



# Występowanie autoprzeciwciał przysadkowych w chorobie Gravesa-Basedowa

## The incidence of the pituitary autoantibodies in Graves' disease

Paweł Gut, Jerzy Kosowicz, Katarzyna Ziemnicka, Maciej Bączyk, Joanna Sawicka, Agata Czarnywojtek, Jerzy Sowiński

Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego, Poznań

### Streszczenie

**Wstęp:** W dotychczasowych badaniach opartych na metodzie immunofluorescencyjnej wykazano, że autoprzeciwciała przysadkowe są obecne w surowicach większości chorych z chorobami przysadki, jak również u chorych z chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych, jak choroba Gravesa-Basedowa czy choroba Addisona. Nowsze badania opierające się na metodzie *western-blottingu* dowiodły, że w surowicach pacjentów z różnymi chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych są obecne przeciwciała skierowane przeciwko białkom antygenowym przysadek o różnych ciężarach drobinowych. Celem niniejszej pracy było badanie przy użyciu metody *immunoblottingu* występowania autoprzeciwciał przeciw antygenom frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek u chorych na chorobę Gravesa-Basedowa.

**Materiał i metody:** Do badań włączono surowice 32 chorych na chorobę Gravesa-Basedowa. Wśród chorych było 25 kobiet w wieku 31–67 lat (śr. wieku  $49,9 \pm 9,4$ ) oraz 7 mężczyzn w wieku 41–58 lat (śr. wieku  $51 \pm 7,1$ ). Wszyscy chorzy mieli typowe objawy kliniczne nadczynności tarczycy potwierdzone badaniami laboratoryjnymi (TSH,  $fT_3$ ,  $fT_4$ ) oraz potwierdzoną obecność w surowicy przeciwciał przeciw receptorowi dla TSH. Surowice kontrolne pochodziły od 10 zdrowych osób, wśród których znajdowało się 7 kobiet oraz 3 mężczyzn w wieku 21–45 lat (śr. wieku  $30,6 \pm 7,1$ ). Do oceny autoprzeciwciał wykorzystano metodę rozdzielania elektroforetycznego w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE) i *western-blottingu* (*immunoblottingu*). Frakcje mikrosomalne otrzymano z homogenatów tkankowych przysadek na drodze ultrawirowania i solubilizacji w 1-procentowym dezoksyholanie sodu.

**Wyniki:** Wśród 32 przebadanych chorych na chorobę Gravesa-Basedowa w 23 przypadkach stwierdzono obecność autoprzeciwciał przysadkowych. Surowice 16 chorych reagowały z białkiem frakcji mikrosomalnej przysadek o ciężarze właściwym 55 kDa. W pozostałych przypadkach 10 surowic reagowało z antygenem 67 kDa, 6 surowic z białkiem 60 kDa, 5 surowic z antygenem 52 kDa, 4 surowice z białkiem 105 kDa. Należy zwrócić uwagę, że 6 surowic reagowało z białkami 67 i 55 kDa, a 5 surowic — z białkami o ciężarach 55, 60 i 67 kDa.

**Wnioski:** W surowicach chorych na chorobę Gravesa-Basedowa bardzo często stwierdza się występowanie autoprzeciwciał przysadkowych skierowanych przeciwko autoantygenom frakcji mikrosomalnej przysadek ludzkich. W badaniach z zastosowaniem metody *immunoblottingu* wykazano, że w surowicach chorych na chorobę Gravesa-Basedowa najczęściej występują przeciwciała skierowane przeciwko autoantygenom przysadkowym o ciężarach właściwych 55, 60 i 67 kDa.

(*Endokrynol Pol* 2007; 58 (3): 195–200)

**Słowa kluczowe:** choroba Gravesa-Basedowa, autoprzeciwciała przysadkowe, autoantygeny przysadkowe

### Abstract

**Introduction:** It is known that in the sera of patients with Graves, Addison and other autoimmune endocrine diseases we can detect autoantibodies against pituitary antigens. The aim of the study was evaluation of pituitary autoantibodies in Graves' disease patients using immunoblotting methods.



