

# il Diabete

Vol. 32, N. 3, ottobre 2020



## – RASSEGNE

Programma di screening su larga scala per la identificazione di bambini e adolescenti a rischio di sviluppo del diabete di tipo 1 nel territorio

Ruolo del microbioma nel diabete mellito di tipo 1

La transizione dal pediatra al diabetologo dell'adulto

## – EDITORIALI

L'approccio terapeutico al diabete autoimmune dell'adulto (LADA)

## – AGGIORNAMENTO DALLA LETTERATURA

Risultati di uno studio pilota per la valutazione degli effetti della vitamina D<sub>3</sub>, in aggiunta ad un inibitore di DPP-IV, sulla funzionalità  $\beta$ -cellulare in pazienti LADA

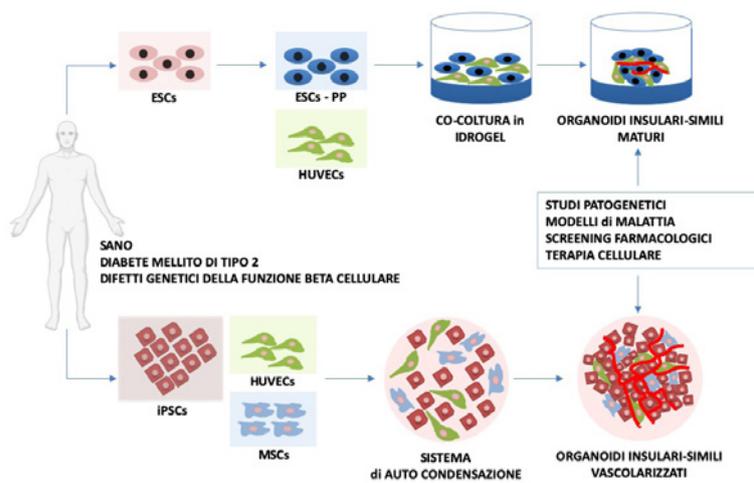
## – JOURNAL CLUB

## – MEDICINA TRASLAZIONALE: APPLICAZIONI CLINICHE DELLA RICERCA DI BASE

Gli organoidi: modelli 3D per lo studio del diabete

## – AGGIORNAMENTO CLINICO E TECNOLOGIE

Percorso riabilitativo psico-nutrizionale nei soggetti affetti da diabete mellito di tipo 2 e disturbo da alimentazione incontrollata. Un case report



# il Diabete

---

Organo ufficiale della  
Società Italiana di Diabetologia

## *Direttore Scientifico*

Paolo Cavallo Perin (Torino)

## *Co-direttori*

Francesco Dotta (Siena)  
Simona Frontoni (Roma)  
Marta Letizia Hribal (Catanzaro)  
Lorella Marselli (Pisa)  
Anna Solini (Pisa)  
Roberto Trevisan (Bergamo)

## *Comitato di Redazione*

Danila Capoccia (Roma)  
Franco Cavalot (Torino)  
Giuseppe Daniele (Pisa)  
Gian Paolo Fadini (Padova)  
Teresa Vanessa Fiorentino (Catanzaro)  
Francesca Fiory (Napoli)  
Gabriella Gruden (Torino)  
Annunziata Lapolla (Padova)  
Luigi Laviola (Bari)  
Roberto Miccoli (Pisa)  
Matteo Monami (Firenze)  
Andrea Natali (Pisa)  
Annalisa Natalicchio (Bari)  
Antonio Nicolucci (Pescara)  
Emanuela Orsi (Milano)  
Gabriele Perriello (Perugia)  
Piermarco Piatti (Milano)  
Lorenzo Piemonti (Milano)  
Salvatore Piro (Catania)  
Paolo Pozzilli (Roma)  
Sabrina Prudente (Roma)  
Giuseppe Pugliese (Roma)  
Gregory Alexander Raciti (Napoli)  
Laura Sciacca (Catania)

## *Responsabili di Redazione*

Maria Felice Brizzi (Torino)  
Fabio Broglio (Torino)  
Paolo Fornengo (Torino)  
Ivana Rabbone (Torino)

## **CONSIGLIO DIRETTIVO SID**

### *Presidente*

Francesco Purrello (Catania)

### *Presidente Eletto*

Agostino Consoli (Chieti)

### *Tesoriere*

Marta Letizia Hribal (Catanzaro)

### *Segretario*

Salvatore Piro (Catania)

### *Consiglieri*

Fabio Broglio (Torino)  
Angelo De Pascale (Genova)  
Massimo Federici (Roma)  
Frida Leonetti (Roma)  
Edoardo Mannucci (Firenze)  
Annalisa Natalicchio (Bari)  
Gianluca Perseghin (Milano)  
Massimiliano Petrelli (Ancona)  
Ferdinando Carlo Sasso (Napoli)  
Anna Solini (Pisa)  
Giovanni Targher (Verona)

## **UFFICIO DI PRESIDENZA SID 2018-2020**

Agostino Consoli (Chieti)  
Francesco Purrello (Catania)  
Giorgio Sesti (Catanzaro)

## Sommario

### – RASSEGNE

- 180 **Programma di screening su larga scala per la identificazione di bambini e adolescenti a rischio di sviluppo del diabete di tipo 1 nel territorio**

*Emanuele Bosi, Matteo Rocco Pastore, Sabina Martinenghi, Andrea Mario Bolla, Pauline Grogan, Eleonora Bianconi, Elena Bazzigaluppi, Graziano Barera, Lorenzo Piemonti, Riccardo Bonfanti, Vito Lampasona*

- 188 **Ruolo del microbioma nel diabete mellito di tipo 1**

*Elisa Pala, Dario Iafusco, Anna Casu, Roberta Pintus e Vassilios Fanos e Marco Songini*

- 204 **La transizione dal pediatra al diabetologo dell'adulto**

*Andrea Laurenzi, Riccardo Bonfanti*

### – EDITORIALI

- 217 **L'approccio terapeutico al diabete autoimmune dell'adulto (LADA)**

*Carmen Mignogna, Chiara Moretti, Ernesto Maddaloni, Raffaella Buzzetti*

### – AGGIORNAMENTO DALLA LETTERATURA A CURA DI M.L. HRIBAL

- 228 **Risultati di uno studio pilota per la valutazione degli effetti della vitamina D<sub>3</sub>, in aggiunta ad un inibitore di DPP-IV, sulla funzionalità  $\beta$ -cellulare in pazienti LADA**

- 230 **– JOURNAL CLUB**

### – MEDICINA TRASLAZIONALE: APPLICAZIONI CLINICHE DELLA RICERCA DI BASE A CURA DI L. MARSELLI

- 232 **Gli organoidi: modelli 3D per lo studio del diabete**

*Mara Suleiman, Agnese Filippello, Salvatore Piro, Nicola Marrano e Annalisa Natalicchio*

### – AGGIORNAMENTO CLINICO E TECNOLOGIE A CURA DI F. DOTTA, A. SOLINI

- 246 **Percorso riabilitativo psico-nutrizionale nei soggetti affetti da diabete mellito di tipo 2 e disturbo da alimentazione incontrollata. Un case report**

*Luisa Barana, Massimiliano Cavallo, Valentina Pierotti, Simone Pampanelli*

PLATINUM CIRCLE



GOLDEN CIRCLE



SILVER CIRCLE



# il Diabete

---

Vol. 32, N. 3, ottobre 2020

**Direzione Scientifica**

Paolo Cavallo Perin, Torino

**Direttore Responsabile**

Stefano Melloni

Associato all'Unione Stampa Periodica Italiana



Copyright © 2020 SID

Società Italiana di Diabetologia

ISBN 978-88-6923-658-7

ISSN Online 1720-8335

ISSN Online 1720-8335

Nessuna parte può essere duplicata o riprodotta senza l'autorizzazione scritta dell'Editore.



Bononia University Press

**Bononia University Press**

Via Ugo Foscolo 7, 40123 Bologna

tel. (+39) 051 232 882; fax (+39) 051 221 019

e-mail: [info@buponline.com](mailto:info@buponline.com)

[www.buponline.com](http://www.buponline.com)

*Periodico riconosciuto "di elevato valore culturale" dal Ministero per i Beni e le Attività Culturali*

Autorizzazione Tribunale di Milano

n. 706 del 2/11/1988

Progetto grafico: Alessio Bonizzato

**Avvertenza ai lettori**

L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni in merito a dosaggio e impiego di prodotti eventualmente citati negli articoli, e invita il lettore a controllarne personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

# Programma di screening su larga scala per la identificazione di bambini e adolescenti a rischio di sviluppo del diabete di tipo 1 nel territorio

Emanuele Bosi, Matteo Rocco Pastore, Sabina Martinenghi, Andrea Mario Bolla, Pauline Grogan, Eleonora Bianconi, Elena Bazzigaluppi, Graziano Barera, Lorenzo Piemonti, Riccardo Bonfanti, Vito Lampasona

*Diabetes Research Institute, IRCCS Ospedale San Raffaele e Università Vita Salute San Raffaele, Milano*

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003a>

## DIABETE DI TIPO 1: UN PROBLEMA DI SALUTE PUBBLICA

Il diabete di tipo 1 è una malattia cronica al momento inguaribile, che consegue alla distruzione delle cellule beta che all'interno delle isole pancreatiche producono l'insulina. La malattia si manifesta clinicamente con iperglicemia e altre alterazioni metaboliche associate e richiede a vita la terapia con iniezioni multiple giornaliere o infusione continua di insulina. La causa del diabete di tipo 1 rimane sconosciuta, anche se il meccanismo responsabile della distruzione delle cellule beta è stato da tempo identificato come autoimmune (1). L'incidenza, e conseguentemente la prevalenza, del diabete di tipo 1 sono costantemente cresciute nel corso degli ultimi decenni in Europa (2), Nord America (3) e in tutto il mondo (4), divenendo oggi la malattia cronica più diffusa dell'infanzia e della adolescenza. Il diabete di tipo 1 rappresenta pertanto un problema emergente per la salute pubblica, con richiesta urgente di azioni di sensibilizzazione per una maggiore conoscenza della malattia e promozione della ricerca, i cui obiettivi ultimi sono la prevenzione (in coloro che non ne sono ancora colpiti) e la cura (intesa come guarigione definitiva nelle persone già colpite).

## RAZIONALE DELLO SCREENING PER IL DIABETE DI TIPO 1 IN FASE PRE-CLINICA

Associazione tra autoanticorpi e diabete di tipo 1

I programmi di screening per la identificazione dei soggetti a rischio rappresentano un passo fondamentale nella direzione della prevenzione di qualsiasi malattia. Il processo autoimmune responsabile del diabete di tipo 1 è associato alla presenza nel sangue di autoanticorpi, cioè di immunoglobuline dirette contro antigeni delle cellule beta pancreatiche, che compaiono in maniera totalmente silente con anni di anticipo rispetto alla sintomatologia clinica della malattia. Gli autoanticorpi sono pertanto dei marcatori presenti nel sangue che, se riscontrati in assenza di diabete di tipo 1 conclamato, ne possono pre-

### FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID ([www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

*Per ulteriori informazioni: [www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)*

dire un suo possibile sviluppo futuro e quantificarne il rischio. Gli autoanticorpi specifici per il diabete di tipo 1 ad oggi conosciuti e ben caratterizzati sono quattro: anti-GAD (GADA), anti-insulina (IAA), anti-IA2 (IA2A) ed anti-ZnT8 (ZnT8A) (5).

#### **Valore predittivo degli autoanticorpi e stadiazione del diabete di tipo 1 già in fase preclinica**

Numerosi studi prospettici nel mondo hanno progressivamente consolidato il principio secondo il quale mediante lo screening per questi quattro autoanticorpi è possibile misurare con elevata accuratezza il rischio di sviluppare in futuro il diabete di tipo 1. In sintesi, l'assenza di autoanticorpi certifica la sostanziale assenza di rischio, la presenza di uno qualsiasi tra i quattro marcatori conferisce un rischio intorno al 20% a 10 anni, mentre la presenza di due o più anticorpi si associa ad un rischio di evoluzione a diabete clinicamente conclamato superiore all'80% entro 10 anni, ovvero ne attesta la quasi certezza di sviluppo futuro (6). Una recente revisione della definizione e stadiazione del diabete di tipo 1, ne stabilisce l'insorgenza già in fase pre-sintomatica dal momento della comparsa in circolo di due o più autoanticorpi, definendola come stadio 1, a cui segue la progressiva evoluzione allo stadio 2, con iniziale disglicemia e infine allo stadio 3 con iperglicemia e diagnosi clinica (7-8) (Fig. 1).

#### **Giustificazione etica**

Pertanto, lo screening per autoanticorpi, originariamente utilizzato soltanto in studi di ricerca, viene oggi proposto come strumento per la predizione del diabete di tipo 1 in diverse popolazioni, come i familiari, le coorti di neonati geneticamente selezionati, gli alunni delle scuole, fino alla popolazione generale (9). In alcune regioni, come ad esempio la Baviera, lo screening di massa per la identificazione dei soggetti a rischio per diabete di tipo 1 è divenuto un programma di salute pubblica (10).

#### **Impatto sulla salute pubblica e rapporto costo-beneficio: la prevenzione della chetoacidosi**

Il razionale di tali campagne è naturalmente quello di porre le basi per la futura prevenzione del diabete di tipo 1 (11), ma a più breve termine la giustificazione etica risiede nella identificazione dei soggetti a rischio in una fase molto precoce del diabete di tipo 1, consentendo l'avvio tempestivo della terapia insulinica e la prevenzione

della pericolosa chetoacidosi diabetica come modalità di presentazione clinica. La frequenza della chetoacidosi all'esordio clinico del diabete di tipo 1 è infatti ancora elevata anche nei paesi più avanzati (mediamente 29,9% in Europa, 41,2% in Italia), e non sembra essersi ridotta nel corso degli ultimi 20 anni (12). Gravata ancora da mortalità residua intorno all'1% (13), la chetoacidosi riflette una diagnosi tardiva del diabete di tipo 1 (14), con una peggiore evoluzione del controllo glicemico successivo (15-18) e possibili effetti avversi nel tempo su funzioni mnestiche (19), cognitive e sviluppo cerebrale (20-21). Tra i partecipanti a campagne di screening con autoanticorpi e successivo follow-up, l'esordio clinico del diabete di tipo 1 con chetoacidosi si è ridotto drasticamente al 1-3%, con benefici immediati e di più lunga portata (22-24). L'esordio del diabete di tipo 1 con chetoacidosi nei bambini e adolescenti comporta un notevole aumento anche dei costi sanitari (25), per cui un ulteriore valore aggiunto a favore dello screening può risiedere in un rapporto costo-beneficio di questa procedura più favorevole oggi che in passato (26-27).

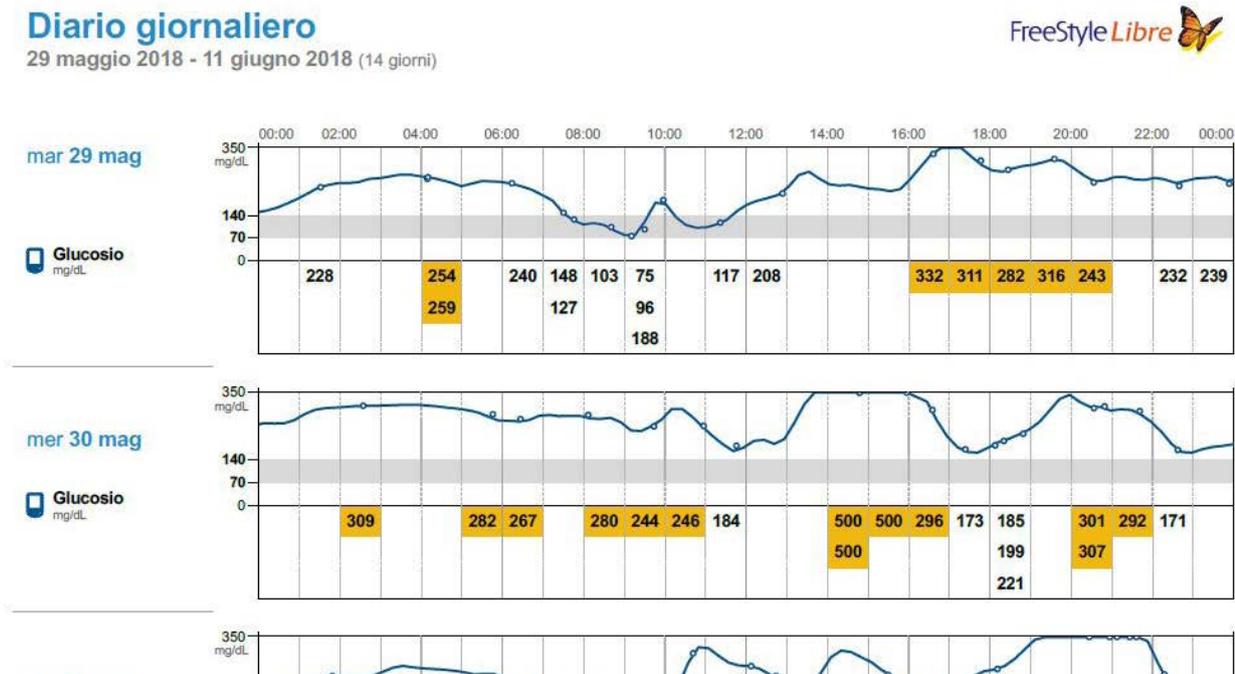
#### **Prevenzione del diabete di tipo 1: lo stato attuale**

La possibilità di prevenire il diabete di tipo 1, o quanto meno di ritardarne l'evoluzione alla fase clinica conclamata, ha iniziato a profilarsi nel momento in cui è emersa l'evidenza della lunga fase di latenza pre-clinica associata alla presenza in circolo degli autoanticorpi.

Rispetto alla storia naturale, si riconoscono tre possibili tipi di prevenzione: primaria, da applicare alla fase pre-autoimmune, con l'obiettivo di impedire la comparsa degli autoanticorpi; secondaria, nelle persone già positive per autoanticorpi, con l'obiettivo di prevenire l'evoluzione alla fase conclamata della malattia e quindi alla terapia con insulina; terziaria, quella che si realizza al momento dell'esordio clinico del diabete, mirata alla preservazione della funzione  $\beta$ -cellulare residua. Malgrado i notevoli impegni della ricerca nel corso degli ultimi decenni, i risultati fino ad oggi rimangono modesti (11).

Gli studi di prevenzione primaria più importanti sono quelli di tipo nutrizionale condotti nella prima infanzia, basati sull'impiego del latte idrolizzate rispetto a quello vaccino (28) e sul ritardo dell'introduzione del glutine (29), entrambi con risultati negativi. Un altro studio importante è quello basato sulla somministrazione orale di insulina ad alte dosi in bambini ad elevato rischio gene-

Figura 1 ♦ Gli stadi di evoluzione del diabete di tipo 1



La predisposizione genetica precede l'attivazione immune e la sieroconversione. La comparsa di due o più autoanticorpi definisce lo stadio 1 di malattia. La successiva progressione a stadio 2 (disglicemia) e stadio 3 (iperglicemia e diagnosi clinica) consegue alla progressiva riduzione della massa e della funzione  $\beta$ -cellulare (adattata da TrialNet, con permesso: [www.trialnet.org](http://www.trialnet.org)) (8)

tico, con l'ipotesi che l'insulina orale possa indurre una risposta protettiva nei riguardi del diabete di tipo 1: i risultati preliminari sono incoraggianti (30), ma lo studio è ancora in corso (31).

In prevenzione secondaria, sono da segnalare gli studi di immunoterapia basati sulla somministrazione cronica di insulina, sia sottocute (32), sia per via orale (33-34), purtroppo inefficace.

In prevenzione terziaria, molteplici sono stati gli interventi al momento dell'esordio clinico del diabete di tipo 1, tutti sostanzialmente privi di efficacia (11), ad eccezione di qualche risultato parziale e transitorio di preservazione della funzione  $\beta$ -cellulare residua ottenuto con anticorpi anti-CD3 (35-36), anti-CD20 (Rituximab) (37), Abatacept (38) e ATG (globuline anti-timocitarie) a basse dosi (39).

Lo stato della prevenzione del diabete di tipo 1, in particolare quella secondaria, è tuttavia di recente cambiato, con la dimostrazione dell'efficacia di Teplizumab (un anticorpo monoclonale anti-CD3) in soggetti a rischio (familiari con due o più autoanticorpi, iniziale alterazione della glicemia, assenza di sintomi) nei quali il trattamento è risultato in grado di ritardare la progressione

verso l'iperglicemia in media di circa due anni (40). In precedenza, lo stesso Teplizumab si era rivelato in grado di rallentare, anche se soltanto transitoriamente ed in alcuni sottogruppi di pazienti, il declino della produzione di insulina successivamente all'esordio di diabete di tipo 1 (35, 41). In altre parole, per la prima volta si è avuta la dimostrazione della possibilità di modificare la storia naturale del diabete di tipo 1 attraverso una immunoterapia. Un rallentamento di due anni verso la fase clinicamente conclamata del diabete di tipo 1 può apparire a prima vista un risultato parziale, e sicuramente lo è, ma due anni in più senza malattia dal punto di vista del paziente è un risultato di grande significato e valore, che giustifica eticamente, oltre che scientificamente, l'intensificazione degli sforzi di intervento nella direzione della prevenzione.

#### ASPETTI PRATICI: MODALITÀ DI SCREENING E IMPIEGO DI SANGUE CAPILLARE

La misurazione degli autoanticorpi avviene convenzionalmente su siero proveniente da un prelievo di sangue,

utilizzando saggi validati all'interno di un programma internazionale di standardizzazione in corso da decenni (42-46). Le naturali barriere alla esecuzione di campagne di screening comprendono ostacoli geografici, mancanza di tempo, spazi e persone dedicate, costi, oltre ad una naturale avversione ai prelievi di sangue da parte soprattutto dei bambini. Infine, le misurazioni di laboratorio sono laboriose e costose.

L'uso di campioni di sangue capillare per la misurazione degli autoanticorpi è stato messo a punto e validato in passato (47) e di recente rivitalizzato per adattarlo a programmi di screening di vaste dimensioni (48). La raccolta dei campioni di sangue capillare appare ideale per le campagne di screening, in quanto semplice, veloce, poco costosa, quasi indolore e può essere eseguita a domicilio anche da persone non professionali (tipicamente i genitori). Di recente, è stato messo a punto un innovativo saggio per la misurazione di GADA, IA2A e ZnT8A come screening contemporaneo, in un formato automatizzabile che utilizza sangue capillare (48-50).

Questo test di screening identifica quei soggetti positivi per una o più di queste specificità (corrispondenti a circa lo 0,3% della popolazione generale infantile-giovanile), nei quali l'eventuale risultato di positività dovrà essere validato con un successivo prelievo di sangue con la ripetizione della misurazione nel siero di tutti gli autoanticorpi per una definitiva quantificazione del rischio.

Questa strategia è stata adottata nel già citato studio Frida, realizzato in Baviera sulla popolazione generale infantile, uno tra i migliori esempi di programmi di ricerca, salute pubblica e prevenzione a livello di popolazione generale (10).

#### **POSSIBILITÀ DI AVVIARE PROGRAMMI DI SCREENING IN ITALIA: IL CAMBIO DI PASSO NECESSARIO**

In Italia sono stati realizzati in passato alcuni programmi di screening per l'identificazione dei soggetti a rischio all'interno di famiglie (51), migranti (52) o popolazioni scolastiche (53), sostanzialmente con finalità di ricerca. L'unico programma di screening attualmente attivo in Italia per l'identificazione di soggetti da avviare a interventi sperimentali di prevenzione è TrialNet, con base negli USA ed un Centro Clinico presso l'Ospedale San Raffaele di Milano finanziato da JDRF e NIH (8). Altri progetti, come ad esempio di Consorzio Europeo INNODIA (54)

a cui partecipano diversi centri italiani, hanno avviato progetti di screening per future sperimentazioni.

Storicamente, le esperienze di programmi di screening per il diabete di tipo 1 in Italia sono sempre state difficili per una serie di motivi: in primo luogo culturali, in quanto mancando una possibilità di intervenire con terapie preventive nei soggetti identificati come a rischio, atteggiamenti oppositivi sono emersi dai vari Comitati Etici, autorità locali e dagli stessi medici, poco propensi ad eseguire test di screening per sole finalità di ricerca. Inoltre, questi progetti sono per propria natura complessi, richiedono strutture e persone dedicate e devono poter contare su finanziamenti duraturi, con tempi di svolgimento pluriennali, di fatto inesistenti in Italia.

Tuttavia, l'insieme delle recenti evidenze scientifiche sulla storia naturale della malattia, impone un cambio di tutta la strategia da adottare nei confronti del diabete di tipo 1.

1. In prospettiva, occorre introdurre un cambiamento epocale nella terapia del diabete: anticipare l'intervento dalla fase sintomatica (cioè dalla comparsa dell'iperglicemia) alla fase pre-sintomatica, cioè nelle persone ancora asintomatiche, ma che avendo  $\geq 2$  autoanticorpi hanno la quasi certezza di sviluppare il diabete di tipo 1. In altre parole, passare dalla terapia dei sintomi (iperglicemia) a quella dei meccanismi causali.
2. Il diabete di tipo 1 inizia con la comparsa di  $\geq 2$  autoanticorpi. L'intervento in questo stadio non è più prevenzione, ma terapia della malattia.
3. L'identificazione dei soggetti a rischio e la predizione del diabete di tipo 1 sono oggi molto accurate.
4. L'immunoterapia nel diabete di tipo 1 ha per la prima volta dimostrato con Tepluzimab (anticorpi anti-CD3) che può, almeno in parte, funzionare: oggi è possibile ritardare l'esordio dell'iperglicemia (in media di 2 anni) e non si tratta di un risultato marginale.
5. La ricerca prosegue, con altri studi, rivolti a migliorare i risultati ottenuti ed identificare altri tipi di intervento da estendere alle fasi più precoci della malattia.

## FATTIBILITÀ DI STUDI DI SCREENING: TEMPO PER STUDI PILOTA?

Malgrado le evidenze ed i progressi sopra elencati, l'avvio di programmi permanenti di screening per la identificazione di soggetti a rischio per il diabete di tipo 1 all'interno di progetti di salute pubblica sul modello dello studio Frída rimane difficile. Tuttavia, le esperienze accumulate con eccellenti risultati in altri paesi come la Germania (55) forniscono lo stimolo per intraprendere progetti di questo tipo anche in Italia.

A tal scopo e come esempio di fattibilità, uno o più studi pilota potrebbero essere molto utili.

I presupposti necessari sono sostanzialmente:

1. Costituzione di un gruppo di lavoro per la stesura e conduzione del progetto con connotati di salute pubblica.
2. Identificazione di una Autorità Sanitaria (per esempio una ATS) con giurisdizione su uno specifico territorio disponibile ad ospitare e facilitare lo studio rendendo disponibili le proprie strutture (medici e pediatri del territorio, medicina scolastica, strutture sanitarie).
3. Organizzazione della infrastruttura per la conduzione dello studio: esecuzione e raccolta dei prelievi, laboratorio per la misurazione degli autoanticorpi, analisi ed interpretazione dei dati; comunicazione dei risultati a cittadini e famiglie; definizione delle successive azioni.
4. Finanziamento del progetto per tutta la durata dello studio ed in prospettiva per la sua estensione ad altri territori.

Tutti questi presupposti appaiono al momento già disponibili o realisticamente conseguibili. Pertanto, possiamo affermare che il momento del cambio di passo, ovvero dell'avvio di campagne di screening nella popolazione generale (infantile, adolescenziale e adulta) per la identificazione di soggetti a rischio per diabete di tipo 1 è venuto e che l'avvio di progetti pilota su questo argomento debba essere perseguito.

