

Il valore predittivo degli autoanticorpi: evidenze cliniche e sperimentali

N. Bizzaro

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile, Tolmezzo (UD)

Riassunto

Nella storia naturale delle malattie autoimmuni sia reumatiche che organo-specifiche, numerosi autoanticorpi possono essere rilevati molti anni prima della comparsa dei primi sintomi e della diagnosi clinica. Le nuove tecniche di indagine multiplex e di microarray in grado di determinare contemporaneamente numerosi anticorpi diversi potranno consentire di ottenere profili autoanticorpali molto estesi e probabilmente di effettuare screening di popolazione, creando tuttavia problemi di interpretazione dei risultati positivi e ponendo aspetti di ordine etico. L'accuratezza diagnostica dei metodi di indagine è un punto cruciale: sarà fondamentale utilizzare metodi con elevata specificità diagnostica per ridurre al minimo i risultati falsi positivi.

Questa rassegna prende in esame i diversi autoanticorpi e le patologie ad essi associate, per i quali è stato dimostrato un ruolo nel predire lo sviluppo di una malattia autoimmune.

Summary

The predictive value of autoantibodies for autoimmune diseases.

Based on the natural history of both rheumatic and organ-specific autoimmune diseases, many antibodies can be observed years before the appearance of the first symptoms and clinical diagnosis. The new multiplex and microarray diagnostic techniques, capable of the simultaneous detection of several different antibodies, will enable in the near future to obtain very wide antibody profiles and conduct large population screenings. At the same time, however, it would create problems related to the interpretation of positive results in asymptomatic patients, and also of an ethical nature. Therefore, the diagnostic accuracy of the assay methods is crucial: in order to minimize false positive results, it will be of paramount importance to use highly specific diagnostic methods. This study evaluates those various antibodies and their associated pathologies that have been proven to be involved in the forecasting of an autoimmune disease.

Key words: autoantibodies, predictive value, prospective studies, review.

Negli ultimi anni numerosi studi prospettici hanno evidenziato che molti autoanticorpi possono essere ritrovati nel siero di soggetti asintomatici o paucisintomatici che in seguito svilupperanno una malattia autoimmune. Questi anticorpi hanno quindi la capacità di precedere anche di anni la manifestazioni cliniche della malattia e potrebbero in teoria essere utilizzati a scopo diagnostico e prognostico anche in studi di screening. Questo aspetto sta suscitando particolare interesse essendo oggi già disponibili tecniche di indagine multiplex ed essendo in corso di sviluppo metodi di microarray che consentiranno probabilmente entro pochi anni di misurare contemporaneamente e in breve tempo decine o centinaia di autoanticorpi in un solo spot.

E' stato suggerito che le malattie autoimmuni attraversino diverse fasi¹⁻³: nella fase iniziale, che può essere presente molti anni prima della diagnosi, il soggetto è

asintomatico e non ha autoanticorpi sierici ma è portatore di un corredo genico che predispone ad una determinata malattia autoimmune. In una fase successiva, di durata molto variabile a seconda della malattia, ma che può anch'essa durare molti anni, compaiono nel siero autoanticorpi specifici; in questa fase il paziente è ancora asintomatico o paucisintomatico. Infine, la terza fase nella quale la malattia si manifesta clinicamente con sintomi e segni propri che, in genere, portano il paziente all'attenzione medica e consentono una diagnosi definitiva.

Si tratta perciò, ove ciò è possibile in base alle attuali conoscenze scientifiche, di chiarire se questo meccanismo evolutivo e la relativa cinetica autoanticorpale sono validi per la maggior parte o solo per alcune malattie (per esempio, quelle in cui gli autoanticorpi hanno significato patogenetico certo o quelle che hanno un lungo periodo preclinico) e quanto di concreto esiste nel-

l'attribuire valore predittivo alla presenza di un autoanticorpo. Poiché nessun dosaggio anticorpale ha il 100% di specificità, e poiché i risultati positivi sono fortemente legati al metodo con cui gli autoanticorpi vengono misurati, è evidente che il problema maggiore è quello di poter distinguere i falsi positivi dai veri positivi che predicono l'insorgenza e l'evolversi della malattia.

Pertanto, una corretta e rigorosa valutazione del significato predittivo degli autoanticorpi può basarsi solo sui dati ottenuti in studi prospettici ben condotti e in cui i dosaggi autoanticorpali sono stati eseguiti con metodi dotati di elevata accuratezza analitica e diagnostica. La presente rassegna prende in esame i diversi autoanticorpi e le patologie ad essi associate, per i quali è stato dimostrato un ruolo nel predire lo sviluppo di una malattia autoimmune. Per ragioni di sintesi, sono stati selezionati solo gli studi prospettici più significativi, effettuati a partire da screening su popolazione o su gruppi di pazienti selezionati.

Anticorpi anti-nucleo e LES

La determinazione degli anticorpi anti-dsDNA è un parametro cruciale per la diagnosi e il monitoraggio del lupus eritematoso sistemico (LES) e costituisce uno dei criteri internazionali proposti dall'American College of Rheumatology (ACR) per la classificazione della malattia⁴.

Swagak⁵ e Smeenk⁵ sono stati i primi a dimostrare il valore predittivo degli anticorpi anti-dsDNA nel LES. Dal 1974 al 1982 hanno seguito prospetticamente 441 pazienti senza una diagnosi definitiva di LES nel cui siero erano stati rilevati anticorpi anti-dsDNA con la tecnica di Farr nel corso di esami effettuati di routine. A distanza di un anno, 304 (69%) di questi pazienti soddisfacevano i criteri ACR per il LES. 82 dei restanti 137 pazienti sono stati ulteriormente seguiti per 9 anni. Alla fine dello studio, il 52% di questi pazienti aveva sviluppato il LES, dimostrando che complessivamente l'85% dei soggetti con anticorpi anti-dsDNA ma senza una diagnosi definitiva di LES sviluppa la malattia entro pochi anni.

Lo studio più significativo a questo proposito è quello condotto da Arbuckle e collaboratori³ che hanno rintracciato 130 soggetti che avevano prestato servizio militare nell'esercito degli Stati Uniti e che in seguito avevano sviluppato LES e dei quali erano disponibili campioni di siero prelevati fino a 10 anni prima e conservati nella sieroteca del Dipartimento della Difesa. Come gruppo di controllo sono stati studiati in parallelo anche 130 campioni di soggetti di pari età e sesso. In 115 dei 130 pazienti (88.5%), almeno un autoanticorpo era presente nei sieri raccolti prima della diagnosi (a partire da 9.4 anni prima; media, 3.3 anni) e prima della comparsa delle prime manifestazioni cliniche. In media, i pazienti hanno presentato i primi sintomi 1.5 anni prima della diagnosi. L'intervallo medio tra la prima dimostrazione dell'anticorpo e la diagnosi

variava dai 3.68 anni per anti-Ro a 0.88 anni per gli anticorpi anti-ribonucleoproteine (RNP). Gli anticorpi anti-nucleo (ANA) erano presenti nel 78% dei casi, gli anti-dsDNA nel 55%, gli anti-Ro nel 47%, gli anti-La nel 34%, gli anti-Sm nel 32% e gli anti-RNP nel 26%. ANA, anti-Ro e anti-La erano rinvenibili prima di anti-Sm e di anti-RNP, con un tempo di comparsa di 3.4 anni vs 1.2 anni prima della diagnosi. Dei 130 controlli, il 3.8% era positivo per uno o più autoanticorpi (3% anti-dsDNA, 3% anti-Ro, 2% anti-RNP; nessun positivo per anti-Sm e per anti-La). Pertanto, il valore predittivo positivo degli autoanticorpi variava dal 94.7% degli anti-dsDNA al 100% degli anti-Sm, con un valore medio del 95.8%.

