

Myastenia Graviste Antikora Bağımlı Hücreyel Aracılıklı Sitotoksisite Düzeylerinin Araştırılması

Uzm. Dr. Serap Özer

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Uzm. Dr. Berril Dönmez

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

Biyolog Özden Ülker

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı

Uzm. Dr. Murat Sayan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Hakkı Bahar

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ahmet Genç

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Egemen İdman

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

İletişim:

Berril Dönmez

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Nöroloji Anabilim Dalı

İnciraltı, İzmir

Tel: 0.232. 277 77 77 / 5439

Faks: 0.232. 277 77 21

e-mail: berildonmez@hotmail.com

37. Ulusal Nöroloji Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuştur.

Myastenia Graviste Antikora Bağımlı Hücresel Aracılıklı Sitotoksosite Düzeylerinin Araştırılması

ÖZET Myastenia gravis (MG) otoantikorlarca oluşturulan sıvısal immünitenin prototip hastalığı olarak bilinmektedir. Antikora bağımlı hücresel aracılıklı sitotoksitenin (ADCC) MG patogenezinde rol oynadığına ilişkin az sayıda çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada 30 MG'li hasta grubu ve 20 sağlıklı kontrol grubunun serum ADCC düzeyleri ölçülmüştür. ADCC'nin ölçümü için, 18 saat 51Cr salınım testi yapılmış, efektör hücre olarak sağlıklı insan kanından elde edilen mononükleer hücreler ve hedef hücre olarak insan embriyonal rbdomyosarkom hücre kültüründen elde edilen hücreler kullanılmıştır. ADCC düzeyleri hasta grubunda (ort % 43.9), kontrol grubundan (ort

%27.6) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Asetilkolin reseptör antikoru pozitif hastaların ADCC düzeyleri (ort % 57.4), asetilkolin reseptör antikoru negatif hastaların ADCC düzeylerine göre (ortalama: % 32.1) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Hastaların klinik durumu, timektomi yapılmış olması ve kortikosteroid ve/veya azatiopürin kullanmakta olmaları ADCC düzeylerinde anlamlı değişiklik oluşturmamıştır. Sonuç olarak bu çalışmada, ADCC'nin MG'de immunolojik bir mekanizma olarak rol aldığını ve asetilkolin reseptör antikollarının ADCC oluşmasında belirleyici olabileceğini destekleyen sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antikora bağımlı hücresel aracılıklı sitotoksosite, asetil kolin reseptör antikoru, myastenia gravis.

Investigation Of Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity Levels In Myasthenia Gravis

ABSTRACT Myasthenia gravis (MG) is known as prototype disorder of humoral immunity mediated by autoantibodies. A limited number of studies investigating the role of antibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) in pathogenesis of MG have contradictory results. In this study, the level of ADCC were measured in 30 patients with MG and 20 healthy individuals. The 18 hours 51Cr releasing test was used for measuring ADCC, effector cells were supplied from mononuclear cells of healthy individuals and target cells were supplied

from the cells obtained from embrional rhabdomyosarcom cell culture. The patients had significantly higher levels of ADCC (mean: 43.9 %) compared to control group (mean: 27.6 %) ($p<0.05$). The patients with acethylcholine receptor antibodies (mean: 57.4 %) had significantly higher levels of ADCC compared to the patients without acethylcholine receptor antibodies (mean: 32.1 %) ($p<0.01$). ADCC levels were not effected by clinical status, tymeotomy procedure, steroid and/or azathiopirin administration. In conclusion, ADCC might have a role in immunological mechanisms in MG, and AChR antibodies might have an effect on ADCC.

Key Words: Antibody dependent cell mediated cytotoxicity, acetylcholine receptor antibody, myasthenia gravis.

GİRİŞ

Sitotoksik potansiyeli olan hücrelerin, Fc reseptörleri aracılığıyla hedef hücre yüzeyindeki antijenlere bağlanmış antikora bağlanarak oluşturdukları sitotoksositeye antikora bağımlı hücresel aracılıklı sitotoksosite (antibody dependent cell mediated cytotoxicity ADCC) adı verilmektedir. Doğal öldürücü hücreler,

makrofajlar, monositler, nötrofiller ve eozinofiller gibi Fc reseptörüne sahip immün sistemin birçok değişik hücresi bu mekanizma ile etki gösterebilir (12,16,18,23). İmmün sistemin önemli bir mekanizması olan ADCC'nin primer miksedem, Hashimoto tiroiditi ve Grave's hastalığının etyopatogenezinde rol oynadığı saptanmıştır

(14,25). Myastenia gravis (MG) otoantikolarca oluşturulan sıvısal immünitenin prototip hastalığı olarak bilinmektedir (1,3,7,9,10,11,13). Antikora bağımlı hücrel aracılıklı sitotoksitenin MG patogenezinde rol alıp almadığına ilişkin az sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir (8,20,24,25).