## BIBLIOGRAFIA

1. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet* 391: 2449-2462, 2018
2. Patterson CC, Harjutsalo V, Rosenbauer J, Neu A, Cinek O, Skrivarhaug T, Rami-Merhar B, Soltesz G, Svensson J, Parslow RC, Castell C, Schoenle EJ, Bingley PJ, Dahlquist G, Jarosz-Chobot PK, Marčilionytė D, Roche EF, Rothe U, Bratina N, Ionescu-Tirgoviste C, Weets I, Kocova M, Cherubini V, Rojnic Putarek N, deBeaufort CE, Samardzic M, Green A. Trends and cyclical variation in the incidence of childhood type 1 diabetes in 26 European centres in the 25 year period 1989-2013: a multicentre prospective registration study. *Diabetologia* 62: 408-417, 2019.
3. Mayer-Davis EJ, Lawrence JM, Dabelea D, Divers J, Isom S, Dolan L, Imperatore G, Linder B, Marcovina S, Pettitt DJ, Pihoker C, Saydah S, Wagenknecht L; SEARCH for Diabetes in Youth Study. Incidence trends of type 1 and type 2 diabetes among youths, 2002-2012. *N Engl J Med* 376: 1419-1429, 2017.
4. DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med* 23: 857-866, 2006.
5. Bonifacio E. Predicting type 1 diabetes using biomarkers. *Diabetes Care* 38: 989-996, 2015.
6. Ziegler AG, Rewers M, Simell O, Simell T, Lempainen J, Steck A, Winkler C, Ilonen J, Veijola R, Knip M, Bonifacio E, Eisenbarth GS. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *JAMA* 309: 2473-2479, 2013.
7. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, Chiang JL, Dabelea D, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Herold KC, Krischer JP, Lernmark Å, Ratner RE, Rewers MJ, Schatz DA, Skyler JS, Sosenko JM, Ziegler AG. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRE, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 38: 1964-1974, 2015.
8. Greenbaum CJ, Speake C, Krischer J, Buckner J, Gottlieb PA, Schatz DA, Herold KC, Atkinson MA. Strength in Numbers: Opportunities for Enhancing the Development of Effective Treatments for Type 1 Diabetes-The TrialNet Experience. *Diabetes* 67: 1216-1225, 2018.
9. Ziegler AG, Hoffmann GF, Hasford J, Larsson HE, Danne T, Berner R, Penno M, Korolova A, Dunne J, Bonifacio E. Screening for asymptomatic  $\beta$ -cell autoimmunity in young children. *Lancet Child Adolesc Health* 3: 288-290, 2019.
10. Raab J, Haupt F, Scholz M, Matzke C, Warncke K, Lange K, Assfalg R, Weininger K, Wittich S, Löbner S, Beyerlein A, Nennstiel-Ratzel U, Lang M, Laub O,

- Dunstheimer D, Bonifacio E, Achenbach P, Winkler C, Ziegler AG; Frida Study Group. Capillary blood islet autoantibody screening for identifying pre-type 1 diabetes in the general population: design and initial results of the Frida study. *BMJ Open* 18: e011144, 2016.
11. Skyler JS. Prevention and reversal of type 1 diabetes. Past challenges and future opportunities. *Diabetes Care* 38: 997-1007, 2015.
  12. Cherubini V, Grimsmann JM, Åkesson K, Birkebæk NH, Cinek O, Dovč K, Gesuita R, Gregory JW, Hanas R, Hofer SE, Holl RW, Jefferies C, Joner G, King BR, Mayer-Davis EJ, Peña AS, Rami-Merhar B, Schierloh U, Skrivarhaug T, Sumnik Z, Svensson J, Warner JT, Bratina N, Dabelea D. Temporal trends in diabetic ketoacidosis at diagnosis of paediatric type 1 diabetes between 2006 and 2016: results from 13 countries in three continents. *Diabetologia* 63:1530-1541, 2020.
  13. Umpierrez G, Korytkowski M. Diabetic emergencies - ketoacidosis, hyperglycaemic hyperosmolar state and hypoglycaemia. *Nat Rev Endocrinol* 12: 222-232, 2016.
  14. Bui H, To T, Stein R, Fung K, Daneman D. Is diabetic ketoacidosis at disease onset a result of missed diagnosis? *J Pediatr* 156: 472-477, 2010.
  15. Fredheim S, Johannesen J, Johansen A, Lyngsøe L, Rida H, Andersen ML, Lauridsen MH, Hertz B, Birkebæk NH, Olsen B, Mortensen HB, Svensson J; Danish Society for Diabetes in Childhood and Adolescence. Diabetic ketoacidosis at the onset of type 1 diabetes is associated with future HbA1c levels. *Diabetologia* 56: 995-1003, 2013.
  16. Duca LM, Wang B, Rewers M, Rewers A. Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes Predicts Poor Long-term Glycemic Control. *Diabetes Care* 40: 1249-1255, 2017.
  17. Shalitin S, Fisher S, Yackbovitch-Gavan M, de Vries L, Lazar L, Lebenthal Y, Phillip M. Ketoacidosis at onset of type 1 diabetes is a predictor of long-term glycemic control. *Pediatr Diabetes* 19: 320-328, 2018.
  18. Duca LM, Reboussin BA, Pihoker C, Imperatore G, Saydah S, Mayer-Davis E, Rewers A, Dabelea D. Diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes and glycemic control over time: The SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatr Diabetes* 20: 172-179, 2019.
  19. Semenkovich K, Bischoff A, Doty T, Nelson S, Siller AF, Hershey T, Arbeláez AM. Clinical presentation and memory function in youth with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 17: 492-499, 2016.
  20. Cameron FJ, Scratch SE, Nadebaum C, Northam EA, Koves I, Jennings J, Finney K, Neil JJ, Wellard RM, Mackay M, Inder TE; DKA Brain Injury Study Group. Neurological consequences of diabetic ketoacidosis at initial presentation of type 1 diabetes in a prospective cohort study of children. *Diabetes Care* 37: 1554-1562, 2014.
  21. Aye T, Mazaika PK, Mauras N, Marzelli MJ, Shen H, Hershey T, Cato A, Weinzimer SA, White NH, Tsalkian E, Jo B, Reiss AL; Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. Impact of Early Diabetic Ketoacidosis on the Developing Brain. *Diabetes Care* 42: 443-449, 2019.
  22. Elding Larsson H, Vehik K, Bell R, Dabelea D, Dolan L, Pihoker C, Knip M, Veijola R, Lindblad B, Samuelsson U, Holl R, Haller MJ; TEDDY Study Group; SEARCH Study Group; Swediabkids Study Group; DPV Study Group; Finnish Diabetes Registry Study Group. Reduced prevalence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes in young children participating in longitudinal follow-up. *Diabetes Care* 34: 2347-2352, 2011.
  23. Winkler C, Schober E, Ziegler AG, Holl RW. Markedly reduced rate of diabetic ketoacidosis at onset of type 1 diabetes in relatives screened for islet autoantibodies. *Pediatr Diabetes* 13: 308-313, 2012.
  24. Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS, Norris JM, Klingensmith GJ, Rewers M; DAISY study. Clinical characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes through intensive screening and follow-up. *Diabetes Care* 27: 1399-1404, 2004.
  25. Saydah SH, Shrestha SS, Zhang P, Zhou X, Imperatore G. Medical Costs Among Youth Younger Than 20 Years of Age With and Without Diabetic Ketoacidosis at the Time of Diabetes Diagnosis. *Diabetes Care* 42: 2256-2261, 2019.
  26. Meehan C, Fout B, Ashcraft J, Schatz DA, Haller MJ. Screening for T1D risk to reduce DKA is not economically viable. *Pediatr Diabetes* 16: 565-572, 2015.
  27. McQueen RB, Geno Rasmussen C, Waugh K, Frohnert BI, Steck AK, Yu L, Baxter J, Rewers M. Cost and Cost-

- Effectiveness of Large-Scale Screening for Type 1 Diabetes in Colorado. *Diabetes Care* 43: 1496-1503, 2020.
28. Knip M, Åkerblom HK, Becker D, Dosch HM, Dupre J, Fraser W, Howard N, Ilonen J, Krischer JP, Kordonouri O, Lawson ML, Palmer JP, Savilahti E, Vaarala O, Virtanen SM; TRIGR Study Group. Hydrolyzed infant formula and early  $\beta$ -cell autoimmunity: a randomized clinical trial. *JAMA* 311: 2279-2287, 2014.
  29. Hummel S, Pflüger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler AG. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. *Diabetes Care* 34: 1301-1305, 2011.
  30. Bonifacio E, Ziegler AG, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, Theil A, Eugster A, Puff R, Peplow C, Buettner F, Lange K, Hasford J, Achenbach P; Pre-POINT Study Group. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. *JAMA* 313: 1541-1549, 2015.
  31. Ziegler AG, Danne T, Dunger DB, Berner R, Puff R, Kiess W, Agiostratidou G, Todd JA, Bonifacio E. Primary prevention of beta-cell autoimmunity and type 1 diabetes - The Global Platform for the Prevention of Autoimmune Diabetes (GPPAD) perspectives. *Mol Metab* 5: 255-262, 2016.
  32. Diabetes Prevention Trial-Type 1 Diabetes Study Group. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 346: 1685-1691, 2002.
  33. The Diabetes Prevention Trial-Type 1 Study Group. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: The Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care* 28: 1068-1076, 2005.
  34. Writing Committee for the Type 1 Diabetes TrialNet Oral Insulin Study Group, Krischer JP, Schatz DA, Bundy B, Skyler JS, Greenbaum CJ. Effect of Oral Insulin on Prevention of Diabetes in Relatives of Patients With Type 1 Diabetes: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 318: 1891-1902, 2017.
  35. Herold KC, Gitelman SE, Masharani U, Hagopian W, Bisikirska B, Donaldson D, Rother K, Diamond B, Harlan DM, Bluestone JA. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3 $\gamma$ 1 (Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 54: 1763-1769, 2005.
  36. Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G, Gorus F, Goldman M, Walter M, Candon S, Schandene L, Crenier L, De Block C, Seigneurin JM, De Pauw P, Pierard D, Weets I, Rebello P, Bird P, Berrie E, Frewin M, Waldmann H, Bach JF, Pipeleers D, Chatenoud L. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 352: 2598-2608, 2005.
  37. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Krause-Steinrauf H, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Marks JB, McGee PE, Moran AM, Raskin P, Rodriguez H, Schatz DA, Wherrett D, Wilson DM, Lachin JM, Skyler JS. Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. *N Engl J Med* 361: 2143-2152, 2009.
  38. Orban T, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Marks JB, Monzavi R, Moran A, Raskin P, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Wherrett D, Wilson DM, Krischer JP, Skyler JS; Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group. Costimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 378: 412-419, 2011.
  39. Haller MJ, Long SA, Blanchfield JL, Schatz DA, Skyler JS, Krischer JP, Bundy BN, Geyer SM, Warnock MV, Miller JL, Atkinson MA, Becker DJ, Baidal DA, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Herold KC, Marks JB, Moran A, Rodriguez H, Russell WE, Wilson DM, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet ATG-GCSF Study Group. Low-Dose Anti-Thymocyte Globulin Preserves C-Peptide, Reduces HbA1c, and Increases Regulatory to Conventional T-Cell Ratios in New-Onset Type 1 Diabetes: Two-Year Clinical Trial Data. *Diabetes* 68: 1267-1276, 2019.
  40. Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, Gitelman SE, Gottlieb PA, Krischer JP, Linsley PS, Marks JB, Moore W, Moran A, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Skyler JS, Tsalikian E, Wherrett DK, Ziegler AG, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 381: 603-613, 2019.

41. Perdigoto AL, Preston-Hurlburt P, Clark P, Long SA, Linsley PS, Harris KM, Gitelman SE, Greenbaum CJ, Gottlieb PA, Hagopian W, Woodwyk A, Dziura J, Herold KC; Immune Tolerance Network. Treatment of type 1 diabetes with teplizumab: clinical and immunological follow-up after 7 years from diagnosis. *Diabetologia* 62: 655-664, 2019.
42. Bonifacio E, Yu L, Williams AK, Eisenbarth GS, Bingley PJ, Marcovina SM, Adler K, Ziegler AG, Mueller PW, Schatz DA, Krischer JP, Steffes MW, Akolkar B. Harmonization of glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2 autoantibody assays for national institute of diabetes and digestive and kidney diseases consortia. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 3360-3367, 2010.
43. Schlosser M, Mueller PW, Törn C, Bonifacio E, Bingley PJ; Participating Laboratories. Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for insulin autoantibodies. *Diabetologia* 53: 2611-2620, 2010.
44. Törn C, Mueller PW, Schlosser M, Bonifacio E, Bingley PJ; Participating Laboratories. Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2. *Diabetologia* 51: 846-852, 2008.
45. Lampasona V, Schlosser M, Mueller PW, Williams AJ, Wenzlau JM, Hutton JC, Achenbach P. Diabetes antibody standardization program: first proficiency evaluation of assays for autoantibodies to zinc transporter 8. *Clin Chem* 57: 1693-1702, 2011.
46. Lampasona V, Pittman DL, Williams AJ, Achenbach P, Schlosser M, Akolkar B, Winter WE; Participating Laboratories. Islet Autoantibody Standardization Program 2018 Workshop: Interlaboratory Comparison of Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibody Assay Performance. *Clin Chem* 65: 1141-1152, 2019.
47. Bazzigaluppi E, Bonfanti R, Bingley P, Bosi E, Bonifacio E. Capillary Whole Blood Measurement of Islet Autoantibodies. *Diabetes Care* 22: 275-279, 1999.
48. Liu Y, Rafkin LE, Matheson D, Henderson C, Boulware D, Besser REJ, Ferrara C, Yu L, Steck AK, Bingley PJ; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. Use of self-collected capillary blood samples for islet autoantibody screening in relatives: a feasibility and acceptability study. *Diabet Med* 34: 934-937, 2017.
49. Amoroso M, Achenbach P, Powell M, Coles R, Chlebowska M, Carr L, Furmaniak J, Scholz M, Bonifacio E, Ziegler AG, Rees Smith B. 3 Screen islet cell autoantibody ELISA: A sensitive and specific ELISA for the combined measurement of autoantibodies to GAD65, to IA-2 and to ZnT8. *Clin Chim Acta* 462: 60-64, 2016.
50. Ziegler AG, Haupt F, Scholz M, Weininger K, Wittich S, Löbner S, Matzke C, Gezginici C, Riethausen S, Beyerlein A, Zillmer S, Amoroso M, Coles R, Powell M, Furmaniak J, Smith BR, Winkler C, Bonifacio E, Achenbach P. 3 Screen ELISA for High-Throughput Detection of Beta Cell Autoantibodies in Capillary Blood. *Diabetes Technol Ther* 18: 687-693, 2016.
51. Pastore MR, Bazzigaluppi E, Bonfanti R, Dozio N, Sergi A, Balini A, Belloni C, Meschi F, Bonifacio E, Bosi E. Two-step islet autoantibody screening for risk assessment of type 1 diabetes in relatives. *Diabetes Care* 21: 1445-1450, 1998.
52. Tenconi MT, Devoti G, Rizzo M, Roncarolo F, Bernasconi A, Lanati N, Calcaterra V, Songini M, Locatelli M, Bottazzo GF. Type 1 diabetes risk and autoantibody positivity in Sardinian migrants in the province of Pavia. *N Am J Med Sci* 1: 48-53, 2009.
53. Velluzzi F, Secci G, Sepe V, Klersy C, Shattock M, Foxon R, Songini M, Mariotti S, Locatelli M, Bottazzo GF, Loviselli A; Sardinian Autoimmunity Study Group. Prediction of type 1 diabetes in Sardinian schoolchildren using islet cell autoantibodies: 10-year follow-up of the Sardinian schoolchildren type 1 diabetes prediction study. *Acta Diabetol* 53: 73-79, 2016.
54. Thorley J. Chantal Mathieu: coordinating networks to tackle type 1 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol* 8: 476, 2020.
55. Ziegler AG, Kick K, Bonifacio E, Haupt F, Hippich M, Dunstheimer D, Lang M, Laub O, Warncke K, Lange K, Assfalg R, Jolink M, Winkler C, Achenbach P; Frida Study Group. Yield of a Public Health Screening of Children for Islet Autoantibodies in Bavaria, Germany. *JAMA* 323: 339-351, 2020.

# Ruolo del microbioma nel diabete mellito di tipo 1

Elisa Pala<sup>1</sup>, Dario Iafusco<sup>2</sup>, Anna Casu<sup>3</sup>, Roberta Pintus<sup>4</sup>  
e Vassilios Fanos<sup>4,5</sup> e Marco Songini<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Cagliari; <sup>2</sup>Dipartimento della Donna, del Bambino e della Chirurgia Generale e Specialistica, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli; <sup>3</sup>Translational Reserch Institute, AdventHealth, Florida, USA; <sup>4</sup>Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università di Cagliari; <sup>5</sup>Unità di terapia intensiva neonatale, Azienda Ospedaliera Universitaria e Università di Cagliari; <sup>6</sup>Direttore del Centro per le Patologie Metaboliche, Ospedale San Michele, Cagliari

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003b>

## INTRODUZIONE

Il diabete mellito di tipo 1 (DMT1) è una malattia autoimmune, caratterizzata dalla distruzione delle cellule beta pancreatiche da parte delle cellule CD4+, CD8+, cellule T, con infiltrazione dei macrofagi nelle isole di Langerhans, comportando in questo modo perdita di cellule beta, deficienza insulinica non appena vengono perse l'80-90% delle cellule beta ed esordio clinico della malattia. L'etiopatogenesi è multifattoriale, sviluppandosi in soggetti geneticamente predisposti (HLA DR4-DQ8 e DR3-DQ2), sui quali agirebbero in maniera combinata, fattori immunologici e ambientali. Per quanto riguarda i fattori genetici, oltre 50 geni di suscettibilità sono stati individuati, ma non tutti contribuiscono alla suscettibilità nello stesso modo. I geni HLA-DR e -DQ rappresentano circa dal 40% al 50% del rischio genetico di malattia. Anche altri geni di suscettibilità, tra cui PTPN22, IL2Ra e CTLA4, sono strettamente correlati con DMT1 (1). Circa il 70% dei casi di DMT1 presenta alleli HLA predisponenti alla malattia, ma solo il 3-7% dei bambini con quegli alleli sviluppa DMT1 (2).

Qui di seguito è riportata una visione di insieme degli ultimi studi del DMT1 nel mondo, e del ruolo del microbiota intestinale nella patogenesi di tale malattia.

## EPIDEMIOLOGIA

L'aspetto epidemiologico può fornire indizi importanti su fattori di rischio ambientale. I dati resi disponibili dall'International Diabetes Federation Atlas nella sua nona edizione (2019) sono relativi alla prevalenza e incidenza del DMT1 nei bambini di età inferiore a 15 anni di 94 nazioni, descrivono massima incidenza in Finlandia (60/100.000), Sardegna e Svezia, seguite da Kuwait, alcune altre nazioni nordeuropee, Arabia Saudita, Algeria, Australia, Nuova Zelanda, USA e Canada. Il minor nu-

### FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID ([www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

**Per ulteriori informazioni: [www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)**

mero di nuovi casi si osserva nell'Asia orientale e sudorientale (3). Dalla metanalisi di Mobasser et al. del 2020, l'incidenza mondiale è pari a 15 casi per 100.000 abitanti, la prevalenza è al 9,5/10.000, con valori più alti in Europa e America (4). L'incidenza del diabete di tipo 1 è aumentata negli ultimi decenni di una media annuale del 3-4% in tutto il mondo, con maggiore velocità nelle aree a minore incidenza del passato (3). Lo studio dell'epidemiologia e della prevenzione del diabete (EURODIAB), dal 1989, ha rilevato l'incidenza del DM1 in tutta Europa, descrivendo un gradiente Nord-Sud, con il più alto tasso nei paesi scandinavi, ma con eccezione, al Sud, della Sardegna dove la malattia presenta un tasso simile a quello della Finlandia (5-6).

Tra l'etiopatogenesi genetica e quella ambientale, sicuramente uno dei dati più solidi a favore di quest'ultima è derivato da uno studio italiano condotto da ricercatori dell'Istituto Superiore di Sanità che ha valutato la ricorrenza di due patologie: il diabete mellito di tipo 1 e la celiachia, nelle coppie di gemelli italiani. Dal confronto tra la ricorrenza di malattia negli omozigoti rispetto ai dizigoti, risulta evidente che, mentre la celiachia deve essere considerata soprattutto una patologia geneticamente determinata (maggiore ricorrenza tra gli omozigoti rispetto ai dizigoti), il diabete sembra essere una malattia di origine ambientale (simile ricorrenza tra monozigoti e dizigoti). D'altra parte, la suscettibilità genetica non avrebbe potuto, da sola, spiegare la crescente incidenza di DM1 in tutto il mondo, suggerendo il ruolo di una significativa componente non genetica nell'eziopatogenesi della malattia, e in particolare del microbiota umano (7).

## IL MICROBIOTA NEL DIABETE MELLITO DI TIPO 1

Gli esseri umani sono colonizzati da numerosissime comunità microbiche saprofiti e la grande maggioranza abita nel tratto gastrointestinale, che accoglie circa 100 trilioni di cellule batteriche (oltre che virus e funghi), 10 volte di più del numero di cellule del corpo umano (8). Dai vari studi risulta che il tratto gastrointestinale è dominato da 4 phyla batterici: Firmicutes, Bacteroides, Proteobacteria e Actinobacteria. I primi due sono i più abbondanti nell'intestino dell'adulto mentre, tra gli Actinobacteria, predominanti nei lattanti allattati al seno, il bifidobatterio, considerato probiotico, è il più abbondante (8-9). Tuttavia, composizione e diversità batterica

differiscono nelle diverse aree geografiche (10). Una qualità ottimale del microbiota intestinale garantisce protezione contro l'invasione di patogeni e fornisce all'ospite e ai commensali metaboliti nutrizionali, altrimenti non ottenibili (es. vitamine, butirrato, ecc). Anche la componente genetica orienta la struttura e funzione del microbiota gastrointestinale come dimostrato dallo studio di Buschart et al. (11). Il microbiota deve essere considerato una sorta di "organismo nell'organismo", attivo e dinamico nella sua composizione, influenzato da vari fattori esogeni ed endogeni (Tab. 1).

Approfondendo la composizione del microbiota nel diabete, in una coorte di studio messicana, i bambini all'inizio della malattia hanno un'abbondanza di Bacteroides, mentre i controlli sani hanno una prevalenza di Prevotella; tuttavia dopo due anni di terapia insulinica, i casi tendono ad assomigliare ai controlli (12). A questo proposito, molto interessante è stata la rassegna pubblicata su "il Diabete" lo scorso anno che ha messo in evidenza come il microbiota intestinale possa giocare un ruolo decisivo nei meccanismi di rischio cardiovascolare quali la aterosclerosi, l'ipertensione arteriosa, e "l'infiammazione" (13).

In una coorte di 33 neonati estoni e finlandesi, la diversità alfa (misura del numero di microbi distinti in una comunità), che di norma aumenta esponenzialmente nei primi tre anni di vita, cala del 25% nei bambini che svilupperanno DM1 rispetto ai controlli, riducendosi dopo che hanno iniziato a formarsi gli autoanticorpi, ma prima della diagnosi di diabete (14). Il calo della diversità alfa nei casi dipenderebbe dalla sovrabbondanza di alcuni gruppi: Blautia, Rikenellaceae, Ruminococcus e Streptococcus. Al contrario, si nota una riduzione delle Lachnospiraceae e Veillonellaceae, similmente a quanto avviene nell'infiammazione (14). Tra i gruppi più rappresentati ci sono specie definite "patobionti", in grado di comportarsi come agenti patogeni (15). La quantità di Blautia sembra essere correlata ai livelli di IA-2 e all'aumento dell'HbA1c (16). Molto interessante è stata l'analisi condotta, raccogliendo ogni tre mesi campioni di feci da 4 coppie caso-controllo della coorte di studio Diabetes Prediction and Prevention (DIPP) in Finlandia (17). Di gran lunga, le due differenze più evidenti tra le comunità microbiche delle feci dei casi e dei controlli sono quelle tra i due phyla più abbondanti a tutti e tre i "time-points" di raccolta: i Bacteroidetes relativamente maggiori nei casi, e i Firmicutes relativamente maggiori nei controlli (18).

**Tabella 1** ◆ Elementi che influenzano la stabilità e composizione del microbiota intestinale in relazione al diabete di tipo 1

	MODIFICHE DEL MICROBIOTA	MICROBIOTA E DMT1
<b>Parto</b>	Il microbiota di bambini nati da parto vaginale è simile al microbiota vaginale della madre, bambini nati con parto cesareo sono colonizzati con specie presenti sulla cute della madre e hanno minore abbondanza di alcune specie di <i>Bacteroides</i>	<p><b>Bacteroides</b> hanno un ruolo nello sviluppo e nella funzione del sistema immunitario stimolando la produzione da plasmociti di IgA secretorie. (29)</p> <p><b>B. Thetaiotaomicron</b> Preservano la barriera intestinale. (29)</p> <p><b>B. Fragilis e B. Subtilis</b> Promuovono la maturazione del tessuto linfoide associato all'intestino e la produzione di anticorpi. (29)</p> <p><b>B. Fragilis</b> Inibiscono la citochina pro-infiammatoria IL-17 nell'intestino. (29)</p>
<b>Allattamento</b>	Il microbiota materno viene trasferito nel latte. Le variazioni del microbiota del bambino sono correlate in modo dose-dipendente all'allattamento al seno. (73)	<p><b>Bifidobacterium e Lactobacillus</b> Presenti nel latte materno riducono gli oligosaccaridi in acidi grassi a catena corta, mantengono la barriera intestinale, stimolano la produzione di IgA. (29) (73)</p> <p><b>Bifidobacterium Infantis</b> Predominante nei bambini nutriti con latte materno per i primi 6 mesi di vita, metabolizzano gli oligosaccaridi in acidi grassi a catena corta, promuovono la produzione e l'integrità del muco, svolgono un ruolo nella immuno-regolazione. (29) (73)</p>
<b>Antibiotici</b>	Negli ultimi anni i ricercatori hanno ipotizzato che l'abuso di antibiotici sia correlato con l'aumento di incidenza di DMT1; tuttavia, i risultati degli studi finora disponibili sono poco chiari e contraddittori	<p>Topi NOD trattati con antibiotici presentano alterazione del microbiota e riduzione delle cellule T-Reg nella lamina propria della mucosa. (8)</p> <p>Topi NOD di madri trattate con antibiotici risultano protetti dal DM. (8)</p> <p>L'impatto degli antibiotici sul microbioma nel DMT1 dipende dallo specifico antibiotico e deve essere ancora ben compreso. (8)</p>
<b>Dieta</b>	La dieta ricca di grassi è correlata a variazioni del microbiota e ad aumento di infiammazione intestinale. (66) Diete ad alto contenuto di glutine, nonché la sua precoce introduzione nella dieta dei bambini favorisce la disbiosi associata a DMT1. (66)	<p>Topi NOD con dieta priva di glutine hanno una riduzione di <b>Bifidobacterium, Tannerella e Barnesiella</b> e un aumento del numero di <b>Akkermansia</b> nell'intestino, con inversione dei rapporti dopo introduzione del glutine. (58)</p> <p>Topi con dieta ricca di grassi hanno una riduzione della specie <b>Bifidobacterium</b> e LPS intestinale più elevato, un aumento di citochine proinfiammatorie, intolleranza al glucosio e ridotta secrezione di insulina. (58)</p>
<b>Sostanze chimiche dannose per il sistema endocrino (EDCs)</b>	L'esposizione agli EDCs può favorire o inibire la crescita di specifiche specie del microbiota intestinale, come dimostrato in modelli animali per l'arsenico e altri EDCs. (74)	I pochi studi disponibili suggeriscono che l'esposizione agli EDCs può alterare la composizione del microbiota intestinale e aumentare il rischio di DMT1, tuttavia con meccanismi ancora da chiarire. (74)

Inoltre, l'abbondanza di Clostridi diminuiva nelle feci dei casi e aumentava in quelle dei controlli, essendo responsabile della maggior parte delle discrepanze casi-controlli relative ai Firmicutes. Prima della comparsa degli autoanticorpi, si osservava già l'instabilità del microbiota e l'elevato rapporto tra Bacteroidetes e Firmicutes, rispetto ai controlli, entrambe queste caratteristiche possono essere marcatori diagnostici precoci, rilevabili prima della comparsa di autoanticorpi nel siero (18). Sebbene il numero di soggetti fosse limitato, tuttavia questa interessante osservazione può essere utile, in futuro, per organizzare studi epidemiologici e pianificare interventi di prevenzione attraverso lo studio della modifica del microbiota intestinale prima dell'esordio del diabete. Infatti, tale studio ha confermato che il microbiota nel diabete di tipo 1 ha delle caratteristiche peculiari ed appare essere meno stabile rispetto a quello di bambini sani.

Diversi lavori hanno riportato la riduzione di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nei bambini con diabete all'esordio della malattia, rispetto ai controlli sani, mentre *Bacteroides* *dorei* e *vulgatus* sono più rappresentati in bambini ad alto rischio di DM1 e con positività agli autoanticorpi (19-20). Ma la peculiarità del microbiota che si ritrova in pazienti che sviluppano il diabete di tipo 1, non si limita alle specie di batteri presenti, ma anche alle caratteristiche del genoma di tali microrganismi. Lo stesso studio, infatti, nota che il genoma di *B. dorei* dei controlli non presenta metilazione del DNA e manca di geni adenimetiltransferasi, mentre il genoma di *B. dorei* dei casi contiene più di 20.000 siti metilati. Per questo motivo, potrebbe essere utile esaminare la metilazione del DNA nel microbioma intestinale, in quanto sembra influire sull'espressione genica e sulla funzione metabolica (21, 19). Dal confronto del microbiota di individui con DM1 e individui con diabete giovanile a patogenesi non autoimmune monogenica (*MODY2*) (22) si rilevano profonde differenze nella composizione microbica, dando valore al ruolo della disbiosi intestinale come causa, o concausa di malattia, piuttosto che come conseguenza dell'iperglicemia, a cui sarebbe logico pensare se la composizione fosse simile in queste due patologie (22).

### **Virus e viroma intestinale nel DM1**

Oltre alla flora batterica, nell'intestino umano troviamo anche funghi e virus. Queste componenti minori sono meno conosciute, soprattutto nell'ambito della patogenesi

si delle malattie umane. Lo studio dei virus e del viroma umano si avvale oggi di tecniche moderne, quale la Next Generation Sequencing (NGS) che consente l'analisi dell'intero viroma nei bambini con aumentato rischio genetico per DM1 (23). Tutte le informazioni che si stanno raccogliendo sul ruolo dei virus nella patogenesi del diabete, però, andrebbero meglio inquadrare nel vasto teatro di interazione con il microbiota intestinale (Tab. 2).