Anticorpi anti-fosfolipidi e LES

Gli anticorpi anti-fosfolipidi [anti-cardiolipina (aCL)] a titolo intermedio-elevato sono associati con l'insorgenza di eventi tromboembolici e aborto ricorrente e costituiscono uno dei criteri classificativo-diagnostici della sindrome primaria da anticorpi anti-fosfolipidi⁶ e del LES⁴.

Nello stesso gruppo di 130 SLE pazienti descritto da Arbuckle³, McClain⁷ ha evidenziato che livelli moderati o elevati di aCL erano presenti in 24 individui (18.5%) a partire da 7.6 anni prima della diagnosi di LES (media 3.1 anni). 12 di questi 24 pazienti avevano avuto un evento trombotico e in 11 casi l'evento si era verificato prima della diagnosi di LES. I pazienti aCL-positivi presentavano un decorso clinico più grave con una più elevata frequenza di complicanze renali e neurologiche, piastrinopenia e trombosi rispetto ai pazienti con LES senza aCL.

Anticorpi anti-Ro/La, sindrome di Sjögren e LES

La presenza di anticorpi anti-Ro e/o anti-La costituisce uno dei criteri per la classificazione e la diagnosi della sindrome di Sjögren⁸. A seconda del tipo di metodo analitico impiegato e dei criteri di selezione dei pazienti, dal 40% al 90% dei pazienti con sindrome di Sjögren ha anticorpi anti-Ro, e dal 20 al 50% ha anticorpi anti-La; questi anticorpi si possono ritrovare anche nel 10-50% dei pazienti affetti da LES⁹⁻¹¹. Il passaggio transplacentare di anticorpi anti-Ro o anti-La in gravidanza può essere causa del cosiddetto lupus neonatale, caratterizzato da blocco cardiaco congenito nel neonato^{12,13}.

A questo proposito, McCune e collaboratori¹⁴ hanno seguito 11 donne asintomatiche con anticorpi anti-Ro per 4-5 anni dopo la nascita di un bambino con blocco cardiaco. Durante il follow-up, 8 (73%) di queste hanno sviluppato una sindrome secca, in confronto ad una sola donna su 37 (3%) nel gruppo di controllo. In un altro studio, Waltuck and Buyon¹⁵ hanno trovato che su 23 donne asintomatiche che avevano partorito un bambino con blocco cardiaco congenito e che erano tutte positive per anticorpi anti-Ro o Ro/La, nel follow-up di 20 anni, 12 sono rimaste asintomatiche, 2

hanno sviluppato una sindrome di Sjögren, 3 LES e 6 una connettivite indifferenziata.

Anti-CCP, FR e artrite reumatoide

La diagnosi precoce di artrite reumatoide (AR) ha importanti implicazioni cliniche: l'instaurare una terapia aggressiva nelle fasi iniziali della malattia si è dimostrata particolarmente efficace nel limitare o ridurre la progressione delle lesioni osteolitiche e nel migliorare la qualità di vita dei pazienti¹⁶. Il valore predittivo del fattore reumatoide (FR) è stato da tempo dimostrato in numerosi studi¹⁷⁻¹⁹. Nel Mini-Finland Health Survey condotto negli anni 1978-80, sono stati studiati 7217 soggetti sani scelti in modo che costituissero un campione rappresentativo della popolazione finlandese al di sopra dei 30 anni di età. Otto anni dopo, 21 persone sono risultate affette da AR; in 15 casi, i campioni di siero basali contenevano già elevati livelli di FR; nei 6 casi restanti il FR era assente nel campione basale ma era comparso successivamente con un intervallo medio di 4 anni prima della insorgenza della malattia¹⁹.

All'uso del FR, marcatore sierologico sensibile ma poco specifico, si è di recente affiancata nella pratica clinica la ricerca degli anticorpi anti-peptidi citrullinati (anti-CCP) dotati di elevata specificità, di alto valore predittivo diagnostico e prognostico nei pazienti con AR^{20,21}. In un studio condotto in Svezia²², in cui è stato analizzato il siero conservato da una decina di anni nelle emoteche dei centri trasfusionali, appartenente a 84 ex-donatori di sangue che negli anni successivi avevano sviluppato AR, è stato dimostrato che gli anticorpi anti-CCP erano presenti fino a 10 anni prima della comparsa dei primi sintomi, con sensibilità progressivamente crescente fino a raggiungere il 70% al momento della prima visita.

In uno studio simile condotto nei Paesi Bassi su 79 ex donatori di sangue affetti da AR, Nielsen²³ ha riscontrato la presenza di anticorpi anti-CCP a partire da 14 anni prima della comparsa dei sintomi. Anche il FR era presente prima dell'esordio clinico della malattia, ma la sua positività era più recente e la percentuale di pazienti al momento della diagnosi era inferiore rispetto a quella degli anti-CCP (28 vs 43%). Dei 2138 campioni di controllo ottenuti da donatori sani confrontabili per età, sesso e data della donazione, l'1.1% era positivo per il FR e lo 0.6% per gli anticorpi anti-CCP. Dai risultati dello studio di Nielsen è stato anche stimato il rischio a 5 anni di sviluppo di AR nella popolazione generale e in un gruppo di soggetti ad alto rischio costituito da parenti di primo grado di pazienti che avevano due o più familiari affetti da AR. Utilizzando i dati di incidenza a 5 anni dell'AR in queste due popolazioni, il valore predittivo positivo per anti-CCP è risultato essere del 5.3% nella popolazione aperta e del 69.4% nel gruppo ad alto rischio.

La contestuale positività di FR e anti-CCP conferiva un valore predittivo positivo del 100% ad ambedue i

gruppi. Due studi longitudinali recenti hanno ulteriormente confermato che gli anticorpi anti-CCP possono essere evidenziabili nel siero molti anni prima della diagnosi clinica di AR^{24,25}.

Gli anticorpi anti-CCP si sono dimostrati capaci di predire il successivo sviluppo di AR anche in soggetti con artrite indifferenziata^{26,27}. In uno studio effettuato da van Gaalen²⁸ su 936 pazienti con artrite precoce, a tre mesi dalla prima osservazione, 318 sono stati classificati come artriti indifferenziate. Dopo tre anni di follow-up, il 40% di questi 318 pazienti aveva sviluppato un quadro clinico di AR; tuttavia, dei pazienti che erano risultati anti-CCP negativi, solo il 25% era poi risultato affetto da AR, mentre la percentuale saliva al 93% tra quelli che erano risultati anti-CCP positivi all'inizio (odds ratio, 38). Riscontri analoghi sono stati ottenuti anche da Vittecoq che su 314 pazienti con artrite precoce, ha trovato che il 90% di quelli che erano anti-CCP positivi all'esordio ha poi sviluppato AR a un anno di distanza²⁹.

Anticorpi anti-sintetasi e polimiosite

Benchè siano disponibili solo segnalazioni aneddotiche a ragione della relativa rarità della malattia, gli anticorpi anti-sintetasi, il marcatore sierologico della polimiosite, si possono ritrovare nel siero dei pazienti mesi prima della comparsa dei primi sintomi³⁰. Sia gli anticorpi anti-Jo1 (histidil-tRNA sintetasi) che gli anti-EJ (glicil-tRNA sintetasi) sono stati evidenziati almeno 5 mesi prima del manifestarsi clinico della miosite^{31,32}.

