

L'iceberg autoimmune: alla ricerca del sommerso

R. Tozzoli

Dipartimento dei Servizi, Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Latisana (UD)

Riassunto

La sempre maggiore diffusione delle malattie autoimmuni nella popolazione è legata a variazioni della loro epidemiologia, ma soprattutto ai progressi delle tecniche d'indagine diagnostica autoanticorpale. Il ruolo diagnostico e predittivo degli autoanticorpi consente diagnosi e terapie precoci, ma soprattutto permette di identificare patologie autoimmuni in fase preclinica: vi è accordo nel ritenere che nella popolazione per ogni forma di patologia autoimmune conclamata siano presenti 5-10 casi in fase preclinica (iceberg epidemiologico autoimmune).

Gli scopi di questa rassegna sono di analizzare le dimensioni della componente sommersa dell'iceberg autoimmune, di descrivere le patologie più frequentemente diagnosticabili, di analizzare i gruppi a rischio o le popolazioni da indagare e di proporre un elenco di autoanticorpi con elevato valore predittivo positivo da inserire in pannelli diagnostici utili per finalità di screening.

Summary

The autoimmune iceberg: exploring below the waterline

The expanding diffusion of autoimmune diseases in the worldwide population depends on epidemiological variations, but mainly on the improvement of autoantibody testing. The diagnostic and predictive role of autoantibodies allows early diagnostic and therapeutic interventions and identification of autoimmune pathologies in the pre-clinical phase. A vast number of screening studies supports the concept of autoimmune epidemiological 'iceberg', where the ratio between clinical and preclinical autoimmune diseases is about 1:10.

The aims of this paper are: first, to describe the dimensions of the submerged part of the autoimmune iceberg, defining the most frequent autoimmune diseases located below the waterline; second, to identify at-risk groups or populations of subjects who should be investigated; and third, to propose a list of autoantibodies with high positive predictive value to insert in a diagnostic panel for screening purposes.

Key words: predictive value, autoantibodies, autoimmune diseases, screening.

Epidemiologia e storia naturale delle malattie autoimmuni

La diffusione delle malattie autoimmuni è in significativo incremento nella popolazione mondiale: in assenza di dati ufficiali, stime affidabili indicano una prevalenza media del 3% nell'infanzia-adolescenza¹ e del 10% nell'età adulta², con ampie oscillazioni geografiche. Non sono note le cause di quest'aumento, anche se l'ipotesi più suggestiva (ipotesi dell'igiene) suppone che l'aumento degli attacchi autoimmuni sia il risultato della diminuita attività del sistema immunitario nei confronti del 'non-self' per riduzione dell'incidenza delle malattie infettive nella popolazione, legata alle migliori condizioni igieniche e all'introduzione delle vaccinazioni di massa³.

A contribuire a questo incremento sono sicuramente intervenuti i recenti progressi delle tecniche d'indagine dia-

gnostica, nell'ambito delle quali il laboratorio clinico ha assunto un ruolo fondamentale; grazie all'evoluzione della qualità analitica dei metodi immunologici di ultima generazione, i test per la rilevazione degli autoanticorpi nel siero si sono progressivamente affermati come criteri internazionali di classificazione delle più importanti patologie autoimmuni⁴, consentendo oggi diagnosi più rapide e affidabili. Attualmente circa 30 diversi tipi di autoanticorpi sono considerati marcatori specifici delle 20 principali malattie autoimmuni, con un riconosciuto fondamentale ruolo diagnostico (Tab. I).

Negli ultimi anni numerosi studi retrospettivi e prospettivi hanno evidenziato che la presenza nel siero dei pazienti di alcuni autoanticorpi specifici può precedere di anni la comparsa dei primi segni clinici di malattia autoimmune; la loro rilevazione ha acquisito così un significato preditti-

