

IL LABORATORIO nelle PATOLOGIE AUTOIMMUNI

INTRODUZIONE

Negli anni '50 gruppi clinici di ricerca cominciarono ad identificare fattori circolanti che apparivano in corso di malattie della tiroide, fattori che successivamente vennero identificati come anticorpi anti-tireoglobulina ed anticorpi anti recettore del TSH: nasceva L'AUTOIMMUNITÀ'.

In generale le malattie autoimmuni sono il risultato di una variazione dell'equilibrio del sistema immunitario per la quale le strutture *self* (antigeni autologhi) non sono riconosciute più come tali ed innescano reazioni immunologiche che sfociano in situazioni di autoaggressività.

I criteri maggiori per la definizione di una malattia autoimmune vennero definiti da Witebsky nel 1957:

- presenza di infiltrati linfocitari in un organo bersaglio (patologia autoimmune organo-specifica) oppure diffusi in diversi apparati (patologia autoimmune non organo-specifica)
- presenza di autoanticorpi e/o lin-

fociti autoreattivi, circolanti o a livello di organo bersaglio

- identificazione ed eventuale isolamento degli autoantigeni impegnati nella reazione autoimmune
- possibilità di riprodurre in animali da esperimento la malattia inoculando gli autoantigeni specifici
- possibilità di trasferire la malattia da un animale all'altro mediante trasferimento passivo del siero e/o linfociti
- efficacia di una terapia immunosoppressiva

L'*eziopatogenesi* delle malattie autoimmunitarie è molto complessa e per certi versi ancora sconosciuta.

Di sicuro l'origine di tali patologie è multifattoriale, infatti è la concomitanza di più fattori che concorrono alla perdita di tolleranza nei confronti di antigeni *self* ed all'attivazione di meccanismi di autoaggressione da parte del sistema immunitario. I principali fattori predisponenti sono *genetici* (associazione con particolari marcatori HLA) *ormonali* (il sesso femminile è colpito con frequenza maggiore di quello maschile) *immunologici* (ci sono evidenze di anomalie numeri-

che e/o funzionali a carico di elementi del sistema immunitario) ed *ambientali* (infezioni virali e batteriche).

CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE AUTOIMMUNI

Nonostante molte malattie autoimmuni presentino caratteristiche variegata e complesse normalmente vengono suddivise in tre gruppi, anche se tale tipo di classificazione risulta rigida.

- 1) *Malattie autoimmuni organo-specifiche*, caratterizzate da risposte immunitarie dirette verso antigeni di un particolare organo e quindi risultanti in alterazioni morfologiche e/o funzionali di un determinato organo che funge da bersaglio (esempio tiroide)
- 2) *Malattie autoimmuni non organo-specifiche o sistemiche*, caratterizzate da un interessamento sistemico, ossia generalizzato, che coinvolge risposte anticorpali contro antigeni che sono ubiquitari (LES - Lupus Eritematoso Sistemico).

3) *Malattie autoimmuni intermedie*, che presentano caratteristiche sia delle malattie autoimmuni organo che non organo specifiche (cirrosi biliare primitiva).

CONCETTO di TOLLERANZA

Quando un antigene entra in un organismo, tra le situazioni che si possono verificare ricordiamo:

La **Risposta immunitaria**, ossia l'organismo elabora anticorpi specifici contro l'antigene e la **Tolleranza antigenica**, che può essere definita come una condizione di mancata risposta immunitaria a seguito di uno stimolo.

I meccanismi di induzione e mantenimento della tolleranza sono diversi e complessi, tra questi ricordiamo:

La **Segregazione Antigenica**, situazione in cui gli antigeni sono segregati anatomicamente oppure sono in qualche modo inaccessibili (antigeni criptici) al riconoscimento da parte del sistema immunitario. Non è una vera e propria tolleranza, ma piuttosto una situazione di compartimentalizzazione (Ignoranza antigenica)

La **Delezione Clonale**, meccanismo attraverso il quale i linfociti B (nel midollo) ed i linfociti T (nel timo) che presentano specificità per gli antigeni *self*, vengono eliminati durante la maturazione.

L'**Anergia Clonale**, i linfociti autoreattivi, che non sono stati eliminati dal processo di selezione, vengono messi in condizioni di non proliferazione e di non reattività attraverso meccanismi incompleti di presentazione antigenica.