In uno studio longitudinale, su una coorte di bambini a rischio di diabete, l'analisi dei viromi intestinali tra bambini che sviluppano autoimmunità e quelli che non la sviluppano, ha mostrato, nel tempo, minore biodiversità e ricchezza di alcuni virus nei casi, tra cui minore prevalenza di *Circoviridae*. Quest'ultimo si ipotizza che, essendo più abbondante nei controlli, abbia un effetto protettivo sull'ospite. Alcuni dei batteriofagi (virus che infettano batteri) del viroma correlati alla malattia sembrano associati ai profagi dei *Bacteroides*. Si è quindi ipotizzato che i cambiamenti nei batteriofagi, prima della sierconversione, potrebbero contribuire ai cambiamenti osservati nel viroma. A sua volta i cambiamenti del microbiota batterico che compaiono più tardi, nel corso dello sviluppo della malattia autoimmune, potrebbero essere secondari alle più precoci variazioni nei batteriofagi (24). Kimp et al. avanzano la proposta che i batteriofagi infettanti le specie di *Bacteroides* potrebbero, almeno teoricamente, essere usati per ridurre l'abbondanza di *Bacteroides* osservata in individui con autoimmunità (19). Inoltre, non trascuriamo i risultati di un recente studio che descrive l'effetto, questa volta protettivo, dell'infezione da *Norovirus* (*Caliciviridae*) nei topi *NOD*, nel ridurre l'incidenza del DM1, inducendo modifiche del microbiota e una risposta immunitaria protettiva. L'eventuale azione protettiva di infezioni enteriche nell'uomo, e in particolare del *Norovirus*, è ancora da valutare (25).

### **METABOLOMICA**

La metabolomica, una nuova scienza descritta per la prima volta da Guah-Ferrè et al., comprende l'analisi sistematica dei metaboliti di un campione biologico (26). È recente l'osservazione che la perturbazione del metabolismo, come conseguenza della disbiosi intestinale, sembra compromettere la funzione immunitaria (27). Infatti, da uno studio sulle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) isolate dalla coorte di neonati dello stu-

**Tabella 2** ◆ **Ruolo dei virus nel diabete di tipo 1**

VIRUS E DIABETE DI TIPO 1	REF.
Vari studi hanno rilevato anticorpi contro Cocksackievirus B4 nei pazienti con diabete  Questi virus sembrano potenzialmente in grado di causare infiammazione delle isole pancreatiche e morte delle cellule beta	(23)
In una meta-analisi di 26 studi, si riscontra un'associazione significativa tra infezione da Enterovirus, autoimmunità e diabete mellito di tipo 1  Gli studi, fino ad ora, non hanno determinato se le associazioni tra infezioni precoci e diabete di tipo 1 siano il risultato di una suscettibilità alle infezioni virali causata da una risposta immunitaria disregolata, ma è bene sottolineare che i geni deputati alla risposta antivirale sono collegati alla suscettibilità al diabete di tipo 1	(71)
La persistenza prolungata del sierotipo di Enterovirus B (EV-B) nei bambini sembra fortemente associato allo sviluppo di autoimmunità  L'infezione da Metadenovirus C (HAdV-C) in infanzia sembra essere associata a ridotto rischio di autoimmunità e DT1	(73)
I virus potrebbero causare la morte delle cellule beta attraverso una disregolazione, virus-indotta, dell'eccezionale carico biosintetico delle cellule beta, causando stress del reticolo endoplasmatico e generazione di neoantigeni	(72)

dio DIPP (Diabetes Prediction and Prevention), i livelli di aminoacidi a catena ramificata rilevati, sono più elevati nei pazienti con diabete rispetto ai controlli; del resto, questi aminoacidi favoriscono l'alterazione della lipogenesi e l'attività proinfiammatoria delle PBMC (27). Lo studio dell'espressione genica nel microbiota intestinale di Kostic et al., prima dell'esordio clinico di diabete, ha dimostrato uno "shift" dalla sintesi al trasporto passivo di nutrienti, caratteristico degli organismi auxotrofici che prosperano in ambienti infiammatori (14). In linea con questo ambiente, Wekamp et al. hanno trovato livelli più alti di  $\beta$ -difensina 2 nei campioni di bambini con DMT1, un prodotto antimicrobico delle cellule epiteliali del colon, liberato durante l'infiammazione (28). I metaboliti modulati e/o prodotti dal microbiota intestinale, in particolare gli acidi grassi a catena corta (SCFAs) hanno un ruolo significativo nell'omeostasi generale e riducono l'infiammazione intestinale (29). È stato osservato un aumento significativo degli SCFAs nei neonati allattati al seno, correlabili ai maggiori livelli Bifidobacterium sp. presenti nel latte materno. Tra gli SCFAs, il butirrato, migliora l'omeostasi del glucosio, è un substrato energetico per l'epitelio del colon, ostacola l'infiammazione intestinale e la carcinogenesi, modula la risposta immunitaria inducendo la differenziazione delle cellule T regolatorie (Tregs), e inibendo le citochine infiammatorie, come

IFN- $\gamma$  (29-30). Sulla base delle esperienze precedenti, sono stati eseguiti anche esperimenti di supplementazione orale di SCFAs nei topi NOD (Non Obesi Diabetici) nei quali si è dimostrata la riduzione dell'incidenza di DMT1 (30). Risultati simili sono stati ottenuti con una dieta ricca di acetato e butirrato, mostrando una modulazione della popolazione di cellule T autoreattive (31). Un'ulteriore prova di tale osservazione, deriva dalle osservazioni fatte negli studi longitudinali TRIGR e FINDIA, nei quali le specie produttrici di SCFAs tra cui Bifidobacterium adolescentis, Roseburia faecis e Faecalibacterium prausnitzii sono risultate correlate negativamente con il titolo anticorpale (30). Infine nello studio The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) si è osservata maggiore espressione di geni microbici associati alla fermentazione e alla biosintesi di SCFAs nei controlli rispetto ai diabetici (32). Se consideriamo altri metaboliti, dagli studi di Arneith et al., gli aminoacidi aromatici e quelli a catena ramificata sono più elevati nel profilo metabolico del DMT1. Il principale produttore di questi aminoacidi è il microbiota intestinale, in particolare le Escherichia coli che metabolizzano l'acido piruvico, la produzione del quale è aumentata al crescere dei livelli di glucosio disponibile. Quindi, più alti sono i livelli di glucosio nel sangue maggiore è la produzione di aminoacidi a catena ramificata (33).

**Tabella 3** ◆ **Metaboliti e alterazioni del metabolismo correlati al microbiota intestinale in corso di diabete**

<b>INTERFERENZE DEL MICROBIOTA CON IL METABOLISMO IN CORSO DI DIABETE</b>	
<b>Bifidobacterium e Lactobacillus</b> ridotti determinano ridotti livelli di SCFAs, con conseguente aumento della permeabilità intestinale e traslocazione batterica	(30)
<b>Escherichia Coli</b> metabolizzano Ac Piruvico dal glucosio in caso di iperglicemia con aumentata produzione di aminoacidi aromatici a catena ramificata	(33)
<b>Bautia</b> aumentano i trigliceridi a catena lunga e aminoacidi a catena ramificata <b>Ruminococcus</b> aumentano i trigliceridi a catena corta e aminoacidi a catena ramificata	(14)
L'aumento di <b>Ruminococcus</b> e la riduzione di <b>Veillonella</b> sono associati a aumento di sfingomielina e riduzione di acido litocolico	(14)

Per quanto riguarda i lipidi, Vergès et al. hanno evidenziato una correlazione tra *Blautia* e trigliceridi (TG) a catena lunga e *Ruminococcus* e TG a catena corta (34). Mentre un gruppo di studio ha identificato cambiamenti negli acidi biliari, solfato di p-cresolo e acido furoico nei bambini con diabete. Tali cambiamenti sono riconducibili ad uno squilibrio del microbiota, di cui potrebbero essere considerati markers di alterazione (35). Lo studio di Galderisi et al. dimostra che, anche se i livelli di HbA<sub>1c</sub> si mantengono entro il target raccomandato, il rischio di mortalità per malattie cardiovascolari rimane almeno due volte superiore rispetto alla popolazione generale. Nello squilibrio metabolico di questa malattia, alcune vie coinvolte rimangono alterate nonostante il buon controllo glicemico e sarebbe utile individuarle dall'esordio (36-37). È interessante notare che il livello degli aminoacidi a catena ramificata e degli SCFAs, correlato al microbioma, è anche associato all'obesità e al diabete di tipo 2, e il microbioma potrebbe essere un importante mediatore dei meccanismi immunitari nel diabete autoimmune latente dell'adulto (38-40).

Alla luce di queste acquisizioni, per comprendere la complessa patogenesi del DMT<sub>1</sub>, conoscere il microbiota e la dinamicità dei suoi cambiamenti relati alle patologie umane non può prescindere dallo studio, in continuo ampliamento, delle vie metaboliche e dei metaboliti ad esso associati (Tab. 3) (8).

### **RUOLO DEL MICROBIOTA NELLA PATOGENESI DEL DMT<sub>1</sub>**

Il meccanismo che porta allo sviluppo della patologia autoimmune è complesso e multifattoriale, e in questo percorso il ruolo del microbiota intestinale sembra determinante. Dei cambiamenti tassonomici del microbioma intestinale nel DMT<sub>1</sub> riportati nei paragrafi precedenti, sono stati valutati i possibili effetti correlabili al DMT<sub>1</sub> (Tab. 4 e Tab. 5) (8). Per comprendere la complessità della patogenesi è necessario capire il collegamento tra disbiosi intestinale, alterata permeabilità della barriera intestinale, e risposta immunitaria. Questa interazione sembra avere un ruolo cruciale nell'insorgenza di diverse malattie autoimmuni, tra cui il DMT<sub>1</sub> (18).

#### **Microbiota e intestino**

La parete intestinale evita il contatto tra contenuto luminale (microbiota incluso) e il resto dell'organismo, se sono preservate l'integrità dell'epitelio (delle giunzioni aderenti tra le cellule) e del muco. L'avvio del processo autoimmune nei modelli preclinici di malattia è associato ad alterazioni della struttura del muco e alla perdita di integrità della barriera intestinale documentati in studi sull'uomo oltre che su modelli animali (41). Si è visto che l'interruzione della barriera intestinale indotta dall'infezione da *C. rodentium* accelera l'insulite nei topi NOD, ma se vengono infettati da un ceppo incapace di alterare l'integrità intestinale, l'infiammazione non viene influenzata (42). Vari studi hanno rilevato livelli maggio-

**Tabella 4** ◆ Cambiamenti del microbiota all'esordio del diabete mellito autoimmune rispetto a controlli sani

STUDI DI PREVALENZA DI UNA FLORA BATTERICA INTESTINALE ALL'ESORDIO DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 1			
DMT1 ALL'ESORDIO	CONTROLLI		REFERENZA
<b>Bacteroides</b> Il polisaccaride A di <b>Bacteroides Fragilis</b> induce la produzione di IL-10 e sopprime le risposte delle cellule Th17	Prevotella		(12) (32)
<b>Riduzione dei Lactobacillus e Bifidobacterium</b>	Aumento dei <b>Lactobacillus e Bifidobacterium</b> <b>I Bifidobacterium</b> producono acidi grassi a catena corta nei neonati allattati al seno. Tra tali acidi, il butirato migliora l'omeostasi del glucosio e modula la risposta immunitaria inducendo la differenziazione delle cellule T Regolatorie (T-Regs) e inibendo le citochine infiammatorie, come interferone- $\gamma$		(19) (32) (33)
Aumento di <b>Blautia</b> correlato con livelli di IA2 e HbA1c			(16)
	Maggiore espressione di geni microbici associati alla fermentazione e alla biosintesi acidi grassi a catena corta nei controlli rispetto ai pazienti con diabete	Studio TEDDY	(34)
<b>Dialister Invisus, Gemella Sanguinis e Bifidobacterium Longum</b> aumentano la permeabilità intestinale primum movens per la comparsa di diabete			(52)

ri di zonulina nei pazienti con DMT1, da correlare con una maggiore permeabilità intestinale, in particolare nei pazienti con diabete di tipo 1 (43-46). Watts e colleghi usano un antagonista della zonulina nel loro studio, ottenendo un miglioramento dell'integrità intestinale nei ratti BB-DP accompagnato dalla riduzione del rischio di DMT1 (47). È stato dimostrato che la mucosa duodenale nel DMT1 presenta anomalie specifiche del microbiota e del profilo immuno-infiammatorio (48). Gli studi riportati nella metanalisi di Zheng et al. hanno dimostrato che quando la barriera intestinale è compromessa, le cellule T linfonodali drenanti il pancreas, in particolare le cellule T CD8 +, si attivano e proliferano, promuovendo l'insulite. I pazienti con DMT1 hanno un'aumentata infiammazione intestinale e i taxa microbici capaci di preservare la barriera mucosa, l'adesione cellulare e i

microvilli, garantire la funzione del pancreas esocrino, sono ridotti prima dell'inizio del diabete (49). Maffei e colleghi, in uno studio caso-controllo identificano 3 batteri, *Dialister invisus*, *Gemella sanguinis* e *Bifidobacterium longum*, fortemente associati ad alterata permeabilità intestinale nel DMT1 (50). È stato provato che la perdita dell'integrità della barriera intestinale nei topi BDC2.5XNOD può portare all'attivazione di gruppi di cellule T autoreattive all'interno della mucosa (18, 51). In quei topi, la colonizzazione intestinale con *Akkermansia muciniphila* contrasta il diabete autoimmune aumentando la secrezione di peptidi antibatterici e la produzione del muco. Quest'ultimo influenza il tipo di batteri commensali che risiedono nel suo strato interno, selezionando il passaggio di prodotti batterici attraverso la parete intestinale nella circolazione sistemica, e la sua in-

Tabella 5 ♦ Cambiamenti del microbiota intestinale nel pre-diabete mellito di tipo 1 autoimmune

STUDI DI PREVALENZA DI UNA FLORA BATTERICA INTESTINALE NEL PRE-DIABETE MELLITO DI TIPO 1			
PRE DMT1	CONTROLLI		REFERENZA
Aumento di <b>Blautia Rikenellaceae</b> <b>Ruminococcus e Streptococcus</b>			(14)
Riduzione di <b>Lachnospiraceae e Veillonellaceae</b>			
Aumento di <b>Phyla Bacteroidetes</b>	Aumento di <b>Firmicudes</b> <b>Clostridium</b>	Studio DIPP Finlandia	(17) (32)
Riduzione di <b>Clostridi</b>	Alcuni tipi di <b>Clostridium</b> stimolano le cellule T-Reg anti-infiammatorie		
Aumentato rapporto <b>Bacteroidetes/Firmicudes</b>	Aumentato rapporto <b>Firmicudes/Bacteroidetes</b>		(18)
Correlazione con la comparsa di autoanticorpi del diabete			
Presenza di <b>Bacterioides Dorei e Vulgatus</b> in bambini ad alto rischio per diabete con positività degli dei markers autoimmuni			(20)
	<b>Firmicutes, Lactobacilli e Bifidobacteria</b> , ridotti nei pazienti con diabete mellito di tipo 1, sono protettivi in quanto stimolano il ramo regolatorio del sistema immunitario, aumentando le cellule T-Reg		(59)
Da uno studio del 2016 risulta che l'endotossina dei <b>Bacteroides</b> ha proprietà immuno-inibitorie, e potrebbe precludere l'adeguato sviluppo del sistema immunitario			(61)
<b>Bacterioides e Proteobacteria phyla</b> sono i principali stimolatori delle cellule MAIT della mucosa intestinale soprattutto nei primi anni di vita inducendo predisposizione alle patologie autoimmunitarie			(64)
	L'LPS di <b>E. Coli</b> è immunostimolante e induce tolleranza immunitaria alle successive esposizioni a microbi stimolatori, proteggendo dall'autoimmunità		(21)
<b>Bacterioides Dorei</b> con elevata metilazione del DNA (più di 10.000 siti metilati)	<b>Bacterioides Dorei</b> con DNA non metilato e mancanza di geni adenin-metiltransferasi		(19) (21)
	<b>Bifidobacterium Adolescentis, Roseburia Faecis e Faecalibacterium Prausnitzii</b> correlate negativamente con il titolo anticorpale	Studi TRIGR e FINDIA	(33)

tegrità è fondamentale per consentire l'hosting di batteri commensali benefici come i bifidobacterium produttori di SCFAs (risultati ridotti nei bambini con autoimmunità e DMT1 in vari studi) che promuovono la tolleranza immunitaria nell'intestino e regolano la permeabilità della mucosa, impedendo la traslocazione di batteri (30, 52). Al contrario, la prevalenza di alcuni gruppi di Bacteroides, associata a svezzamento precoce, determina riduzione della produzione di butirrato, alterazione nella composizione in batteri che degradano la mucina, aumentando il rischio di autoimmunità (52). Inoltre, il muco contiene mucine e peptidi antimicrobici (PAM), rilasciati dalle cellule intestinali, come  $\alpha$ -difensine e catelicidine, la cui espressione risulta alterata in pazienti con DMT1. Infatti, le catelicidine sono ridotte nel siero dei pazienti con diabete, e nei topi NOD si ha un'espressione ridotta del peptide antimicrobico pancreatico correlato alla catelicidina (PAMRC) (51). Molto interessante è sicuramente la evidenza che la produzione di catelicidina viene indotta dalla vitamina D. Essendo i pazienti con diabete di tipo 1, soprattutto all'esordio, spessissimo carenti di vitamina D, è suggestivo chiedersi se la carenza di catelicidina sia dovuta, in primis, alla carenza di tale vitamina oppure sia legata al dismicrobismo. Poiché, infine, i livelli di tale proteina a loro volta influenzano la crescita batterica intestinale, è difficile ipotizzare quale possa essere il "primum movens" di tale meccanismo patogenetico (53). Anche lo stress ossidativo può alterare la mucosa intestinale e contribuire allo sviluppo della malattia. Valadares et al. hanno scoperto che la somministrazione di *L. johnsonii* N6.2 mantiene la funzione della barriera intestinale influenzando i geni della giunzione stretta, modifica la composizione microbica intestinale, riduce i livelli di marcatori di stress ossidativo e aumenta l'espressione di Cox-2, ritardando l'insorgenza di DMT1 nei ratti BB-DP (predisposti al diabete) (54). Quindi è possibile, almeno nei modelli animali, modulare la flora batterica per prevenire il DMT1 (Tab. 6).

### Microbiota e sistema immunitario

Il microbiota ha un ruolo cruciale nella maturazione ed istruzione del sistema immunitario nell'organismo umano. Si è osservato che i batteri filamentosi segmentati (SFB) proteggono i topi NOD femmina e non i maschi dallo sviluppo del diabete inducendo una risposta immunitaria protettiva, come se il microbiota possa influenzare la

penetranza delle malattie autoimmuni in soggetti predisposti (55). Dedrick et al. identificano batteri protettivi, come i lattobacilli, i bifidobatteri e alcune specie di *Clostridium*, che stimolano le cellule Treg anti-infiammatorie; lo stesso gruppo evidenzia che il polisaccaride A di *Bacteroides fragilis* induce la produzione di IL-10 e sopprime le risposte delle cellule Th17 (29). Studi sia su animali che su esseri umani mostrano una connessione, mediata dal microbiota, tra cellule Th17 e l'alterazione Treg/Teff tipica del diabete. Nei topi NOD, in cui si sono rilevati alti livelli di IL-17 nelle isole pancreatiche, l'inibizione delle cellule Th17 ha ridotto l'incidenza del diabete. Gli studi hanno evidenziato che il microbiota regola il rapporto Th17/Treg e può influenzare la risposta immunitaria intestinale e sistemica coinvolta nel diabete (56). Al contrario, Firmicutes, Lactobacilli e Bifidobacteria, ridotti nei pazienti con DMT1, sono protettivi in quanto stimolano il ramo regolatorio del sistema immunitario, aumentando le cellule Treg (57). Per quanto riguarda l'endotossina, o lipopolisaccaride (LPS), è un componente della membrana dei batteri Gram-negativi, ed è stato riscontrato elevato nei casi di uno studio caso-controllo ed in grado di aumentare il livello di citochine pro-infiammatorie e compromettere la funzione delle cellule beta del pancreas (58). Da uno studio del 2016 risulta che l'endotossina dei *Bacteroides* ha proprietà immunoinibitorie, e potrebbe precludere l'adeguato sviluppo del sistema immunitario (59). L'LPS di *E. coli*, al contrario, è immunostimolante e induce tolleranza immunitaria alle successive esposizioni a microbi stimolatori, proteggendo dall'autoimmunità (21). Poiché i linfociti isolati dai linfonodi mesenterici (MLN) di topi NOD prediabete sono in grado di indurre la malattia se trasferiti in topi riceventi, l'intestino potrebbe essere il sito di attivazione e espansione delle cellule T autoreattive (51). Esiste, dunque, un asse immunologico tra intestino e pancreas, sostenuto dalla loro comune origine endodermica, nel quale le cellule T viaggiano dalla mucosa intestinale ai tessuti pancreatici attraverso la circolazione sistemica. La maggior parte delle cellule T autoreattive presenti nei linfonodi pancreatici e i linfociti intraislet (IIL) dei topi BDC2.5, esprimono il marker di homing intestinale  $\alpha 4\beta 7$ , a prova della loro origine enterica (51). Per valutare il contributo di TLR4 allo sviluppo di DMT1, Elke et al. hanno generato un ceppo di topi NOD che manca dell'espressione di TLR4, nel quale è aumentata l'infiltrazione di cellule immunitarie nelle isole

**Tabella 6** ♦ **La modulazione del microbiota in studi su animali nella prevenzione del diabete mellito autoimmune**

<b>STUDI DI MODULAZIONE DELLA FLORA BATTERICA IN ANIMALI PER PREVENIRE IL DIABETE MELLITO AUTOIMMUNE</b>	
La colonizzazione intestinale con <b>Akkermansia Muciniphila</b> contrasta il diabete autoimmune in modelli murini aumentando la secrezione di peptidi antibatterici e la produzione del muco. Quest'ultimo influenza il tipo di batteri commensali che risiedono nel suo strato interno, selezionando il passaggio di prodotti batterici attraverso la parete intestinale nella circolazione sistemica, e la sua integrità è fondamentale per consentire l'hosting di batteri commensali benefici come i Bifidobacterium produttori di acidi grassi a catena corta (risultati ridotti nei bambini con autoimmunità e DMT1 in vari studi) che promuovono la tolleranza immunitaria nell'intestino regolando la permeabilità della mucosa e impedendo la traslocazione di batteri	(55)
La somministrazione di <b>L. Johnsonii N6.2</b> mantiene la funzione della barriera intestinale influenzando i geni che modulano la formazione delle tight junctions intestinali, modificando la composizione microbica intestinale, riducendo i livelli di marcatori di stress ossidativo, aumentando l'espressione di Cox-2, e ritardando l'insorgenza di diabete mellito autoimmune nei ratti BB-DP (predisposti al diabete)	(56)
Si è osservato che i <b>Batteri Filamentosi Segmentati (SFB)</b> proteggono i topi NOD femmina e non i maschi dallo sviluppo del diabete inducendo una risposta immunitaria protettiva	(57)

pancreatiche, accelerando la malattia (51). Un'adeguata microflora intestinale, quindi, induce un aumento di cellule T regolatorie di tipo 1 (Tr1) nell'intestino, che possono migrare verso la periferia, inibendo l'attivazione delle cellule T effettrici e diminuendo l'incidenza del diabete (8). È stato scoperto che la condizione "specific pathogen free" (SPF) previene la disbiosi e il DMT1 nei topi knockout per il gene della risposta primaria di differenziazione mieloide (myd88), importante nel sistema immunitario innato. Tuttavia, la crescita in ambiente "germ free" (GF) ha eliminato l'effetto protettivo, suggerendo la funzione determinante del microbioma intestinale nel mediare questo effetto (21, 60). È stato scoperto che i segnali TLR4 e TLR2 microbiota-dipendenti determinano rispettivamente protezione e maggiore suscettibilità al diabete, non è ancora chiaro se l'effetto sia diretto o dovuto a una modulazione del microbiota (21). Mullaney et al. hanno individuato degli alleli (Idd3/5) protettivi nei topi NOD, associati a maggiore produzione di IL-2 (61). L'alterazione della via della IL-2 influenza l'infiammazione intestinale, e la terapia con IL-2 aumenta le cellule Treg che modulano il microbiota, e porta a maggiore produzione di muco dalle cellule calciformi. Quindi l'immunoterapia con IL-2, mediante il potenziamento delle cellule Treg nei pazienti con DMT1, potrebbe influire positivamente sul microbiota e sulla malattia (61).

#### **Microbiota e MAITs**

Han et al. hanno valutato il ruolo delle cellule-T associate alla mucosa (MAIT): linfociti innati con un effetto

protettivo nelle infezioni batteriche, sebbene il loro ruolo debba ancora essere chiarito (58). È stata ipotizzata un'interazione tra MAIT, microbiota e conseguente sviluppo del DMT1. Studiando topi germ free "contaminati" in seguito con diverse specie batteriche, hanno dedotto che è necessario l'intervento della flora commensale per l'espansione delle cellule MAIT alla periferia, le quali sarebbero coinvolte nell'interazione con il microbiota nelle malattie infiammatorie croniche (62). Fino ad oggi, è noto che solo specie batteriche selezionate, per lo più patogene, stimolano le cellule MAIT. Tastan et al. hanno sviluppato un test in vitro con cellule T umane CD8 + ingegnerizzate che esprimono il recettore MAIT-TCR per identificare i metaboliti batterici che stimolano queste cellule (62). Risulta che le specie dei Bacteroidetes e dei Proteobacteria phyla sono i principali stimolatori, mentre non hanno, in nessun modo, capacità di stimolazione le specie che mancano della via della riboflavina, rivelandosi il principale strumento batterico di interazione con questi linfociti (62). Magalhaes et al. mostrano che i batteri commensali hanno un impatto sull'omeostasi delle cellule T natural killer (iNKT) intestinali e sulle cellule MAIT (63). La disbiosi e l'integrità intestinale alterata potrebbero portare alla presenza di ligandi dei TLR nel sangue e nei tessuti periferici, inducendo l'attivazione delle cellule iNKT e MAIT. Tuttavia sembra che specifici ligandi, derivati da alcuni microbi intestinali, potrebbero alternarne la funzione, aumentando la produzione di IL-17 e l'attività infiammatoria (63). Costantinides et al. hanno dimostrato che la colonizzazione microbica

nei primi anni di vita è fondamentale nello sviluppo del sistema immunitario (64). Affermano, infatti, che per lo sviluppo stabile nei tessuti delle cellule MAIT, esiste una finestra temporale, ristretta alla prima infanzia, in cui deve avvenire l'esposizione a specifiche comunità microbiche, mentre l'esposizione più avanti non può compensare la mancata colonizzazione neonatale. In questo modo, il sistema immunitario interagisce con il microbiota, attraverso il riconoscimento di antigeni microbici da parte di cellule T, tra cui le cellule MAIT, in un dialogo che può svolgere un ruolo determinante nella fisiologia e patologia dell'ospite (64).

### Microbiota e IgA

In un recente studio, l'alterato profilo del microbiota intestinale del diabete autoimmune insieme ad una minore produzione di SCFAs, sono messi in relazione all'alterata immunità mediata da IgA, rispetto ai controlli sani (65). Le IgA sono una componente importante nell'omeostasi della barriera intestinale e del muco. La colonizzazione di topi NOD GF con microbiota di pazienti diabetici, ha mostrato una diversa composizione rispetto a quella ottenuta mediante colonizzazione dai controlli, e ha favorito la permeabilità intestinale. Lo stesso studio riporta livelli di SCFAs nelle feci dei diabetici significativamente minori rispetto ai controlli, associati a aumentati livelli di IgA leganti batteri intestinali, suggerendo che gli SCFAs derivanti dal microbiota modulano l'attività delle IgA di legare specifici batteri commensali nel DMT1. Nello studio hanno rilevato che il trattamento con acetato (tra gli SCFA) sia dei topi NOD GF che SPF, inibisce la produzione di B cellule secernenti IgA nel midollo osseo, oltre che nei MLN. Pare che l'acetato moduli la risposta immunitaria IgA mediata verso i commensali, riducendo l'espressione del recettore polimerico per Ig (P<sub>ig</sub>R), che induce soppressione dell'immunità IgA mediata, e migliora l'insulite nei topi NOD, riducendo l'infiltrazione di cellule T CD4+ nelle isole pancreatiche e aumentando le cellule Treg nelle placche di Peyer. Il contributo di questa risposta immunitaria nell'uomo, associata con il microbiota intestinale, nel determinare lo sviluppo di DMT1, dovrebbe essere valutato in ulteriori studi (65).