Tabella I. Autoanticorpi specifici delle principali malattie autoimmuni. ANoA: anti-nucleosomi, aCL: anti-cardiolipina; ACPA: anti-peptidi citrullinati; anti-TopoI: anti-topoisomerasi I (Scl-70); ACA: anticentromero; anti-RNAP: anti-RNA polimerasi; ANCA: anti-citoplasma neutrofilo; anti-MPO: anti-mieloperossidasi; anti-PR3: anti-proteinasi 3; anti-b2GPI: anti-b2-glicoproteina I; anti-Tg: anti-tireoglobulina; anti-TPO: anti-tireoperossidasi; TRAb: anti-recettore della tireotropina, APCA: anti-cellule parietali gastriche; anti-H-K-ATPasi: anti H-K-adenosina trifosfatasi; IFA: anti-fattore intrinseco; ACA: anti-surrene; anti-21OH: anti-21-idrossilasi; anti-GAD: anti-glutamato decarbossilasi; IAA: anti-insulina; AMA: anti-mitocondrio; anti-PDC: anti-piruvato deidrogenasi; SMA: anti-muscolo liscio; ASCA: anti-*Saccharomyces cerevisiae*; anti-tTG: anti-transglutaminasi tissutale; EMA: anti-endomisio; AChRAB: anti-recettore dell'acetilcolina.

| Malattia autoimmune | Autoanticorpo (i) |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Tiroidite linfocitaria (di Hashimoto) | anti-Tg, anti-TPO |
| Artrite reumatoide | ACPA, FR |
| Gastrite cronica autoimmune | APCA (anti-H-K-ATPasi), IFA |
| Malattia di Basedow-Graves | TRAb |
| Malattia celiaca | anti-tTG |
| Sindrome di Sjögren | anti-Ro/SSA, anti-La/SSB |
| Diabete di tipo 1 | anti-GAD, anti-IA2, IAA |
| Lupus eritematoso sistemico | anti-dsDNA, ANoA, anti-Sm, aCL |
| Sclerosi sistemica progressiva | anti-Topo I, anti-CENP, anti-RNAP |
| Vasculiti | ANCA, anti-MPO, anti-PR3 |
| Malattie infiammatorie intestinali | ANCA, ASCA |
| Sindrome da antifosfolipidi | aCL, anti-b2GPI |
| Connettivite mista | anti-U1RNP |
| Morbo di Addison | ACA (anti-21OH) |
| Miastenia | AChRAB |
| Cirrosi biliare primitiva | AMA (anti-PDC) |
| Polidermatomiosite | anti-Jo1 |
| Epatite autoimmune | SMA (anti-F-actina), anti-LKM 1 |

vo, con un impatto importante nella diagnosi e nella terapia precoci di malattia. Alcune recenti rassegne descrivono in dettaglio le patologie autoimmuni sistemiche e d'organo in cui questo ruolo predittivo è stato dimostrato^{5,6}.

La dimostrazione della presenza di questi autoanticorpi in soggetti sani o oligosintomatici ha profondamente modificato le conoscenze sulla storia naturale delle malattie autoimmuni; si sono così definiti i termini di malattia potenziale, subclinica (o silente) e clinica, a rappresentare uno spettro di condizioni che comprendono (Fig. 1):

- la sola presenza di autoanticorpi, senza danno tissutale e con funzioni normali in soggetti sani (malattia potenziale);
- la presenza di autoanticorpi e di danno tissutale, con alterazioni compensate delle funzioni e assenza di sintomi in soggetti apparentemente sani (malattia subclinica o silente);
- la presenza di autoanticorpi e di danno tissutale con alterazioni scompenstate delle funzioni e comparsa dei sintomi (malattia clinica).

L'iceberg epidemiologico autoimmune

Vasti studi di screening sierologico di popolazione hanno consentito di evidenziare l'evoluzione temporale delle tre condizioni di malattia nel caso di alcune comuni patologie⁶, quali ad esempio le tireopatie autoimmuni (TAI), il diabete autoimmune (DMT1), la cirrosi biliare primitiva (CBP), le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) e in particolare la malattia celiaca (MC), per la quale è stato coniato il termine di 'iceberg celiaco'⁷. Per estensione si può affermare che il processo sia comune alla maggior parte delle malattie autoimmuni.