Anticorpi anti-corteccia surrenalica e malattia di Addison

Gli anticorpi anti-corteccia surrenalica (AcA) rappresentano un importante marcatore immunologico della forma autoimmune della malattia di Addison. Il loro significato diagnostico è elevato dal momento che possono essere ritrovati in oltre il 90% dei pazienti al momento della comparsa della malattia e sono per lo più assenti in altre forme di insufficienza surrenalica. Il loro valore predittivo è stato dimostrato per la prima volta nel 1984 da Betterle³³ che studiando 284 individui sani e 1045 soggetti con altre malattie autoimmuni organo-specifiche aveva trovato che il solo soggetto sano che aveva AcA aveva poi sviluppato la malattia di Addison e che dei 5 con malattia autoimmune organo-specifica che erano risultati AcA positivi e che avevano una funzionalità surrenalica normale, 4 avevano sviluppato segni clinici di malattia di Addison nei 20 anni di follow-up.

Proseguendo e ampliando lo studio, negli anni successivi Betterle ha misurato gli AcA in immunofluorescenza indiretta (IFI) in altri 8840 soggetti adulti affetti da varie patologie autoimmuni organo-specifiche senza segni di ipoadrenalismo³⁴, trovandone 67 (0.8%) positivi. 48 soggetti AcA positivi e 20 AcA negativi sono stati quindi arruolati in uno studio prospettico.

Nei 10 anni del periodo di controllo, un Addison conclamato si è sviluppato nel 21% e un ipoadrenalismo subclinico nel 29% dei soggetti AcA positivi, mentre il 50% ha mantenuto una funzione surrenalica normale. La progressione verso la malattia di Addison è risultata più frequente nei pazienti con ipoadrenalismo subclinico e alti titoli di AcA. Nessuno dei soggetti AcA negativi ha sviluppato la malattia.

Lo stesso gruppo di ricercatori² ha studiato anche 808 bambini con varie malattie organo-specifiche senza insufficienza surrenalica e ha trovato che 14 di questi (1.7%) erano AcA positivi. Analogamente allo studio effettuato negli adulti, 10 bambini AcA positivi e 12 AcA negativi sono stati seguiti nel tempo per 10 anni mediante la periodica valutazione della funzionalità surrenalica (ACTH) e lo stato anticorpale. Un Addison conclamato si è sviluppato in 9 (90%) dei bambini AcA positivi e l'altro bambino presentava un ipoadrenalismo subclinico. Nessuno dei bambini AcA negativi inseriti nel gruppo di controllo ha sviluppato la malattia di Addison.

Ketchum et al.³⁵ hanno studiato 1675 pazienti con diabete insulino-dipendente (IDDM), 2032 parenti di pazienti con IDDM e 2543 soggetti normali, e ne hanno trovati rispettivamente 30 (1.8%), 28 (1.6%) e 16 (0.6%) positivi per gli AcA in IFI. La funzione surrenalica è stata quindi studiata in 30 soggetti asintomatici (13 AcA positivi e 17 AcA negativi); le concentrazioni plasmatiche medie di ACTH e di attività reninica erano significativamente maggiori nei soggetti AcA positivi che nei soggetti AcA negativi ($p < .01$), evidenziando uno stato di iniziale disfunzione surrenalica.

Studiando un numeroso gruppo di 3020 pazienti con una o più malattie endocrine autoimmuni, Laureti e collaboratori³⁶ hanno identificato 26 soggetti AcA-positivi (8 con tiroidite di Hashimoto, 5 con morbo di Graves, 3 con IDDM, 2 con gastrite atrofica, 5 con insufficienza ovarica, 2 con vitiligo, e 1 con diabete insipido positivo per anticorpi anti-cellule secernenti arginina e vasopressina). 19 di questi pazienti sono stati seguiti e monitorati per 4 anni: 8 pazienti hanno sviluppato un Addison clinico, 6 hanno avuto un deterioramento della funzione surrenalica senza tuttavia sviluppare segni clinici di Addison, e gli altri 5, dopo un' iniziale disfunzione surrenalica sono andati in remissione clinica. Presi insieme tutti questi studi dimostrano che gli AcA possono precedere le manifestazioni cliniche della malattia di molti anni, ma che il loro valore predittivo non è assoluto aggirandosi attorno al 70%.

Anticorpi anti-mielina e sclerosi multipla

La sclerosi multipla (SM) riconosce, almeno in parte, un'origine autoimmune e l'associazione di SM con altri disordini autoimmuni è stata documentata³⁷. La maggior parte dei pazienti con SM si presenta inizialmente con un evento demielinizzante isolato³⁸ e il 30% di questi svilupperà una SM definita entro l'anno³⁹. Tuttavia, il decorso della malattia non è prevedibile al momento

della comparsa dei primi sintomi e richiede un lungo e costante monitoraggio e ripetute indagini di risonanza magnetica. Berger et al.⁴⁰ hanno studiato 103 pazienti con una sindrome clinicamente isolata (riscontro positivo all'esame di risonanza magnetica cerebrale e presenza di bande oligoclonali nel liquido cerebro-spinale) e hanno trovato che 22 pazienti (21%) erano positivi sia per gli anticorpi anti-glicoproteina oligodendro-citica mielinica (MOG) che per gli anticorpi anti-proteina basica mielinica (MBP), 42 (41%) erano positivi solo per anti-MOG e 39 (38%) erano negativi per entrambi gli autoanticorpi. Di rilievo il fatto che 35 dei 42 pazienti (83%) con anticorpi anti-MOG (ma negativi per anti-MBP) e 21 dei 22 pazienti (95%) che avevano sia anticorpi anti-MOG che anti-MBP avevano avuto una ricaduta entro l'anno, in confronto a solo 9 dei 39 pazienti che erano sieronegativi per anti-MOG e per anti-MBP.

In sintesi, in pazienti che presentano una sindrome clinicamente isolata, il rilievo di anticorpi rivolti verso il MOG e la MBP è in grado di predire la rapida evoluzione verso una SM clinicamente definita, mentre l'assenza di tali anticorpi indica che il paziente rimarrà probabilmente libero da malattia per molti anni.

Anticorpi anti-tireoperossidasi e ipotiroidismo

Gli anticorpi anti-tireoperossidasi (anti-TPO) sono il marcatore principale delle malattie autoimmuni della tiroide e in particolare della tiroidite di Hashimoto, malattia nella quale sono presenti a concentrazione elevata in una percentuale superiore al 90%⁴¹. Nella popolazione generale questi anticorpi sono presenti nell'11-26% dei soggetti di sesso femminile⁴² che, com'è noto, risultano colpiti in misura prevalente rispetto ai soggetti di sesso maschile.

La tiroidite di Hashimoto è contraddistinta da una lunga fase preclinica, caratterizzata dall'attivazione del processo autoimmune con infiltrazione linfocitaria della ghiandola e la comparsa degli anticorpi anti-TPO⁴³. La concentrazione di questi anticorpi riflette la severità dell'infiltrazione linfocitaria, la conseguente distruzione dell'architettura istologica tiroidea (che si traduce in ipoecogenicità ultrasonica) e l'insorgenza dell'ipotiroidismo (espresso da un incremento dei livelli di TSH). La comparsa di anticorpi anti-TPO può precedere quindi la comparsa dei primi segni clinici anche di decenni. Alcuni studi sono esemplificativi a questo proposito.

