

THYROID CANADA

THYROÏDE CANADA

Thyroid-associated Ophthalmopathy - an autoimmune disorder of the extra ocular muscle and periorbital connective tissue.

Ophtalmopathie reliée à la thyroïde - une affection auto-immune des muscles oculaires externes et des tissus conjonctifs périorbitaires.

By / Par

Jack R. Wall MD, PhD, FRAC (C)

From / De

**Thyroid Research Unit / L'unité de recherche sur la Thyroïde
Queen Elizabeth II Health Sciences Centre
Halifax, Nova Scotia**

<u><i>Key Words</i></u>	<u><i>Index</i></u>	<u><i>Page</i></u>
flavoprotein, G2s, Graves' disease,	Editorial Comment	1
thyroid-associated ophthalmopathy	Commentaire Éditorial	1
eye muscle, autoimmunity	Article (English)	2 - 6
	Article (Français)	7 - 12
	Figures / Schémas 1 & 2	13
	Tables / Tableaus 1 & 2	14
	Tables / Tableaus 3 & 4	15
	References / Bibliographie	16
<u><i>Termes clés:</i></u>		
Flavoprotéine, G2s, maladie de Graves,		
Ophtalmopathie reliée à la thyroïde,		
muscles de l'oeil, auto-immunité		

EDITORIAL COMMENT

By Dr. Robert Volpé, MD, FRCP(C), MACP

Dr. Wall has offered his perspective on Graves' Ophthalmopathy in which the ultimate cause is still uncertain but he had tended to emphasize the role of eye muscle damage.

Others have taken the view that the eye muscle damage is a secondary phenomenon that the primary autoimmune assault is delivered to fibrous tissue. Indeed, it would have to be conceded that the present consensus favours the latter view.

Current opinion such as has been expressed by Tony Weetman and others would advance the cause of primary fibroblast inflammation and damage with expression of such molecules as will secondarily affect the extra ocular muscles, completing the patho-physiological picture.

However, Dr. Wall points out that the jury is still out and much remains to be comprehended before the complete picture of this fascinating entity of thyroid-associated Ophthalmopathy is fully understood.

COMMENTAIRE ÉDITORIAL

Par Dr. Robert Volpé, MD, FRCP(C), MACP

Dans son aperçu sur l'Ophtalmopathie de Graves, dont la cause première n'a toujours pas été identifiée, le Dr. Wall semblait mettre l'accent sur l'endommagement des muscles de l'oeil.

D'Autres font valoir que l'endommagement des muscles de l'oeil est secondaire et que la réaction auto-immune attaque d'abord les tissus fibreux. En effet, il semble que le consensus actuel appuie la seconde hypothèse.

L'opinion courante, telle qu'exprimée par Tony Weetman et d'autres, semble évoquer comme cause primaire l'inflammation et l'endommagement avec présence de fibroblastes et l'expression de certaines molécules qui affectent les muscles oculaires externes, fermant le cercle pathophysiologique.

Toutefois, le Dr. Wall souligne que le jury ne s'est pas encore prononcé et qu'il reste beaucoup à comprendre avant que l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde soit tout à fait comprise — sujet captivant.

Abstract

The exophthalmos and visual damage seen in some patients with Graves' hyperthyroidism are well known extra thyroidal manifestations of that disease. Acropachy and pretibial myxedema, or dermopathy, are also components of what is known as "Graves' disease". Exophthalmos, or proptosis, occurs because of swelling of the orbital contents, in particular the extra ocular muscles and the surrounding orbital connective tissue. Thyroid-related eye signs, or ophthalmopathy, occur in approximately 25-50% of patients with Graves' hyperthyroidism, occasionally in patients with Hashimoto's thyroiditis, and rarely in those with no evident thyroid disease. The eye changes of Graves' disease can be classified as non-infiltrative or infiltrative. Features of infiltrative ophthalmopathy include; edema of the lids, periorbital tissues and conjunctiva, conjunctival injection and eye pain, irritation, and a sensation of grittiness. These features comprise what has been called the congestive ophthalmopathy subtype of thyroid-associated ophthalmopathy (TAO).

The extra ocular muscles may be infiltrated, inflamed and enlarged, affecting the eye's ability to move and resulting in diplopia and sometimes a complete loss of oculomotor activity. These latter changes comprise the ocular myopathy subtype of TAO. The nature of the initial events leading to orbital disease in patients with thyroid autoimmunity and the identity of the target antigens are still poorly understood and hotly debated. It is now known that serum antibodies against 64 kDa and 55 kDa eye muscle membrane proteins are important markers of eye muscle damage in patients with thyroid autoimmunity. Antibodies reactive with the Fp subunit of the mitochondrial enzyme succinate dehydrogenase, are most closely associated with progressive ophthalmopathy (11), whereas those reactive with a 55 kDa eye muscle protein may be the first produced in patients with TAO. Recognition of a TSHR protein in the orbital pre-adipocytes, or G2s in eye muscle, by circulating antibodies may be the initial event leading to homing of lymphocytes into orbital tissue (26). In the course of thyroid inflammation, antibodies and T cells reactive against G2s expressed in thyroid membrane react with the same protein in the eye muscle fiber, leading to eye muscle damage and dysfunction. Only those patients with anti-G2s antibodies develop ocular myopathy. Antibodies against Fp, which are secondary to eye muscle fiber damage, are sensitive markers of immune-mediated fiber necrosis in patients with Graves' hyperthyroidism but not its cause. A recently developed experimental model for TAO provides a promising insight into the early stages of ophthalmopathy and its evolution.

Introduction

The exophthalmos and visual damage seen in some patients with Graves' hyperthyroidism are well known extra thyroidal manifestations of that disease. Acropachy and pretibial myxedema, or dermopathy, are also components of what is known as "Graves' disease". Exophthalmos, or proptosis, occurs because of swelling of the orbital contents, in particular the extra ocular muscles and the surrounding orbital connective tissue. Thyroid-related eye signs, or ophthalmopathy, occur in approximately 25-50% of patients with Graves' hyperthyroidism, occasionally in patients with Hashimoto's thyroiditis, and rarely in those with no evident thyroid disease. I will use the term "thyroid-associated ophthalmopathy (TAO)" to indicate ophthalmopathy associated with Graves' hyperthyroidism or Hashimoto's thyroiditis.

Ophthalmopathy subtypes

The eye changes of Graves' disease can be classified as non-infiltrative or infiltrative. Features of infiltrative ophthalmopathy include; edema of the lids, periorbital tissues and conjunctiva, conjunctival injection and eye pain, irritation, and a sensation of grittiness. These features comprise what has been called the congestive ophthalmopathy subtype of TAO. The extra ocular muscles may be infiltrated, inflamed and enlarged, affecting the eye's ability to move and resulting in diplopia and sometimes a complete loss of oculomotor activity. These latter changes comprise the ocular myopathy subtype of TAO, an example of which is shown in figure 1.

In other patients both types occur in mixed disease. Eyelid lag and retraction may also be a distinct subtype of ophthalmopathy, even in the absence of other eye signs. An example of chronic eyelid retraction is shown in figure 2. The notion of TAO subtypes, first suggested by the Russian ophthalmologist Solovyena (4) is consistent with the two main hypotheses for the pathogenesis of ophthalmopathy, to be discussed below.