Questo andamento degli eventi autoimmuni nella popolazione può essere definito 'iceberg epidemiologico autoimmune'⁸, a esprimere il convincimento che i casi di patologia autoimmune conclamata (soggetti malati sintomatici) costituiscano una componente minore (cioè la porzione emersa o 'punta' dell'iceberg) rispetto ai casi con patologia subclinica o potenziale (cioè la porzione sommersa dell'iceberg o 'sotto il pelo dell'acqua'). Si ritiene che il rapporto tra le due componenti sia compreso tra 1:5 e 1:10, secondo il tipo di malattia considerato.

L'iceberg autoimmune presenta alcune peculiari caratteristiche epidemiologiche, tipiche delle malattie autoimmuni, rappresentate dalla comorbilità, dalla variabilità della sintomatologia d'esordio (coesistenza di forme oligo-

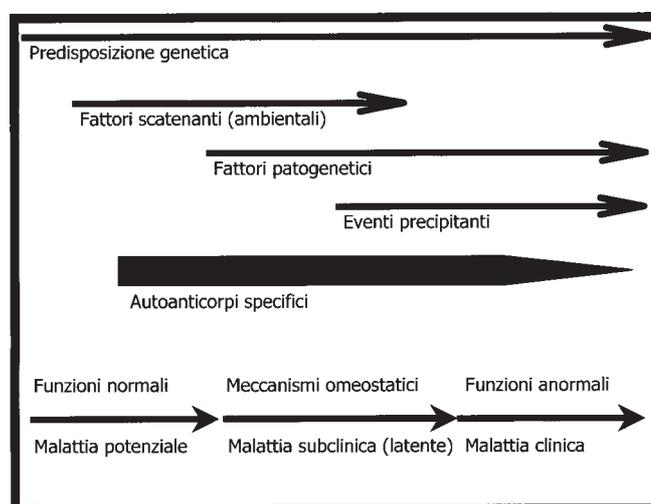


Figura 1. Storia naturale delle malattie autoimmuni.

olosintomatiche), dalla familiarità, dalla predisposizione genetica e dalla forte, spesso quasi esclusiva, associazione con il sesso femminile.

La comorbilità e le patologie autoimmuni multiple

Una caratteristica peculiare delle patologie autoimmuni è la comorbilità, cioè la tendenza ad associarsi tra loro nello stesso individuo e a comparire progressivamente nel corso degli anni: tale evento può verificarsi nel 5-50% dei casi a seconda della malattia autoimmune d'esordio. Una sindrome multipla autoimmune può presentare numerose varianti a seconda della malattia iniziale, secondo lo schema indicato nella Tabella II.

Le malattie che compongono una sindrome multipla talora compaiono simultaneamente, ma più frequentemente si presentano in lenta successione a distanza di mesi o di anni una dopo l'altra (sindrome multipla completa) e sono quasi sempre precedute dalla presenza nel siero dei rispettivi autoanticorpi (sindrome multipla incompleta)⁹.

Le patologie autoimmuni oligosintomatiche o atipiche

Una delle caratteristiche delle malattie autoimmuni sempre più evidente negli ultimi anni, solo in parte dipendente dalla precocità di diagnosi, è rappresentata dalla diffusione di forme oligosintomatiche o atipiche rispetto alle forme classiche o olosintomatiche. Tale condizione appare frequente ad esempio nella MC, nella gastrite autoimmune (GCA) e nelle malattie reumatiche sistemiche (MRA). Nel caso della celiachia, le forme atipiche caratterizzate dalla presenza di sintomi extra-intestinali sono ormai frequenti quanto le forme classiche¹⁰. Nel caso della GCA, raramente i sintomi di esordio sono confinati alla regione gastrica¹¹. Il fenomeno di Raynaud, che interessa circa il 5% della popolazione, rappresenta un sintomo di esordio della SSc e di altre MRA, spesso in età giovanile ed è poi seguito dalla comparsa di sintomi clinici specifici¹².

