



Występowanie autoprzeciwciał przysadkowych w chorobie Addisona

The incidence of the pituitary autoantibodies in Addison disease

Paweł Gut, Jerzy Kosowicz, Katarzyna Ziemińska, Maciej Bączyk, Jerzy Sowiński

Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

Streszczenie

Wstęp: Choroba Addisona, czyli pierwotna niedoczynność kory nadnerczy, cechuje się zespołem objawów zależnych od niedoboru hormonów syntetyzowanych w obrębie tego narządu. Najczęstszą przyczyną choroby Addisona jest proces autoimmunologiczny. U pacjentów z chorobą Addisona stwierdzono częste występowanie innych schorzeń autoimmunologicznych oraz obecność różnych autoprzeciwciał. Celem obecnej pracy była ocena występowania autoprzeciwciał przysadkowych u chorych z autoimmunologiczną postacią choroby Addisona.

Materiał i metody: Do badań włączono surowice 19 chorych na chorobę Addisona. Wśród chorych było 16 kobiet w wieku 28–63 lat (śr. $43,5 \pm 8,9$) oraz 3 mężczyzn w wieku 18–45 lat (śr. $30,6 \pm 9,8$). Wszyscy chorzy mieli typowe objawy kliniczne i biochemiczne. Surowice kontrolne pochodziły od 10 zdrowych osób, wśród których znajdowało się 7 kobiet oraz 3 mężczyzn w wieku 21–45 lat (śr. $30,6 \pm 7,1$). 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 ultrawierowania i solubilizacji w 1-procentowym dezoksycholanie sodu.

Wyniki: W surowicach chorych na chorobę Addisona w 14 spośród 19 przypadków występowały przeciwciała reagujące z antygenem 67 kDa, 12 surowic reagowało z antygenem 60 kDa oraz 10 surowic z antygenem 55 kDa. Warto zaznaczyć, że 10 surowic zawierało przeciwciała przeciwko antygenom 67 i 55 kDa oraz to, że 9 surowic reagowało z antygenami 55, 60 i 67 kDa.

Wnioski: W grupie badanych chorych na chorobę Addisona stwierdzono częste występowanie autoprzeciwciał przysadkowych. Większość surowic reagowało z antygenami o ciężarze drobinowym 55, 60 i 67 kDa. (**Endokrynol Pol 2008; 59 (6): 490–494**)

Słowa kluczowe: choroba Addisona, autoprzeciwciała przysadkowe, autoantygeny przysadkowe

Summary

Introduction: Addison disease (primary insufficiency of adrenal cortex) characterized by clinical signs and symptoms associated with deficiency of adrenal hormones. The most frequent etiopathogenesis of Addison disease is related with autoimmunization. In sera of Addison patients are detectable autoantibodies against another endocrine glands. The aim of the study was evaluation of pituitary autoantibodies in Addison disease patients using immunoblotting methods.

Material and methods: Studies were performed in 19 Addison disease patients, 16 women (age range: 28–63 yrs, median: 43.5 ± 8.9) and 3 men (age range: 18–45 yrs, median: 30.6 ± 9.8). All patients presented signs and symptoms typical of primary insufficiency of adrenal cortex. Sera of control subjects were obtained from 10 healthy blood donors, 7 women, 3 men (age range 21–45 yrs, median: 30.6 ± 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 14 sera from 19 we detected autoantibodies against pituitary microsomal antigen 67 kDa, 12 sera were reacting with 60 kDa and 10 sera with 55 kDa. It is important to note that 10 sera were reacting with 67 and 55 kDa, and 9 sera with 55, 60 and 67 kDa.

