



Correlation between thyroid stimulating immunoglobulins and thyrotropin binding inhibitory immunoglobulins levels in patients with Graves' disease

Marta Jonas¹, Urszula Ambroziak², Janusz Nauman¹

¹Department of Endocrinology, Medical Research Center, Polish Academy of Sciences, Warsaw

²Chair and Department of Internal Diseases and Endocrinology, Warsaw Medical University

Abstract

Introduction: The II generation method using human recombination thyrotropin receptors for measurement of thyrotropin binding inhibitory immunoglobulins (TBII) is characterized by increased sensitivity and specificity in comparison with I generation method.

Aim of study was to determine, whether TBII levels measured with II generation assay reflect thyroid stimulation and whether measurement of thyroid stimulating antibodies (TSI) could be replaced by TBII determinations. Specific aim was to evaluate, whether correlation between TSI and TBII levels is stable during antithyroid therapy.

Material and methods: 41 patients with the newly diagnosed Graves' disease were included in the study. TSI (cAMP levels in CHO cell line) and TBII (II generation assay) levels were determined before treatment and after 1, 3, 6, 9 and 12 months of thiamazol therapy. Moreover, thyroid blocking antibodies were determined after 12 months of treatment.

Results: 32 patients (82.05%) had positive basic TSI level and 35 patients (89.74%) had positive basic TBII level. After 12 months of therapy negative level of TSI was observed in 67.57% of patients and negative level of TBII was founded

in 45.85% of patients. Correlation between TSI and TBII levels was positive during treatment course except time after 9 months of therapy.

Conclusions: TBII level is adequate parameter to assess thyroid stimulation intensity. Positive correlation between TSI and TBII levels is present during almost whole treatment course. TBII seems to be reliable parameter in disease activity monitoring and response to therapy.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 1 (57): 23–30)

Key words: Graves' disease, stimulating antibodies, TSH receptor, epitopes



Marta Jonas, Ph.D.
Department of Endocrinology,
Medical Research Center,
Polish Academy of Sciences
ul. Pawińskiego 5, 01-106 Warsaw, Poland
tel.: (022) 599 17 51, fax: (022) 599 19 75;
e-mail: martajonas@poczta.onet.pl



Badanie korelacji pomiędzy poziomami przeciwciał stymulujących tarczycę i przeciwciał blokujących wiązanie tyreotropiny na receptorze TSH u chorych z chorobą Gravesa-Basedowa

Marta Jonas¹, Urszula Ambroziak², Janusz Nauman¹

¹Zakład Badawczo-Leczniczy Endokrynologii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii Akademii Medycznej, Warszawa

Streszczenie

Wstęp: Oznaczanie poziomu przeciwciał blokujących wiązanie tyreotropiny z receptorem (TBII, *thyrotropin binding inhibitory immunoglobulines*) metodą wykorzystującą ludzki rekombinowany receptor tyreotropiny (testy II generacji) charakteryzuje się znacznie wyższą czułością i specyficznością niż testy I generacji.

Celem pracy było określenie, czy TBII, oznaczane za pomocą testu II generacji, we właściwy sposób odzwierciedla stopień pobudzenia tkanki tarczycowej i czy możliwe jest zastąpienie oznaczeń przeciwciał stymulujących tarczycę (TSI, *thyroid stimulating immunoglobulines*) oznaczeniami TBII. Ponadto celem pracy było ustalenie, czy korelacja poziomów TBII i TSI jest zachowana w czasie terapii tyreostatykiem.

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 41 osób z rozpoznaną po raz pierwszy nadczynnością tarczycy w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. Na początku oraz po 1, 3, 6, 9 i 12 miesiącach terapii tiamazolem oznaczano poziom TSI na podstawie wydzielania cAMP w hodowli komórek jajowych chomika chińskiego (CHO, *Chinese hamster ovary*) oraz TBII testem II generacji. Ponadto po 12 miesiącach leczenia oznaczono poziom przeciwciał blokujących tarczycę (TBAb, *thyroid blocking antibodies*).

Wyniki: Na początku leczenia u 32 chorych (82,05%) stwierdzono pozytywny poziom TSI, a u 35 chorych (89,74%)

— pozytywny poziom TBII. Po 12 miesiącach leczenia stwierdzono negatywne stężenie TSI u 67,57% chorych, natomiast negatywny poziom TBII — u 45,85% pacjentów. Dodatnią korelację pomiędzy poziomami przeciwciał TSI i TBII obserwowano przez cały okres terapii, poza okresem po 9 miesiącach leczenia.

Wnioski: Poziom TBII odpowiada stopniowi pobudzenia receptora przez przeciwciała stymulujące tarczycę. Dodatnia korelacja utrzymuje się w trakcie leczenia tyreostatykiem i dlatego TBII wydaje się wiarygodnym parametrem umożliwiającym monitorowanie stopnia aktywności choroby i przebiegu leczenia.