Lo studio condotto tra il 1972 e il 1974 nella contea inglese di Wickham, ha documentato la prevalenza dei disordini tiroidei in una popolazione non selezionata di 2779 adulti. All'inizio dello studio sono stati eseguiti i test di funzionalità tiroidea e il dosaggio degli anticorpi anti-TPO e anti-tireoglobulina⁴⁴. Vent'anni dopo, 1877 dei 2779 soggetti erano ancora viventi e sono stati ristudiati dal punto di vista clinico, immunologico e biochimico alla ricerca di un'eventuale disfunzione tiroidea. I risultati hanno rivelato che la presenza di anticorpi anti-tiroide o di aumentati livelli di TSH era

associato ad un rischio notevolmente maggiore di sviluppare ipotiroidismo a distanza di vent'anni¹. Il rischio relativo (con intervallo di confidenza al 95%) di sviluppare ipotiroidismo con un TSH elevato (>6 mU/L) da solo era 8 (3-20) nelle donne e 44 (19-104) negli uomini; la positività di anticorpi anti-tiroide isolati (cioè senza alterazioni del TSH) conferiva un rischio maggiore di 8 volte (5-15) per le donne e di 25 (10-63) per gli uomini; se erano presenti sia un innalzamento dei livelli di TSH e la presenza di anticorpi anti-tiroide, il rischio saliva a 38 (22-65) nelle donne e a 173 (81-370) negli uomini.

In uno studio prospettico della durata di 10 anni, Huber⁴⁵ ha analizzato l'evoluzione clinica e il valore predittivo di alcuni parametri nel determinare lo sviluppo di insufficienza tiroidea in 82 donne con ipotiroidismo subclinico. I risultati hanno evidenziato che il parametro con la più alta predittività era costituito da un TSH elevato, seguito dalla positività degli anticorpi anti-tiroide. Il rischio aumentava di 16 volte quando ambedue i parametri erano alterati.

Già nel 1982 Amino⁴⁶ aveva segnalato che la presenza di anticorpi anti-microsomi tiroidei poteva predire l'insorgenza di tiroidite nel post-partum. In uno studio di screening effettuato su 1284 donne danesi sane in gravidanza⁴⁷, 117 (9.1%) sono risultate positive alla ricerca di anticorpi anti-TPO. Nel follow-up di 9 mesi, una disfunzione tiroidea si è sviluppata nel 55%. L'insorgenza e la severità della tiroidite postpartum è risultata essere dipendente dalla concentrazione degli anticorpi anti-TPO; infatti, le donne con bassi livelli di anti-TPO sono risultate per lo più eutiroidee o avevano un moderato ipertiroidismo, mentre le donne con livelli anticorpali elevati presentavano ipertiroidismo seguito da ipotiroidismo o solo ipotiroidismo. Pertanto, i livelli di anti-TPO si sono dimostrati un buon predittore del rischio di tiroidite postpartum e correlavano con la gravità della malattia.

Kita et al.⁴⁸ hanno studiato prospetticamente 1594 donne consecutive entro 3 giorni dal parto. Delle 83 (5.2%) donne anti-TPO positive, 74 sono state monitorate per 1 anno alla ricerca di evidenze cliniche o biochimiche di tiroidite. 38 di queste (51.4%) hanno sviluppato una malattia tiroidea: nel 18% dei casi un ipertiroidismo isolato, nel 40% un ipotiroidismo isolato, e nel 42% una fase di ipertiroidismo seguita da ipotiroidismo. Un elevato livello di anticorpi anti-TPO immediatamente dopo il parto era in grado di predire lo sviluppo di tiroidite post-partum con una sensibilità del 97% e una specificità del 91%.

Un gruppo particolarmente numeroso di donne in gravidanza, 308 delle quali anti-TPO positive e 102 anti-TPO negative è stato studiato da Premawardhana⁴⁹ a Cardiff in Galles. Nel gruppo di donne anti-TPO positive, 147/308 hanno sviluppato tiroidite e 161 sono rimaste eutiroidee. Nessuna delle 102 donne anti-TPO negative ha manifestato disfunzione tiroidea nei 3 anni di follow-up. La sensibilità predittiva degli anticorpi

anti-TPO nel predire la tiroidite è stata del 100%, la specificità del 62% e il valore predittivo positivo del 48%. Anche in questo gruppo la probabilità di sviluppare la tiroidite post-partum è risultata direttamente correlata alle concentrazioni anticorpali di anti-TPO.

Anticorpi anti-mitocondri e cirrosi biliare primitiva

Nel 1986, Mitchison e collaboratori⁵⁰ hanno descritto un gruppo di 29 pazienti positivi per anticorpi anti-mitocondri (AMA), che sono il marcatore sierologico specifico della cirrosi biliare primitiva (PBC), ma che erano asintomatici e avevano una funzionalità epatica normale. In sette di questi pazienti gli AMA erano stati un riscontro casuale; gli altri 22 erano risultati positivi al test in uno studio di screening per valutare la prevalenza degli AMA nella popolazione generale. In 26 soggetti la biopsia epatica era risultata diagnostica o compatibile con la diagnosi di PBC; in 2 pazienti era stata posta diagnosi di epatite non-specifica e in un unico paziente il quadro istologico era normale. Dieci anni dopo gli stessi ricercatori hanno rivisto i dati clinici e biochimici di questi 29 pazienti⁵¹: cinque pazienti erano deceduti (nessuno per cause epatiche); degli altri, 22 avevano sviluppato sintomi coerenti con PBC e 24 presentavano alterazioni persistenti della funzione epatica: 16 avevano un aumento della fosfatasi alcalina, 7 dell'alanina aminotransferasi e 1 della bilirubina. L'intervallo medio tra il primo riscontro di positività degli AMA e l'aumento della fosfatasi alcalina era di 5.6 anni. In sintesi, questo studio ha evidenziato che praticamente tutti i soggetti in cui si riscontra la positività degli AMA anche in assenza di segni clinici o biochimici di danno epatico, hanno già lesioni istologiche compatibili con PBC o svilupperanno un quadro clinico di PBC negli anni a seguire.

Prince e collaboratori⁵² hanno seguito prospetticamente con un follow-up fino a 28 anni, 770 pazienti con PBC definita o probabile (The Northeast Cohort), di cui 469 (61%) asintomatici. La diagnosi di PBC definita si basava sulla positività degli AMA, la presenza di alterazioni funzionali epatiche e di istologia compatibile; la diagnosi di PBC probabile su un solo parametro tra la positività degli AMA e le alterazioni funzionali epatiche. Il 50% dei pazienti è diventato sintomatico entro 5 anni e il 95% entro 20 anni. Tuttavia, la sopravvivenza media era uguale nel gruppo di pazienti che erano inizialmente sintomatici e in quello asintomatico (9.6 vs 8.0 anni). L'analisi delle curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier ha chiaramente evidenziato come la fase asintomatica della PBC debba essere considerata un fenomeno temporaneo. Se i pazienti sopravvivono per un periodo sufficientemente lungo, praticamente tutti svilupperanno prima o poi segni clinici di PBC (95% dopo 20 anni).

Anticorpi anti-insula pancreatica e diabete tipo 1

Gli anticorpi anti-cellule insulari del pancreas (ICA) e

gli anticorpi anti-insulina, anti-acido glutammico decarbossilasi (GAD) e anti-proteina IA-2 sono marcatori immunosierologici del diabete di tipo 1 (IDDM) e sono espressione della risposta autoimmune contro le cellule pancreatiche, già presente durante la fase pre-clinica della malattia⁵³.

