

**Αυτοανοσία θυρεοειδούς  
Αυτοαντιγόνα, αυτοαντισώματα,  
αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα, παθογένεια**

Η αυτοάνοση θυρεοειδική νόσος αποτελεί το κλασικό παράδειγμα οργανοειδικής αυτοανοσίας, για περισσότερο από 30 χρόνια. Η υψηλή συχνότητα αυτών των νοσημάτων στο γενικό πληθυσμό, η εύκολη πρόσβαση στο όργανο-στόχο και η ανάπτυξη ζωικών μοντέλων της ανθρώπινης νόσου, έχουν οδηγήσει στην αύξηση των γνώσεων σχετικά με την αιτιολογία και την παθογένειά τους. Τα αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς –η νόσος Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, το πρωτοπαθές μυξοίδημα ή πρωτοπαθής υποθυρεοειδισμός και η θυρεοειδίτιδα μετά τον τοκετό (postpartum thyroiditis)– χαρακτηρίζονται από την παρουσία κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων και αυτοδραστικών Τ-λεμφοκυττάρων κατά αυτοαντιγόνων του αδένου. Τα κύρια αυτοαντιγόνα του αδένου είναι η θυροσφαιρίνη (thyroglobulin, TG), η θυρεοειδική υπεροξειδάση (thyroid peroxidase, TPO, ταυτοσημ με το «μικροσωμιακό αντιγόνο») και ο υποδοχέας της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (thyroid stimulating hormone receptor, TSH-R). Αυτοαντισώματα έναντι του TSH-R ευθύνονται για τον υπερθυρεοειδισμό στη νόσο Graves, ενώ τα αντι-TPO και αντι-TG, σε υψηλούς τίτλους, συνδέονται με τη θυρεοειδίτιδα Hashimoto και το πρωτοπαθές μυξοίδημα. Σήμερα, στο ανοσολογικό εργαστήριο, τα αντι-θυρεοειδικά αυτοαντισώματα (ΑΘΑ) προσδιορίζονται εύκολα, με απλές, ευαίσθητες και ειδικές ραδιοανοσολογικές και ανοσοενζυμικές δοκιμασίες. Η μοριακή κλωνοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν για τα τρία κύρια αντιγόνα του θυρεοειδούς συνέβαλε σημαντικά στην κατανόηση της αυτοαντιγονικότητάς τους. Η γνώση της πρωτοταγούς δομής επέτρεψε τον προσδιορισμό γραμμικών επιτόπων που αναγνωρίζονται από τα Β- και Τ-λεμφοκύτταρα, με τη χρησιμοποίηση ανασυνδυασμένων αντιγονικών τμημάτων ή συνθετικών πεπτιδίων. Παράλληλα, έχουν γίνει προσπάθειες συσχέτισης της εμφάνισης των αυτοάνοσων νοσημάτων του θυρεοειδούς με συγκεκριμένους γενετικούς τόπους. Γενικά, φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση των νοσημάτων αυτών με τις γενετικές θέσεις των περιοχών HLA-DR και HLA-DQ (HLA τάξης II). Ειδικότερα, σε Καυκάσιους πληθυσμούς, η νόσος Graves βρέθηκε να σχετίζεται με τον απλότυπο DR3, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto με τα HLA-DR4, DR5 και DQ7, ενώ το πρωτοπαθές μυξοίδημα με τα HLA-DR5 και DQ7. Την πρόοδο της έρευνας σχετικά με την αυτοανοσία του θυρεοειδούς ενισχύει σημαντικά η ανάπτυξη ποικίλων ζωικών μοντέλων της ανθρώπινης νόσου (αυθόρμητα εμφανιζόμενη νόσος σε ορισμένα στελέχη ή πειραματικά επαγόμενη σε φυσιολογικά ζώα μετά από χορήγηση κατάλληλων πεπτιδίων). Τα μοντέλα αυτά αποδεικνύονται πολύτιμα και ως πρότυπα αναφοράς στη μελέτη, γενικότερα, της οργανοειδικής αυτοανοσίας. Στην ανασκόπηση αυτή παρουσιάζεται η σύγχρονη θεώρηση σχετικά με τη θυρεοειδική αυτοανοσία, με βάση την αλληλεπίδραση των τριών κύριων θυρεοειδικών αυτοαντιγόνων με ειδικά αυτοαντισώματα και αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην παθογένεια καθώς και σε κλινικά στοιχεία, χρήσιμα στον κλινικό γιατρό.

Π. Λυμπέρη,<sup>1</sup>  
Γ. Φιλίππου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Ανοσολογίας, Ελληνικό  
Ινστιτούτο Pasteur

<sup>2</sup>Α' Ενδοκρινολογικό Τμήμα, ΓΠΝ  
«Αθελάνδρα»

Thyroid autoimmunity: Autoantigens,  
autoantibodies, autoreactive  
T-lymphocytes, pathogenesis

*Abstract at the end of the article*

**Λέξεις ευρετηρίου**

Αυτοάνοσα νοσήματα θυρεοειδούς  
Αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα  
Θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα  
Θυρεοειδικά αυτοαντισώματα

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς –η νόσος Graves, η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, το πρωτοπαθές μυξοίδημα και η θυρεοειδίτιδα μετά τον τοκετό (post-partum thyroiditis)– χαρακτηρίζονται από την παρουσία αντι-θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων, τα οποία αντιδρούν με τα τρία κύρια αντιγόνα του αδένου: τη θυρεοσφαιρίνη (TG), τη θυρεοειδική υπεροξειδάση (TPO), που μέχρι πρότινος ήταν γνωστή ως «μικροσωμιακό αντιγόνο», και τον υποδοχέα της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH-R). Η θυρεοσφαιρίνη αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη του αδένου και χρησιμεύει τόσο στη σύνθεση όσο και στην αποθήκευση των θυρεοειδικών ορμονών. Λόγω του μεγάλου μοριακού μεγέθους και του υψηλού βαθμού ιωδίωσης, το μόριο παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για μελέτες χαρτογράφησης επιτόπων. Τα δύο άλλα αυτοαντιγόνα είναι διαμεμβρανικά και ανευρίσκονται στα θυρεοειδικά κύτταρα σε ελάχιστες ποσότητες, γεγονός που καθιστούσε εξαιρετικά δύσκολη τη μελέτη τους, μέχρι να επιτευχθεί η κλωνοποίησή τους. Η δυνατότητα παραγωγής καθαρών ανασυνδυασμένων αυτοαντιγόνων (και αντιγονικών τμημάτων ή συνθετικών πεπτιδίων) έδωσε μεγάλη ώθηση, όχι μόνο στην κατανόηση της αυτοάνοσης διεργασίας, αλλά και στην παραγωγή διαγνωστικών ανοσοδοκιμασιών υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας για τον προσδιορισμό των θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων. Τα θυρεοειδικά αυτοαντισώματα αποτελούν σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο και προσδιορίζονται σήμερα με ραδιο- ή ενζυμο-ανοσοδοκιμασίες. Παράλληλα με την αναγνώριση από κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα, τα τρία κύρια θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα αναγνωρίζονται και από αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα. Σήμερα, έχουν χαρακτηριστεί ποικίλοι στόχοι των θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων (Β-επίτοποι) και αυτοδραστικών Τ-λεμφοκυττάρων (Τ-επίτοποι) στα μόρια των τριών αυτοαντιγόνων.

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται αναλυτικά στοιχεία που αφορούν στα χαρακτηριστικά των κύριων αντιγόνων του θυρεοειδούς και την αναγνώρισή τους, τόσο από αυτοαντισώματα όσο και από αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα.

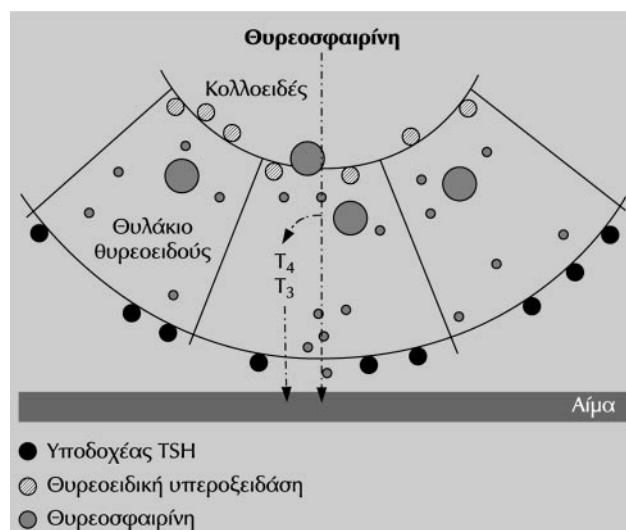
**Πίνακας 1.** Τα κύρια θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα.

Αυτοαντιγόνα	Εντοπισμός	Ρόλος στη θυρεοειδική λειτουργία
Θυρεοσφαιρίνη	Κολλοειδές θυρεοειδούς	Χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τη σύνθεση και αποθήκευση των θυρεοειδικών ορμονών $T_3$ και $T_4$ . Καταλύει τη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών
Θυρεοειδική υπεροξειδάση	Μεμβράνη των κυττάρων των θυλακίων του θυρεοειδούς (στην κορυφαία πλευρά της επιφάνειας, προς το κολλοειδές)	
Υποδοχέας της TSH	Μεμβράνη των κυττάρων των θυλακίων του θυρεοειδούς (στη βασική πλευρά της επιφάνειας)	Συνδέεται με την TSH και ενεργοποιεί τη διαδικασία παραγωγής και απελευθέρωσης των ορμονών

## 2. ΤΑ ΚΥΡΙΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΑ

### 2.1. Θυρεοσφαιρίνη

Η θυρεοσφαιρίνη (TG) είναι μια ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 660.000 ( $2 \times 2748$  αμινοξικά κατάλοιπα), η οποία συντίθεται από τα κύτταρα των σφαιρικών θυλακίων του θυρεοειδούς και εκκρίνεται στον αυλό, όπου και συνιστά το κύριο συστατικό του κολλοειδούς<sup>1</sup> (εικ. 1, πίν. 1). Ο ρόλος της είναι αποφασιστικός στη θυρεοειδική λειτουργία, αφού χρησιμεύει για τη σύνθεση και την αποθήκευση των ορμονών του αδένου, λειτουργεί δηλαδή ως θυρεοειδική προορμόνη. Στο μόριό της παράγονται, μετά από ιωδίωση και σύζευξη συγκεκριμένων ορμονογόνων καταλοίπων της τυροσίνης, η θυροξίνη ( $T_4$ ) και η τριιωδοθυρονίνη ( $T_3$ ). Οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται από την TPO. Το γονίδιο που κωδικοποιεί για την TG κλωνοποιήθηκε και αναλύθηκε στα μέσα της δεκαετίας του '80.<sup>2</sup> Στον άνθρωπο, το γονίδιο της TG υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο ανά απλοειδές γονιδίωμα εντοπισμένο στο χρωμόσωμα 8. Το γονίδιο αυτό είναι ένα από τα μεγαλύτερα γονίδια που έχουν χαρακτηριστεί, αφού το μέγεθός του φθάνει τα 300.000 ζεύγη βάσεων και περιλαμβάνει τουλάχιστον 37 εξώνια.<sup>2</sup> Η πρωτοταγής δομή



**Εικόνα 1.** Σχηματική παράσταση διατομής θυλακίου του θυρεοειδούς, όπου φαίνεται η εντόπιση των κύριων θυρεοειδικών αντιγόνων.

της TG έχει γίνει γνωστή από τη μελέτη της αλληλουχίας του mRNA μέσω των αντίστοιχων cDNA. Με τον τρόπο αυτόν έχει προσδιοριστεί ολόκληρη η νουκλεοτιδική αλληλουχία του mRNA της ανθρώπινης, της βόειας και της TG του ποντικού, καθώς και τμήματα της αλληλουχίας της TG άλλων ζωικών ειδών (αρουραίου κ.ά.). Το ανθρώπινο mRNA κωδικοποιεί για 2748 αμινοξέα και το βόειο για 2750. Η ομολογία μεταξύ της ανθρώπινης και της βόειας TG είναι 77,3%.<sup>2</sup>

**2.1.1. Αυτοαντισώματα έναντι της TG. Μέθοδοι ανίχνευσης, χαρακτηρισμός και κλινική σημασία.** Τα αυτοαντισώματα έναντι της TG (αντι-TG) ανιχνεύονται με διάφορες μεθόδους, όπως ο έμμεσος ανοσοφθορισμός, η παθητική αιμοσυγκόλληση και οι ραδιολογικές (RIA) ή οι ενζυμικές (ELISA) ανοσοδοκιμασίες.