Bu çalışmada ADCC'nin MG'de patojenik bir mekanizma olarak rol oynayıp oynamadığının ortaya konulması ve hastalardaki asetilkolin reseptör antikoru (AChR Ab) düzeyleri ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Anabilim Dalımız Kas Hastalıkları Polikliniğinde izlenen 30 MG hastasından alınan serum örnekleri kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri hastaların yazılı izinleri alınarak çalışmada kullanıldı. Hastalar klinik olarak Osserman sınıflaması (15), aldıkları sağaltım, asetilkolin reseptör antikoru varlığı ve timektomi yönünden değerlendirildi. Kontrol grubu oluşturmak amacıyla 20 sağlıklı gönüllüden alınan serum örnekleri kullanıldı. Toplanan kan örnekleri santirfüj edilerek serumları ayrıldıktan sonra kompleman inaktivasyonu için 56 °C'de 30 dk bekletildi ve daha sonra serum örnekleri -20 °C'de işlem için kullanılmaya dek saklandı. ADCC'nin ölçümü için 18 saat 51Cr salınım testi yapıldı. Effektör hücre olarak sağlıklı insan kanından elde edilen mononükleer hücreler kullanıldı, hedef hücreyi ise insan embriyonal rbdomyosarkom hücre kültüründen elde edilen hücreler oluşturdu.

Sitotoksiste ölçümü için hasta serumları PBS ile 1/5 oranında sulandırıldı. Deneysel salınımı ölçmek amacıyla hedef hücre/effektör hücre oranı 1/50 olacak şekilde 0.1 x 10⁶ konsantrasyondaki 50 µL hedef hücre ve 5 x 10⁶ konsantrasyondaki 50 µL efektör hücre 96 kuyucuklu plate'deki kuyucuklara konuldu ve üzerine 10 µL hasta serumu eklendi. Maksimum salınımı ölçmek amacıyla ayrı bir kuyucuğa 0.1 x 10⁶ konsantrasyondaki 50 µL hedef hücre konuldu. Aynı kuyucuğa 50 µL % 5 Triton X - 100 ve 10 µL RPMI 1640 eklendi. Spontan salınımı ölçmek amacıyla diğer bir kuyucuğa 50 µL hedef hücre ve 60 µL RPMI 1640 konuldu. Daha sonra 37 C'de 18 saat inkübasyon yapıldı ve inkübasyon

sonrası süpernatantlar tüplere alınarak gama sayacında okutuldu. ADCC (%) ölçümü aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$\frac{(\text{Deneysel Salınım} - \text{Spontan Salınım})}{\text{Maksimum Salınım} - \text{Spontan Salınım}} \times 100$$

İstatistiksel Değerlendirme:

Gruplar arasındaki sonuçların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. AChR Ab'u (+) ve (-) hastalarla kontrol grubu arasındaki testleri karşılaştırmak için önce Kruskal-Wallis varyans analizi yapıldı ve gruplar daha sonra Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışma Grupları

Hasta grubu 21 (% 70) kadın ve 9 (% 30) erkekten oluşmuştu ve ortalama yaş 45.4 olarak bulundu. Hastalık süresi 3 ay ile 36 yıl arasında değişirken, ortalama hastalık süresi 8.2 yıl olarak hesaplandı. Osserman sınıflamasına göre 7 hasta (%23.3) sınıf I, 8'i (% 26.7) sınıf II A ve 15'i (% 50) sınıf II B olmak üzere 23 hasta (76.7) sınıf II olarak tanımlandı. Sekiz hasta (% 26.7) yalnızca pridostigmin, 2 hasta (% 6.7) kortikosteroid ve 1 hasta (% 3.3) da azatiopürin olmak üzere tek ilaç almaktaydı. Geri kalan 19 hasta (% 63.3) pridostigmine ek olarak kortikosteroid ve/veya azatiopürin sağaltımı görmekteydi. Hastaların 14'ünün (% 46) AChR Ab'unun pozitif, 16'sının (% 54) ise negatif olduğu saptandı. Hastaların 5'ine timektomi yapılmıştı. 11 erkek (% 55), 9 kadından (% 45) oluşan kontrol grubunun yaşları 24-60 arasında olup, ortalama yaş 41.1 olarak saptandı. Hastaların klinik özellikleri **tablo 1**'de sunulmuştur.