### Modello patogenetico

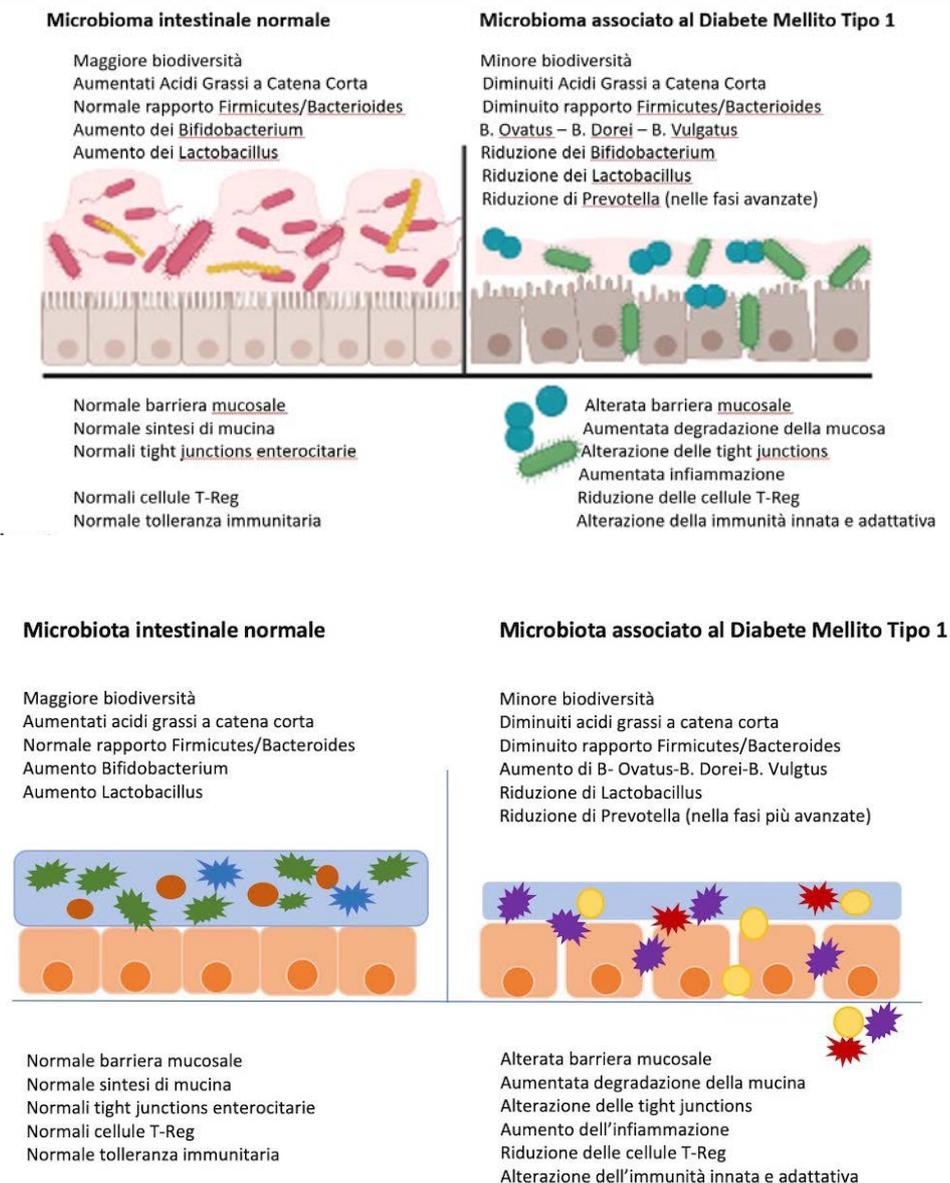
Vari studi indicano che la rottura dell'integrità della barriera intestinale, con conseguente aumento del traffico di antigeni e infiammazione intestinale, precede l'insorgenza di DMT1 ed è direttamente correlata alla sua patogenesi anziché secondaria ad alterazioni metaboliche indotte dal diabete, come l'iperglicemia (51). La disbiosi indurrebbe alterazioni dell'omeostasi immunitaria intestinale con un aumento del rapporto T<sub>eff</sub> / T<sub>reg</sub> e un'infiammazione cronica, come osservato nei topi NOD prediabetici (51). Stabilire una relazione causale tra alterazioni del microbiota e autoimmunità è ostacolato dalla complessità dell'interazione sistema immunitario-microbiota. Nel contesto di questa intima relazione, uno squilibrio del microbiota può portare ad autoimmunità in un ospite geneticamente sensibile, incapace di prevenire lo sviluppo di cellule autoreattive (21). L'alterazione della barriera intestinale descritta, potrebbe portare a un passaggio incontrollato nella circolazione sistemica di antigeni microbici e non che mediano direttamente il danno delle cellule beta e/o attivano la risposta autoimmune all'interno dei linfonodi pancreatici (PLN) e del pancreas (51). In alternativa, le cellule T autoreattive potrebbero essere attivate da prodotti batterici a livello intestinale mediante mimetismo molecolare e successivamente viaggiare verso linfonodi e isole pancreatiche per mediare il danno delle cellule beta (51, 8).

Nella figura 1 abbiamo riassunto il ruolo del Microbiota intestinale nel diabete di tipo 1: la riduzione della diversità microbica, e di batteri che producono acidi grassi a catena corta risulta in un'alterazione della permeabilità intestinale e della composizione del muco. Di conseguenza, si sviluppa una infiammazione intestinale di basso grado. L'alterata permeabilità intestinale permette l'anomalo passaggio di antigeni microbici e non attraverso la barriera intestinale nella circolazione sistemica, e questo risulta in un'attivazione del sistema immunitario innato e adattivo che conduce alla patologia autoimmune nei soggetti predisposti.

### PROSPETTIVE FUTURE

Considerando il modello patogenetico proposto, sono in fase di studio strategie applicabili nel trattamento della disbiosi associata al diabete mellito di tipo 1, autoimmune (19).

Figura 1 ◆



In un'ottica di prevenzione, sarebbe utile partire dal microbiota materno, dal quale deriva quello dei loro figli. Ad esempio, uno studio ha valutato il consumo materno di carni rosse in relazione ai cambiamenti microbici intestinali, identificando nei loro figli un aumento del rischio di autoimmunità e DMT1 (66). Dominguez-Bello et al. hanno valutato la possibilità di modulare il microbiota intestinale di bambini nati con parto cesareo, esponendoli a un inoculo naturale, ottenuto dal tratto vaginale di donne sane con dominanza di *Lactobacillus*.

Questi bambini ottengono, in tal modo, una composizione intermedia tra i nati per via vaginale e quelli nati con parto cesareo, ma risulta da definire l'effettiva riduzione del rischio di autoimmunità nei bambini suscettibili (67). Un valido strumento è l'uso di probiotici che, nello studio TEDDY, sono stati somministrati nelle prime 4 settimane di vita portando a una riduzione del rischio di autoimmunità del 60% nei soggetti geneticamente predisposti, anche se le modifiche indotte hanno avuto breve durata (68). Tra i probiotici, *Lactobacillus rhamnosus*

GG promuove la maturazione della barriera intestinale mediante induzione dell'espressione di claudina-3 (69), e allo stesso modo agirebbe il probiotico *Lactobacillus plantarum* (70). Interessanti anche i risultati ottenuti sui topi NOD, trattati con gavage orale di campioni fecali ottenuti da topi sani, che mostrano una riduzione del rischio di malattia (8).

Essendo il diabete una malattia immuno-mediata, in alcuni studi, sono stati valutati immunomodulatori, che hanno mostrato solo lievi effetti sul microbiota intestinale, non ancora definiti con precisione, tra questi l'anticorpo monoclonale (mAb) chimerico anti-CD20 (rituximumab che agisce sulle cellule B), i mAb anti-CD3 umanizzati (teplizumab e oteplizumab), e altri ancora (8). Nei topi NOD, l'alterazione del microbioma intestinale indotta dal mAb anti-CD3 si associa a aumento delle cellule Tr1 intestinali che producono IL10, riducendo il rischio di DMT1. È interessante notare, però, che le cellule T devono migrare nell'intestino per esercitare la funzione protettiva (8). Promettente è il trapianto di microbiota fecale (FMT), applicato con risultati incoraggianti come terapia sperimentale in diverse patologie, oltre che nella diarrea da *Clostridium difficile*. Il FMT modifica radicalmente il microbiota nel ricevente, ma la tecnica è ancora da definire ed è necessario studiare la modalità di esecuzione più idonea a garantirne l'efficacia e limitare gli effetti collaterali (19). Considerando il "leaky gut" associato alla disbiosi intestinale, si potrebbero proporre, infine, farmaci che ripristinano la mucosa intestinale, come il tannato di gelatina. Quest'ultimo agisce ripristinando una permeabilità fisiologica intestinale, creando un film bioprotettivo e legami con la mucina, inducendo un effetto antinfiammatorio indiretto (66).

## CONCLUSIONI

È ormai noto che, prima dell'esordio clinico del diabete mellito autoimmune, si instaura una disbiosi intestinale che favorisce un'alterata permeabilità intestinale insieme ad un'attivazione del sistema immunitario, così che antigeni luminali possano essere traslocati in altri organi, come il pancreas e innescare, in individui suscettibili geneticamente, il processo di distruzione immuno-mediato delle cellule pancreatiche. La possibilità di modulare il microbiota intestinale sembra essere, quindi, un approccio promettente nella prevenzione e terapia del diabete di tipo 1, anche se è ragionevole ipotizzare che

sono necessari ulteriori studi perché tutto questo si possa tradurre nella pratica clinica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Xie Z, Chang C, Zhou Z. et al. Molecular mechanisms in autoimmune type 1 diabetes: a critical review. *Clin Rev Allergy Immunol* 47(2): 174-192, 2014. doi: 10.1007/s12016-014-8422-2.
2. Achenbach P, Bonifacio E, Ziegler A et al. Predicting type 1 diabetes. *Current Diabetes Reports* 5: 98-103, 2005. doi:10.1007/s11892-005-0035-y.
3. Tuomilehto J, Ogle GD, Lund-Blix NA, et al. Update on Worldwide Trends in Occurrence of Childhood Type 1 Diabetes in 2020. *Pediatr Endocrinol Rev* 17(1): 198-209, 2020. doi:10.17458/per.vol17.2020.tol.epidemiology-childtype1diabetes.
4. Mobasseri M, Shirmohammadi M, Amiri T, et al. Prevalence and incidence of type 1 diabetes in the world: a systematic review and meta-analysis. *Health Promotion Perspectives* 30; 10(2): 98-115, 2020. doi: 10.34172/hpp.2020.18.
5. Kyvik KO, Nystrom L Gorus F, Songini M, et al. The epidemiology of Type 1 diabetes mellitus is not the same in young adults as in children. *Diabetologia* 47(3): 377-384, 2004.
6. Songini M, Lombardo MC and C, et al. The Sardinian way to Type 1 Diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology* 4(5): 1248-1255, 2010. doi:10.1177/193229681000400526.
7. Nisticò L, Iafusco D, Galderisi A, et al. Emerging Effects of Early Environmental Factors over Genetic Background for Type 1 Diabetes Susceptibility: Evidence from a Nationwide Italian Twin Study. *J Clin Endocrinol Metab* 97(8): 1483-1491, 2012. doi: 10.1210/jc.2011-3457.
8. Zheng P, Zhixia Li, Zhiguang Zhou, et al. Gut microbiome in type 1 diabetes: A comprehensive review. *Diabetes Metabolism* 34(7): e3043, 2018. doi:10.1002/dmrr.3043.
9. Stewart CJ, Ajami NJ, O'Brien JL, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature* 562(7728): 583-588, 2018. doi:10.1038/s41586-018-0617-x.
10. Kempainen KM, Ardisson AN, Davis-Richardson AG, et al. Differences in gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes. *Pediatr Int* 56(3): 336-43, 2014. doi: 10.1111/ped.12243.

11. Heintz-Buschart A, May P, Laczny C, et al. Integrated multi-omics of the human gut microbiome in a case study of familial type 1 diabetes. *Nat Microbiol* 2(16180), 2017. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.180.
12. Mejía-Leon ME, Petrosino JF, Ajamin NJ, et al. Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Sci Rep* 4: 3814. 2014. doi: 10.1038/srep03814.
13. Sircana A, Paschetta E, Cassader M, Gambino R. Microbiota intestinale e rischio cardiovascolare. *il Diabete* 31: 161-171, 2019.
14. Kostic AD, Gevers D, Siljander H et al. The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression towards Type 1 Diabetes. *Cell Host Microbe* 17(2): 260-273, 2015. doi:10.1016/j.chom.2015.01.001.
15. Chow J, Mazmanian SK, et al. A Pathobiont of the Microbiota Balances Host Colonization and Intestinal Inflammation. *Cell Host & Microbe* 22; 7(4): 265-276, 2010. doi: 10.1016/j.chom.2010.03.004.
16. Qi CJ, Zhang Q, Yu M, et al. Imbalance of Fecal Microbiota at Newly Diagnosed Type 1 Diabetes in Chinese Children. *Chin Med J (Engl)* 129(11): 1298-304, 2016. doi: 10.4103/0366-6999.182841.
17. Kupila A, Muona P, Simell T et al. Feasibility of genetic and immunological prediction of Type I diabetes in a population-based birth cohort. *Diabetologia* 44: 290-297, 2001. doi:10.1007/s001250051616.
18. Giongo A, Gano KA, Crab DB, et al. Toward defining the microbioma autoimmune for type 1 Diabetes. *The ISME Journal* 5: 82-91, 2011. doi:10.1038/ismej.2010.92.
19. Honkanen J, Knip M. Modulation of Type 1 Diabetes Risk by the Intestinal Microbiome. *Curr Diab Rep* 23; 17(11): 105, 2017. doi:10.1007/s11892-017-0933-9.
20. Cinek O, Kramna L, Oikarinen S, et al. Imbalance of bacteriome profiles within the Finnish Diabetes Prediction and Prevention study: Parallel use of 16S profiling and virome sequencing in stool sample from children with islet autoimmunity and matched controls. *Pediatric Diabetes* 18(7): 588-598, 2017. doi: 10.1111/pedi.12468.
21. Paun A, Yau C, Danska JS. The Influence of the Microbiome on Type 1 Diabetes. *The Journal of Immunology* 198(2): 590-595, 2017.
22. Leiva-Gea I, Sánchez-Alcoholado L, Mart B, et al. Gut Microbiota Differs in Composition and Functionality Between Children With Type 1 Diabetes and MODY2 and Healthy Control Subjects: A Case-Control Study *Diabetes Care*. *Diabetes Care* 41(11): 2385-2395, 2018. doi: 10.2337/dc18-0253.
23. Kiselev D, Matsvay A, Abramov I, et al. Current Trends in Diagnostics of Viral Infections of Unknown Etiology. *Viruses* 12(2): 211, 2020. doi: 10.3390/v12020211.
24. Zhao G, Vatanen T, Droit L, et al. Intestinal virome changes precede autoimmunity in type I diabetes-susceptible children. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114(30): 6166-E6175, 2017. doi: 10.1073/pnas.1706359114.
25. Pearson JA, Tai N, Ekanayake-Alper DK, et al. Norovirus Changes Susceptibility to Type 1 Diabetes by Altering Intestinal Microbiota and Immune Cell Functions. *Frontiers in Immunology* 10: 2654, 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.0265.
26. Guash-Ferrè M, Hruba A, Toledo E, et al. Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care* 39(5): 833-846, 2016. doi: 10.2337/dc15-2251.
27. Sen P, Dickens AM, López-Bascón MA, et al. Metabolic alterations in immune cells associate with progression to type 1 diabetes. *Diabetologia* 63: 1017-1031, 2020. doi: 10.1007/s00125-020-05107-6.
28. Wehkamp J, Fellermann K, Herrlinger K. et al. Mechanisms of Disease: defensins in gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2(9): 406-415, 2005. doi: 10.1038/ncpgasthep0265.
29. Dedrick S, Sundaresh B, Huang Q, et al. The Role of Gut Microbiota and Environmental Factors in Type 1 Diabetes Pathogenesis. *Frontiers in Endocrinology* 11: 78, 2020. doi: 10.3389/fendo.2020.00078.
30. De Goffau MC, Luopajarvi K, Knip M, et al. Fecal Microbiota Composition Differs Between Children With b-Cell Autoimmunity and Those Without. *Diabetes* 62(4): 1238-1244, 2013. doi: 10.2337/db12-0526.
31. Marino E, Richards JL, McLeod KH et al. Gut microbial metabolites limit the frequency of autoimmune T cells and protect against type 1 diabetes. *Nat Immunol* 18(5): 552-562, 2017.
32. Vatanen T, Franzosa EA, Schwager R, et al. The human gut microbiome in early-onset type 1 diabetes from the TEDDY study. *Nature* 562(7728): 589-594, 2018. doi: 10.1038/s41586-018-0620-2.
33. Arneith B, Arneith R, Shams M, et al. Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences* 20(10): 2467, 2019. doi: 10.3390/ijms20102467.

34. Vergès B. Lipid disorders in type 1 diabetes. *Diabetes & Metabolism* 35(5): 353-360, 2009. doi:10.1016/j.diabet.2009.04.004.
35. Balderas C, Rupérez FJ, Ibañez E, et al. Plasma and urine metabolic fingerprinting of type 1 diabetic children. *Electrophoresis* 34(19): 2882-2890, 2013. doi: 10.1002/elps.201300062.
36. Galderisi A, Pirillo P, Moret V, et al. Metabolomics reveals new metabolic perturbations in children with type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* 19(1): 59-67, 2017. doi:10.1111/pedi.12524.
37. Dutta T, Kudva YC, Persson XM, Schenck LA, et al. Impact of Long-Term Poor and Good Glycemic Control on Metabolomics Alterations in Type 1 Diabetic. *J Clin Endocrinol Metab* 101: 1023-1033, 2016. doi.org/10.1210/jc.2015-2640.
38. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444(7122): 1022-3, 2006. doi.org/10.1038/4441022a.
39. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457(7228): 480-4, 2009. doi.org/10.1038/nature07540.
40. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490(7418): 55-60, 2012. doi.org/10.1038/nature11450.
41. Güllden E, Wong FS, and Wen L. The Gut Microbiota and Type 1 Diabetes. *Clin Immunol* 159(2), 143-153, 2015. doi:10.1016/j.clim.2015.05.013.
42. Lee AS, Gibson DL, Zhang Y, et al. Gut barrier disruption by an enteric bacterial pathogen accelerates insulinitis in NOD mice. *Diabetologia* 53(4): 741-748, 2010. doi: 10.1007/s00125-009-1626-y.
43. Kelly CP, Green PH, Murray JA, et al. Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 37(2): 252-262, 2013. doi: 10.1111/apt.12147.
44. Sapone A, De Magistris L, Pietzak M, et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* 55(5): 1443-9, 2006. doi: 10.2337/db05-1593.
45. Carratù R, Secondulfo M, de Magistris L, et al. Altered intestinal permeability to mannitol in diabetes mellitus type I. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 28(3): 264-9, 1999. doi:10.1097/00005176-199903000-00010.
46. De Magistris L, Secondulfo M, Iafusco D, et al. Altered mannitol absorption in diabetic children. *Ital J Gastroenterol* 28(6): 367, 1996.
47. Watts T, Berti I, Sapone A, Gerarduzzi T, Not T, Zielke R, Fasano A. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(8): 2916-2921, 2005. doi: 10.1073/pnas.0500178102.
48. Pellegrini S, Sordi V, Bolla AM, Saita AD, et al. Duodenal Mucosa of Patients With Type 1 Diabetes Shows Distinctive Inflammatory Profile and Microbiota. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 102(5): 1468-1477, 2017. doi: 10.1210/jc.2016-3222.
49. Gavin PG, Mullaney JA, D Loo, et al. Intestinal Metaproteomics Reveals Host-Microbiota Interactions in Subjects at Risk for Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 41(10): 2178-2186, 2018. doi: 10.2337/dc18-0777.
50. Maffei C, Martina A, Corradi M, et al. Association between intestinal permeability and faecal microbiota composition in Italian children with beta cell autoimmunity at risk for type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 32(7): 700-709, 2016. doi: 10.1002/dmrr.2790.
51. Sorini C, Cosorich I, Lo Conte M, Steinman L, et al. Loss of gut barrier integrity triggers activation of islet-reactive T cells and autoimmune diabetes. *Stanford University School of Medicine Stanford* 116(30): 15140-15149, 2019. doi: 10.1073/pnas.1814558116.
52. Endesfelder D, Hagen M, Winkler C, et al. A novel approach for the analysis of longitudinal profiles reveals delayed progression to type 1 diabetes in a subgroup of multiple-islet-autoantibody-positive children. *Diabetologia* 59(10): 2172-2180, 2016. doi: 10.1007/s00125-016-4050-0.
53. Liu D, Philip T, et al. Toll-like receptor triggering of a Vitamine D-mediated human antimicrobial response. *Science*(311)5768: 1770-1773, 2006.
54. Valladares R, Sankar D, Li N, et al. *Lactobacillus johnsonii* N6.2 mitigates the development of type 1 diabetes in BB-DP rats. *PLoS ONE* 5(5): 10507, 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0010507.
55. Kriegel MA, Sefik E, Hill JA, et al. Naturally transmitted segmented filamentous bacteria segregate with diabetes protection in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(28): 11548-53, 2011. doi: 10.1073/pnas.1108924108.

56. Li Y, Liu Y, Cong-Qiu Chu. Th17 Cells in Type 1 Diabetes: Role in the Pathogenesis and Regulation by Gut Microbiome. *Hindawi* 2015(5): 7, 2015. doi.org/10.1155/2015/638470.
57. Esposito S, Toni G, Tascini G, et al. Environmental Factors Associated With Type 1 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology* 10: 592, 2019. doi: 10.3389/fendo.2019.00592.
58. Han H, Li Y, Fang J, et al. Gut Microbiota and Type 1 Diabetes I. *International Journal of Molecular Sciences* 19(4): 995, 2018. doi: 10.3390/ijms19040995.
59. Vatanen T, Kostic AD, Heli Siljander EH, et al. Variation in Microbiome LPS Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans. *Cell* 165(4): 842-853, 2016. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.056.
60. Abdllatif AM, et al. Current understanding of the role of gut dysbiosis in type 1 diabetes. *Journal of Diabetes* 11(8): 632-644, 2019. doi: 10.1111/1753-0407.12915.
61. Mullaney JA, Stephens JE, Costello ME, et al. Type 1 diabetes susceptibility alleles are associated with distinct alterations in the gut microbiota. *Microbiome* 6(35), 2018. doi: 10.1186/s40168-018-0417-4.
62. Tastan C, Karthan E, Zhou W, et al. Tuning of human MAIT cell activation by commensal bacteria species and MR1 dependent T cell presentation. *Mucosal Immunol* 11(6): 1591-1605, 2018. doi: 10.1038/s41385-018-0072-x.
63. Magalhaes I, Kiaf B, Lehuen A. iNKT and MAIT cell alterations in diabetes. *Frontiers in immunology* 6: 341, 2015. doi: 10.3389/fimmu.2015.00341.
64. Costantinides MC, Link VM, Tamoutounour S, et al. MAIT cells are imprinted by the microbiota in early life and promote tissue repair. *Science* 366(64266): 6426, 2019. doi: 10.1126/science.aax6624.
65. Huang J, Pearson JA, Peng J, et al. Gut microbial metabolites alter IgA immunity in type 1 diabetes. *JSI insight*, 2020. doi: 10.1172/jci.insight.135718.
66. Mejía-León ME, ACalderón de la Barca AM, et al. Diet, Microbiota and Immune System in Type 1 Diabetes Development and Evolution. *Nutrients* 7(11): 9171-84, 2015. doi: 10.3390/nu711546.
67. Dominguez-Bello MG, Blazer MJ, Knight R, et al. Development of the Human Gastrointestinal Microbiota and Insights From High-Throughput Sequencing. *Gastroenterology* 104(6): 1713-1719, 2011. doi: 10.1053/j.gastro.2011.02.011.
68. Uusitalo U, Liu X, Yang J, et al. Association of early exposure of probiotics and islet autoimmunity in the TEDDY study. *JAMA Pediatr* 170: 20-28, 2016. doi: 10.1001/jama-pediatrics.2015.2757.
69. Patel RM, Myers LS, Kurundkar AR, et al. Probiotic bacteria induce maturation of intestinal claudin 3 expression and barrier function. *The American journal of pathology* 180(2): 626-635, 2012. doi:10.1016/j.ajpath.2011.10.025.
70. Karczewski J, Troost FJ, Konings I, et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 298(6): 851-859, 2010. doi: 10.1152/ajpgi.00327.2009.
71. Siljander H, Honkanen J, Knip M, et al. Microbiome and type 1 diabetes. *EBioMedicine* 46: 512-521, 2019. doi:10.1016/j.ebiom.2019.06.031.
72. Vehik K, Lynch KF, Wong MC, et al. Prospective virome analyses in young children at increased genetic risk for type 1 diabetes. *Nature medicine* 25: 1865-1872, 2019. doi: 10.1038/s41591-019-0667-0.
73. Craig ME, Kim KW, Isaacs SR, et al. Early-life factors contributing to type 1 diabetes. *Diabetologia* 62: 1823-1834, 2019. doi:10.1007/s00125-019-4942-x.
74. Predieri B, Bruzzi P, Bigi E, et al. Endocrine Disrupting Chemicals and Type 1 Diabetes. *Int J Mol Sci* 21(8): 2937, 2020. doi:10.3390/ijms21082937.

# La transizione dal pediatra al diabetologo dell'adulto

Andrea Laurenzi<sup>1</sup>, Riccardo Bonfanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>U.O. di Medicina Interna ad Indirizzo Diabetologico, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano;

<sup>2</sup>U.O. di Pediatria, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003c>

## INTRODUZIONE

L'ottenimento di un compenso glicemico soddisfacente rappresenta, per le persone affette da diabete di tipo 1, un traguardo difficile da raggiungere (1-2), a causa dei molteplici fattori che hanno un impatto sulla glicemia e che devono essere considerati dal paziente con diabete di tipo 1 nelle decisioni terapeutiche quotidiane che è costretto a prendere (3). La frustrazione conseguente ad un raggiungimento solo parziale degli obiettivi glicemici, nonostante l'entità degli sforzi profusi, contribuisce al peggioramento della qualità della vita delle persone con diabete di tipo 1 in tutte le fasce d'età (4-5).

La gestione impegnativa di questa patologia cronica complica ulteriormente una fase della vita già di per sé problematica come l'adolescenza/giovane età adulta che, di conseguenza, si associa ad un peggioramento significativo del compenso glicemico (6-7) (Fig. 1).

## ASPETTI GENERALI DELLA TRANSIZIONE

Nei primi anni 2000, lo psicologo Jeffrey Arnett (8-9) ha proposto la definizione di *emerging adulthood* (età adulta emergente) per identificare la fase della vita tra i 18 e i 25 anni che presenta caratteristiche peculiari in termini demografici, soggettivi e di esplorazione identitaria del paziente.

Dal punto di vista demografico, questa fase della vita è caratteristica delle società con stili di vita "occidentali", nelle quali si assiste sempre di più ad un prolungamento della fase adolescenziale a causa della ritardata indipendenza del giovane adulto dalla famiglia di origine. Infatti nei paesi industrializzati (10) risultano ben caratterizzate demograficamente sia la popolazione con meno di 18 anni che quella con più di 30 anni. Nel primo caso, il 95% degli adolescenti vive con i propri genitori e solo il 2% è sposato. All'interno della popolazione con più di 30 anni, il 75% delle persone è sposata e il 75% ha figli. Al contrario, nella

### FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID ([www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)).

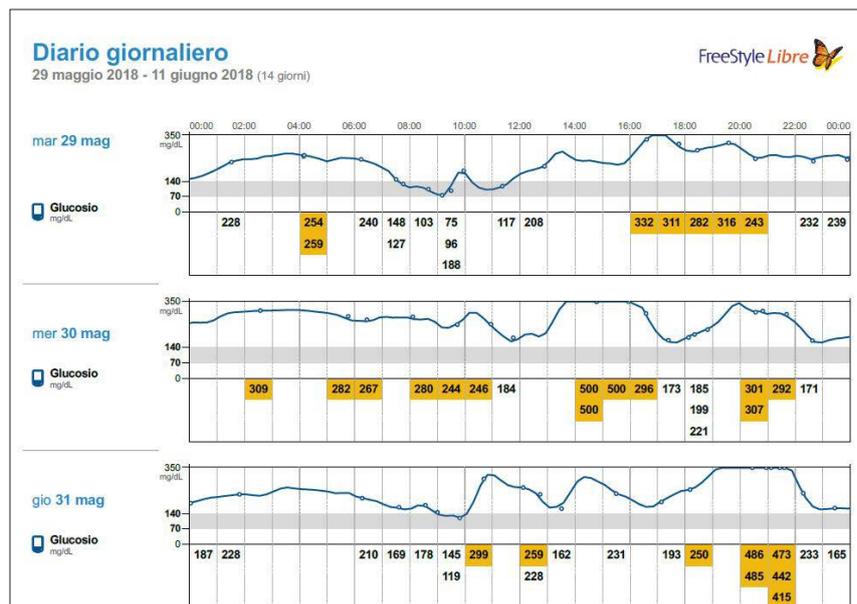
Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

**Per ulteriori informazioni: [www.fad.siditalia.it](http://www.fad.siditalia.it)**

**Figura 1** ♦ Percentuale di pazienti che raggiunge il target di HbA<sub>1c</sub> nella real life. Dati del nel Type 1 Diabetes Exchange americano (da Miller KM et al. *Diabetes Care* 38: 971-978, 2015).



fascia intermedia della popolazione, in particolare tra i 18 e i 25 anni, si osserva una eterogeneità estrema sia dello status familiare (sposato o non sposato, vive solo o con i genitori) che della occupazione principale (studio, lavoro o altro) (11).