Η παθητική αιμοσυγκόλληση έχει αποτελέσει για πολλά χρόνια την τρέχουσα μέθοδο των διαγνωστικών εργαστηρίων και έχει προσφέρει το μεγαλύτερο όγκο δεδομένων στη διεθνή βιβλιογραφία<sup>3</sup> (πίν. 2). Οι τίτλοι των αντι-TG είναι ιδιαίτερα υψηλοί σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ενώ στους περισσότερους ασθενείς με άλλα θυρεοειδικά νοσήματα είναι κατά μέσο όρο χαμηλότεροι. Τα κυκλοφορούντα αντι-TG ανιχνεύονται με τη μέθοδο αυτή στο 76–91% των ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, στο 63–82% των ασθενών με πρωτοπαθές μυξοίδημα και στο 40–60% των ασθενών με νόσο Graves. Τα αντι-TG ανιχνεύονται επίσης στο 28–65% των ασθενών με καρκίνο θυρεοειδούς, στο 28–50% των ασθενών με κακοήθη αναιμία, ενώ εμφανίζονται και σε ένα ποσοστό (περίπου 10%) υγιών ατόμων. Η ανάλυση της συχνότητας των αντι-TG στον υγιή πληθυσμό, σε σχέση με την ηλικία και το φύλο, δείχνει ότι οι φυσιολογικές γυναίκες ηλικίας μεταξύ 21 και 70 ετών έχουν υψηλότερο ποσοστό αντι-TG αντισωμάτων από ό,τι οι άνδρες αντίστοιχης ηλικίας. Σε μελέτη που έγινε στο Ηνωμένο Βασίλειο, τα αντι-TG βρέθηκαν σε ποσοστό 10,6% σε φυσιολογικές γυναίκες ηλικίας 18–24 ετών και σε 33,3% σε γυναίκες ηλικίας 55–64 ετών.<sup>4</sup>

**Πίνακας 2.** Συχνότητα εμφάνισης (%) των αντι-TG και αντι-TPO αντισωμάτων σε υγιείς και ασθενείς (μέθοδος παθητικής αιμοσυγκόλλησης).

	Αντι-TG	Αντι-TPO
<i>Υγιής πληθυσμός</i>		
Γυναίκες 18–24 ετών	10,6	14,9
Γυναίκες 55–64 ετών	33,3	24,2
<i>Ασθενείς με αυτοάνοσο νόσημα θυρεοειδούς</i>		
Νόσος Graves	40–60	66–86
Πρωτοπαθές μυξοίδημα	63–82	66–86
Θυρεοειδίτιδα Hashimoto	76–91	85–95

Τα τελευταία χρόνια, με την είσοδο των μεθόδων RIA και ELISA στη διάγνωση των νοσημάτων του θυρεοειδούς, αποκαλύφθηκε η παρουσία αντι-TG αντισωμάτων σε μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών από ό,τι παλαιότερα. Με τις σύγχρονες αυτές μεθόδους, τα αντι-TG ανιχνεύονται στο 86–100% των ασθενών με αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, στο 87–89% των ασθενών με νόσο Graves χωρίς θεραπεία και στο 69–94% των ασθενών με πρωτοπαθές μυξοίδημα.<sup>5</sup>

Τα αντι-TG είναι κυρίως τάξης IgG (IgA, μέχρι 20% και IgM, λιγότερο από 1%). Όσον αφορά τις υποτάξεις των IgG αντι-TG αντισωμάτων, δεν παρατηρείται περιορισμός σε μία συγκεκριμένη υπόταξη. Στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto ανευρίσκονται κυρίως IgG<sub>1</sub> (30%) και IgG<sub>2</sub> (45%), ενώ στη νόσο Graves κυρίως IgG<sub>4</sub> (60%).<sup>6</sup>

Όσον αφορά την κλινική σημασία των αντισωμάτων αυτών, υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα<sup>7</sup> (πίν. 3). Οι τίτλοι των αντι-TG δεν μεταβάλλονται σημαντικά με την εξέλιξη και θεραπεία της νόσου, αλλά ούτε και σχετίζονται με το στάδιο της νόσου. Η χορήγηση θυροξίνης σε ασθενείς με θετικά αντιθυρεοειδικά αντισώματα (ΑΘΑ) (αντι-TG και αντι-TPO) δεν μεταβάλλει τον τίτλο των αντισωμάτων, στο 80% των ασθενών.<sup>8</sup>

Για τον καθορισμό των επιτόπων που αναγνωρίζονται από τα αντι-TG σε ορούς ασθενών με αυτοάνοσες παθήσεις του θυρεοειδούς (autoimmune thyroid diseases, AITD), έχουν χρησιμοποιηθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού έναντι της ανθρώπινης TG. Μελέτες με βιβλιοθήκες έκφρασης με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες και συνθετικά πεπτίδια της ανθρώπινης TG δείχνουν ότι ο κύριος αυτοεπίτοπος (ή οι αυτοεπίτοποι) βρίσκεται (ή βρίσκονται) στην κεντρική, μη ορμονογόνο, περιοχή του μορίου της TG.<sup>9,10</sup> Γενικά, φαίνεται ότι τα αυτοαντισώματα που προέρχονται από ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto ή νόσο Graves αναγνωρίζουν περιορισμένα τμήματα του μορίου. Η τριτοταγής δομή της TG δεν είναι γνωστή, όμως η αναγνώριση από αντισώματα συνηγορεί για το ότι η περιοχική αυτή είναι πιθανότατα εκτεθειμένη στην επιφάνεια του φυσικού μορίου. Όμως, οι περιοχές όπου εντοπίζονται οι επίτοποι δεν ξεπερνούν τις δύο ή τρεις. Η μία περιοχική φαίνεται να περιέχει επιτόπους που αναγνωρίζονται κύρια από τους ορούς ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto (περιοχή VI), ενώ τα αυτοαντισώματα που προέρχονται από ασθενείς με νόσο Graves δείχνουν εκλεκτικότητα για μια άλλη περιοχική (περιοχή II), ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι οφθαλμοπάθειας.<sup>11</sup> Πρόσφατες μελέτες της ομάδας μας έδειξαν ότι η ύπαρξη οφθαλμοπάθειας σε ασθενείς με νόσο Graves συνδέεται με την παρουσία στον ορό αυτοαντισωμάτων έναντι της TG, που αναγνωρίζουν ταυτόχρονα και το

**Πίνακας 3.** Ενδείξεις συσχέτισης ή μη της παρουσίας αντι-TG αντισωμάτων με την παθογένεια της αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας.*Παρατηρήσεις που αποκλείουν τον παθογενετικό ρόλο των αντι-TG*

1. Τα αντι-TG ανευρίσκονται συχνά σε φυσιολογικά άτομα
2. Μονοκλωνικά αντι-TG παρατηρούνται σε ασθενείς με μονοκλωνικές γαμμασφαιρινοπάθειες χωρίς ενδείξεις θυρεοειδικής νόσου
3. Τα επίπεδά τους δεν σχετίζονται με τη σοβαρότητα των αυτοάνοσων νοσημάτων του θυρεοειδούς (AITD) ή της πειραματικής αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας (EAT)
4. Τα αντι-TG, μερικές φορές, δεν επάγουν EAT
5. Αντι-TG με υπόταση IgG<sub>3</sub> αποτελούν πολύ μικρό ποσοστό στο σύνολο των αντισωμάτων, ενώ είναι αυτά που συνδέουν ισχυρότερα το συμπλήρωμα

*Ευρήματα που υποστηρίζουν τον παθογενετικό ρόλο των αντι-TG*

1. Τα αντι-TG στα AITD είναι συνήθως ολιγοκλωνικά, σε αντίθεση με την πολυκλωνική φύση των φυσικών αντι-TG αυτοαντισωμάτων στα φυσιολογικά άτομα
2. Η παρουσία των αντι-TG στην εγκυμοσύνη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης θυρεοειδίτιδας μετά τον τοκετό και αποβολής του εμβρύου
3. Τα αντι-TG, τις περισσότερες φορές, επάγουν EAT
4. Η επαγωγή αντι-TG, μέσω ιδιοτυπικών-αντι-ιδιοτυπικών αντιδράσεων, σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών

μόριο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE, ένζυμο της νευρομυϊκής σύναψης, που καταλύει τη διάσπαση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη).<sup>12</sup> Τα αποτελέσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι μια άλλη ανοσογόνος περιοχή του μορίου της TG εντοπίζεται στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης, όπου παρουσιάζεται ομολογία δομής με το μόριο της AChE.<sup>13</sup> Ειδικότερα, είναι γνωστό ότι ολόκληρη η αμινοξική αλληλουχία της AChE εμφανίζει 28% ομολογία με το καρβοξυτελικό τμήμα της TG, ενώ τα κατάλοιπα 80–195 της AChE έχουν 60% ομολογία με την αντίστοιχη περιοχή της TG. Επίσης, τα έξι κατάλοιπα κυστεΐνης, που σχηματίζουν ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς στο μόριο της AChE, διατηρούνται και στην TG, γεγονός που υποδηλώνει παρόμοια τρισδιάστατη διαμόρφωση των δύο μορίων. Τα δύο άλλα κατάλοιπα κυστεΐνης της AChE, τα οποία δεν συμμετέχουν σε ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς, δεν διατηρούνται στην TG.

Σε αντίθεση με τα παθολογικά, τα φυσικά αντι-TG αυτοαντισώματα (ανιχνεύονται σε ορούς φυσιολογικών ατόμων) φαίνεται να αναγνωρίζουν ένα ευρύ φάσμα επιτόπων στο μόριο της TG, που μάλιστα εντοπίζονται σε φυλογενετικά σταθερές περιοχές του μορίου. Φαίνεται επίσης ότι η πλειονότητα των αυτοαντισωμάτων δεν αναγνωρίζει γραμμικούς επιτόπους: μελέτη με ανθρώπινα μονοκλωνικά αυτοαντισώματα, τα οποία είχαν προέλθει από λεμφοκύτταρα θυρεοειδούς ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, έδειξε ότι αναγνωρίζουν μόνο τη φυσική TG.<sup>14</sup>

**2.1.2. Τ-λεμφοκύτταρα έναντι της TG.** Σημαντική υπήρξε η πρόσφατη ανακάλυψη ότι ιωδιωμένοι αντιγονικοί καθοριστές στο μόριο της TG είναι υπεύθυνοι για την παθογένεση της πειραματικής αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας (EAT). Βρέθηκαν δύο ανεξάρτητοι κλώνοι Τ-λεμφοκυττάρων ποντικού

(CBA/Ca, H-2<sup>k</sup>), οι οποίοι αναγνώριζαν τη φυσιολογική TG και όχι την TG με έλλειψη παραγωγής θυροξίνης.<sup>15</sup> Με τη χρήση συνθετικών πεπτιδίων που περιείχαν θυροξίνη (τα οποία αντιστοιχούσαν στις τέσσερις ορμονογόνες περιοχές της TG), φάνηκε ότι και οι δύο αυτοί κλώνοι αναγνώριζαν (αν και λίγο διαφορετικά ο καθένας) ένα εννεαπεπτίδιο, που περιείχε την ορμονογόνο περιοχή στη θέση 2553.<sup>16</sup> Ένα κατάλοιπο θυροξίνης στη θέση 2553 ήταν απαραίτητο για την αναγνώριση. Αντικατάσταση του καταλοίπου θυροξίνης με το πρόδρομο κατάλοιπο τυροσίνης (ή οποιοδήποτε άλλο αμινοξύ) έδινε μη διεγείρουσα αλληλουχία. Η σημασία του επιτόπου αυτού φάνηκε από την ικανότητα κυττάρων του θυρεοειδούς, τα οποία εξέφραζαν τάξης II μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC), να διεγείρουν έναν από τους κλώνους των Τ-λεμφοκυττάρων. Το αποτέλεσμα επιβεβαιώθηκε με *in vivo* μελέτη. Τ-λεμφοκύτταρα, τα οποία αντιδρούσαν με το πεπτίδιο (είχαν προέλθει από ανοσοποίηση ζώου και *in vitro* επαναδιέγερση), ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην πρόκληση θυρεοειδίτιδας, όταν μεταφέρθηκαν σε μη ανοσοποιημένους φυσιολογικούς δέκτες.<sup>17</sup>

Πειράματα σε στελέχη H-2<sup>a</sup> και H-2<sup>s</sup> έδειξαν ότι η ιωδίωση της TG είναι απαραίτητη για την επαγωγή θυρεοειδίτιδας, όμως και σε αυτά τα στελέχη διαφέρουν οι καθοριστές που επάγουν τη νόσο. Ένας πιθανός μη ιωδιωμένος επίτοπος προτείνεται από τους Texier et al,<sup>18</sup> οι οποίοι εντόπισαν μια αλληλουχία 40 καταλοίπων (από μια κεντρική, μη ορμονογόνο περιοχή της TG), που αναγνωρίστηκε από ένα κυτταροτοξικό υβρίδιομα Τ-λεμφοκυττάρου ποντικού, το οποίο αντιδρούσε με την TG. Ένα πεπτίδιο που αντιστοιχούσε στην περιοχή αυτή, μπορούσε να επάγει μικρή φλεγμονή στο θυρεοειδή ποντικών.