La comparsa in soggetti sani di positività autoanticorpale casuale

Dato il sempre più frequente ricorso alla determinazio-

ne di test autoanticorpali (che negli ultimi anni hanno visto un aumento quali-quantitativo logaritmico nei laboratori di immunologia clinica), e il ruolo sintomatologico assunto dagli autoanticorpi, una variante oligosintomatica di malattia autoimmune può essere considerato il riscontro di positività autoanticorpali inattese o casuali in un soggetto apparentemente sano. L'evento è legato a due principali fattori: l'incremento delle richieste di test autoanticorpali per finalità di screening e il diffuso impiego nella pratica di laboratorio di sistemi e metodi analitici a determinazione multipla, che consentono la rilevazione simultanea di diversi tipi di autoanticorpi grazie alle caratteristiche strutturali del saggio (come nel caso dell'immunofluorescenza indiretta su cellule o tessuti, o dei recenti metodi immunometrici 'multiplex')⁴. Contrariamente a quanto erroneamente e diffusamente ritenuto, tali positività autoanticorpali, specie se ad alto titolo o concentrazione, non sono da considerare false positività analitiche, ma spesso vere positività diagnostiche precoci nella storia naturale di una patologia autoimmune (malattia autoimmune potenziale); ne sono esempio gli AMA predittivi di CBP asintomatica¹³.

La familiarità

E' ampiamente dimostrato che i familiari di soggetti affetti da malattie autoimmuni sistemiche o d'organo presentano un'incidenza circa 5-10 volte più elevata di ammalare di malattie autoimmuni rispetto alla popolazione generale; tale condizione è dimostrata per le TAI, il DMT1, la MC, le MICI, ecc. Autoanticorpi specifici sono rilevabili in questi soggetti con frequenza molto superiore rispetto alla popolazione generale⁶.

I soggetti geneticamente suscettibili

L'evidenza del ruolo di fattori genetici nell'eziopatogenesi di molte malattie autoimmuni è nota da lungo tempo. Numerosi antigeni HLA (di classe I e II) e non HLA sono correlati con le malattie autoimmuni: alcune malattie correlano con HLA di classe I (B8, B27), mentre molte (LES, RA, SS, MC, DMT1, ecc) con HLA di classe II (DR3, DR4, DR5, DQ), con rischi relativi oscillanti tra 3 e 90.

Tabella II. Le patologie autoimmuni multiple (AR: artrite reumatoide; LES: lupus eritematoso sistemico; SSc: sclerosi sistemica; DM/PM: dermato-polimiosite; CM: connettivite mista; CBP: cirrosi biliare primitiva; EAI: epatite autoimmune; CSP: colangite sclerosante primitiva; TAI: tireopatie autoimmuni; MA: morbo di Addison; DMT1: diabete mellito di tipo 1; SPA: sindrome poliendocrina autoimmune; GCA: gastrite cronica autoimmune; V: vitiligine).

| Malattia d'esordio | Malattie associate | Sindrome | Associazioni prevalenti |
|---|--|---------------------------------------|---|
| Malattia reumatica sistemica (AR, LES, SSc, PM/DM, ecc) | Altre malattie sistemiche | Sindrome da sovrapposizione (overlap) | CM, sindrome Rhupus (AR-LES), scleropolimiosite (SSc-PM/DM) |
| Malattia organo-specifica (CBP, EAI) | Malattie reumatiche (SSc) o altre organo-specifiche (AIH, CSP) | Sindrome da sovrapposizione (overlap) | CBP/SSc CBP/EAI EAI/CSP |
| Malattia organo-specifica (TAI) | Malattie reumatiche (LES, AR, SSc, SS, ecc) | SPA 3D | TAI-LES TAI-AR TAI-CM |
| Malattia organo-specifica (TAI, MA, DMT1, ecc) | Altre malattie organo-specifiche | SPA di tipo 1, 2, 3 (A,B,C), 4 | TAI-DMT1 TAI-GCA TAI-V |

Ampi studi prospettici di screening di popolazione hanno dimostrato come l'associazione di un particolare aplotipo con la ricerca di specifici autoanticorpi consente di evidenziare la presenza di soggetti con malattia preclinica o potenziale; ne sono esempi gli studi sul DMT1 e la MC⁶.

