

Zastosowanie diagnostyki genetycznej i immunologicznej w identyfikacji mechanizmów molekularnych w chorobie autoimmunologicznej tarczycy (AITD)

The application of genetic and immunological diagnostics in the identification of molecular mechanisms in autoimmune thyroid disease (AITD)

Anna Tokarska¹, lek. Marcin Grzebyk²

¹studentka VI roku Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

²Orangemedia, Warszawa

Nr art. GP.202305.01 © P

■ **Słowa kluczowe:** choroba autoimmunologiczna tarczycy, choroba Hashimoto, choroba Gravesa-Basedowa, oftalmopatia w chorobie Gravesa-Basedowa, przeciwciała przeciwciężkowce.

■ **Streszczenie:** Autoimmunologiczna choroba tarczycy (ang. *Autoimmunity thyroid disease*, AITD), obejmuje wszystkie typy przewlekłego autoimmunologicznego zapalenia, do których nomenklaturowo, klasycznie należy choroba Hashimoto (HT) oraz choroba Gravesa-Basedowa (GBD) [1]. Problem diagnostyczny polega na wzajemnym przenikaniu się objawów chorobowych – nadczynność nie jest zarezerwowana dla choroby Gravesa-Basedowa (choroba Hashimoto może przebiegać na początku z nadczynnością), heterogenność objawów wymaga podejścia interdyscyplinarnego z zaczerpnięciem wiedzy z wielu dziedzin medycznych, począwszy od immunologii, przez dermatologię i psychiatrię, aż do molekularnych patomechanizmów, przy akceptacji „chimeryczności” polegającej na braku objawów klinicznych oraz przeciwciał, szczególnie w początkowym okresie choroby u znacznego odsetka pacjentów. Spojrzenie przez pryzmat zespołu objawów chorobowych o podłożu autoimmunologicznym skłania do poszukiwań predyspozycji genetycznych, identyfikacji mechanizmów molekularnych i immunologicznych, prognozy przebiegu choroby (w odniesieniu do profilu choroby Hashimoto lub choroby Gravesa-Basedowa). Czynniki środowiskowe, takie jak palenie papierosów, hipercholesterolemia, leczenie radiojodem, zaburzenie mikrobiomu w postaci rozrostu kolonii *Yersinia enterocolica* i *E. coli* oraz niedoboru selenu i witaminy D₃ odgrywają istotną rolę, inicjując kaskadę niepożądanych ekspresji genowych oraz mechanizmów immunologicznych, skutkujących wytworzeniem przeciwciał i uszkodzeniem komórek tarczycy. Złożoność przyczynowo-skutkowa polega na wpływie czynników środowiskowych na ekspresję genów, co skutkuje niejednoznacznym, wieloprofilowym przebiegiem. Nadzieję można pokładać w diagnostyce molekularnej, szczególnie w odniesieniu do rozpoznawania wczesnych postaci subklinicznych oraz prognozowania ich przebiegu, ale pozostaje to w chwili obecnej w sferze rozważań akademickich, z szansą na właściwe miejsce w standardach klinicznych w niedalekiej przyszłości. Celem tej publikacji jest przybliżenie mechanizmów molekularnych i immunologicznych inicjujących AITD na podstawie aktualnych doniesień.

■ **Keywords:** autoimmune thyroid disease, Hashimoto's disease, Graves-Basedow disease, ophthalmopathy in Graves-Basedow disease, antithyroid antibodies.

■ **Abstract:** Autoimmune thyroid disease (AITD) includes all types of chronic autoimmune inflammation, which nomenclaturally, classically include Hashimoto's disease once Graves-Basedow disease [1]. The diagnostic problem lies in the interpenetration of disease symptoms – hyperactivity is not reserved for Graves-Basedow disease (Hashimoto's disease can run at the beginning with hyperactivity), the heterogeneity