Στο πειραματικό πρότυπο του εύσαρκου (obese) στελέχους κοτόπουλου, η ιωδίωση φαίνεται επίσης να

παίζει καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση αυθόρμητης αυτοάνοσης νόσου του θυρεοειδούς.<sup>19</sup> Κατεργασία με ενώσεις που παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό του ιωδίου στο θυρεοειδή, η οποία είχε αρχίσει *in ovo*, μπορούσε να αναστείλει την εμφάνιση θυρεοειδίτιδας και κυκλοφορούντων ΑΘΑ. Επιπλέον, η ανοσιακή μεταφορά κυττάρων σπλήνα του εύσαρκου στελέχους, σε ΜHC-αντίστοιχο δέκτη άλλου στελέχους, προκάλεσε θυρεοειδίτιδα μόνο στους δέκτες στους οποίους είχε χορηγηθεί περίσσεια ιωδίου και όχι στους δέκτες με στέρηση ιωδίου. Αυτό σημαίνει ότι η ιστική έκφραση ενός ιωδιωμένου καθοριστή ίσως είναι απαραίτητη για τον εντοπισμό των παθογονικών λεμφοκυττάρων στο θυρεοειδή.

Επιδημιολογικά στοιχεία από ανθρώπινους πληθυσμούς έχουν δείξει μια παρόμοια σχέση ανάμεσα στο λαμβανόμενο από την τροφή ιώδιο και στα αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς.<sup>20</sup> Αυτή η σχέση ενισχύεται και από μια πρόσφατη μελέτη για την εμφάνιση αυτοαντισωμάτων έναντι της TG και της μεμβράνης του θυρεοειδούς σε παιδιά, στα οποία δόθηκε, για προφύλαξη, ιώδιο μετά από την καταστροφή του Chernobyl.<sup>21</sup> Παραμένει πάντως μια ελκυστική, αλλά όχι απολύτως τεκμηριωμένη υπόθεση, το εάν η αναγνώριση ιωδιωμένων επιτόπων της TG από T-λεμφοκύτταρα είναι και η βάση αυτών των παρατηρήσεων.

Έχει επίσης αναφερθεί ότι η ανοσιακή ανοχή στους ιωδιωμένους επιτόπους (ή στους επιτόπους που περιέχουν θυροξίνη) πιθανόν να μην μπορεί να πραγματοποιηθεί, επειδή η TG που βρίσκεται στην κυκλοφορία είναι μερικώς ιωδιωμένη.<sup>15,16</sup> Αποτελέσματα από μια *in vitro* μελέτη σχετικά με την πολικότητα των επιθηλιακών κυττάρων του θυρεοειδούς είναι συμβατά με αυτή την άποψη. Η ιωδίωση της TG βρέθηκε να λαμβάνει χώρα αποκλειστικά στον κορυφαίο (προς το εσωτερικό των θυλακίων) πόλο του κυττάρου, ενώ περίπου 10% της έκκρισης της TG (προφανώς μη ιωδιωμένα μόρια) ενδεχομένως να γινόταν μέσω του βασικού πόλου των κυττάρων.<sup>22</sup>

Αξίζει, τέλος, να σημειωθεί ότι και ένα μη ιωδιωμένο εννεαπεπτιδίο (2496–2504) της TG αρουραίου βρέθηκε να αποτελεί την ελάχιστη αλληλουχία που μπορεί να επάγει πειραματική αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (experimental autoimmune thyroiditis, EAT) μέσω ειδικών T-λεμφοκυττάρων που εμφανίζονται σε στελέχη ποντικού H-2<sup>k</sup> και H-2<sup>s</sup> παράλληλα με την ανάπτυξη ισχυρής κυμικής ανοσοαπόκρισης στην TG (παραγωγή IgG με διασταυρούμενη αντίδραση για τις TG διαφόρων ζωικών ειδών).<sup>23</sup>

Από την ίδια ερευνητική ομάδα βρέθηκε επίσης δεκαοκταπεπτιδίο (2695–2713) της TG αρουραίου, το

οποίο επάγει EAT σε στελέχη ποντικού H-2<sup>s</sup> και όχι H-2<sup>k</sup>, παρά το γεγονός ότι τα τελευταία είναι στελέχη που εμφανίζουν EAT μετά από ενεργοποίηση με TG.<sup>2</sup>

## 2.2. Θυρεοειδική υπεροξειδάση

Η θυρεοειδική υπεροξειδάση (TPO) αποτελεί βασικό ένζυμο των θυρεοειδικών κυττάρων, λόγω του κεντρικού ρόλου που διαδραματίζει στη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών, καταλύοντας την οξειδωση του ιωδίου, την ιωδίωση των αμινοξικών καταλοίπων τυροσίνης της TG και τη σύνδεση των ιωδιωμένων τυροσινών για την παραγωγή των ορμονών T<sub>3</sub> και T<sub>4</sub>.<sup>24</sup> Είναι ένα μεμβρανικό γλυκοπρωτεϊνικό ένζυμο μοριακού βάρους 107.000 (933 αμινοξικά κατάλοιπα) με προσθετική ομάδα αίμης και έχει σήμερα κλωνοποιηθεί (εικ. 1, πίν. 1). Το 1985 έγινε γνωστό ότι η TPO είναι ταυτόσημη με το «μικροσωματικό αντιγόνο» του θυρεοειδούς.<sup>25,26</sup>

**2.2.1. Αυτοαντισώματα έναντι της TPO. Μέθοδοι ανίχνευσης, χαρακτηρισμός και κλινική σημασία.** Η ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι του θυρεοειδικού «μικροσωματικού αντιγόνου» ήταν γνωστή από το 1959.<sup>27</sup> Για την ανίχνυσή τους αρχικά εφαρμόστηκαν οι τεχνικές του έμμεσου ανοσοφθορισμού και της παθητικής αιμοσυγκόλλησης. Με την τελευταία μέθοδο, τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται σε ποσοστό 85–95% των ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto και στο 66–86% των ασθενών με νόσο Graves ή πρωτοπαθές μυξοίδημα (πίν. 2). Ανιχνεύονται όμως σε χαμηλά ποσοστά και σε φυσιολογικά άτομα, όπως σε γυναίκες ηλικίας 18–24 ετών σε ποσοστό 15% και σε γυναίκες ηλικίας 55–64 ετών σε ποσοστό 24%.<sup>4</sup> Πρόσφατα δε, και ιδιαίτερα μετά τη μοριακή κλωνοποίηση και ταυτοποίηση της TPO και τη σύνθεση του ανασυνδυασμένου μορίου, αναπτύχθηκαν μέθοδοι RIA και ELISA για τον προσδιορισμό αντι-TPO αντισωμάτων. Οι μέθοδοι αυτές υπερτερούν έναντι των κλασικών μεθόδων ανίχνευσης του «μικροσωματικού αντιγόνου», αφού με τη χρήση τους προσδιορίζονται συνήθως υψηλότερα ποσοστά θετικών ορών (κυρίως λόγω ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων με χαμηλό τίτλο).<sup>28,29</sup> Αξίζει να σημειωθεί ότι οι υψηλότεροι τίτλοι των αντι-TPO ανιχνεύονται σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto χωρίς θεραπεία. Η έναρξη του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των τίτλων των αντι-TPO σε όλες τις κατηγορίες ασθενών με ΑΙΤΔ, σε ποσοστό περίπου 20%.<sup>8</sup> Έτσι, σε ασθενείς με νόσο Graves μειώνονται μετά από θεραπεία με μεθιμαζόλη, ενώ σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto ή πρωτοπαθές μυξοίδημα μειώνονται με τη χορήγηση θυροξίνης. Όσον αφορά τη

διακύμανση στα ποσοστά θετικών ορών, αυτή φαίνεται να οφείλεται όχι μόνο στην ευαισθησία της εκάστοτε χρησιμοποιούμενης μεθόδου, αλλά και στην επιλογή των ασθενών (στάδιο νόσου, εφαρμογή θεραπείας κ.λπ.).

Η κλινική σημασία της παρουσίας των ΑΘΑ (αντι-TG και αντι-TPO) είναι μεγάλη, ιδίως σε άτομα νεαρής ηλικίας. Σε μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη, που έγινε στο Ηνωμένο Βασίλειο, βρέθηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος να εμφανιστεί υποθυρεοειδισμός, σε διάστημα μιας 20ετίας, σε ένα άτομο με υψηλό τίτλο ΑΘΑ αυξανόταν 8 φορές στις γυναίκες και 25 φορές στους άνδρες. Όταν συνυπήρχε και υποκλινικός υποθυρεοειδισμός, δηλαδή υψηλή τιμή TSH χωρίς παθολογική τιμή  $T_3$  και  $T_4$ , ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης υποθυρεοειδισμού αυξανόταν 38 φορές στις γυναίκες και 178 φορές στους άνδρες.<sup>4</sup> Επίσης, η παρουσία αντι-TPO αντισωμάτων σε εγκυμονούσες αποτελεί τον ισχυρότερο παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση θυρεοειδίτιδας μετά τον τοκετό.<sup>30</sup>

Τα αντι-TPO είναι κυρίως τάξης IgG, και ανήκουν κυρίως στις υποτάξεις IgG<sub>1</sub> και IgG<sub>4</sub>.<sup>31</sup> Τα κυτταροτοξικά αντι-TPO ανήκουν στην υπόταξη IgG<sub>1</sub> και όχι στην IgG<sub>4</sub>.<sup>32</sup> Πρόσφατα, προσδιορίστηκαν και αντισώματα τάξης IgE.<sup>33</sup>

Σε αντίθεση με τα αντι-TG, τα αντι-TPO αυτοαντισώματα φαίνεται να έχουν παθογενετικό ρόλο, αφού στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto (α) μπορούν και ενεργοποιούν *in vitro* την πρόσδεση του συμπληρώματος,<sup>27</sup> (β) τα επίπεδά τους σχετίζονται με την ενεργό φάση της νόσου<sup>34</sup> και (γ) μπορούν να προσβάλλουν, *in vitro*, τα θυρεοειδικά κύτταρα, μέσω ενός κυτταροτοξικού μηχανισμού των NK-κυττάρων.<sup>35</sup>

Παρόλο που η TPO είναι γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη, τα υδατανθρακικά κατάλοιπα δεν φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο στην αυτοαντιγονικότητά της.<sup>36</sup> Μελέτες χαρτογράφησης των επιτόπων που αναγνωρίζονται από Β-λεμφοκύτταρα, έδειξαν ότι η απόκριση στην TPO είναι ετερογενής και ότι τα αυτοαντισώματα αναγνωρίζουν 2–6 περιοχές του μορίου.<sup>37–40</sup> Έλεγχος βιβλιοθηκών έκφρασης τμημάτων cDNA της TPO, είτε με μονοκλωνικά αντι-TPO αντισώματα ποντικών,<sup>39</sup> είτε με αυτοαντισώματα ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto,<sup>40</sup> απέδειξε την ύπαρξη επιτόπων στις περιοχές 590–622 και 713–721.