Pathogenesis

TAO is a progressive eye disorder in which there is good evidence for immune-mediated inflammation of the extra ocular muscles and orbital connective tissue (1, 2). The nature of the initial events leading to orbital disease in patients with thyroid autoimmunity and the identity of the target antigens are still poorly understood and hotly debated. It is now known that serum antibodies against 64 kDa and 55 kDa eye muscle membrane proteins are important markers of eye muscle damage in patients with thyroid autoimmunity (3). These proteins have recently been sequenced and characterized.

Although TAO is generally considered to have an autoimmune etiology, the identity and nature of the principal target antigens, the mechanism for the close association of ophthalmopathy with thyroid autoimmunity, and the basis for the localization of a muscle reaction in the orbit, are unclear. Some workers believe that the orbital connective tissue and fat are the sites of the primary inflammatory reaction and that eye muscle damage is secondary to this (5). No candidate antigens have been conclusively identified in this compartment although the thyrotropin (TSH) receptor (TSHR) is thought by many to be the sought after thyroid and orbit shared antigen (6, 7). We, and others, have postulated a role of eye muscle antigens, in particular those eye muscle membrane proteins of 55 and 64 kDa identified by immunoblotting, with secondary stimulation of the orbital fibroblasts (3). Unfortunately, eye muscle tissue from patients with Graves' hyperthyroidism without eye signs, but mild eye muscle swelling on orbital imaging, is usually unavailable for examination.

Histopathology

The major anatomical abnormality in TAO is the enlargement of extra ocular muscles, although the orbital fat/connective tissue is also often involved. The extra ocular muscle fibers themselves are usually normal, but are widely separated by increased amounts of connective tissue and hydrophilic extracellular-matrix compounds. The initial infiltrate is both focal and diffuse, and consists mainly of T lymphocytes. Lymphocytes are also seen in the connective tissue surrounding the extra ocular muscle cells and in the fatty tissue. At a later stage, fibroblasts enlarge and proliferate, and muscle edema, related to enhanced deposition of glycosaminoglycans by activated fibroblasts, is found. Finally, the muscles become fibrotic and atrophy. Because we are unable to obtain orbital tissues from patients with Graves' hyperthyroidism and no evident ophthalmopathy, it has not been possible to document the earliest stages of TAO. Recent electron-microscopic findings in orbital tissue from patients with severe, active TAO has revealed extensive muscle fiber damage ranging from dissolution of the Z-bands, abnormalities in the mitochondria, enlargement and displacement of the nuclei and lipid vacuoles to massive necrosis of the myocytes associated with fibrosis (8). While these changes suggest a role for autoimmunity against eye muscle antigens in the expression of TAO. The relative contributions of cytotoxic antibodies and cellular mechanisms for eye muscle fiber destruction is not known.

Eye muscle antibodies

Serum antibodies against eye muscle antigens of MW 55-95 kDa are detected in about 70% of patients with active ophthalmopathy and eye muscle dysfunction, although some others have not found this. We found that eye muscle membrane antigens of 63-67 kDa comprise three proteins namely, the flavoprotein (Fp) subunit of the mitochondrial enzyme succinate dehydrogenase, the 64 kDa protein (9), a non tissue specific membrane protein called

α D (10), and the calcium binding protein calsequestrin (11) which is localized in the sarcoplasmic reticulum of the skeletal muscle fiber. These proteins have small differences in MW and band density on immunoblotting. Antibodies reactive with the Fp subunit of the mitochondrial enzyme succinate dehydrogenase, are most closely associated with progressive ophthalmopathy (11), whereas those reactive with a 55 kDa eye muscle protein may be the first produced in patients with TAO.

The 64 kDa protein

As seen in table 1, serum autoantibodies reactive with the 64 kDa protein were detected in 62% of patients with recent onset TAO, in 33% of those with chronic stable disease, in 39% with Graves' hyperthyroidism, in 25% of patients with Hashimoto's thyroiditis and in 16% of normals. When Fp, purified from beef heart succinate dehydrogenase, was used as antigen in Western blotting, the prevalences were; 67% in active TAO, 30% in chronic disease of > 3 yr duration, 30% in Graves' hyperthyroidism and 7% of normals, as shown in table 2. By ELISA, serum antibodies against Fp were detected in 67% of patients with active TAO, in 30% with more chronic, stable disease and in 30% of patients with Graves' hyperthyroidism without ophthalmopathy, but in only 7% of normal subjects, shown in table 3. The preparation of Fp that we have used contains the flavine adenine dinucleotide (FAD) cofactor. FAD is also covalently bound to Fp, sarcosine dehydrogenase and dimethylglycine dehydrogenase. As seen in table 4, small proportions of sera from patients with TAO react with FAD and the two enzymes. Using purified Fp separated from FAD, we showed that one cause of "false positive" reactions in patients and subjects without ophthalmopathy is reaction against FAD (Wall, Ackrell, unpublished data). Antibodies against Fp are also found in the great majority of patients with ocular myasthenia gravis and generalized myasthenia gravis (13), suggesting that these antibodies are secondary to eye muscle damage of an immune nature and not specific to TAO. Another possible cause of false positive reactions in subjects who do not have ophthalmopathy is antibody production following cardiac muscle damage, e.g. myocardial infarction, myocarditis or non-specific cardiomyopathy, for which there is some evidence (Archibald & Wall unpublished data).

The 55 kDa protein

Another protein which is closely associated with TAO is the so-called "55 kDa protein". The 55 kDa eye muscle protein was recently cloned and named G2s (14). G2s is novel thyroid and eye muscle shared protein. From table 1 we see that antibodies targeting a 55 kDa protein are detected in 35% of patients with TAO and 42% in those with Graves' hyperthyroidism. Using an ELISA, antibodies against a G2s fusion protein were detected in 54% of patients with TAO < 1 yr duration, 33% with stable disease of > 3 yr duration, 36% with Graves' hyperthyroidism, in 54% of patients with Hashimoto's thyroiditis and in 11% of normal subjects. These results are summarized in table 3. By Western blotting, antibodies reactive with G2s were identified in 70% of patients with TAO of < 1 year duration, 53% with TAO of > 3 year duration, 36% with Graves' hyperthyroidism without evident ophthalmopathy, 17% with Hashimoto's thyroiditis, and in 16% of normal subjects, as seen in table 2.

Antibodies reactive against the 55 kDa protein were shown, by others, to be closely associated with extra ocular muscle enlargement as demonstrated by orbital computed tomography (15). In one patient with TAO that we reported, serum concentration of antibodies against the 55 kDa protein decreased during treatment of the ophthalmopathy (16), suggesting that this antibody is an early marker of ophthalmopathy. Serum antibodies reactive with a G2s fusion protein are closely associated with both the ocular myopathy and congestive ophthalmopathy subtypes of TAO. Antibodies against a G2s fusion protein predicted the development of congestive ophthalmopathy and ocular myopathy in patients with Graves' hyperthyroidism studied prospectively following anti-thyroid drug therapy (12), while anti-Fp antibodies were detected only in those patients who developed the ocular myopathy subtype of TAO (17). G2s potentially an important and interesting antigen in TAO because it is strongly expressed in both thyroid and eye muscle, but not in orbital connective tissue. Thus it is a good candidate for the putative eye muscle and thyroid shared antigen which

several groups have postulated to be the basis for the link between ophthalmopathy and thyroid autoimmunity. That G2s is also expressed in some other tissues which are not usually the sites of autoimmune attack in Graves' disease is not explained, but may reflect the unique characteristics of the eye muscles fiber. G2s is now identified as the terminal 141 amino acids of the winged-helix transcription factor Foxp1.