Anche dal punto di vista soggettivo *l'emerging adulthood* è una fase con caratteristiche peculiari, che sono distinguibili sia dalla adolescenza che dalla fase adulta successiva. Si tratta ad esempio del periodo della vita nel quale è maggiore l'incertezza dei giovani nell'autodefinirsi o meno come appartenenti all'età adulta: in una raccolta di questionari di 519 pazienti, la percentuale di risposte alla domanda "pensi di avere raggiunto l'età adulta?" raggiunge la quota più alta di incertezza proprio nella fascia 18-25 anni di età (60% delle risposte), mentre è minore sia negli adolescenti (54% di incerti) che nei pazienti con più di 25 anni (solo il 33% non sa autodefinirsi) (8).

Infine, anche l'esplorazione identitaria dell'adulto emergente è peculiare, e diversa da quella di altre fasi della vita come l'adolescenza. Nelle aree lavorative e affettive *l'emerging adult* non ha ancora le responsabilità della vita adulta e prosegue, talvolta intensifica, l'esplorazione del proprio ruolo nel mondo, che storicamente è tipica dell'adolescenza. Spesso nelle società occidentali i pazienti dopo i 18 anni per motivi di studio lasciano la propria famiglia

di origine, dalla quale però continuano a dipendere economicamente. Questa ambivalenza contribuisce a creare una confusione identitaria che si riflette anche in una maggiore propensione a comportamenti a rischio. Studi che hanno confrontato la prevalenza di abitudini comportamentali spregiudicate messe in atto dagli adolescenti e dagli adulti emergenti, hanno riscontrato in questi ultimi una maggiore propensione al fumo, al *binge drinking*, al sesso con partners multipli e al sesso non protetto rispetto a quanto registrato tra gli adolescenti (12) (Tab. 1).

In questo contesto generale, la presenza di una patologia cronica rappresenta un aspetto dell'adolescenza/età adulta emergente che complica ulteriormente una fase della vita già difficile. Perché possa essere efficace, la transizione dal team di cura pediatrico al team di cura dell'adulto non può essere solo un momento in cui avviene il passaggio di consegne ma, secondo le indicazioni stabilite sia dalle società scientifiche italiane (13-14) che dalla Society for Adolescent Medicine (15), deve essere strutturata, vale a dire che deve basarsi sulla coordinazione tra i team pediatrico e dell'adulto in modo da facilitare un passaggio che per il giovane paziente sia graduale ed ininterrotto. D'altra parte, la giovane età adulta è il periodo in cui i comportamenti ed abitudini del soggetto gradualmente si consolidano, e quindi può rappresentare una finestra

**Figura 2** ♦ Percentuali di pazienti adolescenti e giovani adulti che dichiarano di mettere in pratica comportamenti a rischio, suddivisi per fasce d'età (mod. da Galambos NL et al. Health Reports 10(2): 9-20, Fall 1998)

		FUMO	BINGE DRINKING	PARTNERS MULTIPLI	SESSO NON PROTETTO
<b>Età 15-19 anni</b>	Maschi	28%	52%	44%	29%
	Femmine	30%	35%	43%	51%
<b>Età 20-24 anni</b>	Maschi	33%	73%	78%	53%
	Femmine	40%	51%	81%	44%

di opportunità in cui promuovere comportamenti virtuosi dal punto di vista della salute e che influenzeranno il carico assistenziale degli adulti di domani (16).

Diversi studi hanno valutato l'efficacia della strutturazione di un percorso della transizione. Due recenti revisioni sistematiche della letteratura sono andate a valutare quali singoli aspetti dell'organizzazione siano associati ad una transizione efficace, indipendentemente dalla patologia in oggetto (17-18). In primo luogo, per svolgere una revisione sistematica dei lavori scientifici riguardanti una transizione efficace, è necessario definire gli outcomes clinici che occorre valutare negli studi sulla transizione dei giovani pazienti dalla pediatria alla clinica degli adulti:

1. I parametri clinici come gli outcomes specifici della malattia (ad esempio l'emoglobina glicata - HbA<sub>1c</sub> - nei pazienti con diabete di tipo I), l'aderenza del paziente alle visite ambulatoriali, la qualità della vita, la mortalità.
2. La percezione del paziente in termini di soddisfazione rispetto al percorso della transizione effettuato, le barriere alla cura e difficoltà riscontrate.
3. L'utilizzo delle risorse sanitarie come le ospedalizzazioni.

Gabriel e coll. (17) hanno valutato 3.844 studi riguardanti la transizione nelle patologie croniche e, dopo avere escluso quelli che non avevano i criteri richiesti, tra cui nello specifico la descrizione della organizzazione del percorso di transizione, sono arrivati ad analizzare 43 lavori, oltre un terzo dei quali (15 studi) riguardava la transizione di giovani con diabete mellito di tipo 1. Il 65% degli studi totali ha evidenziato che la transizione strutturata determinava effetti positivi in almeno uno dei suddetti tre ambiti valutati: gli outcomes clinici sono risultati favorevoli nel 54% degli studi, i pazienti si sono ritenuti soddisfatti della transizione nel 60%, i costi sono risultati differenti

nel 39% dei casi. Inoltre, si è assistito ad una riduzione del tempo trascorso tra l'ultima visita in pediatria e la prima visita nella clinica per adulti.

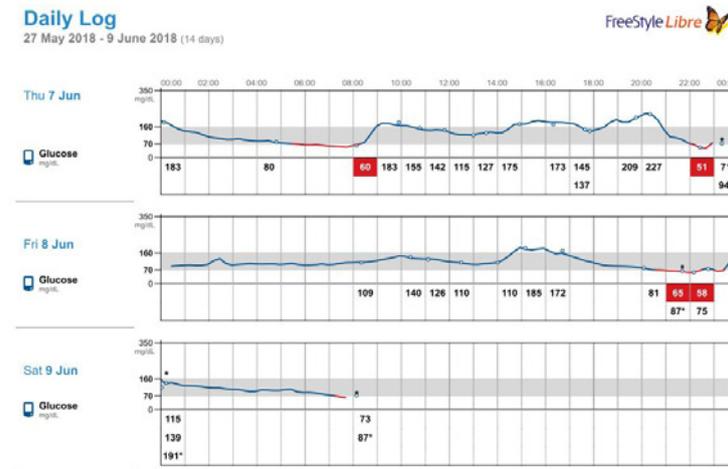
Schmidt e coll. (18) hanno proseguito l'analisi degli studi sulla transizione strutturata fino al 2018, aggiungendo 19 studi con descrizione di un percorso di transizione strutturato, il 42% dei quali riguardanti il diabete di tipo 1: nell'84% di questi lavori sono stati riscontrati degli outcomes positivi.

#### PECULIARITÀ DELLA TRANSIZIONE IN AMBITO DIABETOLOGICO

In letteratura, una quota importante (35-42%) degli studi che definiscono percorsi organizzati di transizione della cura per patologia cronica (17-18) si focalizza proprio sul diabete di tipo 1 che, rispetto ad altre patologie croniche, richiede ai giovani pazienti un maggiore impegno quotidiano ed ininterrotto nella gestione della malattia.

Infatti, la gestione del diabete di tipo 1 rappresenta una sfida difficile per il team di cura, ma soprattutto per i pazienti stessi, che devono far fronte alle difficoltà intrinseche del trattamento insulinico, al bilanciamento corretto di dieta e attività fisica, alla necessità di monitoraggio costante della glicemia, alla dipendenza della glicemia dagli aspetti emotivi che si alternano quotidianamente, oltre alle difficoltà derivanti dalla programmazione delle visite diabetologiche e delle visite per il monitoraggio delle complicanze croniche della malattia. Questa situazione trova difficile collocazione in una fase della vita in cui i giovani pazienti si trovano a far fronte a nuove richieste esterne come responsabilità di studio, di lavoro e di vita sociale, a nuove richieste interne come la costruzione di una propria identità e del proprio ruolo nel mondo (13-14). Tutti questi generatori di stress competono con la gestione del diabete in termini di tempo ed energie da dedicare.

**Figura 2** ◆ Valori di HbA<sub>1c</sub> nella popolazione generale suddivisa per fasce d'età nella real life. Dati dal Type 1 Diabetes Exchange americano aggiornati al biennio 2016-2018 (da Foster NC et al. *Diabetes Technology and Therapeutics* 21(2): 66-72, 2019)



Un ulteriore fattore che contribuisce a rendere complessa la gestione della glicemia è la fisiologia dell'adolescenza, in quanto i giovani pazienti con diabete di tipo 1 rispetto all'infanzia presentano un aumento della insulino-resistenza, che sembra essere mediato sia da più elevati livelli basali di ormone della crescita sia dall'aumento della ossidazione degli acidi grassi (19). Questi fattori spiegano come mai nei dati di real life la fascia di età compresa tra i 18 ed i 25 anni sia quella che in percentuale minore raggiunge il target di emoglobina glicata (Fig. 2) (6-7, 20).

## LE MODALITÀ DI TRANSIZIONE

L'importanza di definire un percorso strutturato per la transizione del giovane con diabete tipo 1 dal centro pediatrico a quello dell'adulto è stata sottolineata sia nelle linee guida nazionali (21) che internazionali (22). Tuttavia l'organizzazione di questo percorso spesso è ancora affidata all'iniziativa dei diabetologi e dei pediatri che si dedicano a questo aspetto. Come conseguenza di questo, si assiste a modalità organizzative molto eterogenee nei vari centri che si occupano di strutturare la transizione di cura del diabete di tipo 1; in particolare esistono diversi modelli organizzativi desunti dalla letteratura in quanto applicati nelle varie realtà ospedaliere ed ambulatoriali che si occupano di questo ambito: in alcune strutture è previsto il passaggio diretto dalla clinica pediatrica a quella dell'adulto (Fig. 3A), in altre vengono or-

ganizzati ambulatori intermedi dedicati alla transizione (Fig. 3B e Fig. 3C). A seconda delle risorse disponibili nella struttura è possibile strutturare il percorso in modo semplice, con passaggio diretto da una clinica all'altra, in particolare se nella struttura ospedaliera non coesistono sia la clinica pediatrica che la clinica degli adulti e di conseguenza il passaggio deve coincidere per il paziente anche con un cambio del centro di riferimento. Se invece nel centro sono presenti entrambe le realtà, è possibile organizzare ambulatori intermedi che prevedono il coinvolgimento del team sia pediatrico che diabetologico dell'adulto.

Indipendentemente dal modello di organizzazione possibile, è importante tenere in considerazione alcuni aspetti importanti. Una revisione della letteratura del 2017 (23) ha cercato di identificare quali fossero le componenti della transizione di cura che la rendessero efficace nei pazienti con diabete mellito di tipo 1. Dei 4.689 studi identificati inizialmente, è stata effettuata una metanalisi qualitativa di 18 studi. In 7/18 studi (39%) era presente il coordinatore della transizione, una importante figura con il ruolo di fare da punto di riferimento e *trait d'union* tra il giovane paziente, la clinica pediatrica e la clinica dell'adulto. In 11/18 studi (61%) era presente una clinica dedicata alla transizione, che poteva essere un ambulatorio congiunto oppure la presenza di figure multidisciplinari focalizzate sulle necessità degli *emerging adults*. Solo 5/18 lavori (28%) offrivano ai pazienti interventi de-

dicati come sessioni educazionali di gruppo, utilizzo di social networks di gruppo o un servizio di newsletter. L'outcome principale misurato è stato il confronto tra l'ultima emoglobina glicata nell'ambulatorio di pediatria e l'ultimo valore al termine del percorso di transizione. In generale la HbA<sub>1c</sub> scendeva al di sotto del target considerato dopo la transizione (<7.5%) in solo 2 dei 16 studi (il 12%) mentre quando il percorso della transizione prevedeva sia l'ambulatorio dedicato che il coordinatore, il valore medio di emoglobina glicata migliorava dello 0.6% nel passaggio dalla pediatria alla diabetologia dell'adulto. In un'altra revisione della letteratura che ha valutato il controllo glicemico in termini di emoglobina glicata, tra i 9 studi osservazionali nei quali non veniva descritto un programma strutturato di transizione tra le cliniche, l'HbA<sub>1c</sub> tra la fase pediatrica e la fase adulta restava invariata in 5/9 studi, migliorava in un unico studio ma solo nelle giovani pazienti e non nei maschi e peggiorava in un terzo dei casi. Al contrario, tra i 10 lavori in cui veniva descritto un programma di transizione strutturato, in ben 6 studi veniva documentato un miglioramento dei livelli di HbA<sub>1c</sub> dopo il passaggio alla clinica dell'adulto, nei restanti quattro non venivano registrate differenze. Un secondo parametro da considerare negli studi sulla transizione nel diabete di tipo 1 è l'aderenza del paziente alle visite, che risulta significativamente migliorata nei percorsi di transizione che prevedono la figura del coordinatore (23). Anche la presenza di un percorso strutturato influenza questo aspetto, perché nei lavori in cui non viene organizzato si riscontra una riduzione della frequenza delle visite ed un aumento degli appuntamenti mancati dopo il passaggio al centro degli adulti, mentre negli studi in cui il percorso di transizione viene strutturato si osserva una maggiore aderenza dei pazienti (24). L'adesione del paziente alle visite programmate rappresenta un outcome fondamentale, in quanto risulta correlata in diversi studi al compenso glicemico (25-26). Di conseguenza, è fondamentale approfondire quali siano gli ostacoli che limitano l'aderenza dei giovani pazienti, il più importante dei quali risulta essere la mancanza di un chiaro punto di riferimento presso la clinica dell'adulto, seguito dalla comparsa di aspetti della vita che tendono a sottrarre tempo alla gestione del diabete e, in terzo luogo, alle maggiori difficoltà incontrate a prenotare appuntamenti nella clinica per adulti rispetto alla pediatria (27).

Un ulteriore outcome clinico che viene considerato negli studi sono le ospedalizzazioni correlate alle complicanze acute del diabete (chetoacidosi, ipoglicemia severa, marcato scompenso glicemico), e in uno di questi su 1.507 pazienti svedesi è stato documentato un incremento di ospedalizzazioni dopo la transizione rispetto al periodo pediatrico (da 7.6 a 9.5 per 100 pazienti per anno,  $p=0.03$ ) (28).

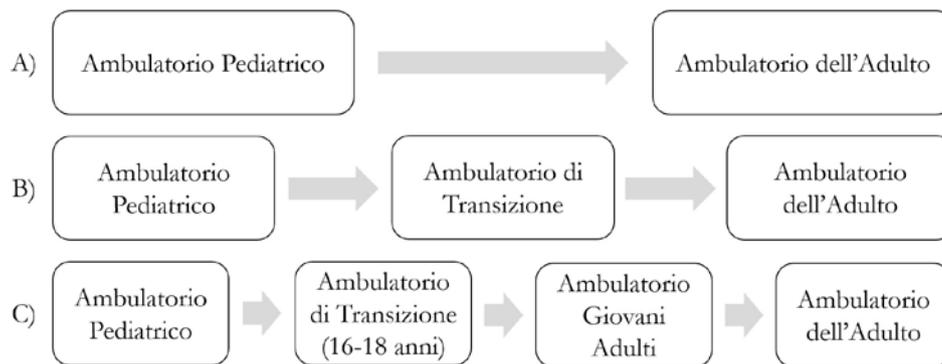
Presi tutti insieme questi dati evidenziano l'importanza di strutturare dei percorsi che prevedano sia gli ambulatori dedicati che la figura del coordinatore della transizione; il team multidisciplinare dedicato ha lo scopo di organizzare le varie professionalità che possano rispondere al meglio ai bisogni specifici del paziente, mentre il coordinatore ha il ruolo cruciale di mantenere l'aderenza del paziente, al quale deve essere chiaramente indicata la figura di riferimento in questa fase.

Nella realtà italiana, esplorata in una Survey condotta nel 2014 alla quale hanno risposto 137 strutture diabetologiche (29), è emerso che il 72% delle strutture non organizzava giornate o spazi dedicati alla transizione e il 58% non effettuava visite di gruppo, nonostante il 98% degli intervistati ritenesse fondamentali gli incontri tra pediatra e diabetologo dell'adulto; inoltre la figura dello psicologo risultava presente solo nel 36% delle strutture, nonostante gli aspetti psico-sociali fossero ritenuti fondamentali dal 94% degli intervistati.

Un aspetto importante da definire è la tempistica della transizione. Le linee guida non definiscono un'età precisa in cui effettuare la transizione di cura, che deve essere stabilita singolarmente per ogni paziente (30).

Nella maggior parte degli studi retrospettivi sulla transizione in diabetologia si riscontra un'età di passaggio tra 19,5 e 20,1 anni d'età, con l'80% dei pazienti che arriva al centro dell'adulto entro i 21 anni (31-32). In questa fase più di un terzo dei giovani pazienti non si ritiene ancora pronto alla transizione (31), dato che concorda con la percentuale di pazienti (il 38%) che non si sente soddisfatto delle modalità di transizione che gli sono state organizzate dal centro di cura (33). Inoltre, i pazienti che transitano dalla pediatria alla diabetologia dell'adulto presentano in media un rischio relativo di peggioramento del compenso glicemico di 2.5 volte, ed un aumento della emoglobina glicata media da 7.5% nell'ultima visita in pediatria al 9.2% nella prima visita nel centro dell'adulto (32). Questo peggioramento del compenso impatta fortemente sulla

**Figura 3** ♦ I possibili modelli di organizzazione della transizione dal Centro Pediatrico al Centro dell'Adulto (mod. da Schultz AT et al. *Journal of Adolescents Health* 60: 133-46, 2017)



salute degli *emerging adults* anche a breve termine, infatti tra i pazienti tra i 18 e i 25 anni di età e con HbA1c non a target, è stata riportata una prevalenza di retinopatia diabetica del 29%, nettamente in aumento rispetto agli stessi pazienti prima dei 18 anni, quando solo il 5% aveva avuto una diagnosi di retinopatia diabetica (34).

In uno studio controllato italiano (35), rispetto ai pazienti che sono arrivati alla diabetologia dell'adulto soltanto con una lettera di presentazione scritta dal pediatra, i pazienti che hanno seguito un percorso di transizione strutturato, con un team multidisciplinare centrato sulla figura del coordinatore della transizione, hanno mostrato benefici in termini di una significativa riduzione del tempo intercorso tra l'ultima visita in pediatria e la prima visita nel centro degli adulti ( $0 < 0.01$ ), miglioramenti che si sono mantenuti nel tempo con una migliore HbA1c ad un anno dalla transizione ( $p < 0.05$ ) ed un tasso di mantenimento in carico dei pazienti dopo tre anni dalla transizione del 100%.

Nonostante queste evidenze, nella survey condotta negli Stati Uniti da Garvey e coll. (36), alla quale hanno risposto 536 diabetologi coinvolti nei rispettivi centri nella transizione di cura nel diabete di tipo 1, solo il 35% dei diabetologi che hanno risposto considera importante un programma strutturato per la transizione di cura, che di conseguenza risulta presente di fatto solo nel 2% dei centri che hanno risposto.

#### RUOLO DEL TEAM DI CURA PEDIATRICO

Il team pediatrico è fondamentale in primis nel definire le tempistiche della transizione, come evidenziato dal

fatto che in una parte importante dei casi l'indicazione alla transizione verso il centro dell'adulto sia fornita al paziente dal pediatra stesso (33). D'altro canto il 64% dei pazienti tra i 18 e i 30 anni che viene ancora seguito in pediatria motiva questa scelta come attaccamento emotivo alla figura che è stata il punto di riferimento negli anni precedenti (31). Le raccomandazioni della American Academy of Pediatrics (37) suggeriscono che la transizione debba essere introdotta anche a partire dai 14 anni di età; è importante che il pediatra comunichi in anticipo al paziente ed ai genitori questo passaggio segnalando che si tratta di un passaggio necessario, al fine di approfondire tematiche correlate al diabete nei quali può essere più competente il diabetologo dell'adulto rispetto al pediatra, come la contraccezione, la programmazione della gravidanza, i diritti nel mondo del lavoro.

Un importante contributo da parte del team pediatrico è la preparazione di un report per ogni paziente in procinto al passaggio, con focalizzazione sia sui dati clinici che sugli aspetti psico-sociali; sempre in una survey condotta da Garvey e coll. (38) emerge uno sconcertante gap tra quanto i diabetologi considerano importante la ricezione di un report clinico proveniente dal team della pediatria (73% delle risposte positive) e la percentuale dei casi in cui questo si realizza nella realtà (11%). Sempre nell'ambito della comunicazione tra il team della pediatria e quello della diabetologia dell'adulto, un ulteriore aspetto migliorabile risulta essere la percezione da parte dei team di cura di quali elementi siano prioritari al fine di facilitare il percorso di transizione per i giovani pazienti. Mentre ai diabetologi dell'adulto sembra importante la ricezione da parte del pediatra del suddetto report descrittivo, questa

non sembra essere percepita come un aspetto importante dai pediatri; le percentuali si invertono quando si considera l'importanza della accessibilità del team curante da parte paziente in caso di problemi, che risulta massima per i pediatri ma non per i diabetologi dell'adulto (36).

## **RUOLO DEL TEAM DI CURA DELL'ADULTO**

Il primo aspetto importante per una transizione efficace è che il diabetologo dell'adulto che si occupa di transizione sia chiaramente identificabile dal team pediatrico, e possa fare da punto di riferimento per i pediatri. Se consideriamo il fatto che una elevata percentuale dei pazienti pediatrici con diabete di tipo 1 utilizza dispositivi tecnologici per la terapia insulinica e/o per il monitoraggio glicemico continuo (6), è fortemente consigliato che il diabetologo che si occupa di transizione sia discretamente esperto nella gestione delle terapie tecnologiche avanzate nel diabete. Inoltre, è molto utile per il giovane paziente in transizione incontrare il diabetologo dell'adulto ancora prima del passaggio, sebbene questo accada solo nel 18% dei casi (31); in questo senso possono essere un'ottima occasione di incontro i campi scuola e le attività extra-ospedaliere che vengono organizzate in diverse realtà della diabetologia pediatrica in Italia.

Nonostante l'opinione comune sulla importanza di una transizione ininterrotta e coordinata, una quota significativa di pazienti va incontro ad un ritardo nella presa in carico, con un gap temporale tra l'ultima visita in pediatria e la prima in diabetologia adulti che lo rende vulnerabile (39). Il ruolo del coordinatore della transizione è cruciale nel migliorare questo aspetto, facendo per il paziente da punto di riferimento anche nell'aiutarlo a programmare gli appuntamenti ambulatoriali e nel fare in modo che la transizione avvenga senza interruzioni. La presenza nel team di transizione di un navigator (40) o di un coordinatore (41) in letteratura risulta associata ad una maggiore efficacia nel confronto con modalità di passaggio non strutturate. Nonostante queste evidenze il coordinatore della transizione viene considerato un ruolo importante per una transizione efficace solo dal 45% dei diabetologi che hanno risposto, ed è facilmente accessibile solo nel 15% dei centri (38).

Un aspetto importante è il metodo con il quale individuare le competenze e la preparazione dei pazienti in transizione in modo da identificarne i bisogni e personalizzare l'ap-

proccio. Rispondono bene a questa esigenza i questionari messi a punto dalle società scientifiche italiane AMD-SID-SIEDP (13-14) che esplorano la transizione da vari punti di vista: quello del pediatra per comunicare al team dell'adulto gli aspetti clinici rilevanti e i bisogni formativi del paziente su problematiche che non sempre vengono affrontate in pediatria perché più tipiche dell'età adulta (patente di guida, normativa del lavoro, programmazione della gravidanza, complicanze croniche del diabete), il punto di vista del paziente per individuarne la presa di coscienza della malattia e la preparazione alla transizione, infine il punto di vista del team diabetologico dell'adulto, che fornisce un feedback utile a personalizzare l'approccio al paziente con eventuali adattamenti in corso d'opera.

In linea generale, un suggerimento che ci sentiamo di condividere, e che emerge dall'analisi della letteratura, è che il team dell'adulto nelle prime fasi orienti la propria attenzione allo stabilire e al consolidare una relazione con il paziente, rimandando l'attenzione sugli outcomes glicemici non ottimali come l'HbA<sub>1c</sub> alla fase in cui il paziente risulti agganciato al centro. In questo senso è fondamentale individuare i bisogni psicologici dei giovani pazienti, che presentano un rischio relativo quasi doppio rispetto ai coetanei non diabetici di sviluppare sintomi depressivi (42), oltre ad un' aumentata percentuale di disturbi d'ansia (43) e disturbi del comportamento alimentare (44). Nel diabete di tipo 1 la salute psicologica è fondamentale in quanto sia nei pazienti adulti che negli adolescenti i sintomi depressivi correlano con aumentata incidenza di complicanze micro e macrovascolari (45-46).

## **IL PUNTO DI VISTA DEL PAZIENTE**

Al fine di ottenere una transizione efficace in diabetologia, è importante andare a valutare la soddisfazione percepita dai pazienti che hanno compiuto il passaggio. Gli ambiti esplorati dai questionari riguardano tre aree principali: la percezione di continuità della cura da parte del paziente, la rinegoziazione di responsabilità della gestione del diabete e le problematiche psicologiche riferite.

### **La continuità di cura**

È importante che il paziente percepisca la continuità di cura, perché questo avvenga è utile che la transizione avvenga gradualmente (47). Nella realtà però in media il servizio di diabetologia dell'adulto viene percepito dai

pazienti come meno accessibile, a causa di più frequenti cancellazioni degli appuntamenti (48) o liste d'attesa ambulatoriali più lunghe (49).

Questa apparente minore dedizione riscontrata dai giovani pazienti dopo la transizione è facilmente spiegata dall'epidemiologia del diabete di tipo 1, che rappresenta la tipologia di diabete prevalente nelle cliniche pediatriche, mentre nelle cliniche diabetologiche per adulti è presente solo nel 10% circa dei pazienti (50). Di conseguenza i pazienti percepiscono in media che nelle diabetologie degli adulti venga ad instaurarsi un rapporto medico-paziente più impersonale e meno supportivo di quello che avevano con il pediatra. Inoltre alla minore presenza del supporto genitoriale si associa una maggiore variabilità del medico di riferimento nel corso delle visite ambulatoriali (51-52). Questo dato trova conferma anche in un lavoro italiano sulla transizione, nel quale confrontando i pazienti che avevano effettuato una transizione efficace con quelli che erano andati incontro a drop out, il fattore maggiormente associato all'insuccesso veniva identificato come l'essere seguiti da medici diversi nel primo anno di presa in carico ( $p < 0.0001$ ) (53).

#### **La rinegoziazione della responsabilità di gestione**

I pazienti diabetici iniziano ad assumere il controllo della gestione della loro malattia con tempistiche molto variabili da un paziente all'altro, in base al grado di sviluppo psico-attitudinale della persona (54). In particolare, è stata evidenziata una maggiore difficoltà in fase di transizione nei pazienti con esordio in età infantile rispetto ai pazienti con esordio più tardivo (55), talvolta per scarso interesse nell'approfondire la conoscenza della malattia, altre volte per scarsa motivazione alla sua gestione, in generale per persistenza dell'atteggiamento infantile di dipendenza dai genitori ai quali viene delegata completamente la gestione.

Sebbene ci si aspetti che il giovane paziente nel percorso verso l'indipendenza dai genitori acquisisca piena responsabilità nella gestione della propria terapia e nell'interazione con il team curante (56), spesso i genitori continuano a rappresentare un supporto decisionale. La presa di responsabilità da parte del giovane paziente dovrebbe coincidere con la graduale riduzione di responsabilità dei genitori, che però tendono di conseguenza a sviluppare ansie e timori qualora non ritengano i propri figli pronti a queste responsabilità (57). Il disappunto dei

genitori quando non vengono ammessi nell'ambulatorio di diabetologia dell'adulto insieme al loro figlio è riportato nei due terzi dei casi (58).

#### **Le necessità psicologiche riportate**

L'esplorazione dell'ambito psicologico fornisce risultati molto eterogenei. Come prevedibile, viene riportato una maggiore quota di ansia e preoccupazione nel lasciare la clinica pediatrica tra i pazienti con un buon compenso glicemico, mentre i pazienti che in pediatria non presentano dei risultati clinici soddisfacenti vedono il passaggio come un cambiamento positivo (59).

Anche i dati sul livello di preparazione alla transizione percepito dal paziente sono eterogenei. I metodi di preparazione che vengono percepiti positivamente dal paziente sono la presentazione dello staff della diabetologia dell'adulto prima che la transizione avvenga (58) e la presentazione con largo anticipo del percorso di transizione strutturato, qualora previsto (54).

#### **LA TECNOLOGIA. UN SUPPORTO ALLA TRANSIZIONE?**

In Italia, tra il 2005 e il 2015 è stato registrato un incremento numerico dei pazienti in terapia con microinfusore; questo incremento è stato maggiore nella popolazione pediatrica (+117%) rispetto a quella adulta (+37%), portando la prevalenza della terapia con CSII al 27% nei pazienti pediatrici e al 15% negli adulti (60). Inoltre, in una metanalisi condotta sui registri americano, inglese e tedesco, è stato riscontrato un minore livello di HbA<sub>1c</sub>, statisticamente e clinicamente significativo, nei giovani in terapia con CSII rispetto ai coetanei in terapia multi-iniettiva ( $8.0 \pm 1.2\%$  contro  $8.5 \pm 1.7\%$ ) (61).

D'altro canto, è noto da anni come il sensore per il monitoraggio glicemico continuo sia meno tollerato dai giovani adulti rispetto ai pazienti di età maggiore di 25 anni (62), a causa della difficoltà di utilizzo, della riferita inaccuratezza, dell'impatto degli allarmi e del cerotto sulla qualità di vita (63).