51Cr Salınım Testi Sonuçları

Çalışmaya alınan 30 MG hastasının ADCC'yi gösteren sitotoksik etkisi (minimum: % 16.6, maksimum: % 92.0, ortalama: % 43.9), kontrol grubunun ortalama değerlerinden (minimum: %3.1, maksimum: % 45.2, ortalama: % 27.6) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.004). **Grafik 1**'de MG hastaları ve kontrol grubunun sitotoksiste değerleri ve

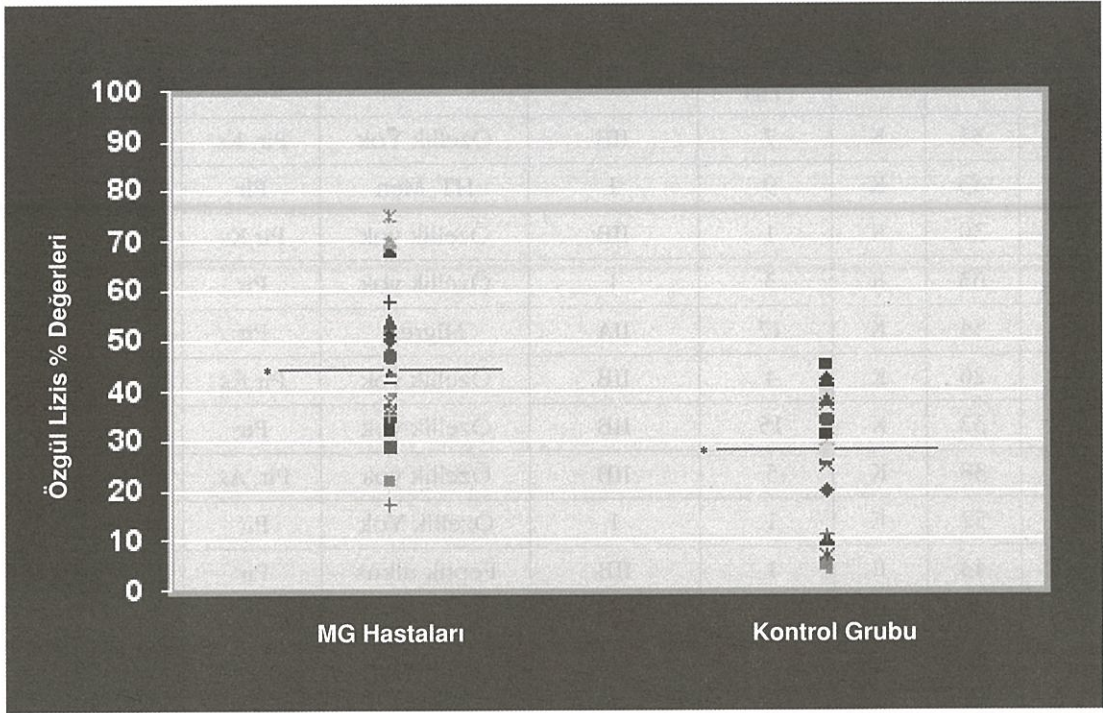
Tablo 1: Çalışmaya alınan miyastenia gravis hastalarının özellikleri.