Μερικά αντι-TPO αντισώματα έχουν την ικανότητα αναστολής της καταλυτικής δράσης του ενζύμου, αλλά δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αν αυτή τους η ιδιότητα σχετίζεται με την παθογένεια των ΑΙΤΔ. Έτσι, οι Kohno et al<sup>41</sup> έδειξαν ότι τα αντι-TPO από ασθενείς με χρόνια θυρεοειδίτιδα είναι ικανά να αναστείλουν την ενζυμική ενεργότητα (και έτσι διαφέρουν από τα αντι-TPO, τα

οποία μπορεί να εμφανιστούν σε φυσιολογικές καταστάσεις). Αντίθετα, άλλοι ερευνητές δεν διαπίστωσαν την ύπαρξη τέτοιας ανασταλτικής δράσης.<sup>37</sup> Ομοίως, αντιφατικές παραμένουν οι απαντήσεις στο ερώτημα αν η TPO και η TG περιέχουν κοινούς επιτόπους, οι οποίοι αναγνωρίζονται από αυτοαντισώματα.<sup>42–44</sup> Οι διαφωνίες αυτές είναι πιθανό να οφείλονται στις διαφορετικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν από τους ερευνητές.

α. *Διδραστικά αυτοαντισώματα έναντι TPO και TG.* Η παρουσία αυτοαντισωμάτων που συνδέονται ταυτόχρονα με την TPO και την TG αποτελεί ανεξήγητο φαινόμενο. Τα αντι-TG/TPO αντισώματα αποτελούν μια υποομάδα αντισωμάτων με άγνωστο αντιγονικό στόχο. Τα αντισώματα αυτά είναι δυνατό να αναγνωρίζουν κοινούς διαμορφωτικούς επιτόπους, που πιθανόν να ανευρίσκονται και στα δύο μόρια.<sup>44</sup> Διδραστικά αντι-TG/TPO αντισώματα ανευρίσκονται μόνο σε άτομα με θετικά αντι-TG και πιθανόν να προέρχονται από περαιτέρω ωρίμανση της ανοσιακής απόκρισης έναντι της TG. Η λειτουργική τους σημασία στα ΑΙΤΔ παραμένει αδιευκρίνιστη. Ενδιαφέρον ερώτημα είναι κατά πόσο οι ασθενείς που παρουσιάζουν αυτά τα αντισώματα μπορεί να αποτελέσουν ξεχωριστή ομάδα και πώς αυτά μπορεί να συσχετιστούν με τα χαρακτηριστικά κάποιας νόσου. Πάντως, σε πρόσφατη μελέτη δείχθηκε ότι η ευαισθησία και η ειδικότητά τους στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto είναι μεγαλύτερη, σε σύγκριση με τα κλασικά αντι-TG και αντι-TPO αντισώματα. Επίσης, διδραστικά αντι-TG/TPO αντισώματα δεν ανευρέθηκαν σε φυσιολογικά άτομα.<sup>44</sup>

2.2.2. *T-λεμφοκύτταρα έναντι της TPO.* Πειραματική αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα μπορεί να προκληθεί σε ποντίκια C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>) μετά από ανοσοποίηση με καθαρισμένη χοιρινή TPO σε πλήρες ανοσοενισχυτικό έκδοχο του Freund ή με μεταφορά –σε φυσιολογικούς δέκτες– ευαισθητοποιημένων T-λεμφοκυττάρων. Ένας από τους παθογονικούς επιτόπους T-λεμφοκυττάρων (που περιλαμβάνει τα κατάλοιπα 774–788) καθορίστηκε, μάλιστα, με τη χρήση ενός συνδυασμού κλασικών βιοχημικών μεθόδων και ανάλυσης συνθετικών πεπτιδίων με βάση την αλληλουχία του cDNA της χοιρινής TPO.<sup>45</sup>

Σε διάφορες μελέτες διαπιστώθηκε η «αυτοδραστικότητα» ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων έναντι της TPO. Χρησιμοποιώντας συνθετικά πεπτίδια, που αντιστοιχούν σε 16 περιοχές του μορίου της TPO (επιλεγμένες με βάση προγνωστικούς αλγορίθμους), οι Tandon et al<sup>46</sup> καθόρισαν τρεις αλληλουχίες (415–432, 439–457 και 463–481), οι οποίες μπορούσαν να διεγείρουν T-λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος ασθενών με νόσο Graves ή αυτοάνοσο υποθυρεο-

ειδισμό (στο 23–37% των ασθενών). Κάποια άλλα πεπτιδία έδειξαν ικανότητα διέγερσης των Τ-λεμφοκυττάρων από ορισμένους μόνο ασθενείς. Αντίθετα, οι Dayan et al,<sup>47</sup> χρησιμοποιώντας τεχνική κλωνοποίησης ανεξάρτητη από αντιγόνο για την απομόνωση Τ-λεμφοκυτταρικών κλώνων (από θυρεοειδή ασθενούς με νόσο Graves), είχαν διαφορετικά αποτελέσματα. Σχεδόν οι μισοί από τους κλώνους αντιδρούσαν με την ΤΡΟ και παρουσίαζαν σημαντική ετερογένεια στην απόκρισή τους σε συνθετικά πεπτιδία. Ειδικότερα, δύο Τ-επίτοποι (535–551 και 632–645) αναγνωρίζονταν από έναν αριθμό κλώνων σε συνδυασμό με διαφορετικά HLA τάξης II μόρια. Ένας νέος Τ-επίτοπος εντοπίστηκε από τους Ewin et al<sup>48</sup> στην περιοχή R1c (κατάλοιπα 145–250) της ΤΡΟ με τη χρήση 8 ανασυνδυασμένων τμημάτων του μορίου, τα οποία κάλυπταν όλη την εξωκυτάρια περιοχή του μορίου και ενεργοποιημένων –από το αντιγόνο– Τ-λεμφοκυττάρων ασθενών με αυτοάνοση θυρεοειδική νόσο. Η ομάδα των Kawakami et al<sup>49</sup> προσδιόρισαν, επιπλέον, με τη χρήση 60 συνθετικών πεπτιδίων της ΤΡΟ, τις περιοχές 110–129, 211–230, 842–861 και 882–901, που αναγνωρίζονται από τα ειδικά Τ-λεμφοκύτταρα ασθενών. Τέλος, η ίδια ομάδα διερεύνησε την αναγνώριση της ΤΡΟ από ειδικούς Τ-λεμφοκυτταρικούς κλώνους, τόσο στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto, όσο και στη νόσο Graves, και βρήκε ότι οι επίτοποι 100–119 και 625–644 αναγνωρίζονταν κύρια στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto (75% των κλώνων).<sup>50</sup> Από τις μελέτες αυτές στον άνθρωπο, παραμένει αδιευκρίνιστο αν κάποιος(οι) από τους επίτοπους αυτούς (και τα αντίστοιχα Τ-λεμφοκύτταρα) συμμετέχουν στην παθογένεση της αυτοάνοσης νόσου του θυρεοειδούς.

### 2.3. Υποδοχέας της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης

Ο υποδοχέας της ΤSH (TSH-R) ανευρίσκεται στην επιφάνεια του θυρεοειδικού κυττάρου και είναι υπεύ-

θυνος για τη φυσιολογική πρόσδεση της ΤSH, την ενεργοποίηση του συστήματος της αδενυλικής κυκλάσης, την ενδοκυτάρια αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) και ακολούθως την πρόσληψη ιωδίου, που θα επάγει στη συνέχεια την παραγωγή και έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών (εικ. 1, πίν. 1). Η σχετικά πρόσφατη (το 1989) κλωνοποίηση του TSH-R από θυρεοειδικό ιστό ανθρώπου και αρουραίου αποτέλεσε καθοριστικό βήμα στη μελέτη του υποδοχέα, προσφέροντας σημαντικές γνώσεις σχετικά με τη δομή και τη λειτουργία του.<sup>51–55</sup> Βρέθηκε, με τον τρόπο αυτόν, ότι ο υποδοχέας αποτελείται από μία μόνο πολυπεπτιδική αλυσίδα και όχι από δύο υπομονάδες (α και β), όπως είχε αρχικά διατυπωθεί.<sup>54</sup> Το cDNA του TSH-R κωδικοποιεί ένα πολυπεπτιδίο 764 αμινοξέων, το οποίο περιέχει 7 υδρόφοβα διαμεμβρανικά τμήματα (χαρακτηριστική δομή των υποδοχέων που προσδέονται στην G-πρωτεΐνη) και μια μικρή κυτταροπλασματική «ουρά», που αντιστοιχεί στο καρβοξυτελικό άκρο του μορίου. Η εξωκυτάρια υδρόφιλη περιοχή του υποδοχέα, η οποία περιέχει το αμινοτελικό άκρο, είναι σχετικά μεγάλη και περιλαμβάνει 418 αμινοξέα (συμπεριλαμβανομένης και μιας αλληλουχίας-οδηγού 20 αμινοξέων) με 6 θέσεις γλυκοζυλίωσης. Στην περιοχή αυτή του TSH-R οφείλονται η εξειδικευμένη δράση του, αλλά και τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά του, αφού εκεί προσδέονται τόσο η ορμόνη (σε ποικίλα διάσπαρτα σημεία), όσο και τα αυτοαντισώματα στη νόσο Graves (σε συγκεκριμένες θέσεις).<sup>54,55</sup> Οι σημαντικές περιοχές στο πολυπεπτιδίο του TSH-R, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις παραπάνω αλληλεπιδράσεις, φαίνεται ότι είναι απόλυτα εξαρτημένες από την τρισδιάστατη δομή του μορίου ή από μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, όπως γλυκοζυλίωση ή φωσφορυλίωση. Ο TSH-R παρουσιάζει μεγάλη ομολογία (70%) με τον υποδοχέα της ωχρινο-τρόπου ορμόνης (LH) και της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG), οι οποίοι επίσης συνδέονται με την G-πρωτεΐνη.<sup>53,56</sup>

**Πίνακας 4.** Τα αντι-TSH-R αντισώματα, ανάλογα με τη δράση και τη μέθοδο προσδιορισμού τους.

Είδη αντισωμάτων	Δράση	Κλινική σημασία	Μέθοδος προσδιορισμού
TRAb: TSH Receptor Antibodies ή TBII: TSH Binding Inhibitory Immunoglobulins	Συνδέονται με τον υποδοχέα	70–90% των ασθενών με νόσο Graves	RIA Μέτρηση της αναστολής της πρόσδεσης <sup>125</sup> I-TSH στον υποδοχέα
TSAb: Thyroid Stimulating Antibodies	Διεγείρουν τον υποδοχέα (θυρεοδιεγερτικά αντισώματα)	90–100% των ασθενών με νόσο Graves (δείκτης της νόσου)	Βιοδοκιμασία Μέτρηση της αύξησης του cAMP ή της πρόσληψης <sup>131</sup> I από θυρεοειδικές κυτταρικές σειρές
TBAb: Thyroid Binding Antibodies	Αναστέλλουν τη λειτουργία του υποδοχέα (θυρεοανασταλτικά αντισώματα)	5% των ασθενών με νόσο Hashimoto	Βιοδοκιμασία Μέτρηση της μείωσης του cAMP ή της πρόσληψης <sup>131</sup> I από θυρεοειδικές κυτταρικές σειρές

**2.3.1. Αυτοαντισώματα έναντι του TSH-R. Μέθοδοι ανίχνευσης, χαρακτηρισμός και κλινική σημασία.** Τα αντισώματα που συνδέονται με τον υποδοχέα της TSH (αντι-TSH-R) διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με τη μέθοδο προσδιορισμού τους (πίν. 4). Αυτά είναι τα αντισώματα που συνδέονται με τον υποδοχέα της TSH (TRAb: TSH receptor antibodies ή TBII: TSH binding inhibitory immunoglobulins) και προσδιορίζονται με ραδιοανοσολογική μέθοδο, καθώς και τα αντισώματα που διεγείρουν τον υποδοχέα της TSH (TSAb: thyroid stimulating antibodies) ή τον αναστέλλουν (TBAb: thyroid binding antibodies). Οι δύο τελευταίες κατηγορίες αντισωμάτων προσδιορίζονται με βιοδοκιμασία. Τα θυρεοδιεγερτικά αντισώματα προκαλούν αύξηση της έκκρισης cAMP ή της πρόσληψης ραδιενεργού ιωδίου από τα θυρεοειδικά κύτταρα. Αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση υπερθυρεοειδισμού και χαρακτηρίζουν τη νόσο Graves. Τα θυρεοανασταλτικά αντισώματα προκαλούν μείωση της έκκρισης cAMP ή της πρόσληψης ραδιενεργού ιωδίου και είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση υποθυρεοειδισμού σε αρκετές περιπτώσεις, κυρίως στο πρωτοπαθές μυξοίδημα.