Conclusions: In sera of Addison 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 2008; 59 (6): 490–494**)

Key word: Addison disease, pituitary autoantibodies, pituitary autoantigens

Wstęp

Chorobę Addisona, czyli przewlekłą pierwotną niedoczynność kory nadnerczy, wywołuje najczęściej proces autoimmunologiczny [1]. W badaniach ostatnich lat wykazano, że autoprzeciwciała w chorobie Addisona

reagują najczęściej z białkiem 54/55 kDa i są skierowane przeciw steroidowej 21-hydroksylazie (21-OH), enzymowi nadnerczowego cytochromu p450 [2–4], ale także przeciw innym enzymom z grupy cytochromu p450, takim jak 17 α -hydroksylaza (17 α -OH) (55 kDa) i enzym odczepiający łańcuch boczny p450 (p450sc,



Dr med. Paweł Gut, Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych UM, 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

p450 side chain cleavage enzym) (53 kDa) [5, 6]. Spośród wymienionych enzymów steroidogenezy jedynie 21-OH jest specyficzna dla nadnerczy. Wykazano obecność 17-OH w nadnerczach i gonadach, natomiast p450_{scc} w nadnerczach, gonadach i łożysku [7, 8]. W badaniach Furmaniak i wsp. [9, 10] wykazano, że immunoglobuliny G izolowane z surowic chorych na chorobę Addisona mogą hamować zdolność 21-OH do przekształcania progesteronu w deoksyprogesteron. Ten hamujący aktywność 21-OH efekt przeciwciał przeciw 21-OH nie został jednak wykazany *in vivo* [11]. Prace Winqvist i wsp. [12] wskazują ponadto na inny rozpoznawany przez autoprzeciwciała autoantygen o masie 51 kDa, który zidentyfikowano jako dekarboksylazę aromatycznych L-aminokwasów (AADC, *aromatic-L-amino-acid decarboxylase*) komórek β trzustki [13], uczestniczącą w generacji serotoniny i dopaminy, a wykazaną wcześniej w monoaminoergicznych neuronach obwodowych, centralnym układzie nerwowym oraz w wątrobie i nerkach [14, 15]. Wyniki najnowszych badań Husebye i wsp. [16] wskazują na częste (51%) występowanie przeciwciał AADC w surowicach chorych z APS (*auto-immune polyglandular syndrome*) typu I. U pacjentów z idiopatyczną chorobą Addisona stwierdzono częste występowanie innych schorzeń autoimmunologicznych i obecność różnych przeciwciał narządowych [17]. Według aktualnych badań u około 56% osób z chorobą Addisona współistnieją inne schorzenia autoimmunologiczne i w grupie tej typ I APS stwierdza się w 34%, a typ II APS w 66% przypadków.

Kosowicz i wsp. [18] opracowali radioimmunologiczną metodę oznaczania autoprzeciwciał techniką fazy stałej z zastosowaniem próbek opłaszczonych solubilizowanymi białkami mikrosomalnymi ludzkich przysadek. Umożliwiło to wykazanie dużej częstości występowania autoprzeciwciał przysadkowych u chorych na chorobę Addisona, Gravesa-Basedowa czy na chorobę Hashimoto [19].

Crock i wsp. [20] techniką immunoblottingu wykazali u chorych z niedoborem hormonu wzrostu obecność przeciwciał przeciw białkom cytozolowym przysadek o ciężarze 45 kDa, natomiast Strömberg i wsp. [21] opisali występowanie przeciwciał przeciw antygenowi przysadkowemu o ciężarze drobinowym 49 kDa w niedoczynności przysadki. Wyniki badań oparte na metodzie immunoblottingu 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 antygenami, a niektóre tylko z jednym białkiem o określonym ciężarze drobinowym [22]. Przedmiotem niniejszej pracy było badanie występowania autoprzeciwciał przeciw frakcji mikrosomalnej przysa-

dek oraz charakterystyka ciężaru cząsteczkowego autoantygenów metodą immunoblottingu u chorych na chorobę Addisona.

Materiał i metody

Do badań włączono surowice chorych na chorobę Addisona z przewlekłą niedoczynnością kory nadnerczy na podłożu autoimmunologicznym. W badanej grupie znajdowało się 16 kobiet w wieku 28–63 lat (śr. $43,5 \pm 8,9$) oraz 3 mężczyzn w wieku 18–45 lat (śr. $30,6 \pm 9,8$). Wszyscy chorzy mieli typowy wywiad i objawy kliniczne, a na podstawie badań dodatkowych (podstawowe badania lekarskie, RTG płuc, CT nadnerczy, stężenie kortyzolu i ACTH [*adrenocorticotropic hormone*] w surowicy krwi, u większości test z Synactenem oraz badania stężenia innych hormonów: fT_3 , fT_4 , TSH, LH, FSH, testosteron, PRL, HGH) z dużym prawdopodobieństwem wykluczono gruźlicę jako przyczynę choroby.