L'**Immunodepressione**, ossia l'intervento di meccanismi di interazione cellulare che sopprimono una risposta immunitaria che si sia verificata contro strutture dell'organismo stesso.

Da questo punto di vista l'AUTOIMMUNITA' può essere considerata la condizione di perdita della Tolleranza Immunologica verso gli antigeni self.

Un ruolo significativo deve essere riservato alle malattie reumatiche sistemiche del connettivo, che tra le malattie autoimmunitarie non organo specifiche costituiscono il capitolo più importante e di grande interesse.

MALATTIE SISTEMICHE DEL CONNETTIVO

Con questo termine si indicano una serie di affezioni che presentano la caratteristica comune di una diffusa infiammazione del tessuto connettivo di uno o più organi.

In seguito si scoprì che il denominatore comune delle malattie del connettivo è riconducibile ad un meccanismo patogenetico di tipo flogistico immuno-mediato, con autoimmunizzazione contro antigeni non organo specifici.

La classificazione proposta dalla Società Italiana di Reumatologia nel 1986 comprende per grandi capitoli:

- **Lupus Eritematoso Sistemico** LES (Classico, da farmaci)
- **Sclerosi Sistemica/Sclerodermia** (Sistemica, CREST, Associata ad altre patologie: tumori, cirrosi biliare)
- **Dermato/Polimiosite** (Classica, Paraneoplastica, Associata ad altre patologie)
- **Sindrome di Sjogren** (SS)
- **Sindromi OVERLAP** (Connettivite mista ed altre)
- **Fascite diffusa**
- **Vasculiti** (Gruppo delle Poliarteriti, Granulomatosi di Wegener, Gruppo delle microangiopati: Crioglobulinemia, Morbo

di Behcet, Eritema nodoso....)

- **Polimialgia reumatica**
- **Panniculite ricorrente**
- **Policondrite ricorrente**

I TEST DI LABORATORIO

Qualora il resoconto anamnestico e la clinica indirizzino verso una possibile diagnosi di patologia reumatica del connettivo, magari già supportata da indagini di laboratorio di prima istanza (VES, Emocromo, Proteina C reattiva, Elettroforesi, ricerca dei Fattori Reumatoidi, ecc...), si può procedere ad un approfondimento diagnostico con test più specifici.

Tra gli esami, un posto di rilievo deve essere riservato alla:

RICERCA ED IDENTIFICAZIONE DEGLI AUTOANTICORPI

Lo sviluppo di tecniche di laboratorio sempre più raffinate, negli ultimi decenni ha reso possibile l'identificazione di molte specificità autoanticorpali, contribuendo in modo notevole a soddisfare uno dei maggiori criteri per il riconoscimento di una malattia autoimmunitaria.

L'identificazione di autoanticorpi a specificità nucleare, a specificità citoplasmatica ed autoanticorpi a diversa specificità tissutale, sono indagini di massima utilità per la diagnosi ed il follow up delle malattie autoimmuni.

Il laboratorio ha a disposizione diverse tecniche per la determinazione degli autoanticorpi; una delle metodiche più diffuse è denominata IFI, Immunofluorescenza indiretta.

La procedura prevede che il siero del paziente venga incubato con un substrato tissutale, quale sorgente di antigeni. Quando presenti, gli autoanticorpi si legano agli antigeni specifici e vengono rivelati con un secondo anticorpo marcato

con una sostanza fluorescente.

I modelli di fluorescenza ottenuti sui diversi tessuti, permettono la determinazione delle varie specificità anticorpali.

ANTICORPI ANTINUCLEO (ANA)

Si tratta di autoanticorpi diretti contro strutture e macromolecole presenti in prevalenza nel nucleo di una cellula.

La classificazione dei modelli fluorescenti, permette di distinguere le diverse specificità:

Modello **OMOGENEO** (vedi foto 1)
Colorazione diffusa ed omogeneo del nucleo, con colorazione dei cromosomi nelle cellule in mitosi. Malattie associate: LES, LES da farmaci, Artrite Reumatoide, Sclerodermia

Modello **PUNTEGGIATO** o **SPECKLED** (vedi foto 2)

Colorazione granulare grossolana o fine del nucleo, senza colorazione dei cromosomi.

Malattie associate: Dipende dal tipo di specificità ENA riscontrata

Modello **PERIFERICO**

Colorazione diffusa del nucleo con un rinforzo alla periferia del nucleo. Malattie associate: LES

Modello **CENTROMERICO**

Colorazione puntiforme del nucleo che deriva dalla colorazione dei centromeri.