| Hasta | Yaş | Cins | Hastalık Süresi (Yıl) | Osserman Sınıflaması | Özgeçmiş | Aldığı Tedavi | AChR Ab | Timektomi |
|-------|-----|------|-----------------------|----------------------|--------------|---------------|---------|-----------|
| 1.MB | 35 | K | 7 | IIB | Özellik Yok | Pir, Ks | + | - |
| 2.SK | 43 | K | 9 | I | HT, Men | Pir | - | - |
| 3.AY | 30 | K | 1 | IIB | Özellik yok | Pir,Ks | - | - |
| 4.NT | 63 | K | 3 | I | Özellik yok | Pir | - | - |
| 5.SE | 54 | K | 17 | IIA | Migren | Pir | - | - |
| 6.GP | 26 | K | 4 | IIB | Özellik yok | Pir,Ks | - | - |
| 7.ES | 32 | K | 15 | IIB | Özellik yok | Pir | + | - |
| 8.DY | 38 | K | 5 | IIB | Özellik yok | Pir, Az | + | - |
| 9.OÖ | 52 | E | 1 | I | Özellik Yok | Pir | + | + |
| 10.NT | 43 | E | 1 | IIB | Peptik ulkus | Pir | - | - |
| 11.MB | 56 | K | 23 | IIB | Hipertiroidi | Pir,Ks,Az | + | + |
| 12.GA | 39 | K | 4 | I | Özellik yok | Pir, Ks | - | - |
| 13.NY | 33 | K | 1 | I | Özellik yok | Ks | - | - |
| 14.BK | 45 | K | 3 | IIA | Kolesist. | Pir,Ks | - | - |
| 15.JA | 29 | K | 7 | IIA | Bruselloz | Aza,Ks | + | - |
| 16.NG | 27 | K | 2 | IIA | Özellik yok | Pir,Ks | + | - |
| 17.HT | 54 | K | 2 | IIB | HT | Pir, Az | - | - |
| 18.YA | 39 | E | 5 | IIB | Özellik yok | Pir, Ks | + | + |
| 19.HA | 59 | E | 7 | I | Özellik yok | Pir,Ks | - | - |
| 20.SE | 26 | K | 11 | IIB | Özellik yok | Ks | + | + |
| 21.NA | 33 | E | 2 | IIA | Özellik yok | Pir, Ks | - | - |
| 22.MÇ | 61 | K | 36 | IIA | Hep, RA | Pir, Ks | + | - |
| 23.ŞE | 64 | E | 30 | IIB | Özellik yok | Az | + | - |
| 24.NA | 75 | E | 8 | IIB | Özellik yok | Pir,Ks,Az | - | - |
| 25.GS | 41 | K | 15 | IIA | Ast. Migren | Pir | - | - |
| 26.NP | 61 | K | 3 | IIA | Hipotiroidi | Pir | + | + |
| 27.NY | 53 | K | 5 | IIB | Özellik yok | Pir,Ks,Az | - | - |
| 28.SK | 43 | E | 5 | I | MNG | Pir, Ks | - | + |
| 29.KA | 42 | K | 11 | IIB | Özellik yok | Pir,Ks,Az | + | - |
| 30.YY | 66 | E | 5 | IIB | Peptik ulkus | Pir,Ks,Az | + | - |

(Kısaltmalar;

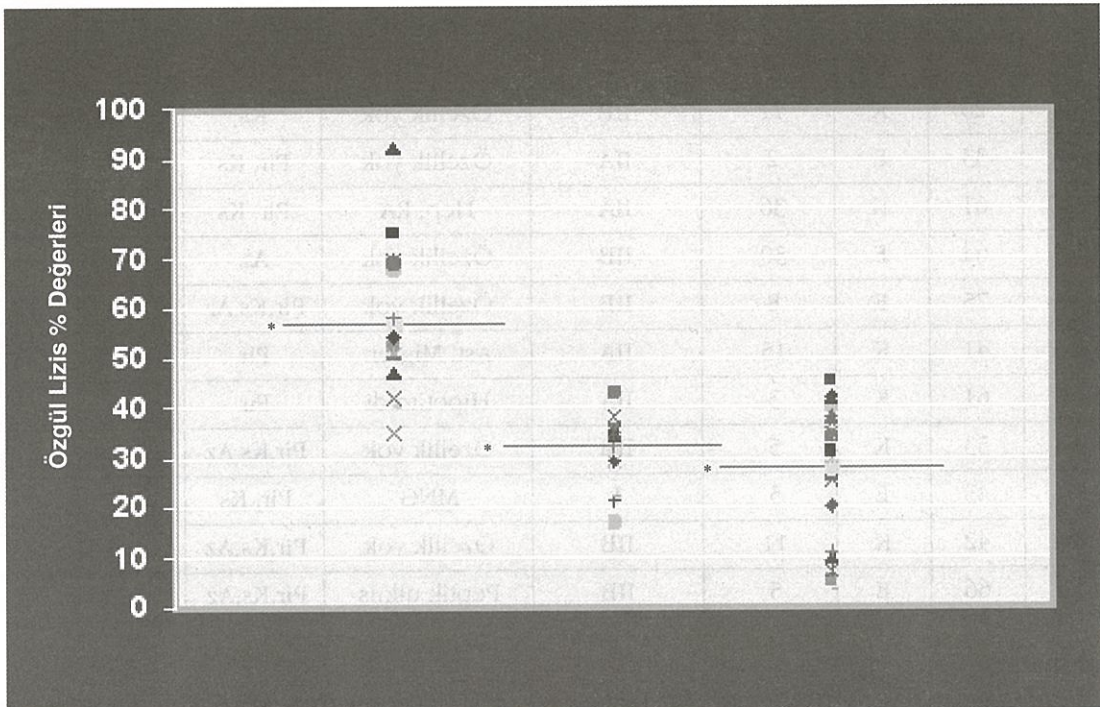
Pir: Piridostigmin, **Ks:** Kortikosteroid, **Az:** Azatiopürin, **HT:** Hipertansiyon, **MNG:** Multinodüler guatr, **RA:** Romatoid artrit, **Men:** Menenjit, **Kolesist:** Kolesistektomi, **Ast:** Astım.)