Questi dati evidenziano ulteriormente come tutti i componenti del team della transizione debbano essere esperti di queste tipologie di trattamento, in modo da poter supportare il giovane paziente anche con indicazioni molto pratiche e ridurre al minimo il rischio di interruzione della terapia.

La tecnologia può rappresentare una valida soluzione anche per risolvere il problema della ridotta compliance alle visite ambulatoriali presso il centro di riferimento da parte dei pazienti in fase di transizione. La telemedicina, definita come “qualsiasi comunicazione in remoto di informazioni cliniche tra il paziente il team di cura” (64) da diversi anni è oggetto di svariati tentativi di regolamentazione e nell’ultimo periodo a causa dell’emergenza Covid-19 sembra in corso una accelerazione decisiva in questa direzione (65). I pazienti in terapia con devices tecnologici hanno la possibilità di caricare su piattaforme condivise i dati derivanti da microinfusore e da sensore, in modo da consentire ai componenti del team di cura una valutazione clinica piuttosto accurata. Perché questa valutazione sia completa ed esaustiva, è fondamentale che il paziente sia motivato a collaborare inserendo quotidianamente nel proprio microinfusore/sensore tutti i dati importanti (contenuto in CHO dei pasti, tempistiche e dosaggio dei boli insulinici, momenti in cui effettua attività fisica, periodi di malattia, ecc.) come se si trattasse di un dettagliato diario cartaceo.

Allo scopo di alimentare costantemente la motivazione del paziente, a nostro avviso resta insostituibile la possibilità del confronto diretto con il team di cura, che può avvenire anche a distanza con supporti che consentano videochiamate o la condivisione sullo schermo del computer dei dati glicemici e di terapia insulinica. Soprattutto in pediatria, resta fondamentale la visita ambulatoriale, durante la quale oltre alla valutazione della terapia insulinica è possibile monitorare crescita, sviluppo e stato di salute generale del paziente (66).

#### UNA PROPOSTA OPERATIVA

Al fine di tenere conto delle varie esigenze emerse dalla letteratura e dalle esperienze riportate dai centri che si occupano della transizione, ci sentiamo di condividere lo schema di protocollo di transizione messo a punto da AMD-SID-SIEDP (Fig. 4) (13-14).

Oltre a queste proposte, qualora l’organizzazione della struttura lo consenta, la pianificazione intorno al compimento dei 18 anni del paziente di una attività ambulatoriale estesa rappresenta una situazione ideale per la presentazione al paziente da parte del pediatra del team diabetologico dell’adulto, in particolare della figura che viene identificata come il coordinatore della transizione;

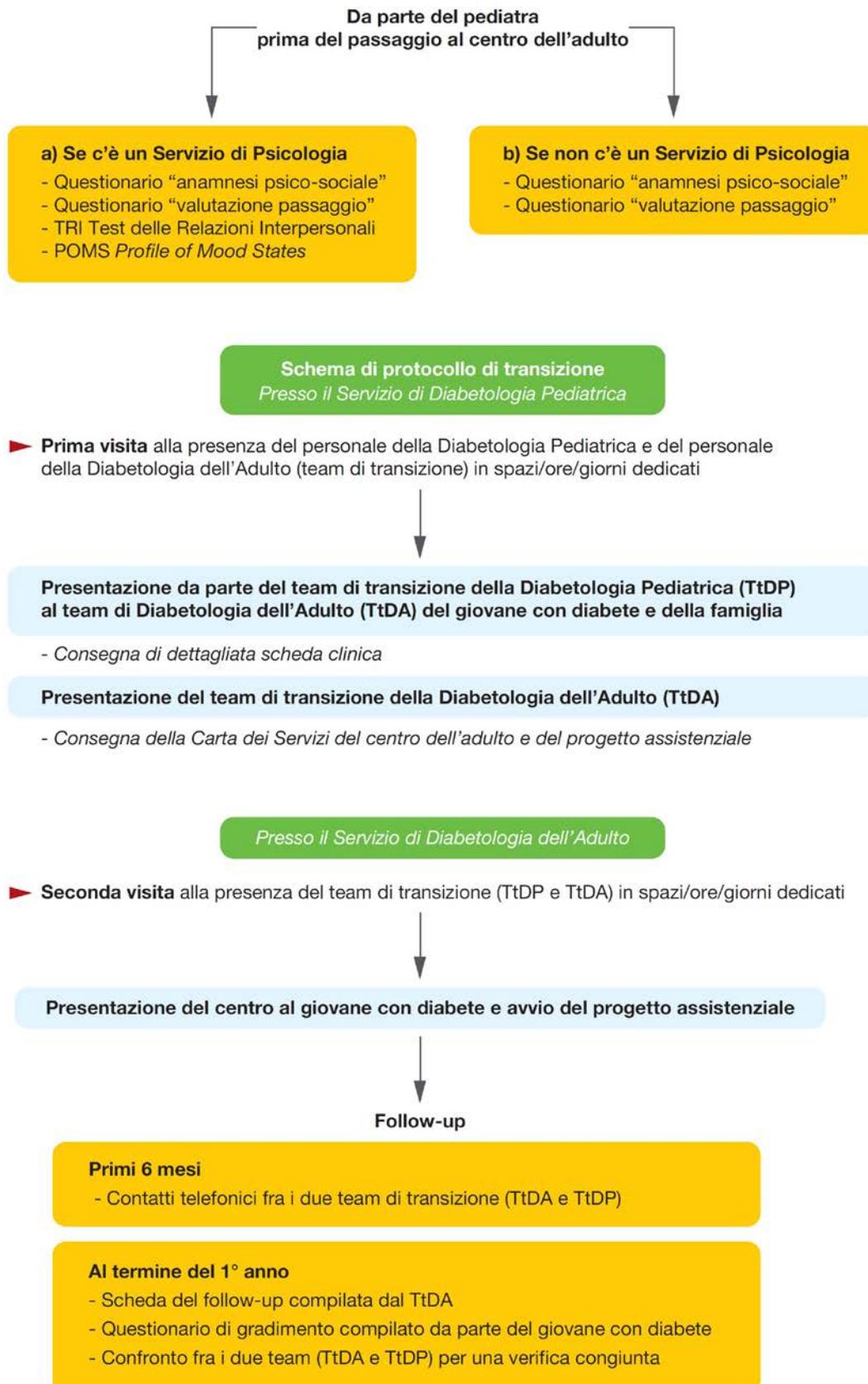
il team dell’adulto ha il compito di presentare le fasi successive del passaggio al giovane paziente e alla famiglia, entrando nel dettaglio anche di aspetti pratici ed organizzativi peculiari del centro di riferimento. Questo incontro multidisciplinare può essere anche l’occasione per fare il punto sui bisogni formativi del paziente (educazione terapeutica in ambito diabetologico, conta dei carboidrati), e sul monitoraggio delle complicanze croniche del diabete. Questo primo incontro può essere ulteriormente facilitato se uno dei componenti del team dell’adulto, idealmente il coordinatore, ha partecipato in precedenza ad attività sociali (es. campo educativi per ragazzi diabetici) insieme al team della pediatria, e rappresenta quindi un viso noto per i giovani pazienti.

Nella fase successiva, il paziente viene accolto nell’ambulatorio dedicato alla transizione, nel quale per un anno il paziente effettua una media di tre visite ambulatoriali nelle quali incontra sia il pediatra che il diabetologo dell’adulto; se nel primo incontro è ancora il pediatra a condurre la visita e viene affiancato dal diabetologo dell’adulto, nelle visite successive gradualmente i ruoli si invertono. Durante questo primo anno il paziente ha come figura di riferimento il coordinatore, che nei limiti del possibile lo aiuta anche in aspetti pratici come le prenotazioni degli appuntamenti e la gestione di alcune situazioni urgenti. Un aspetto controverso, è la presenza o meno dei genitori durante la visita. Non è possibile dare indicazioni precise in un senso o nell’altro, dipende molto dal rapporto del paziente con il genitore stesso e dalle aspettative di quest’ultimo; tendiamo a scoraggiare la presenza di genitori “troppo presenti”, che tendono a mantenere un ruolo centrale sovrastando il paziente. È importante che il giovane paziente venga responsabilizzato nel corso delle visite congiunte, che percepisca di essere lui il “protagonista” della visita e che il genitore assuma un ruolo di supporto. Al termine del primo anno, il team dell’adulto compila la scheda di follow-up (13-14), il paziente il questionario di gradimento, e viene effettuata una verifica congiunta tra i componenti del team pediatrico e del team dell’adulto. Successivamente il paziente accede all’ambulatorio diabetologico degli adulti.

#### CONCLUSIONE

La transizione rappresenta un momento molto delicato per i pazienti con diabete di tipo 1. Non è possibile propor-

**Figura 4** ♦ Schema di protocollo di transizione. Gruppo di studio SIEDP-AMD-SID: Transizione dei giovani con diabete mellito verso l'età adulta: passaggio dal pediatra al medico dell'adulto. Il Diabete 23(1), Marzo 2011



re un modello standard di organizzazione che si adatti ad ogni realtà, ma l'aspetto che risulta imprescindibile per ottenere risultati in questa fase complicata della vita dei pazienti sembra essere la strutturazione di un percorso definito, che preveda anche della figura del coordinatore della transizione.

È inoltre necessario monitorare nel tempo gli outcomes, al fine di avere un feedback sulla correttezza della strutturazione del team, ed eventualmente effettuare le opportune correzioni.

Obiettivo ultimo dei team multidisciplinari coinvolti nella transizione deve essere quello di fare in modo che il paziente gradualmente interiorizzi abitudini e conoscenze che gli consentano una gestione consapevole della patologia nel corso della vita adulta.

#### BIBLIOGRAFIA

4. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329: 977-986, 1993.
5. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC): Design and implementation of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care* 22: 99-111, 1999.
6. Zierler K. Whole body glucose metabolism. *American Journal of Physiology* 276(3 Pt.1): E409-26, Mar 1999.
7. Khemakhem R, Dridi Y, Hamza M, et al. Living with type 1 diabetes mellitus: How does the condition affect children's and adolescent's quality of life? *Archives de Pédiatrie* 27: 24-28, 2020.
8. Borg S, Gerdtham UG, Eeg-Olofsson K, et al. Quality of life in chronic conditions using patient-reported measures and biomarkers: a DEA analysis in type 1 diabetes. *Health Economics Review* 9: 31, 2019.
9. Miller KM, Foster NC, Beck RW, et al. Current State of Type 1 Diabetes Treatment in the U.S.: Updated Data From the T1D Exchange Clinic Registry. *Diabetes Care* 38: 971-8, June 2015.
10. Foster NC, Beck RW, Miller KM, et al. State of Type 1 Diabetes Management and Outcomes from the T1D Exchange in 2016-2018. *Diabetes Technology and Therapeutics* 21(2): 66-72, 2019.
11. Arnett JJ. Emerging Adulthood; A Theory of Development From the Late Teens Through the Twenties. *American Psychologist* 55(5): 469-480, May 2000.
12. Arnett JJ. Emerging Adulthood: the winding road from the late teens through the twenties. New York: Oxford University Press, 2004.
13. U.S. Bureau of the Census. Statistical abstracts of the United States, 1997.
14. Rindfuss RR. The young adult years: Diversity, structural change, and fertility. *Demography* 28(4): 493-512, 1991.
15. Galambos NL, Tilton-Weaver LC. Multiple risk behaviour in adolescents and young adults. *Health Reports* 10(2): 9-20, Fall 1998.
16. Gruppo di studio SIEDP-AMD-SID: Transizione dei giovani con diabete mellito verso l'età adulta: passaggio dal pediatra al medico dell'adulto. *Il Diabete* 23(1), Marzo 2011.
17. Documento di Consenso Gruppo di Studio SIEDP-AMD-SID: Transizione dei giovani con diabete mellito verso l'età adulta. Passaggio dal pediatra al medico dell'adulto. Una proposta operativa nazionale. *Il Giornale di AMD* 13: 159-168, 2010.
18. Blum RWM, Garrell D, Hodgman DH, et al. Transition from Child-Centered to adult health-care systems for adolescents with chronic conditions. A position paper from the Society for Adolescent Medicine. *Journal of Adolescents Health* 14: 570-576, 1993.
19. Sawyer SM, Afifi RA, Bearinger LH, et al. Adolescence: a foundation for future health. *Lancet* 379(9826): 1630-40, 2012.
20. Gabriel P, McManus M, Rogers K et al. Outcome Evidence for Structured Pediatric to Adult Health Care Transition Interventions: A Systematic Review. *Journal Of Pediatrics* 188: 263-9, September 2017.
21. Schmidt A, Ilango SM, McManus MA et al. Outcomes of pediatric to adult health care transition interventions: An updated systematic review. *Journal of Pediatric Nursing* 51: 92-107, 2020.
22. Hannon TS, Janosky J, Arslanian SA. Longitudinal study of physiologic insulin resistance and metabolic changes of puberty. *Pediatric Research* 60(6): 759-63, Dec 2016.
23. Clements MA, Foster NC, Maahs DM, et al. HbA1c changes over time among adolescents and young adult participants in the Type 1 diabetes exchange clinical registry. *Pediatric Diabetes* 17: 327-36, 2016.

24. Standard Italiani per la cura del Diabete Mellito. AMD-SID 2018. [http://www.siditalia.it/pdf/Standard%20di%20Cura%20AMD%20-%20SID%202018\\_protetto2.pdf](http://www.siditalia.it/pdf/Standard%20di%20Cura%20AMD%20-%20SID%202018_protetto2.pdf).
25. Pihoker C, Forsander G, Fantahun B, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The delivery of ambulatory diabetes care to children and adolescents with diabetes. *Pediatric Diabetes* 19(Suppl 27): 84-104, October 2018.
26. Schultz AT, Smaldone A. Components of interventions that improve transitions to adult care for adolescents with type 1 diabetes. *Journal of Adolescents Health* 60: 133-46, 2017.
27. Sheehan AM, While AE, Coyne I. The experiences and impact of transition from child to adult healthcare services for young people with type 1 diabetes: a systematic review. *Diabetic Medicine* 32(4): 440-58, 2015.
28. Rollo A, Salardi S, Ciavarella A, et al. Transition from pediatric to adult care. Eight years after the transition from pediatric to adult diabetes care: metabolic control, complications and associated diseases. *J Endocrinol Invest* 37: 653-659, 2014.
29. Stanczyk J, Chobot A, Polanska J, Jarosz-Chobot P. Patients with type 1 diabetes transition from pediatric to adult care in Poland—an example from Silesia. *Int J Diabetes Dev Ctries* 34(4): 1-5, 2014.
30. Garvey KC, Wolpert HA, Laffel LM, et al. Health care transition in young adults with type 1 diabetes: barriers to timely establishment of adult diabetes care. *Endocr Pract* 19: 946-952, 2013.
31. Nakhla M, Daneman D, To T, Paradis G, et al. Transition to adult care for youths with diabetes mellitus: findings from a Universal Health Care System. *Pediatrics* 124: e1134-1141, 2009.
32. Tonutti L, Gentile L, De Riu S, et al. Survey AMD. Transizione del paziente giovane diabetico all'ambulatorio dell'adulto. *Il Giornale di AMD* 17: 152-8, 2014.
33. American Academy of Pediatrics, American Academy of Family Physicians, American College of Physicians, Transitions clinical report Authoring Group: Supporting the health care transition from adolescence to adulthood in the medical home. *Pediatrics* 128: 182-200, 2011.
34. Garvey KC, Foster NC, Agarwal S, et al. Health care transition preparation and experiences in a U.S. National Sample of Young adults with type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 40(3): 317-24, 2017.
35. Lotstein DS, Seid M, Klingensmith G, et al. Transition from pediatric to adult care for youth diagnosed with type 1 diabetes in adolescence. *Pediatrics* 131(4): e1062-70, 2013.
36. Garvey KC, Wolpert HA, Rhodes ET, et al. Health care transition in patients with type 1 diabetes: young adult experiences and relationship to glycemic control. *Diabetes Care* 35(8): 1716-22, 2012.
37. Sparud-Lundin C, Ohrn I, Danielson E, et al. Glycaemic control and diabetes care utilization in young adults with type 1 diabetes. *Diabetic Medicine* 25: 968-73, 2008.
38. Cadario F, Prodam F, Bellone S, et al. Transition process of patients with type 1 diabetes (T1DM) from pediatric to the adult health care service: a hospital-based approach. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 71: 346-50, 2009.
39. Garvey KC, Telo GH, Needleman JS, et al. Health Care Transition in Young Adults With Type 1 Diabetes: Perspectives of Adult Endocrinologists in the U.S. *Diabetes Care* 39: 190-6, Feb 2016.
40. White PH, Cooley WC, Transitions Clinical Report Authoring G, American Academy Of P, American Academy Of Family P, American College Of P.: Supporting the Health Care Transition From Adolescence to Adulthood in the Medical Home. *Pediatrics* 142(5): 1-20, 2018.
41. Garvey KC, Telo GH, Needleman JS, et al. Health Care Transition in Young Adults With Type 1 Diabetes: Perspectives of Adult Endocrinologists in the U.S. *Diabetes Care* 39: 190-6, Feb 2016.
42. Hilliard ME, Perlus JG, Clark LM, et al. Perspectives from before and after the pediatric to adult care transition: a mixed-methods study in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 37(2): 346-54, 2014.
43. Van Wallegghem N, Macdonald CA, Dean HJ. Evaluation of a systems navigator model for transition from pediatric to adult care for young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 31(8): 1529-30, 2008.
44. Holmes-Walker DJ, Llewellyn AC, Farrell K. A transition care programme which improves diabetes control and reduces hospital admission rates in young adults with type 1 diabetes aged 15-25 years. *Diabet Med* 24(7): 764-9, 2007.
45. Anderson RJ, Freedland KE, Clouse RE, et al. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 24(6): 1069-78, 2001.
46. Herzer M, Hood KK. Anxiety symptoms in adolescents with type 1 diabetes: association with blood glucose

- monitoring and glycemic control. *J Pediatr Psychol* 35(4): 415-25, 2010.
47. Young V, Eiser C, Johnson B, Brierley S, Epton T, Elliott J, et al. Eating problems in adolescents with type 1 diabetes: a systematic review with meta-analysis. *Diabet Med* 30(2): 189-98, 2013.
  48. Lin EH, Rutter CM, Katon W, Heckbert SR, Ciechanowski P, Oliver MM, et al. Depression and advanced complications of diabetes: a prospective cohort study. *Diabetes Care* 33(2): 264-9, 2010.
  49. Weissberg-Benchell J, Wolpert H, Anderson BJ. Transitioning from pediatric to adult care: a new approach to the post-adolescent young person with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 30: 2441-2446, 2007.
  50. Allen D, Cohen D, Hood K, et al. Continuity of care in the transition from child to adult diabetes services: a realistic evaluation study. *J Health Serv Res Policy* 17: 140-148, 2012.
  51. Price C, Corbett S, Dovey-Pearce G. Barriers and facilitators to implementing a transition pathway for adolescents with diabetes: a health professionals perspective. *Int J Child Adolesc Health* 3: 489-498, 2010.
  52. Wilson V. Students' experiences of managing type 1 diabetes. *Paediatr Nurs* 22: 25-28, 2010.
  53. IDF Diabetes Atlas 2019. 9th ed.
  54. Sparud-Lundin C, Ohrn I, Danielson E. From multidimensional support to decreasing visibility: a field study on care culture in paediatric and adult diabetes outpatient clinics. *Int J Nurs Stud* 45: 180-190, 2008.
  55. Pacaud D, Yale J, Stephure D, Trussell R, Davies HD. Problems in transition from pediatric care to adult care for individuals with diabetes. *Can J Diabetes* 29: 13-18, 2005.
  56. Agosti B, Zarra E, Bonfadini S, et al. La transizione del paziente affetto da diabete di tipo 1 dal centro pediatrico al team multidisciplinare dell'adulto: criticità e outcome. *G It Diabetol Metab* 35: 303-7, 2015.
  57. Price CS, Corbett S, Lewis-Barned N, et al. Implementing a transition pathway in diabetes: a qualitative study of the experiences and suggestions of young people with diabetes. *Child Care Health Dev* 37: 852-860, 2011.
  58. Rankin D, Heller S, Lawton J. Understanding information and education gaps among people with type 1 diabetes: a qualitative investigation. *Patient Educ Couns* 83: 87-91, 2011.
  59. Rapley P, Hart L, Babel G, et al. Young adults transferring to a young adult diabetes clinic: HbA1c and missed appointments. *Australian Diabetes Educator* 10: 10-12, 2007.
  60. Holtslander L, Kornder N, Letourneau N, et al. Finding straight answers: identifying the needs of parents and service providers of adolescents with type 1 diabetes to aid in the creation of an online support intervention. *J Clin Nurs* 21: 2419-2428, 2012.
  61. Vanelli M, Caronna S, Adinolfi B, et al. Effectiveness of an uninterrupted procedure to transfer adolescents with Type 1 diabetes from the paediatric to the adult clinic held in the same hospital: eight-year experience with the Parma protocol. *Diabetes Nutr Metab* 17: 304-308, 2004.
  62. Ritholz MD, Wolpert H, Beste M, et al. Patient-provider relationships across the transition from pediatric to adult diabetes care: a qualitative study. *Diabetes Educator* 40: 40-47, 2013.
  63. Bonfanti R, Lepore G, Bozzetto L, et al. Survey on the use of insulin pumps in Italy: comparison between pediatric and adult age groups (IMITA study). *Acta Diabetologica* 53: 403-412, 2016.
  64. Sherr JL, Hermann JM, Campbell F, et al. Use of insulin pump therapy in children and adolescents with type 1 diabetes and its impact on metabolic control: comparison of results from three large, transatlantic paediatric registries. *Diabetologia* 59(1): 87-91, 2016.
  65. The JDRF Continuous Glucose Monitoring Study Group: Continuous Glucose Monitoring and Intensive Treatment of Type 1 Diabetes. *New England Journal of Medicine* 359: 1464-76, 2008.
  66. Pickup JC, Ford Holloway M, Samsi K. Real-time continuous glucose monitoring in type 1 diabetes: a qualitative framework analysis of patient narratives. *Diabetes Care* 38(4): 544-550, 2015.
  67. Dougherty JP, Lipman TH, Hyams S, Montgomery KA. Telemedicine for adolescents with type 1 diabetes. *West J Nurs Res* 36(9): 1199-1221, 2014.
  68. Thomas Danne, Catarina Limbert: COVID-19, type 1 diabetes, and technology: why paediatric patients are leading the way. *Lancet Diabetes and Endocrinology* May 5, 2020.
  69. Frontino G, Meschi F, Rigamonti A, et al. Opportunities and Challenges of Telemedicine. Letter to the editor in *Diabetes Technology and Therapeutics* 18(6): 404, 2016.

# L'approccio terapeutico al diabete autoimmune dell'adulto (LADA)

Carmen Mignogna\*, Chiara Moretti\*, Ernesto Maddaloni, Raffaella Buzzetti

*Dipartimento di medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma*

*\*hanno contribuito nella stessa misura alla stesura della rassegna*

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003d>

## DEFINIZIONE E CLASSIFICAZIONE DEL LADA

Il diabete autoimmune è una patologia poligenica multifattoriale caratterizzata dalla distruzione delle  $\beta$ -cellule pancreatiche, su base autoimmune, e dal conseguente deficit assoluto di insulina (1). Il diabete latente autoimmune dell'adulto, Latent Autoimmune Diabetes of the Adults (LADA) (2-4), è una forma di diabete autoimmune a lenta progressione che, in Italia, interessa circa il 5% degli adulti con una precedente diagnosi di diabete mellito tipo 2 (DM) (5), come documentato dal progetto NIRAD (Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes) finanziato dalla Fondazione Diabete e Ricerca della SID. Tale progetto, che ha coinvolto 83 centri uniformemente distribuiti su tutto il territorio nazionale, ha contribuito in maniera significativa alla caratterizzazione di questa forma di diabete.

Recentemente riconosciuto nella classificazione del diabete mellito proposta dalla World Health Organization (WHO) (6) e riportato dall'American Diabetes Association (ADA) (7), il LADA si contraddistingue per essere una forma di diabete autoimmune lentamente progressiva, che esordisce in età adulta (età >30 anni), con un deterioramento della funzione  $\beta$ -cellulare tale da non richiedere inizialmente trattamento insulinico (entro 6 mesi dalla diagnosi), a differenza del diabete mellito di tipo 1 (DM1) "classico" che necessita invece di terapia insulinica sostitutiva sin dalla diagnosi (5, 8). Rispetto ai soggetti affetti da DM2 i pazienti con LADA hanno un'età di insorgenza della malattia ad età inferiore ed una ridotta prevalenza di sindrome metabolica (minore HOMA-IR, minore BMI, minore frequenza di ipertensione arteriosa e dislipidemia) (5), ciò sembra comportare una minore prevalenza di eventi cardiovascolari maggiori, come di recente dimostrato (3, 9-11), così come è stato dimostrato che i pazienti LADA hanno un minor rischio di insorgenza di complicanze microvascolari nei primi anni di malattia a differenza dei soggetti affetti da DM2 (12). Tale "protezione" risulta tuttavia reversibile a lungo termine a causa del peggiore compenso glicometabolico (12). Le caratteristiche dei pazienti affetti da LADA sono quindi intermedie tra DM1 e DM2, potendosi manifestare in diversi fenotipi clinici caratterizzati da differenti livelli di autoanticorpi GAD (13) (anti-decarbossilasi dell'acido glutammico) minore o maggiore insulino-resistenza, deficit di secrezione insulinica endogena (14). Proprio l'eterogeneità fisiopatologica e clinica del LADA pone spesso il diabetologo di fronte a importanti difficoltà diagnostiche e terapeutiche.

## IL LADA, QUALE FORMA DI DIABETE AUTOIMMUNE

Numerosi studi hanno dimostrato che il LADA condivide caratteristiche genetiche sia con DM1 che con DM2 (15), sebbene geni specificamente coinvolti nella patogenesi LADA non siano ancora stati identificati. Simile al DM1, la suscettibilità genetica al LADA è fortemente legata al sistema genetico complesso dell'HLA, in particolare gli aplotipi HLA-DRB1 \*04-DQB1 \*0302 e HLA-DRB1 \*0301-DQB1 \*0201 conferiscono il rischio più elevato (16). Nel 2018 è stato eseguito il primo studio di associazione sull'intero genoma (GWAS, Genome-Wide Association Study) di una coorte di oltre 2.000 pazienti LADA (16). Questo studio ha confermato che la base genetica del LADA può essere principalmente assimilata a quella del DM1, in particolare nei casi di LADA con elevati livelli di autoanticorpi GAD. Alcuni studi dimostrano anche un'associazione con il fattore di trascrizione 7-like 2 (TCF7L2) associato al DM2 (17-18), maggiormente nei pazienti con bassi livelli di anticorpi GADA (19). Pertanto, sia le varianti genetiche predisponenti al DM1 che la predisposizione poligenica al DM2 hanno dimostrato di contribuire insieme al complesso background genetico del LADA.

Così come nel DM1, anche nel LADA l'insulite rappresenta il segno distintivo della distruzione immunomediata delle  $\beta$ -cellule (20). Tale processo infiammatorio, inizialmente identificato mediante l'ausilio della scintigrafia pancreatica (20) si caratterizza per un infiltrato di cellule immunitarie prevalentemente linfociti CD8+ citotossici, i principali effettori dell'autoimmunità pancreatica (1, 21).

I test diagnostici necessari per confermarne il sospetto clinico sono la determinazione dei marcatori di autoimmunità e la valutazione della funzionalità  $\beta$ -cellulare mediante misurazione del C-peptide basale e dopo stimolo. Caratteristica biochimica necessaria per la diagnosi di LADA è infatti la positività ad almeno uno dei quattro autoanticorpi comunemente riscontrati nel DM1 [GADA, IA-2A (anticorpi anti-tirosina fosfatasi), ZnT8A (anticorpi anti-Trasportatore 8 dello zinco), IAA (anticorpi anti-insulina)]. I livelli di C-peptide possono anche coadiuvare l'inquadramento diagnostico dei casi dubbi. Essi infatti diminuiscono più lentamente nel LADA rispetto al DM1, e la valutazione di questo marker sierologico alla diagnosi, dopo 6 mesi e successivamente nel corso della malattia può essere utile nel monitorare il deterioramento  $\beta$ -cellulare e la conseguente progressione verso il fabbisogno insulinico (22-24).