(*Endokrynol Pol* 2006; 1 (57): 23–30)

Słowa kluczowe: choroba Gravesa-Basedowa, przeciwciała stymulujące, receptor TSH, epitopy



Dr med. Marta Jonas
Zakład Badawczo-Leczniczy Endokrynologii,
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polskiej Akademii Nauk
ul. Pawińskiego 5, 01-106 Warszawa
tel.: (022) 599 17 51, faks: (022) 599 19 75;
e-mail: martajonas@poczta.onet.pl

Wstęp

Choroba Gravesa-Basedowa jest chorobą autoimmunologiczną o niezwykle złożonej etiopatogenezie, charakteryzującą się występowaniem przeciwciał skierowanych przeciw różnym strukturom tkanki tarczycowej. Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (TPOAb, *thyroid peroxidase antibody*) przejawiają aktywność cytotoksyczną [1], natomiast przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (TgAb, *thyreoglobulin antibodies*) aktywność biologiczną wykazują bardzo rzadko [2]. Stanowią one jedynie pomocniczy wskaźnik w diagnozowaniu autoimmunologicznego podłoża nadczynności tarczycy. Największą rolę w rozwoju i przebiegu choroby Gra-

vesa-Basedowa odgrywają przeciwciała przeciw receptorowi tyreotropiny. Przeciwciała te w ogromnej większości są przeciwciałami stymulującymi (TSI, *thyroid stimulating immunoglobulines*) [3, 4]. Nieznaczna część przeciwciał przeciw receptorowi TSH o znacznie mniejszym znaczeniu klinicznym wykazuje aktywność blokującą receptor (TBAb, *thyroid blocking antibodies*) [5, 6]. Prawdopodobnie aktywność przeciwciał jest zdeterminowana miejscem ich wiązania na zewnątrzkomórkowej domenie receptora tyreotropiny (TSHR, *thyroid stimulating hormone receptor*). Jednak mechanizm prowadzący do pojawienia się przeciwciał przeciw TSHR do tej pory nie został w pełni poznany. Uważa się, że do pojawienia się przeciwciał i rozwoju choroby Gravesa-Basedowa

dochodzi u genetycznie predysponowanych osobników pod wpływem różnych czynników endogennych i środowiskowych [7–9]. W praktyce klinicznej największe znaczenie przypisuje się działaniu TSI, jednak ze względu na koszt i czasochłonność oznaczanie przeciwciał stymulujących tarczycę jest możliwe jedynie za pomocą metody stosowanej wyłącznie w celach naukowych. Ponadto, wadą tych oznaczeń jest ich słaba powtarzalność, czego przyczyną może być utrata właściwości receptora z czasem hodowania linii komórkowej lub też występowanie na hodowanych komórkach receptora tyreotropiny w formie niezdolnej do zmian konformacyjnych, niezbędnych do przekazywania sygnału [10]. Ponadto w testach biologicznych bada się jedynie pobudzenie poprzez cyklazę adenylową, natomiast istnieją subpopulacje przeciwciał zdolnych również do stymulacji poprzez fosfolipazę C [11] i A2 [12]. W latach 80. ubiegłego stulecia pojawiły się zestawy do oznaczania stężenia przeciwciał anty-TSHR oparte na konkurencyjnym wiązaniu przeciwciał i tyreotropiny (TSH) na TSHR pochodzącym od świni. Pod koniec lat 90. XX wieku opracowano technologię, pozwalającą zastąpić go ludzkim rekombinowanym receptorem tyreotropiny, zakotwiczonym w fazie stałej [13]. Testy II generacji charakteryzują się znacznie wyższą czułością i specyficznością oznaczeń [14–16].

Celem niniejszej pracy było określenie, czy poziom przeciwciał blokujących miejsce wiązania TSH z receptorem (TBII, *thyrotropin binding inhibitory immunoglobulines*), oznaczanych za pomocą testu II generacji z zastosowaniem ludzkiego rekombinowanego TSHR, we właściwy sposób odzwierciedla stopień pobudzenia tkanki tarczycowej i czy w związku z tym możliwe jest zastąpienie oznaczeń TSI oznaczeniami TBII. Ponadto celem badania było ustalenie korelacji poziomów TBII i TSI w trakcie kilkunastu miesięcy stosowania terapii przeciwtarczycowej.

Material i metody

Do badania zakwalifikowano 41 osób w wieku 20–60 lat (śr. wieku $37,79 \pm 11,42$ lat) z rozpoznaną po raz pierwszy jawną nadczynnością tarczycy w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. Wielkość gruczołu tarczowego w badaniu ultrasonograficznym nie przekraczała 75 ml, a ponadto nie stwierdzono klinicznych cech zwężenia tchawicy. Wśród chorych było 5 mężczyzn i 36 kobiet, co stanowiło odpowiednio 13,88% i 86,12% badanej grupy. Spośród zakwalifikowanych do badania chorych dwie kobiety (lat 25 i 32) po otrzymaniu wyników badań immunologicznych ze względu na niespełnienie kryteriów autoimmunologicznej nadczynności tarczycy wykluczono z badania. Rozpoznanie choroby ustalono na podstawie objawów klinicznych nadczynności

tarczycy, obecności wola mięszonego lub niepowiększonej tarczycy z niejednorodną echostrukturą uwidocznią w badaniu ultrasonograficznym bez obecności zmian ogniskowych. Rozpoznanie choroby dokonano także na podstawie podwyższonych wartości wolnej trijodotyroniny i wolnej tyroksyny w surowicy krwi oraz obniżonego stężenia tyreotropiny ($< 0,05$ IU/l), a także spełnienia jednego z immunologicznych kryteriów autoimmunologicznego zapalenia tarczycy: podwyższonego stężenia przeciwciał przeciwtarczycowych (TPOAb lub TgAb) lub przeciwciał przeciw receptorowi tyreotropiny (wiążących się z miejscem wiązania TSH–TBII lub przeciwciał stymulujących tarczycę — TSI). Wszystkim chorym przez 12 miesięcy podawano tiamazol (Thyrozol, Merck). Początkową dawkę 40 mg na dobę zmniejszano do najmniejszej zapewniającej stan eutyreozy. Zanim podjęto terapię, a następnie po 1, 3, 6, 9 i 12 miesiącach u wszystkich chorych przeprowadzono kontrolę immunologiczną, oznaczając stężenia TSI i TBII. Ponadto po 12 miesiącach leczenia u wszystkich pacjentów oznaczono poziom przeciwciał blokujących tarczycę (TBAb).