of symptoms requires an interdisciplinary approach with drawing knowledge from many medical fields, from immunology, dermatology and psychiatry, to molecular pathomechanisms, while accepting the "chimeric nature" of the absence of clinical symptoms and antibodies, especially in the early stages of the disease in a significant remnant of patients. Looking through the syndrome of autoimmune disease symptoms prompts the search for genetic predisposition, identification of molecular mechanisms and immunological mechanisms, the prognosis of the course of the disease (with regard to the profile of the Hashimoto's disease – HT or Graves-Basedow disease – GBD). Environmental factors such as cigarette smoking, hypercholesterolemia, radioiodine treatment, disruption of the microbiome in the form of colony proliferation of *Yersinia enterocolitica* and *E. coli*, and selenium and vit. D₃ deficiency play an important role, initiating a cascade of undesirable gene expressions and immune mechanisms, resulting in the production of antibodies and damage to thyroid cells. The causal complexity lies in the influence of environmental factors on gene expression, resulting in an ambiguous, multiprofile course. Hope can be placed in molecular diagnostics, especially for the diagnosis of early subclinical forms and the prognosis of their course, but this remains at present in the realm of academic considerations, with a chance of a proper place in clinical standards in the near future. The purpose of this publication is to provide an overview of the molecular and immunological mechanisms that initiate AITD based on current reports.

■ Wprowadzenie

Rola czynników genetycznych i epigenetycznych w chorobie autoimmunologicznej tarczycy (AITD)

Najnowsze badania wykazują, że 3–10% społeczeństwa całego świata cierpi na co najmniej jedną ze 100 chorób autoimmunologicznych (ang. *Autoimmune diseases*, AD), 4,8/1000 osób choruje na chorobę autoimmunologiczną tarczycy (ang. *autoimmunology thyroid disease*, AITD), a 80% chorych na AD i AITD stanowią kobiety. AITD jest narządowo swoistą chorobą autoimmunologiczną [7]. Istnieje kilka hipotez wyjaśniających częstsze zachorowanie kobiet. Zaliczamy do nich inaktywację jednego z chromosomów X i związaną z tym zbyt słabą tolerancją immunologiczną ekspresji autoantygenów, mikrochimeryzm płodowo-matczyny oraz wpływ żeńskich hormonów na immunologię kobiety [1]. Organizm produkuje przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej (ang. *Anti-Thyroid Peroxidase Antibodies*, aTPO) oraz tyreoglobulinie (ang. *Anti-Thyroglobulin Antibodies*, ATG) – przeciwciała związane z autoimmunologiczną niedoczynnością tarczycy o typie Hashimoto (ang. *Hashimoto disease*, HT) oraz przeciwciała przeciwko receptorowi TSH (ang. *Thyrotropin Receptor Antibodies*, ATSHR lub TRAB), skorelo-

wane z typem choroby Gravesa-Basedowa (ang. *Graves-Basedow disease*, GBD) przebiegającej z oftalmopatią (ang. *Graves' orbitopathy*, GO), nadczynnością wywołaną przez infiltrację limfocytów T oraz aktywację limfocytów B i produkcję przeciwciał. Pojawienie się przeciwciał często prowadzi do uszkodzenia tyreocytów, stopniowej destrukcji tarczycy w przebiegu martwicy rozplwnej.

W przyszłości diagnostyka genetyczna pozwoli lekarzowi klinicyście na prognozowanie ryzyka zachorowania, identyfikację postaci choroby, a także wsparcie w zrozumieniu mechanizmów i lepszemu leczeniu oftalmopatii w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. Diagnostyka genetyczna może stanowić pomoc szczególnie dla lekarza okulisty w kwalifikacji stopnia oftalmopatii (łagodnego, umiarkowanego i ciężkiego) oraz przy wyborze leczenia. Podejście interdyscyplinarne jest wskazane nie tylko u pacjentów z aktywną postacią przewlekłego zapalenia, ale przede wszystkim u pacjentów z postacią subkliniczną, wspierając takie testy oftalmologiczne jak: test na redukcję wydzielania łez (test Shirmera), barwienie fluoresceiną rogówki (*Corneal fluorescein staining*, CFS), nieinwazyjny czas rozpadu łez (ang. *Non-Invasive tear Break-Up Times*, NITBUT), wysokość

menisku łzowego (ang. *tear meniscus height*, TMH), pomiary grubości warstwy lipidowej (ang. *lipid layer thickness*, LLT). Niestety szczegółowe przedstawienie diagnostyki okulistycznej w GBD przekraczałoby ramy tej pracy [2].