Dr med. Paweł Gut  
Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii  
i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej  
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu  
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań  
tel.: 061 869 13 30, tel. kom.: 607 39 29 22  
faks: 061 869 16 82  
e-mail: gutpj@poczta.onet.pl

**Material and methods:** Studies were performed in 32 Graves' disease patients, 25 women (age range: 31–67 yrs, median:  $49.9 \pm 9.4$ ) and 7 men (age range: 41–58 yrs, median:  $51.0 \pm 7.1$ ). All patients presented signs and symptoms typical of thyrotoxicosis. The diagnosis was confirmed by laboratory tests (TSH,  $fT_3$ ,  $fT_4$ , TSH-R antibodies). Sera of control subjects were obtained from 10 healthy blood donors, 7 women, 3 men (age range 21–45 yrs, median:  $30.6 \pm 7.1$ ). Incidence of pituitary autoantibodies was assessed by polyacrylamide electrophoresis gel and western-blotting. Pituitary microsomes were obtained from human pituitary tissues by ultracentrifugation and solubilisation in 1% desoxycholic acid.

**Results:** In 23 sera from 32 we detected autoantibodies against pituitary microsomal antigens. 16 sera were reacting with 55 kDa antigen, 10 sera with 67 kDa, 6 sera with 60 kDa, 5 sera with 52 kDa and 4 sera with 105 kDa. It is important to note that 6 sera were reacting with 57 and 55 kDa, and 5 sera with 55, 60 and 67 kDa.

**Conclusions:** In sera of Graves' disease patients autoantibodies against pituitary microsomal antigens can be frequently detected. The most frequent are antibodies against 55, 60 and 67 kDa antigens.

(Pol J Endocrinol 2007; 58 (3): 195–200)

**Key words:** Graves' disease, pituitary autoantibodies, pituitary autoantigens

## Wstęp

W dotychczasowych badaniach wykazano, że autoprzeciwciała przysadkowe są obecne w surowicach większości osób z chorobami przysadki [1–3], jak również u chorych z innymi chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych, jak choroba Gravesa-Basedowa czy choroba Addisona [4, 5]. Do wykazania obecności w surowicy autoprzeciwciał stosowano zwykle technikę immunofluorescencji z użyciem mrożonych skrawków ludzkich przysadek [6] lub linie komórek przysadkowych w hodowli na przykład szczurze GH3 lub mysie AtT20 [7, 8]. Bottazzo i wsp. [9, 10] jako pierwsi w 1975 roku metodą immunofluorescencji u chorych z wielogruzołowym zespołem autoimmunologicznym wykryli obecność autoprzeciwciał przysadkowych. Przebadali oni również 287 pacjentów z różnymi autoimmunologicznymi chorobami gruczołów dokrewnych — w 19 przypadkach stwierdzili immunofluorescencyjnie obecność przeciwciał skierowanych przeciwko komórkom laktotropowym przysadki.

Hansen i wsp. [11] przy użyciu badań immunocytochemicznych opisali obecność przeciwciał przysadkowych reagujących głównie z komórkami syntetyzującymi hormon wzrostu i prolaktynę. Przeciwciała te stwierdzono w surowicach 64% chorych ze świeżo rozpoznaną chorobą Gravesa-Basedowa oraz u 9,1% chorych z zapaleniem typu Hashimoto.

Kosowicz i wsp. [12, 13] opracowali radioimmunologiczną metodę oznaczania autoprzeciwciał techniką fazy stałej z zastosowaniem próbek opłaszczonych solubilizowanymi białkami mikrosomalnymi ludzkich przysadek. Pozwoliło to na wykazanie dużej częstości występowania autoprzeciwciał przysadkowych u chorych na chorobę Gravesa-Basedowa, chorobę Hashimoto [14] oraz na chorobę Addisona i cukrzycę typu 1 [15, 16].

Nowsze badania oparte na metodzie *immunoblottingu* z zastosowaniem antygenów wyizolowanych z ludzkich

przysadek dowiodły, że w surowicach pacjentów z różnymi chorobami autoimmunizacyjnymi gruczołów dokrewnych są obecne przeciwciała skierowane przeciwko białkom antygenowym przysadki w zakresie 14–98 kDa, przy czym część surowic reaguje z wieloma białkami antygenowymi o różnych ciężarach drobinowych, a część tylko z jednym białkiem o określonym ciężarze właściwym [17].