Przeciwciała blokujące wiązanie TSH z receptorem (TBII) oznaczano za pomocą luminescencyjnego testu II generacji z zastosowaniem ludzkiego rekombinowanego receptora TSH (TRAKhuman, B.R.A.M.H.S, GmbH). Procedurę oznaczeń wykonywano według zaleceń producenta. Jako negatywny poziom TBII przyjęto wartości poniżej 1,5 IU/l (zgodnie z zaleceniami producenta). Zmienność wewnątrzseryjna nie przekraczała 10%, natomiast międzyseryjna nie przekraczała 20%. Przeciwciała stymulujące tarczycę (TSI) i przeciwciała blokujące tarczycę (TBAb) były oznaczane na podstawie wydzielania cAMP w hodowli komórek jajowych chomika chińskiego (CHO, *Chinese hamster ovary*) — CHO JP09. Oznaczenia zostały wykonane przez Bioassays GmbH. Pomiar dokonywany był w femtomolach (fmol). Wszystkie oznaczenia wykonano dwukrotnie, a wynik podawano jako wartość średnią. W oznaczeniach przeciwciał stymulujących tarczycę (TSI) za prawidłowe uznano wartości poniżej 1,5 wartości wskaźnika stymulacji (SI, *stimulating index*), wyliczonego według wzoru:

$$\frac{\text{stężenie cAMP w badanej surowicy}}{\text{stężenie cAMP w surowicy kontrolnej}}$$

Oznaczając przeciwciała blokujące tarczycę (TBAb), za wartości prawidłowe uznano te poniżej 40% wskaźnika hamowania. Wskaźnik ten zdefiniowano na podstawie wzoru:

$$\frac{(1 - \text{stężenie cAMP w badanej surowicy w obecności TSH})}{\text{stężenie cAMP w surowicy kontrolnej w obecności TSH}} \times 100$$

Wyniki

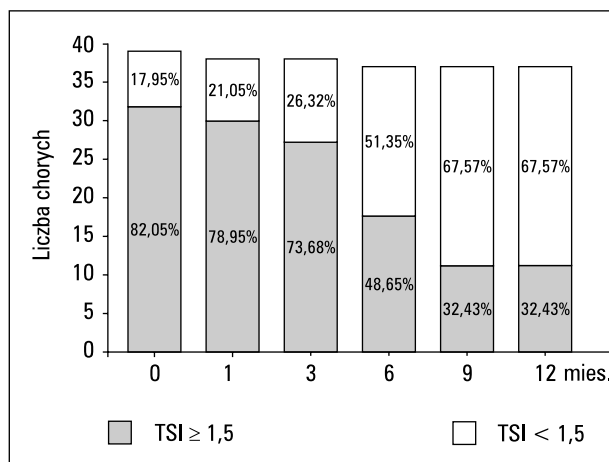
W chwili rozpoznania choroby Gravesa-Basedowa u 32 z 39 zakwalifikowanych do badania chorych (82,05%) stwierdzono pozytywne stężenie przeciwciał stymulujących tarczycę. Odsetek ten ulegał obniżeniu w ciągu kolejnych miesięcy prowadzenia terapii, a po upływie trwającego 12 miesięcy okresu leczenia u 67,57% chorych stwierdzono negatywne stężenie TSI (ryc. 1). Średnie poziomy przeciwciał stymulujących tarczycę przez cały okres terapii tyreostatykiem, jak również w chwili jej zakończenia pozostawały dodatnie. Szczegółowe wyniki zamieszczono na rycinie 2. Najbardziej wyrażone obniżenie poziomu TSI zaobserwowano między 3. a 6. miesiącem leczenia ($p < 0,01$). W ciągu ostatnich 3 miesięcy terapii tyreostatykiem średni poziom TSI nie uległ istotnym zmianom.