Grafik 1: MG hastalarıyla Kontrol Grubunun Özgül Lizis % değerlerinin Karşılaştırılması



* Mavi Çizgiler Ortalama Değerleri Göstermektedir

Grafik 2: AChR AB (+) ve (-) MG Hastalarıyla Kontrol Grubunun Özgül Lizis % Değerlerinin Karşılaştırılması



* Mavi Çizgiler Ortalama Değerleri Göstermektedir

ortalamaları görülmektedir.

Asetilkolin reseptör antikoru pozitif MG hastalarının özgül lizis % değerleri (minimum: % 34.5, maksimum: % 92, ortalama: % 57.4), AchR Ab'u negatif MG hastalarının özgül lizis % değerlerinden (minimum: % 16.6, maksimum: % 43.5, ortalama: % 32.1) ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. (p=0.000). AchR Ab'u negatif MG hasta grubu ile kontrol grubunun sitotoksik etki sonuçlarının karşılaştırılmasında ise anlamlı fark saptanmadı (p=0.534). **Grafik 2'**de AchR Ab'u pozitif ve negatif MG hastaları ve kontrol grubunun özgül lizis % değerleri görülmektedir.

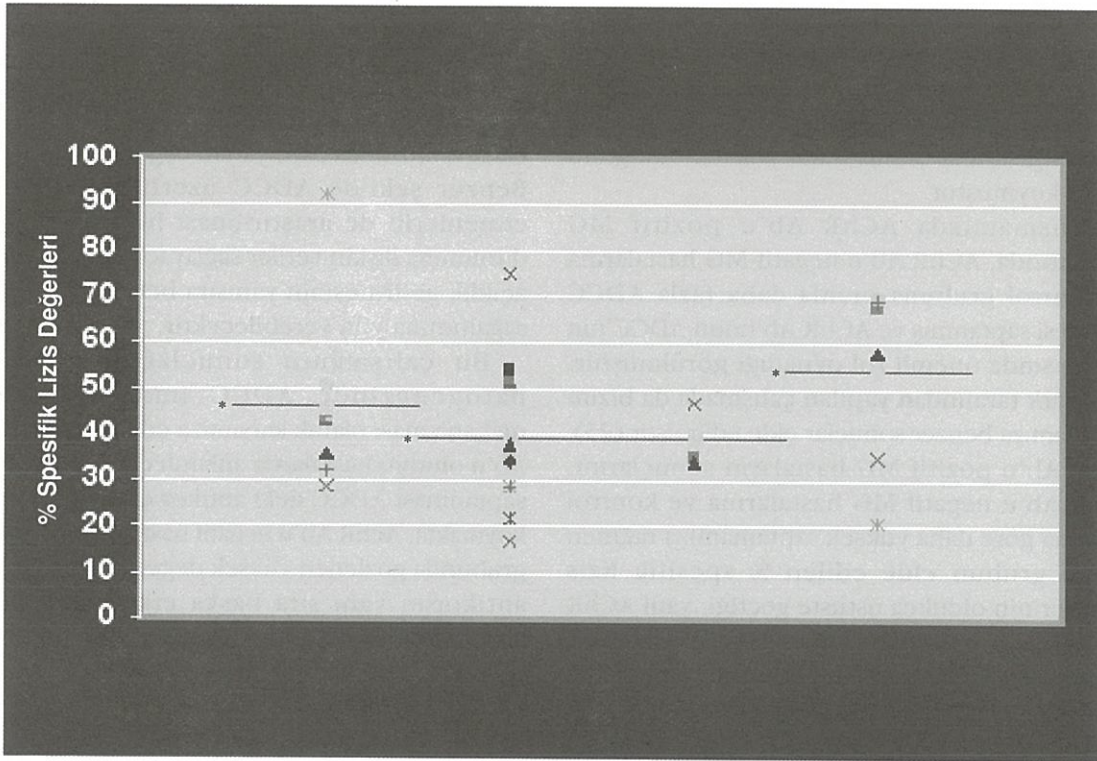
Osserman sınıflamasına göre sınıf I olarak değerlendirilen 7 hastanın özgül lizis % değeri sonuçları (Minimum: %21.7, Maksimum: %51.3, Ortalama: %35.9), sınıf II olarak değerlendirilen 23 hastanın sonuçları (Minimum: %16.6, maksimum: %92.0, Ortalama: %46.1) ile karşılaştırıldığında sınıf I hastaların ortalamasının sınıf II hastalarına göre daha düşük olduğu görülmüş, ancak bu iki grup arasında istatistiksel