It is most likely that eye muscle damage in ophthalmopathy is mediated by cytotoxic antibodies or CD⁸⁺T Lymphocytes targeting a cell membrane antigen, such as G2s, and that sensitization to Fp, and some other proteins which will be mentioned again below, is secondary.

The TSH receptor

Others have postulated that the TSHR is the key orbital tissue and thyroid shared antigen in TAO and one group has demonstrated expression of the receptor protein in eye muscle (18). The relationship between G2s and the other eye muscle antigens which have been identified, is unknown. The pathogenetic role of these antibodies has not been established and they may be secondary to autoimmune attack against another, as yet unidentified, cell membrane antigen. In our earlier studies, we demonstrated the presence of cytotoxic antibodies against cultured normal human eye muscle cells, but not orbital fibroblasts, in serum from patients with TAO in antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) (19, 20). It seems likely that such antibodies play a role in the development of the ocular myopathy subtype of TAO, although the target antigen(s) has not been identified (21).

Other eye muscle antigens

Some other eye muscle antigens were also identified by cloning an eye muscle expression library with patient antibodies or oligonucleotides, including the calcium-binding protein calsequestrin, a protein called γ D which was cloned by Ludgate and colleagues, and sarcolumenin. Antibodies against the 63 kDa protein calsequestrin were found in about 30% of patients with TAO and in a few normal subjects (11). Although not closely related to ophthalmopathy, such antibodies are another example of secondary immune reaction following eye muscle membrane damage and release of intracellular proteins. Similarly, antibodies to sarcolumenin are found in a minority of patients with ophthalmopathy and eye muscle damage.

Experimental models for ophthalmopathy

In recent animal studies thyroiditis has been induced in naive BALB/c and NOD mice by immunizing with human TSHR, either expressed as a bacterial fusion protein or by genetic immunization. In early studies by Ludgate and co-workers, BALB/c mice developed a Th2-like response to the receptor, while NOD mice developed a Th1-like response with thyrocyte destruction (22, 23). Orbital infiltration by mast cells and lymphocytes, and adipose accumulation, was found in 68% of the BALB/c mice but in none of the NOD mice. These authors proposed that the pre-adipocyte cell expressed the TSHR and that a Th2 autoimmune response to the receptor protein was the initiating event in TAO.

In our own studies we have obtained similar results in BALB/c and out-bred mice immunized with cDNAs for G2s and the TSHR (24, 25). Groups of mice were immunized with G2s, G2s and TSH receptor, G2s and IL4 [to bias to a Th2 autoimmune reaction], G2s and IL 12 [to bias to a Th1 reaction] and empty vector, as control.

As seen in fig. 4, serum from mice immunized with G2s contained antibodies to G2s, beginning at about wk 3 and increasing throughout the study, which was terminated at 17 wk. Results are expressed as OD in ELISA for selected individual mice from each group. G2s mice were immunized with a cDNA for G2s, TSHR mice with cDNAs for G2s and TSHR, IL4 mice with cDNAs for G2s and IL4 and IL12 mice with cDNAs for G2s and IL12. Control mice were

immunized with sucrose. Interestingly, serum antibodies to Fp were also detected in these mice, but generally later than those to G2s, and levels were greater, as seen in this figure. The mean values for groups of mice are shown in fig. 5 and the significance values, assessed using t tests. These results strongly confirm our clinical findings, namely that antibodies against Fp are secondary to eye muscle damage induced by autoimmunity against some other protein, such as G2s in eye muscle membranes. There was no obvious ophthalmopathy and on histological examination of the orbital tissues from G2s-immunized mice, only a few lymphocytes and inflammatory cells and mild separation of eye muscle fibres was found. When a fully developed model for the human disease has been optimized it will be possible to address some of the key questions, namely, does radioactive iodine treatment of the associated hyperthyroidism lead to worsening of eye disease or its development? What is the relationship between the eye muscle and orbital connective tissue components of TAO? And what is the initial reaction leading to the development of orbital inflammation in patients with thyroid autoimmunity? The possible role of cytotoxic antibodies in ADCC can also be assessed.

Conclusions and hypothesis

Recognition of a TSHR protein in the orbital pre-adipocytes, or G2s in eye muscle, by circulating antibodies may be the initial event leading to homing of lymphocytes into orbital tissue (26). In the course of thyroid inflammation, antibodies and T cells reactive against G2s expressed in thyroid membrane react with the same protein in the eye muscle fiber, leading to eye muscle damage and dysfunction. Only those patients with anti-G2s antibodies develop ocular myopathy. Antibodies against Fp, which are secondary to eye muscle fiber damage, are sensitive markers of immune-mediated fiber necrosis in patients with Graves' hyperthyroidism but not its cause. A recently developed experimental model for TAO provides a promising insight into the early stages of ophthalmopathy and its evolution.

Résumé analytique

L'exophtalmie et les dommages évidents observés chez certains patients affligés de l'hyperthyroïdie de Graves sont des manifestations externes à la thyroïde bien connues de cette affection. L'acropathie et le myxoedème pré tibial, ou dermatopathie, sont aussi des éléments de cette affection qu'on appelle «la maladie de Graves». L'exophtalmie, ou protusion du globe oculaire, se manifeste parce qu'il y a gonflement du contenu orbital, en particulier une tuméfaction des muscles oculaires externes et des tissus conjonctifs périorbitaires. Les symptômes reliés aux yeux, ou l'ophtalmopathie, se manifestent chez environ 25 % à 50 % des patients atteints d'hyperthyroïdie de Graves, quelques fois chez des patients affligés de la thyroïdite d'Hashimoto et rarement chez ceux ne montrant aucune évidence de maladie de la thyroïde. L'affection des yeux occasionnée par la maladie de Graves peut être du genre infiltrant ou non-infiltrant. On compte parmi les signes d'une ophtalmopathie infiltrante : l'oedème des paupières, des tissus périorbitaux et de la conjonctive; l'injection conjonctivale; la douleur à l'oeil; l'irritation; et, une sensation sablonneuse. Ces signes comportent ce qui a été identifié comme le sous-type ophtalmopathie congestive de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO).

Il peut y avoir infiltration, inflammation et tuméfaction des muscles oculaires externes affectant la mobilité de l'oeil et résultant en une diplopie et parfois en une perte totale de capacités oculomotrices. Ces changements impliquent le sous-type myopathie oculaire de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). Les éléments menant à l'affection orbitale chez les patients atteints de la maladie auto-immune de la thyroïde ainsi que l'identité des antigènes ciblés sont mal compris et sujets à discussions. On sait maintenant que les anticorps sériques réagissant avec les protéines 64 kDa et 55 kDa des membranes des muscles de l'oeil sont des indices importants d'endommagement de ces muscles chez les patients affectés de la maladie auto-immune de la thyroïde. Les anticorps qui réagissent avec les sous-unités Fp de l'enzyme mitochondriale succinate-déshydrogénase sont associés de très près à l'ophtalmopathie progressive (11), tandis que les anticorps qui réagissent avec la protéine 55 kDa du muscle oculaire peuvent être les premiers à être produits chez les patients affligés de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). Le fait que les anticorps sériques décèlent les protéines TSHR dans les préadipocytes de l'orbite ou les protéines G2s des muscles oculaires pourrait bien être la première phase d'un mouvement de lymphocytes vers les tissus de l'orbite (26). Lors d'une inflammation de la thyroïde, les anticorps et les cellules T qui réagissent avec la protéine G2s de la membrane thyroïdienne réagissent avec la même protéine présente dans les fibres des muscles orbitaux. Ceci peut occasionner l'endommagement et la dysfonction de ces muscles. Seuls les patients avec anticorps anti-G2s sont atteints d'oculomyopathie. Les anticorps contre la protéine Fp, résultant des dommages des fibres des muscles orbitaux, sont des balises hypersensibles de la nécrose des fibres d'origine immunologique chez les patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves. Ils n'en sont toutefois pas la cause. Un nouveau modèle expérimental conçu récemment pour l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) donne une compréhension prometteuse des premières phases et de l'évolution de l'ophtalmopathie.