Wśród osób zakwalifikowanych do badania u 35 chorych (89,74% wszystkich pacjentów) stwierdzono podwyższony poziom przeciwciał blokujących wiązanie TSH z receptorem (TBII $> 1,5$ IU/l) w chwili rozpoznania choroby. Stosując wartość odcięcia dla wyników pozytywnych na poziomie wyższym niż 1,0 IU/l, czyli dolną wartość tak zwanej szarej strefy, negatywne stężenie TBII w chwili rozpoznania choroby stwierdzono jedynie u dwóch chorych (4,88%). W trakcie leczenia liczba chorych z pozytywnym poziomem TBII stopniowo zmalała, co było szczególnie widoczne od 6. miesiąca terapii. Ostatecznie w chwili zakończenia terapii u 17 chorych stwierdzono negatywne ($< 1,5$ IU/l) stężenie TBII (45,85% całej grupy pacjentów), co przedstawiono na rycinie 3. Średnie stężenie TBII w ciągu pierwszego miesiąca leczenia nie uległo istotnej zmianie. Istotny statystycznie spadek średniego poziomu TBII ($p < 0,0001$) zaobserwowano po upływie 2 kolejnych miesięcy stosowania tyreostatyku, a tendencja ta utrzymywała się przez następne 6 miesięcy. Najbardziej wyrażony spadek zanotowano w kontroli po 6 miesiącach leczenia. Ostatnie 3 miesiące terapii nie przyniosły znaczących zmian średniego stężenia TBII u badanych chorych. W chwili zakończenia terapii średnia wartość stężenia TBII nadal utrzymywała się powyżej wartości prawidłowych. Dynamikę zmian wartości średnich TBII w badanej grupie przedstawiono na rycinie 4.

Stwierdzono pozytywną korelację poziomu TSI i stężenia TBII. Znamienne statystycznie korelację obserwowano przez cały okres trwania badania poza okresem kontroli dokonanej po 9. miesiącu terapii. Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli I.

Dyskusja

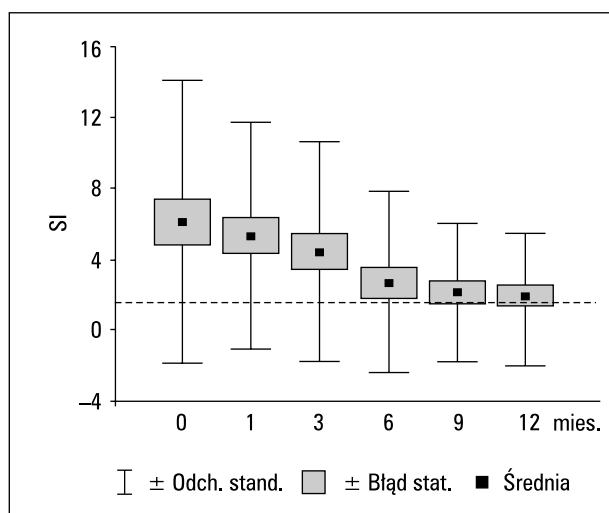
Choroba Gravesa-Basedowa jest schorzeniem wielogenowym. Niepełna penetracja genów może być przyczyną różnego nasilenia choroby w różnym okresie jej trwania.



TSI (*thyroid stimulating immunoglobulines*) — przeciwciała stymulujące tarczycę

Rycina 1. Odsetek chorych z pozytywnym i negatywnym poziomem TSI w okresie 12 miesięcy terapii

Figure 1. Percentage of TSI positive patients during 12 months of antithyroid treatment



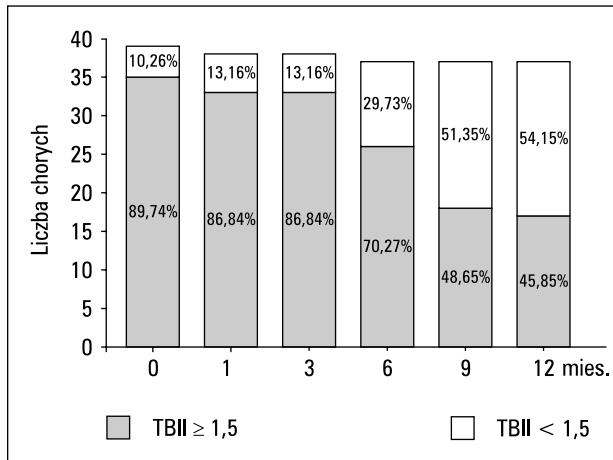
SI (*stimulation index*) — wskaźnik stymulacji

Rycina 2. Średnie poziomy przeciwciał stymulujących tarczycę (TSI) w ciągu 12 miesięcy terapii. Linią przerywaną zaznaczono górny zakres wartości prawidłowej

Figure 2. Mean thyroid stimulating antibodies (TSI) levels during 12 months of antithyroid treatment. Dashed line points upper normal level

Niniejsze badanie miało pomóc ustalić, czy korelacja między poziomami przeciwciał stymulujących tarczycę i przeciwciał blokujących miejsce wiązania TSH na receptorze utrzymuje się na stałym poziomie w trakcie leczenia farmakologicznego nadczynności tarczycy w trakcie leczenia.

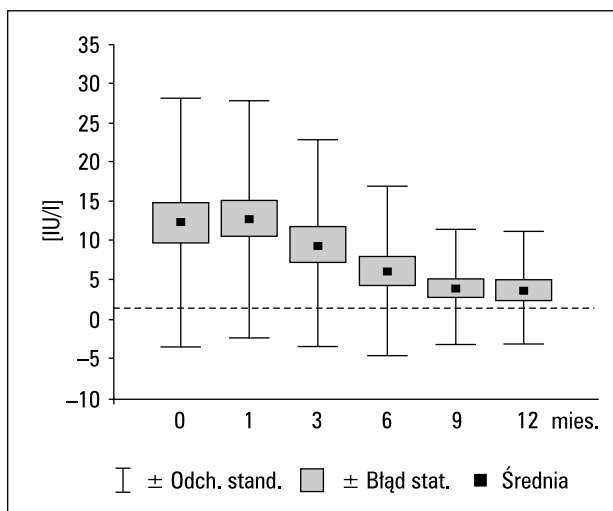
Analiza dynamiki zmian stężeń przeciwciał przeciwcieprceptorowych w okresie 12 miesięcy terapii wykazała opóźnienie między początkiem stosowania leku a jego zauważalnym działaniem immunosupresyjnym,