Nello studio condotto da Bingley⁵⁴, tutti quattro gli anticorpi sono stati misurati in 3655 soggetti non diabetici, parenti di primo grado di pazienti con diabete di tipo 1. Dopo 10 anni, 26 soggetti avevano sviluppato il diabete. Complessivamente, nei campioni di siero prelevati all'inizio dello studio, 5 (15%) erano positivi per quattro anticorpi, 7 (27%) per tre anticorpi, 9 (35%) per due anticorpi, 2 (8%) per un singolo anticorpo e 3 (12%) erano negativi per tutti gli anticorpi. Gli individui che avevano due o più anticorpi positivi, avevano il 50% di probabilità di risultare affetti da diabete entro 10 anni. L'associazione di più anticorpi conferiva un rischio maggiore rispetto alla positività per un singolo anticorpo. Risultati analoghi sono stati ottenuti da Verge⁵⁵ e da Ziegler⁵⁶.

Il valore predittivo degli anticorpi anti-GAD, anti-IA-2, anti-insulina e ICA e della loro combinazione, è stato indagato anche da Kulmala⁵⁷ in una popolazione non selezionata di 755 consanguinei di bambini con IDDM. 32 di questi sono diventati diabetici entro 7.7 anni dall'effettuazione del primo prelievo. Il valore predittivo positivo degli ICA, anti-IA-2, anti-GAD e anti-insulina è risultato essere rispettivamente del 43, 55, 42 e 29% e la sensibilità diagnostica del 81, 69, 69 e 25%. Il rischio di sviluppare IDDM in presenza di tre o quattro, due, uno o nessun anticorpo era rispettivamente del 70, 25, 2 e 0.8%.

In uno studio molto simile al precedente, Knip e collaboratori⁵⁸ hanno seguito per sei anni un gruppo di 57 consanguinei di soggetti con IDDM che erano risultati positivi agli ICA e/o agli anticorpi anti-insulina, nel campione di sangue prelevato entro 6 mesi dalla diagnosi dei casi indice. 17 su 57 (29.8%) hanno sviluppato IDDM nel periodo di osservazione.

Tutti questi studi dimostrano che la presenza di autoanticorpi in parenti di primo grado di pazienti con diabete di tipo 1 predice il successivo sviluppo della malattia. Tuttavia, poiché il 90% dei nuovi casi di diabete non ha familiarità, è possibile estrapolare questa probabilità di rischio evolutivo alla popolazione generale? Nello studio effettuato a Karlsburg in Germania su 6337 studenti, Schlosser et al.⁵⁹ hanno trovato che 181 scolari (2.86%) erano positivi per almeno uno tra i diversi anticorpi GAD, IA-2, insulina e ICA. 150 scolari avevano un solo anticorpo, mentre 31 ne avevano più di uno e, in genere, a concentrazione più elevata ($P < .001$). Gli alleli del locus HLA-DQB1 sono stati quindi determinati in 178/181 bambini. I soggetti con anticorpi anti-GAD, anti-IA-2 o anti-insulina sono risultati presentare una maggiore frequenza di alleli HLA-DQB1 *302 e/o *02 associati al diabete. In sintesi, questo studio ha dimostrato che nella popolazione non

selezionata, la presenza di anticorpi multipli era in grado di individuare i soggetti portatori di un assetto genico HLA che conferisce un'aumentata suscettibilità allo sviluppo di diabete di tipo 1, così come avviene per i parenti di primo grado dei soggetti diabetici.

In uno studio prospettico su una popolazione non selezionata di neonati in Finlandia, Kimpimäki et al.⁶⁰ hanno monitorato la comparsa di anticorpi e di segni clinici e biochimici di diabete in 25983 neonati. 2448 bambini portatori dell'aplotipo HLA DQB1 sono stati sottoposti alla ricerca degli ICA ad intervalli di 3-6 mesi. Se un bambino diventava positivo per ICA, tutti i suoi campioni di siero prelevati nei mesi precedenti venivano analizzati per gli anticorpi anti-GAD, anti-IA-2 e anti-insulina. 38 bambini sono risultati positivi agli ICA durante il follow-up e 6 hanno progredito fino a sviluppare IDDM. Lo screening con gli ICA ha consentito di identificare il 93% dei bambini con corredo genico suscettibile nei quali si è osservata poi la comparsa di uno degli altri anticorpi (anti-GAD, anti-IA-2 o anti-insulina) e il 95% di quelli che sono poi risultati positivi per più anticorpi.

In un altro studio prospettico a lungo termine effettuato però nella popolazione generale, La Gasse et al.⁶¹ hanno testato gli ICA e gli anticorpi rivolti verso GAD, IA-2 e insulina in 4505 studenti. Complessivamente, 12 (0.3%) individui avevano più di un anticorpo positivo, 102 (2.3%) erano positivi ad un solo anticorpo e 4391 (97.5%) erano negativi per tutti gli anticorpi. Otto anni dopo, 3000 (67%) soggetti degli oltre 4000 iniziali sono stati ricontrollati: 6 dei 12 che erano risultati positivi ad anticorpi multipli avevano sviluppato diabete. Degli altri, con positività anticorpale singola o con anticorpi assenti, nessuno aveva sviluppato il diabete. Il valore predittivo positivo della positività anticorpale multipla per lo sviluppo di diabete era del 50% con una sensibilità predittiva del 100%.

Nello studio Daisy (Diabetes Autoimmunity Study in the Young) 1972 bambini preselezionati sulla base di uno screening HLA, sono stati seguiti nel tempo valutando la comparsa di ICA e l'insorgenza di diabete⁶². Durante il follow-up che è durato fino a 9 anni (media 4 anni), 162 bambini sono stati trovati positivi agli ICA. Tuttavia, il 31% (50/162) si sono rivelati essere dei falsi positivi (negatività dei test ripetuti su altre aliquote dello stesso campione risultato positivo) e nessuno ha sviluppato IDDM. Tra coloro nei quali il riscontro di positività anticorpale è stato confermato, in 50 bambini (31%) la positività è risultata transitoria (positività confermata nella ripetizione del test su altre aliquote del campione di siero ma risultati negativi nei successivi campioni prelevati nel follow-up), e in 62 (36%) è risultata persistentemente positiva. Nessuno dei bambini che avevano presentato una transitoria positività anticorpale sviluppò poi diabete. Al contrario, nel gruppo con positività anticorpale persistente, 24 avevano progredito fino allo sviluppo di diabete mentre 38 erano rimasti non diabetici.

Ferber et al.⁶³ hanno studiato 184 donne con diabete gestazionale e hanno trovato che l'aplotipo HLA e gli anticorpi anti-GAD predicavano lo sviluppo del diabete tipo 1 nel post-partum. La contemporanea determinazione degli alleli HLA (DR3, DR4) e degli autoanticorpi portava al 92% la sensibilità nell'identificare le donne con diabete gestazionale che avrebbero sviluppato diabete nel post-partum. Tuttavia, la presenza degli anti-GAD era il singolo parametro con la più alta predittività per l'insorgenza di IDDM.

In sintesi, sulla base degli studi summenzionati e di numerosi altri studi prospettici effettuati sia nei familiari di pazienti diabetici che in popolazioni non selezionate⁶⁴⁻⁶⁷ è stato dimostrato che: a) i test autoanticorpi presentano specificità e sensibilità predittiva elevate (attorno al 90%) ma non assolute, dato che alcuni soggetti con anticorpi non sviluppano diabete per molti anni e che alcuni soggetti diabetici non sembrano presentare autoanticorpi prima dello sviluppo della malattia; b) il rischio di sviluppare diabete cresce progressivamente con la durata del follow-up e con il numero di autoanticorpi positivi.

