

Il proteoma autoanticorpale nella diagnosi preclinica delle malattie autoimmuni

N. Bizzaro

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Tolmezzo-Gemona (UD)

Riassunto

Negli ultimi anni, studi sia retrospettivi che prospettici hanno dimostrato che numerosi anticorpi sono presenti nel siero di soggetti asintomatici, da alcuni a molti anni prima che insorgano i primi sintomi di una malattia autoimmune. L'impiego di sistemi a determinazione anticorpale multipla potrebbero perciò essere usati per screening preventivi di popolazioni aperte o di gruppi a rischio, con importanti implicazioni pratiche (diagnosi precoce e trattamento) e un corretto rapporto costo-beneficio. I metodi a determinazione multipla di cui oggi disponiamo sono costituiti tuttavia da profili limitati a pochi autoanticorpi. In un prossimo futuro le tecnologie proteomiche potranno consentire lo sviluppo di test a determinazione multipla costituiti da decine o centinaia di peptidi antigenici, consentendo così la definizione di profili autoanticorpali malattia specifici e probabilmente anche un approccio terapeutico individualizzato.

Summary

Proteomic technology for preclinical diagnosis of autoimmune diseases

Both retrospective and prospective studies have shown clearly that disease specific autoantibodies can be detected months to several years before clinical manifestation of the corresponding disease. Multiple autoantibody determination systems can prospectively be used for preventive screening of open populations or at-risk groups, with significant practical implications (earlier diagnosis and treatment). Proteomic-based technology meets these requirements and could enable detection of autoantibody signatures able to drive the development and selection of antigen-specific therapies for autoimmune diseases. However, practical and ethical aspects should be carefully considered before these methods are used in clinical practice.

Key words. Autoantibody, Prediction, Proteomics, Review.

Introduzione

L'eziologia della maggior parte delle malattie autoimmuni non è ancora stata chiarita, ma le cause che conducono allo sviluppo di una malattia autoimmune sono certamente molteplici. Esiste di sicuro una predisposizione genetica, ma nel corso della vita intervengono fattori esogeni di differente natura (agenti infettivi, sostanze chimiche, ecc.) che scatenano il processo autoimmune¹. Una caratteristica importante di molte malattie autoimmuni è costituita dalla possibilità che autoanticorpi malattia-specifici possano essere rilevati già in fase presintomatica^{2,3}. A differenza dei marcatori genetici che mostrano soltanto una generica predisposizione allo sviluppo di malattia, la comparsa di autoanticorpi specifici è collegata con i processi autoimmuni che possono condurre alla successiva insorgenza della malattia corrispondente.

La domanda che allora sorge spontanea è come, quando e in quali soggetti questi autoanticorpi debbano essere

ricercati per una diagnosi precoce o come predittori di rischio dello sviluppo di una malattia autoimmune.

La ricerca di autoanticorpi nei soggetti asintomatici

Sia studi retrospettivi che prospettici hanno indicato chiaramente che autoanticorpi specifici per alcune malattie autoimmuni possono essere rilevati da mesi a parecchi anni prima delle manifestazioni cliniche. Gli studi retrospettivi su popolazione non selezionata (molto simili perciò agli studi di screening) richiedono però che i sieri dei pazienti siano disponibili prima che compaiano le manifestazioni cliniche. Per questo motivo, gli studi retrospettivi sono pochi. Finora ci sono vasti studi soltanto per autoanticorpi nel LES, nell'artrite reumatoide e nelle malattie infiammatorie croniche intestinali^{4,6}, nei quali gli autori hanno usato una banca sieri creata in precedenza per altri scopi.

Gli studi prospettici sono più numerosi ma sono stati

fatti soprattutto nei gruppi a rischio. L'importanza del valore predittivo degli autoanticorpi nella popolazione aperta e l'efficacia di studi di screening in individui asintomatici deve perciò ancora essere dimostrata. Anche se è innegabile, dai dati di cui già oggi disponiamo, che il riscontro di autoanticorpi in soggetti asintomatici possa dare indicazioni sulla presenza anche in forma latente di un processo patologico autoimmune già in atto, al momento attuale, considerata la bassa prevalenza di molte malattie autoimmuni nella popolazione generale (< 1%), è incerto se sia utile o produttivo sottoporre a screening la popolazione generale.