Crock i wsp. [18] u chorych z niedoborem hormonu wzrostu techniką *immunoblottingu* wykazali obecność przeciwciał przeciw białkom cytozolowym przysadek o ciężarze 45 kDa, natomiast Strömberg i wsp. [19] opisali występowanie przeciwciał przeciw antygenowi przysadkowemu o ciężarze drobinowym 49 kDa u większości chorych z niedoczynnością przysadki.

Przedmiotem obecnej pracy było badanie występowania autoprzeciwciał przeciw frakcji mikrosomalnej przysadek oraz charakterystyka ciężaru cząsteczkowego autoantygenów metodą *immunoblottingu* u chorych na chorobę Gravesa-Basedowa.

## Materiał i metody

Do badań włączono surowice 32 pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa. Wśród chorych było 25 kobiet w wieku 31–67 lat (śr. wieku  $49,9 \pm 9,4$ ) oraz 7 mężczyzn w wieku 41–58 lat (śr. wieku  $51,0 \pm 7,1$ ). Wszyscy chorzy mieli typowe objawy kliniczne nadczynności tarczycy potwierdzone badaniami laboratoryjnymi (hormon tyreotropowy [TSH, *thyroid stimulating hormone*],  $fT_4$ ,  $fT_3$ ) oraz potwierdzoną obecność w surowicy przeciwciał przeciw receptorowi dla TSH. Surowice kontrolne pochodziły od 10 osób zdrowych, wśród których znajdowało się 7 kobiet oraz 3 mężczyzn w wieku 21–45 lat (śr. wieku  $30,6 \pm 7,1$ ).

Ludzkie przysadki (20 sztuk) pobrane w czasie badań autopsyjnych, homogenizowano w buforze fosforanowym 0,01 mol/l pH 7,4 w 0,15 mol/l NaCl

w stosunku buforu do tkanki wynoszącym 4:1. Po usunięciu tkanki łącznej homogenat wirowano przez 20 minut w temperaturze 4°C przy  $900 \times g$  w chłodzonej wirówce. Usunięto osad, a następnie poddano 30-minutowemu wirowaniu przy  $27\,000 \times g$ . Osad zawierający głównie mitochondria, lizosomy i jądra komórkowe odrzucono. Nadsącz wirowano przy  $105\,000 \times g$  w ciągu godziny, uzyskany osad zawieszono w buforze fosforanowo-solnym i ultrawirowanie powtarzano 4-krotnie. Zawartość białka w otrzymanym osadzie oznaczono metodą spektrofotometryczną. Tak otrzymaną frakcję mikrosomalną ludzkich przysadek solubilizowano następnie w 1-procentowym dezoksychołanie sodu.

Do oceny autoprzeciwciał wykorzystano metodę rozdzielania elektroforetycznego w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE) i *western-blottingu* (*immunoblottingu*). Przygotowano 12,5-procentowy żel rozdzielający oraz 6-procentowy żel zagęszczający (30-procentowy akrylamid, 0,8-procentowy bisakrylamid, 1M bufor trisowo-solny, 20-procentowy siarczan sodowy dodecyłu (SDS, *sodium dodecyl sulphate*) nadsiarczan amonu, TEMED — firmy Sigma). Frakcję mikrosomalną denaturowano w roztworze o składzie: 0,3 mol/l bufor trisowo-solny o pH 6,8, 6-procentowy SDS, 30-procentowy glicerol, 6-procentowy 2-merkaptioetanol i 0,1-procentowy błękit bromofenolowy w takich proporcjach, aby uzyskać stężenie białek 1 mg/ml. Próbkę umieszczano we wrzącej łaźni wodnej na 3 minuty. Tak przygotowane preparaty frakcji mikrosomalnej przysadek наносono w objętości 40  $\mu$ l na każdą kieszonkę żelu. Podobnie postępowano z białkami wzorcowymi (firmy Pharmacia). Po zakończeniu rozdzielania na SDS-PAGE białka przenoszono elektroforetycznie na błonę nitrocelulozową (firmy Bio-Rad) w obecności buforu (25 Mm TRIS, 190 Mm glicyna, 20-procentowy metanol) o pH 8,3. Inkubację z badanymi surowicami prowadzono w temperaturze +4°C przez 16 godzin w rozcieńczeniu 1:200. Inkubację z drugim przeciwciałem (anty-human IgG znakowane chryzanolową peroksydazą) prowadzono w temperaturze pokojowej przez godzinę i następnie poddawano reakcji chemiluminescencji z następującą autoradiografią (zestaw ECL firmy Amersham)