Malattie associate: CREST, Sindrome Overlap cirrosi biliare primitiva/sclerodermia, Raynaud idiopatico

Modello **NUCLEOLARE**

Colorazione di nucleoli, secondo la specificità da omogenea a punteggiata.

Malattie associate: Sclerosi sistemica/Sclerodermia, LES, Sindrome di

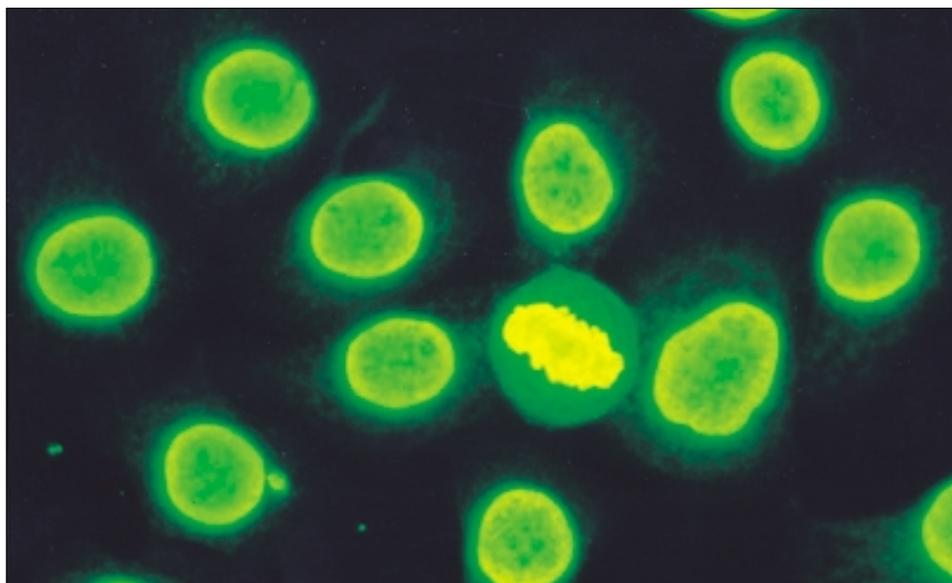


foto 1

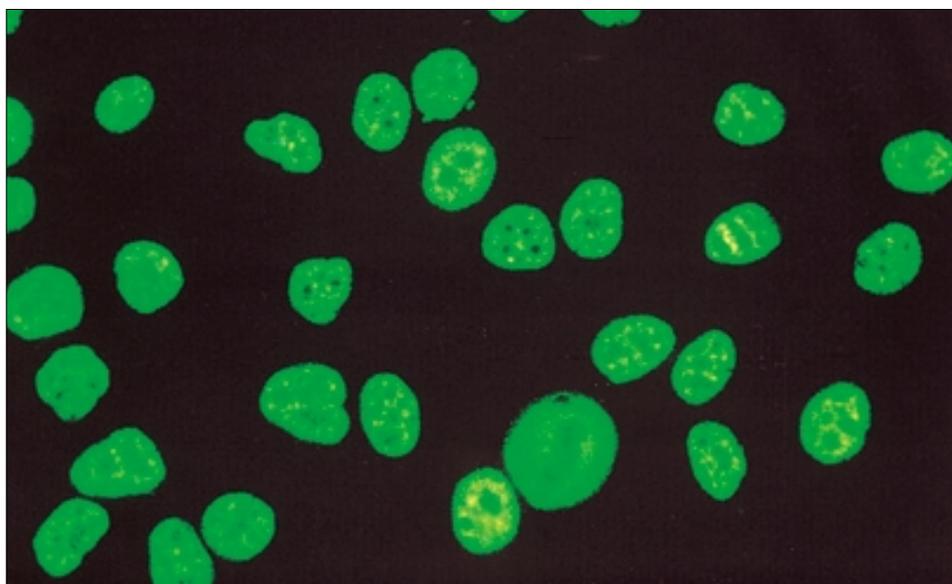


foto 2

Sjogren, Connettivite Mista, Artrite Reumatoide CREST, Polimiosite.

Modello **PCNA**

Proliferating Cell Nuclear Antigen, colorazione a granuli del nucleo delle cellule in mitosi.

