

## RUOLO DEGLI AUTOANTICORPI NELLE MALATTIE AUTOIMMUNI: ANTICORPI SPECIFICI PER L'ENDOTELIO E DISFUNZIONE ENDOTELIALE



Paola Margutti, Federica Delunardo ed Elena Ortona  
Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, ISS

**RIASSUNTO** - Le malattie autoimmuni sono in netto aumento statistico e sono caratterizzate da sintomi importanti e spesso molto gravi. La presenza di autoanticorpi specifici per gli antigeni propri dell'organismo è un aspetto comune delle malattie autoimmuni. Gli anticorpi anti-cellule endoteliali (Anti-Endothelial Cell Antibodies-AECA) sono un gruppo eterogeneo di anticorpi presenti in diverse malattie caratterizzate da disfunzione endoteliale immunomediata. Nel Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) è in corso un progetto di ricerca che ha come obiettivo l'identificazione di autoantigeni endoteliali e lo studio del ruolo potenziale degli autoanticorpi specifici come marcatori diagnostici e prognostici di danno endoteliale.

**Parole chiave:** autoimmunità, autoanticorpi, anticorpi anti-cellule endoteliali

**SUMMARY** (*Role of autoantibodies in autoimmune diseases: Anti-Endothelial Cell Antibodies (AECA) and endothelial dysfunction*) - Autoimmune diseases are a major threat to health and can strike any part of the body. A common feature of autoimmune diseases are autoantibodies that attack body components called self antigens. Anti-Endothelial Cell Antibodies are a heterogeneous group of antibodies detected in a variety of diseases which share vessel wall damage. In the Department of Infectious, Parasitic and Immune-mediated Diseases of Istituto Superiore di Sanità research is in progress to identify endothelial autoantigen and to provide new insights into the role of specific autoantibodies as diagnostic and prognostic markers of endothelial dysfunction.

**Key words:** autoimmunity, autoantibodies, Anti-Endothelial Cell Antibodies

[elena.ortona@iss.it](mailto:elena.ortona@iss.it)

Il sistema immunitario ha il compito preciso di difendere l'organismo dalle infezioni, da organismi o sostanze estranee e dannose e da cellule tumorali. Tuttavia, in determinate situazioni il sistema immunitario attacca componenti propri dell'organismo. Questo autoriconoscimento o autoimmunità può essere fisiologico, svolgendo un ruolo essenziale nell'omeostasi dell'immunità, nel controllo delle risposte immunitarie e nella distruzione di cellule danneggiate o imperfette oppure può essere privo di un rilevante significato patogenetico quando si sviluppa in forma transitoria a seguito di un danno tissutale. La denominazione di malattia autoimmune riguarda solo quei casi in cui le alterazioni strutturali e funzionali sono causate direttamente da risposte immunitarie rivolte verso costituenti propri dell'organismo.

È stato stimato che circa il 5-10% della popolazione è colpita da malattie autoimmuni. Tali patologie insorgono a causa di un'alterazione dei meccanismi che normalmente impediscono al sistema immunitario di rivoltarsi contro il proprio organismo (tolleranza al *self*). La perdita della tolleranza può derivare da un'anomala selezione o regolazione dei linfociti diretti verso autoantigeni, o da alterazioni nel modo in cui gli autoantigeni vengono presentati. Oltre a questi meccanismi immunologici altri fattori concorrono all'insorgenza delle malattie autoimmuni (Tabella 1).

In particolare, per quanto riguarda i fattori ambientali è stato evidenziato che un agente esterno (ad esempio, un agente infettivo o una sostanza chimica) può scatenare una malattia autoimmune in individui geneticamente predisposti mediante vari meccanismi tra cui la ►

**Tabella 1** - Rottura della tolleranza immunitaria: geni multifattoriale

Fattori genetici	Fattori ormonali	Fattori ambientali	Fattori immunologici
Familiarità; associazione con aplotipi HLA	Influenza degli ormoni sul sistema immunitario	Mimetismo molecolare; modificazione di antigeni <i>self</i>	Rilascio di antigeni sequestrati

cross-reattività tra antigeni dell'agente infettivo e del *self* (mimetismo molecolare) o modificazione degli antigeni *self*.