## Wyniki

Wśród 32 przebadanych chorych na chorobę Gravesa-Basedowa w 23 przypadkach stwierdzono obecność autoprzeciwciał przysadkowych. Surowice 16 chorych reagowały z białkiem frakcji mikrosomalnej przysadek o ciężarze właściwym 55 kDa. W pozostałych przypadkach 10 surowic reagowało z antygenem przysadkowym o ciężarze właściwym 67 kDa. Dodatkowo 6 surowic reagowało z antygenem 60 kDa, 5 surowic z białkiem

52 kDa, 4 surowice z białkiem 105 kDa, 3 surowice z antygenem 97 kDa oraz 2 surowice z antygenem przysadkowym o ciężarze drobinowym 92 kDa. Niektóre z surowic reagowały również z białkami antygenowymi przysadek o niższych ciężarach drobinowych; 6 surowic zawierało przeciwciała skierowane przeciwko białku o ciężarze 20 kDa i 36 kDa oraz jedna surowica reagowała z antygenami o ciężarach 18 i 44 kDa. Należy zwrócić uwagę, że 6 surowic reagowało zarówno z białkiem frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek o ciężarze właściwym 67 i 55 kDa, a 5 surowic reagowało z białkami o ciężarach 55, 60 i 67 kDa. W grupie chorych na chorobę Gravesa-Basedowa 4 surowice reagowały tylko z jednym antygenem przysadkowym o ciężarze drobinowym 55 kDa oraz 3 surowice tylko z jednym białkiem o ciężarze 67 kDa. Pozostałe surowice z tej grupy chorych reagowały z kilkoma białkami mikrosomalnymi przysadek, maksymalnie z 6 o różnych ciężarach drobinowych od 18 do 105 kDa. Szczegółowe wyniki badań *immunoblottingu* surowic chorych na chorobę Gravesa-Basedowa z użyciem białek mikrosomalnych przysadek przedstawiono w tabeli I oraz na rycinach 1 i 2. Częstość występowania antygenów przysadkowych w grupie badanych chorych na chorobę Gravesa-Basedowa przedstawiono w tabeli II. W grupie kontrolnej osób zdrowych jedna surowica spośród 10 badanych dała słabą reakcję tylko z jednym białkiem frakcji mikrosomalnej przysadek o ciężarze właściwym 102 kDa.

## Dyskusja

W niniejszych badaniach opartych na metodzie *immunoblottingu* autorzy zaobserwowali, że w surowicach chorych na chorobę Gravesa-Basedowa często stwierdza się występowanie autoprzeciwciał przysadkowych skierowanych głównie przeciwko autoantygenom frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek o ciężarach właściwych 55, 60 i 67 kDa. Powyższe wyniki mogą sugerować złożoność procesu autoimmunizacji, ponieważ w grupie chorych na chorobę Gravesa-Basedowa występuje mnogość autoprzeciwciał skierowanych przeciwko wielu antygenom mikrosomalnym przysadek. Aby ustalić ich charakter konieczne będą kolejne badania obejmujące charakterystykę ich swoistości. Niewykluczone, że możemy mieć tutaj do czynienia z bardziej zróżnicowanym procesem autoimmunologicznym, znajdującym swoje przedstawicielstwo antygenowe w różnych tkankach. Tak szerokie spektrum autoprzeciwciał przysadkowych występujących w chorobach autoimmunologicznych może wiązać się z istnieniem 5 zróżnicowanych typów komórek przedniego płata przysadki, wydzielających 6 różnych hormonów.

Bensing oraz Kasperlik-Zaluska i Czarnocka [20, 21] opisali obecność przeciwciał przysadkowych w izolo-

Tabela I

Wyniki SDS-PAGE i western-blottingu surowic chorych na chorobę Gravesa-Basedowa z autoantygenami przysadkowymi