Το σημαντικότερο βήμα στη διερεύνηση της παθογένειας της νόσου Graves έγινε με την ανακάλυψη, το 1956, από τους Adams και Purves,<sup>57</sup> ενός θυρεοειδικού επαγωγέα μακράς δράσης (LATS: long acting thyroid stimulator) στον ορό ασθενών με νόσο Graves, διαφορετικού από την TSH. Ακολούθησε πληθώρα ερευνών, που έδειξαν ότι το LATS ήταν μια θυρεοδιεγερτική ανοσοσφαιρίνη τάξης IgG. Αυτή μιμείται τη δράση της TSH, ανταγωνιζόμενη παράλληλα την πρόδεδεσή της στον υποδοχέα.<sup>58-61</sup>

Για τη μέτρηση των αντι-TSH-R, αρχικά χρησιμοποιήθηκαν βιοδοκιμασίες, σύμφωνα με την ικανότητά τους (α) να επάγουν την απελευθέρωση ραδιενεργού ιωδίου από το θυρεοειδή αδένωμα πειραματοζώων<sup>61</sup> ή (β) να παράγουν cAMP, κυρίως στην κυτταρική σειρά FRTL-5 αρουραίου.<sup>62</sup> Στη συνέχεια, η ικανότητα των αντι-TSH-R να αναστέλλουν την πρόσδεση ραδιοσημασμένης TSH (<sup>125</sup>I-TSH) στον υποδοχέα, αποτέλεσε τη βάση για την ανάπτυξη των σύγχρονων μεθόδων RIA για τη μέτρηση των αυτοαντισωμάτων στον ορό.<sup>63</sup> Συγκριτικές μελέτες μεταξύ της βιοδοκιμασίας σε κύτταρα FRTL-5 και της δοκιμασίας αναστολής πρόσδεσης της <sup>125</sup>I-TSH στον υποδοχέα, έδειξαν υψηλού βαθμού συσχέτιση.<sup>64</sup> Η ευαισθησία της δεύτερης δοκιμασίας είναι όμως μεγαλύτερη, με ποσοστό θετικών ορών που φτάνει μέχρι και το 93-97% των ασθενών με νόσο Graves χωρίς θεραπεία.<sup>65</sup>

Με βάση τις παραπάνω δοκιμασίες, βρέθηκε ότι οι ασθενείς με νόσο Graves έχουν κυρίως διεγείροντα αντι-TSH-R αυτοαντισώματα. Οι μελέτες όμως των περιπτώ-

σεων όπου υπήρχε ασυμφωνία μεταξύ των δύο τύπων δοκιμασίας (όπου, δηλαδή, η αναστολή πρόσδεσης της <sup>125</sup>I-TSH δεν συνοδευόταν από παράλληλη παραγωγή cAMP), έδειξαν ότι οι συγκεκριμένοι οροί περιείχαν αυτοαντισώματα με ανασταλτική δράση της θυρεοειδικής λειτουργίας.<sup>66</sup> Έτσι, σε περιπτώσεις ασθενών με πρωτοπαθές μυξοίδημα<sup>67</sup> ή με θυρεοειδίτιδα Hashimoto<sup>68</sup> ανιχνεύθηκαν αυτοαντισώματα, τα οποία αναστέλλουν την πρόσδεση της TSH στον υποδοχέα, χωρίς να προκαλούν διέγερση. Όσον αφορά τις τάξεις των αντι-TSH-R, διεγερτικά και ανασταλτικά αυτοαντισώματα είναι κυρίως IgG, αλλά διαφοροποιούνται ως προς τις υποτάξεις, αφού τα διεγερτικά ανήκουν αποκλειστικά στην υποτάξη IgG<sub>1</sub> (ολιγοκλωνική προέλευση) και τα ανασταλτικά σε όλες τις υποτάξεις (όπως και τα αντι-TG και αντι-TPO).<sup>69,70</sup>

Τόσο οι μελέτες άμεσης πρόσδεσης όσο και οι λειτουργικές αναλύσεις (με χρήση κυτάρων επιμολυσμένων με χιμαιρικούς υποδοχείς) δείχνουν ότι η TSH, καθώς και τα διεγερτικά και ανασταλτικά αντι-TSH-R, προσδέονται σε διαφορετικές θέσεις στο εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα.<sup>71-75</sup> Παρόλο που βρέθηκε ότι διεγερτικά αντι-TSH-R δεν αναγνώριζαν γραμμικούς επιτόπους,<sup>40</sup> σε άλλες μελέτες αναγνωρίστηκαν πεπτιδικές αλληλουχίες, οι οποίες αντιστοιχούν στις θέσεις 8-165,<sup>72</sup> 333-343<sup>73</sup> και 352-366.<sup>74</sup> Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι τα διεγερτικά αντι-TSH-R αυτοαντισώματα, ενώ έχουν υψηλή συγγένεια για διαμορφωτικούς επιτόπους, αναγνωρίζουν σε μερικές περιπτώσεις και γραμμικές αλληλουχίες. Τα ανασταλτικά αντισώματα φαίνεται ότι αναγνωρίζουν και αυτά διαμορφωτικούς επιτόπους, αφού η Tyr 385 και η αλληλουχία που περιλαμβάνει τα κατάλοιπα 295-306 είναι σημαντικές για την αναγνώριση.<sup>71</sup> Η κατευθυνόμενη μεταλλαξιογένεση σε συγκεκριμένη θέση της εξωκυττάριας περιοχής του TSH-R αρουραίου, ακολουθούμενη από έκφραση σε κύτταρα Cos-7, έδειξε ότι η Thr 40 είναι σημαντική για τη δράση των αντισωμάτων που διεγείρουν το θυρεοειδή, όχι όμως και για τη δράση της TSH.<sup>71</sup>

Λειτουργικές μελέτες σε επιθηλιακά κύτταρα θυρεοειδούς έδειξαν ότι, εκτός από τη διέγερση της αδενυλικής κυκλάσης για την ενδοκυττάρια αύξηση του cAMP, τα διεγείροντα αντι-TSH-R αυξάνουν επίσης τα επίπεδα του mRNA για την TG και την TPO,<sup>76</sup> καθώς και για τα προϊόντα των ογκογονιδίων *c-myc* και *c-fos*.<sup>77,78</sup> Τα αυτοαντισώματα αυτά ενεργοποιούν τη φωσφολιπάση A<sub>2</sub>,<sup>79</sup> αλλά, σε αντίθεση με την TSH, δεν φαίνεται να ενεργοποιούν τη φωσφολιπάση C.<sup>80</sup>

Μια από τις πιο ενδιαφέρουσες πρόσφατες παρατηρήσεις στον τομέα αυτόν είναι η διαπίστωση ότι ένα τμήμα 161 ζευγών βάσεων του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TSH-R είναι ομόλογο με το γονίδιο



που κωδικοποιεί τη ρυθμιστική πρωτεΐνη Nef του HIV.<sup>81</sup> Αντίσωμα κουνελίου έναντι ενός πεπτιδίου, που αντιστοιχεί στο τμήμα αυτής της αλληλουχίας του TSH-R, παρουσίασε διασταυρούμενη αντίδραση με ανασυνδυσμένη πρωτεΐνη Nef (οροί από ασθενείς με νόσο Graves έδειξαν επίσης να αναγνωρίζουν ασθενώς την πρωτεΐνη Nef). Με αυτά τα ευρήματα πιθανολογείται ότι κάποιοι ρετροϊοί συμμετέχουν στην παθογένεση της νόσου Graves.

Όσον αφορά την κλινική σημασία των TRAb, αυτά είναι παρόντα στο 70–90% των ασθενών με νόσο Graves.<sup>82,83</sup> Το γεγονός ότι 10–25% των ασθενών με νόσο Graves είναι αρνητικοί στα TRAb, μάλλον οφείλεται στη μέθοδο προσδιορισμού τους παρά σε πραγματικά παθοφυσιολογικά αίτια.<sup>82</sup> Οι ασθενείς αυτοί (με νόσο Graves και αρνητικά TRAb) δεν μπορούν, μάλιστα, να διαφοροποιηθούν από ασθενείς με άλλα αίτια υπερθυρεοειδισμού. Αντίθετα, ασθενείς με νόσο Graves και υψηλό τίτλο TRAb εύκολα διαφοροποιούνται από ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό από άλλα αίτια.<sup>82</sup>

Αντικρούμενη είναι η σημασία των TRAb στους ασθενείς με νόσο Graves που παρουσιάζουν οφθαλμοπάθεια. Οι περισσότερες εργασίες συνηγορούν, πάντως, για το ότι η παρουσία των TRAb δεν βοηθάει στο διαχωρισμό των ασθενών με ή χωρίς οφθαλμοπάθεια στη νόσο Graves.<sup>82</sup>

Οι ασθενείς με νόσο Graves και θετικά TRAb έχουν κατά κανόνα βαρύτερη κλινική εικόνα από τους οροαρνητικούς. Αυτό προκύπτει από τις υψηλότερες τιμές ολικής θυροξίνης και των ελευθέρων κλασμάτων θυροξίνης και τριιωδοθυρονίνης, τη μεγαλύτερη πρόσληψη ραδιενεργού ιωδίου και το μεγαλύτερο όγκο του θυρεοειδούς αδένου, που παρατηρούνται σε αυτή την ομάδα.<sup>84</sup>

Οι ασθενείς με θετικά TRAb γίνονται ευθυρεοειδικοί, μετά την έναρξη αντιθυρεοειδικής φαρμακευτικής αγωγής, αργότερα από ό,τι οι οροαρνητικοί. Επίσης, οι ασθενείς με υψηλότερο τίτλο TRAb γίνονται ευθυρεοειδικοί αργότερα από αυτούς με χαμηλότερο τίτλο.<sup>85</sup> Μετά το πέρας της αντιθυρεοειδικής θεραπείας, οι οροαρνητικοί ασθενείς υποτροπιάζουν λιγότερο από ό,τι οι ασθενείς με θετικά TRAb. Σε μια εργασία-ανασκόπηση των αποτελεσμάτων 18 προηγούμενων εργασιών, προέκυψε ότι οι οροαρνητικοί ασθενείς, μετά από ένα χρόνο θεραπείας με αντιθυρεοειδικά φάρμακα, είχαν 75% πιθανότητα να μείνουν ευθυρεοειδικοί ένα χρόνο μετά τη διακοπή της θεραπείας. Αντίθετα, οι ασθενείς με θετικά TRAb είχαν πιθανότητα μόνο 25% να μην υποτροπιάσουν τον πρώτο χρόνο μετά τη διακοπή της θεραπείας.<sup>85,86</sup>

Τα αντιθυρεοειδικά φάρμακα, μεθιμαζόλη και προπυλθειουρακίλη, μειώνουν κατά 53–72% τα επίπεδα

των TRAb στον ορό ασθενών με νόσο Graves μετά από ενός έτους θεραπεία. Μάλιστα, η μείωση αυτή δεν σχετίζεται με τη δόση των χορηγούμενων φαρμάκων, αφού ο τίτλος των αντισωμάτων ελαττώνεται το ίδιο σε ασθενείς που λαμβάνουν διαφορετική δόση αντιθυρεοειδικής αγωγής.<sup>85–87</sup> Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η μεθιμαζόλη και προπυλθειουρακίλη επιτυγχάνουν τη μείωση παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστος. Σε καλλιέργειες θυρεοειδικών κυττάρων βρέθηκε ότι οι ουσίες αυτές μειώνουν την έκκριση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου, της προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> και των ιντερλευκινών 1α και 6. Αφού οι ενδιάμεσοι αυτοί φλεγμονώδεις παράγοντες μειώνονται, συμπεραίνεται ότι και η διήθηση του θυρεοειδούς αδένου από τα T-λεμφοκύτταρα είναι ελαττωμένη και ακριβώς αυτή η ελάττωση οδηγεί στη μείωση του τίτλου των αντισωμάτων κατά του TSH-R.<sup>88,89</sup>