### Classificazione delle malattie autoimmuni

Nel 1957 sono stati stabiliti i criteri di definizione delle malattie autoimmuni, rivisti poi nel 1993 (1) (Tabella 2).

I criteri minori vengono applicati per poter ipotizzare che una malattia a eziologia sconosciuta possa avere un'origine autoimmune. Per accertare l'eziologia autoimmune devono essere rispettati almeno due criteri maggiori. Applicando questi criteri, diverse patologie a eziologia sconosciuta sono state definite autoimmuni e a tutt'oggi le malattie con geni autoimmune accertata sono circa ottanta. La classificazione tradizionale delle malattie autoimmuni prevede la suddivisione in tre gruppi sulla base dell'organo-specificità. Questa classificazione è stata formulata inizialmente da Roitt e Doniach nel 1969 e distingue le malattie autoimmuni in organo-specifiche, non-organo-specifiche e intermedie. Le forme organo-specifiche sono caratterizzate da risposte autoimmuni rivolte verso antigeni di singoli organi e da alterazioni, organiche o funzionali, limitate

agli organi bersaglio (ad esempio, tiroidite di Hashimoto, gastrite atrofica tipo A). Le forme non organo-specifiche sono caratterizzate dalla perdita di tolleranza nei confronti di costituenti diffusamente distribuiti, con lesioni anatomo-patologiche estese a diversi organi e apparati (ad esempio, lupus eritematoso sistemico, sclerodermia, artrite reumatoide). Nelle forme intermedie coesistono risposte e relative lesioni, sia organo che non organo-specifiche (ad esempio, sindrome di Goodpasture, pemfigo, pemfigoide) (Tabella 3).

Recentemente è stato ipotizzato che alcuni disordini psichiatrici e, in particolare, la schizofrenia possano avere un'origine autoimmune (2). Infatti la schizofrenia soddisfa tre dei criteri minori per la definizione di malattie autoimmuni quali la familiarità, l'iperammaglobulinemia e l'associazione con altre malattie autoimmuni (lupus eritematoso sistemico).

### Autoanticorpi

Le malattie autoimmuni sono associate alla presenza di autoanticorpi circolanti la cui rilevazione ha sempre una valenza diagnostica. In generale, gli autoanticorpi possono distinguersi in autoanticorpi naturali e autoanticorpi associati alla malattia autoimmune.

**Tabella 2** - Criteri per la definizione di malattie autoimmuni

Criteri maggiori	Criteri minori
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Presenza di infiltrati linfocitari localizzati nell'organo bersaglio o diffusi a livello dei diversi apparati</li> <li>● Presenza di autoanticorpi e/o linfociti autoreattivi circolanti e/o localizzati a livello dell'organo bersaglio</li> <li>● Possibilità di identificare e isolare autoantigeni implicati nella reazione autoimmune</li> <li>● Possibilità di riprodurre nell'animale la malattia, inoculando gli autoantigeni specifici</li> <li>● Possibilità di trasferire passivamente la malattia mediante trasporto passivo di siero o di linfociti</li> <li>● Efficacia della terapia immunosoppressiva</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Familiarità</li> <li>● Associazione con aplotipi HLA</li> <li>● Sesso femminile</li> <li>● Iperammaglobulinemia</li> <li>● Processo morboso caratterizzato da esacerbazioni e remissioni</li> <li>● Associazioni con altre malattie autoimmuni</li> </ul>

**Tabella 3** - Classificazione tradizionale delle malattie autoimmuni

Forme organo-specifiche	Forme non organo-specifiche*	Forme varie
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Prevalentemente tiroide (ad esempio, tiroidite di Hashimoto)</li> <li>● Stomaco (ad esempio, anemia pernicioosa, gastrite cronica)</li> <li>● Pancreas (ad esempio, diabete mellito I)</li> <li>● Surreni (ad esempio, Morbo di Addison)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● In giunture (ad esempio, artrite reumatoide)</li> <li>● Reni (ad esempio, lupus eritematoso sistemico)</li> <li>● Derma (ad esempio, sclerodermia)</li> <li>● Muscoli (ad esempio, dermatomiosite)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Sindrome di Goodpasture</li> <li>● Miastenia gravis</li> <li>● Pseudoparalitica</li> <li>● Pemphigus vulgaris</li> <li>● Pemphigoide bulbosa</li> <li>● Oftalmia simpatica</li> <li>● Uveite facogena</li> <li>● Anemia emolitica autoimmune</li> <li>● Morbo di Werlhof</li> <li>● Cirrosi biliare primaria</li> <li>● Epatite cronica aggressiva</li> <li>● Colite ulcerosa</li> <li>● Sindrome di Sjögren</li> <li>● Sclerosi multipla</li> </ul>