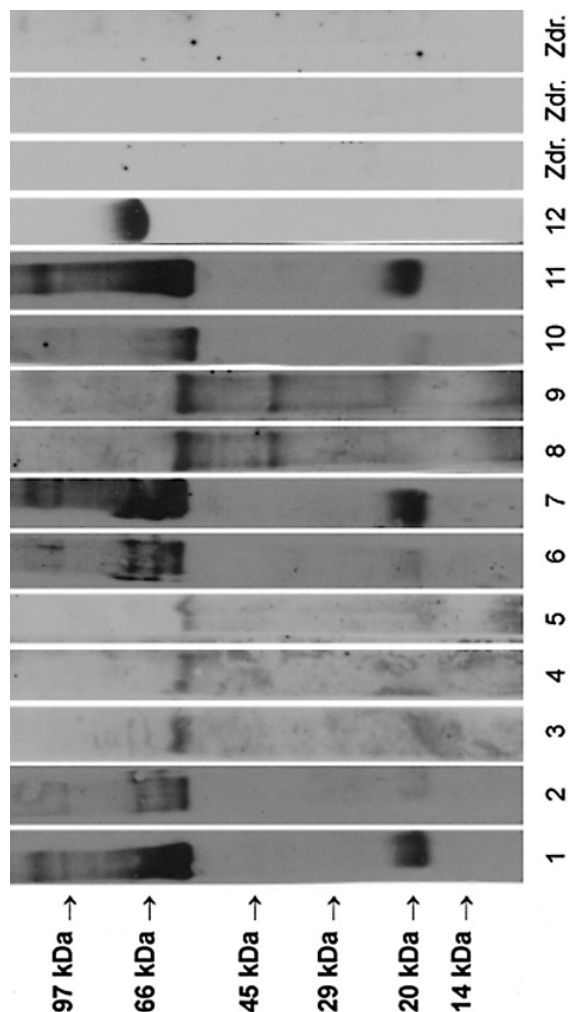
Table I

The results of SDS-PAGE and Western blot from Graves' disease patients sera with pituitary autoantigens

Nr	Pacjent	Płeć K/M	Wiek (lata)	Ciężar drobinowy antygenów przysadkowych (kDa)
1	M.C.	K	54	20, 55, 60, 67, 97, 105
2	S.U.	K	42	20, 55, 60, 67, 97
3	P.H.	K	61	55
4	Z.K.	K	49	55
5	M.G.	K	52	55
6	W.L.	K	63	20, 55, 60, 67
7	W.D.	K	57	20, 55, 60, 67, 97, 105
8	K.A.	K	47	36, 55
9	K.K.	K	49	36, 55
10	R.K.	M	58	55
11	N.Z.	K	59	55, 105
12	R.A.	M	41	67
13	N.J.	K	66	44, 67
14	S.B.	K	58	20, 36, 52, 55
15	S.M.	K	42	52, 55, 67, 92
16	M.P.	K	37	67
17	D.M.	K	52	52
18	S.T.	K	41	18, 52, 92, 105
19	P.G.	K	33	67
20	S.V.	K	56	20, 55, 60, 67
21	K.G.	K	37	36, 55
22	L.A.	K	62	36, 52, 55
23	O.B.	K	48	36, 60

wanym niedoborze ACTH. Do badań wykorzystano białka antygenowe izolowane z frakcji cytozolowej przysadek, gdzie w 18,5% przypadków stwierdzono przeciwciała przeciwko antygenowi 36 kDa oraz w 21,5% przypadków przeciwko antygenowi 49 kDa. Chorzy z przeciwciałami przeciwko antygenowi przysadkowemu o ciężarze właściwym 36 kDa dodatkowo wykazywali silną reakcję immunologiczną przeciwko tyreoglobulinie, jednakże bez następstw klinicznych. Powszechnie wiadomo, że autoprzeciwciała przysadkowe mogą być skierowane bezpośrednio przeciwko hormonom przysadkowym, jednak większość zidentyfikowanych do tej pory autoantygenów to głównie białka o aktywności enzymatycznej biorące udział w syntezie hormonów [22].

Crock i wsp. [23] badali występowanie przeciwciał przysadkowych z zastosowaniem immunoblottingu w różnych endokrynopatiach na podłożu autoimmu-