Surowice kontrolne pochodziły od 10 osób zdrowych, wśród których znajdowało się 7 kobiet oraz 3 mężczyzn w wieku 21–45 lat (śr. $30,6 \pm 7,1$).

Przysadki ludzkie (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 x g w chłodzonej wirówce. Usunięto osad, a następnie poddano 30-minutowemu wirowaniu przy 27 000 x g. Osad zawierający głównie mitochondria, lizosomy i jądra komórkowe odrzucono. Nadsącz wirowano przy 105 000 x 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 dezoksyholanie sodu.

Do oceny autoprzeciwciał wykorzystano metodę rozdzielania elektroforetycznego w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE, *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*) i western-blottingu (immunoblottingu). Przygotowano 12,5-procentowy żel rozdzielający oraz 6-procentowy żel zagęszczający (30-procentowy akrylamid, 0,8-procentowy bisakrylamid, 1M TRIS-HCl, 20-procentowy SDS, nadsiarczam amonu, TEMED — firmy Sigma). Frakcję mikrosomalną denaturowano w roztworze o składzie: 0,3 mol/l TRIS-HCl o pH 6,8, 6-procentowy SDS, 30-procentowy glicerol, 6-procentowy 2-merkaptoetanol 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 наносzono w ilości 40 μ l

Tabela I. Wyniki SDS-PAGE i Western blottingu surowic chorych na chorobę Addisona z autoantygenami przysadkowymi

Table I. The results of SDS-PAGE and Western blot from Addison disease patients sera with pituitary autoantigens

Nr	Pacjent	Płeć (K/M)	Wiek (lata)	Ciężar drobinowy antygenów przysadkowych [kDa]
1	D.R.	K	28	18, 55, 60, 67
2	P.W.	K	50	55, 60, 67
3	P.J.	M	39	55, 60, 67, 102
4	G.M.	K	56	18, 60, 67
5	K.K.	K	43	60, 62, 67
6	B.S.	M	18	20, 60, 62, 67, 102
7	S.J.	K	41	55, 60, 67, 95
8	G.E.	K	39	18, 55, 60, 67, 95, 102, 110
9	J.Z.	M	45	55, 60, 67
10	M.W.	K	35	55, 60, 67
11	W.A.	K	43	55, 60, 67, 102, 110
12	C.L.	K	35	67
13	W.M.	K	63	18, 55, 60, 67, 95, 102, 110
14	M.M.	K	50	55, 67

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 chrzanową peroksydazą) prowadzono w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę i następnie poddawano reakcji chemiluminescencji z następową autoradiografią (zestaw ECL firmy Amersham).