fark saptanmamıştır (p=0.226).

Sağaltım amacıyla timektomi uygulanan hastaların özgül lizis % değerleri minimum: % 42.3, maksimum: % 68.2, ortalama: % 53.1 olarak bulundu. Timektomi olan hastalarımızın tümünde AchR Ab'u pozitif. Bu hastaların lizis değerleri timektomi yapılmayan, AchR Ab'u pozitif hastaların özgül lizis % değerleriyle (minimum: % 34.5, maksimum: % 92.0, ortalama: % 59.7) karşılaştırıldı. Timektomi yapılan hastaların sitotoksik etkilerinin ortalama değeri timektomi yapılmayan hastalara oranla daha düşük saptandı. Ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.518).

Hastaların kullandıkları ilaçların ADCC'ye etkisini saptamak için yaptığımız değerlendirmede sadece asetilkolinesteraz inhibitörü sağaltımı gören MG hastalarının ADCC ölçümleri ile immün baskılayıcı sağaltım gören MG hastalarının ADCC ölçümleri arasında bir fark saptamadık (p>0.05). **Grafik 3'**te hastaların aldıkları sağaltıma göre sitotoksikite sonuçlarının karşılaştırılması görülmektedir.

Grafik 3: MG Hastalarının Özgül Lizis % Değerlerinin Uygulanan Sağaltıma Göre Karşılaştırılması



(Kısaltmalar: **Pir:** Piridostigmin, **KS:** Kortikosteroid, **Az:** Azatiopürin)

* Mavi Çizgiler Ortalama Değerleri Göstermektedir

TARTIŞMA

Myastenia gravis, patogeneğinde otoantikorların rol aldığı otoimmün bir hastalıktır. Hastaların %70-80'inin serumlarında kas sinir bileşkesindeki nikotinik asetilkolin reseptörlerine karşı oluşan otoantikorlar saptanmakta ve bu antikorların hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir (3,5,9,10,11,13). ADCC'nin ise MG hastalığındaki etkinliğine ilişkin yapılan az sayıda araştırmada farklı sonuçlar elde edilmiştir. MG'li hastalarda ADCC aktivitesinin azalmış olduğunu (8) ve kontrollerden farksız olduğunu (20,24) belirten çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalarda hastaların kendi antikorları kullanılmadığı için, hastaların ADCC aktivitesini ve hastaların kendi antikorlarının oluşturacağı sitotoksisteyi yansıtmadığı düşüncesindeyiz. Bizim çalışmamızı, az sayıda da olsa, bu konuda yapılmış diğer çalışmalardan ayıran en önemli özellik MG'li hasta serumlarının kullanılmasıdır. MG'li hastalarda ADCC aktivitesinin arttığını gösteren tek çalışma Xu ve ark tarafından 99 MG'li hasta ve 28 kontrol grubundan elde edilen serumlarla yapılan çalışmadır (25). Bu çalışmada da bizimkine benzer şekilde efektör hücreler sağlıklı kişilerden elde edilmiş, antikor olarak MG'li hasta serumları, hedef hücre olarak da insan embriyonel rabdomyosarkom hücre hattından elde edilen hücreler kullanılmıştır. Bizim çalışmamız da ADCC aktivitesinin MG hastalarında kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmamızda AChR Ab'u pozitif MG hastalarında, AChR Ab'u negatif MG hastalarına ve kontrol grubuna oranla daha fazla ADCC aktivitesi saptanmış ve AChR Ab'unun ADCC'nin oluşmasında önemli rol oynadığı görülmüştür. Xu ve ark tarafından yapılan çalışmada da bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir (25). AChR Ab'u pozitif MG hastaların sonuçlarını, AChR Ab'u negatif MG hastalarına ve kontrol grubuna göre daha yüksek saptamamıza rağmen bu üç grubun elde edilen % spesifik lizis değerlerinin oldukça üstüste geçtiği, yani AChR Ab'u negatif MG hastalarında ve kontrol grubunda yüksek ADCC aktivitesi değerlerinin olduğu, ya da AChR Ab'u pozitif MG hasta grubunda düşük ADCC aktivitesi değerlerinin olduğu görülmektedir. Bu da bize AChR Ab pozitifliğinin yanısıra, başka faktörlerin de ADCC aktivitesinin