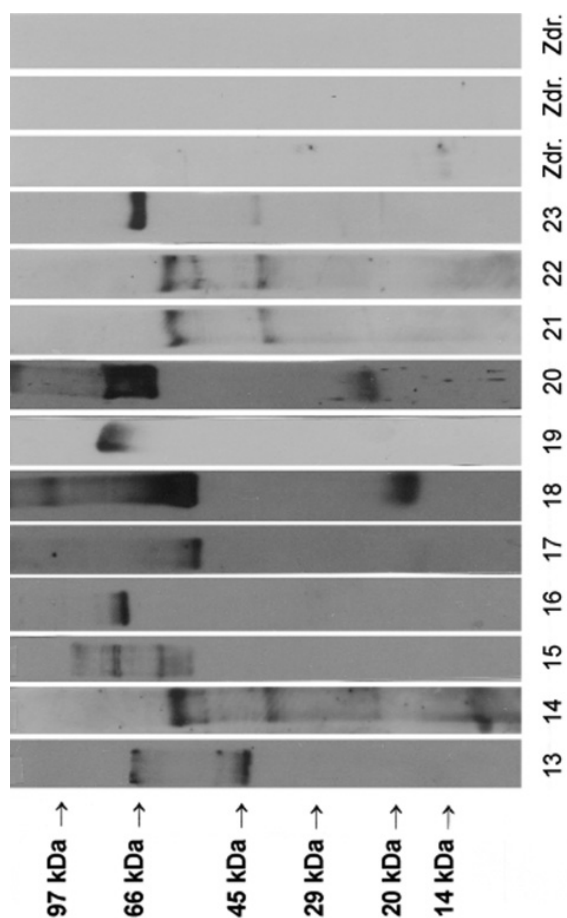


Rycina 1. Immunoblotting przysadkowych białek mikrosomalnych i surowic pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa (1–12) oraz surowic grupy kontrolnej osób zdrowych (Zdr.).

Figure 1. Immunoblotting of pituitary microsomal proteins with sera from Graves' disease patients (1–12) and from control subjects

nologicznym, stosując autoantygeny przysadkowe izolowane z frakcji cytozolowej przysadek. W badaniach tych wykazano obecność przeciwciał przeciw białku ludzkich przysadek o ciężarze 40 i 49 kDa u 70% chorych z limfocytarnym zapaleniem przysadki oraz u 15% osób z chorobą Gravesa-Basedowa. W dalszych pracach O'Dwyer i wsp. [24, 25] zidentyfikowali antygen przysadkowy o ciężarze drobinowym 49 kDa jako neurospecyficzną  $\alpha$ -enolazę.

Nishino i wsp. [26] wykazali obecność autoprzeciwciał przysadkowych u 22,4% osób z chorobą Gravesa-Basedowa, nie widząc jednak korelacji między obecnością powyższych przeciwciał a dysfunkcją hormonalną przysadki. Nieznaczną zależność zauważyli natomiast między obecnością przeciwciał anti-GH a chorobą Hashimoto. Nishiki i wsp. [27] stwierdzili obecność przeciwciał przeciw białkom błonowym przysadek



**Rycina 2.** Immunoblotting przysadkowych białek mikrosomalnych i surowic pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa (13–23) oraz surowic grupy kontrolnej osób zdrowych (Zdr.)

**Figure 2.** Immunoblotting of pituitary microsomal proteins with sera from Graves' disease patients (13–23) and from control subjects

o ciężarze drobinowym 68, 49 i 43 kDa u chorych z limfocytarnym zapaleniem przysadki, jak również u chorych z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy.

W innych chorobach autoimmunizacyjnych Wercammen i wsp. [28] w surowicach chorych ze świeżo rozpoznaną cukrzycą insulinozależną opisali obecność przeciwciał klasy IgM i IgG reagujących z antygenami przysadkowymi. Kobayashi i wsp. [29], stosując metody immunoenzymatyczne, zaobserwowali obecność autoprzeciwciał przysadkowych w surowicach 24,7% ze 150 chorych z cukrzycą insulinozależną. Ocena tych chorych z zastosowaniem immunoblottingu wykazała obecność przeciwciał przeciw antygenom przysadkowym o ciężarze 22 kDa.

Yabe i wsp. [30] również przy użyciu metod immunoenzymatycznych dowiedli, że przeciwciała przysadkowe mogą być obecne u 36% osób z chorobą Hashimoto, 29% chorych na chorobę Gravesa-Basedowa oraz u 39% chorych na cukrzycę insulinozależną.