Celem niniejszej publikacji jest pokazanie *backgroundu* diagnostycznego w postaci badań genetycznych w kierunku oszacowania ryzyka zachorowania. Diagnostyka molekularna stanowi aktualnie narzędzie badawcze do izolacji wirusowego DNA (hipoteza zapalna choroby Hashimoto). Badania prowadzi się w celu identyfikacji wirusów *polyoma* i *parvo*, sekwencjonowania mikrobioty jelitowej w jamie ustnej i kale przez wykonanie PCR genu 16S rRNA [6], stawiając narzędzia diagnostyki molekularnej – w przyszłości – w szeregu rutynowych badań, stosowanych przez lekarza specjalistę w gabinecie lekarskim (w miarę standaryzacji oraz na drodze postępującej redukcji kosztów tych badań).

Należy pamiętać o predyspozycjach genetycznych i środowiskowych kobiet, które dotyczy ta choroba w ok. 80%. Podatność środowiskową należy tłumaczyć obniżoną tolerancją kobiet na zanieczyszczenia chemiczne, stresem, wpływem niektórych leków, niedoborem witaminy D₃, zwiększoną ekspozycją na zapalenia, grą hormonalną (w ciąży wysoki poziom estrogenów), rolą androgenów i prolaktyny (ciąża). Czynniki opisane wyżej potęgują immunizację [5], prowokują do ekspresji genów i reakcji w postaci przeciwciał. Predyspozycje genetyczne i immunologiczne związane są z chromosomem X i epigenetyką, a mechanizmy immunologiczne są związane z aktywacją szlaku cytokin, mastocytów, astrocytów, komórek NK, limfocytów T i B [5].

■ Pomiar stopnia ryzyka podatności genetycznej a funkcja ochronna alleli poddanych ekspresji w AITD

Autoantygeny znamienne dla obu postaci chorób są kodowane przez geny dla białek dla receptorów TPO, TG, TSH – R. Choroba przekazywana jest najczęściej „po kądzieli”,

z matki na córkę, nie tylko poprzez układ zgodności tkankowej HLA-DR3 oraz CTLA-4. Pozostałe „geny podatności” to HLA-DR, PTPN22, CD40; FOXP3, CTLA-4 [7].

Diagnostyka alleli genów układu antygenów leukocytarnych

(ang. *human leukocyte antigens*, HLA)

Geny HLA wchodzą w skład kompleksu zgodności tkankowej (ang. *Major Histocompatibility Complex*, MHC). Pełnią funkcje regulatora genów prezentujących antygen w celu ich rozpoznawania i odpowiedzi immunologicznej [7]. HLA wykazuje znaczny polimorfizm związany ze swoistością powinowactwa do antygeny, dzieląc się na 2 klasy: HLA I i HLA II. Poza tym HLA kontroluje szlak aktywacji cytokin, a więc regulacji szlaków Th1 (w chorobie o typie Hashimoto) lub Th2 (w chorobie o typie Gravesa-Basedowa) [7]. Wykazano związek pomiędzy AITD a polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) genu HLA-DRA [4]. Najnowsze doniesienia potwierdzają związek rs3177928 i rs7197 HLA-DRA z AITD i GBD w grupie populacji azjatyckiej [4].

Prognoza podatności na AITD poprzez badania ekspresji genów

PTPN22 (ang. *protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22*) i **CD40**

(ang. *Cluster of Differentiation 40*)

Allel T w PTPN22 indukuje AITD (HT i GBT) poprzez zmianę argininy na tryptofan w kodonie 620 (R620W) w miejscu P1 wiążącym popiproline, zaburzając wytwarzanie fosfatazy tyrozynowej (ang. *lymphoid tyrosine phosphatase*, LYP) dla limfocytów, która spełnia funkcję tłumienia kinaz [7]. W badaniach na populacji polskiej nie udowodniono powiązań C1858T z AITD, ale udowodniono powiązanie T allelu z podatnością na GBD u 290 pacjentów w grupie 310 badanych [7]. Gen klastra różnicowania CD40 wykrywany jest na APC (ang.

Tabela 1. Rola stymulacyjna i ochronna alleli genów HLA w AITD [7]