oluşmasında etken olabileceğini düşündürmüştür. Xu ve ark. (25) tarafından serum örneğiyle oluşan sitotoksistenin, saflaştırılmış Ig G örnekleriyle oluşan sitotoksisteye göre daha yüksek bulunması AChR Ab'u yanında başka faktörlerin de ADCC oluşmasında etken olduğunu göstermektedir. Bu etkenlerden biri asetilkolin reseptörlerine karşı gelişen Ig G tipi antikorlar dışında diğer otoantikorlar ve sitokinlerin de ADCC aktivitesinin oluşmasında rol alabilmesidir (2,6,8,17,21,22). Ayrıca AChR Ab'u negatif hastalarda ADCC aktivitesinin yüksek çıkabilmesinin nedenlerinden biri de, bu hastalarda saptanamayan antikorların varlığı olabilir. Seronegatif MG olarak adlandırılan bu hastalarda var olan bazı antikorlar düşük serum düzeylerinden dolayı saptanamayabilir (4,6,19,26). Yine immün baskılayıcı tedavi 1 yıldan daha fazla uygulandığında antikor üretimini saptanamayacak düzeylere düşürebilir (6). Bu sonuçlar, ADCC'de asetil kolin Ab'unun yanısıra başka etkenlerin de rol oynayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda hastaların klinik durumunun, timektomi yapılmış olmasının ve kortikosteroid ve/veya azatiopürin kullanmakta olmalarının ADCC düzeylerinde anlamlı değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır. Ancak ADCC aktivitelerinin timektomi öncesi ve sonrası dönemlerde ve yine immün baskılayıcı sağaltım öncesi ve sonrası dönemlerde değerlendirilmesi, ilaçların ve timektominin ADCC üzerine olan etkisi konusunda daha yararlı bilgiler sağlayacaktır. Benzer şekilde ADCC üzerine etkili diğer etmenlerin de araştırılması her bir hastanın durumuna ilişkin veriler sağlayacağından, konuya açıklık getirmesinin yanısıra belki de hastaların sağaltımına yön verebilecektir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre MG patogeneğinde ADCC immün bir etki mekanizması olarak karşımıza çıkmaktadır. AChR Ab'u olumlu hastalarda anlamlı derecede yüksek saptanması ADCC'deki antikor etkinliğini ortaya koymakta, AChR Ab'u negatif hastalarda ve kontrol grubunda gözlenen yüksek değerler ise ADCC'de antikorun yanı sıra başka etkenlerin de rol alabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Beekman R, Kuks JB, Oosterhuis HJ. Myasthenia gravis: diagnosis and follow-up of 100 consecutive patients. *J Neurol*-1997; 244: 112-118.
2. Capsoni F, Minonzio F, Ongari AM, et al. Interleukin-10 down-regulates oxidative metabolism and antibody-dependent cellular cytotoxicity of human neutrophils. *Scand J Immunol*-1997; 45:269-75
3. De Baets M, Stassen MHW. The role of antibodies in myasthenia gravis. *J Neurol Sci*-2002; 202: 5-11.
4. Drachman DB. Myasthenia Gravis. *N Eng J Med*-1994; 330:1797-810
5. Giraud M, Beaurain G, Yamamoto AM, et al. Linkage of HLA to myasthenia gravis and genetic heterogeneity depending on anti-titin antibodies. *Neurology*-2001; 57(9):1555-1560.
6. Gooch CL. Myasthenia and Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome. In *Neuroimmunology for the Clinician*, Rolak RA, Harati Y (eds). Butterworth-Heinemann, USA 1997, pp: 263-299
7. Heidenreich F, Vincent A, Willcox N, et al. Antiacetylcholine receptor antibody specificities in serum and tymphic cell culture supernatants from myasthenia gravis patients. *Neurology*-1988; 38:1784