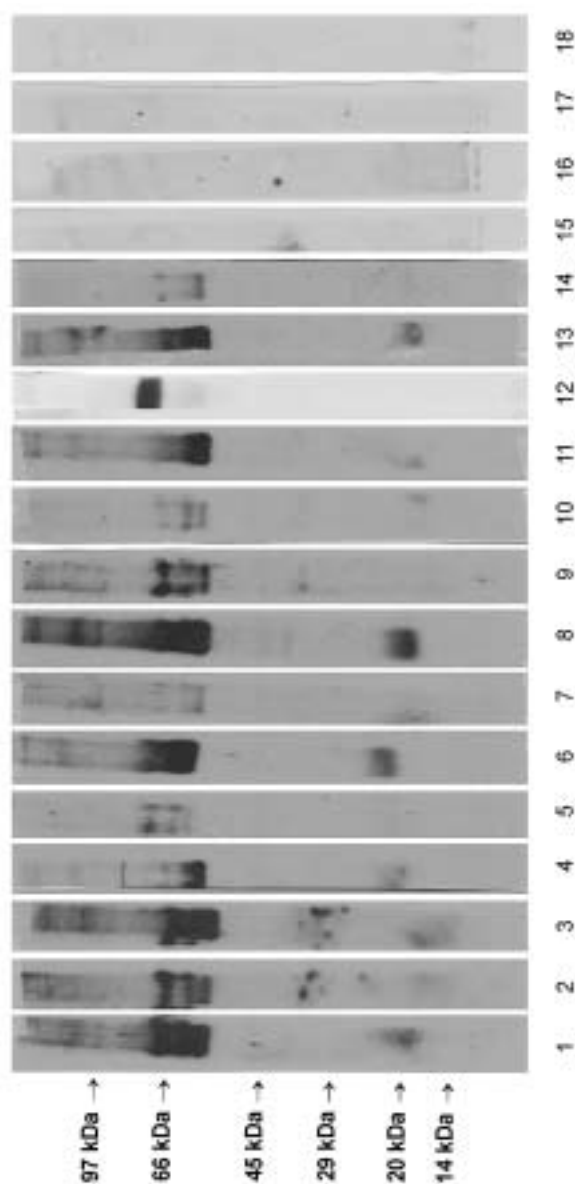
Wyniki

W badaniach autoprzeciwciał przysadkowych metodą immunoblottingu w surowicach chorych na chorobę Addisona w 14 spośród 19 przypadków występowały przeciwciała reagujące z białkiem frakcji mikrosomalnej przysadek o ciężarze właściwym 67 kDa. Dodatkowo 12 surowic wykazywało reakcję z białkiem o ciężarze drobinowym 60 kDa, 10 surowic z antygenem o ciężarze 55 kDa, 5 surowic z białkiem o ciężarze 102 kDa oraz 3 surowice z antygenami przysadkowymi o ciężarach właściwych 95 i 110 kDa. Poza tym niektóre surowice w tej grupie chorych wykazywały reakcję z antygenami przysadkowymi o niższych ciężarach drobinowych: 4 surowice zawierały przeciwciała reagujące z antygenem przysadkowym o ciężarze drobinowym 18 kDa oraz 1 surowica zawierała przeciwciała reagujące z białkiem o ciężarze 20 kDa. Warto również zaznaczyć,

że 10 surowic z 14 badanych zawierało przeciwciała skierowane przeciwko antygenom o ciężarach właściwych 67 i 55 kDa oraz to, że 9 surowic reagowało wspólnie z białkami antygenowymi o ciężarach drobinowych 55, 60 i 67 kDa. Natomiast tylko jedna surowica reagowała z jednym białkiem antygenowym frakcji mikrosomalnej przysadek ludzkich o ciężarze właściwym 67 kDa. Pozostałe surowice reagowały z kilkoma białkami antygenowymi, przy czym maksymalnie z 7 o różnych ciężarach od 18 do 110 kDa. Szczegółowe wyniki badań immunoblottingu surowic chorych na chorobę Addisona przy użyciu białek mikrosomalnych przysadek przedstawiono w tabeli I oraz na rycinie 1. Częstość występowania antygenów przysadkowych w grupie badanych chorych na chorobę Addisona 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

Wyniki powyższych badań opartych na metodzie immunoblottingu wskazują, że w surowicach chorych na chorobę Addisona często stwierdza się występowanie autoprzeciwciał przysadkowych skierowanych głównie przeciwko autoantygenom frakcji mikrosomalnej ludzkich przysadek o ciężarach właściwych 55, 60 i 67 kDa. Powyższe wyniki świadczą o złożoności procesów autoimmunizacji, która może wiązać się z przedstawicielstwem antygenowym w różnych tkankach. Szerokie spektrum autoprzeciwciał przysadkowych w chorobach



Rycina 1. Immunoblotting przysadkowych białek mikrosomalnych i surowic pacjentów z chorobą Addisona (1–14) oraz surowic grupy kontrolnej osób zdrowych (15–18)

Figure 1. Immunoblotting of pituitary microsomal proteins with sera from Addison disease patients (1–14) and from control subjects (15–18)

autoimmunologicznych może wynikać ze zróżnicowanego typu komórek przedniego płata przysadki oraz różnorodności wydzielanych hormonów.