Introduction

L'exophtalmie et les dommages évidents observés chez certains patients affligés de l'hyperthyroïdie de Graves sont des manifestations externes à la thyroïde bien connues de cette affection. L'acropathie et le myxoedème pré tibial, ou dermatopathie, sont aussi des éléments de cette affection qu'on appelle «la maladie de Graves». L'exophtalmie, ou protusion du globe oculaire, se manifeste parce qu'il y a gonflement du contenu orbital, en particulier une tuméfaction des muscles oculaires externes et des tissus conjonctifs périorbitaires. Les symptômes reliés aux yeux, ou l'ophtalmopathie, se manifestent chez environ 25 % à 50 % des patients atteints d'hyperthyroïdie de Graves, quelques fois chez des patients affligés de la thyroïdite d'Hashimoto et rarement chez ceux ne montrant aucune évidence de maladie de la thyroïde. J'utiliserai l'expression «Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO)» pour indiquer qu'il s'agit d'ophtalmopathie reliée à l'hyperthyroïdie de Graves ou à la thyroïdite d'Hashimoto.

Sous-types d'ophtalmopathie

L'affection des yeux occasionnée par la maladie de Graves peut être du genre infiltrant ou non-infiltrant. On compte parmi les signes d'une ophtalmopathie infiltrante : l'œdème des paupières, des tissus périorbitaux et de la conjonctive; l'injection conjonctivale; la douleur à l'œil; l'irritation; et, une sensation sablonneuse. Ces signes comportent ce qui a été identifié comme le sous-type ophtalmopathie congestive de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). Il peut y avoir infiltration, inflammation et tuméfaction des muscles oculaires externes affectant la mobilité de l'œil et résultant en une diplopie et parfois en une perte totale de capacités oculomotrices. Ces changements impliquent le sous-type myopathie oculaire de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). Un exemple est cité au Schéma 1.

Chez d'autres patients les deux types se manifestent. Les paupières paresseuses et escamotées peuvent aussi représenter un sous-type de l'ophtalmopathie, même en l'absence d'autres symptômes reliés aux yeux. Au Schéma 2, on peut observer un exemple de rétraction chronique des paupières. La notion des sous-types de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), suggérée pour la première fois par l'ophtalmologiste russe Solovyena (4) est cohérente avec les deux hypothèses principales de la pathogénèse de l'ophtalmopathie que nous élaborerons ci-dessous.

Pathogénèse

L'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) est une affection progressive de l'œil où il y a évidence d'inflammation d'origine auto-immune des muscles oculaires externes et des tissus conjonctifs de l'orbite (1, 2). Les événements menant à l'affection orbitale chez les patients manifestant des réactions auto-immunes provenant de la thyroïde ainsi que l'identité des antigènes ciblés sont mal compris et sujets à des discussions. On sait maintenant que les anticorps sériques réagissant avec les protéines 64 kDa et 55 kDa des membranes des muscles de l'œil représentent des indices importants de l'endommagement de ces muscles chez les patients manifestant des réactions auto-immunes déclenchées par activité thyroïdienne (3). On a récemment procédé à la mise en séquence et à la caractérisation de ces protéines.

Même si l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) est d'habitude associée à une étiologie auto-immune, l'identité et la nature des antigènes principaux, le mécanisme d'association de l'ophtalmopathie reliée à la maladie de la thyroïde auto-immune, et les raisons de localisation de la réaction dans un muscle de l'orbite, restent nébuleuses. Certains chercheurs croient que la réaction inflammatoire première se produit dans les tissus conjonctifs et les tissus adipeux de l'orbite et que l'endommagement du muscle oculaire y fait suite (5). Aucun antigène n'a été formellement mis en cause jusqu'ici, mais la thyrotropine (TSH) réceptrice (TSHR) est suspecte et plusieurs croient qu'elle pourrait être l'antigène recherché dans les cas impliquants la thyroïde et l'orbite (6, 7). Nous, et d'autres, déduisons que les antigènes des muscles oculaires sont en cause, plus particulièrement les protéines 55 kDa et 64 kDa des membranes des muscles oculaires ayant été identifiées par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection avec stimulation complémentaire des fibroblastes de l'orbite (3). Malheureusement, les tissus des muscles oculaires des patients affligés de l'hyperthyroïdie de Graves, dont les yeux ne démontrent aucun symptôme, mais dont les muscles oculaires apparaissent quelque peu tuméfiés lors d'imagerie de l'orbite, ne sont pas d'habitude disponibles pour fins d'examen.

Hystopathologie

L'anomalie anatomique principale associée à l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) consiste du grossissement des muscles oculaires externes. Les tissus adipeux de l'orbite et les tissus conjonctifs sont aussi souvent impliqués. Les fibres des muscles oculaires externes eux-mêmes sont d'habitude normales mais séparées par une augmentation de tissus conjonctifs et d'une matrice extracellulaire hydrophile. L'infiltration première peut être focale ou diffuse et consiste en grande partie de lymphocytes T. Les lymphocytes sont aussi présents dans les tissus conjonctifs entourant

les cellules des muscles oculaires externes ainsi que dans les tissus adipeux. À une phase plus avancée, les fibroblastes prennent de l'envergure et se prolifèrent. On peut observer de l'oedème dans les muscles -- oedème relié à un dépôt de glycosaminoglycanes par des fibroblastes. En dernier lieu, les muscles deviennent fibreux et montrent des signes d'atrophie. Puisqu'il a été impossible d'obtenir des tissus de l'orbite de patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves sans évidence d'ophtalmopathie, il était donc impossible de documenter les phases premières de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). Des découvertes récentes par microscopie électronique sur des tissus orbitaux de patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), grave et active, ont révélé des dommages intensifs aux muscles y compris la dissolution des bandes Z, des anomalies dans les mitochondries, l'agrandissement et le déplacement des noyaux et des vacuoles adipeuses allant jusqu'à une nécrose massive des myocytes associés à la fibrose (8). Ces changements suggèrent de l'activité auto-immune contre les antigènes des muscles oculaires dans le développement de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). On ne connaît pas la contribution relative des anticorps cytotoxiques et des mécanismes cellulaires à la destruction des fibres des muscles de l'oeil.