**Tabela II**

*Częstość występowania antygenów przysadkowych w grupie badanych chorych na chorobę Gravesa-Basedowa*

**Table II**

*The incidence of the pituitary antigens in Graves' disease patients*

Ciężar drobinowy antygenów przysadkowych (kDa)	Częstość występowania w grupie badanych chorych na chorobę Gravesa-Basedowa (%)
55	69,5
67	43,5
60	26,0
36	26,0
20	26,0
52	21,7
105	17,4
97	13,0
92	8,7

W świetle dotychczasowych badań uważa się, że częstość przeciwciał przysadkowych skierowanych przeciw autoantygenom przysadek o ciężarze właściwym 65 i 67 kDa w powiązaniu z cukrzycą typu 1 sugeruje, że autoantygenem przysadkowym może być dekarboksylaza kwasu glutaminowego (GAD). Do tej pory poznano dwie izoformy dekarboksylazy kwasu glutaminowego, o różnych ciężarach drobinowych 65 i 67 kDa (GAD<sub>65</sub> i GAD<sub>67</sub>). Izoforma dekarboksylazy kwasu glutaminowego o ciężarze drobinowym 65 kDa jest kodowana przez gen znajdujący się na chromosomie 10 i występuje głównie w komórkach trzustki. Natomiast GAD<sub>67</sub> jest kodowana przez gen znajdujący się na chromosomie 2 i występuje głównie w komórkach nerwowych mózgu, gdzie odpowiedzialna jest za syntezę kwasu gamma-aminomasłowego (GABA), jednego z głównych transmiterów hamujących [31].

Sawicka i wsp. [32] zauważyła, że częstość występowania przeciwciał przysadkowych w chorobach gruczołów dokrewnych o podłożu autoimmunizacyjnym wynosi 41% oraz, że przeciwciała te reagują najczęściej z autoantygenem o ciężarze 68 kDa.

Mimo wielu prowadzonych badań do tej pory udało się zidentyfikować jedynie nieliczne autoantygeny przysadkowe odpowiedzialne za procesy autoimmunizacji. Należą do nich między innymi hormon wzrostu, neurospecyficzna  $\alpha$ -enolaza oraz opisane ostatnio przez Tanaka i wsp. [33] PGSF1a o masie cząsteczkowej 16 kDa oraz PGSF2 o masie 27 kDa. Izolacja i charakterystyka pozostałych opisywanych autoantygenów przysadkowych zapewne umożliwi szersze poznanie

procesu powstawania autooprzeciwciał przysadkowych oraz pozwoli zrozumieć jak wpływają one na czynność hormonalną przysadki.