L'associazione con il sesso femminile

Virtualmente tutte le principali malattie autoimmuni sistemiche e d'organo sono più frequenti nel sesso femminile a tutte le età, con rapporti F:M che possono variare da 2:1 (miastenia grave) fino a 50:1 (tiroidite di Hashimoto); poiché alcune malattie autoimmuni tendono a preferire la 3^a-4^a decade di età, esse mostrano spiccata tendenza a manifestarsi al termine della gravidanza o nel post-partum, come nel caso della tiroidite post-partum o del diabete gestazionale⁶. Malattie autoimmuni insorte in epoca perigravidica 'covano sotto la cenere' durante la gravidanza e si manifestano rapidamente settimane o mesi dopo il parto; specifici autoanticorpi sono presenti nel siero materno durante la gravidanza, a indicare la presenza di una malattia spesso in fase preclinica.

La diagnosi precoce di malattia autoimmune: il ruolo del laboratorio nell'esplorazione dell'iceberg

L'elevato valore predittivo positivo di molti autoanticorpi specifici, presenti sia in soggetti sani asintomatici, sia in pazienti già affetti da una malattia autoimmune, può consentire di diagnosticare precocemente la prima o la successiva patologia, permettendo un più corretto inquadramento clinico del paziente e una più precoce terapia. Le dimensioni della componente sommersa dell'iceberg autoimmune non sono al momento completamente definite, ma si ritiene che siano sicuramente sottostimate.

Per svelare questa componente i programmi di screening autoanticorpale sarebbero semplici da attuare, ma sulla loro reale utilità non esiste consenso: perché diagnosticare precocemente una malattia autoimmune quando non sempre esiste una terapia precoce in grado di prevenire o rendere meno grave la malattia?

Dal punto di vista metodologico esistono due ordini di problemi: il numero e il tipo di soggetti da sottoporre a screening e la gamma degli autoanticorpi da ricercare.

Le categorie di soggetti da sottoporre a screening

Per definire i soggetti da sottoporre a indagine autoanticorpale, possono essere identificati cinque livelli di altezza del pelo dell'acqua nell'indagine dell'iceberg (Fig. 2); quanto più numerose sono le categorie dei soggetti sottoposti a indagine, tanto maggiore diverranno le dimensioni della parte emersa dell'iceberg. Tuttavia deve essere osservato che le probabilità pre-test di rilevare una positività autoanticorpale decrescono progressivamente man mano che l'indagine diventa più profonda e 'sottomarina'. A quale di questi livelli è ragionevole portare la componente emersa dell'iceberg, cioè rendere manifesta la presenza di malattie autoimmuni precliniche?

Si possono ipotizzare 5 diversi scenari dello screening, secondo il grado di profondità dell'indagine.

- *Livello 1: Le patologie autoimmuni multiple.* Lo screening al livello 1 riguarda solo i soggetti già affetti da malattia

autoimmune, sia essa sistemica o d'organo. Testare questa categoria di pazienti significa coinvolgere rispettivamente l'1% (MAIS), il 9% (MAO) e il 10% (MA) circa della popolazione. Le principali patologie diagnosticabili con questo approccio sono le sindromi da sovrapposizione e le sindromi poliendocrine autoimmuni incomplete, in particolare la sindrome poliendocrina autoimmune di tipo 3.

La sindrome poliendocrina autoimmune di tipo 3 sta emergendo come la patologia multipla autoimmune più frequente e sicuramente sotto diagnosticata. Studi recenti evidenziano come il 40-50% dei soggetti affetti da TAI (tiroidite di Hashimoto, morbo di Basedow-Graves) che colpiscono circa il 10% della popolazione femminile in molti paesi del mondo, presenta una seconda malattia autoimmune associata (sindrome completa) o autoanticorpi specifici (sindrome incompleta), spesso misconosciuti⁹. Una nostra recente esperienza ha rilevato che il 43% di pazienti affetti da TAI presenta altri autoanticorpi sistemici o organo-specifici e che il 30% di essi risulta positivo alla ricerca degli APCA, evidenziando una forma di GCA incompleta (sindrome autoimmune tiro-gastrica). Appare evidente quindi come uno screening autoanticorpale annuale di questi pazienti è opportuno per evidenziare la presenza di una sindrome multipla.

- *Livello 2: I pazienti oligosintomatici.* Lo screening al livello 2 coinvolge i pazienti con singoli sintomi riferibili a patologie autoimmuni o con positività autoanticorpale riscontrata casualmente; si tratta in questo caso di testare i livelli autoanticorpali di circa il 15% della popolazione. All'interno di queste categorie possono essere evidenziati spesso soggetti con MC, GCA e CBP.