Anticorps associés aux muscles de l'oeil

Nous avons trouvé des anticorps sériques réagissant avec les antigènes de poids moléculaire 55 kDa à 95 kDa des muscles de l'oeil chez environ 70 % des patients affligés d'ophtalmopathie et de dysfonction des muscles de l'oeil, mais d'autres chercheurs n'ont pas observé ce phénomène. Nous avons observé que les antigènes 63 kDa à 67 kDa des membranes des muscles de l'oeil comprennent trois protéines: la sous-unité flavoprotéine (Fp) de l'enzyme mitochondriale succinate-déshydrogénase, la protéine 64 kDa (9); la protéine membranaire sans spécificité tissulaire identifiée comme γ D (10); et la calséquestrine, une protéine fixatrice du calcium (11), localisée dans le réticulum sarcoplasmique des fibres musculaires squelettiques. Ces protéines diffèrent quelque peu en masse moléculaire et dans l'intensité des bandes lors d'un transfert électrophorétique suivi d'immunodétection. Les anticorps qui réagissent avec la sous-unité Fp de l'enzyme mitochondriale succinate-déshydrogénase sont associés de très près à l'ophtalmopathie progressive (11), tandis que les anticorps qui réagissent avec la protéine 55 kDa des muscles oculaires peuvent être les premiers à être produits chez les patients affligés de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO).

La protéine 64 kDa

Tel qu'indiqué au Tableau 1, des autoanticorps sériques qui réagissent avec la protéine 64 kDa ont été détectés chez 62 % des patients en début d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). On les a trouvés chez 33 % de ceux dont l'affection était chronique et stable, chez 39 % des patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves, chez 25 % de ceux affligés de thyroïdite d'Hashimoto et chez 16 % des non malades. Lorsque la sous-unité Fp purifiée, de l'enzyme succinate-déshydrogénase d'un coeur de boeuf, a été utilisée comme antigène lors d'un transfert électrophorétique suivi d'immunodétection, on a observé les taux suivants : 67 % dans les cas actifs d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), 30 % dans les cas d'affection chronique qui duraient depuis plus de trois ans, 30 % dans les cas d'hyperthyroïdie de Graves et 7 % chez les non malades -- tel qu'indiqué au Tableau 2. Lorsque la méthode ELISA a été utilisée, des anticorps sériques qui réagissent avec la sous-unité Fp ont été détectés chez 67 % des patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO). On les a trouvés chez 30 % de ceux affligés de la forme plus chronique mais stable et chez 30 % des patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves sans signes d'ophtalmopathie, mais dans seulement 7 % des non malades, tel qu'indiqué au Tableau 3. La préparation Fp que nous avons utilisé comprenait le cofacteur de flavine-adénine-dinucléotide. Le FAD est aussi fixé par covalence à l'enzyme mitochondriale succinate-déshydrogénase Fp, à l'enzyme sarcosine déshydrogénase, et à l'enzyme diméthylglycine déshydrogénase. Au tableau 4, on peut observer que le sérum prélevé d'un faible pourcentage des patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) réagit contre le FAD et les deux enzymes. À l'aide de la sous-unité Fp purifiée, séparée du FAD, nous avons démontré qu'un des symptômes de réactions fausses positives chez des sujets sans ophtalmopathie est une réaction contre le FAD (Wall, Ackrell, données non publiées). Des anticorps qui réagissent contre la sous-unité Fp sont aussi détectés dans la plupart des patients affligés de myasthénie grave oculaire et de myasthénie grave généralisée (13). Ceci suggère que ces anticorps sont

secondaires à l'endommagement d'origine immunologique des muscles de l'œil et non spécifique à l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO). Un autre déclencheur possible de réactions fausses positives chez des patients sans ophtalmopathie est la production d'anticorps suite à l'endommagement du muscle cardiaque, p. ex., un infarctus du myocarde, une myocardite ou une myocardiopathie non spécifique. (Archibald & Wall, données non publiées).

La protéine 55 kDa

La protéine nommée 55 kDa est une autre protéine associée de près à l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO). Cette protéine des muscles de l'œil a récemment été clonée et nommée G2s (14). Fait inusité, on trouve la protéine G2s dans la thyroïde ainsi que dans les muscles de l'œil. Au Tableau 1, on peut observer que des anticorps qui réagissent avec la protéine 55 kDa sont détectés chez 35 % des patients affligés d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) et chez 42 % de ceux affligés d'hyperthyroïdie de Graves. Lorsque la méthode ELISA a été utilisée, des anticorps réagissant avec une protéine hybride G2s ont été détectés chez 54 % des patients affligés depuis moins d'un an d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO), chez 33 % des patients dont l'affection durait depuis plus de trois ans, chez 36 % de ceux affligés d'hyperthyroïdie de Graves, chez 54 % des patients affligés de thyroïdite d'Hashimoto et chez 11 % des non malades. Un sommaire de ces résultats se trouve au Tableau 3. Des anticorps réagissant avec la protéine G2s ont été identifiés par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection chez 70 % des patients affligés d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) depuis moins d'un an, chez 53 % des patients affligés depuis plus de trois ans d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO), chez 36 % des patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves sans évidence d'ophtalmopathie, chez 17 % des patients affligés de thyroïdite d'Hashimoto et chez 16 % des non malades. Ces résultats apparaissent au Tableau 2.

D'autres chercheurs ont démontré que les anticorps réagissant avec la protéine 55 kDa sont associés de très près au grossissement des muscles oculaires externes tel qu'observé lors d'une tomographie par ordinateur de l'orbite (15). Dans le cas que nous avons cité d'un patient affligé d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO), la concentration des anticorps sériques réagissant avec la protéine 55 kDa a diminué au cours du traitement de l'ophtalmopathie (16), suggérant que cet anticorps est le premier indice d'ophtalmopathie. Les anticorps sériques réagissant avec une protéine hybride G2s sont reliés de très près aux sous-types de myopathie oculaire et d'Ophtalmopathie reliés à la thyroïde (TAO). Les anticorps réagissant contre une protéine hybride G2s étaient des précurseurs du développement d'ophtalmopathie congestive et de myopathie oculaire chez les patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves faisant l'objet d'une étude expérimentale suite à l'usage de médicaments réagissant sur la thyroïde (12). Les anticorps anti-Fp n'ont été détectés que dans les patients qui avaient développé le sous-type de myopathie oculaire de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) (17). La protéine G2s pourrait être un antigène important de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) puisque l'expression de cette protéine se manifeste dans la thyroïde aussi bien que dans les muscles oculaires mais non dans le tissu conjonctif de l'orbite. Cette protéine est donc toute indiquée comme antigène supposé commun à la thyroïde et aux muscles oculaires dont certains groupes de chercheurs ont avancé comme étant le lien entre l'ophtalmopathie et l'auto-immunité de la maladie de la thyroïde. On ne peut toujours pas expliquer pourquoi l'expression de la protéine G2s se manifeste dans d'autres tissus n'étant pas d'habitude ciblés par une agression auto-immune de l'affection de Graves, mais ceci pourrait refléter les caractéristiques inhérentes aux fibres des muscles oculaires. La protéine G2s est identifiée comme l'acide aminé 141 des acides aminés du facteur de transcription Foxp1, appelé hélice ailée.

Il est fort probable que l'endommagement aux muscles de l'œil relié à l'ophtalmopathie est occasionné indirectement par les anticorps cytotoxiques ou par lymphocytes T CD⁸⁺ ciblant l'antigène d'une cellule membranaire, telle G2s, et que la sensibilisation à la sous-unité Fp et à d'autres protéines, dont nous reparlerons ci-dessous, n'est que secondaire.

