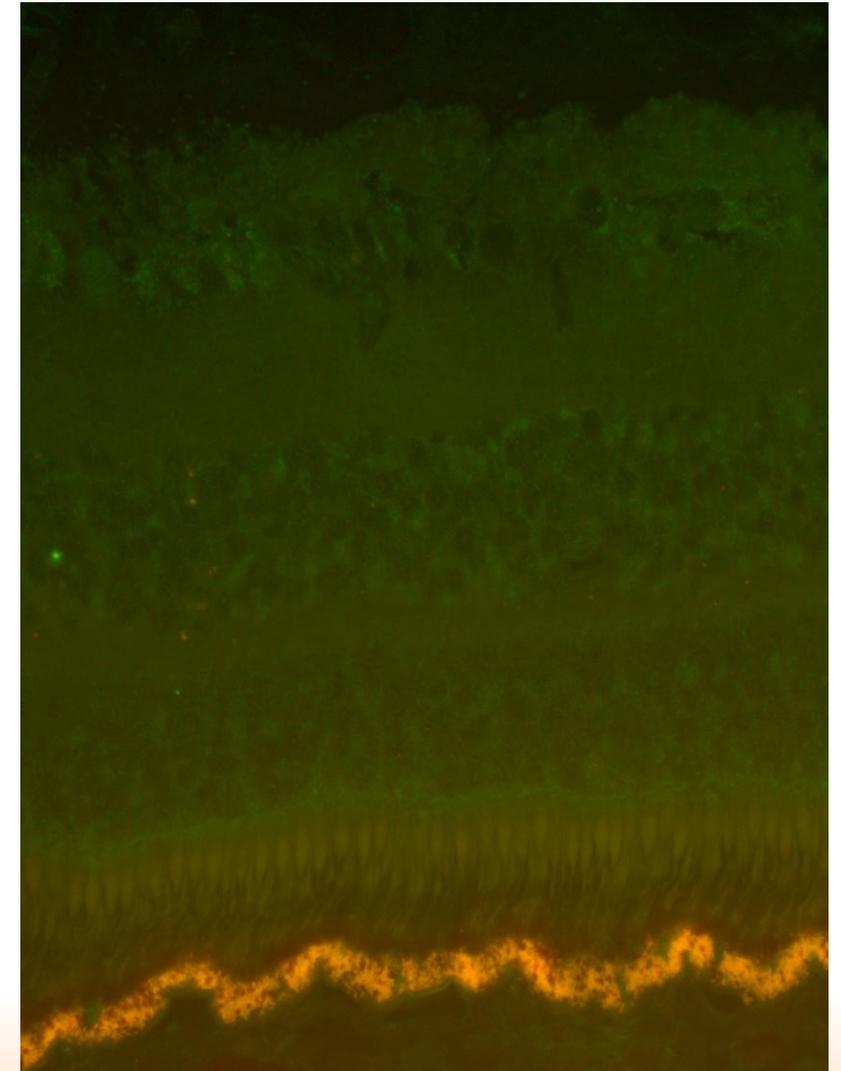


IFI sur coupe de rétine de singe (conjugué anti-GAM)