Bensing i wsp. [23] oraz Kasperlik-Załuska i wsp. [24] opisali obecność przeciwciał przysadkowych w izolowanym 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. Obecnie wiemy, że autoprzeciwciała przysadkowe mogą być skierowane przeciwko hormonom lub biał-

Tabela II. Częstość występowania antygenów przysadkowych w grupie badanych chorych na chorobę Addisona

Table II. The incidence of the pituitary antigens in Addison disease patients

Ciężar drobinowy antygenów przysadkowych [kDa]	Częstość występowania w grupie badanych chorych na chorobę Addisona (%)
67	77,7
60	66,6
55	55,5
102	27,7
18	22,2
95	16,6
110	16,6
20	5,5

kom o aktywności enzymatycznej biorącym udział w syntezie hormonów [25].

Crock [26] ocenił obecność przeciwciał przysadkowych z zastosowaniem immunoblottingu w endokrynopatiach o podłożu autoimmunizacyjnym, stosując autoantygeny przysadkowe izolowane z frakcji cytozolowej przysadek. W badaniach tych stwierdzono częste występowanie przeciwciał przeciw białku ludzkich przysadek o ciężarze 40 i 49 kDa. W kolejnych badaniach O'Dwyer i wsp. [27, 28] zidentyfikowali antygen przysadkowy o ciężarze drobinowym 49 kDa jako neurospecyficzną α -enolazę. W powyższych badaniach stwierdzono występowanie wspomnianych przeciwciał u 58% pacjentów z zespołem APS typu I (*autoimmune polyglandular syndrome*) oraz to, że niektóre surowice reagowały dodatkowo z autoantygenami przysadkowymi o ciężarach drobinowych 40, 45, 60 i 105 kDa [29].

Yabe i wsp. [30], stosując metodę immunoblottingu, ocenili, że przeciwciała przysadkowe są obecne u 36% osób z chorobą Hashimoto oraz chorobą Addisona, 29% chorych na chorobę Gravesa-Basedowa i u 40% chorych na cukrzycę insulinozależną.

Obecność przeciwciał przysadkowych skierowanych przeciw autoantygenom o ciężarach właściwych 65 i 67 kDa w powiązaniu z cukrzycą typu I sugeruje, że jednym z autoantygenów przysadkowych może być dekarboksylaza kwasu glutaminowego (GAD, *glutamate-decarboxylase*). Izoforma tego enzymu o masie 67 kDa występuje głównie w komórkach nerwowych mózgu, gdzie odpowiedzialna jest za syntezę kwasu gamma-aminomasłowego (GABA, *anti-gamma-aminobutyric acid*), jednego z głównych transmiterów hamujących [31]. Do tej pory udało się zidentyfikować jedynie nieliczne autoantygeny przysadkowe jak α -enolaza, hormon wzrostu czy chociażby prolaktyna [32]. Współistnienie w chorobie Addisona przeciwciał nadnerczowych

i przysadkowych może być przyczyną dodatkowych endokrynopatii o podłożu autoimmunologicznym. Izolacja i charakterystyka pozostałych antygenów przysadkowych umożliwi szersze poznanie tego problemu i ewentualne zrozumienie jego wpływu na zaburzenia hormonalne.

