

# Il follow-up del paziente con dato autoanticorpale inatteso

M. Bagnasco<sup>a</sup>, L. Grassia<sup>b</sup>, G. Pesce<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Patologie Immunoendocrinologiche, Laboratorio di Autoimmunità, Azienda Ospedale-Università San Martino, Genova

<sup>b</sup>Dipartimento di Emato-oncologia, Laboratorio di Immunopatologia, Azienda Ospedale-Università San Martino, Genova

## Riassunto

Spesso differenti anticorpi possono essere evidenziati durante l'esecuzione di test in grado di rilevare più specificità anticorpali, come accade utilizzando l'immunofluorescenza indiretta su sezioni di tessuto. Ciò può dare origine a positività clinicamente inaspettate. E' verosimile che il numero di tali positività aumenti con l'incremento dell'uso di sistemi multiplex e di microarray autoanticorpali. In questo articolo abbiamo analizzato i possibili problemi derivanti da alcune situazioni piuttosto comuni correlate con positività inattese di anticorpi antinucleo, antitiroide, antifosfolipidi e antitransglutaminasi tissutale. In generale, il comportamento clinico nei confronti degli individui che presentano positività autoanticorpali inaspettate dovrebbe essere pianificato tenendo conto che: le positività autoanticorpali sono più frequenti rispetto alle malattie autoimmuni; il valore predittivo positivo di un determinato anticorpo dipende dall'accuratezza diagnostica del test e dalla prevalenza della malattia; gli autoanticorpi possono essere fattori di rischio per malattie autoimmuni ma possono anche avere un ruolo patogenetico di per sé.

Tra le positività autoanticorpali inattese, la positività per anticorpi antinucleo ha un valore predittivo positivo per malattia autoimmune sistemica relativamente basso. Meritano invece una speciale attenzione gli anticorpi antifosfolipidi in relazione al loro possibile ruolo patogenetico e gli autoanticorpi correlati alla malattia celiaca per il loro elevato valore predittivo positivo. In questo articolo verranno discusse le specifiche strategie da adottarsi di fronte ad una positività anticorpale inattesa.

## Summary

### How to follow-up the patient with unexpected autoantibody positivity

"Unexpected" positivities of autoantibody assays are not infrequent, and will probably increase with the increasing use of microarray systems able to simultaneously evaluate a great number of autoantibody specificities. The problems raised by some relatively common "unexpected" positivities (antinuclear, antithyroid, antiphospholipid and antitissue transglutaminase autoantibodies) are discussed in this article. The follow up of subjects with such unexpected findings should be planned taking into account that autoantibody positivities are far more frequent than autoimmune diseases, although autoantibodies may be risk factors for clinical autoimmune disease or also may play a pathogenetical role. The positive predictive value of an autoantibody positivity depends upon the diagnostic accuracy of the test used and disease prevalence. Unexpected nuclear autoantibody positivities have a low positive predictive value for systemic autoimmune disease. Phospholipid autoantibodies deserve more attention due to their possible pathogenic role, as well as tissue transglutaminase autoantibodies due to their very high positive predictive value for celiac disease. This review aims to discuss the specific strategies that should be adopted when an unexpected antibody positivity is found.

*Key words:* autoimmune disease, autoantibodies, antinuclear antibodies, anti-TPO antibodies, anti-phospholipid antibodies, celiac disease.

## Introduzione

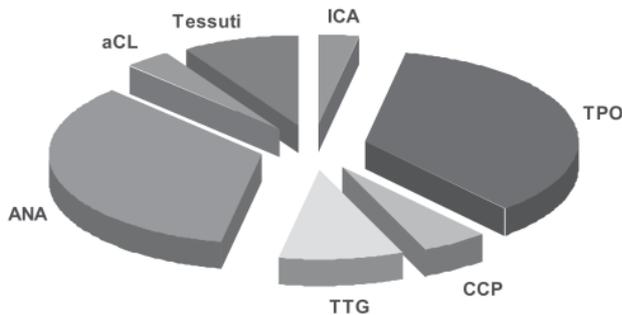
Il rilievo di autoanticorpi specifici nel siero è il più importante strumento diagnostico nelle malattie autoimmuni; peraltro l'accuratezza diagnostica di tali dosaggi è ampiamente variabile e dipende sia dalle specifiche malattie che dai differenti sistemi autoantigeni/autoanticorpo. Autoanticorpi specifici possono essere presenti nel siero anni prima dell'esordio della malattia clinica: d'altro canto la positività autoanticorpale può essere transitoria, ovvero gli anticorpi possono scomparire senza alcuna evidenza di malattia clinica<sup>1</sup>. Oltre all'esistenza di autoanticorpi con specificità relativamente selettiva, è ben nota l'esistenza di autoanticorpi così detti naturali, la cui specificità è minore e le concentrazioni sieriche sono di regola più basse. Anche se il significato fisiopatologico e addirittura fisiologico non è del tutto chiarito, sono state attribuite a questi autoanticorpi naturali un certo numero di possibili funzioni, tra cui la facilitazione della clearance di prodotti catabolici dall'organismo<sup>1</sup>. Sulla base di queste considerazioni, è evidente che una positività autoanticorpale non necessariamente implica la diagnosi di malattia autoimmune. Questo è molto importante quando si considera il problema di come comportarsi con il paziente che presenta una positività inaspettata per autoanticorpi.