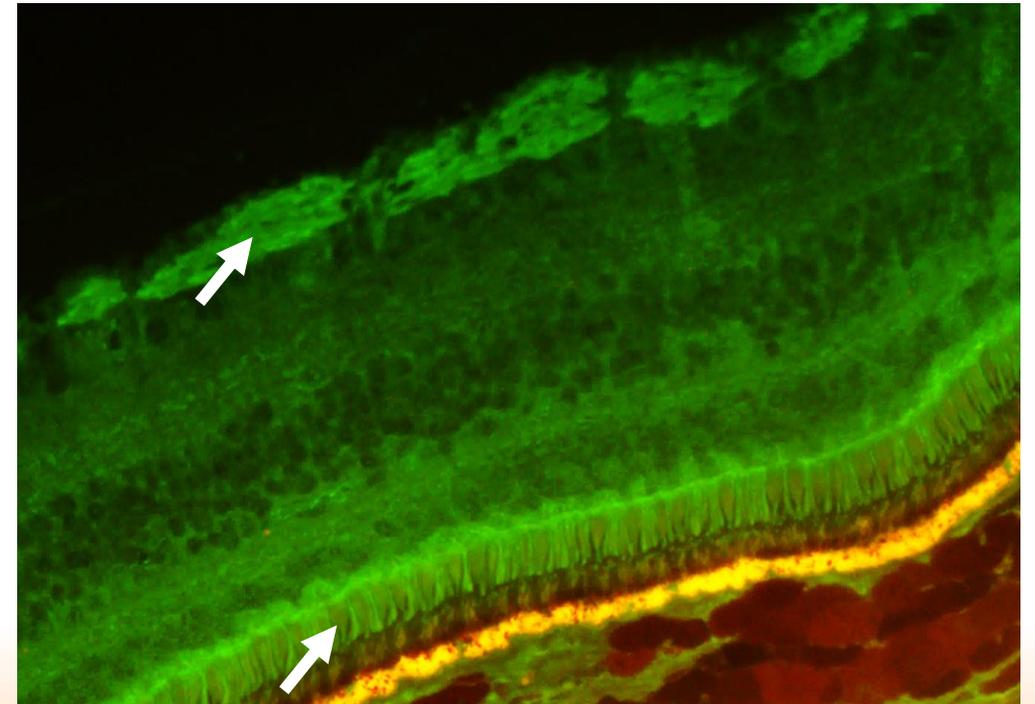
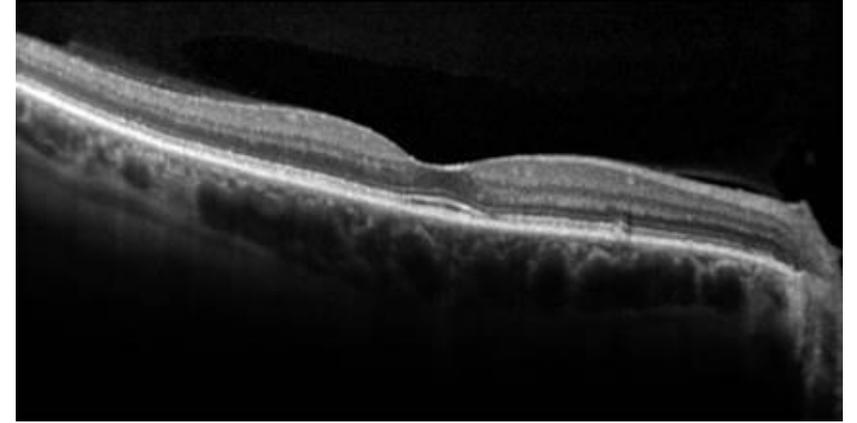
Echantillon négatif au 1/20^{ème}