ALLELE GENÓW	ROLA ALLELI GENOWYCH
<i>HLA-A*01:01, HLA-A*32:01, HLA-B*37:01, HLA-B*39:01, HLA-B*42:01, HLA-C*08:02, HLA-C*03:02, HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*14:01 i HLA-DQB1*02:01,</i>	Związek z oftalmopatią w GBD
<i>HLA-C*04:01, HLA-C*03:04, HLA-C*07:02 i HLA-DRB1*15: 02</i>	Allele ochronne
SNP rs3177928 i rs7197	Skorelowane z GBD
rs3177928 i rs7197	Skorelowane z HT
<i>HLA-B*08:01, HLA-B*39:06, HLA-B*37:01, HLA-C*07:01, HLA-C*14:02, HLA-C*03:02, HLA-C*17:01, HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*11:01, HLA-DRB1*13:03, HLA-DRB1*01:03, HLA-DRB1*14:01, HLA-DQB1*03 :01 i HLA-DQB1*02:01. Allele HLA-B*39:06, HLA-B*37:01, HLA-C*14:02, HLA-C*03:02, HLA-C*17:01 i HLA-DRB1*14: 01</i>	Skorelowane z GBD rasy kaukaskiej
<i>HLA-B*38:02, HLA-DRB1*16:02, HLA-DQA1*01:02, HLA-DQB1*05:02</i>	Mogą stymulować rozwój GBD w rasie azjatyckiej
<i>HLA-A*68 i HLA-B*08</i>	Mogą stymulować rozwój GBD wśród Irańczyków
<i>A*33, HLA-DQB1*0201 i HLA-DQA1*0201</i>	Pełnią rolę ochronną (badania na Irańczykach)
SNP <i>PTPN22</i> R620W	Wzrost podatności na AITD w rasie kaukaskiej i mieszanej, ale nie azjatyckiej
SNP jest rs1883832	Powiązany z ryzykiem GBD
CD40-1 C/C i allelu C	Istotnie wyższa częstość występowania u chorych z GBD
SNP C64610G genotyp C/G	Większa częstość u chorych z HT
Osoby z genotypem C/C lub C/T	Większa częstość u chorych z GBD

antigen presenting cell) i podlega ekspresji na komórkach nabłonkowych, śródbłonkowych i fibroblastach, reguluje czynność adhezyjną i stymulującą cytokin, chemokin metaloproteinaz macierzy oraz czynników wzrostu [7]. Pobudzenie CD40 stymuluje limfocyty T poprzez stymulację limfocytów B oraz powoduje wzrost produkcji cytokin prozapalnych i chemokin, które biorą udział w niszczeniu tyreocytów

poprzez wniknięcie komórek i substancji prozapalnych do komórek tarczycy [7].

Rola czynnika 4 powiązanego z limfocytami cytotoksycznymi (ang. *The Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Factor 4, CTLA4*)

Czynnik 4 ulega ekspresji na powierzchni limfocytów T, wiąże się częściej z CD8 i CD 86 niż z CD28,

ograniczając produkcję interleukiny 2 oraz proliferację i żywotność limfocytów T w przebiegu nieprawidłowej glikozylacji w siateczce endoplazmatycznej, powodując redukcję ekspresji CD 152 u chorych z HT, a u chorych z GBD przeciwnie – powodując wzrost ekspresji CD 152, zaburzając funkcję retikulum endoplazmatycznego [7]. W innych badaniach alleli SNP *CTLA4* (rs231775 (A49G)) wykazano wzrost ryzyka wystąpienia AITD u nosicieli allelu „G”, którzy byli narażeni na zachorowanie na cukrzycę typu 1. Zaobserwowano związek rs231779 z AITD [7]. Podwyższone ryzyko wystąpienia niedoczynności dotyczy osób z allelem T w porównaniu z osobami z allelem C, który jest charakterystyczny u osób z GBD. Równowagę immunologiczną gwarantuje stabilne wiązanie *CTLA4/CD28*, zaburzenie w postaci wzrostu ekspresji CD 152 na limfocytach T powoduje konkurowanie CD 152 o wiązanie z ligandem B7 z CD28 w późnym stadium odpowiedzi immunologicznej. W efekcie skutkuje to utratą kontroli na stopień odpowiedzi immunologicznej [7].

Pozycja diagnostyczna genu *FOXP3* (ang. *Forkhead Box P3*)

FOXP3 stanowi kluczowy gen rozwoju limfocytów poprzez powinowactwo białka *FOXP3* do określonych *loci* genowych DNA odpowiadające za regulację układu immunologicznego [7]. Wykazano korelacje SNP *FOXP3-3279* z AITD. Powiązania z podatnością GBD posiadają SNP rs3761548 (związany z GBD u Azjatów, ale nie u osób rasy kaukaskiej) i rs3761549 (zarówno u Azjatów, jak i osób rasy kaukaskiej) [7]. Zaobserwowano istotną korelację pomiędzy SNP rs3761548 a HT. Stwierdzono korelację genów SNP genu *FOXP3* (-3499A/G, -3279C/A i -2383C/T) z HT: -2383C/T występował częściej u pacjentów z ciężkim HT, -3279C/A – gen występował częściej u pacjentów z GBD w remisji. Poza tym *FOXP3* osłabia funkcję supresorową limfocytów regulacyjnych, wzmacniając odpowiedź immunologiczną, redukując proliferację poprzez zakłócanie transkrypcji [7].