La ricerca di autoanticorpi nei soggetti a rischio

Come abbiamo visto, un rischio aumentato di sviluppare malattie autoimmuni è legato innanzitutto a fattori genetici. I familiari di primo grado di pazienti con malattie autoimmuni (genitori, figli, fratelli o sorelle di individui affetti) hanno infatti un elevato rischio di sviluppare la stessa o altre malattie autoimmuni, come è stato dimostrato nei parenti dei pazienti con diabete di tipo 1, con malattia di Crohn o con malattia celiaca^{7,8}.

Potrebbe perciò essere utile esaminare pazienti a rischio o gruppi di pazienti, come quelli che presentano sintomi, come il fenomeno di Raynaud, che possano far pensare ad una fase precoce di malattia autoimmune; pazienti con positività anticorpale riscontrata per caso; pazienti affetti da una malattia autoimmune per la quale è stato dimostrato un rischio aumentato di associazione con altre malattie autoimmuni; familiari di pazienti con malattia autoimmune e, forse, considerata la diversa incidenza delle malattie autoimmuni nelle donne rispetto agli uomini, la popolazione femminile dall'età della pubertà⁹.

Il significato predittivo degli autoanticorpi e le strategie diagnostiche

Nonostante molti studi abbiano dimostrato che autoanticorpi specifici sono rilevabili in fase preclinica e indichino un rischio aumentato di sviluppare la malattia autoimmune corrispondente, questi anticorpi vengono ancora raramente utilizzati nella valutazione del rischio. Il limite attuale sta nel numero limitato di autoanticorpi che i metodi di determinazione multipla di cui oggi disponiamo sono in grado di analizzare¹⁰. Per poter determinare il rischio reale di sviluppo di una malattia autoimmune e sviluppare strategie per una diagnosi e una terapia precoce sono necessari studi prospettici su larga scala utilizzando tecnologie affidabili e in grado non solo di esaminare un elevato numero di anticorpi, ma anche di effettuare centinaia o migliaia di tests in tempi molto rapidi.

Le tecnologie proteomiche

La proteomica che studia l'espressione, la funzione e l'interazione di un gran numero di proteine sembra rappresentare il metodo di ricerca più completo per lo studio e la comprensione di alcune malattie non solo in campo immunologico, ma anche oncologico, infettivologico, ecc. La proteomica consente infatti l'analisi contestuale di centinaia di anticorpi diversi utilizzando quantità minime di sangue e si adatta perciò molto bene ad essere impiegata in studi

epidemiologici o di screening.

I requisiti ideali di una tecnologia proteomica a scopo predittivo dovrebbero essere: a) consentire la determinazione simultanea di almeno 25-30 autoanticorpi diversi, scelti tra quelli che hanno dimostrato un chiaro significato predittivo; b) essere capaci di individuare contemporaneamente isotipi anticorpali multipli che, in alcuni casi, possono aumentare la sensibilità diagnostica del test; c) essere basati su un sistema di rilevazione ad alta sensibilità e specificità analitica; d) essere completamente automatizzati e ad alta produttività; e) avere costi non superiori a quelli dei metodi attualmente disponibili⁹.

Sistemi diagnostici che utilizzino la proteomica per la rilevazione anticorpale multipla potrebbero giocare un ruolo cruciale permettendo l'identificazione di profili autoanticorpali malattia specifici che, associati al profilo clinico di ogni singolo paziente, potranno probabilmente consentire anche un approccio terapeutico individualizzato.

Aspetti etici della predittività autoanticorpale

Prima che si possa pensare di utilizzare i test autoanticorpali per predire ad un paziente il suo rischio futuro di sviluppare una malattia autoimmune, molti aspetti etici e pratici devono essere attentamente considerati:

a) Ha veramente senso ed è utile ricercare autoanticorpi per la diagnosi in fase preclinica di malattie per le quali non esiste trattamento?