L'autoanticorpo più sensibile per la diagnosi di LADA è il GADA (4, 8), i cui livelli anticorpali, secondo quanto dimostrato dallo studio italiano NIRAD (5), può seguire una distribuzione bimodale ed identificare dunque due sottopopolazioni di pazienti, a basso e ad alto titolo anticorpale: i pazienti con elevati livelli di autoanticorpi sono mediamente normopeso e presentano un peggiore compenso glicemico, una minore prevalenza di sindrome metabolica ed una rapida progressione verso il trattamento insulinico, avendo un fenotipo significativamente più simile al DM1 (14). I restanti autoanticorpi  $\beta$ -pancreatici (IA-2 nei diversi epitopi, IAA, ZnT8) sono invece meno frequenti nel LADA (25), tuttavia è stato dimostrato come la positività a 2 o più di essi sia direttamente proporzionale al grado di deficit insulinico: un numero di autoanticorpi maggiore si correla ad un depauperamento  $\beta$ -cellulare più significativo (19-20). L'autoanticorpo IA-2, meno frequente come marcatore dell'autoimmunità del LADA, è suddiviso in diversi epitopi, ognuno dei quali possiede una propria immunoreattività e si correla ai vari fenotipi del diabete autoimmune (26). Gli anticorpi rivolti verso l'epitopo IA-2<sub>(256-760)</sub> sono presenti in circa il 30% dei pazienti LADA, e la presenza di essi sembra identificare una popolazione di pazienti con caratteristiche cliniche e metaboliche maggiormente simili al DM2 (27). È stato infatti rilevato che la presenza di GADA è inversamente proporzionale al BMI dei pazienti con LADA, mentre la presenza degli IA-2A<sub>(256-760)</sub> aumenta con il crescere del valore del BMI (27). Ad avvalorare questa tesi, di recente, è stato dimostrato che l'immunoreattività della porzione extracellulare dell'anticorpo IA-2, che comprende anche parte del segmento IA-2<sub>(256-760)</sub>, correla in maniera significativa con un diabete autoimmune fenotipicamente simile al DM2 rispetto all'immunoreattività nei confronti del frammento IA-2ic tipica di un diabete autoimmune con un profilo clinico "DM1 simile" (23). Nella tabella 1 è riportato un "update" sulle conoscenze relative al LADA, la caratterizzazione di questa forma di diabete è stata possibile grazie ai numerosi studi effettuati negli ultimi anni e in particolare allo studio NIRAD.

**Tabella 1** ◆ **Update delle conoscenze relative al LADA**

TOPIC	CONOSCENZE SINO AL 2017	CONOSCENZE ATTUALI
<b>Definizione di LADA</b>	Definizione dell'IDS del 2005 (8)	Definizione dell'IDS del 2005 (8)
<b>Genetica</b>	La genetica del LADA è a metà strada tra DM1 e DM2 (15).  La maggior parte degli studi sono spesso condotti in una singola popolazione e con un piccolo sample size (42).	Il primo <i>genome-wide association study</i> ha messo definitivamente in luce che il LADA è una forma di DM1 con minore carico genetico (16).  L'associazione di TCF7L2 con LADA è stata messa in discussione (28).
<b>Fisiopatologia</b>	Il processo infiammatorio pancreatico è stato evidenziato nel LADA mediante scintigrafia pancreatica (20).  Il livello dei GADA differenzia il LADA in sottotipi (5).  primi studi che mostrano che differenti epitopi dell'anticorpo IA-2 differiscono tra DM1 e LADA (26-27).	Attualmente è disponibile uno studio fisiopatologico sul pancreas di pazienti affetti da LADA che mostra l'infiltrazione delle cellule immunitarie (cellule T CD8+ e macrofagi) (1).  L'affinità dei GADA, oltre al livello, può differire a seconda del fenotipo clinico (28).  Studi di gruppi indipendenti rafforzano l'ipotesi di differenti "epitope spreading" di IA2 e GAD65 (28).
<b>Complicanze</b>	Pochi studi sottostimati e perlopiù trasversali sul rischio di complicanze microvascolari nel LADA possono variare a seconda della durata di malattia (42).  La malattia macrovascolare nel LADA risulta simile al DM2 nonostante alcune differenze nelle caratteristiche metaboliche (42).	Studi longitudinali a lungo termine mostrano: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tassi inferiori di eventi cardiovascolari maggiori nei LADA rispetto al DM2, spiegati dal migliore profilo cardiometabolico nei LADA (11).</li> <li>• Il rischio di complicanze microvascolari è inferiore nei LADA rispetto al DM2 alla diagnosi, ma influenzato a lungo termine dal peggiore controllo metabolico (12).</li> </ul>

Abbreviazioni: LADA: diabete autoimmune latente dell'adulto; IDS: Società di Immunologia del Diabete; DM1: diabete tipo 1; DM2: diabete tipo 2; GWAS: studio di associazione genome wide; GADA: anticorpi anti acido glutammico decarbossilasi; IA-2: anticorpo anti tirosina fosfatasi 2

## TERAPIA DEL LADA: FOCUS SUL DOCUMENTO DI CONSENSO DEL PANEL DI ESPERTI

I soggetti affetti da LADA sono trattati con i medesimi strumenti terapeutici utilizzati per il DM2, anche perché la maggior parte dei pazienti LADA sono inizialmente inquadrati come pazienti affetti da DM2. Soltanto di recente un panel di esperti ha fornito il primo documento di consenso a riguardo (28).

In questa rassegna, riassumeremo le principali evidenze scientifiche ad oggi disponibili circa la terapia del LADA (Tab. 2), sottolineando quanto sia cruciale, in particolare per questa forma di diabete, un corretto inquadramento delle caratteristiche cliniche del singolo paziente al fine di personalizzare al meglio le scelte terapeutiche.

## DIETA

La terapia medica nutrizionale è parte integrante del trattamento del diabete mellito in tutte le sue forme, ed è raccomandata fin dalla diagnosi al fine di preservare o migliorare la qualità di vita e di prevenire o curare le complicanze, a breve e a lungo termine, e le comorbidità associate al diabete (29). La dietoterapia è il primo fondamentale tassello nella costruzione della corretta terapia del LADA. Nella sua eterogeneità, questa forma di diabete si associa a fattori che favoriscono l'insulino-resistenza e il DM2, come il sovrappeso o l'obesità (30). Pertanto, le strategie nutrizionali (e come vedremo di seguito anche farmacologiche) per il raggiungimento del controllo ponderale e glicemico adottate nel

DM2 potrebbero essere le stesse per il LADA. Una recente revisione della letteratura ha riassunto i potenziali fattori di rischio ambientali, legati allo stile di vita, per il LADA, identificando insulino-resistenza ed obesità come elementi promuoventi la sua insorgenza (31) ed ipotizzando che le stesse modifiche dello stile di vita adottate per la prevenzione e cura del DM2 possano aiutare anche nella prevenzione e cura del LADA. In particolare, un aumentato rischio di LADA è stato documentato nei forti consumatori di caffè ( $\geq 4$  tazze/die), soprattutto in pazienti con genotipo HLA ad alto rischio (32), e nei consumatori di bevande zuccherate (assunzione giornaliera di più di 400 ml al giorno di bevande zuccherate) (33).

La dietoterapia nel LADA è inoltre necessaria per adeguare il trattamento insulinico, laddove necessario, all'apporto di nutrienti.

## VITAMINA D

Dati clinici recenti hanno suggerito che nel diabete autoimmune l'aggiunta della vitamina D, nelle sue diverse formulazioni, possa espletare un'azione immunomodulatrice sulle isole di Langherans, proteggendo quindi la  $\beta$ -cellula dalla distruzione immuno-mediata (34). A questo proposito, la vitamina D<sub>3</sub> in aggiunta a saxagliptin potrebbe aiutare a mantenere la funzione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche nei LADA (35). È stato anche dimostrato che la combinazione di terapia insulinica e 1-alfa OH D<sub>3</sub> (alfacalcidiolo) potrebbe associarsi ad un incremento dei livelli di C-peptide basale a digiuno nel 70% dei pazienti LADA, rispetto ai pazienti trattati con la sola insulina (36), e ad un allungamento del tempo di insulino-indipendenza (37). Il razionale quindi dell'utilizzo della vitamina D come terapia adiuvante immunomodulante nel diabete autoimmune, ivi compreso il LADA, potrebbe risiedere nella sua potenziale capacità di ripristinare la tolleranza immunitaria, nel contrastare la risposta autoimmune, nel rallentare la progressione della malattia e nel conservare la massa e la funzione  $\beta$ -cellulare (34). Tuttavia, al momento studi clinici sull'efficacia della vitamina D come agente immunomodulatore nel diabete autoimmune hanno portato a risultati inconcludenti rendendo necessari studi specificamente condotti nella popolazione affetta da LADA.

## METFORMINA

La metformina è la pietra miliare ed il farmaco di prima scelta nella terapia del DM2 (38), in quanto sicuro, efficace, poco costoso e potenzialmente in grado di ridurre il rischio di decesso ed eventi cardiovascolari maggiori (39). Come già commentato, la maggior parte dei soggetti LADA riceve una errata diagnosi di DM2 ed un primo approccio terapeutico con metformina, prima del corretto inquadramento diagnostico. Sebbene ci siano poche evidenze in merito all'utilizzo di metformina nei pazienti con LADA, non ci sono evidenze scientifiche che ne controindichino l'utilizzo. È stato recentemente dimostrato come la metformina, così come accade nel DM2, sia in grado di incrementare l'insulino-sensibilità anche nel DM1 (40) e di migliorare alcuni fattori di rischio cardiovascolare, come il peso corporeo e/o l'assetto lipidico, anche alla luce delle ultime evidenze sugli effetti anti-aterogeni del farmaco (41). Restano comunque limitate le evidenze sugli effetti a lungo termine sul compenso glicemico nel diabete autoimmune. Al momento non risulta disponibile alcun trial clinico randomizzato controllato circa l'efficacia della metformina sul compenso glicometabolico e sulla funzionalità  $\beta$ -cellulare nei pazienti con LADA.

## SECRETAGOGHI

Sebbene le evidenze scientifiche relative all'utilizzo di solfuniluree nei soggetti affetti da LADA (42) non siano numerose, gli studi in merito hanno comunque rilevato una stretta e significativa associazione tra il loro utilizzo ed un rapido declino della funzione  $\beta$ -cellulare in termini di riduzione dei livelli basali e post prandiali di C-peptide, con conseguente necessità di terapia insulinica sostitutiva precoce (43-44) a causa di scompenso glicemico (45). Le sulfaniluree sono dunque da evitare nel trattamento dei LADA.

**Tabella 2** ♦ **Vantaggi e svantaggi delle diverse scelte terapeutiche per la gestione del diabete autoimmune dell'adulto (LADA)**

FARMACO	VANTAGGI	SVANTAGGI
<b>Vitamina D</b>	Proprietà immunomodulatorie	Evidenze contrastanti sulla sua efficacia nel diabete
<b>Metformina</b>	Basso costo Utile nei LADA con insulino resistenza	Evidenze limitate nei LADA
<b>Tiazolidinedioni</b>	Potenziale ruolo nel preservare la $\beta$ -cellula Effetti anti-apoptotici $\beta$ -cellulare Utile negli individui con elevata insulino resistenza	Incremento ponderale Nessun effetto sui soggetti magri Ritenzione idrica
<b>Solfuniluree</b>	Basso costo	Rischio di ipoglicemia Esacerbazione dell'autoimmunità Depauperamento della funzionalità $\beta$ -cellulare
<b>Acarbosio</b>	Utile nel controllo glicemico post-prandiale	Nessuna evidenza nei LADA Frequenti eventi collaterali gastrointestinali
<b>DPP-IV inibitori</b>	Proprietà immunomodulatorie Potenziale ruolo nel preservare sopravvivenza e la funzione delle cellule $\beta$	Effetti minimi ipoglicemizzanti Studio prospettici con piccola campionatura ed al momento inconclusivi
<b>GLP-1 agonisti recettoriali</b>	Buoni effetti su HbA <sub>1c</sub> e sui marcatori della funzione delle cellule $\beta$	Effetti collaterali gastrointestinali Evidenze limitate nel LADA
<b>SGLT-2 inibitori</b>	Effetti benefici cardiovascolari e renali	Rischio di chetoacidosi euglicemica Evidenze limitate nel LADA
<b>Insulina</b>	Sicurezza ed efficacia provata Soppressione dell'autoimmunità Possibili benefici cardiovascolari nel LADA	Rischio di ipoglicemia e di incremento ponderale

Abbreviazioni: DPP4, dipeptidil peptidasi 4; GLP1, peptide 1 simile al glucagone; SGLT2, co-trasportatore sodio-glucosio

## ACARBOSIO

Attualmente, non sono presenti in letteratura evidenze scientifiche in merito all'utilizzo di inibitori delle alfa-glucosidasi nei pazienti LADA. Tuttavia, sono stati condotti un modesto numero di studi clinici controllati volti a valutare l'efficacia dell'acarbosio come terapia di combinazione all'insulina nel DM1. Tali studi concludevano che l'aggiunta di acarbosio alla terapia insulinica poteva tradursi in una riduzione delle escursioni glicemiche post-prandiali, del fabbisogno insulinico giornaliero ed in un miglioramento del quadro lipidico, nonostante effetti avversi gastrointestinali (diarrea, flatulenza) che spesso interferiscono sull'aderenza alla terapia (46-48).

## TIAZOLIDINEDIONI

Pochi sono gli studi sull'utilizzo dei tiazolidinedioni in pazienti LADA, i quali tuttavia hanno evidenziato un loro potenziale effetto protettivo anti-apoptotico sulla  $\beta$ -cellula (49). In considerazione degli effetti insulino-sensibilizzanti degli agonisti del PPAR-gamma, tale classe di farmaci potrebbe essere ideale per il trattamento dei pazienti LADA insulino-resistenti. Tuttavia, l'eventuale rischio di fratture ossee, di edema maculare e di incremento ponderale ad essi connesso potrebbe limitarne l'utilizzo.

## DPP4I

Alcuni studi hanno suggerito un ruolo positivo nel miglioramento del controllo glicemico e nella preservazione della funzione  $\beta$ -cellulare da parte dei farmaci che agiscono sul sistema delle incretine (44, 50-53). È stato, ad esempio, dimostrato che nei pazienti LADA il sitagliptin modifica il fenotipo T cellulare, aumentando le cellule T helper 2, protettive, e diminuendo le cellule T helper 17, patogene, risultando anche in un miglioramento del controllo glicemico (54). In un recente studio effettuato su 64 pazienti LADA (55) è stato confrontato il livello di C-peptide dopo stimolo con glucagone a seguito di 21 mesi di trattamento con insulina vs sitagliptin. Il controllo metabolico durante l'intervento non differiva tra i due bracci di trattamento e la funzione  $\beta$ -cellulare post-intervento era simile tra i due gruppi di pazienti. Inoltre, i livelli di C-peptide erano significativamente peggiorati nel gruppo di pazienti con alti livelli di anticorpi GADA, indipendentemente dal trattamento. Di contro, un altro studio, benché condotto su un numero limitato di pazienti ( $n=30$ ), ha rilevato come l'aggiunta di sitagliptin alla terapia insulinica, potesse avere un effetto benefico sul declino del C-peptide rispetto al trattamento con la sola insulina (50). In un'analisi post-hoc di dati aggregati di cinque studi randomizzati e controllati con placebo condotti su un totale di 2709 pazienti, il trattamento con saxagliptin ha migliorato la funzione  $\beta$ -cellulare, come valutato dall'HOMA2- $\beta$  e dal C-peptide postprandiale, sia nei pazienti GADA-positivi che in quelli GADA-negativi (51). Un altro recente studio ha dimostrato, come la terapia combinata con vitamina D<sub>3</sub> + saxagliptin possa contribuire a preservare la funzione delle  $\beta$ -cellule pancreatiche nei pazienti con LADA (35). Sebbene questi studi presentino diversi limiti (ad esempio la piccola dimensione del campione, i brevi periodi di follow-up, l'eterogeneità tra gli studi), gli inibitori della dipeptidil-peptidasi 4 rappresentano una potenziale arma terapeutica per una gestione efficace del LADA.

## GLP1-RA

I potenziali benefici degli agonisti recettoriali del GLP1 (GLP-1RA) nei pazienti con LADA sono stati recentemente valutati in un'analisi post-hoc di studi randomizzati di fase 3 (AWARD-2, -4 e -5) facenti parte del programma di sviluppo clinico del farmaco dulaglutide nel trattamento del DM2. Lo studio ha mostrato che dulaglutide (un agonista del recettore del GLP-1 somministrato una volta alla settimana) ha ridotto significativamente i livelli di HbA<sub>1c</sub> e aumentato i markers di funzione  $\beta$ -cellulare nei pazienti definiti LADA (GADA positivi) (56). Il trattamento con dulaglutide, in particolare, ha determinato una diminuzione sovrapponibile dei valori di HbA<sub>1c</sub> nei pazienti GADA-negativi e GADA-positivi ad 1 anno dalla diagnosi, rilevandosi di poco più efficace nei pazienti LADA con bassi livelli di autoanticorpi rispetto a quelli con elevati livelli di autoanticorpi (56). Altri studi hanno tuttavia evidenziato una peggior risposta glicemica agli analoghi del GLP-1RA exenatide e liraglutide in un piccolo gruppo di pazienti ( $n=19$ ) con positività autoanticorpale e bassi livelli di C-peptide a digiuno ( $0,25$  nmol/L) (57). Sono comunque necessari studi su larga scala, prospettici e randomizzati con follow-up a lungo termine per confermare l'efficacia dei GLP-1RA nel preservare il controllo metabolico e nel ritardare la progressione verso la dipendenza da insulina nel LADA.

## SGLT2I

Un'opzione terapeutica promettente nella terapia del LADA potrebbe essere l'uso di inibitori del co-trasportatore sodio-glucosio 2 (SGLT2i) per il loro potenziale ruolo nella rigenerazione delle  $\beta$ -cellule e nella capacità di ridurre l'HbA<sub>1c</sub> (58-59), ma i dati disponibili sono ancora scarsi e il rischio di possibile chetoacidosi non deve essere trascurato. Sebbene non siano stati condotti studi di intervento su pazienti con LADA, studi clinici internazionali, multicentrici e randomizzati su oltre 5.000 pazienti con DM1 confermano l'efficacia e la sicurezza dell'aggiunta di SGLT2i a regimi insulinici esistenti (58-61) in pazienti con diabete autoimmune. Dapagliflozin, è stato recentemente approvato dall'Agenzia europea dei medicinali per l'uso in adulti con DM1, con BMI di almeno  $27$  kg/m<sup>2</sup> e che non siano riusciti a ottenere un controllo glicemico adeguato nonostante la terapia insulinica ottimale. L'approvazione si è basata sui dati degli stu-

di clinici di fase III DEPICT. L'inibizione dell'SGLT in aggiunta alla terapia insulinica conferisce ulteriori benefici in termini di riduzione dell'HbA<sub>1c</sub>, di riduzione della variabilità del glucosio, di riduzione del peso, sebbene contenuta e di ridotte dosi giornaliere totali di insulina, senza aumentare il rischio di ipoglicemia. Tuttavia, nel diabete autoimmune esiste un rischio maggiore di chetoacidosi, spesso non associata a iperglicemia, soprattutto nei pazienti non in sovrappeso. Questa caratteristica è di particolare importanza in quei pazienti LADA con livelli di C-peptide medi o bassi, soprattutto se non trattati con insulina. L'SGLT2i potrebbe mascherare i segni di una progressione verso la carenza di insulina (che spesso si presenta come iperglicemia post-prandiale) e tuttavia aumentare il rischio di chetoacidosi. Pertanto, quando si decide di iniziare una terapia con SGLT2i nei pazienti con LADA, questi devono essere avvisati circa l'importanza di monitorare la chetosi, misurando la chetonemia e/o la chetonuria regolarmente, anche giornalmente, come raccomandato (62), e di interrompere l'SGLT2i prima di programmare procedure chirurgiche o in condizioni metabolicamente stressanti associate con potenziali sintomi o segni di chetoacidosi. L'uso approvato degli SGLT2i sia in pazienti con DM2 che in pazienti con DM1 selezionati, in particolare quelli in sovrappeso, suggerisce che potrebbero essere agenti promettenti anche per il trattamento del LADA. Tuttavia, sono necessari altri studi per confermare tale affermazione.

## INSULINA

È noto che la terapia insulinica precoce è in grado di preservare la funzione delle cellule  $\beta$  (63). I pazienti con LADA hanno, per definizione, una discreta funzione  $\beta$ -cellulare residua al momento della diagnosi e, in generale, una lenta progressione verso la dipendenza da insulina. Una questione importante e ancora dibattuta è se per questi pazienti la terapia insulinica debba essere o meno un trattamento precoce (64). Difatti, non esistono molti dati da studi randomizzati e controllati con una durata sufficiente del follow-up per trarre una conclusione. Dati a sostegno dell'efficacia di un trattamento insulinico precoce nel trattamento del LADA provengono da un'analisi post-hoc dello studio UKPDS, che sembra suggerire una riduzione della mortalità cardiovascolare nel sottogruppo di pazienti positivi agli autoanticorpi trattati con insulina sin dalla diagnosi (11). Questo risultato dovrebbe però essere valutato in studi interventistici controllati randomizzati, in particolare alla luce dei benefici cardiovascolari che sono stati osservati con alcune nuove classi di farmaci euglicemizzanti. Inoltre, nonostante queste evidenze, è ancora difficile determinare il momento più adatto per iniziare la terapia insulinica ed il giusto regime di terapia insulinica. L'insulina, dunque, è spesso la scelta terapeutica più frequente nei pazienti con LADA per la sua comprovata efficacia sia nel controllo dell'iperglicemia che nel preservare le  $\beta$ -cellule. Tuttavia, in alcuni pazienti che mostrano un fenotipo resistente all'insulina e con una buona riserva di cellule  $\beta$ , l'insulina, che è associata ad un aumentato rischio di ipoglicemia e ad aumento di peso, potrebbe non essere la migliore strategia terapeutica.

## QUALE ALGORITMO TERAPEUTICO? VERSO LA PERSONALIZZAZIONE DELLA TERAPIA DEL LADA

Obiettivo generale di un approccio personalizzato per la gestione del LADA è quello di ottenere un buon controllo metabolico e preservare la funzione delle cellule  $\beta$ . È importante sottolineare che, per una corretta personalizzazione della terapia, il primo passo è stabilire le caratteristiche cliniche e fisiopatologiche del singolo paziente, per poi poter scegliere il percorso terapeutico più adeguato.

A tal riguardo, la misurazione del C-peptide potrebbe essere d'aiuto per ottimizzare il processo decisionale per la scelta del trattamento dei pazienti con LADA. È stato infatti proposto di individuare tre categorie di pazienti LADA sulla base dei valori del C-peptide (Tab. 3):

1. Pazienti con livelli di C-peptide  $<0,3$  nmol/L, per i quali è raccomandabile l'inizio della terapia insulinica multiiniettiva.
2. Pazienti con valori di C-peptide  $\geq 0,3$  e  $\leq 0,7$  nmol/L ("zona grigia"), per i quali si consiglia di seguire le linee guida dell'American Diabetes Association (ADA)/European Association for the Study of Diabetes (EASD) per il trattamento

**Tabella 3** ◆ Valori del C-peptide e raccomandazioni terapeutiche

MARCATORE	VALORE C-PEPTIDE	RACCOMANDAZIONE
C-peptide	<0,3 nmol/L	Iniziare trattamento insulinico multiiniettivo
	≥0,3 e ≤0,7 nmol/L ("zona grigia")	Iniziare trattamento secondo le linee guida ADA/EASD come per il DM2, evitando sulfaniluree; e considerare l'uso di insulina basale in combinazione con GLP1-RA o SGLT2i se HbA1c >9%
	>0,7 nmol/L	Iniziare trattamento secondo le linee guida ADA/EASD come per il DM2; monitorare C-peptide nel tempo

del DM2, evitando i farmaci ipoglicemizzanti che possono avere un effetto negativo sul deterioramento della funzione  $\beta$ -cellulare. È consigliabile da subito l'utilizzo della terapia insulinica in combinazione ad altre terapie con dimostrata efficacia nella prevenzione delle complicanze del diabete, se HbA1c >9%. Il follow-up dei pazienti in questa categoria dovrebbe avvenire almeno ogni 6 mesi. Inoltre, è importante sottolineare che molti pazienti affetti da DM1 ad esordio in età adulta presentano al momento della diagnosi livelli di C-peptide simili ai pazienti con LADA; pertanto i pazienti con marcata iperglicemia potrebbero dover iniziare sin da subito una terapia insulinica multiiniettiva con uno stretto follow-up della terapia.

3. Pazienti con valori di C-peptide >0,7 nmol/L, per i quali è raccomandabile seguire le linee guida dell'American Diabetes Association (ADA)/European Association for the Study of Diabetes (EASD) per il trattamento del DM2, con la differenza che nei pazienti con LADA dovrebbe essere eseguita frequentemente la determinazione del C-peptide, soprattutto in caso di peggioramento del controllo metabolico.

La metformina è raccomandata nei pazienti GADA-positivi (in particolare se obesi) che non possono essere "controllati" con la sola dieta. L'aggiunta di altri agenti ipoglicemizzanti, come i farmaci incretino mimetici (GLP-1RA o DPP-4i), TZD e SGLT2i, può conferire alcuni vantaggi aggiuntivi, ad es. perdita di peso, protezione cardiovascolare/renale.

## CONCLUSIONI

L'identificazione ed il trattamento del LADA pongono i medici dinanzi a delle sfide cliniche significative. Alcuni progressi rilevanti nella comprensione della fisiopatologia e delle implicazioni cliniche di tale forma di diabete sono stati compiuti molto recentemente, ma, nonostante il progresso della ricerca, il problema clinico di come gestire i pazienti con il LADA non è stato ancora del tutto risolto. Gli obiettivi della terapia ideale dovrebbero essere la preservazione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche residue, il raggiungimento di un adeguato controllo metabolico, il dilazionamento o la prevenzione delle complicanze micro e macrovascolari. Tuttavia, l'elevata eterogeneità del LADA rende molto difficile identificare la terapia ottimale per questa forma di diabete. La soluzione preferibile potrebbe essere un approccio individualizzato, con una terapia su misura basata sulle caratteristiche dei singoli pazienti.

## Ringraziamenti

Un particolare ringraziamento alla Fondazione Diabete e Ricerca della Società Italiana di Diabetologia che ha permesso la realizzazione del progetto NIRAD, e a tutti i centri per la cura del diabete in Italia che hanno consentito il reclutamento dei pazienti con DM2.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ilonen J, Lempainen J, Veijola R. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 15: 635-650, 2019.
2. Tuomi T, et al. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. *Diabetes*, 1993. doi: 10.2337/diab.42.2.359.

3. Hawa MI, et al. Adult-onset autoimmune diabetes in Europe is prevalent with a broad clinical phenotype: Action LADA 7. *Diabetes Care* 36: 908-13, 2013.
4. Pozzilli P, Peralice S. Latent Autoimmune Diabetes in Adults: Current Status and New Horizons. *Endocrinol Metab* 33: 147-159, 2018.
5. Buzzetti R, et al. High titer of autoantibodies to GAD identifies a specific phenotype of adult-onset autoimmune diabetes. *Diabetes Care* 30: 932-8, 2007.
6. Kazi AA, Blonde L. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2019. doi: 10.1016/S0140-6736(77)92735-0.
7. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care* 42: S13-S28, 2019.
8. Fourlanos S, et al. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) should be less latent. *Diabetologia* 48: 2206-12, 2005.
9. Tuomi T, et al. Clinical and genetic characteristics of type 2 diabetes with and without GAD antibodies. *Diabetes* 48: 150-7, 1999.
10. Naik RG, Palmer JP. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2003. doi: 10.1023/A:1025148211587.
11. Maddaloni E, Coleman RL, Pozzilli P, Holman RR. Long-term Risk of Cardiovascular Disease in Individuals with Latent Autoimmune Diabetes of Adults (UKPDS 85). *Diabetes Obes Metab*, 2019. doi:10.1111/dom.13788.
12. Maddaloni E, Coleman RL, Agbaje O, Buzzetti R, Holman RR. Time-varying risk of microvascular complications in latent autoimmune diabetes of adulthood compared with type 2 diabetes in adults: a post-hoc analysis of the UK Prospective Diabetes Study 30-year follow-up data (UKPDS 86). *Lancet Diabetes Endocrinol* 8: 206-215, 2020.
13. Zampetti S, et al. GADA titer-related risk for organ-specific autoimmunity in LADA subjects subdivided according to gender (NIRAD study 6). *J Clin Endocrinol Metab* 97: 3759-65, 2012.
14. Zampetti S, et al. High GADA titer increases the risk of insulin requirement in LADA patients: a 7-year follow-up (NIRAD study 7). *Eur J Endocrinol* 171: 697-704, 2014.
15. Andersen MK, Hansen T. Genetic Aspects of Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Mini-Review. *Curr Diabetes Rev* 15: 194-198, 2018.
16. Cousminer DL, et al. First Genome-Wide Association Study of Latent Autoimmune Diabetes in Adults Reveals Novel Insights Linking Immune and Metabolic Diabetes. *Diabetes Care* 41: 2396-2403, 2018.
17. Pettersen E, Skorpen F, Kvaløy K, Midthjell K, Grill V. Genetic heterogeneity in latent autoimmune diabetes is linked to various degrees of autoimmune activity: results from the Nord-Trøndelag Health Study. *Diabetes* 59: 302-10, 2010.
18. Andersen MK, et al. Type 2 diabetes susceptibility gene variants predispose to adult-onset autoimmune diabetes. *Diabetologia* 57: 1859-68, 2014.
19. Zampetti S, et al. Association of TCF7L2 gene variants with low GAD autoantibody titre in LADA subjects (NIRAD Study 5). *Diabet Med* 27: 701-4, 2010.
20. Signore A, et al. Detection of insulinitis by pancreatic scintigraphy with 99mTc-Labeled IL-2 and MRI in patients with LADA (Action LADA 10). *Diabetes Care*, 2015. doi: 10.2337/dc14-0580.
21. Yoon JW, Jun HS. Autoimmune destruction of pancreatic  $\beta$  cells. *American Journal of Therapeutics*, 2005. doi: 10.1097/01.mjt.0000178767.67857.63.
22. Liu L, et al. Latent autoimmune diabetes in adults with low-titer gad antibodies: Similar disease progression with type 2 diabetes :A nationwide, multicenter prospective study (lada china study 3). *Diabetes Care*, 2015. doi: 10.2337/dc14-1770.
23. Hernandez M, et al. Insulin secretion in patients with latent autoimmune diabetes (LADA): half way between type 1 and type 2 diabetes: action LADA 9. *BMC Endocr Disord* 15(1), 2015.
24. Maddaloni E, Moretti C, Mignogna C, Buzzetti R. Adult-onset autoimmune diabetes in 2020: An update. *Maturitas* 137: 37-44, 2020.