(\*) Forme con reazioni immunitarie contro autoantigeni di diversi tessuti e deposito sistemico di complessi autoimmunitari

### Autoanticorpi naturali

Gli autoanticorpi naturali sono presenti in tutti gli individui sani, apparentemente in assenza di uno stimolo antigenico. Essi hanno la capacità di legarsi sia ad antigeni *self* che ad antigeni estranei, infatti una delle loro principali funzioni è quella di difesa contro gli agenti infettivi. Gli autoantigeni verso cui tali autoanticorpi sono diretti sono sia ubiquitari che organo specifici, circolanti, intra-cellulari o extra-cellulari. Gli autoanticorpi naturali sono presenti a basse concentrazioni nel siero dei soggetti sani, sono di isotipo IgM, IgG ed IgA e hanno una bassa affinità per l'antigene. Il repertorio degli autoanticorpi naturali è ristretto poiché essi sono diretti verso un limitato set di antigeni *self*, comune in tutti gli individui indipendentemente dall'età e dal sesso. Gli autoanticorpi naturali si sono conservati nel corso dell'evoluzione e ciò suggerisce che essi possano modulare molte funzioni fisiologiche dell'organismo (Tabella 4).

**Tabella 4** - Funzioni degli autoanticorpi naturali

Difesa contro gli agenti patogeni
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Clearance di cellule senescenti</li> <li>● Sorveglianza anti-tumorale</li> <li>● Attività anti-infiammatoria dell'endotelio</li> <li>● Selezione del repertorio immunitario e omeostasi dell'autoreattività</li> <li>● Mediatori del processo di rimielinizzazione nel sistema nervoso centrale</li> </ul>

Tra le varie funzioni accertate, l'attività anti-infiammatoria è una delle più importanti dal punto di vista terapeutico, ed è uno degli effetti della somministrazione sistemica di immunoglobuline intravena (IVIg) nei pazienti con malattie autoimmuni.

### Autoanticorpi associati alle malattie autoimmuni

Gli autoanticorpi associati alle malattie autoimmuni, a differenza di quelli naturali, sono presenti nel siero dei pazienti a elevata concentrazione, sono soprattutto di isotipo IgG, presentano un'elevata affinità per l'antigene e sono oligoreattivi. In base a dati clinici e sperimentali, gli autoanticorpi associati alle malattie autoimmuni possono essere suddivisi in patogenetici, non patogenetici ed epifenomeni. Gli autoanticorpi si definiscono patogenetici quando correlano significativamente con la malattia e il suo andamento clinico e sono in grado di indurre la malattia stessa in modelli animali. Si definiscono invece non patogenetici quando correlano significativamente con la malattia, ma non con il suo andamento clinico e non sono in grado di indurre la malattia in modelli animali. Infine, gli autoanticorpi si definiscono epifenomeni quando si formano transitoriamente come conseguenza di danno tissutale.

Gli antigeni verso cui sono diretti gli autoanticorpi patogenetici possono essere componenti di membrana, intracellulari o circolanti (3). Gli antigeni intracellulari in determinate situazioni pos- ►

sono traslocare in membrana mentre gli antigeni circolanti possono aderire sulla superficie delle cellule rendendosi quindi disponibili al legame con gli autoanticorpi a essi specifici. Gli autoanticorpi patogenetici, cioè quelli con azione lesiva, inducono alterazione funzionale della cellula o danno tissutale mediante fagocitosi/citolisi delle cellule bersaglio o formazione di immunocomplessi. In diverse malattie autoimmuni è stata dimostrata la presenza di autoanticorpi specifici per recettori di membrana, che possono interferire in diversi modi sulle funzioni di tali recettori. Possono infatti modulare l'espressione del recettore bersaglio, inibire la sua attività bloccando il legame con il suo ligando fisiologico o indurre la sua attivazione mimando l'azione del suo ligando. Ad esempio, nella malattia di Graves gli autoanticorpi contro il recettore per l'ormone tireotropo sulle cellule tiroidee stimolano la produzione in eccesso di ormone tiroideo, mentre nella miastenia gravis autoanticorpi contro la catena del recettore per l'acetilcolina nelle giunzioni neuromuscolari bloccano la trasmissione neuromuscolare.