TBII (*thyrotropin binding inhibitory immunoglobulines*) — przeciwciała blokujące wiązanie tyreotropiny z receptorem

Rycina 3. Odsetek chorych z pozytywnym i negatywnym stężeniem TBII w ciągu 12 miesięcy terapii

Figure 3. Percentage of TBII positive patients during 12 months of antithyroid treatment



Rycina 4. Średnie poziomy przeciwciał blokujących wiązanie TSH z receptorem (TBII) w ciągu 12 miesięcy terapii. Liniją przerywaną zaznaczono górny zakres wartości prawidłowej

Figure 4. Mean thyrotropin binding inhibitory immunoglobulines (TBII) levels during 12 months of antithyroid treatment. Dashed line points upper normal level

odzwierciedlającym się realnym obniżeniem stężenia przeciwciał. Zaobserwowano tendencję do szybszego obniżania się stężenia TBII (już po 1. miesiącu stosowania leku) w porównaniu do późniejszego istotnego obniżenia stężenia TSI, który po raz pierwszy odnotowano dopiero po 3 miesiącach leczenia. Wydaje się, że pierwsze miesiące terapii stanowią czas, w którym zachodzą dwa procesy: rozwija się immunosupresyjne działanie tiamazolu [17–19] oraz następuje wygaśnięcie nadczynności tarczycy, uważanej za niezależny

Tabela I

Korelacja między poziomami przeciwciał przeciw receptorowi TSH

Table I

Correlation between TSI and TBII levels

Korelacja między TSI a TBII	Współczynnik korelacji (R)	p
Przed rozpoczęciem terapii	0,33	< 0,05
Po 1 miesiącu	0,41	< 0,02
Po 3 miesiącach	0,51	< 0,01
Po 6 miesiącach	0,56	< 0,001
Po 9 miesiącach	0,11	ns
Po 12 miesiącach terapii tyreostatykiem	0,32	< 0,05

ns (*not significant*) — nieistotny statystycznie; TSI (*thyroid stimulating immunoglobulines*) — przeciwciała stymulujące tarczycę; TBII (*thyrotropin binding inhibitory immunoglobulines*) — przeciwciała blokujące wiązanie tyreotropiny z receptorem

czynnik stresowy, wpływający na sprawność nadzoru immunologicznego [20]. Ponadto zaobserwowano, że po upływie 9 miesięcy leczenia w zakresie stężeń obu oznaczanych rodzajów przeciwciał nie dochodzi do istotnych zmian. To pozwala sądzić, że zmiany immunologiczne, prowadzące do wygaśnięcia procesu zapalnego, zachodzą przez okres nie dłuższy niż 9 miesięcy od rozpoczęcia leczenia tyreostatykiem u chorych z pierwszym epizodem nadczynności tarczycy. Wyniki wcześniejszych badań wykazały, że odsetek długoterminowych remisji jest wyższy u dorosłych chorych leczonych przez 12 miesięcy w porównaniu do pacjentów leczonych przez 6 miesięcy [21, 22]. Wydaje się prawdopodobne, że minimalny okres terapii wynosi 9 miesięcy. Jeśli obserwacja dotycząca braku zmian immunologicznych w okresie ostatnich 3 miesięcy rocznego okresu leczenia zostanie potwierdzona w badaniu obejmującym większą grupę chorych, możliwe byłoby rozważenie skrócenia najczęściej stosowanego 12- lub 18-miesięcznego okresu terapii do 9 miesięcy. Jednak, mimo że w czasie ostatnich 3 miesięcy rocznego okresu terapii nie zachodzą widoczne zmiany immunologiczne, może się okazać, że ostatnia faza leczenia, poprzez przedłużenie stanu eutyreozy, jest konieczna do wzmocnienia pośredniego efektu immunosupresyjnego leku przeciw-tarczycowego [23].

Korelacja poziomów przeciwciał TBII i TSI

Opracowanie komercyjnego testu wykrywającego przeciwciała wiążące się konkurencyjnie z receptorem TSH nasunęło wątpliwość, czy umożliwia on wykrycie wszystkich subpopulacji przeciwciał stymulujących tarczycę i czy nie jest zafałszowany obecnością przeciwciał o aktywności innej niż stymulująca receptor.