Αναπάντητο παραμένει το ερώτημα κατά πόσο η χορήγηση θυροξίνης, είτε ως συμπληρωματική αγωγή κατά τη διάρκεια της αντιθυρεοειδικής θεραπείας, είτε ως αγωγή καταστολής μετά το πέρας της θεραπείας αυτής, μειώνει ακόμη περισσότερο τον τίτλο των TRAb. Σε εργασίες που προέρχονταν κυρίως από την Ιαπωνία, η χορήγηση θυροξίνης μαζί με καρβιμαζόλη μείωνε ακόμη περισσότερο τα TRAb, σε σύγκριση με την ομάδα που ελάμβανε μόνο καρβιμαζόλη. Μετά το τέλος της αγωγής, τα επίπεδα των αντισωμάτων είχαν μειωθεί ακόμη περισσότερο μόνο στην ομάδα που συνέχιζε να λαμβάνει θυροξίνη.<sup>90</sup> Η ίδια ερευνητική ομάδα παρατήρησε το ίδιο ευνοϊκό αποτέλεσμα, όταν χορηγούσε θυροξίνη μετά το τέλος της αντιθυρεοειδικής θεραπείας σε εγκυμονούσες με νόσο Graves.<sup>91</sup> Υπάρχουν όμως και βιβλιογραφικά δεδομένα που υποστηρίζουν το αντίθετο, από εργασίες που έγιναν κύρια σε πληθυσμούς Καυκασίων.<sup>85,92</sup> Η διαφορά αυτή στη δράση της θυροξίνης ίσως οφείλεται στο διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο και στις διαιτητικές συνθήκες (ιδιαίτερα πλούσιο διαιτολόγιο σε ιώδιο) των Ιαπώνων σε σχέση με τους υπόλοιπους λαούς.<sup>92</sup>

Είναι, τέλος, δυνατό τα θυρεοειδενεργικά και τα θυρεοανασταλτικά αντισώματα να συνυπάρχουν σε έναν ασθενή. Στην περίπτωση αυτή, όποιος από τους δύο πληθυσμούς αντισωμάτων υπερτερεί, δίνει και την ανάλογη κλινική εικόνα υπερθυρεοειδισμού ή υποθυρεοειδισμού.<sup>93</sup>

**2.3.2. T-λεμφοκύτταρα έναντι του TSH-R.** Η ύπαρξη T-λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν την εξωκυττάρια περιοχή του TSH-R σε ασθενείς με νόσο Graves αποδείχθηκε σχετικά πρόσφατα (το 1995), με τη χρήση ανασυνδυσμένων τμημάτων του υποδοχέα ή συνθετικών πεπτιδίων. Παρά την ετερογένεια των T-επιτόπων, έχουν εντοπιστεί και ορισμένοι κύριοι επίτοποι, οι οποίοι αντιστοιχούν στις περιοχές 52–71,<sup>94</sup> 142–161<sup>94</sup>/158–176,<sup>50,95</sup> 202–221<sup>94</sup>/207–222,<sup>50</sup> 237–252<sup>95</sup>/248–

263<sup>95</sup>/247–266<sup>94</sup> και 343–362<sup>50,95</sup>/357–376.<sup>50</sup> Μάλιστα, η αναγνώριση του πεπτιδίου 158–176 φαίνεται να σχετίζεται με αρχικό στάδιο στην εμφάνιση της νόσου, ενώ η ταυτόχρονη αναγνώριση των επιτόπων 158–176 και 248–263, με προϋπάρχουσα νόσο.<sup>96</sup> Η ταυτόχρονη αναγνώριση των δύο Τ-επιτόπων είναι, επομένως, κρίσιμη για την ανάπτυξη της νόσου και η απώλεια της ικανότητας των Τ-λεμφοκυττάρων να αναγνωρίζουν έναν από τους δύο, μπορεί να αποτελεί μια πρώιμη ένδειξη ανοσολογικής ύφεσης και του επερχόμενου ευθυρεοειδισμού, μετά από οποιαδήποτε αντιθυρεοειδική αγωγή (θυρεοειδεκτομή, χορήγηση ραδιενεργού ιωδίου ή λήψη μεθιμαζόλης).<sup>97</sup> Εύρημα που υπογραμμίζει τον παθογενετικό ρόλο των ειδικών, για τον υποδοχέα, Τ-λεμφοκυττάρων είναι η επαγωγή πειραματικής αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας (EAT) σε ποντίκια DBA/1J μετά από ανοσοποίηση με τέσσερα συνθετικά πεπτίδια, τα οποία αντιστοιχούσαν σε Τ-επιτόπους του υποδοχέα (περιοχές 132–155, 145–163, 158–176, 172–186) ή με μεταφορά των ευαισθητοποιημένων Τ-λεμφοκυττάρων σε μη ευαισθητοποιημένους φυσιολογικούς δέκτες. Δύο από τους τέσσερις δέκτες ανέπτυξαν, όπως και οι αρχικοί δότες, αντι-TSH-R αντισώματα.<sup>98</sup> Επίσης, είναι δυνατή η επαγωγή υπερθυρεοειδισμού σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια (στελέχνη scid) μετά από χορήγηση Τ-λεμφοκυττάρων ειδικών για τον επίτοπο 158–176. Ο επίτοπος αυτός, που βρίσκεται στην εξωκυττάρια περιοχή του TSH-R, φαίνεται να παίζει αποφασιστικό ρόλο στην ανάπτυξη των θυρεοδιεγερτικών αντισωμάτων στη νόσο Graves.<sup>99</sup> Τα δεδομένα αυτά συνηγορούν για το ότι συγκεκριμένοι επίτοποι του TSH-R, ειδικοί για τα Τ-λεμφοκύτταρα (με φαινότυπο ThO<sup>50</sup>), διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων έναντι του υποδοχέα.

### 3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ανασκόπηση αναπτύχθηκαν διεξοδικά οι μέθοδοι ανίχνευσης και τα χαρακτηριστικά των αυτοαντισωμάτων και αυτοδραστικών Τ-λεμφοκυττάρων έναντι των τριών κύριων θυρεοειδικών αντιγόνων, της θυρεοσφαιρίνης (TG), της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (TPO) και του υποδοχέα της TSH (TSH-R), με έμφαση στους αντιγονικούς τους στόχους.

Τα αυτοαντισώματα έναντι TG και TPO αποτελούν πολύτιμους ορολογικούς δείκτες της θυρεοειδικής αυτοανοσίας και βοηθούν στη διάγνωση της αυτοάνοσης θυρεοειδικής νόσου. Έλλειψη αυτών των αντισωμάτων στον εξεταζόμενο ορό μπορεί ουσιαστικά να αποκλείσει τη διάγνωση αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας. Η παρουσία τους, όμως, δεν μπορεί από μόνη της να οδηγήσει στη διάγνωση της νόσου, χωρίς να συνυπάρχουν τα κατάλληλα κλινικά ή βιοχημικά ευρήματα, αφού τα αυτοαντισώματα αυτά μπορεί να βρεθούν και σε ορισμένα άλλα νοσήματα, ακόμα και σε υγιή άτομα. Για

το λόγο αυτόν, ο προσδιορισμός αυτοάνοσων αποκρίσεων ειδικών της θυρεοειδικής νόσου, μέσω συγκεκριμένων επιτόπων-στόχων, θα είχε μεγάλη διαγνωστική αξία. Για παράδειγμα, έχει ήδη βρεθεί ότι τα αντι-TG αυτοαντισώματα, στην αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα αναγνωρίζουν κυρίως επιτόπους της ανθρώπινης TG, ειδικούς για το είδος, ενώ, αντίθετα, τα φυσικά αντι-TG αυτοαντισώματα, τα οποία ανευρίσκονται σε υγιή άτομα, αναγνωρίζουν συντηρητικές περιοχές του μορίου. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η ειδικότητα των αυτοαντισωμάτων ίσως να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης πρόβλεψης νόσου σε άτομα με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισής της. Αξίζει να αναφερθεί και μια άλλη ομάδα αυτοαντισωμάτων με πιθανή προγνωστική/διαγνωστική αξία, τα διδραστικά αντι-TG/TPO αντισώματα, για τα οποία παραμένει αδιευκρίνιστος ο αντιγονικός στόχος και ο ρόλος.

Όσον αφορά στην παθογένεια της αυτοάνοσης θυρεοειδικής νόσου, έχει αποδειχθεί ότι πειραματική αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα μπορεί να προκληθεί σε πειραματόζωα μετά από ανοσοποίηση με ανθρώπινη TG ή TPO ή με συνθετικά πεπτίδια των δύο μορίων, σε πλήρες ανοσοενισχυτικό έκδοχο του Freund, ή με μεταφορά σε φυσιολογικούς δέκτες ευαισθητοποιημένων –στα θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα– Τ-λεμφοκυττάρων. Ειδικότερα για την TG, μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί πέντε πεπτίδια της TG (μήκους 12–18 αμινοξέων) ως επίτοποι Τ-λεμφοκυττάρων και έχει δείχθει ότι προκαλούν θυρεοειδίτιδα στον ποντικό, με διήθηση και καταστροφή του αδένου. Μια παρόμοια διαδικασία πιστεύεται ότι λαμβάνει χώρα στα ανθρώπινα αυτοάνοσα νοσήματα, χωρίς ακόμα να είναι γνωστά τα πεπτίδια της TG που αναγνωρίζονται από Τ-διηθητικά λεμφοκύτταρα του αδένου.

Ο TSH-R θεωρείται ότι είναι ο κύριος στόχος της αυτοάνοσης απόκρισης στη νόσο Graves. Η ανίχνευση κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων, τα οποία μπορούν να καταστρέψουν ή να διεγείρουν τη λειτουργία του, χρησιμοποιείται ευρέως σε διαγνωστικές δοκιμασίες. Σημαντικές προσπάθειες καταβάλλονται τα τελευταία χρόνια για τη βελτίωση της διαγνωστικής μεθόδου προσδιορισμού των αυτοαντισωμάτων. Τα αντι-TSH-R αυτοαντισώματα κατέχουν σημαντικό παθογενετικό ρόλο στη νόσο Graves και σε μερικές περιπτώσεις υποθυρεοειδισμού. Η TSH και τα αντι-TSH-R αντισώματα προσδένονται σε διαφορετικές θέσεις στο εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα. Τ-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι εντοπίζονται επίσης στο εξωκυττάριο τμήμα του μορίου, αλλά και στη διαμεμβρανική περιοχή. Η χορήγηση σε πειραματόζωα ειδικών Τ-λεμφοκυττάρων μπορεί να επάγει EAT. Έχει αποδειχθεί ότι συγκεκριμένοι Τ-επίτοποι του TSH-R διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή θυρεοδιεγερτικών

αυτοαντισωμάτων έναντι του υποδοχέα (επαγωγή EAT σε ποντίκια μετά από ανοσοποίηση με συνθετικά πεπτίδια του TSH-R, που αντιστοιχούν σε T-επιτόπους).

Με την παρούσα ανασκόπηση καταδείχθηκε η αποφασιστική σημασία των αυτοαντισωμάτων κατά των τριών κύριων αντιγόνων του αδένου στην παθογένεια των αυτοάνοσων παθήσεων του θυρεοειδούς, στη διάγνωση, στην κλινική εικόνα και τη θεραπεία τους, όπως και ο ρόλος αυτοδραστικών T-λεμφοκυττάρων έναντι θυρεοειδικών αντιγόνων στην αυτοάνοση διεργασία.

Η σύγχρονη έρευνα στοχεύει σήμερα στην ταυτοποίηση κύριων T- και B-επιτόπων των τριών θυρεοει-

δικών αυτοαντιγόνων, στη διεξοδική μελέτη νέων θυρεοειδικών αντιγόνων, όπως ο μεταφορέας ιωδίου (NIS, Na<sup>+</sup>/I-symporter) και το μεμβρανικό αντιγόνο 64 kD σε συνάρτηση με τη θυρεοειδική οφθαλμοπάθεια, καθώς

και στην ανάπτυξη ενός αξιόπιστου πειραματικού μοντέλου της νόσου Graves. Οι ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώνονται παράλληλα στην κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών, με έμφαση στη διερεύνηση της συμμετοχής αποπτωτικών μηχανισμών στην καταστροφή των θυρεοειδικών κυττάρων από τα T-λεμφοκύτταρα, από τα οποία διηθείται ο αδένου στην αυτοάνοση νόσο.