Anticorpi anti-transglutaminasi e malattia celiaca

Gli anticorpi anti-transglutaminasi (anti-tTG) e anti-endomisio (EMA) sono un importante parametro sierologico per la diagnosi di malattia celiaca (MC) essendo ambedue dotati di elevata accuratezza diagnostica. Il loro valore predittivo ai fini diagnostici è stato documentato di recente. In uno studio di Maki⁶⁸, 3654 campioni di siero prelevati nel 1994 a studenti finlandesi di età compresa tra i 7 e i 16 anni in occasione di uno studio sul diabete, sono stati testati nel 2001 per gli anticorpi anti-tTG e per gli EMA. 56 soggetti (1.5%) sono risultati positivi ad almeno uno dei due anticorpi: in 10 di questi la diagnosi di MC era già stata posta nel periodo intercorso tra i due studi, 10 hanno rifiutato di essere ulteriormente studiati, e degli altri 36 che hanno accettato di sottoporsi a biopsia intestinale, 27 avevano evidenza istologica di MC.

Hoffenberg e al.⁶⁹ in uno studio di screening sulla popolazione aperta hanno sottoposto 22346 neonati di Denver, Colorado, all'analisi dell'aplotipo HLA-DR3 (DQB1*0201) e i 987 bambini positivi sono stati inclusi in uno studio prospettico della durata di 7 anni. Durante questo periodo i partecipanti sono stati sottoposti a periodici controlli dei livelli degli anticorpi IgA anti-tTG e a monitoraggio clinico per la comparsa di segni e sintomi di MC. Alla fine del periodo di studio, 40 bambini sono risultati positivi almeno in una occasione agli anticorpi anti-tTG e in 19 di questi è stata fatta diagnosi di MC.

Dati interessanti sulla predittività degli anticorpi anti-tTG ci vengono forniti anche dallo studio finlandese di Simell⁷⁰ che ha testato per anti-tTG i campioni di siero conservati di bambini che avevano partecipato ad un precedente studio di screening sulla prevalenza del diabete di tipo 1⁷¹. Tra i 41127 partecipanti allo

studio originale, sono stati selezionati 1101 bambini di età compresa tra 1 e 6 anni, nei quali era presente l'allele HLA-DQB1*02 associato a MC. Negli 8 anni di follow-up, 35 bambini sono diventati positivi per gli anticorpi anti-tTG. Tuttavia, 18 di questi (51%) sono poi ridiventati anti-tTG negativi senza che fosse fatto alcun intervento dietetico. Tra i 21 bambini che sono stati sottoposti a biopsia duodenale (19 IgA anti-tTG positivi e 2 con deficit di IgA e IgG anti-gliadina positivi), solo 13 (62%) avevano lesioni istologiche compatibili con MC. I risultati di questo studio dimostrano chiaramente che nei bambini piccoli la positività transitoria degli anticorpi anti-tTG è un'evenienza piuttosto frequente e che il valore predittivo degli anti-tTG non supera il 50-60%. Tuttavia, poiché in questo stesso studio è stato osservato che l'incidenza annuale di positivizzazione degli anticorpi anti-tTG è di circa l'1%, è possibile che almeno una parte dei bambini con biopsia negativa possa sviluppare la MC nel periodo successivo al termine dello studio. In effetti, gli stessi autori riferiscono che almeno un bambino che aveva avuto una transitoria positività per anti-tTG all'età di 2 anni, era successivamente ridiventato positivo all'età di 7 anni ed era poi risultato affetto da MC.

Anticorpi anti-Saccharomyces cerevisiae e malattia di Crohn

Il riconoscimento degli anticorpi anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) come marcatore della malattia di Crohn ha aperto nuove prospettive per la classificazione diagnostica delle malattie infiammatorie intestinali. Il significato predittivo degli ASCA è stato recentemente documentato in uno studio longitudinale israeliano⁷². Il siero di 32 soggetti con malattia di Crohn e di 8 pazienti con rettocolite ulcerosa, prelevato a più riprese a distanza di tempo allorché i pazienti prestavano servizio militare e prima che fosse posta diagnosi della malattia, sono stati testati per gli ASCA. Contemporaneamente sono stati studiati anche 95 campioni di soggetti comparabili per età e sesso. Gli ASCA nei campioni prelevati prima della diagnosi, sono risultati presenti in 10 su 32 (31.3%) dei pazienti con malattia di Crohn, e in nessuno dei soggetti del gruppo di controllo ($P < 0.001$). Nessuno degli 8 pazienti con rettocolite ulcerosa era ASCA positivo.

L'intervallo medio tra la comparsa degli ASCA e la diagnosi era di 38 mesi.

Conclusioni

Sono oggi disponibili numerose evidenze scientifiche a sostegno della capacità di molti autoanticorpi di predire con largo anticipo lo sviluppo di una malattia autoimmune in soggetti asintomatici. Appare inoltre chiaro che la progressione verso una determinata malattia autoimmune e la sua gravità possono in alcuni casi essere predette dal tipo di anticorpo, dal livello anticorpale e dal numero di anticorpi presenti. Se sia

utile e opportuno utilizzare questa peculiare caratteristica siero-immunologica in strategie di screening su popolazioni sane, richiede accurate valutazioni di ordine metodologico, clinico ed etico. Certamente, in molti casi sono necessari ulteriori studi prospettici a lungo termine per definire meglio l'utilità di ricercare gli autoanticorpi allo scopo di predire lo sviluppo di future malattie autoimmuni. In particolare, come di recente sottolineato da Scofield⁷³, il valore predittivo è condizionato dalla probabilità pre-test, la quale a sua volta è molto diversa a seconda del tipo di malattia autoimmune. Pertanto, i risultati ottenuti su popolazioni selezionate come le donne gravide o i soggetti con malattie autoimmuni organo-specifiche, non possono probabilmente essere estrapolate alla popolazione genera-

le, la quale al contrario è a basso rischio di malattia autoimmune. Inoltre, poiché nessun metodo di dosaggio anticorpale garantisce il 100% di specificità e nessun autoanticorpo di per sé è dotato di valore predittivo positivo assoluto, devono anche necessariamente essere fatte attente valutazioni sulla accuratezza diagnostica dei metodi analitici e sulle caratteristiche dei test che vengono impiegati per ricercare gli anticorpi dal momento che le caratteristiche dei metodi analitici hanno un peso importante nel determinare il valore predittivo del test⁷⁴. Mentre infatti negli studi di screening effettuati a scopo diagnostico è più indicato l'impiego di metodi ad elevata sensibilità, al contrario, quando si vuole utilizzare lo screening per valutare la predittività autoanticorpale, sarà preferibile impiegare metodi ana-

Tabella I. Principali studi sul valore predittivo degli autoanticorpi nelle malattie autoimmuni.