#### Autoanticorpi anti-cellule endoteliali

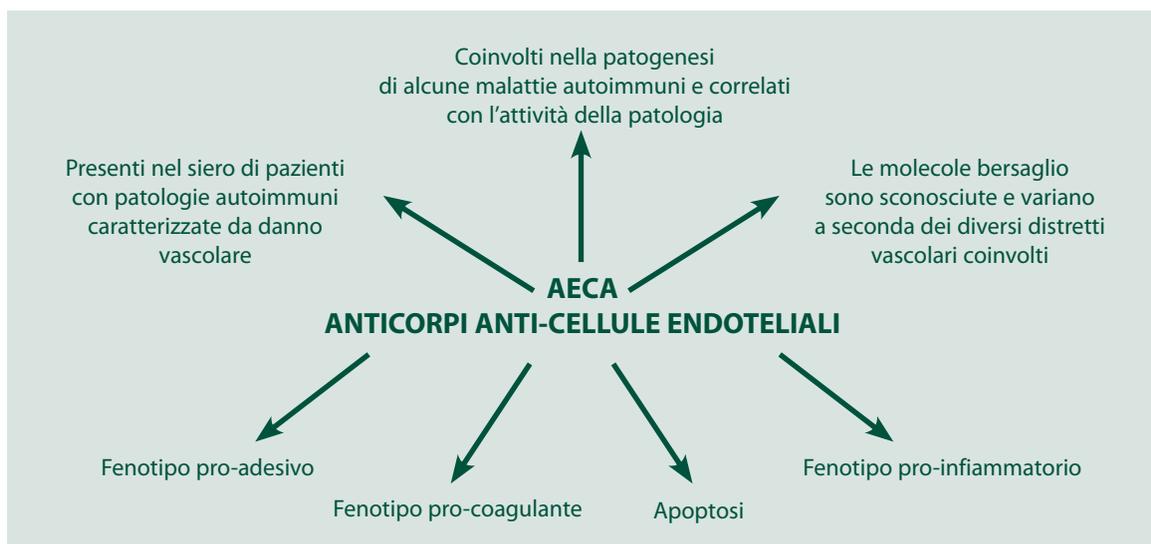
L'endotelio è la sottile lamina di cellule che riveste i vasi sanguigni e linfatici. Fino a poco tempo fa era considerato erroneamente un inerte rivestimento dei vasi, ma ora è chiaro che le cellule endoteliali svolgono numerose e complesse funzioni all'interno del corpo. Gli anticorpi anti-cellule endoteliali (Anti-Endothelial Cell



Antibodies - AECA) sono un gruppo eterogeneo di anticorpi che differiscono per la loro specificità antigenica e per i loro effetti funzionali quali l'induzione di apoptosi, l'attivazione e l'induzione di un fenotipo pro-coagulante (4). Il ruolo patogenetico degli AECA è dimostrato dalla loro correlazione con l'attività della malattia, dalla loro capacità *in vitro* di indurre effetti funzionali sulle cellule, dalla capacità di indurre danni a livello vascolare in modelli animali (Figura).

Gli AECA sono presenti in particolare nel siero di pazienti affetti da vasculiti primarie (sindrome di Behçet, granulatosi di Wegener, ecc.) e in vasculiti secondarie a patologie autoimmuni (lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide e sclerosi sistemica).

Gli autoantigeni endoteliali sono ancora scarsamente caratterizzati e quindi al momento non esistono dei saggi clinici per il rilevamento degli AECA, che abbiano elevata sensibilità e specificità e quindi una valenza diagnostica.