La celiachia negli ultimi decenni è diventata una patologia non più considerata rara, dato che ovunque nel mondo le indagini sierologiche indicano una prevalenza media dell'1%, anche in nazioni per lungo tempo

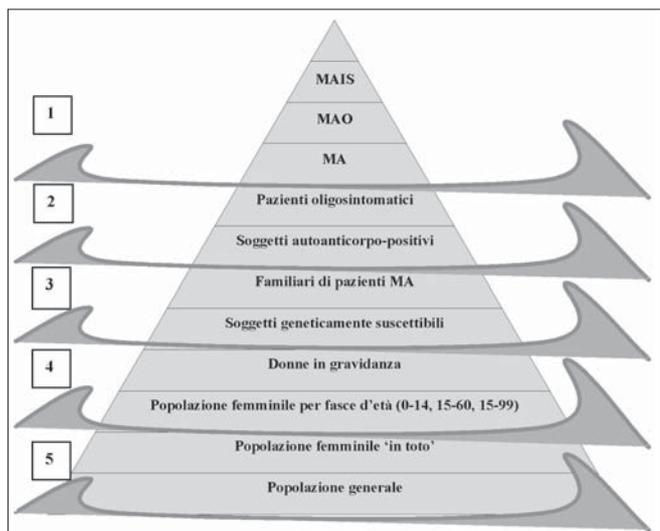


Figura 2. Iceberg epidemiologico autoimmune. MAIS: Pazienti affetti da malattia autoimmune sistemica; MAO; Pazienti affetti da malattia autoimmune organo-specifica; MA; pazienti affetti da malattia autoimmune. 1-5: diversi livelli di altezza del 'pelo dell'acqua' e delle dimensioni dei programmi di screening autoanticorpale.

ritenute scarsamente interessate dalla malattia; l'iceberg autoimmune celiaco presenta dimensioni tra parte emersa (celiachia classica e subclinica) e parte sommersa (celiachia silente, potenziale e latente) di circa 1:7¹⁰. Sempre più frequentemente la malattia viene diagnosticata in soggetti oligosintomatici, cioè con minimi sintomi extraintestinali.

Anche la GCA è patologia con prevalenza elevata (superiore al 2%) e sempre più riconosciuta, soprattutto in pazienti oligosintomatici. Trattandosi di patologia con lunghissima fase preclinica, i sintomi iniziali sono sfumati e prevalentemente di natura ematologica (anemia ferroparenziale e/o pernicioso)^{11,14}.

La CBP è patologia rara, ma sempre più frequentemente viene diagnosticata in forma oligosintomatica (positività casuale per anticorpi anti-mitocondrio, elevazione di IgM totali o di fosfatasi alcalina), con sintomi non epatici (prurito, stanchezza persistente, ecc)¹³. La CBP è caratteristicamente associata (fino al 40% dei casi) ad altre patologie autoimmuni, a configurare sindromi autoimmuni multiple (da sovrapposizione o plurighiandolari). Lo screening autoanticorpale in questi pazienti può consentire di diagnosticare precocemente queste forme.

- *Livello 3: I soggetti geneticamente coinvolti.* Familiari di pazienti con malattie autoimmuni e soggetti con aplotipo specificamente associato a malattie autoimmuni possono essere oggetto di screening autoanticorpale; l'approccio a questo livello potrebbe coinvolgere circa il 20% della popolazione. La selezione di questi pazienti è già stata attuata per le TAI, il DMT1, le MICI, con risultati spesso rilevanti in termini di identificazione precoce⁶.
- *Livello 4: I soggetti di sesso femminile.* A seconda della fascia d'età (0-14, 15-60, 15-99) o di condizioni particolari (gravidanza), lo screening autoanticorpale si fonda sulla dimostrata prevalenza delle malattie autoimmuni nella popolazione femminile e potrebbe coinvolgere fino al 40% della popolazione generale. Studi sierologici effettuati su campioni di popolazione femminile sono numerosi, ma quelli più suggestivi riguardano la gravidanza, per la predizione di TAI, DMT1, MAIS nelle gravide o nei neonati. In particolare, lo screening autoanticorpale è stato proposto non solo per le tiroiditi autoimmuni post-partum¹⁵, ma anche per altre complicanze ostetriche, dato che la gravidanza è una delle poche condizioni in cui la terapia preventiva consente la riduzione di patologie autoimmuni a essa connesse¹⁶.
- *Livello 5.* Lo screening autoanticorpale della popolazione femminile (50% dei soggetti) o di tutta la popolazione (100%) non è attualmente proponibile, ma solo quando gli screening sierologici saranno supportati dall'affinamento delle tecnologie diagnostiche attraverso la diffusa realizzazione di metodiche proteomiche, semplici, flessibili, automatizzate e a basso costo⁴.