Echantillon négatif au 1/40^{ème}

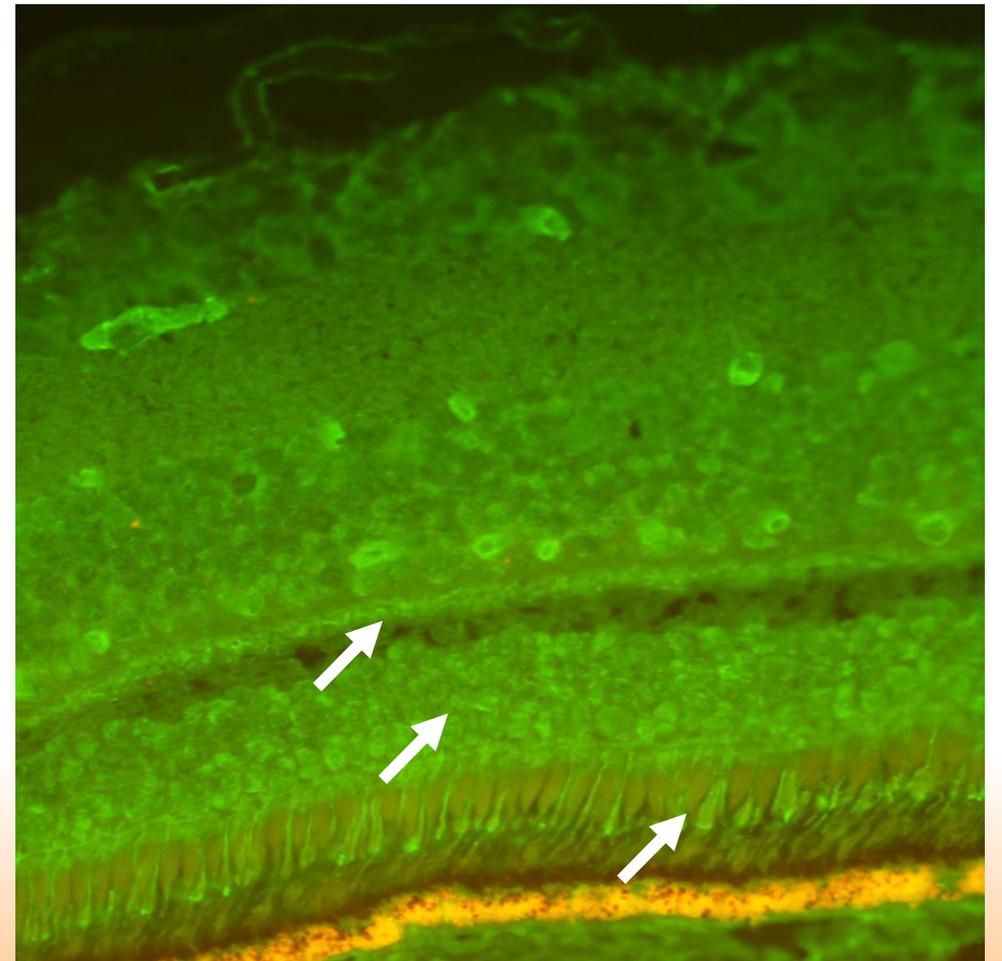
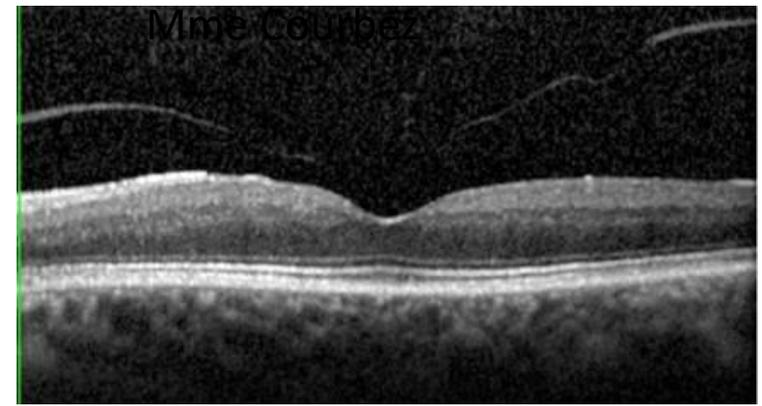


- **Clinique** : dysfonctionnement unilatéral des photorécepteurs (cônes et bâtonnets)
- **OCT** : amincissement franc de la nucléaire externe et atteinte des couches externes avec une relative préservation fovéolaire
- **IFI** : couche des fibres nerveuses +++ des bâtonnets et limitante externe



Patiente N°2.

- **Clinique** : même tableau clinique que la patiente précédente et mêmes résultats avec tests electro-physiologiques
- **OCT** : pas d'amincissement de la nucléaire externe ni d'atteinte évidente des couches externes mais plutôt un amincissement au dépend des couches internes.
- **IFI** : marquage segment externes des bâtonnets, couche des grains et couche plexiforme externe