Malattie associate: LES (PCNA è un marcatore ad alta specificità per il LES)

Modello **NUCLEAR DOTS**

Pochi granuli fortemente fluorescenti contraddistinguono questo quadro nucleare

Malattie associate: Sclerodermia, LES, Connettivite Mista

Modello **STRUTTURE del FUSO MITOTICO**

Fuso Mitotico (SPINDLE)

Malattie associate: Non definite

Centrioli

Malattie associate: Sclerodermia, infezione da Mycoplasma Pneumoniae

NuMA (Nuclear Mytotic Apparatus)

Malattie associate: Patologie autoimmuni, Neoplasie

Mid Body

Malattie associate: Sclerosi sistemica/Sclerodermia

ANTICORPI A REAZIONE CITOPLASMATICA

Anticorpi anti-**MITOCONDRI** (AMA)
Sono anticorpi diretti contro il complesso piruvato-deidrogenasi
Associati a Cirrosi biliare primitiva,
Colangite sclerosante primitiva

Anticorpi anti **RIBOSOMI**
Diretti contro Ribonucleoproteine
Associati a LES con manifestazioni
psicotiche

Anticorpi anti **LISOSOMI**
Associati a LES

Anticorpi anti **APPARATO DEL
GOLGI**

Associati a LES, Sindrome di
Sjogren, infezioni da EBV

Anticorpi anti **PROTEINE DEL
CITOSCHELETRO (ASMA)**

Sono anticorpi diretti contro i filamenti di actina e vimentina e sono associati a malattie infiammatorie croniche, ad esempio l'epatite cronica attiva.

Il ruolo patogenetico degli autoanticorpi è ancora controverso, anche se è ipotizzabile che un anticorpo legandosi a molecole

funzionali, ne possa alterare o in qualche modo limitare le funzioni, ad esempio anticorpi anti-recettori.

Tuttavia gli autoanticorpi, dal punto di vista clinico, presentano degli aspetti di utilità, quali:

- *un significativo ruolo diagnostico, pur in presenza di relative specificità, sia per la diagnosi iniziale che per il monitoraggio successivo del paziente.*
- *un importante ruolo prognostico, in quanto la comparsa di autoanticorpi in circolo, nella storia clinica della patologia, spesso precorre la comparsa della sintomatologia.*

Dr.ssa E. Mariani

Responsabile Autoimmunità CAM

ASCA Anticorpi anti **Saccharomyces Cerevisiae**

Alcune malattie infiammatorie intestinali tra cui il Morbo di Crohn e la Colite Ulcerosa, sono caratterizzate da un processo infiammatorio cronico ad eziologia ignota e la loro diagnosi differenziale è molto difficile.

La determinazione degli **ASCA** è stata descritta come un marker significativo del Morbo di Crohn, dal momento che questi anticorpi sono stati rilevati in circa il 70% dei pazienti con tale patologia, a differenza della Colite Ulcerosa che è spesso caratterizzata dalla presenza di anticorpi **pANCA** (anticorpi anti neutrofili, modello perinucleare).

NUOVI SERVIZI CAM - Il CAM è lieto di comunicare che presso il Servizio di Oculistica del Centro Polidiagnostico di Via Missori 9, si possono effettuare ESAMI CAMPIMETRICI della funzione visiva. Un campimetro computerizzato di ultima generazione è in grado di eseguire una *ricerca topografica delle sensibilità luminose ai valori soglia* di un certo numero di aree ricettive retiniche, sufficientemente rappresentative, ai fini clinici dell'intera retina visiva. L'esame, di particolare importanza per il Paziente Glaucomatoso, sia per la diagnosi precoce che per la strategia terapeutica, è di fondamentale utilità anche nelle patologie della macula, del nervo ottico, e del sistema nervoso centrale associate a problemi neurologici, endocrinologici o vascolari.

|| Centro Analisi Monza

MONZA:

Laboratorio analisi, piazza Trento e Trieste, 11 (tel. 0392397350)

Centro polidiagnostico, via Missori, 9 (tel. 0392397.1)

Sezione ecologia, via Missori, 12 (tel. 0392397247)

BRESSO: via XXV Aprile, 16 (tel. 026104946)

CESANO MADERNO: via Como, 4 (tel. 0362540550)

DESIO: via Pozzo Antico, 24 (tel. 0362623156)

SEREGNO: piazza Risorgimento, 21 (tel. 0362234251)

VAREDO: via Italia angolo S. Aquilino (tel. 0362582945)

VILLASANTA: piazza Giovanni XXIII, 12 (tel. 039302366)