Cosa si intende per positività autoanticorpale inattesa? Chiaramente quando gli autoanticorpi nel siero vengono ricercati in seguito a un ben definito sospetto clinico, quale la presenza di due possibili criteri clinici di lupus eritematoso sistemico (LES)<sup>2,3</sup>, la positività è attesa e fornisce chiari suggerimenti per una diagnosi e indicazioni per una strategia clinica. Quando invece la ricerca di autoanticorpi non deriva da un sospetto clinico definito ma da procedure di screening o di case-finding in senso lato, la positività autoanticorpale può essere definita inaspettata e deve essere pianificato il comportamento clinico nei riguardi del paziente. Comunque, positività totalmente inaspettate per autoanticorpi ovvero non correlate a nessuna procedura di screening o di case-finding possono prodursi per ragioni metodologiche. Da molti anni vengono usate combinazioni di sezioni di tessuti (rene, fegato, stomaco) per la ricerca di un certo numero di autoanticorpi con metodiche di immunofluorescenza indiretta (IFI) e questo può condurre alla rilevazione di specificità autoanticorpali (per esempio: antinucleo, antireticolina) che non sono in relazione con il problema clinico originale. E' probabile che nei prossimi anni la disponibilità più vasta di sistemi di microarray<sup>4</sup> possa portare alla rilevazione contemporanea di una grande varietà di autoanticorpi<sup>5</sup> con un notevole aumento di positività inaspettate e conseguenti problemi etici (informazioni al paziente, consenso informato del paziente) e di comportamento clinico. Due fattori principali condizionano il valore diagnostico di un dosaggio autoanticorpale: l'accuratezza diagnostica da un lato e la prevalenza della malattia dall'altro. Inoltre sono di solito impor-

tanti la concentrazione sierica e l'isotipo dell'autoanticorpo. La nostra trattazione è focalizzata su alcune situazioni specifiche.

## Il caso degli anticorpi antinucleo

Gli anticorpi antinucleo (ANA) sono uno strumento fondamentale per la diagnosi delle malattie autoimmuni sistemiche e in particolare del LES<sup>6,7</sup>. Gli ANA vengono dosati con metodiche IFI su cellule HEp-2 o con metodo immunometrico<sup>8-10</sup>. I dati osservati nel nostro contesto epidemiologico dimostrano che gli ANA rappresentano una percentuale consistente (circa 30%) rispetto al totale delle determinazioni anticorpali effettuate (Fig. 1). Se consideriamo la prevalenza relativa delle differenti malattie autoimmuni, sia sistemiche che organo specifiche (Fig. 2), la prevalenza del LES è pari a circa lo 0.2% del totale, pari al 2% per la sindrome di Sjögren e le altre malattie autoimmuni in cui possono verificarsi positività per ANA (connettivite mista, sclerodermia, epatite autoimmune, ecc.) sommate insieme raggiungono un valore inferiore allo 0.5%. Questo significa che in molti casi gli ANA sono ricercati sulla base di un sospetto clinico assai poco circoscritto. Questo può essere in relazione, almeno in parte, alla complessità e all'elusività del quadro clinico nell'ampio spettro delle malattie autoimmuni del connettivo. D'altro canto una percentuale relativamente alta di individui apparentemente sani ha ANA positivi (circa 5% alla diluizione 1:160; più del doppio a diluizione 1:80)<sup>11</sup>. Di conseguenza la maggior parte dei risultati delle determinazioni di ANA correntemente richieste avranno un risultato negativo; ma è molto alta la probabilità di risultati falsi positivi. Di fatto quando si considerano pazienti selezionati in base ad un solo criterio clinico per la diagnosi di LES, nei quali si attende una prevalenza di malattia di circa l'1%, il valore predittivo negativo degli ANA è stato valutato intorno al 100%, mentre il valore predittivo positivo è molto basso, intorno al 16%<sup>12,13</sup>. Perciò, la positività per ANA di per sé (ovvero senza sintomi riferibili ad una specifica malattia autoimmune) ha un valore predittivo positivo molto basso. Questo è di notevole importanza quando si prende in considerazione il comportamento clinico nei riguardi dei soggetti con positività ANA, evidenziate in seguito a screening di gruppi selezionati (es: pazienti portatori di altre malattie autoimmuni) o ad osservazioni incidentali in IFI su tessuti. Inoltre, il valore predittivo positivo di inattesa positività per ANA deve essere considerato in relazione al titolo e all'eventuale presenza di reattività per antigeni nucleari specifici. Titoli alti (es. 1:320 o più) correlano in maniera più stretta con malattia autoimmune sistemica<sup>11</sup> anche se non sono specifici per tali malattie<sup>14,15</sup>. Inoltre, solo circa il 20% di sieri positivi per ANA dimostra una o più positività per antigeni nucleari specifici<sup>16</sup> e la probabilità che tali sieri siano positivi per antigeni nucleari specifici dipende dal titolo degli ANA. Alla diluizione 1:1280, la grande