## ABSTRACT

### **Thyroid autoimmunity. Autoantigens, autoantibodies, autoreactive T-lymphocytes, pathogenesis**

P. LYMBERI,<sup>1</sup> G. PHILIPPOU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Immunology Department, Hellenic Pasteur Institute*

<sup>2</sup>*1st Endocrine Section, "Alexandra" Hospital, Athens, Greece*

*Archives of Hellenic Medicine 1999, 16(4):337-351*

Autoimmune thyroid disease has been the paradigm of organ-specific autoimmunity for over 30 years. The high incidence in the general population, the easy access to the target organ and the existence of well established animal models of thyroiditis have facilitated research on the pathogenesis of the disease. Thyroid autoimmune syndromes –Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, primary myxedema or primary hypothyroidism, and postpartum thyroiditis– are characterized by reactivity to self thyroid antigens involving autoreactive T cells and/or circulating autoantibodies. There are three distinct and well characterized thyroid autoantigens: thyroglobulin (TG), thyroid peroxidase (TPO, previously known as "microsomal antigen"), and the thyroid stimulating hormone (TSH) receptor (TSH-R). Autoantibodies to the TSH receptor are responsible for hyperthyroidism in Graves' disease, whereas antibodies to TPO and TG, in high titles, are associated with Hashimoto's disease and primary myxedema. Thyroid autoantibodies are easily measured by simple, sensitive and specific radio- and enzyme-immunoassays. The molecular cloning of genes encoding for all three thyroid autoantigens has had a major impact on the understanding of their autoantigenicity. Knowledge of their primary structures allowed the identification of linear B- and T-cell epitopes through the use of recombinant antigen fragments or synthetic peptides. In general, there is a correlation between these diseases and the genetic loci of HLA-DR and HLA-DQ (HLA class II) regions. Particularly in Caucasians, Graves' disease is related to DR3 haplotype, Hashimoto's thyroiditis to HLA-DR4, DR5 και DQ7, and primary myxedema with HLA-DR5 και DQ7. Research is supported by the development of animal models, spontaneously-developed in certain strains or artificially-induced in normal animals by administration of the relevant peptides. These thyroid-based animal models also constitute precious tools for the study of organ-specific autoimmunity.

**Key words:** Autoimmune thyroid disease, Autoreactive T-lymphocytes, Thyroid autoantibodies, Thyroid autoantigens

## Βιβλιογραφία

- VAN HERLE AJ, VASSART G, DUMONT JE. Control of thyroglobulin synthesis and secretion. *N Engl J Med* 1979, 301:239-249
- CARAYANNIOTIS G, RAO V. Searching for pathogenic epitopes in thyroglobulin: parameters and caveats. *Immunol Today* 1997, 18:83-88
- BIGAZZI PE, ROSE NR. Autoimmune thyroid disease. In: Rose NR, Mackay IR (eds) *The Autoimmune diseases*. Academic Press Inc, London, 1985:161-199
- VANDERPUMP M, TUNBRIDGE W, FRENCH J, APPLETON D, BATES D, CLARK F. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol* 1995, 43:55-68
- McCOY JP, MICHAELSON JH, BIGAZZI PE. Anti-idiotypic immunity and autoimmunity: III. Investigations in human autoimmune thyroiditis. *Life Sci* 1983, 32:109-118
- CATUREGLI P, KUPPERS RC, MARIOTTI S, LYNNE BUREK C, PINCHERA A, LADENSON PW ET AL. IgG subclass distribution of thyroglobulin antibodies in patients with thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1994, 98:464-469
- TOMER Y. Anti-thyroglobulin autoantibodies in autoimmune thyroid diseases: cross-reactive or pathogenetic? *Clin Immunol Immunopathol* 1997, 82:3-11
- HAYASHI Y, TAMAI H, FUGATA S, HIROTA Y, KATAYAMA S, KUMA K ET AL. A long-term clinical, immunological and histological follow-up study of patients with goitrous chronic lymphocytic thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 61:1172-1177
- SCHULZ E, BENKER G, BETHAUSER H, STEMPKA L, HUFNER M. An autoimmuno-dominant thyroglobulin epitope characterized by a monoclonal antibody. *J Endocrinol Invest* 1992, 15:25-30
- HENRY M, ZANELLI E, PIECHACZYK M, PAU B, MALTHIERY Y. A major human thyroglobulin epitope defined with monoclonal antibodies is mainly recognized by human autoantibodies. *Eur J Immunol* 1992, 22:315-319
- CATUREGLI P, MARIOTTI S, KUPPERS RC, LYNNE BUREK C, PINCHERA A, LADENSON PW ET AL. Epitopes on thyroglobulin: a study of patients with thyroid disease. *Autoimmunity* 1994, 18:41-49
- MAPPOURAS DG, PHILIPPOU G, HARALAMBOUS S, TZARTOS S, BALAFAS A, SOUVATZOGLOU A ET AL. Antibodies to acetylcholinesterase and thyroglobulin in myasthenia gravis and Graves' disease. *Clin Exp Immunol* 1995, 100:336-343
- SCHUMACHER M, CAMP S, MAULET Y, NEWTON M, MACPHEE-QUIGLEY K, FRIEDMANN ET AL. Primary structure of Torpedo californica acetylcholinesterase deduced from its cDNA sequence. *Nature* 1986, 319:407-409
- FUKUMA N, PETERSEN VB, McLACHLAN SM, PEGG CA, REES SMITH B. Human monoclonal thyroglobulin autoantibodies of high affinity. I. Production, characterization and interaction with murine monoclonal thyroglobulin antibodies. *Autoimmunity* 1991, 10:291-295
- CHAMPION BR, RAYNER DC, BYFIELD PGH, PAGE KR, CHAN CTJ, ROITT IM. Critical role of iodination for T cell recognition of thyroglobulin in experimental murine thyroid autoimmunity. *J Immunol* 1987, 139:3665-3670
- CHAMPION BR, PAGE KR, PARISH N, RAYNER DC, DAWE K, BISWAS-HUGHES G ET AL. Identification of a thyroxine-containing self-epitope of thyroglobulin which triggers thyroid autoreactive T cells. *J Exp Med* 1991, 174:363-370
- HUTCHINGS PR, COOKE A, DAWE K, CHAMPTION BR, GEYSEN M, VALERIO R ET AL. A thyroxine-containing peptide can induce murine experimental autoimmune thyroiditis. *J Exp Med* 1992, 175:869-872
- TEXIER B, BEDIN C, TANG H, COMOIN L, LAURENT-WINTER C, CHARREIRE J. Characterization and sequencing of a 40-amino acid peptide from human thyroglobulin inducing experimental autoimmune thyroiditis. *J Immunol* 1992, 148:3405-3411
- BROWN TR, SUNDICK RS, DHAR A, SHETH D, BAGGI NI. Uptake and metabolism of iodine is crucial for the development of thyroiditis in obese strain chickens. *J Clin Invest* 1991, 88:106-111
- RAYNER DC, CHAMPION BR, COOKE A. Thyroglobulin as autoantigen and tolerogen. In: Bach J-F (ed) *Monoclonal antibodies and peptide therapy in autoimmune disease*. New York, Marcel Dekker, 1995:112-143
- KINALSKA I, ZARZYCKI W, KRAWEZUK I, GOSIEWSKA A, GORSKA M, ZONENBERG A. Antithyroid autoantibodies in the examined population with iodine prophylaxis after the Chernobyl catastrophe. *Horm Metab Res* 1991, 23:236-238
- GRUFFAT D, GONZALVEZ S, CHAMBARDE M, MAUCHAMP J, CHABAUD O. Long-term iodination of thyroglobulin by porcine thyroid cells cultured in porous-bottomed culture chambers: regulation by thyrotrophin. *J Endocrinol* 1991, 128:51-61
- RAO VP, BALASA B, CARAYANNIOTIS G. Mapping of thyroglobulin epitopes: presentation of a 9mer pathogenic peptide by different mouse MHC class II isotypes. *Immunogenetics* 1994, 40:352-359
- DEGROOT IJ, NIEPOMNISZCZE H. Biosynthesis of thyroid hormone: basic and clinical aspects. *Metabolism* 1977, 26:665-718
- CZARNOCKA B, RUF J, FERRAND M, CARAYON P, LISSITZKY S. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985, 190:147-152
- LIBERT F, RUEL J, LUDGATE M, SWILLENS S, ALEXANDER N, VASSART G ET AL. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochondrial gene modules. *EMBO J* 1987, 6:4193-4196
- BELYAVIN G, TROTTER WR. Investigations of thyroid antigens reacting with Hashimoto sera. *Lancet* 1959, i:648-652
- RUF J, CZARNOCKA B, FERRAND M, DOULLAIS F, CARAYON P. Novel routine assay of thyroperoxidase autoantibodies. *Clin Chem* 1988, 34:2231-2234
- KAUFMAN KD, FILETTI S, SETO P, RAPOPORT B. Recombinant human thyroid peroxidase generated in eukaryotic cells: a source of specific antigen for the immunologic assay of anti-microsomal antibodies in the sera of patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 70:724-728
- LAZARUS J, HALL R, OTHMAN A, PARKES C, RICHARDS C, McCULLOCH B ET AL. The clinical spectrum of postpartum thyroid disease. *Q J Med* 1996, 89:429-435
- PARKES AB, McLACHLAN SM, BIRD P, REES SMITH B. The distribution of microsomal and thyroglobulin antibody activity among the IgG subclasses. *Clin Exp Immunol* 1984, 57:239-243

32. GUO J, JAUME J, RAPOPORT B, McLACHLAN S. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG<sub>1</sub>, but not IgG<sub>4</sub>, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82: 925–931
33. GUO J, RAPOPORT B, McLACHLAN S. Thyroid peroxidase autoantibodies of IgE class in thyroid autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol* 1997, 82:157–162
34. JANSSON R, THOMPSON PM, CLARK F, McLACHLAN SM. Association between thyroid microsomal antibodies of IgG-1 and hypothyroidism in autoimmune postpartum thyroiditis. *Clin Exp Immunol* 1986, 63:80–86
35. BOGNER U, SCHLEUSNER H, WALL JR. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against human thyroid cells in Hashimoto's thyroiditis but not in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1984, 59:734–738
36. GIRAUD A, FRANC JL, LONG Y, RUF J. Effects of deglycosylation of human thyroid peroxidase on its catalytic activity and immunoreactivity. *J Endocrinol* 1992, 132:317–323
37. SALLER B, HORMANN R, MANN K. Heterogeneity of autoantibodies against thyroid peroxidase in autoimmune thyroid disease: evidence against antibodies directly inhibiting peroxidase activity as regulatory factors in thyroid hormone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 72:188–195
38. ZANELLI E, HENRY M, MALTHIERY Y. Use of recombinant epitopes to study the heterogeneous nature of the autoantibodies against thyroid peroxidase in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1992, 87:80–86
39. FINKE R, SETO P, RUF J, CARAYON P, RAPOPORT B. Determination at the molecular level of a B cell epitope on thyroid peroxidase likely to be associated with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 73:919–921
40. LIBERT F, LUDGATE M, DINSART C, VASSART G. Thyroperoxidase but not the thyrotropin receptor, contains sequential epitopes recognized by autoantibodies in recombinant peptides expressed in the pUEX vector. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 73:857–860
41. KOHNO Y, YAMAGUCHI F, SAITO K, NIIMI H, NISHIKAWA T, HOSOYA T. Anti-thyroid peroxidase antibodies in sera from healthy subjects with chronic thyroiditis: differences in the ability to inhibit thyroid peroxidase activities. *Clin Exp Immunol* 1991, 85: 459–463
42. RUF J, FERRAND M, DURANDE-GORDE JM, CARAYON P. Immunopurification and characterization of thyroid autoantibodies with dual specificity for thyroglobulin and thyroperoxidase. *Autoimmunity* 1992, 11:179–188
43. HENRY M, ZANELLI E, MALTHIERY Y. Anti-human thyroid peroxidase and anti-human thyroglobulin antibodies present to cross-reactivity on recombinant peptides. *Clin Exp Immunol* 1991, 86:478–482
44. RUF J, FELDT-RUSMUSSEN U, HEGEDUS L, FERRAND M, CARAYON P. Bis-specific thyroglobulin and thyroperoxidase autoantibodies in patients with various thyroid and autoimmune disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, 79:1404–1408
45. KOTANI T, UMEKI K, YAGIHASHI S, HIRAI K, OTHAKI S. Identification of thyroiditogenic epitope on porcine thyroid peroxidase for C57BL/6 mice. *J Immunol* 1992, 148:2084–2089
46. TANDON N, FREEMAN M, WEETMAN AP. T cell responses to synthetic thyroid peroxidase peptides in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1991, 86:56–60
47. DAYAN CM, LONDEI M, CORCORAN AE, GRUBECK-LOEBENSTEIN B, JAMES RF, RAPOPORT B ET AL. Autoantigen recognition by thyroid-infiltrating T cells in Graves' disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88:7415–7419
48. EWINS DL, BARNETT PS, RATANACHAIYAVONG S, SHARROCK C, LANCHBURY J, MCGREGOR AM ET AL. Antigen-specific T cell recognition of affinity-purified and recombinant thyroid peroxidase in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1992, 90:93–98
49. KAWAKAMI Y, FISFALEN ME, DEGROOT LJ. Proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells from patients with autoimmune thyroid diseases to synthetic peptide epitopes of human thyroid peroxidase. *Autoimmunity* 1992, 13:17–26
50. FISFALEN ME, PALMER EM, VAN SEVENTER GA, SOLTANI K, SAWAI Y, KAPLAN E ET AL. Thyrotropin receptor and thyroid peroxidase-specific T cell clones and their cytokine profile in autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82:3655–3663
51. NAGAYAMA Y, KAUFMAN KD, SETO P, RAPOPORT B. Molecular cloning, sequence and functional expression of the cDNA for the human thyrotropin receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 165:1184–1190
52. LIBERT F, LEFORT A, GERARD C, PARMENTIER M, PERRET J, LUDGATE M ET AL. Cloning, sequencing and expression of the human thyrotropin (TSH) receptor: evidence for binding of autoantibodies. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 165:1250–1255
53. FRAZIER AL, ROBBINS LS, STORK PJ, SPRENGEL R, SEGALOFF DL, CONE RD. Isolation of TSH and LH/CG receptor cDNAs from human thyroid: regulation by tissue specific splicing. *Mol Endocrinol* 1990, 4:1264–1276
54. NAGAYAMA Y, RAPOPORT B. The thyrotropin receptor 25 years after its discovery: new insight after its molecular cloning. *Mol Endocrinol* 1992, 6:145–156
55. PRABHAKAR BS, FAN J-L, SEETHARAMAIAH GS. Thyrotropin-receptor-mediated diseases: a paradigm for receptor autoimmunity. *Immunol Today* 1997, 18:437–442
56. McFERLAND KC, SPRENGEL R, PHILLIPS HS, KOHLER M, ROSEMBLIT N, NIKOLICS K ET AL. Lutropin-choriogonadotropin receptor: an unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science* 1989, 245:494–499
57. ADAMS DD, PURVES HD. Abnormal responses in the assays of thyrotrophin. *Proc Univ Otago Med Sch* 1956, 34:11–15
58. KRIS JP, PLESHAKOV V, CHIEN JR. Isolation and identification of the long-acting thyroid stimulation and its relation to hyperthyroidism and circumscribed pretibial myxedema. *J Clin Endocrinol Metab* 1964, 24:1005–1028
59. MCKENZIE JM. Humoral factors in the pathogenesis of Graves' disease. *Physiol Rev* 1968, 43:252–310
60. SMITH BR, HALL R. Thyroid-stimulating immunoglobulins in Graves' disease. *Lancet* 1974, ii:427–431
61. DORRINGTON KJ, MUNRO DS. The long acting thyroid stimulator. *Clin Pharmacol Ther* 1966, 7:788–806
62. VITTI P, VALENTE WA, AMBESI-IMPIOMBATO FS, FENZI G, PINCHERA A, KOHN LD. Graves' IgG stimulation of continuously cultured rat thyroid cells: a sensitive and potentially useful clinical assay. *J Endocrinol Invest* 1982, 5:179–182
63. SOUTHGATE K, CREAGH FM, TEECE M, KINGSWOOD C, REES SMITH B. A receptor assay for the measurement of TSH receptor antibodies in unextracted serum. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1984, 20:539–543