Znaczenie diagnostyczne łańcucha α genu *IL-2R (IL-2RA)*

Posiada on unikalną zdolność wiązania z IL-2, znajdując się na chromosomie 10. Glikoproteina CD25 odpowiada za wzrost limfocytów T (ważny czynnik proliferacyjny), występując na powierzchni limfocytów T i B oraz na limfocytach regulatorowych (Treg). Wykazano powinowactwo SNP *IL-2Ra* (rs7090369, allel T) z AITD oraz ponad 5-krotny wzrost ryzyka zachorowań u osób posiadających ten antygen [7].

Rola genów kodujących białka przeciwciał przeciwtarczycowych **Diagnostyka korelacji alleli genów kodujących gen receptora *TSH* w AITD**

Gen kodujący *TSHR* zlokalizowany jest na 14q31 i związany z GBD. Spośród 28 korelacji z GBD najsilniejszą wykazuje SNP przy rs179247 i rs12101255, które znajdują się w intronie 1 genu *TSHR*. Genotyp AA dla rs179247 powodował istotny wzrost ryzyka GBD, rs12885526 zwiększał ryzyko oftalmopatii. SNP (rs179247 i rs12101255) zaobserwowano u pacjentów z GBD w podgrupach azjatyckich, europejskich i południowoamerykańskich. Zwiększona produkcja *ATSH* powoduje obecność ochronnego allelu SNP rs179247 oraz jego ekspresję. Powstałe przeciwciała *TRAB* dzieli się na: stymulujące (*TSAbs*), blokujące (*TBAbs*) i neutralne (*TRAbs*), wszystkie występują w GBD, ale tylko stymulujące stanowią bezpośrednią przyczynę indukcji choroby oraz używane są jako markery choroby.

Diagnostyka ekspresji genu kodującego tyreoglobulinę u chorych z AITD

Gen kodujący *TG* znajduje się na chromosomie 8q24, koduje białko tyreoglobulinę, ulegające glikozylacji i ekspresji na tyreocytach, wnikając do wnętrza komórek. Zaobserwowano związek *loci* genów na chromosomach (6p, 8q i 10q) z AITD, a 12 q z HT. U pacjentów z GBD stwierdzono wzrost częstości alleli w E10SNP158, E12SNP i E33SNP oraz T/T E33SNP i genotypie G/G E12SNP. Posiadanie genotypu G/G E12SNP

chroniło przed wystąpieniem GBD. Obecność SNP przy rs2256366 i rs2687836 związana jest z GBD. Stwierdzono korelację rs2069566, rs2076739, rs121912646, rs121912647, rs121912648, rs121912649, rs121912650, rs137854433, rs137854434 i rs180195 z AITD. Markerem autoimmunizacji tarczycy jest wariant 1623 A/G SNP (rs180195). Powiązania genotypu homozygotycznego AA i heterozygotycznego GA rs180195 SNP z AITD udowodniono w badaniach genetycznych, w których dominował genotyp rs180195 G/G u pacjentów z HT.

Diagnostyka w obrębie genu TPO

Gen zlokalizowany jest na chromosomie 2p25, stanowi jeden z głównych antygenów tarczycy. Receptor TSH zawiera 3 domeny (wewnątrzkomórkową, transmembranową i ekto-dermę), jest sprzężony z białkiem G (GPCR). Szczegółowy mechanizm ekspresji ekotopowej antygeny w komórkach oczodołów tarczycy u pacjentów GBD chorujących na oftalmopatię nie został wyjaśniony [7]. Wskutek pobudzenia receptora po zwiększeniu wydzielania TSH, wydzielaniu TRAB i IL-6 dochodzi do wtórnej aktywacji szlaków cykazy adenylnowej/cAMP i PI3K/pAKT [7]. W przebiegu oftalmopatii dochodzi do adipogenezy w okolicy ujścia nerwu wzrokowego, ucisku, przerostu mięśni oczodołu oraz zewnątrzgałkowych, obrzęku spojówek, w długoterminowej perspektywie wzrostu ciśnienia śródgałkowego oraz ryzyka utraty wzroku [7]. Obserwowano korelację SNP TPO T1936C, T2229C i A2257C ze wzrostem poziomem ATPO. Wykazano związek niedoczynności tarczycy z Allel c.2173C Thr725 Pro oraz (rs732609) i Asp666Asp (rs1126797). Wzrost poziomu przeciwciał ATPO był skorelowany z rs1077462 i rs11675434, rs10774625 (gen *ATXN2*) w przebiegu HT. Nosicielstwo rs2071400 T (genotypy CT + TT) jest powiązane z AITD. Subkliniczna niedoczynność tarczycy (ang. *subclinical hypothyroidism*, SCH) powiązana jest z obecnością genotypów A2095C i A2173C. Niedoczynność