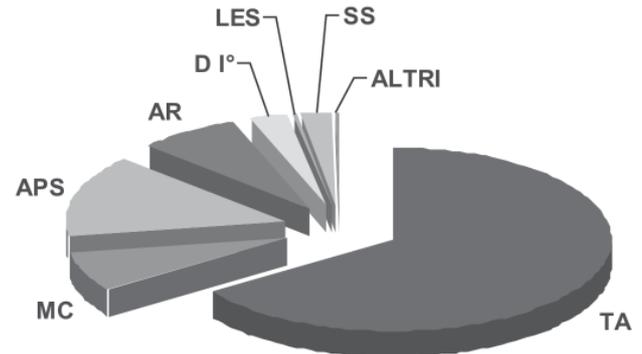


**Figura 1.** Frequenze relative di alcuni dosaggi autoanticorpali comunemente usati (TPO, anticorpi anti-tireoperossidasi; ANA, anticorpi antinucleo; aCL, anticorpi anti-cardiolipina; ICA, anticorpi anti-insulina; CCP, anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato; TTG, anticorpi anti-transglutaminasi tissutale; TESSUTI, dosaggio autoanticorpale su sezioni di fegato, stomaco e rene). Dati elaborati in base ai dosaggi effettuati in 3 laboratori di riferimento della Liguria nei primi 6 mesi del 2005.

maggioranza dei campioni ha positività specifica<sup>17</sup>, mentre alla diluizione 1:160 le reattività specifiche sono dimostrabili solo in una minoranza di sieri, soprattutto in presenza di positività ANA di tipo granulare<sup>17</sup>. Quindi, la presenza di positività per antigeni nucleari specifici, il titolo degli ANA e il quadro fluoroscopico sono in relazione tra di loro.

Inoltre, positività inattesa per ANA devono, in ogni caso, indurre ad una rivalutazione della storia clinica, ivi compresa la somministrazione di farmaci che possono essere correlati con positività ANA, il quadro clinico obiettivo e altri dati di laboratorio disponibili (emocromo, dati biochimici di base) per evidenziare possibili criteri diagnostici di malattie autoimmuni sistemiche in precedenza trascurati. Tale rivalutazione dovrebbe comprendere anche altre malattie in cui gli ANA possono essere ritrovati. Ciò accade nelle malattie del fegato come epatiti autoimmuni, epatiti virali, infezioni da virus epatotropi (HCV, HBV, CMV, EBV)<sup>18,19</sup> o in altre malattie autoimmuni specifiche, in particolare la tiroidite autoimmune<sup>19,20</sup>. Le malattie autoimmuni della tiroide sono le malattie autoimmuni più frequenti e la loro prevalenza è superiore a quella di tutte le malattie autoimmuni sistemiche considerate complessivamente. La poliendocrinopatia autoimmune di tipo III è la più frequente associazione tra malattie autoimmuni differenti e una positività inattesa per ANA, in assenza di sintomi, può, non infrequentemente, essere dovuta alla sindrome poliendocrina di tipo III incompleta e portare all'identificazione di una tiroidite autoimmune precedentemente non riconosciuta<sup>20,21</sup>.

Un titolo alto di ANA indipendentemente dal quadro clinico deve indurre ad indagare lo "stato immunologico" (complemento, immunoglobuline, immunocomplessi, ecc) e alla ricerca di positività per antigeni nucleari specifici anche tenendo conto del quadro fluoroscopico osservato. La presenza di dati clinici precedentemente trascurati che possono suggerire una de-



**Figura 2.** Frequenze relative (stimate sulla base dei dati di prevalenza riportati nella letteratura corrente) di differenti patologie autoimmuni: tiroiditi autoimmuni (TA), malattia celiaca (MC), sindrome da antifosfolipidi (APS), artrite reumatoide (AR), lupus eritematoso sistemico (LES), sindrome di Sjögren (SS), diabete di tipo I (D I°).

terminata malattia autoimmune deve anch'essa indurre alla ricerca di antigeni nucleari specifici anche in presenza di titoli ANA bassi<sup>11,17</sup>.

Sulla base di tutti questi dati ci si attenderebbe che un alto rischio di una condizione di malattia sia evidenziato in una piccola percentuale di soggetti con positività per ANA inattesa. Tali pazienti saranno avviati a diagnosi strumentale specifica, terapia e/o follow-up se necessario.

Quale comportamento adottare con la grande maggioranza dei pazienti ANA positivi, asintomatici con titoli anticorpali relativamente bassi, assenza di positività per antigeni nucleari specifici, assenza di associazione con altre malattie autoimmuni e con altre condizioni patologiche? E' razionale suggerire un follow-up a 6-12 mesi con una valutazione clinica generale e una ripetizione del test ANA. E' noto comunque che la positività per ANA tende a persistere in ripetute indagini durante il follow-up, anche in assenza di sviluppo di malattia e che solo una minoranza di pazienti ANA positivi svilupperà una malattia autoimmune sistemica nel tempo<sup>22</sup>. E' comunque opportuno, almeno per quanto riguarda i soggetti sani con persistente positività ad alto titolo che il medico fornisca adeguate informazioni sui possibili fattori di rischio per lo sviluppo di malattie autoimmuni sistemiche con riferimento ad esempio all'opportunità di assumere contraccettivi estrogenici, all'esposizione ai raggi ultravioletti, ecc.

## Il caso degli autoanticorpi anti-tiroide

Come abbiamo già sottolineato, le più frequenti malattie autoimmuni sono quelle riguardanti la tiroide e in particolare le tiroiditi autoimmuni. Gli autoanticorpi antitiroide [anticorpi anti-tireoperossidasi (TPO) e anti-tireoglobulina (Tg)] risultano frequentemente riscontrabili in popolazioni non selezionate indipendentemente da anomalie funzionali della tiroide<sup>23-28</sup>.