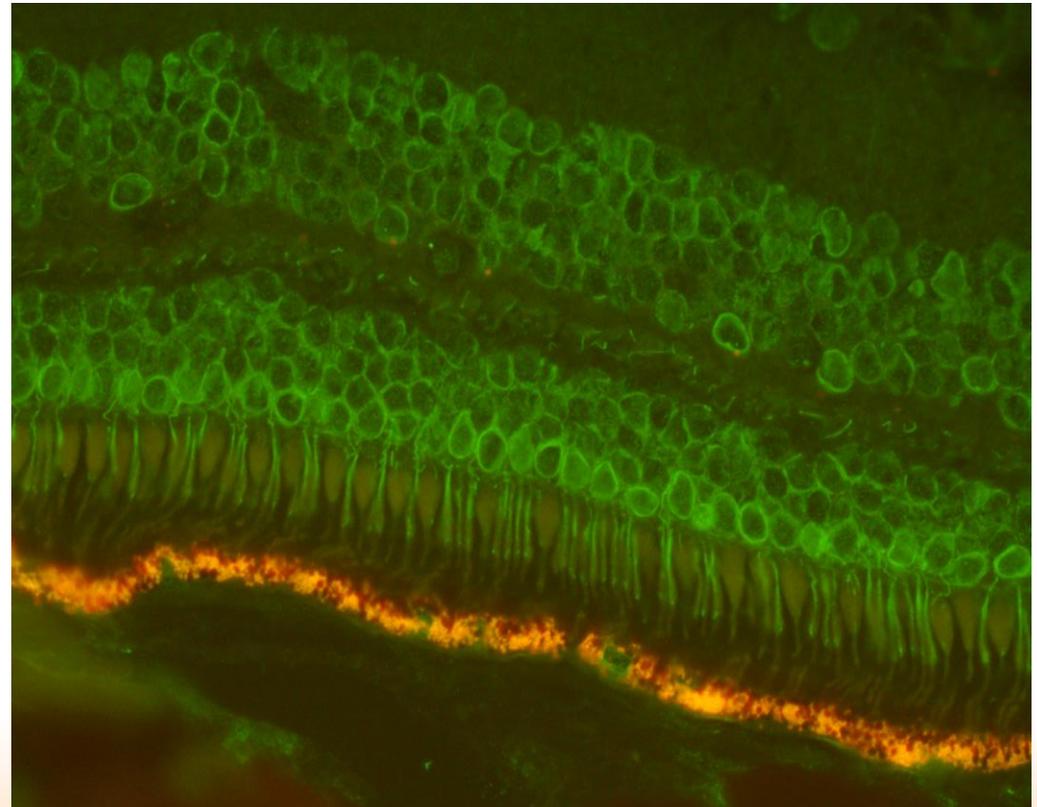
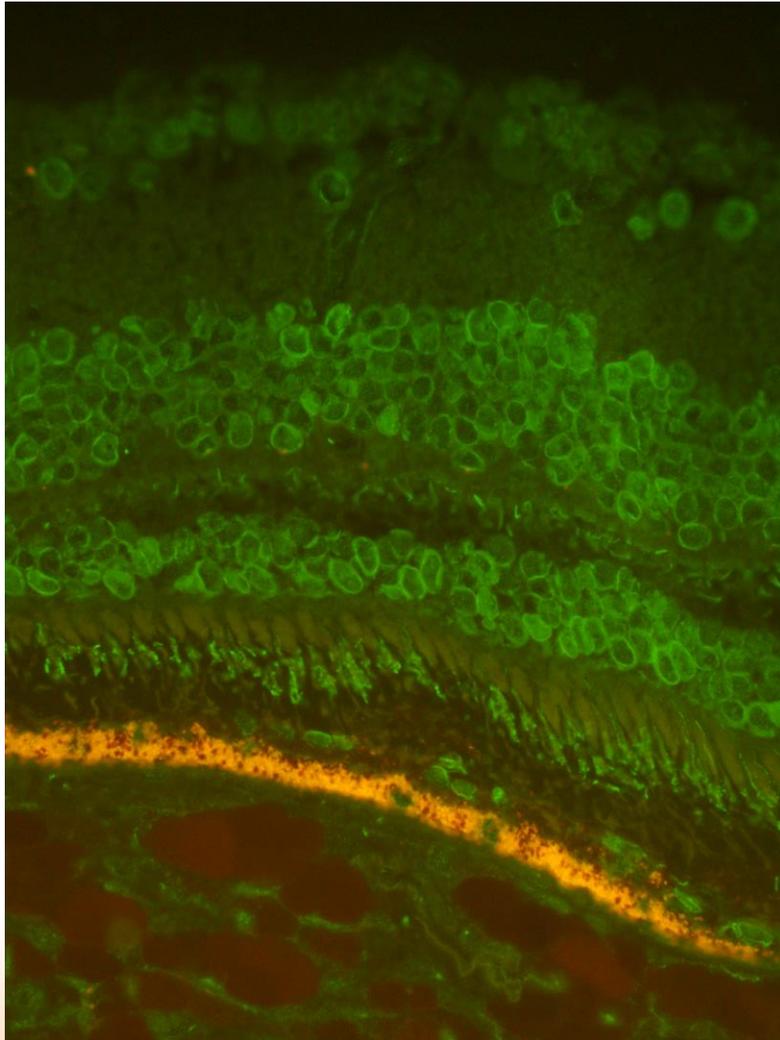
Patient N°3