Anno	Anticorpo	Malattia	Studio	Autore (ref.)
1982	TMA	PP-AITD	Prospettico	Amino (46)
1983	AcA	AD	Prospettico	Betterle (33)
1985	dsDNA	LES	Prospettico	Swaak (5)
1987	Ro/La	PP-ARD	Prospettico	McCune (14)
1991	FR	RA	Prospettico	Aho (19)
1994	ICA	IDDM	Prospettico	Schatz (65)
1994	Ro/La	ARD	Prospettico	Waltuck (15)
1995	TPO	TH	Prospettico	Vanderpump (1)
1996	AMA	PBC	Prospettico	Metcalfe (51)
1996	IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Verge (55)
1997	21-OH	AD (adulti)	Prospettico	Betterle (34)
1997	21-OH	AD (bambini)	Prospettico	Betterle (2)
1998	FR	PP-AR	Prospettico	Iijima (17)
1998	AcA	AD	Prospettico	Laureti (36)
1998	ICA, IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Kulmala (57)
1999	ICA, IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Bingley (54)
1999	GAD, IA-2	PP-IDDM	Prospettico	Ferber (63)
1999	ICA, IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Ziegler (56)
2000	TPO	PP-AITD	Prospettico	Nohr (47)
2001	ICA, IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Kimpimaki (60)
2001	dsDNA	LES	Longitudinale	Arbuckle (3)
2002	TPO	TH	Prospettico	Huber (45)
2002	IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	LaGasse (61)
2003	FR, CCP	RA	Longitudinale	Rantapää-Dahlqvist (22)
2003	tTG, EMA	MC	Longitudinale	Mäki (68)
2003	tTG	MC	Prospettico	Hoffenberg (69)
2003	FR, CCP	AR	Prospettico	Jansen (26)
2004	FR, CCP	AR	Longitudinale	Nielsen (23)
2004	FR, CCP	AR	Prospettico	van Gaalen (28)
2004	ICA	IDDM	Prospettico	Barker (62)
2004	ICA, IAA, GAD, IA-2	IDDM	Prospettico	Achenbach (64)
2004	AMA	PBC	Prospettico	Prince (52)
2004	TPO	PP-AITD	Prospettico	Premawardhana (49)
2004	aCL	LES	Longitudinale	McClain (7)
2005	ASCA	Crohn	Longitudinale	Israeli (72)
2005	CCP	AR	Longitudinale	Mandl (24)
2005	FR, CCP	AR	Longitudinale	Deane (25)

Legenda: TMA, anticorpi anti-microsomi tiroidei; TPO, tireoperossidasi; PP-AITD, tiroidite post-partum; AcA, anticorpi anti-surrene; AD, malattia di Addison; ARD, malattia reumatica autoimmune; LES, lupus eritematoso sistemico; TH, tiroidite di Hashimoto; FR, fattore reumatoide; AR, artrite reumatoide; ICA, anticorpi anti-insulina pancreatica; IDDM, diabete insulino-dipendente; AMA, anticorpi anti-mitocondri; PBC, cirrosi biliare primitiva; IAA, anticorpi anti-insulina; GAD, glutamic acid decarboxylase; PDC, pyruvate dehydrogenase complex; CCP, peptidi ciclici citrullinati; aCL, anticorpi anti-cardiolipina; tTG, transglutaminasi; EMA, anticorpi anti-endomisio; MC, malattia celiaca; ASCA, anticorpi anti-Saccharomyces cerevisiae; IBD, malattia infiammatoria intestinale.

litici ad elevata specificità diagnostica per ridurre il più possibile i risultati falsi positivi e ottenere un valore predittivo positivo elevato.

Bibliografia

1. Vanderpump MPJ, Turnbridge WMG, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickam Survey. *Clin Endocrinol* 1995; 43:55-68.
2. Betterle C, Volpato M, Rees-Smith B, Furmaniak J, Chen S, Zanchetta R, et al. II. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in children with organ-specific autoimmune diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:939-42.
3. Arbuckle MR, Mc Clain MT, Rubertone MV, Scofield RH, 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.
4. Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 9:1725.
5. Swaak T, Smeenk R. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 1985; 44:245-51.
6. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JCP, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1309-11.
7. McClain MT, Arbuckle MR, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Rubertone MV, et al. The prevalence, onset, and clinical significance of antiphospholipid antibodies prior to diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1226-32.
8. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Assessment of the European classification criteria for Sjögren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. *Ann Rheum Dis* 1993; 55:116-21.
9. von Mühlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24:323-58.
10. Keech CL, McCluskey J, Gordon TP. SS-B(La) autoantibodies. In: Peter JB, and Shoenfeld Y (eds.), *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier Science BV, 1996; p. 789-97.
11. Reichlin M, Scofield RH. SS-A(Ro) autoantibodies. In J.B. Peter and Y. Shoenfeld (ed.), *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier Science BV, 1996; p. 783-8.
12. Buyon JP, Winchester R. Congenital heart block. A human model of passively acquired autoimmune injury. *Arthritis Rheum* 1990; 33:609-14.
13. Buyon JP. Neonatal lupus syndromes. *Am Reprod Immunol* 1992; 28:259-63.
14. McCune AB, Weston WL, Lee LA. Maternal and fetal outcome in neonatal lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1987; 106:518-23.
15. Waltuck J, Buyon JP. Autoantibody-associated congenital heart block: outcome in mothers and children. *Ann Intern Med* 1994; 120:544-52.
16. Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Furst D, Weisman MH, et al. Sustained improvement over two years in physical function, structural damage, and signs and symptoms among patients with rheumatoid arthritis treated with Infliximab and methotrexate. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1051-65.
17. Iijima T, Tada H, Hidaka Y, Yagoro A, Mitsuda N, Kanzaki T, et al. Prediction of postpartum onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:460-3.
18. Del Puente A, Knowler WC, Pettitt DJ, Bennett PH. The incidence of rheumatoid arthritis is predicted by rheumatoid factor titer in a longitudinal population study. *Arthritis Rheum* 1988; 31:1239-44.
19. Aho K, Heliovaara M, Maatela J, Tuomi T, Palosuo T. Rheumatoid factors antedating clinical rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991; 18:1282-4.
20. Schellekens GA, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43:155-63.
21. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001; 47:1089-93.
22. 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.
23. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van der Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHM, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004; 50:380-6.
24. Mandl LA, Costenbader K, Chibnik L, Schur P, Karlson EW. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies are strongly associated with risk of rheumatoid arthritis after adjusting for hormonal and behavioral factors. *Arthritis Rheum* 2005; 52:S732.
25. Deane KD, Majka DS, Parrish LA, Baron AE, Gilliland WR, Walker CW, et al. RA-related antibodies appear earlier in the pre-clinical period in subjects with an older age at disease onset. *Arthritis Rheum* 2005; 52:S154.
26. Jansen LM, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma IE, van der Stadt RJ, de Koning MHM, Dijkman BAC. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1691-5.
27. Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JMW. How to diagnose rheumatoid arthritis early. A prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:357-65.
28. van Gaalen FA, Linn-Rasker S, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:709-15.
29. Vittecoq O, Incauragarat B, Jouen-Beades F, Legoedec J, Letourneur O, Rolland D, et al. Autoantibodies recognizing citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2004; 135:173-80.
30. Sarkar K, Miller FW. Autoantibodies as predictive and