Le récepteur de TSH

D'autres chercheurs ont avancé que la TSHR est l'antigène retrouvé dans la thyroïde et le tissu de l'orbite dans l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO). Un groupe de chercheurs a démontré l'expression de la protéine réceptrice dans les muscles de l'oeil (18). Le lien entre la protéine G2s et d'autres antigènes identifiés des muscles de l'oeil n'est pas connu. Le processus pathogénique de ces anticorps n'a pas été établi et ce processus pourrait être secondaire à une agression auto-immune contre un autre antigène non identifié de membrane cellulaire. Lors d'études précédentes, nous avons établi la présence d'anticorps cytotoxiques contre des cellules cultivées des muscles de l'oeil humain normal. Nous n'avons détecté aucun fibroblaste de l'orbite dans le sérum prélevé des patients affligés d'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) avec cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC) (19, 20). Il semble que de tels anticorps ont un rôle dans le développement du sous-type de la myopathie oculaire de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) même si les antigènes cibles n'ont pas été identifiés (21).

Autres antigènes des muscles de l'œil

D'autres antigènes trouvant leur origine dans les muscles de l'oeil ont été identifiés par clonage, à partir d'une banque génomique. Les antigènes identifiés sont : une protéine des muscles de l'oeil réagissant aux anticorps ou oligonucléotides des patients, y inclus la protéine fixatrice du calcium calséquestrine ; une protéine appelée γ D clonée par Ludgate et al ; et la sarcoluménine. Des anticorps réagissant avec la protéine 63 kDa, calséquestrine, ont été identifiés chez environ 30 % des patients affligés de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO) ainsi que dans quelques sujets non malades (11). Même si ces anticorps ne sont pas associés de près à l'ophtalmopathie, ils sont un autre exemple de réaction immune secondaire à la suite de l'endommagement de la membrane des muscles de l'oeil et de l'effusion de protéines intracellulaires. Aussi, les anticorps de la sarcoluménine sont identifiés chez une minorité de patients affligés d'ophtalmopathie avec endommagement des muscles de l'oeil.

Modèles expérimentaux de l'ophtalmopathie

Dans des études récentes sur des animaux, la thyroïdite a été induite dans des souris novices BALB/c et NOD en les inoculant avec la TSHR provenant d'humains. La TSHR était obtenue soit par expression d'une protéine hybride bactérienne soit par réaction génétique. Dans des études initiales faites par Ludgate et al, les souris BalB/c ont développé une réponse de type Th2 au récepteur tandis que les souris NOD ont développé une réponse de type Th1 avec destruction de thyrocytes (22, 23). On a observé une infiltration de l'orbite par des mastocytes et des lymphocytes et une accumulation de tissus adipeux chez 68% des souris BALB/c mais non chez les souris NOD. Ces chercheurs ont suggéré que l'expression de TSHR par des cellules pré-adipocytes et qu'une réponse auto-immune Th2 aux récepteurs constituaient la phase initiale de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO).

Lors de nos propres études, nous avons obtenu des résultats semblables sur des souris BALB/c et sur des souris venant de l'extérieur inoculées avec ADNc pour la protéine G2s et pour la TSHR (24, 25). Des groupes de souris ont été inoculés à l'aide de la protéine G2s, de G2s et du récepteur TSH, de G2s et IL4 (pour un biais vers la réaction auto-immune Th2), de G2s et IL12 (pour un biais vers la réaction Th1) et d'un vecteur ne contenant pas d'antigènes.

Tel qu'observé au Schéma 4, le sérum prélevé sur des souris inoculées à l'aide de la protéine G2s contenait des anticorps agissant avec G2s, à partir d'environ la troisième semaine et augmentant au cours de l'étude qui s'est terminée à la dix-septième semaine. Les résultats étaient donnés comme OD avec la méthode ELISA pour des souris individuelles

choisies parmi chaque groupe. Les souris G2s étaient inoculées avec ADNc pour G2s, les souris TSHR étaient inoculées avec ADNc pour G2s et pour TSHR, les souris IL4 étaient inoculées avec ADNc pour G2s et pour IL4 et les souris IL12

étaient inoculées pour G2s et pour IL12. Les souris témoins étaient inoculées avec du sucrose. Il est bon de noter que des anticorps sériques Fp étaient aussi détectés dans les souris témoins, mais d'habitude plus tard que dans les souris G2s et à des concentrations supérieures, tel qu'indiqué sur ce schéma. Les moyennes des valeurs pour des groupes de souris observés sont indiquées au Schéma 5 ainsi que les seuils de signification évalués par tests t. Ces résultats sont à l'appui de nos observations en clinique, entre autres que les anticorps réagissant avec Fp surviennent après l'endommagement des muscles de l'oeil dû à l'auto-immunité aux autres protéines telle la protéine G2s dans les membranes des muscles de l'oeil. Il n'y avait pas d'ophtalmopathie évidente et suite à un examen histologique des tissus de l'orbite de souris inoculées avec G2s, seuls quelques lymphocytes et cellules associées à l'inflammation ainsi qu'une séparation légère des fibres des muscles de l'oeil ont été observés. Advenant un modèle complet de la maladie qui afflige les humains il sera possible de s'adresser à certaines des questions clés telles : Un traitement d'iode radioactif relatif à l'hyperthyroïdie pourrait-il aggraver la maladie de l'oeil ou mener au développement de la maladie ? Quel est le lien entre les muscles de l'oeil et les tissus conjonctifs de l'orbite chez les patients affligés de l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) ? Et, en quoi consiste la réaction première qui précède le développement de l'inflammation de l'orbite chez les patients démontrant des réactions auto-immunes ? Le rôle possible des anticorps cytotoxiques dans la Cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) doit lui aussi entrer en ligne de compte.

Conclusions et hypothèse

Le fait que les anticorps sériques décèlent les protéines TSHR dans les préadipocytes de l'orbite ou les G2s des muscles oculaires pourrait bien être le signal menant au mouvement de lymphocytes vers les tissus de l'orbite (26). Lors d'une inflammation de la thyroïde, les anticorps et les cellules T qui réagissent avec la protéine G2s de la membrane thyroïdienne réagissent aussi avec la même protéine présente dans les fibres des muscles de l'oeil, occasionnant l'endommagement et la dysfonction de ces muscles. Seuls les patients avec anticorps anti-G2s développent l'oculomyopathie. Les anticorps contre la protéine Fp, résultant des dommages des fibres des muscles de l'oeil, sont des balises hypersensibles de la nécrose des fibres d'origine immunologique chez les patients affligés d'hyperthyroïdie de Graves. Ils n'en sont toutefois pas la cause. Un nouveau modèle expérimental conçu récemment pour l'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO) donne une compréhension préliminaire des premières phases et de l'évolution de l'ophtalmopathie.

Figure 1. Photograph of a patient with the ocular myopathy subtype of TAO showing relatively clear non-inflamed eyes and marked reduction of upward gaze of the right eye.

Schéma 1. Une photographie d'un patient atteint du sous-type myopathie oculaire de l'Ophtalmopathie liée à la thyroïde (TAO). Les yeux sont relativement clairs et sans signe d'inflammation. On peut observer une réduction marquée du mouvement zénital de l'œil droit.



Figure 2. A photograph of a patient with chronic eyelid disease manifest as upper lid retraction, but otherwise clear, non-inflamed eyes.