Istotna statystycznie korelacja pomiędzy poziomami przeciwciał TBII i TSI w okresie 12-miesięcznej terapii lekiem przeciwtarczycowym wykazała, że stężenie przeciwciał blokujących miejsce wiązania tyreotropiny na receptorze (TBII) odzwierciedla stopień pobudzenia tarczycy przez przeciwciała przeciwireceptorowe wykazujące aktywność stymulującą (TSI). Na początku, na końcu i prawie wszystkich etapach leczenia (poza 9. miesiącem terapii) występuje pozytywna korelacja poziomów TSI i TBII. Brak korelacji po 9 miesiącach leczenia wynika prawdopodobnie z niezgodnego w czasie spadku poziomu obu rodzajów przeciwciał. U części chorych szybciej dochodziło do redukcji poziomu TSI, natomiast u pozostałych osób wcześniej obserwowano obniżenie stężenia TBII. Dodatnia korelacja spełniała warunki znamienności statystycznej i w zakresie współczynnika R osiągnęła wartości od 0,32 do 0,56. Podobny stopień korelacji obserwowano wcześniej w doświadczeniach prowadzonych z zastosowaniem świnińskiego receptora i szczurzych tyreocytów [7, 24] oraz ludzkiego rekombinowanego receptora TSH [25, 26]. Poziom stwierdzonej korelacji między stężeniami TSI i TBII może wynikać z heterogenności przeciwciał stymulujących tarczycę (TSI), które u poszczególnych chorych działają przez różne epitopy receptora TSH, a także w obrębie receptora jednego chorego mogą istnieć różne miejsca wiążące przeciwciała [27–29]. Epitopy te u około połowy pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa nie są stałe i w czasie leczenia ulegają zmianie, co uważa się za czynnik rokujący korzystny wynik leczenia [28]. Wcześniejsze badania nad epitopami receptora TSH wiążącymi TSI wskazywały na ich położenie głównie na końcu aminowym ektodomeny TSHR [30–32]. Jednak pewne wątpliwości nasunęły wyniki badań prowadzonych w ostatnim czasie, które wskazują, że większość subpopulacji przeciwciał stymulujących tarczycę działa poprzez epitopy wspólne dla TSH [33–36], a więc możliwe do wykrycia za pomocą testu kompetycyjnego. Przyczyną innej niż doskonała wartości korelacji może więc być różnorodność funkcjonalna przeciwciał stwierdzanych w teście oznaczającym TBII [13, 37]. W oznaczeniu, poza przeciwciałami stymulującymi tarczycę (TSI) mogą też znaleźć się przeciwciała o aktywności blokującej pobudzenie tyreocytów (TBAb) [5], które także przyłączają się do TSHR w obrębie epitopów dla TSH [33]. Przeciwciała blokujące mogą maskować aktywność przeciwciał stymulujących w teście biologicznym [6, 38–40], wpływając na zaniżenie wyników aktywności TSI. Do tworzenia się lub zwiększania liczebności istniejącej już populacji przeciwciał blokujących pobudzenie komórek tarczycy (TBAb) może dochodzić pod wpływem działania tyreostatyku lub w wyniku naturalnego przebiegu choroby [41, 42]. Według prac z ostatnich lat przeciwciała te mogą nie być bezwzględnie antagonistami, ale są to agoniści o mniejszej niż tyreotropina aktywności stymulującej receptor [37]. Istnieją

też doniesienia o tak zwanych przeciwciałach neutralnych łączących się z receptorem, lecz niewykazujących żadnej aktywności biologicznej [43–45]. W niniejszej pracy oznaczano poziom przeciwciał blokujących stymulację tarczycy wyłącznie po upływie 12 miesięcy terapii. Przeciwciała TBAb są niezwykle rzadko stwierdzane w populacji kaukaskiej [26, 46] i dlatego wydawało się, że jeśli istnieje lub pojawi się ten rodzaj przeciwciał, to najłatwiej będzie zidentyfikować ich obecność po upływie maksymalnego czasu leczenia, w tym przypadku trwającego jeden rok. Jednak wykonane w niniejszej pracy oznaczenia nie wykazały obecności przeciwciał o aktywności blokującej tarczycę u żadnego chorego. Ponadto należy pamiętać, że istnieją populacje przeciwciał stymulujących tarczycę (TSI) przekazujące sygnał pobudzenia przede wszystkim lub też wyłącznie na drodze aktywacji fosfolipazy A2 lub fosfolipazy C [11, 12, 47], nie wpływając na produkcję cAMP.

Szczególne zainteresowanie budzi poczyniona na podstawie uzyskanych wyników obserwacja, że jednocześnie u chorego występowało podwyższone stężenie TBII i negatywne, czyli obrazujące stężenie przeciwciał naturalnych, stężenie przeciwciał TSI i TBAb. Jest to niezwykle rzadkie, ale obserwowane już wcześniej [43], niewyjaśnione do końca zjawisko. Poza trudną metodologią oznaczania aktywności biologicznej przeciwciał przeciwireceptorowych oraz obecnością przeciwciał przekazujących pobudzenie przez fosfolipazę A2 lub C, wytłumaczeniem tej sytuacji może być pojawienie się przeciwciał wiążących się z receptorem w miejscu wiązania TSH, ale pozbawionych aktywności biologicznej, czyli tak zwanych przeciwciał neutralnych [44, 45, 48]. Istnieją doniesienia o możliwym występowaniu takiego rodzaju przeciwciał, ale wydaje się, że są to rzadkie i trudne do potwierdzenia sytuacje, wymagające dalszych badań.

Wyjaśnieniem stwierdzonej korelacji pomiędzy poziomami TSI i przeciwciał oznaczanych za pomocą testu kompetycyjnego (TBII) mogą być również zmiany w obrębie samego receptora TSH, takie jak inaktywacja lub obniżenie wrażliwości, a także zmniejszenie liczby receptorów (*down-regulation*) na komórce. Zjawiska te są wywołane obecnością przeciwciał przeciwireceptorowych w różnych stężeniach [49].