Gli anticorpi anti-TPO correlano più chiaramente con

l'alterazione di funzione tiroidea rispetto agli anticorpi anti-Tg e il valore diagnostico degli anticorpi anti-Tg nell'autoimmunità tiroidea è di secondaria importanza: solo una piccola percentuale di pazienti con tiroidite autoimmune ha positività per anticorpi anti-Tg e non per anticorpi anti-TPO<sup>29</sup>.

Sebbene il possibile significato clinico di bassi livelli di anticorpi anti-TPO non sia a tutt'oggi stato chiarito<sup>29</sup>, tali autoanticorpi sono stati chiaramente identificati come fattori di rischio per lo sviluppo di malattia autoimmune tiroidea clinica<sup>28</sup>. In una corretta impostazione clinica, gli anticorpi anti-TPO dovrebbero essere richiesti solamente dopo aver formulato un sospetto di malattia autoimmune tiroidea sulla base di anomalie dei valori del TSH, o nei casi in cui si verificano specifiche condizioni che predispongono alla patologia autoimmune tiroidea, o in casi in cui venga favorita l'espressione clinica di malattie autoimmuni tiroidee latenti. Tali condizioni comprendono un certo numero di trattamenti farmacologici, primo tra tutti il trattamento con citochine come gli interferoni e l'interleuchina 2 (dette "citochine di tipo I" e ritenute implicate nella patogenesi della tiroidite autoimmune), amiodarone, carbonato di litio<sup>29-31</sup>.

Inoltre la presenza di altre malattie autoimmuni o di altre positività autoanticorpali (vedi sopra) possono suggerire la ricerca degli anticorpi anti-TPO per indagare la presenza di una poliendocrinopatia autoimmune di tipo III in relazione alla sua frequenza relativamente elevata<sup>21,32,33</sup>. In fase preconcezionale e all'inizio della gravidanza, gli anticorpi anti-TPO vengono spesso ricercati in relazione al loro valore predittivo positivo (circa 50%) per lo sviluppo di tiroiditi nel periodo post parto<sup>34</sup>.

Tutte queste considerazioni portano a pensare che solo raramente la positività autoanticorpale per TPO è inaspettata. Alcune volte gli anticorpi anti-TPO e anche gli anticorpi anti-Tg vengono richiesti erroneamente in condizioni basali insieme agli esami riguardanti la funzionalità tiroidea (in particolare TSH e ormoni tiroidei). Peraltro è dimostrato che la positività degli anticorpi anti-TPO porta all'identificazione di un certo numero di pazienti che sono a rischio di disfunzione tiroidea (soprattutto di ipotiroidismo dovuto a tiroidite autoimmune) ma la cui funzione tiroidea è del tutto normale. Tuttavia non vi è dubbio che tali soggetti non necessitino di alcuna terapia.

Il follow-up delle variazioni delle concentrazioni degli anticorpi anti-TPO nel tempo non fornisce elementi utili per il comportamento clinico da adottare con questi pazienti<sup>29</sup>.

Deve invece essere monitorata la funzione tiroidea (attraverso il dosaggio del TSH) e l'intervallo di tempo in cui tale monitoraggio deve essere effettuato dipende dal contesto clinico specifico, in particolare il protocollo e la tempistica delle terapie che influenzano la funzione tiroidea o l'autoimmunità tiroidea o il decorso della gravidanza.

In ogni caso, è necessario eseguire una valutazione morfologica della tiroide attraverso l'esame ecografico, per dimostrare un eventuale processo tiroiditico in atto (anche prima che si verificano modificazioni della funzione tiroidea) che richiederebbe un follow-up più stretto per lo sviluppo di ipotiroidismo da trattare<sup>35</sup>.

Per quanto riguarda gli anticorpi anti-recettore per il TSH, questi non sono usati di regola come esame diagnostico di prima istanza. Inoltre, i metodi di seconda generazione presentano un'accuratezza analitica e diagnostica molto alta<sup>29,36,37</sup> e le positività con tali metodi assumono un significato diagnostico molto chiaro e atteso.

## Il caso degli anticorpi antifosfolipidi

La nozione di anticorpi antifosfolipidi (aPL) nasce prima degli anni '60 come dato inatteso, ovvero risultati falsi positivi nelle indagini di laboratorio per la sifilide. Inoltre nei primi anni sessanta il così detto fenomeno del "lupus anticoagulante" era stato descritto come "una interferenza (inibizione nella coagulazione) nei test di coagulazione in vitro"<sup>38</sup>.

Oggi lo screening per la sifilide è usato molto meno frequentemente che 50 anni fa e d'altro canto esami per lo studio della coagulazione vengono ampiamente usati sia per procedure generali di screening che per esigenze specifiche (prima di procedere ad interventi chirurgici, prima dell'inizio dell'assunzione di contraccettivi orali e così via).

La percentuale di soggetti che presentano aPL è stimata attorno al 2-5 % della popolazione generale e la prevalenza della sindrome da antifosfolipidi primaria (APS) è probabilmente sottostimata<sup>39-41</sup>. Quindi non è trascurabile la probabilità di evidenziare, nel corso degli esami di routine, una positività sconosciuta per aPL in seguito all'osservazione del prolungamento del tempo di coagulazione, altrimenti non giustificato.