Schéma 2. Une photographie d'un patient atteint d'une affection chronique des paupières qui se manifeste par une rétraction de la paupière supérieure. Par contre, les yeux sont relativement clairs et sans signe d'inflammation.

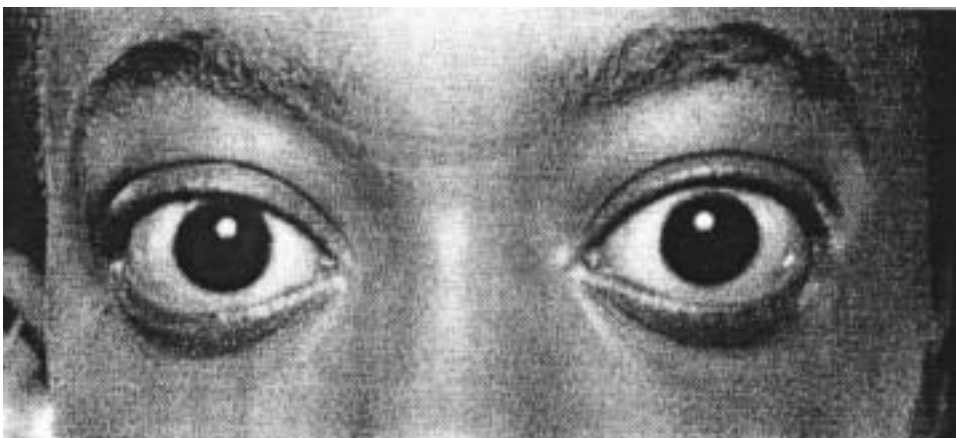


Table 1. Prevalences of serum antibodies against 55 and 64 kDa eye muscle antigens in patients with TAO, thyroid autoimmunity without ophthalmopathy and control patients and subjects, measured by immunoblotting.

Tableau 1. Prévalences des anticorps sériques qui réagissent avec des antigènes 55 kDa et 64 kDa des muscles de l'oeil chez les patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), de la maladie auto-immune de la thyroïde sans signe d'ophtalmopathie et chez les patients témoins. Prévalences observées par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection.

<u>Group/Groupe</u>	<u>Positive Tests Positifs¹</u>	
	<u>protéine 64 kDa Protein</u>	<u>Protéine 55 kDa Protein</u>
TAO < 1 yr/an	62% P < 0.05	35% P < 0.01
TAO > 3 yrs/ans	33% NS	NT
Graves' Hyperthyroidism/ Hyperthyroïdie de Graves	39% NS	42% P < .01
Hashimoto's Thyroiditis/ Thyroïdite d'Hashimoto	25% NS	17% NS
Normals/ Non malades	16%	0%

¹ Taken as a band at stated mol wt on Western blotting

¹ Observé comme des bandes, aux masses moléculaires déclarées, par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection

Table 2. Prevalences of serum antibodies against purified Fp and G2s in patients with TAO, thyroid autoimmunity without ophthalmopathy and control patients and subjects, measured by immunoblotting.

Tableau 2. Prévalences des anticorps sériques qui réagissent avec des protéines purifiées Fp et G2s chez les patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), de la maladie auto-immune de la thyroïde sans signe d'ophtalmopathie et chez les patients témoins. Prévalences observées par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection.

<u>Group/Groupe</u>	<u>Positive Tests Positifs¹</u>	
	<u>Fp</u>	<u>G2s</u>
TAO < 1 yr/an	67% P < 0.001	70% P < 0.001
TAO > 3 yrs/ans	30% NS	53% P < .01
Graves' Hyperthyroidism/ Hyperthyroïdie de Graves	0% NS	36% P < .01
Hashimoto's Thyroiditis/ Thyroïdite d'Hashimoto	NT	17% NS
Normals/ Non malades	7%	16%

¹ Taken as a band at stated mol wt (MW) on Western blotting

¹ Observé comme des bandes, aux masses moléculaires déclarées, par transfert électrophorétique suivi d'immunodétection

Table 3. Prevalences of serum antibodies against purified Fp and G2s in patients with TAO, thyroid autoimmunity without ophthalmopathy and control patients and subjects, measured in ELISA.

Tableau 3. Prévalences des anticorps sériques qui réagissent avec des protéines purifiées Fp et G2s chez les patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), de la maladie auto-immune de la thyroïde sans signe d'ophtalmopathie et chez les patients témoins. Prévalences observées par Test ELISA.

Positive tests Positifs¹

<u>Group</u>	<u>Fp</u>	<u>G2s</u>
TAO < 1 yr/an	73% P < 0.001	54% P < 0.001
TAO > 3 yrs/ans	5% NS	33% NS
Graves' Hyperthyroidism/ Hyperthyroïdie de Graves	14% NS	36% NS
Hashimoto's Thyroiditis/ Thyroïdite d'Hashimoto	20% NS	54% P < 0.001
Normals/ Non malades	12%	11%

¹ Taken as OD > mean + 2SD for normals

¹ OD > moyenne + 2SD pour non malades.

Table 4. Prevalences of serum antibodies against dimethylglycine dehydrogenase, sarcosine dehydrogenase and flavine adenine dinucleotide in patients with TAO, thyroid autoimmunity without ophthalmopathy and control patients and subjects, measured in ELISA.

Tableau 4. Prévalences des anticorps sériques qui réagissent avec la diméthylglycine déshydrogénase, avec la sarcosine déshydrogénase et avec flavine-adénine-dinucléotide chez les patients affligés d'Ophtalmopathie reliée à la thyroïde (TAO), de la maladie auto-immune de la thyroïde sans signe d'ophtalmopathie et chez les patients témoins. Prévalences observées par Test ELISA.

Positive Tests Positifs¹

<u>Group</u>	<u>DMGDH</u>	<u>SarcDH</u>	<u>FAD</u>
TAO < 1 yr/an	20% NS	30% NS	10% NS
TAO > 3 yrs/ans	22% NS	15% NS	22% NS
Graves' Hyperthyroidism/ Hyperthyroïdie de Graves	23% NS	11% NS	0% NS
Hashimoto's Thyroiditis Thyroïdite d'Hashimoto	33% NS	40% NS	44% NS
Normals/Non malades	16%	24%	15%

¹ OD > mean + 2SD for normals. DMGDH = dimethylglycine dehydrogenase, SarcDH = sarcosine dehydrogenase, FAD = flavine adenine dinucleotide

¹ OD > moyenne + 2SD pour non malades. DMGDH = diméthylglycine déshydrogénase, SarcDH = sarcosine déshydrogénase, FAD = flavine-adénine-dinucléotide.