La gamma degli autoanticorpi da ricercare

Il pannello autoanticorpale ideale dovrebbe comprendere tutti gli autoanticorpi che evidenziano elevata specificità diagnostica di malattia autoimmune (Tab. I). Data la

bassa prevalenza di alcune malattie autoimmuni (<0.5/1000), la lista può essere ristretta ai primi 20 autoanticorpi, marcatori delle malattie autoimmuni più diffuse. Dal punto di vista analitico, l'allestimento di pannelli autoantigenici multipli, comprendenti 20-30 diverse molecole, non sembra presentare problemi insormontabili, visto l'incremento delle conoscenze sulla biochimica molecolare degli autoantigeni, il miglioramento delle tecnologie per la loro preparazione, l'affinamento dei sistemi di produzione di fasi solide o liquide per il coating antigenico (microarray planari e in sospensione) e l'elevata e omogenea concentrazione degli specifici autoanticorpi nel siero.

Bibliografia

1. Tozzoli R, Perini R. Malattie autoimmuni nei primi anni di vita: dai sintomi alla diagnosi di laboratorio. RIMeL/IJLaM 2007;3:45-50.
2. Eaton WW, Rose NR, Kalaydjian A, Pedersen NG, Mortensen PB. Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. J Autoimmun 2007;29:1-9.
3. Tozzoli R, Barzilai M, Ram O, Villalta D, Bizzaro N, Shoenfeld Y. Infections and autoimmune thyroid diseases: parallel detection of antibodies against infectious agents with proteomic technology. Autoimmun Rev 2008 (Epub ahead of print).
4. Tozzoli R. Recent advances in diagnostic technologies and their impact in autoimmune diseases. Autoimmun Rev 2007; 6:334-40.
5. Bizzaro N, Tozzoli R, Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? Arthritis Rheum 2007; 56:1736-44.
6. Tozzoli R. The diagnostic role of autoantibodies in the prediction of organ-specific autoimmune diseases. Clin Chem Lab Med 2008;46:577-87.
7. Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. Celiac disease in the year 2000: exploring the iceberg. Lancet 1994;343:200-3.
8. Whittingham S, MacKay IR. The iceberg analogy in autoimmunity. Postgrad Med J 1972;48:95-7.
9. Betterle C, Zanchetta R. Update on autoimmune polyendocrine syndromes. Acta Bio Medica 2004;74:9-33.
10. Gasbarrini G, Malandrino N, Giorgio V, Fundarò C, Cammarota G, Merra G, et al. Celiac disease: what's new about it? Dig Dis 2008;26:121-7.
11. Antico A. La gastrite autoimmune. RIMeL/IJLaM 2008; 4:125-33.
12. Jury EC, D'Cruz D, Morrow WJW. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic diseases. J Clin Pathol 2001;54:340-7.
13. Sinclair D, Spedding A, Young R. Can the laboratory affect the investigation and diagnosis of primary biliary cirrhosis? J Clin Pathol 2006;59:360-2.
14. Hershko C, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis: age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. Blood 2006;107:1673-9.
15. Lazarus JH, Premawardhana LDKE. Screening for thyroid disease in pregnancy. J Clin Pathol 2005;58:449-52.
16. Negro R, Greco G, Mangieri T, Pezzarossa A, Bazzi D, Hassan H. The influence of selenium supplementation on postpartum thyroid status in pregnant women with thyroid peroxidase antibodies. J Clin Endocrinol Metab 2007;92: 1263-8.