La APS è stata descritta come una entità clinica all'inizio degli anni ottanta, principalmente sulla base della presenza di trombosi arteriose, venose e/o anomalie relative alla gravidanza (abortività, parti pretermine)<sup>42,43</sup> in associazione con positività per un test correlato agli aPL.

Il dosaggio per gli anticorpi anticardiolipina e il così detto lupus anticoagulante sono i test più comunemente usati<sup>44</sup>; inoltre sono state messe in evidenza svariate positività nei confronti di autoantigeni specifici ben definiti correlati con gli aPL, innanzitutto la  $\beta_2$  glicoproteina I ( $\beta_2$ GPI), e inoltre protrombina, annexina V e LDL ossidate<sup>45-48</sup>. Sono state prospettate possibili associazioni tra alcuni di questi specifici autoanticorpi e determinate manifestazioni cliniche (per esempio abortività)<sup>48,49</sup>. La APS primaria è un fattore di rischio noto per malattie cardiovascolari e cerebrovascolari associato con un aumentato rischio di malattie neoplastiche e con una diminuita aspettativa di vita<sup>39,50</sup>. Inoltre, gli aPL non sono solo strettamente associati con la malat-

tia clinica, ma possono probabilmente avere un ruolo patogenetico diretto promuovendo, a dispetto del loro effetto paradosso sui test di coagulazione in vitro, ipercoagulabilità in vivo<sup>51,52</sup>. Per tutte queste ragioni il loro riscontro inatteso ha probabilmente un impatto più definito sul comportamento clinico da tenere con il paziente, in confronto con una positività inattesa per ANA o per anticorpi anti-TPO. Il follow-up clinico del paziente suggerirà la necessità o meno di iniziare profilassi antitrombotica (per esempio acido acetilsalicilico a basse dosi) anche in assenza di qualsiasi segno o sintomo clinico<sup>53,54</sup>. Occorre a tale proposito tener conto dei seguenti fattori:

- la storia clinica: l'evenienza di un isolato episodio di trombosi o di un isolato e non spiegato fenomeno di aborto nel passato senza che fosse stato formulato il sospetto clinico di APS.
- la presenza o il possibile sopravvenire di fattori di rischio per trombosi come ad esempio immobilizzazione in caso di trauma oppure insufficienza venosa o malattie cardiovascolari coesistenti.
- le concentrazioni di aPL (positività a basso titolo hanno spesso carattere aspecifico).
- assunzione di farmaci capaci di indurre aPL.
- infezioni da agenti microbici o virali che possono occasionalmente indurre aPL<sup>55</sup>.

In questi due ultimi casi gli aPL di solito non sono associati con un rischio di trombosi soprattutto perché non legano l'antigene critico  $\beta_2$ GPI<sup>56</sup>. Per quanto riguarda i primi due punti, la profilassi con farmaci antitrombotici deve probabilmente essere presa in considerazione. Rimane da stabilire se possa essere utile la rilevazione di determinate specificità associate ai fosfolipidi (per esempio antiprotrombina, annexina V) in soggetti asintomatici per identificare quelli a più alto rischio di eventi trombotici o di abortività.

Oltre alla APS primaria, un numero nettamente inferiore di individui è portatore di APS secondaria ovvero associata ad altre malattie autoimmuni<sup>39,57,58</sup>. Questa condizione è stata prototipicamente associata con LES come indicato anche dal nome di "lupus anticoagulante" attribuito al test per misurare l'interferenza degli autoanticorpi con la coagulazione in vitro. Peraltro l'associazione può esistere anche con altre malattie autoimmuni sistemiche. La APS è stata inoltre evidenziata con relativa frequenza in associazione con autoimmunità tiroidea<sup>59,60</sup> e con vasculiti<sup>61</sup>.

L'inattesa positività per gli aPL potrebbe svelare un aumentato rischio per malattie autoimmuni sistemiche (per esempio per il LES)? Nonostante la positività per gli anticorpi aPL sia considerato un criterio classificativo del LES<sup>3</sup>, la risposta alla domanda è probabilmente negativa a causa della bassa prevalenza del LES nella popolazione generale confrontata con la prevalenza degli aPL. Tuttavia la ricerca di criteri clinici trascurati precedentemente per malattie autoimmuni sistemiche può essere di aiuto, se valutati in associazione con ANA, nella formulazione del sospetto di APS secondaria.

## Il caso degli autoanticorpi correlati con la malattia celiaca

L'associazione di autoanticorpi circolanti con la malattia celiaca è nota da decenni<sup>62,63</sup>. Il tipico quadro fluoroscopico degli anticorpi anti-endomisio, evidenziabile su esofago distale di scimmia o su cordone ombelicale ha sensibilità e specificità molto alte per la diagnosi di malattia celiaca, decisamente superiori rispetto agli anticorpi anti-gliadina<sup>64-68</sup>. Comunque un quadro fluoroscopico tipico può essere evidenziato anche su sezioni di rene o di fegato (anticorpi anti-reticolina). In questi casi la sensibilità è bassa ma la specificità rimane elevata. In seguito alla caratterizzazione dell'autoantigene transglutaminasi tissutale e alla sua produzione in forma ricombinante, sono disponibili metodiche immunometriche altamente sensibili e specifiche e l'uso dei dosaggi autoanticorpali si è ulteriormente ampliato<sup>68,69</sup>. La consapevolezza che la malattia celiaca è relativamente comune (circa 1% della popolazione generale) nei paesi occidentali, e che la maggior parte dei casi non vengono diagnosticati per mancanza di sintomatologia conclamata<sup>70,71</sup>, unitamente all'identificazione di gruppi a rischio (per esempio parenti di celiaci o pazienti affetti da altre patologie autoimmuni), ha indotto l'uso dello screening autoanticorpale su numeri relativamente elevati di soggetti asintomatici. Inoltre, per quanto gli anticorpi anti-reticolina non siano più usati per la diagnosi di celiachia a causa della loro bassa sensibilità, il quadro fluoroscopico di tale tipo può facilmente essere identificato quando si utilizzano sezioni di fegato nei test di IFI per la ricerca di altre specificità anticorpali. Quindi può essere messa in evidenza una positività autoanticorpale suggestiva di celiachia, totalmente inaspettata. Nel programmare una strategia per tali individui clinicamente silenti deve essere tenuto conto delle seguenti considerazioni:

- l'alto valore predittivo positivo degli autoanticorpi nella diagnosi di malattia celiaca<sup>62,69,72</sup>.
- l'aumentata morbilità e mortalità della malattia celiaca non trattata rispetto alla popolazione normale, per quanto il rischio di linfoma nella celiachia silente sia stato ridimensionato dagli studi più recenti<sup>73-75</sup>.
- il fatto che molti pazienti celiaci clinicamente non silenti (per esempio portatori di anemia da carenza marziale o osteoporosi) di fatto non vengono diagnosticati.
- la disponibilità di uno strumento terapeutico efficace nella quasi totalità dei pazienti, cioè la dieta priva di glutine.

Sulla base di queste considerazioni deduciamo che una positività autoanticorpale inattesa che suggerisce il sospetto di celiachia, indipendentemente dalla sua origine, debba essere confermata secondo quanto stabilito da diverse linee guida<sup>76,77</sup> e che la biopsia intestinale debba essere suggerita per confermare definitivamente la diagnosi di celiachia. Un'attenta revisione della storia clinica dimostrerà se il soggetto è realmente asintoma-

tico e/o privo di fattori di rischio, e ulteriori elementi verranno acquisiti con altre indagini di laboratorio e strumentali. Una volta formulata la diagnosi di malattia silente o sintomatica può essere presa la decisione di quando e in che circostanza iniziare la dieta priva di glutine.

### Considerazioni conclusive

La disponibilità di test di laboratorio in grado di evidenziare simultaneamente un numero elevato di autoanticorpi sta diventando sempre più ampia e questo probabilmente porterà ad un aumento di positività autoanticorpali inattese<sup>4,5,78</sup>. Abbiamo cercato di descrivere alcune situazioni cliniche che di fatto possono verificarsi con una certa frequenza ma, in generale bisogna essere consapevoli che riscontrare una positività autoanticorpale nel siero non significa necessariamente avere a che fare con una malattia autoimmune. Il peso del sospetto derivato da una determinata positività autoanticorpale dipende dalla accuratezza analitica e diagnostica del dosaggio come pure dalla prevalenza della relativa malattia. Il sospetto di malattia autoimmune comunque formulato, richiede conferma.

Sono disponibili linee guida che forniscono strategie diagnostiche adeguate, tali da minimizzare il rischio di errori diagnostici per difetto o per eccesso. Peraltro, considerato l'atteso incremento numerico delle positività autoanticorpali inattese, sarebbe auspicabile che le prossime revisioni di tali linee guida prendessero in considerazione questo problema, con particolare riferimento ai risvolti etici, all'informazione e alla rassicurazione del paziente.

### Bibliografia

1. Bayry J, Misra N, Dasgupta S, Lacroix-Desmanzes S, Kazatchkine M.D, Kaveri SV. Natural autoantibodies: immune homeostasis and therapeutic intervention. *Expert Rev Clin Immunol* 2005; 1:213-22.
2. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25:1271-7.
3. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1725.
4. Scofield RH. Autoantibodies as predictors of disease. *Lancet* 2004; 363:1544-6.
5. Venkatasubbarao S. Microarrays status and prospects. *Trends Biotechnol* 2004; 22:630-7.
6. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 2000; 53:424-32.
7. Arbuckle MR, McClain 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.
8. Emlen W, O'Neill L. Clinical significance of antinuclear antibodies: comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1612-8.
9. Tonuttia E, Bassetti D, Piazza A, Visentini D, Poletto M, Bassetto F, et al. Diagnostic accuracy of ELISA methods as an alternative screening test to indirect immunofluorescence for the detection of antinuclear antibodies. Evaluation of five commercial kits. *Autoimmunity* 2004; 37: 171-6.
10. Showman O, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Yehiely A, Langevitz P, Shoenfeld Y. Multiplexed AteNA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2005; 38:105-9.
11. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1601-11.
12. Bizzaro N, Wiik A. Appropriateness in anti-nuclear antibody testing: from clinical request to strategic laboratory practice *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22:349-55.
13. Keren DF, Hedstrom DL. Contemporary approaches to anti-nuclear antibody serology. *J Clin Lig Assay* 1999; 22: 50-5.
14. Malleson PN, Sailer M, Mackinnon MJ. Usefulness of antinuclear antibody testing to screen for rheumatic diseases. *Arch Dis Child* 1997; 77:299-304.
15. Vaile JH, Dyke L, Kherani R, Johnston C, Higgins T, Russell AS. Is high titre ANA specific for connective tissue disease? *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18:433-8.
16. Peene I, Meheus L, Veys EM, De Keyser F. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:1131-6.
17. Dawkins RL, Martinez OP, Freitas EM, Hollingsworth PN. Diagnosis of autoimmune disease. In: Rose NR, Mackay IR, eds. *The autoimmune diseases*. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 1998:821-31.
18. Cuomo G, Mantelli A, Improta RD, Stornaiuolo G, Di Biase S, Gaeta GB, et al. Isolated autoimmune response: definition, analysis of the prevalence in an outpatient rheumatology clinic, relationship to pre-clinical autoimmune disease and infections by hepatotropic viruses. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20:7-12.
19. Squadrito G, Previti M, Lenzi M, Le Rose EP, Caccamo G, Restuccia T, et al. High prevalence of non-organ-specific autoantibodies in hepatitis C virus-infected cirrhotic patients from southern Italy. *Dig Dis Sci* 2003; 48:349-53.
20. Myckatyn SO, Russell AS. Outcome of positive antinuclear antibodies in individuals without connective tissue disease. *J Rheumatol* 2003; 30:736-9.
21. Betterle C, Zanchetta R. Update on autoimmune polyendocrine syndromes (APS). *Acta Biomed Ateneo Parmense* 2003;74:9-33.
22. Vlachoyiannopoulos PG, Tzavara V, Dafni U, Spanos E, Moutsopoulos HM. Clinical features and evolution of antinuclear antibody positive individuals in a rheumatology outpatient clinic. *J Rheumatol* 1998; 25:886-91.
23. Marcocci N, Chiovato L, Thyroid-direct antibodies. In: Braverman LE, Utiger RD. (eds). *The Thyroid*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott; p.414-31.
24. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:489-99.