Clinique : patient de 68 ans suspect de CAR syndrome (baisse acuité visuelle rapide sévère bilatérale)

carcinome épidermoïde identifié secondairement

IRM hypersignaux des 2 nerfs optiques avec prise de gadolinium en 05/2021

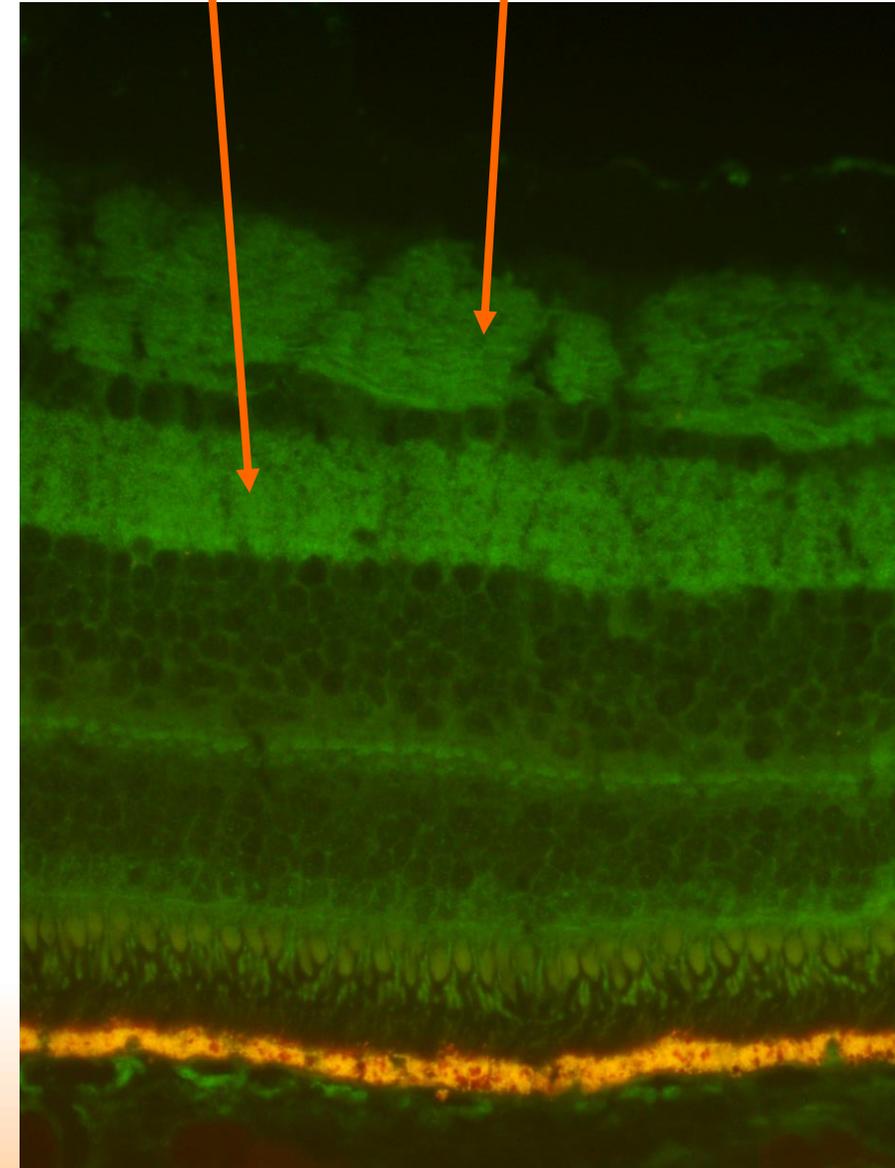
IFI : Marquage de la membrane des neurones intégrateurs et des photorécepteurs type bâtonnets en IgA



Patient N°3

- Depuis 2 ans ptosis, troubles oculomoteurs (avec assez peu de diplopie), dysarthrie.
- ptosis bilatéral, paralysie de l'élévation et de l'horizontalité du regard, limitation de l'ouverture buccale atypique, pas de rigidité extrapyramidale mais mouvements choréoathétosiques de l'hémicorps droit, pas de signes pyramidaux. Pas d'atteinte cognitive majeure
- L'IRM encéphalique et l'ENMG sont normaux

Mme G. : fort marquage de la zone plexiforme interne et de la couche des fibres nerveuses



Conclusions

- Pathologie « de niche », nécessité de concentrer les dossiers
- Nombreux axes de recherche en perspective
 - Physiopathologie
 - Epidémiologie
 - Caractérisation des cibles potentielles et de leurs association cliniques
 - Normalisation des méthodes
- Buts : tests diagnostics et traitements adaptés et efficaces