**Figura** - Caratteristiche generali degli anticorpi anti-cellule endoteliali e descrizione degli effetti che essi inducono sulle cellule endoteliali

## La ricerca sulla caratterizzazione di nuovi autoanticorpi presso l'Istituto Superiore di Sanità

Nel Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (MIPI) dell'Istituto Superiore di Sanità, è in corso una linea di ricerca che ha come obiettivo l'identificazione di autoantigeni endoteliali in malattie autoimmuni caratterizzate da danno vascolare per la messa a punto di nuove tecniche diagnostiche e di approcci terapeutici innovativi. Recentemente, è stata dimostrata un'associazione tra la presenza degli AECA e le manifestazioni neuropsichiatriche in corso di lupus (5). Gli AECA, attivando le cellule endoteliali a livello della barriera ematoencefalica, potrebbero aumentare la permeabilità permettendo il passaggio degli autoanticorpi nel sistema nervoso centrale. Mediante tecniche di biologia molecolare il nostro gruppo di ricerca ha identificato un antigene endoteliale riconosciuto dagli autoanticorpi dei pazienti con lupus e manifestazioni psicotiche (6). Tale proteina del citoscheletro, chiamata Nedd5, appartiene alla famiglia delle septine, proteine molto conservate e coinvolte in diversi processi cellulari. Nedd5 è una proteina ubiquitaria, ma espressa in modo predominante nel sistema nervoso centrale ed è coinvolta nella secrezione delle vescicole sinaptiche. Inoltre, essa contribuisce alla formazione delle lesioni neurofibrillari nella malattia di Alzheimer.

In un altro studio, sempre con l'obiettivo di identificare autoantigeni endoteliali coinvolti nella patogenesi di malattie autoimmuni con danno vascolare, abbiamo identificato una proteina nucleare, Sip1, specificamente riconosciuta



dalle IgM di pazienti affetti da sindrome di Behçet (7). Per questa patologia a tutt'oggi non sono disponibili test diagnostici di laboratorio, ma la diagnosi viene effettuata esclusivamente in base a criteri clinici. L'identificazione di Sip1 come nuovo antigene specifico per la sindrome di Behçet permetterà lo sviluppo di una diagnosi più efficace e tempestiva.

Altre ricerche riguardano l'identificazione di autoantigeni endoteliali e lo studio del ruolo degli autoanticorpi specifici in patologie neurodegenerative (malattia di Alzheimer) e in patologie psichiatriche (schizofrenia).

## Considerazioni finali

Le malattie autoimmuni spesso fanno la loro comparsa in modo subdolo, provocando danni irreversibili prima ancora di essere diagnosticate. La ricerca di nuovi autoantigeni e la conoscenza approfondita dei meccanismi degli AECA nell'induzione della disfunzione endoteliale è importante non solo per una diagnosi più precoce e accurata, ma anche per la prognosi e il monitoraggio dei pazienti affetti da danno endoteliale immunomediato. ■

## Riferimenti bibliografici

1. Rose NR, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Immunol Today* 1993;14:426-30.
2. Margutti P, Delunardo F, Ortona E. Autoantibodies associated with psychiatric disorders. *Curr Neurovasc Res* 2006;3(2):149-57.
3. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL. *Autoantibodies*. Ed Elsevier; 2007.
4. Meroni P, Ronda N, Raschi E, et al. Humoral autoimmunity against endothelium: theory or reality? *Trends Immunol* 2005;26(5):275-81.
5. Conti F, Alessandri C, Bompane D, et al. Autoantibody profile in systemic lupus erythematosus with psychiatric manifestations: a role for anti-endothelial-cell antibodies. *Arthritis Res Ther* 2004;6(4):R366-72.
6. Margutti P, Sorice M, Conti F, et al. Screening of an endothelial cDNA library identifies the C-terminal region of Nedd5 as a novel autoantigen in systemic lupus erythematosus with psychiatric manifestations. *Arthritis Res Ther* 2005;7(4):R896-903.
7. Delunardo F, Conti F, Margutti P, et al. Identification and characterization of the carboxy-terminal region of Sip-1, a novel autoantigen in Behçet's disease. *Arthritis Res Ther* 2006;8(3):R71.