Sicuramente non è pensabile di trattare individui con autoanticorpi presenti se non ci sono altri segni di sviluppo di una malattia autoimmune. Tuttavia, in alcuni casi ci sono indicazioni ad adottare una terapia immunosoppressiva o immunomodulante non appena compaiano i primi sintomi, anche se i criteri diagnostici di una determinata malattia autoimmune non sono ancora completamente presenti. Con una strategia di questo tipo, la prognosi e la qualità della vita dei pazienti potrà essere migliorata significativamente, come mostrato molto chiaramente dalla terapia precoce dell'artrite reumatoide.

b) Anche in assenza di una terapia specifica, la capacità di predizione sarà comunque efficace qualora possano essere adottate misure preventive, come le raccomandazioni ad evitare l'esposizione ai raggi ultravioletti, l'assunzione di determinati farmaci, l'esposizione professionale ad alcune sostanze chimiche, l'uso di contraccettivi orali o di particolari vaccini che possano esporre gli individui con anticorpi presenti ad un maggior rischio di malattia autoimmune.

c) La presenza di un determinato autoanticorpo non significa che il soggetto svilupperà la malattia, ma conferisce solo una probabilità di rischio.

d) Vi è la concreta possibilità che la positività per determinati autoanticorpi possa essere causa di discriminazione sociale o da parte di datori di lavoro, compagnie assicurative, ecc.

e) Inoltre, poichè nessun metodo analitico è dotato di specificità assoluta e poichè nessun autoanticorpo ha un valore predittivo positivo del 100%, valutazioni più approfondite devono necessariamente essere condotte sull'accuratezza diagnostica dei nuovi metodi, dal momento che le caratteristiche dei metodi hanno un'importante influenza sul loro valore predittivo. In particolare, il va-

lore predittivo varierà molto in base alla prevalenza della malattia indagata e alla probabilità pretest. Perciò mentre potrebbe essere vantaggioso esaminare popolazioni selezionate, come i familiari di primo grado di un paziente affetto o gli individui già affetti da una malattia autoimmune, tale strategia potrebbe non rivelarsi applicabile alla popolazione generale che è a rischio molto più basso di malattia².

Conclusioni

La Medicina e il concetto stesso di salute hanno subito un grande cambiamento negli ultimi anni: dal diagnosticare le malattie alla comparsa dei primi sintomi siamo passati rapidamente alla Medicina preventiva. In questo senso, le capacità predittive degli autoanticorpi potrebbero rivestire un ruolo importante e forse tra una decina d'anni la richiesta del profilo anticorpale diventerà parte integrante degli esami eseguibili per una valutazione dello stato di salute del paziente.

In questa fase di grande cambiamento nell'approccio di Laboratorio alla diagnosi delle malattie autoimmuni, i cui effetti saranno più evidenti tra qualche anno, si delinea un aspetto positivo che coinvolge direttamente il patologo clinico. La complessità dei risultati ottenuti con le tecnologie proteomiche comporterà infatti che la loro interpretazione clinica sia sempre più dipendente dalla Medicina di Laboratorio. Saranno perciò necessari patologi con elevata competenza clinica, capaci di trasformare i risultati ottenuti con le tecnologie proteomiche in informazioni cliniche e condividere quindi con i clinici la responsabilità di richieste appropriate e di un corretto utilizzo dei dati di Laboratorio.

Bibliografia

1. Shoenfeld Y, Blank M, Abu-Shakra M, Amital H, Barzilai O, Bizzaro N, et al. The mosaic of autoimmunity: prediction, autoantibodies, and therapy in autoimmune diseases. *Isr Med Assoc J* 2008; 10:13-9.
2. Scofield RH. Autoantibodies as predictors of disease. *Lancet* 2004; 383:1544-6.
3. Bizzaro N. Autoantibodies as predictors of disease: The clinical and experimental evidence. *Autoimm Rev* 2007; 6:325-33.
4. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield H, Dennis GJ, James JA, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349:1526-33.
5. Israeli E, Grotto I, Gilburd B, Balicer RD, Goldin E, Wiik A, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel diseases. *Gut* 2005; 54:1232-6.
6. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2741-9.
7. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Erlich HA, Norris JM, et al. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3896-902.
8. Seibold F, Stich O, Hufnagl R, Kamil S, Scheurlen. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel disease: a family study. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 196-201.
9. Bizzaro N, Tozzoli R, Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum* 2007; 56:1736-44.
10. Tozzoli R. Recent advances in diagnostic technology and their impact in autoimmune diseases. *Aut Rev* 2007; 6:334-40.