REFERENCES / BIBLIOGRAPHIE

1. Weetman, A.P., Medical Progress Graves' disease. *N Engl J Med* 343:1236-48, 2000.
2. Burch, H., Wartofsky, L., Graves'ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocr Rev* 14:747-93, 1993.
3. Yamada, M., Li, A. W., Wall, J. R., Thyroid-Associated Ophthalmopathy: clinical features, pathogenesis and management. *Crit Rev Clin Lab Sci* 37:523-49, 2000.
4. Solovyeva TP. 1989 Endocrine ophthalmopathies. Problems of rational classification. *Orbit* 3:193-198.
5. Bahn R. S., Understanding the immunology of Graves'ophthalmopathy. Is it an autoimmune disease? *Endocrinol Metab Clin North Am* 29:287-96, 2000.
6. Bahn, R.S., Dutton, C. M., Natt, N., Bahn, R.S., Dutton, C. <, Natt, N., Joba, W., Spitzweg, C., Heufelder, A. E., Thyrotropin receptor expression in Graves'orbital adipose/connective tissues: potential autoantigen in Graves'ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 83:998-1002, 1998.
7. Ludgate, M, Crisp, M., Lane, C., Costagliola, S., Vassart, G., Weetman A., Daunerie, C., Many, M.C., The thyrotropin receptor in thyroid eye disease. *Thyroid* 8:411-3, 1998.
8. Wall JR, Bernard N, Zhang ZG, Kennerdell J, Tyutyunikov A, Genovese. Pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy; an autoimmune disorder of the eye muscle associated with Graves' hyperthyroidism and Hashimoto's thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol* 68:1-8, 1993.
9. Kubota S, Gunji K. Ackrell BAC, Cochran B, Stolarski C, Wengrowicz S, Kennerdell J. S., Hiromatsu Y, Wall J R. The 64-kilodalton eye muscle protein is the flavoprotein subunit of mitochondrial succinate dehydrogenase: the corresponding serum antibodies are good markers of an immune-mediated damage to the eye muscle in patients with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 83:443-7, 1998.
10. Zhang ZG, Rodien P, Dong Q, Bernard NF, Salvi M, Miller A, Vassart G, Ludgate M, Wall JR, 1992. Autoantibodies in the serum of patients with autoimmune thyroid disorders react with a recombinant 98 amino acid fragment of a 64 kDa eye muscle recombinant protein which is also expressed in the thyroid. *Autoimmunity* 13:151-157.
11. Gunji K, Kubota S, Stolarski C, Wengrowicz S, Kennerdell JS, Salvi M, Wall JR, 1999 A 63 kDa skeletal muscle protein associated with eye muscle inflammation in Graves' disease is identified as the calcium binding protein calsequestrin. *Autoimmunity* 29:1-9.
12. Gunji K, De Bellis AM, Kubota S, Swanson J, Wengrowicz S, Cochran B, Ackrell B A, Salvi, M., Bellastella A, Bizzarro A, Sinisi A, Wall J R. Serum antibodies against the flavoprotein subunit of succinate dehydrogenase are sensitive markers of eye muscle autoimmunity in patients with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1255-1262, 1999.
13. Gunji K, Skolnick C, Bednarczuk T, Benes S, Ackrell BA, Cochran B, Kennerdell JS, Wall JR. 1998 Eye muscle antibodies in patients with ocular myasthenia gravis: possible mechanism for eye muscle inflammation in acetylcholine-receptor antibody-negative patients. *Clin Immunol Immunopathol* 87:276-81.
14. Gunji K, De Bellis A M, Li A W, Yamada M, Kubota S, Ackrell B, Wengrowicz S, Bellastella, A., Bizzarro A, Sinisi A, Wall J R. Cloning and characterization of the novel thyroid and eye muscle shared protein G2s: autoantibodies against G2s are closely associated with ophthalmopathy in patients with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1641-1647, 2000.
15. Chang TC, Chang TJ, Huang YS, Hua KM, Su Rj, Kao SCS. 1992 Identification of autoantigen recognized by autoimmune ophthalmopathy sera with immunoblotting correlated with orbital computed tomography. *Clin Immunopath.* 65:161-166.
16. Wall JR, Barsouk A, Stolarski C, Kiljanski J, Stachura I, Nebes V, Peele K, Volpe R, Kennerdell JS. Serum eye muscle and TSHr antibodies predicted the development of ophthalmopathy in a euthyroid subject with a family history of autoimmunity. *Thyroid* 6:353-358, 1996.
17. Wall J R, Archibald C, Kasper M, Li A W, Yamada M, De Bellis A M. Orbital antibodies and subclass of ophthalmopathy. *Proc Intl Symp on Thyroid-Associated Ophthalmopathy, Kyoto, Japan, October Thyroid (suppl) 2002 (in press).*
18. Bussutil, B. University of Melbourne, PhD thesis, 2001.
19. Hiromatsu Y, How J, Miller A, Guinard F, Salvi M, Wall JR 1988. A new thyroid cytotoxic antibody that cross reacts with an eye muscle cell surface antigen may be the cause of thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 67:575-570. 51.
20. Bednarczuk T, Hiromatsu Y, Inoue Y, Yamamoto K, Wall JR, Nauman J. T cell mediated immunity in thyroid-associated ophthalmopathy. *Proc Intl Symp on Thyroid Associated Ophthalmopathy, Kyoto, Japan, October 2000, Thyroid (suppl.) (in press).*
21. Kiljanski J, Nebes V, Wall JR. 1995 The ocular muscle is the target of the immune system in endocrine ophthalmopathy-pro *Intl Arch Allerg Immunol.* 106:204-212.
22. Many M C, Costagliola S, Detrait M, Deneff F, Vassart G, Ludgate M C. Development of an animal model of autoimmune thyroid eye disease. *J Immunol* 162:4966-74, 1999.
23. Costagliola S, Many MC, Stalmans Falys M, Vassart G, Ludgate M. Transfer of thyroiditis, with syngeneic spleen cells sensitized with the human thyrotropin receptor, to naive balb/c and nod mice. *Endocrinology* 137:4637-43.49, 1996.
24. Yamada M, Li AW, Chang C-H, Wall JR. Experimental model for thyroid-associated ophthalmopathy. Immune reactivity against the Thyrotropin Receptor and eye muscle antigens in BALB/c mice genetically immunized with G2s (submitted).
25. Yamada M, Li AW, Chang C-H, Wall JR. Enhanced immune reactivity against orbital antigens in outbred CD-1 mice genetically immunized with G2s and the Thyrotropin receptor (submitted).
26. Wall J R. Thyroid-associated ophthalmopathy; a personal opinion. *Thyroid (in press).*

*******ANNOUNCEMENT*******

Recently 100 appointments and five promotions within the Order of Canada were released.

Within the announcement, Governor General, Adrienne Clarkson published the name of Dr. Robert Volpé as an Officer of the Order.

Congratulations, Dr. Volpé !

SOURCES OF INFORMATION REGARDING THYROID CANCER

SOURCES D'INFORMATION SUR LE CANCER DE LA THYROÏDE

Cancer Connection, Canadian Cancer Society

Tel: Ontario, Nfld/Labrador:

1-800-263-6750

Tel: BC/Yukon/Saskatchewan:

1-888-939-3333

ThyCa: Thyroid Cancer Survivor's Assoc. Inc

PO Box 1545

New York, NY, 10159-1545 USA

Tel: 1-877-588-7904

Fax: 1-503-905-9725

Website: www.thyca.org

E-mail: thyca@thyca.org

The Light of life Foundation

Website: www.lightoflifefoundation.org

Thyroid Foundation of Canada

Tel: 1-800-267-8822

Fax: 613-544-9731

Website: www.thyroid.ca

The Head & Neck Cancer Foundation

2345 Yonge Street, Suite 700

Toronto ON M4P 2E5

Tel: 416-324-8178 Ext. 228

Fax: 416-324-9021

Website: www.headandneckcanada.com

Dr. Daniel Drucker

Toronto General Hospital

Website: www.mythyroid.com

***PUBLISHED WITH AN EDUCATIONAL GRANT FROM
THERAMED CORPORATION***