## Piśmiennictwo

- Komatsu M, Kondo T, Yamauchi K i wsp. Antipituitary antibodies in patients with the primary empty sella syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 633–638.
- Kajita K, Yasuda K, Yamakita N i wsp. Anti-pituitary antibodies in patients with hypopituitarism and their families: longitudinal observation. *Endocrinol Jpn* 1991; 38: 121–129.
- Kobayashi I, Inukai T, Takahashi M i wsp. Anterior pituitary cell antibodies detected in Hashimoto's thyroiditis and Grave's disease. *Endocrinol Jpn* 1988; 35: 705–708.
- Kosowicz J, Sawicka J, Gryczyńska M. Pituitary antigens recognised by autoantibodies in endocrinopathies. *Endokrynol Pol* 1994; 45: 139.
- Pouplard A, Bottazzo GF, Doniach D i wsp. Binding of human immunoglobulins to pituitary ACTH cells. *Nature* 1976; 261: 142–144.
- Mirakian R, Cudworth AG, Bottazzo GF i wsp. Autoimmunity to anterior pituitary cells and the pathogenesis of insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982; 1: 755–759.
- Sugiura M, Hashimoto A, Shizawa M i wsp. Heterogeneity of anterior pituitary cell antibodies detected in insulin-dependent diabetes mellitus and adrenocorticotrophic hormone deficiency. *Diabetes Res* 1986; 3: 111–114.
- Nishiyama S, Takano T, Hidaka Y i wsp. A case of postpartum hypopituitarism associated with empty sella: possible relation to postpartum autoimmune hypophysitis. *Endocr J* 1993; 40: 431–438.
- Bottazzo GF, Doniach D. Pituitary autoimmunity: a review. *J Royal Society Med* 1978; 71: 433–436.
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Pouplard A i wsp. Autoantibodies to prolactin-secreting cells of human pituitary. *Lancet* 1975; 19: 97–101.
- Hansen BL, Hegedus L, Hansen GN i wsp. Pituitary cell autoantibody diversity in sera from patients with untreated Grave's disease. *Autoimmunity* 1989; 5: 49–57.
- Kosowicz J, Gryczyńska M, Bottazzo GF. A radioimmunoassay for the detection of adrenal antibodies. *Clin Exp Immunol* 1986; 63: 671–679.
- Gryczyńska M, Kosowicz J. Radioimmunologiczne oznaczenie autooprzeciwciał przysadkowych. *Endokrynol Pol* 1987; 38: 393–400.
- Gryczyńska M, Baumann-Antczak A, Kosowicz J. Polyendocrine autoimmunity In thyroid diseases. *New Aspects in Thyroid Diseases*, de Gruyter, Berlin-New York 1992; 1–7.
- Gryczyńska M, Kosowicz J. Radioimmunologiczne oznaczenie autooprzeciwciał przysadkowych w chorobie Addisona. *Endokrynol Pol* 1991; 43: 561–566.
- Gryczyńska M, Majkowska L, Czekalski S. Radioimmunological identification of pituitary autoantibodies in the sera of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Endokrynol Pol* 1991; 42: 33.
- Yabe S, Murakami M, Maruyama K i wsp. Western-blot analysis of rat pituitary antigens recognized by human antipituitary antibodies. *Endocr J* 1995; 42: 115–119.
- Crock P, Salvi M, Miller A i wsp. Detection of anti-pituitary autoantibodies by immunoblotting. *J Immunol Methods* 1993; 162: 31–40.
- Strömberg S, Crock P, Lernmark A i wsp. Pituitary autoantibodies in patients with hypopituitarism and their relatives. *J Endocrinol* 1998; 157: 475–480.
- Bensing S, Kasperlik-Zaluska AA, Czarnocka B i wsp. Autoantibodies against pituitary proteins in patients with adrenocorticotropin-deficiency. *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 126–132.
- Kasperlik-Zaluska AA, Czarnocka B, Czech W. Autoimmunity as the most frequent cause of idiopathic secondary adrenal insufficiency: report of 111 cases. *Autoimmunity* 2003; 36 (3): 155–159.
- Riley WJ. Enzymes as antigens in autoimmune endocrinopathies. *Clin Chem* 1995; 41: 337–339.
- Crock PA. Cytosolic autoantigens in lymphocytic hypophysitis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 609–618.
- O'Dwyer DT, Smith AI, Matthew ML i wsp. Identification of the 49-kDa autoantigen associated with lymphocytic hypophysitis as  $\alpha$ -enolase. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 752–757.
- O'Dwyer DT, Clifton V, Hall A i wsp. Pituitary autoantibodies in lymphocytic hypophysitis target both  $\gamma$  and  $\alpha$ -enolase- a link with pregnancy? *Arch Physiol Biochem* 2002; 110: 94–98.
- Nishino M, Yabe S, Murakami M i wsp. Detection of antipituitary antibodies in patients with autoimmune thyroid disease. *Endocr J* 2001; 48 (2): 185–191.
- Nishiki M, Murakami Y, Ozawa Y i wsp. Serum antibodies to human pituitary membrane antigens in patients with autoimmune lymphocytic hypophysitis and infundibuloneurohypophysitis. *Clin Endocrinol* 2001; 54 (3): 327–333.
- Wercammen M, Gorus F, Foriers A i wsp. Presence of immunoglobulin M which bind a rat pituitary cells. *Diabetology* 1989; 32: 611–617.
- Kobayashi T, Yabe S, Kanda T i wsp. Studies on circulating antipituitary antibodies in NIDDM patients. *Endocr J* 1998; 45 (3): 343–350.
- Yabe S, Kanda T, Hirokawa M i wsp. Determination of antipituitary antibody In patients with endocrine disorders by enzyme-linked immunosorbent assay and Western blot analysis. *Lab Clin Med* 1998; 132 (1): 25–31.
- Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S i wsp. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990; 347: 151–156.
- Sawicka J, Gryczyńska M, Baumann-Antczak A i wsp. Wykrywanie autooprzeciwciał przysadkowych u chorych z gruczolakami przysadki i w niedoczynności przysadki. *Pol Arch Med Wewn* 1999; 101 (2): 123–129.
- Tanaka S, Tatsumi KI, Kimura M i wsp. Detection of autoantibodies against the pituitary-specific proteins in patients with lymphocytic hypophysitis. *Eur J Endocrinol* 2002; 147 (6): 767–775.