Obserwacje dokonane na podstawie uzyskanych w niniejszej pracy wyników potwierdzają, że poziom przeciwciał oceniany w teście kompetycyjnym właściwie oddaje stopień pobudzenia receptora przez przeciwciała stymulujące. Bardzo istotny jest również fakt, że korelacja ta utrzymuje się w trakcie leczenia tyreostatykiem. W świetle uzyskanych wyników TBII wydaje się być wiarygodnym parametrem umożliwiającym monitorowanie stopnia aktywności choroby i przebiegu procesu leczenia. Dostępność oznaczeń TBII może pozwolić na bardziej wnikliwą ocenę ciężkości choroby w różnych okresach jej przebiegu.

Piśmiennictwo

1. Wadeux P, Winand-Devigne J, Ruf J i wsp. Cytotoxic assay of circulating thyroid peroxidase antibodies. *Autoimmunity* 1989; 4: 247–254.
2. McLachlan MS, Rapoport B. Why measure thyroglobulin autoantibodies rather than thyroid peroxidase autoantibodies? *Thyroid* 2004; 14: 510–520.
3. Rees Smith B, McLachlan SM, Furmaniak J. Autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Endocr Rev* 1988; 9: 106–121.
4. Akamizu T, Mori T, Nakao K. Pathogenesis of Graves' disease: Molecular analysis of anti-TSH receptor antibodies. *Endocr J* 1997; 44: 633–46.
5. Bliddal H, Bech K, Petersen Ph i wsp. Evidence of correlation between thyrotrophin receptor binding inhibition and thyroid adenylate cyclase activation by immunoglobulines in Graves' disease before and during long-term antithyroid treatment. *Acta Endocrinologica* 1982; 101: 35–40.
6. Kim WB, Chung HK, Park IY i wsp. The prevalence and clinical significance of blocking thyrotropin receptor antibodies in untreated hyperthyroid Graves' disease. *Thyroid* 2000; 10: 579–586.
7. Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev* 1994; 15: 788–830.
8. DeGroot LJ, Quintans J. The causes of autoimmune thyroid disease. *Endocr Rev* 1989; 10: 537–562.
9. Phillips D. Epidemiology of Graves' disease. W: Rapoport B, McLachlan SM (red.). *Graves' disease — pathogenesis and treatment*. Kluwer Academic Publishers, Boston 2000; 9.
10. Ando T, Latif R, Davies TF. Thyrotropin receptor antibodies: new insights into their actions and clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2005; 19: 33–52.
11. Smallridge RC, Atwa MA, Burch HB i wsp. Immunoglobulines from Graves' disease patients stimulate phospholipase A2 and C systems in FRTL-5 and human thyroid cells. *J Endocrinol* 1996; 148 (supl.): OC27.
12. Di Cerbo A, Di Girolamo M, Guardabasso V i wsp. Immunoglobulines from Graves' patients stimulate phospholipase-A2 in FRTL5 thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 585–592.
13. Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R i wsp. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 90–97.
14. Pedersen IB, Knudsen N, Perrild H i wsp. TSH-receptor antibody measurement for differentiation of hyperthyroidism into Graves' disease and multinodular toxic goitre: a comparison of two competitive binding assays. *Clin Endocrinol* 2001; 55: 381–390.
15. Zimmermann-Belsing T, Nygaard B, Rasmussen LK, Feldt-Rasmussen U. Use of the 2nd generation TRAK human assays did not improve prediction of relapse after antithyroid medical therapy of Graves' disease. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 173–177.
16. Maugendre D, Massart C. Clinical value of a new TSH binding inhibitory activity assay using human TSH receptors in the follow-up of antithyroid drug treated Graves' disease. Comparison with thyroid stimulating antibody bioassay. *Clin Endocrinol* 2001; 54: 89–96.
17. Mitsiades N, Poulaki V, Tseleni-Balafouta S i wsp. Fas ligand expression in thyroid follicular cells from patients with thionamide-treated Graves' disease. *Thyroid* 2000; 10: 527–32.
18. Boechar LHB, Vilella CA, Zollner RL. Effect of iodide on Fas, Fas-ligand and BCL-w mRNA expression in thyroid of NOD mice pretreated with methimazole. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35: 289–295.
19. Bossowski A, Urban M, Stasiak-Barmuta A. Analysis of changes in the percentage of B (CD19) and T (CD3) lymphocytes, subsets CD4, CD8 and their memory (CD45RO), and naïve (CD45RA) T cells in children with immune and non-immune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 16: 63–70.
20. Mizokami T, Wu Li A, El-Kaissi S, Wall JR. Stress and thyroid autoimmunity. *Thyroid* 2004; 14: 1047–55.
21. Weetman AP, Pickerill AP, Watson P i wsp. Treatment of Graves' disease with the block-and-replace regimen of antithyroid drugs: the effect of treatment duration and immunogenetic susceptibility on relapse. *Q J Med* 1994; 87: 337–341.
22. Allan H, Fauchet R, Orgiazzi J i wsp. Antithyroid drugs and Graves' disease: a prospective randomized evaluation of the efficacy of treatment duration. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 675–679.
23. Volpe R, Karlsson A, Jansson R, Dahlberg PA. Evidence that antithyroid drugs induce remissions in Graves' disease by modulating thyroid cellular activity. *Clin Endocrinol* 1986; 25: 453–462.
24. Rapoport B, Chazenbalk GD, Jaume JC, McLachlan SM. The thyrotropin (TSH) receptor: interaction with TSH and autoantibodies. *Endocr Rev* 1998; 19: 673–716.
25. Filetti S, Foti D, Constante G, Rapoport B. Recombinant human receptor in a radioreceptor assay for the measurement of TSH receptor antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 1096–1101.
26. Morgenthaler NG, Pampel I, Aust G i wsp. Application of a bioassay with CHO cells for the routine detection of stimulating and blocking autoantibodies to the TSH-receptor. *Horm Metab Res* 1998; 30: 162–168.
27. Kim WB, Cho BY, Park HY i wsp. Epitopes for thyroid stimulating antibodies in Graves' sera: a possible link of heterogeneity to differences in response to antithyroid drug treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1758–1767.
28. Kim WB, Chung HK, Lee HK i wsp. Changes in epitopes for thyroid-stimulating antibodies in Graves' disease sera during treatment of hyperthyroidism: therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1953–1959.
29. Kim TY, Park YJ, Park J i wsp. Epitope heterogeneity of thyroid-stimulating antibodies predicts long-term outcome in Graves' patients treated with antithyroid drugs. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 117–124.
30. Nagayama Y, Rapoport B. Thyroid stimulatory autoantibodies in different patients with autoimmune thyroid disease do not all recognize the same components of the human thyrotropin receptor: selective role of receptor amino acids Ser25-Glu30. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1425–1430.
31. Kosugi S, Ban T, Akamizu T i wsp. Use of thyrotropin receptor (TSHR) mutants to detect stimulating TSHR antibodies in hypothyroid patients with idiopathic myxedema, who have blocking TSHR antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 19–24.
32. Tahara K, Ishikawa N, Yamamoto K i wsp. Epitopes for thyroid stimulating and blocking autoantibodies on the extracellular domain of the human thyrotropin receptor. *Thyroid* 1997; 7: 867–877.
33. Sanders J, Oda Y, Roberts S i wsp. The interaction of TSH receptor autoantibodies with 125I-labelled TSH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3797–3802.
34. Howel-Evens AW, Woodrow JC, McDougall CDM i wsp. Antibodies in the families of thyrotoxic patients. *Lancet* 1967; I: 636–641.
35. Bartalena L, Martino E, Marcocci C i wsp. More on smoking habits and Graves' ophthalmopathy. *J Clin Invest* 1989; 12: 733–737.
36. Sanders J, Evans M, Premawardhana LD i wsp. Human monoclonal thyroid stimulating autoantibody. *Lancet* 2003; 362: 126–128.
37. Morgenthaler NG. New assay systems for thyrotropin receptor antibodies. *Curr Opin Endocrinol* 1999; 6: 251–260.
38. Lenzner C, Morgenthaler NG. The effect of thyrotropin-receptor blocking antibodies on stimulating autoantibodies from patients with Graves' disease. *Thyroid*. 2003; 13 (12): 1153–1161.
39. Mukhtar ED, Smith BR, Pyle GA i wsp. Relation of thyroid-stimulating immunoglobulins to thyroid function and effects of surgery, radioiodine, and antithyroid drugs. *Lancet* 1975; I: 713–715.
40. Endo K, Kasagi K, Konishi J i wsp. Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulin in patients with

- Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 46: 734–739.
41. Kasagi K, Hidaka A, Endo K i wsp. Fluctuating thyroid function depending on the balance between stimulating and blocking types of TSH receptor antibodies: a case report. *Thyroid* 1993; 5: 171–176.
 42. Tamai H, Kasagi K, Takachiri Y i wsp. Development of spontaneous hypothyroidism in patients with Graves' disease treated with antithyroidal drugs: clinical, immunological and histological findings in 26 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 49–53.
 43. Watanabe Y, Tahara K, Hirai A i wsp. Subtypes of anti-TSH receptor antibodies classified by various assays using CHO cells expressing wild-type or chimeric human TSH receptor. *Thyroid* 1997; 7: 13–19.
 44. Minich WB, Lenzner C, Morgenthaler NG. Antibodies to TSH-receptor in thyroid autoimmune disease interact with monoclonal antibodies whose epitopes are broadly distributed on the receptor. *Clin Exp Immunol* 2004; 136: 129–136.
 45. Morgenthaler NG, Minich WB, Willnich M i wsp. Affinity purification and diagnostic use of TSH receptor autoantibodies from human serum. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 212: 73–79.
 46. Lavard L, Perrild H, Jacobsen BB i wsp. Prevalence of thyroid peroxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor antibodies in a long-term follow-up of juvenile Graves disease. *Autoimmunity* 2000; 32: 167–172.
 47. Di Cerbo A, Di Paola R, Bonato M i wsp. Subgroups of Graves' patients identified on the basis of the biochemical activities of their immunoglobulines. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2785–2790.
 48. Tonacchera M, Costagliola S, Cetani F i wsp. Patients with monoclonal gammopathy, thyrotoxicosis, pretibial myxedema and thyroid-associated ophthalmopathy: demonstration of direct binding of autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Eur J Endocrinol* 1996; 134: 97–103.
 49. Ando T, Latif R, Davies TF. Concentration-dependent regulation of thyrotropin receptor function by thyroid-stimulating antibody. *J Clin Invest* 2004; 113: 1589–1595.