Piśmiennictwo

- Martin Martorell P, Roep BO, Smit JW. Autoimmunity in Addison's disease. *Neth J Med* 2002; 60: 269–275.
- Winqvist O, Karlsson FA, Kampe O. 21-hydroxylase, a major autoantigen in idiopathic Addison's disease. *Lancet* 1992; I: 1559–1562.
- Baumann-Antczak A, Wedlock N, Bednarek J i wsp. Autoimmune Addison's disease and 21-hydroxylase. *Lancet* 1992; II: 439–440.
- Bednarek J, Furmaniak J, Wedlock N i wsp. Steroid 21-hydroxylase is a major autoantigen involved in adult onset autoimmune Addison's disease. *FEBS Lett* 1992; 309: 51–55.
- Winqvist O, Gustafsson J, Rorsman F i wsp. Two different cytochrome p450 enzymes are the adrenal antigens in autoimmune polyendocrine syndrome type I and Addison's disease. *J Clin Invest* 1993; 92: 2377–2385.
- Winqvist O, Söderbergh A, Kampe O. The autoimmune asis of adrenocortical destruction in Addison's disease. *Mol Med Today* 1996; 2: 282–289.
- Uibo R, Perheentupa J, Ovod V i wsp. Characterisation of arenal autoantigens recognised by sera from patients with autoimmune polyglandular syndrome (APS) type I. *J Autoimmun* 1994; 7: 399–411.
- Uibo R, Aavik E, Peterson P i wsp. Autoantibodies to cytochrome p450 enzymes p450_{scc}, p450_{c17} and p450_{c21} in autoimmune polyglandular disease type I and II and in isolated Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 323–328.
- Furmaniak J, Kominami S, Asawa T i wsp. Autoimmune Addison's disease: evidence for a role of steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1517–1521.
- Chen S, Sawicka J, Betterle C i wsp. Autoantibodies to steroidogenic enzymes in autoimmune polyglandular syndrome, Addison's disease, and premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1871–1876.
- Boscaro M, Betterle C, Volpato M i wsp. Hormonal response during various phases of autoimmune adrenal failure: No evidence for 21-hydroxylase enzyme activity inhibition *in vivo*. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2801–2804.
- Winqvist O, Gebremedhin G, Gustafsson J i wsp. Identification of the main gonadal autoantigens in patients with adrenal insufficiency and associated ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1717–1723.
- Rorsman F, Husebye ES, Winqvist O i wsp. Aromatic L-amino-acid decarboxylase, a pyridoxal phosphate-dependent enzyme, is a b-cell autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8626–8629.
- Christenson JG, Dairman W, Udenfriend S i wsp. On the identity of DOPA decarboxylase and 5-hydroxytryptophan decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 343–347.
- Rahman MK, Nagatsu T, Kato T. Aromatic L-amino acid decarboxylase activity in central and peripheral tissues and serum of rats with DOPA and 5-hydroxytryptophan as substrates. *Biochem Pharmacol* 1981; 30: 645–649.
- Husebye ES, Gabre-Medhin, Tuomi T i wsp. Autoantibodies against aromatic L-amino acid decarboxylase in autoimmune polyglandular syndrome type I. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 147–150.
- Blizzard RM, Kyle M. Studies of the adrenal antigens and antibodies in Addison's disease. *J Clin Invest* 1963; 42: 1653–1660.
- Kosowicz J, Gryczyńska M, Bottazzo GF. A radioimmunoassay for the detection of adrenal antibodies. *Clin Exp Immunol* 1986; 63: 671–679.
- Kasperlik-Zaluska A, Czarnocka B, Czech W. High prevalence of thyroid autoimmunity in idiopathic Addison's disease. *Autoimmunity* 1994; 18: 213–216.
- Crock P, Salvi M, Miller A i wsp. Detection of anti-pituitary autoantibodies by immunolotting. *J Immunol Methods* 1993; 162: 31–40.
- Strömberg S, Crock P, Lemmark A i wsp. Pituitary autoantibodies in patients with hypopituitarism and their relatives. *J Endocrinol* 1998; 157: 475–480.
- Yabe S, Murakami M, Maruyama K i wsp. Western-blot analysis of rat pituitary antigens recognized by human antipituitary antibodies. *J Endocrinol* 1995; 42: 115–119.
- 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 causa of idiopathic secondary arenal insufficiency: report of 111 cases. *Autoimmunity* 2003; 36: 155–159.
- Riley WJ. Enzymes as antigens in autoimmune endocrinopathies. *Clin Chem* 1995; 41: 337–339.
- Crock P. 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 α -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 γ and α -enolase a link with pregnancy. *Arch Physiol Biochem* 2002; 110: 94–98.
- O'Dwyer DT, McElduff P, Peterson P i wsp. Pituitary autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *Acta Biomed* 2007; 78: 248–254.
- 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: 25–31.
- Baekkeskow S, Aanstoot HJ, Christgau S i wsp. Identification of the 64 kDa autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990; 347: 151–156.
- Hattori N, Ikekubo K, Nakaya Y. Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3036–44.