u pacjentów z SCH występuje u posiadaczy genotypów TT rs2071400 C/T i allel T oraz SNP rs732609 A/C (genotyp CC i allel C)).

Znaczenie IGF-1R

(ang. *insuline-like growth factor-1 receptor*) Receptor kinazy tyrozynowej (ang. *receptor tyrosine kinase*, RTK), indukuje apoptozę i hamuje autofagię przez tłumienie sygnalizacji tego receptora, ulega związaniu z IGF-I i IGF-II oraz aktywuje szlaki PI3 (ang. *Phosphoinositide 3-kinase pathway*)/AKT i MAPK (ang. *mitogen activated protein kinase*). Podawanie teprotumumabu, a więc przeciwciała monoklonalnego blokującego IGF-1R – inhibitora AKT, zahamowało adipogenezę, zmniejszając wytrzeszcz gałek ocznych [3]. IGFR-1R łączy się z TSHR w kompleks za pomocą B-arrestyny 1, aktywuje mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin kinase*), PPAR γ (ang. *peroxisome proliferator activated receptors*) oraz pobudza adipogenezę [3]. Opisano korelację wystąpienia przeciwciał stymulujących TSHR (TRAbs) oraz przeciwciał IGF-1R z wystąpieniem orbitopatii /oftalmopatii w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa (GBD) [3].

Czynnikami ryzyka oftalmopatii są hipercholesterolemia i palenie papierosów, terapia radiojodem, zaburzenie czynności tarczycy: wystąpienie przeciwciał TSH-R, TPO, TRABs. Niedawno odkrytymi czynnikami inicjującymi są: zaburzenie mikrobiomu z wysokimi mianami *Yersinia enterocolica* lub/i *E. coli*, niedobór seleniu [3], powodując napływ fibroblastów oczodołowych, pochodzących z fibrocytów CD 24+ ze szpiku kostnego, a następnie prowadząc do włóknienia [3]. W powstaniu orbitopatii uczestniczą mechanizmy odpowiedzialne za odporność humoralną i komórkową [3]. Nadmierna ekspresja HLA-DR prowadzi do stymulacji komórek dendrytycznych, komórek tucznych, makrofagów, limfocytów T i B [3]. Prezentacja antygeny przez makrofagi i komórki dendrytyczne występuje na limfocytach T na receptorze TSH i zachodzi w kontekście cząsteczek MHC II na

CD4+, które w następnym etapie uwalniają cytokiny prozapalne, a te aktywują limfocyty T CD8+ lub same limfocyty B, wytwarzające przeciwciała [3]. Obecność IL-17A skorelowane jest z ciężkim zwłóknieniem gałek ocznych, któremu może zapobiec stosowanie simwastatyny, „hamującej szlak sygnałowy szlaków sygnałowych RhoA/ROCK/ERK i p38 MAPK” [3].

Adipogeneza w gałkach ocznych aktywowana jest przez przeciwciała TRAb oraz IG-1. β -arrestyna 1 odpowiada za reakcje krzyżowe pomiędzy TSHR/IGF-1R [3]. Zachodzi wzrost ekspresji TSHR w czasie adipogenezy, wiązanie TRAb z TSHR w komórkach tłuszczowych i następcza ekspresja genów HAS odpowiedzialnych za wytwarzanie tkanki tłuszczowej w oczodole, wzrasta poziom cytokin, hamowanie FOXO1, aktywacja mTOR oraz adipogeneza wzmocniana przez aktywator proliferatora peroksydomów gamma (PPAT γ). Rola w abiogenezie odgrywa kinaza białkowa (ang. *protein kinase RNA – like endoplasmatic retinaculum kinase* PERK), kinaza syntetazy glikogenu – 3 β (ang. *glycogen synthase kinase 3*, GSK-3 β), mikroRNA (mir – 130a). Prowadzone są badania nad identyfikacją szczegółowej funkcji tych kinaz. Ponadto kinazy hamują adipogenezę i lipogenezę mezenchymalną poprzez komórki macierzyste łożyska (ang. *human placental mesenchymal stem cells*, hPMSCs), poddane stymulacji przez TGF β . Do mechanizmów ochronnych należy redukcja poziomu ekspresji PPAR γ , co w konsekwencji prowadzi do redukcji poziomu adipogenezy i stresu oksydacyjnego.