- diagnostic markers of idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity* 2004; 37:291-4.
31. Miller FW, Waite KA, Biswas T, Plotz PH. The role of an autoantigen, histidyl-tRNA synthetase, in the induction and maintenance of autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9933-7.
 32. Targoff IN, Tricu EP, Plotz PH, Miller FW. Antibodies to glycyl-transfer RNA synthetase in patients with myositis and interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 821-30.
 33. Betterle C, Zanette F, Zanchetta R, Pedini B, Trevisan A, Mantero T, et al. Complement-fixing adrenal autoantibodies as a marker for predicting onset of idiopathic Addison's disease. *Lancet* 1983; 1:1238-41.
 34. Betterle C, Volpato M, Rees-Smith B, Furmaniak J, Chen S, Greggio NA, et al. I. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adult patients with organ-specific autoimmune diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:932-8.
 35. Ketchum CH, Riley WJ, MacLaren NK. Adrenal dysfunction in asymptomatic patients with adrenocortical autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58:1166-70.
 36. Laureti S, De Bellis A, Muccitelli VI, Calcinaro F, Bizzarro A, Rossi R, et al. Levels of adrenocortical autoantibodies correlate with the degree of adrenal dysfunction in subjects with preclinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3507-11.
 37. De Keyser J. Autoimmunity in multiple sclerosis. *Neurology* 1988; 34:371-4.
 38. O'Riordan JI, Thompson AJ, Kingsley DPE, MacManus DJ, Kendall BE, Rudhe P, et al. The prognostic value of brain MRI in clinically isolated syndromes of the CNS: a 10-year follow-up. *Brain* 1998; 121:495-503.
 39. Brex PA, Ciccarelli O, O'Riordan JI, Sailer M, Thompson AJ, Miller DH. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2002; 346:158-64.
 40. Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I, et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med* 2003; 349:139-45.
 41. Tozzoli R, Villalta D, Kodermaz M, Bagnasco M, Tonutti E, Bizzaro N. Autoantibody profiling of AITD patients using a new multiplexed immunoassay method. *Clin Chem Lab Med* 2006 (in stampa).
 42. Plummer MF, Wiersinga WM. Thyroid peroxidase antibodies in healthy subjects. *Best Pract Res Endocrinol Metab* 2005; 19:1-15.
 43. McLachlan SM, Pegg CA, Atherton MC, Middleton SL, Dickinson A, Clark F, et al. Subpopulations of thyroid autoantibodies secreting lymphocytes in Greaves' and Hashimoto thyroid glands. *Clin Exp Immunol* 1986; 65:319-28.
 44. Turnbridge WMG, Evered DC, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, et al. The spectrum of thyroid disease in the community: The Wickham Survey. *Clin Endocrinol* 1977; 7:481-93.
 45. Huber G, Staub JJ, Meier C, Mitrache C, Guglielmetti M, Huber P, et al. Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism: prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3221-6.
 46. Amino N, Mori H, Iwatani Y, Tanizawa O, Kawashima M, Tsuge I, et al. High prevalence of transient postpartum thyrotoxicosis and hypothyroidism. *N Engl J Med* 1982; 306:849-52.
 47. Nøhr SB, Jørgensen A, Pedersen KM, Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid peroxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: is iodine supplementation safe? *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3191-8.
 48. Kita M, Goulis DG, Avramides A. Post-partum thyroiditis in a Mediterranean population: a prospective study of a large cohort of thyroid antibody positive women at the time of delivery. *J Endocrinol Invest* 2002; 25:513-9.
 49. Premawardhana LDKE, Parkes AB, John R, Harris B, Lazarus JH. Thyroid peroxidase antibodies in early pregnancy: utility for prediction of postpartum thyroid dysfunction and implications for screening. *Thyroid* 2004; 14: 610-5.
 50. Mitchison HC, Bassendine MF, Hendrick A, Bennett MK, Bird G, Watson AJ, et al. Positive antimitochondrial antibodies but normal alkaline phosphatase: is this primary biliary cirrhosis? *Hepatology* 1986; 6:1279-84.
 51. Metcalf JV, Mitchison HC, Palmer JM, Jones DE, Bassendine MF, James OFW. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1996; 348:1399-402.
 52. Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OFW. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 2004; 53:865-70.
 53. Cristie MR. Islet cells autoantigens in type 1 diabetes. *Eur J Clin Invest* 1996; 26:827-38.
 54. Bingley PJ, Williams AJK, Gale EAM. Optimized autoantibody-based risk assessment in family members. *Diabetes Care* 1999; 22:1796-801.
 55. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA, et al. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes* 1996; 45:926-33.
 56. Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes. The 2-year analysis of the German BABYDIAB study. *Diabetes* 1999; 48:460-8.
 57. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, Vähäsalo P, Karjalainen J, Löppönen T, et al. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes. A population-based study. *J Clin Invest* 1998; 101:327-36.
 58. Knip M, Vähäsalo P, Karjalainen J, Lounamaa R, Åkerblom HK, and the Childhood Diabetes in Finland Study Group. Natural history of preclinical IDDM in high risk siblings. *Diabetologia* 1994; 37:388-93.
 59. Schlosser M, Strebelow M, Wassmuth R, Arnold ML, Breunig I, Rjasanowski I, et al. The Karlsburg type 1 diabetes risk study of a normal schoolchild population: association of b-cell autoantibodies and human leukocyte antigen-DQB1 alleles in antibody-positive individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2254-61.
 60. Kimpimäki T, Kupila A, Hämäläinen AM, Kukko M, Kulmala P, Savola K, et al. The first signs of b-cell autoimmunity appear in infancy in genetically susceptible children from the general population: the Finnish type I diabetes

- prediction and prevention study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4782-8.
61. LaGasse JM, Brantley MS, Leech NJ, Rowe RE, Monks S, Palmer JP, et al. Successful prospective prediction of type 1 diabetes in schoolchildren through multiple defined autoantibodies. *Diabetes Care* 2002; 25:505-11.
 62. 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.
 63. Ferber KM, Keller E, Albert ED, Ziegler AG. Predictive value of human leukocyte antigen class II typing for the development of islet autoantibodies and insulin-dependent diabetes postpartum in women with gestational diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2342-8.
 64. Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJK, Bingley PJ, et al. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* 2004; 53:384-92.
 65. Schatz D, Krishner J, Horne G, Riley W, Spillar R, Silverstein J, et al. Islet cells antibodies predict insulin-dependent diabetes in United States school age children as powerfully as in unaffected relatives. *J Clin Invest* 1994; 93: 2403-7.
 66. Maclaren N, Lan M, Coutant R, Schatz D, Silverstein J, Muir A, et al. Only multiple autoantibodies to islet cells (ICA), insulin, GAD65, IA-2 and IA-2beta predict immune-mediated (type 1) diabetes in relatives. *J Autoimmun* 1999; 12:279-87.
 67. Krischer JP, Cuthbertson DD, Yu L, Orban T, Maclaren N, Jackson R, et al. Screening strategies for the identification of multiple antibody-positive relatives of individuals with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:103-8.
 68. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348: 2517-24.
 69. Hoffenberg EJ, MacKenzie T, Barriga KJ, Eisenbarth GS, Bao F, Haas JE, et al. A prospective study of the incidence of childhood celiac disease. *J Pediatr* 2003; 143:308-14.
 70. Simell S, Kupila A, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Ståhlberg MR, et al. Natural history of transglutaminase autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility. *Scan J Gastroenterol* 2005; 40:1182-91.
 71. Nejentsev S, Sjöroos M, Soukka T, Knip M, Simell O, Lövgren T, et al. Population-based genetic screening for the estimation of type 1 diabetes mellitus risk in Finland: selective genotyping of markers in the HLA-DQB1, HLA-DQA1 and HLA-DRB1 loci. *Diabet Med* 1999; 16: 985-92.
 72. 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 disease. *Gut* 2005; 54:1232-6.
 73. Scofield RH. Autoantibodies as predictors of disease. *Lancet* 2004; 383:1544-6.
 74. Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. Autoantibodies as predictors of disease. *J Clin Invest* 2001; 108:1417-22.