25. Pedersen IB, Laurberg P, Knudsen N, Jorgensen T, Perrild H, Ovesen L, et al. Lack of association between thyroid autoantibodies and parity in a population study argues against microchimerism as a trigger of thyroid autoimmunity. *Eur J Endocrinol* 2006; 154:39-45.
26. Okamura K, Nakashima T, Ueda K, Inoue K, Omae T, Fujishima M. Thyroid disorders in the general population of Hisayama Japan, with special reference to prevalence and sex differences. *Int J Epidemiol* 1987; 16:545-9.
27. Loviselli A, Velluzzi F, Mossa P, Cambosu MA, Secci G, Atzeni F, et al. Sardinian Schoolchildren Study Group. The Sardinian Autoimmunity Study: 3. Studies on circulating antithyroid antibodies in Sardinian schoolchildren: relationship to goiter prevalence and thyroid function. *Thyroid* 2001; 11:849-57.
28. Vanderpump MPJ, Tunbridge 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 Whickham Survey. *Clin Endocrinol* 1995; 43:55-68.
29. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, et al. Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13:3-126.
30. Martino E, Bartalena L, Bogazzi F, Braverman LE. The effects of amiodarone on the thyroid. *Endocr Rev* 2001; 22:240-54.
31. Johnston AM, Eagles JM. Lithium-associated clinical hypothyroidism. Prevalence and risk factors. *Br J Psychiatry* 1999; 175:336-9.
32. Ward DL, Bing-You RG. Autoimmune thyroid dysfunction induced by interferon-alpha treatment for chronic hepatitis C: screening and monitoring recommendations. *Endocr Pract* 2001; 7:52-8.
33. Szyper-Kravitz M, Marai I, Shoenfeld Y. Coexistence of thyroid autoimmunity with other autoimmune diseases: friend or foe? Additional aspects on the mosaic of autoimmunity. *Autoimmunity* 2005; 38:247-55.
34. Muller AF, Drexhage HA, Berghout A. Postpartum thyroiditis and autoimmune thyroiditis in women of childbearing age: recent insights and consequences for antenatal and postnatal care. *Endocr Rev* 2001; 22:605-30.
35. Pedersen IB, Laurberg P, Knudsen N, Jorgensen T, Perrild H, Ovesen L, et al. A population study of association between thyroid autoantibodies in serum and abnormalities in thyroid function and structure. *Clin Endocrinol* 2005; 62:713-20.
36. Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R, Badenhop K, Struck J, Freitag D, et al. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:90-7.
37. Villalta D, Orunesu E, Tozzoli R, Montagna P, Pesce G, Bizzaro N, et al. Analytical and diagnostic accuracy of "second generation" assays for thyrotrophin receptor antibodies with radioactive and chemiluminescent tracers. *J Clin Pathol* 2004; 57:378-82.
38. Conley CL, Hartmann RC. A haemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952; 31:621-3.
39. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Euro-Phospholipid Project Group. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1019-27.
40. Avcin T, Ambrozic A, Kuhar M, Kveder T, Rozman B. Anticardiolipin and anti-beta(2) glycoprotein I antibodies in sera of 61 apparently healthy children at regular preventive visits. *Rheumatology* 2001; 40:565-73.
41. Uthman I, Khamashta M. Ethnic and geographical variation in antiphospholipid (Hughes) syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1671-6.
42. Hughes GR. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983; 287:1088-9.
43. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1309-11.
44. Tomer Y, Shoenfeld Y. The relationship between the lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies and antiphospholipid antibodies. *Isr J Med Sci* 1992; 28:38-40.
45. Galli M, Comfurius P, Maassen C, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 335:1544-7.
46. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4120-4.
47. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamaniishi H, Machii T, et al. Association between the prevalence of antibodies to  $\beta_2$  glycoprotein 1, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. *Clin Chem* 2001; 47:1008-15.
48. Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Tampoia M, Tozzoli R. Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid-binding protein antibodies in anticardiolipin-negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129:61-8.
49. Palosuo T, Virtamo J, Haukka J, Taylor PR, Aho K, Puurunen M, et al. High antibody levels to prothrombin imply a risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in middle-aged men. *Thromb Haemost* 1997; 78:1178-82.
50. Lockshin M, Tenedios F, Petri M, McCarty G, Forastiero R, Krilis S, et al. Cardiac disease in the antiphospholipid syndrome: recommendations for treatment. Committee consensus report. *Lupus*. 2003; 12:518-23.
51. Blank M, Cohen J, Toder V, Shoenfeld Y. Induction of anti-phospholipid syndrome in naive mice with mouse lupus monoclonal and human polyclonal anti-cardiolipin antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:3069-73.
52. Khamashta MA, Asherson RA. Hughes syndrome: antiphospholipid antibodies move closer to thrombosis in 1994. *Br J Rheumatol* 1995; 34:493-4.
53. Lockshin MD. Which patients with antiphospholipid antibody should be treated and how? *Rheum Dis Clin North Am* 1993; 19:235-47.
54. Alarcon-Segovia D, Boffa MC, Branch W, Cervera R, Gha-