64. CREAGH F, TEECE M, WILLIAMS S, DIDCOTE S, PERKINS W, HASHIM F ET AL. An analysis of thyrotropin receptor binding and thyroid stimulating activities in a series of Graves' sera. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1985, 23:395–404
65. FOLEY TP, WHITE C, NEW BA. Juvenile Graves' disease: usefulness and limitations of thyrotropin receptor antibody determinations. *J Pediatr* 1987, 110:378–389
66. HASHIM FA, CREAGH FM, EI HAWRANI A, PARKES AB, BUCKLAND PR, REES SMITH B. Characterization of TSH antagonist activity in the serum of patients with thyroid disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1986, 25:275–281
67. KONISHI J, IIDA Y, ENDO K, MISAKI T, NOHARA Y, MATSUURA N ET AL. Inhibition of thyrotropin-induced adenosine 3.5-monophosphate increase by immunoglobulins from patients with primary myxedema. *J Clin Endocrinol Metab* 1983, 57:544–549
68. ENDO K, KASAGI K, KONISHI J, IKEKUBO K, OKUNO T, TAKEDA Y ET AL. Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1978, 46:770–777
69. WEETMAN AP, YATEMAN ME, EALEY PA, BLACK CM, REIMER LM, WILLIAMS RC ET AL. An investigation of thyroid stimulating activity between different IgG subclasses. *J Clin Invest* 1990, 86:723–727
70. KRAIEM Z, CHO BY, SADEH O, SHONG MH, PICKERILL P, WEETMAN A. The IgG subclass distribution of TSH receptor blocking antibodies in primary hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 1992, 37:135–140
71. KOSUGI S, BAN T, AKAMIZU T, KOHN LD. Identification of separate determinants on the thyrotropin receptor reactive with Graves' thyroid-stimulating antibodies and with thyroid-stimulating blocking antibodies in idiopathic myxedema: these determinants have no homologous sequence on gonadotropin receptors. *Mol Endocrinol* 1992, 6:168–180
72. TAHARA K, BAN T, MINEGISHI T, KOHN LD. Immunoglobulins from Graves' disease patients interact with different sites on TSH receptor/LH-CG receptor chimeras than either TSH or immunoglobulins form idiopathic myxedema patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 179:70–77
73. MORI T, SUGAWA H, PIRAPHATDIST T, INOUE D, ENOMOTO T, IMURA H. A synthetic oligopeptide derived from human thyrotropin receptor binds to Graves' immunoglobulin and inhibits thyroid stimulating antibody activity but lacks interactions with TSH. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 178:165–172
74. TAKAI O, DESAI RK, SEETHARAMAIAH GS, JONES CA, ALLAWAY GP, AKAMIZU T ET AL. Procaryotic expression of the thyrotropin receptor and identification of an immunogenic region of the protein using synthetic peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 179:319–326
75. NAGAYAMA Y, WADSWORTH HL, RUSSO D, CHAZENALK GD, RAPOPORT B. Binding domains of stimulatory and inhibitory thyrotropin (TSH) receptor autoantibodies determined with chimeric TSH-lutropin/chorionic gonadotropin receptors. *J Clin Invest* 1991, 88:336–340
76. COLLISON KS, BANGA JP, BARNETT PS, HUANG GC, MCGREGOR AM. Autoantibody stimulation of the human thyrotropin receptor: regulation of adenylate cyclase activity, thyroglobulin and thyroid peroxidase mRNA levels in primary cultures of Graves' thyroid tissue. *Clin Exp Immunol* 1991, 86:61–65
77. HATABU H, KASAGI K, LIDA Y, NOSAKA T, MISAKI T, HIDAHA A ET AL. Induction of *c-fos* and *c-myc* mRNA expression by immunoglobulin G from patients with Graves' disease in thyrotropin-dependent rat thyroid cell line (FRTL5). *Clin Endocrinol* 1991, 34:349–356
78. HUBER GK, SAFIRSTEIN R, NEUFELT D, DAVIES TF. Thyrotropin receptor autoantibodies induce human thyroid cell growth and *c-fos* activation. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 72:1142–1147
79. DI CERBO A, DI GIROLAMO M, GUARDABASSO V, DE FILIPPIS V, CORDA D. Immunoglobulins from Graves' patients stimulate phospholipase-A<sub>2</sub> in FRTL5 thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 74:585–592
80. LAURENT E, VAN SANDE J, LUDGATE M, CORVILAIN B, ROCMANS P, DUMONT JE ET AL. Unlike thyrotropin, thyroid-stimulating antibodies do not activate phospholipase C in human thyroid slices. *J Clin Invest* 1991, 87:1634–1642
81. BURCH HB, NAGY EV, LUKES YG, CAI WY, WARTOFSKY L, BURMAN KD. Nucleotide and amino acid homology between the human thyrotropin receptor and the HIV-1 nef protein: identification and functional analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, 181:498–505
82. BENKER P, KOTULLA P, KENDALL-TAYLOR P, EMRICH D, REINWEIN D. TSH binding-inhibiting antibodies in hyperthyroidism: relationship to clinical signs and hormone levels. *Clin Endocrinol* 1989, 30:19–28
83. MCKENZIE J, ZAKARIJA M. The clinical use of thyrotropin receptor antibody measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 1989, 69:1093–1096
84. REINWEIN D, BENKER G, LAZARUS JH, ALEXANDER D. A prospective randomized trial of antithyroid drug dose in Graves' disease therapy. European Multicenter Study Group on Antithyroid Drug Treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 76:1516–1521
85. FELDT-RASMUSSEN U, SCHLEUSENER H, CARAYON P. Meta-analysis evaluation of the impact of thyrotropin receptor antibodies on long-term remission after medical therapy of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, 78:98–102
86. BENKER G, VITTI P, KAHALY G, RAUE F, TEGLER L, HIRCHE H ET AL. Response to methimazole in Graves' disease. The European Multicenter Group. *Clin Endocrinol* 1995, 43:257–263
87. TORRING O, TALLSTEDT L, WALLIN G, LUNDELL G, IJURGGREN J, TAUBE A. Graves' hyperthyroidism: Treatment with antithyroid drugs, surgery, or radioiodine—a prospective, randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81:2986–2993
88. WEETMAN A, FREEMAN M, MORGAN B. Thyroid follicular cell function after non-lethal complement membrane attack. *Clin Exp Immunol* 1990, 82:69–74
89. WEETMAN A. The immunomodulatory effect of antithyroid drugs. *Thyroid* 1994, 4:145–146
90. HASHIZUME K, ICHIKAWA K, SAKURAI A. Administration of thyroxine in treated Graves' disease: effects on the levels of antibodies to thyroid-stimulating hormone receptors and on the risk of recurrence of hyperthyroidism. *N Engl J Med* 1991, 324:947–953
91. HASHIZUME K, ICHIKAWA K, NISKI Y, KOBAYASHI M, SAKURAI A, MIYAMOTO T ET AL. Effect of administration of thyroxine on the risk

- of post-partum recurrence of hyperthyroid Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 75:6–10
92. McLEVER B, RAE P, BECKETT G, WILKINSON E, GOLD A, TOFT A. Lack of effect of thyroxine in patients with Graves' hyperthyroidism who are treated with an antithyroid drug. *N Engl J Med* 1996, 334:220–224
93. MORGENTHALER NG, KIM MR, TREMBLE J, HUANG GC, RICHTER W, GUPTA M ET AL. Human immunoglobulin G autoantibodies to the thyrotropin receptor from Epstein-Barr virus transformed B lymphocytes: characterization by immunoprecipitation with recombinant antigen and biological activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81:3155–3161
94. MARTIN A, NAKASHIMA M, ZHOU A, ARONSON D, WERNER AJ, DAVIES TF. Detection of major T cell epitopes on human thyroid stimulating hormone receptor by overriding immune heterogeneity in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82:3361–3366
95. SOLIMAN M, KAPLAN E, YANAGAWA T, HIDAKA Y, FISFALEN M, DEGROOT L. T-cells recognize multiple epitopes in the human thyrotropin receptor extracellular domain. *J Clin Endocrinol Metab* 1995, 80:905–914
96. SOLIMAN M, KAPLAN E, GUIMARAES V, YANAGAWA T, DEGROOT LJ. T-cell recognition of residue 158–176 in thyrotropin receptor confers risk for development of thyroid autoimmunity in siblings in a family with Graves' disease. *Thyroid* 1996, 6:545–551
97. SOLIMAN M, KAPLAN E, ABDE-LATIF A, SCHERBERG N, DEGROOT L. Does thyroidectomy, radioactive iodide therapy, or antithyroid drug treatment alter reactivity of patients' T cells to epitopes of thyrotropin receptor in autoimmune thyroid diseases? *J Clin Endocrinol Metab* 1995, 80:2312–2321
98. HIDAKA Y, GUIMARAES V, SOLIMAN M, YANAGAWA T, OKAMOTO Y, QUINTANS J ET AL. Production of thyroid-stimulating antibodies in mice by immunization with T-cell epitopes of human thyrotropin receptor. *J Endocrinol* 1995, 136:1642–1647
99. SOLIMAN M, KAPLAN E, STRAUS F, FISFALEN M, HIDAKA Y, GUIMARAES V ET AL. Graves' disease in severe combined immunodeficient mice. *J Clin Endocrinol Metab* 1995, 80:2848–2855

Corresponding author:

P. Lymberi, Department of Immunology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Ave., GR-115 21 Athens, Greece

---