■ Diagnostyka mechanizmów epigenetycznych

Upośledzenie metylacji DNA związane jest z inaktywacją chromosomu X, modyfikacją histonów, upośledzeniem funkcji niekodujących odcinków RNA. Zaobserwowano inaktywację genów: reduktazy metylenotetrahydrofolianu (MTHFR), metylotransferaz DNA (DNMT), reduktazy syntazy metioniny (MTRR). Hipermetylacja genu TL

CD4+ oraz CD8+ i wzrost ekspresji genu ICAM1 (ang. *Intercellular Adhesion Molecule 1*) powoduje GBD. Acetylacja ogona histonu 4, acetylacja lizyny 27 histonu 3 (H3K27ac), redukcja trimetylacji lizyny 4 histonu 3 (H3K4me3) powoduje zachorowanie na GBD. Deregulacja ekspresji mikroRNA (miR-154, miR-376b i miR-431, zwiększone poziomy miR-22, miR-375 i miR-451) powoduje zachorowanie na GBD i HT.

■ Podsumowanie

Diagnostyka genetyczna pozwala na identyfikację złożonych patomechanizmów na poziomie molekularnym, umożliwiając wczesne wykrycie odpowiedniej postaci choroby, szczególnie w kontekście postaci Gravesa-Basedowa, a włączenie przeciwciał monoklonalnych stanowi ważny kierunek leczenia oftalmopatii, który warto dalej rozwijać. W miarę rosnącej popularności diagnostyki genetycznej można prognozować redukcję kosztów tych badań oraz wzrost ich użyteczności w sytuacjach wątpliwych, w których burzliwy przebieg zwłóknień w obrębie gałki ocznej mógłby być odpowiednio szybko rozpoznany i zahamowany pod warunkiem szybkiego włączenia nowoczesnego leczenia przeciwciałami monoklonalnymi.

Nadesłano: 06-11-2023

Adres do korespondencji: redakcja@gabinetprywatny.pl

Piśmiennictwo:

1. Gólkowski F. Aktualne spojrzenie na etiopatogenezę i aspekty kliniczne choroby Hashimoto (2016), Państwo i Społeczeństwo vol. 14 (4), 101-115.
2. Allam, I. Y., Lazreg, S., Shafiq Shaheen, M., Doheim, M. F., & Mohammed, M. A. (2021). Ocular Surface Changes in Patients with Thyroid Eye Disease: An Observational Clinical Study. *Clinical Ophthalmology*, 15(null), 2481–2488. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S317708>.
3. Cui, X., Wang, F., & Liu, C. (2023). A review of TSHR- and IGF-1R-related pathogenesis and treatment of Graves' orbitopathy. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1062045>.
4. Du, P., Zhu, J., Yao, Q., Cai, T., Xu, J., Fang, Y., Wu, Y., Zhang, W., & Zhang, J. A. (2022). HLA-DRA Gene Polymorphisms Are Associated with Graves' Disease as an Autoimmune Thyroid Disease. *BioMed Research International*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/6839634>.
5. Ngo, S. T., Steyn, F. J., & McCombe, P. A. (2014). Gender differences in autoimmune disease. In *Frontiers in Neuroendocrinology* (Vol. 35, Issue 3, pp. 347–369). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.04.004>.
6. Trovato, M., & Valenti, A. (2023). Medical Applications of Molecular Biotechnologies in the Context of Hashimoto's Thyroiditis. In *Diagnostics* (Vol. 13, Issue 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/diagnostics13122114>.
7. Vargas-Uricoechea, H. (2023). Molecular Mechanisms in Autoimmune Thyroid Disease. In *Cells* (Vol. 12, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells12060918>.