- ravi A, Khamashta M, Shoenfeld Y, Wilson W, Roubey R. Prophylaxis of the antiphospholipid syndrome: a consensus report. *Lupus* 2003; 12:499-503.
55. Vaarala O, Palosuo T, Kleemola M, Aho K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 41:8-15.
  56. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Suzuki T, Sumida T, et al. Heterogeneity of anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J Immunol* 1992; 148:3885-91.
  57. Merkel PA, Chang Y, Pierangeli SS, Convery K, Harris EN, Polissone RP. The prevalence and clinical associations of anticardiolipin antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue diseases. *Am J Med* 1996; 101:576-83.
  58. Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Font J, Cervera R, Lopez-Soto A, et al. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome: a European Multicenter Study of 114 patients. *Am J Med* 1994; 96:3-9.
  59. Matalon ST, Blank M, Ornoy A, Shoenfeld Y. The association between anti-thyroid antibodies and pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45:72-7.
  60. Nardo S, Della Guardia M, Santaguida MG, Virili C, Gargano L, Centanni M. Recurrent pregnancy loss and thyroid disease: an underestimated aspect of autoimmune polyglandular syndrome. *J End Invest* 2005; 28:49.
  61. Rees JD, Lanca S, Marques PV, Gomez-Puerta JA, Moco R, Oliveri C, et al. Prevalence of the antiphospholipid syndrome in primary systemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:109-11.
  62. Wright R, Alp MH. Autoantibodies to reticulin in patients with various gastrointestinal diseases and their relationship to immunoglobulins and dietary antibodies. *Gut* 1971; 12:858-9.
  63. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984; 111:395-402.
  64. Ferreira M, Davies SL, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? *Gut* 1992; 33:1633-7.
  65. Ladinser B, Rossipal E, Pittschieler K. Endomysium antibodies in coeliac disease: an improved method. *Gut* 1994; 35:776-8.
  66. Lerner A, Kumar V, Iancu TC. Immunological diagnosis of childhood coeliac disease: comparison between anti-gliadin, antireticulin and antiendomysial antibodies. *Clin Exp Immunol* 1994; 95:78-82.
  67. Bagnasco M, Montagna P, De Alessandri A, Castellano E, Pesce GP, Gatti R. IgA antiendomysium antibodies in human umbilical cord sections as a screening test in relatives of patients with coeliac disease. *Allergy* 1997; 52:1017-21.
  68. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Nat Med* 1997; 3:797-801.
  69. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabo I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17:85-91.
  70. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of coeliac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348:2517-24.
  71. Tommasini A, Not T, Kiren V, Baldas V, Santon D, Trevisiol C, et al. Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis Child* 2004; 89:512-5.
  72. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N, Caradonna M, Cerni L, Villalta D, et al. French-Italian Laboratory Study Group on Coeliac Disease. The role of antitissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of coeliac disease: a French-Italian multicentre study. *J Clin Pathol* 2003; 56:389-93.
  73. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, Brusco G, Ciacci C, Cottone M, et al. Club del Tenue Study Group. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001; 358:356-61.
  74. Card TR, West J, Holmes GK. Risk of malignancy in diagnosed coeliac disease: a 24-year prospective, population-based, cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20:769-75.
  75. Luisa Mearin M, Catassi C, Brousse N, Brand R, Collin P, Fabiani E, et al. on behalf of the Biomed Study Group on Coeliac Disease and Non-Hodgkin Lymphoma. European multi-centre study on coeliac disease and non-Hodgkin lymphoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18:187-94.
  76. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of coeliac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40:1-19.
  77. Tonutti E., Visentini D, Bizzaro N., Villalta D., Bagnasco M., Tozzoli R, et al. Guidelines for the serological and histopathological diagnosis of coeliac disease. *It J Lab Med* 2005; 2:110-22.
  78. Shoenfeld Y, Tincani A. Autoantibodies-the smoke and the fire. *Autoimmunity* 2005; 38:1-2.