8. Kalden JR, Lohmann H, Peter HH, et al. Antibody dependent cellular cytotoxicity and B and T cell activity in the peripheral blood of myasthenia gravis patients. *Ann N Y Acad Sci*-1976; 274: 421-433.
9. Kostera-Pruszczyk A, Emeryk-Szajewska B, Switalska J, et al. Clinical, electrophysiological and immunological remissions after thymectomy in myasthenia gravis. *Clin Neurophysiol*-2002; 113: 615-619.
10. Lefvert AK, Bergström K, Matell G, et al. Determination of acetylcholine receptor antibody in myasthenia gravis: clinical usefulness and pathogenetic implications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*-1978; 41: 394-403.
11. Lennon VA, Griesmann GE. Evidence against acetylcholine receptor having a main immunogenic region as target for autoantibodies in myasthenia gravis. *Neurology*-1989; 39: 1069-1076.
12. Male D, Cooke A, Owen M, et al.(eds). *Cytotoxic effector cells*. In *Advanced Immunology*, 1st edn. Mosby, Italy, 1996. pp: 15.1-15.13.
13. Maselli RA, Richman DP, Wollmann RL. Inflammation at the neuromuscular junction in myasthenia gravis. *Neurology*-1991; 41(9): 1497-1504.
14. Metcalfe RA, Oh YS, Stroud C, et al. Analysis of antibody dependent cell-mediated cytotoxicity in autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*-1997; 25: 65-72.
15. Osserman KE. Clinical aspects. In: Osserman KE, ed. *Myasthenia gravis*. New York, NY: Grune & Stratton, 1958: 79-80.
16. Peakman M, Vergani D (eds). *Cellular immune responses: T lymphocytes, antigen presentation and natural killers*. In *Basic and Clinical Immunology*, 1st edn. Churchill Livingstone, Hong Kong, 1997, pp: 81-109.
17. Perussia B, Dayton ET, Lazarus R. Immun iterferon iduces the receptor for monomeric Ig G1 on human monocytes and myeloid cells. *J Exp Med*-1983; 158:1092-113
18. Roitt IM (ed). *The basis of immunology*. In *Essential Immunology*, 6th edn. ELBS-Blackwell Scientific Publications, Hong Kong, 1988. pp: 2-29.
19. Sano M, Lambert EN, McCormick DJ, et al. Muscle acetylcholine receptors complexed with autologous Ig G reflect seropositivity but not necessarily in vivo binding. *Neurology*-1992; 42:218
20. Scadding GK, Thomas HC, Havard CWH. The immunological effects of thymectomy in myasthenia gravis. *Clin Exp Immunol*-1979; 36: 205-213
21. te Velde AA, de Waal M, Huijbens RJF, et al. IL-10 stimulates monocyte FcR surface expression and cytotoxic activity: distinct regulation of antibody dependent cellular cytotoxicity by IFN-, IL-4 and IL-10. *J Immunol*-1992; 149:4048-52
22. te Velde AA, Huijbens RJF, de Vries JE, et al. IL-4 decreases FcR membrane expression and FcR-mediated cytotoxic activity of human monocytes. *J Immunol*-1990; 144:3046-51
23. Tyor WR. *Fundamentals of Immunology*. In *Neuro-Immunology for the Clinician*, Rolak RA, Harati Y (eds). Butterworth-Heinemann, USA, 1997, pp: 3-31
24. Wijermans P, Oosterhuis HJGH, Astaldi GCB, et al. Influence of adult thymectomy on immunocompetence in patients with myasthenia gravis. *J Immunol*-1980; 124 (4): 1977-1982.
25. Xu BY, Pirskanen R, Lefvert AK. Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity. An additional mechanism in human autoimmune myasthenia gravis. *J Neuroimmunol*-1999; 99: 183-188.
26. Yamamoto T, Vincent A, Ciulla TA, et al. Seronegative myasthenia gravis: A plasma factor inhibiting agonist-induced acetylcholine recptor function copurifies with Ig M. *Ann Neurol*-1991; 30:550-7