25. Lampasona V, et al. Zinc transporter 8 antibodies complement GAD and IA-2 antibodies in the identification and characterization of adult-onset autoimmune diabetes: Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) 4. *Diabetes Care* 33: 104-8, 2010.
26. Tiberti C, et al. Identification of tyrosine phosphatase 2(256-760) construct as a new, sensitive marker for the detection of islet autoimmunity in type 2 diabetic patients: the non-insulin requiring autoimmune diabetes (NIRAD) study 2. *Diabetes* 57: 1276-83, 2008.
27. Buzzetti R, et al. Tyrosine phosphatase-related islet antigen 2(256-760) autoantibodies, the only marker of islet autoimmunity that increases by increasing the degree of BMI in obese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 38: 513-20, 2015.
28. Buzzetti R, et al. Management of Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Consensus Statement From an International Expert Panel. *Diabetes*, 2020. doi: 10.2337/dbi20-0017.
29. 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 2020. doi: 10.2337/dc20-S003.
30. Carlsson S, Etiology and pathogenesis of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) compared to type 2 diabetes. *Front Physiol*, 2019. doi: 10.3389/fphys.2019.00320.
31. Carlsson S. Environmental (Lifestyle) Risk Factors for LADA. *Curr Diabetes Rev* 15: 178-187, 2019.
32. Rasouli B, et al. Coffee consumption, genetic susceptibility and risk of latent autoimmune diabetes in adults: A population-based case-control study. *Diabetes Metab*, 2018. doi: 10.1016/j.diabet.2018.05.002.
33. Löfvenborg JE, et al. Sweetened beverage intake and risk of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) and type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol*, 2016. doi: 10.1530/EJE-16-0376.
34. Infante M, et al. Influence of Vitamin D on Islet Autoimmunity and Beta-Cell Function in Type 1 Diabetes. *Nutrients*, 2019. doi:10.3390/nu11092185.
35. Zhang Z, et al. Adding vitamin D<sub>3</sub> to the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor saxagliptin has the potential to protect  $\beta$ -cell function in LADA patients: A 1-year pilot study. *Diabetes Metab Res Rev*. e3298, 2020. doi: 10.1002/dmrr.3298.
36. Li X, et al. Protective effects of 1- $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on residual  $\beta$ -cell function in patients with adult-onset latent autoimmune diabetes (LADA). *Diabetes Metab Res Rev*, 2009. doi:10.1002/dmrr.977.
37. Rapti E, et al. Combined treatment with sitagliptin and vitamin D in a patient with latent autoimmune diabetes in adults. *Endocrinol. Diabetes Metab. Case Reports*, 2016. doi: 10.1530/edm-15-0136.
38. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 2020. doi: 10.2337/dc20-S009.
39. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-Year Follow-up of Intensive Glucose Control in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 359: 1577-1589 (2008).
40. Cree-Green M, et al. Metformin Improves Peripheral Insulin Sensitivity in Youth with Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019. doi: 10.1210/jc.2019-00129.
41. Livingstone R, Boyle JC, Petrie JR. A new perspective on metformin therapy in type 1 diabetes. *Diabetologia*, 2017. doi: 10.1007/s00125-017-4364-6.
42. Buzzetti R, Zampetti S, Maddaloni E. Adult-onset autoimmune diabetes: current knowledge and implications for management. *Nat Rev Endocrinol* 13: 674-686, 2017.
43. Yang Z, Zhou Z, Li X, Huang G, Lin J. Rosiglitazone preserves islet beta-cell function of adult-onset latent autoimmune diabetes in 3 years follow-up study. *Diabetes Res Clin Pract* 83: 54-60, 2009.
44. Johansen OE, et al. C-peptide levels in latent autoimmune diabetes in adults treated with linagliptin versus glimepiride: exploratory results from a 2-year double-blind, randomized, controlled study. *Diabetes Care* 37: e11-2, 2014.
45. Maruyama T, et al. Insulin intervention in slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 2115-21, 2008.
46. Sels JPJE, Verdonk HER, Wolffenbuttel BHR. Effects of acarbose (Glucobay®) in persons with type 1 diabetes: A multicentre study. *Diabetes Res Clin Pract*, 1998. doi: 10.1016/S0168-8227(98)00070-9.

47. Riccardi G, et al. Efficacy and safety of acarbose in the treatment of Type 1 diabetes mellitus: A placebo-controlled, double-blind, multicentre study. *Diabet Med*, 1999. doi: 10.1046/j.1464-5491.1999.00047.x.
48. Ziaee A, Esmailzadehha N, Honardoost M. Comparison of adjunctive therapy with metformin and acarbose in patients with Type-1 diabetes mellitus. *Pakistan J Med Sci*, 2017. doi: 10.12669/pjms.333.12669.
49. Zhou Z, et al. Rosiglitazone combined with insulin preserves islet beta cell function in adult-onset latent autoimmune diabetes (LADA). *Diabetes Metab Res Rev* 21: 203-8, 2005.
50. Zhao Y, et al. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin maintains  $\beta$ -cell function in patients with recent-onset latent autoimmune diabetes in adults: one year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 99: E876-80, 2014.
51. Buzzetti R, Pozzilli P, Frederich R, Iqbal N, Hirshberg B. Saxagliptin improves glycaemic control and C-peptide secretion in latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Diabetes Metab Res Rev*, 2016. doi: 10.1002/dmrr.2717.
52. Fusco J, et al. GLP-1/Exendin-4 induces  $\beta$ -cell proliferation via the epidermal growth factor receptor. *Sci Rep* 7(9100), 2017.
53. Kawamori D, et al. GLP-1 signalling compensates for impaired insulin signalling in regulating beta cell proliferation in  $\beta$ IRKO mice. *Diabetologia*, 2017. doi: 10.1007/s00125-017-4303-6.
54. Wang X, et al. Altered T-cell subsets and transcription factors in latent autoimmune diabetes in adults taking sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor: A 1-year open-label randomized controlled trial. *J Diabetes Investig*, 2019. doi: 10.1111/jdi.12873.
55. Hals IK, et al. Investigating optimal  $\beta$ -cell-preserving treatment in latent autoimmune diabetes in adults: Results from a 21-month randomized trial. *Diabetes, Obes Metab* 21: 2219-2227, 2019.
56. Pozzilli P, et al. Dulaglutide treatment results in effective glycaemic control in latent autoimmune diabetes in adults (LADA): A post-hoc analysis of the AWARD-2, -4 and -5 Trials. *Diabetes, Obes Metab* 20: 1490-1498, 2018.
57. Jones AG, et al. Markers of  $\beta$ -cell failure predict poor glycemic response to GLP-1 receptor agonist therapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2016. doi: 10.2337/dc15-0258.
58. Cheng STW, Chen L, Li SYT, Mayoux E, Leung PS. The effects of empagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on pancreatic  $\beta$ -cell mass and glucose homeostasis in type 1 diabetes. *PLoS One*, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0147391.
59. Mathieu C, et al. Efficacy and safety of dapagliflozin in patients with inadequately controlled type 1 diabetes (the DEPICT-2 study): 24-week results from a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2018. doi: 10.2337/dc18-0623.
60. Dandona P, et al. Efficacy and safety of dapagliflozin in patients with inadequately controlled type 1 diabetes: The DEPICT-1 52-week study. *Diabetes Care*, 2018. doi: 10.2337/dc18-1087.
61. Rosenstock J, et al. Empagliflozin as adjunctive to insulin therapy in type 1 diabetes: The EASE trials. *Diabetes Care*, 2018. doi: 10.2337/dc18-1749.
62. Danne T, et al. International consensus on risk management of diabetic ketoacidosis in patients with type 1 diabetes treated with sodium-glucose cotransporter (SGLT) inhibitors. *Diabetes Care* 2019. doi: 10.2337/dc18-2316.
63. Thunander M, Thorgeirsson H, Törn C, Petersson C, Landin-Olsson M.  $\beta$ -cell function and metabolic control in latent autoimmune diabetes in adults with early insulin versus conventional treatment: a 3-year follow-up. *Eur J Endocrinol* 164: 239-45, 2011.
64. Kobayashi T, Nakanishi K, Murase T, Kosaka K. Small doses of subcutaneous insulin as a strategy for preventing slowly progressive beta-cell failure in islet cell antibody-positive patients with clinical features of NIDDM. *Diabetes* 45: 622-6, 1996.

a cura di Marta Letizia Hribal

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università Magna Graecia di Catanzaro

ARTICOLI SELEZIONATI E COMMENTATI

## Il Diabete n. 3/2020

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003e>

### Adding vitamin D<sub>3</sub> to the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor saxagliptin has the potential to protect $\beta$ -cell function in LADA patients: A 1-year pilot study ● *Risultati di uno studio pilota per la valutazione degli effetti della vitamina D<sub>3</sub>, in aggiunta ad un inibitore di DPP-IV, sulla funzionalità $\beta$ -cellulare in pazienti LADA*

Ziwei Zhang, Xiang Yan, Chao Wu, Xieyi Pei, Xia Li, Xiangbing Wang, Xiaohong Niu, Hongwei Jiang, Xiaomin Zeng, Zhiguang Zhou

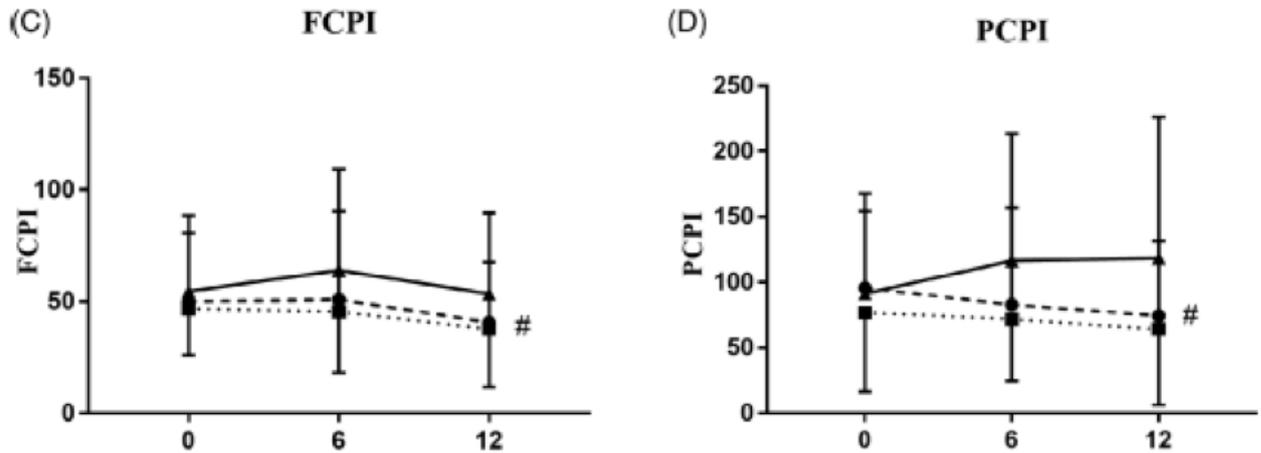
Diabetes Metab Res Rev 36: e3298, 2020

L'Editoriale di questo numero a firma della prof.ssa Raffaella Buzzetti e dei suoi collaboratori, riassume brillantemente lo stato dell'arte dell'approccio terapeutico al diabete autoimmune dell'adulto (LADA). Tra i diversi possibili interventi farmacologici, gli autori di questo studio, condotto in 40 ospedali cinesi, hanno concentrato la loro attenzione sul ruolo della vitamina D<sub>3</sub> somministrata in aggiunta al trattamento con inibitori di DPP-IV e alla terapia standard con metformina e/o insulina. I 60 soggetti inclusi nello studio sono stati assegnati tramite un algoritmo di normalizzazione ad uno dei seguenti gruppi di trattamento: terapia standard (gruppo A, n=21); terapia standard+saxagliptin (gruppo B, n=20), terapia standard+saxagliptin+vitamina D<sub>3</sub> (gruppo C, n=19). I soggetti sono stati esaminati al tempo zero e poi a 3,6 e 12 mesi dall'inizio del trattamento. La funzionalità  $\beta$ -cellulare è stata valutata tramite test di tolleranza al pasto misto (44,4% di calorie dai carboidrati, 47,7% dai grassi e 7,9% dalle proteine per un totale di 543,6 kCal). Nel gruppo C, in trattamento con vitamina D<sub>3</sub>, si osservava un significativo miglioramento del rapporto tra livelli di peptide C e glucosio (indice del C-peptide) sia a digiuno che dopo carico, ad indicare un miglioramento della funzione delle  $\beta$ -cellule pancreatiche.

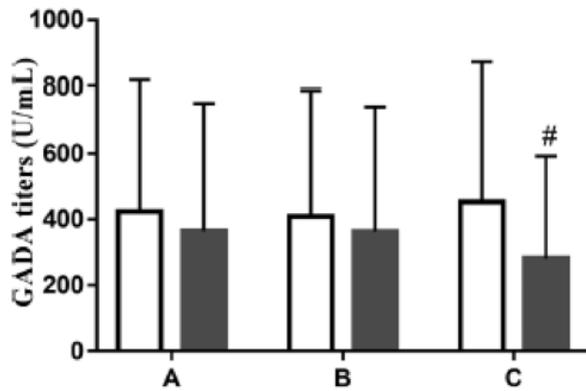
Nel gruppo C inoltre si osservava, come atteso, un significativo incremento dei livelli sierici di vitamina D<sub>3</sub>. Il titolo degli anticorpi GAD risultava inoltre significativamente ridotto a 6 mesi nei soggetti in trattamento con vitamina D<sub>3</sub>, mentre non si osservavano variazioni significative negli altri due gruppi.

In nessuno dei tre gruppi di trattamento sono state osservate variazioni di ICM (Indice di Massa Corporea), valori pressori, glicemia post-prandiale, livelli di emoglobina glicata e parametri lipidici. Le dosi di insulina utilizzate erano più elevate nel gruppo C all'inizio del trattamento, il che potrebbe suggerire che la funzionalità  $\beta$ -cellulare fosse maggiormente compromessa in questo gruppo all'inizio dello studio. Ben il 40% dei soggetti, indipendentemente dal

**Figura 1** ♦ Variazione del rapporto tra peptide C e glicemia a digiuno (FCPI) e dopo carico (PCPI) nel corso dello studio, nei tre gruppi di trattamento. La linea tratteggiata si riferisce al gruppo A, la linea a puntini al gruppo B e la linea continua al gruppo C. Il simbolo # indica un valore di significatività  $p < 0.05$



**Figura 2** ♦ Titolo degli anticorpi GAD all'inizio dello studio (colonne bianche) e dopo 12 mesi di trattamento (colonne nere). Il simbolo # indica un valore di significatività  $p < 0.05$



gruppo di trattamento, non mostrava un buon controllo della malattia; i livelli di emoglobina glicata rimanevano infatti superiori al 7% anche dopo un anno di trattamento. Gli autori attribuiscono questo fallimento terapeutico ad una scarsa attenzione dei pazienti nei confronti della propria malattia, senza approfondire la questione. Al di là delle motivazioni, tuttavia, questo dato sottolinea come sia fondamentale individuare una terapia efficace nei pazienti con LADA.

Pur considerando il campione limitato e la durata insufficiente dello studio, esso rappresenta un interessante spunto per ipotizzare nuovi approcci terapeutici per il trattamento del LADA. Come ben spiegato nell'Editoriale, il razionale per l'impiego della vitamina D<sub>3</sub> in questa forma di diabete è legato alla capacità di tale vitamina di modulare la risposta autoimmune, sono però necessari ulteriori studi, su popolazioni più ampie per confermare l'efficacia di questo approccio.

*Nel novembre del 2018 il servizio denominato “Journal Club”, attivo già da qualche anno, si è rinnovato con l'ingresso di nuovi esperti delle 24 aree di interesse diabetologico che selezionano ogni giorno un articolo dalla letteratura scientifica da segnalare ai soci SID. In questa rubrica della Rivista vengono richiamati i commenti che maggiormente hanno suscitato l'attenzione dei lettori, per le diverse tematiche; in questo terzo numero dell'anno troverete quindi i commenti con il maggior numero di visualizzazioni per sei diverse tematiche.*

### **Immunologia e patogenesi del diabete tipo 1**

#### **Origini del virus SARS-CoV2: genetica ed evoluzione in nostro soccorso - A cura di Alessandra Petrelli e Guido Sebastiani**

Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine* 26(4): 450-452, 2020.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/immunologia-e-patogenesi-del-diabete-tipo-1/2714-the-proximal-origin-of-sars-cov-2>

### **INSULINO-RESISTENZA E DIABETE TIPO 2**

#### **Perdita di peso e ripristino della funzione $\beta$ -cellulare: risultati uguali per qualsiasi glicemia a digiuno? - A cura di Teresa Mezza**

Rothberg AE, Herman WH, Wu C, IglayReger HB, Horowitz JF, Burant CF, Galecki AT, Halter JB. Weight Loss Improves  $\beta$ -Cell Function in People with Severe Obesity and Impaired Fasting Glucose: A Window of Opportunity. *J Clin Endocrinol Metab* 105(4): e1621-e1630, 2020.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/insulino-resistenza/2549-weight-loss-improves-cell-function-in-people-with-severe-obesity-and-impaired-fasting-glucose-a-window-of-opportunity>

### **Ipertensione e diabete**

#### **Glifozine e scompenso cardiaco sicurezza anche negli anziani -A cura di Angela Sciacqua**

Cahn A, Mosenzon O, Wiviott SD, Rozenberg A, Yanuv I, Goodrich EL, Murphy SA, Bhatt DL, Leiter LA, McGuire DK, Wilding JPH, Gause-Nilsson IAM, Fredriksson M, Johansson PA, Langkilde AM, Sabatine MS, Raz I. Efficacy and Safety of Dapagliflozin in the Elderly: Analysis From the DECLARE-TIMI 58 Study. *Diabetes Care* 43(2): 468-475, 2020.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/ipertensione-e-diabete/2627-efficacy-and-safety-of-dapagliflozin-in-the-elderly-analysis-from-the-declare-timi-58-study>

### **Mortalità, tumori e altri tipi di danno d'organo**

#### **Si vive di più e meglio con un corretto stile di vita! - A cura di Laura Sciacca e Agostino Milluzzo**

Li Y, Schoufour J, Wang DD, Dhana K, Pan A, Liu X, Song M, Liu G, Shin HJ, Sun Q, Al-Shaar L, Wang M, Rimm EB, Hertzmark E, Stampfer MJ, Willett WC, Franco OH, Hu FB. Healthy lifestyle and life expectancy free of cancer, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: prospective cohort study. *BMJ* 368: l6669, 2020.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/mortalita-tumori-e-altri-tipi-di-danno-d-organo/2663-healthy-lifestyle-and-life-expectancy-free-of-cancer-cardiovascular-disease-and-type-2-diabetes-prospective-cohort-study>

**Nefropatia****Progressione di DKD in assenza di albuminuria - A cura di Giuseppe Penno**

Vistisen D, Andersen GS, Hulman A, Persson F, Rossing P, Jørgensen ME. Progressive Decline in Estimated Glomerular Filtration Rate in Patients With Diabetes After Moderate Loss in Kidney Function-Even Without Albuminuria. *Diabetes Care* 42(10): 1886-189, 2019.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/nefropatia/2483-progressive-decline-in-estimated-glomerular-filtration-rate-in-patients-with-diabetes-after-moderate-loss-in-kidney-function-even-without-albuminuria>

**Neuropatia****La classificazione del diabete in cluster predice la neuropatia diabetica: un aiuto alla medicina di precisione? - A cura di Vincenza Spallone**

Zaharia OP, Strassburger K, Strom A, Bönhof GJ, Karusheva Y, Antoniou S, Bódis K, Markgraf DF, Burkart V, Müsigg K, Hwang JH, Asplund O, Groop L, Ahlqvist E, Seissler J, Nawroth P, Kopf S, Schmid SM, Stumvoll M, Pfeiffer AFH, Kabisch S, Tselmin S, Häring HU, Ziegler D, Kuss O, Szendroedi J, Roden M; German Diabetes Study Group. Risk of diabetes-associated diseases in subgroups of patients with recent-onset diabetes: a 5-year follow-up study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 7: 684-694, 2019.

Link al commento del Journal Club: <http://www.siditalia.it/ricerca/journal-club/neuropatia/2492-risk-of-diabetes-associated-diseases-in-subgroups-of-patients-with-recent-onset-diabetes-a-5-year-follow-up-study>

a cura di Lorella Marselli

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

## Gli organoidi: modelli 3D per lo studio del diabete

Mara Suleiman<sup>1</sup>, Agnese Filippello<sup>2</sup>, Salvatore Piro<sup>2</sup>, Nicola Marrano<sup>3</sup> e Annalisa Natalicchio<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania; <sup>3</sup>Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Università degli Studi di Bari Aldo Moro

<https://doi.org/10.30682/ildia2003f>

Il diabete costituisce una delle più importanti questioni sanitarie, sia per la prevalenza della malattia che per le complicanze ad essa associate. I farmaci al momento disponibili consentono il ripristino di una condizione di euglicemia e la prevenzione delle complicanze, ma non portano a guarigione. Per raggiungere questo obiettivo è necessaria una migliore comprensione della patologia sia a livello delle strutture e tessuti coinvolti nella regolazione dell'omeostasi glicemica, quali isole pancreatiche, intestino, fegato, tessuto muscolare e tessuto adiposo, sia a livello degli organi ed apparati associati alle complicanze. Pertanto, modelli di malattia, che consentano di studiare la patogenesi del diabete e la fisiopatologia a livello degli organi e tessuti coinvolti, e consentano lo screening di nuovi farmaci, costituiscono un valido supporto. Al riguardo un contributo importante deriva dagli organoidi (1).

### GLI ORGANOIDI

Gli organoidi sono strutture biologiche derivate da cellule staminali pluripotenti (Pluripotent stem cells, PSCs) o da cellule staminali/progenitrici adulte (Adult tissue-resident stem cells, ASCs), caratterizzati da una struttura tridimensionale (3D) riprodotte le caratteristiche dell'organo *in vivo*, sia per quanto riguarda la composizione cellulare che gli aspetti funzionali specifici (2).

I primi organoidi sono stati ottenuti nel 2009 da ASCs isolate dalle cripte intestinali di topo e di uomo (3-4). Fondamentali per questo risultato sono stati studi che avevano identificato la matrice extracellulare e fattori di crescita, come EGF (Epidermal Growth Factor), Noggin e R-spondin, quali componenti essenziali della nicchia delle cellule staminali intestinali (3). Pressoché contemporaneamente, organoidi intestinali sono stati ottenuti da PSCs umane mediante differenziazione e successiva coltura in una matrice 3D in presenza di fattori di crescita (5-6). In entrambi i casi, gli organoidi ottenuti avevano una composizione multicellulare e presentavano strutture organizzate in cripte e villi riproducenti l'architettura delle stesse strutture *in vivo* (3, 6).

I due studi, per lo sviluppo e applicazione di nuove tecniche e protocolli, sono stati fondamentali nel settore, rendendo possibile il successivo ottenimento di organoidi da tessuti diversi, quali lingua, polmone, fegato, rene, pancreas, prostata, ghiandola mammaria, cervello e orecchio interno.

## MODELLI IN VITRO DI MALATTIA

Modelli *in vitro* di malattia sono utilizzati in tutti gli ambiti della ricerca medica. I vantaggi associati al loro utilizzo sono la possibilità di controllare le variabili sperimentali, di manipolare le cellule, e di misurare con precisione le risposte biologiche e biochimiche. I modelli maggiormente utilizzati fino ad ora sono le linee cellulari e le colture di cellule primarie, entrambe però presentano dei limiti. Le prime, coltivate in 2D, non necessariamente si comportano *in vitro* come se fossero *in vivo*, in quanto le condizioni di coltura non riproducono fedelmente il microambiente presente *in vivo*. Inoltre, le cellule “immortalizzate” sono necessariamente trasformate, questo le allontana dalla condizione biologica di “normalità”, ponendo la questione di quanto esse possano essere rappresentative della condizione fisiologica. Al contrario, le colture di cellule primarie costituiscono modelli fisiologicamente più vicini al tessuto o organo da cui derivano, in quanto contengono una popolazione di cellule rappresentativa del tessuto di origine. Tuttavia, anche queste colture presentano dei limiti, pressoché di natura tecnica: le cellule primarie non possono essere mantenute in coltura per lunghi periodi, ponendo la necessità di un approvvigionamento da donatori di tessuto multipli. Inoltre, le cellule primarie sono difficili da manipolare geneticamente. Questi limiti possono essere superati con gli organoidi, trattandosi di strutture tessutali primarie in 3D, multicellulari, auto-rigeneranti, riproducenti le caratteristiche dei tessuti che replicano, anche se coltivati per molti anni (7).

La principale potenzialità degli organoidi in ambito medico deriva dalla possibilità di ottenerli a partire da ASCs o PSCs derivate dal paziente, portando così alla creazione di un modello di malattia del tessuto primario che apre la strada alla medicina personalizzata (8-9). Ad ora hanno avuto applicazione in studi fisiologici riguardanti la funzione dei geni, lo sviluppo cellulare, la fisiologia di cellule e tessuti e l'interazione ospite-microbioma. La loro utilità è però chiaramente associata alla possibilità di poterli utilizzare quali modelli per lo studio di malattie genetiche, infettive e neoplastiche, per lo screening di farmaci e nell'ambito della medicina rigenerativa (10-11). Al riguardo, utile è la possibilità di tracciarne le caratteristiche genetiche e molecolari, e la possibilità di studiarli mediante tecniche di laboratorio sia standard che di alta tecnologia. Per esempio, possono essere facilmente manipolati utilizzando la tecnica di “editing” genico CRISPR-Cas9 (12), possono essere studiati utilizzando la spettrometria di massa (13), la citofluorimetria (14), le tecnologie “omiche” applicabili alle cellule singole (15), e le tecniche di immagine (16). Tuttavia, come altri modelli, anche gli organoidi presentano dei limiti, in parte riconducibili a fattori tecnici e in parte biologici. Un limite tecnico è l'inconsistenza del tasso di crescita e del tempo di differenziazione tra i vari laboratori; ad essa possono contribuire le matrici (Matrigel Matrix e Basement Membrane Extract) indispensabili per la crescita 3D, trattandosi di strutture di derivazione animale, che facilmente presentano variabilità tra lotti diversi, come pure la diversa concentrazione dei fattori di crescita contenuti nei mezzi di coltura condizionati prodotti nei singoli laboratori. I limiti biologici sono riconducibili alla mancanza, nel contesto dell'organoide, di molti componenti normalmente presenti ed essenziali negli organi *in vivo*, come la presenza di strutture nervose e vascolari, cellule del sistema immunitario innato o adattativo; inoltre, gli organoidi difficilmente raggiungono la maturità degli organi *in vivo*. Al riguardo, strutture simili al tessuto maturo sono state ottenute mediante trapianto ortotopico di organoidi PSCs-derivati in siti tessutali diversi (17). Per esempio, segmenti di intestino sono stati ottenuti con il trapianto di organoidi intestinali sotto la capsula renale (18), mentre organoidi pancreatici umani costituiti da strutture acinari e simil-duttali sono stati ottenuti con il trapianto di PSCs nel pancreas di topo (19). Infine, la composizione multicellulare 3D di un organoide, che ne rappresenta un elemento di forza, può talora costituire un elemento di debolezza rendendo difficile l'accesso al lume delle strutture cave per lo studio delle interazioni tra fattori ambientali ed epitelio. Ovviamente, nessun modello è perfetto e così pure gli organoidi; tuttavia, il settore si sta muovendo verso una sempre migliore standardizzazione che dovrebbe aiutare i ricercatori a trovare risposte a questioni biologiche importanti.

## GLI ORGANOIDI: UNA OPPORTUNITÀ PER LA RICERCA DIABETOLOGICA

Nuove opportunità nella ricerca diabetologica derivano dalla possibilità di creare modelli tissutali di malattia primaria, modelli di tessuti insulino-sensibili e di tessuti periferici bersaglio delle complicanze del diabete, a partire da cellule primarie, evitando così l'utilizzo di cellule trasformate o la necessità di un grande numero di donatori. Gli organoidi possono essere generati anche da cellule ottenute da individui portatori di varianti genetiche o, in alternativa, l'espressione di tali varianti può essere indotta con la tecnica CRISPR/Cas9, rendendo possibile una valutazione del loro contributo nella patogenesi del diabete. I risultati di questi studi possono fornire importanti informazioni per la stratificazione dei pazienti e per interventi specifici. Gli organoidi hanno inoltre la potenzialità di accelerare la ricerca diabetologica nell'ambito della terapia cellulare sostitutiva, essendo la tecnologia tesa verso la produzione di nuove fonti di  $\beta$ -cellule (20-21). Si ritiene pertanto che questi modelli possano fornire nuove opportunità per la comprensione della fisiopatologia e per la cura del diabete.

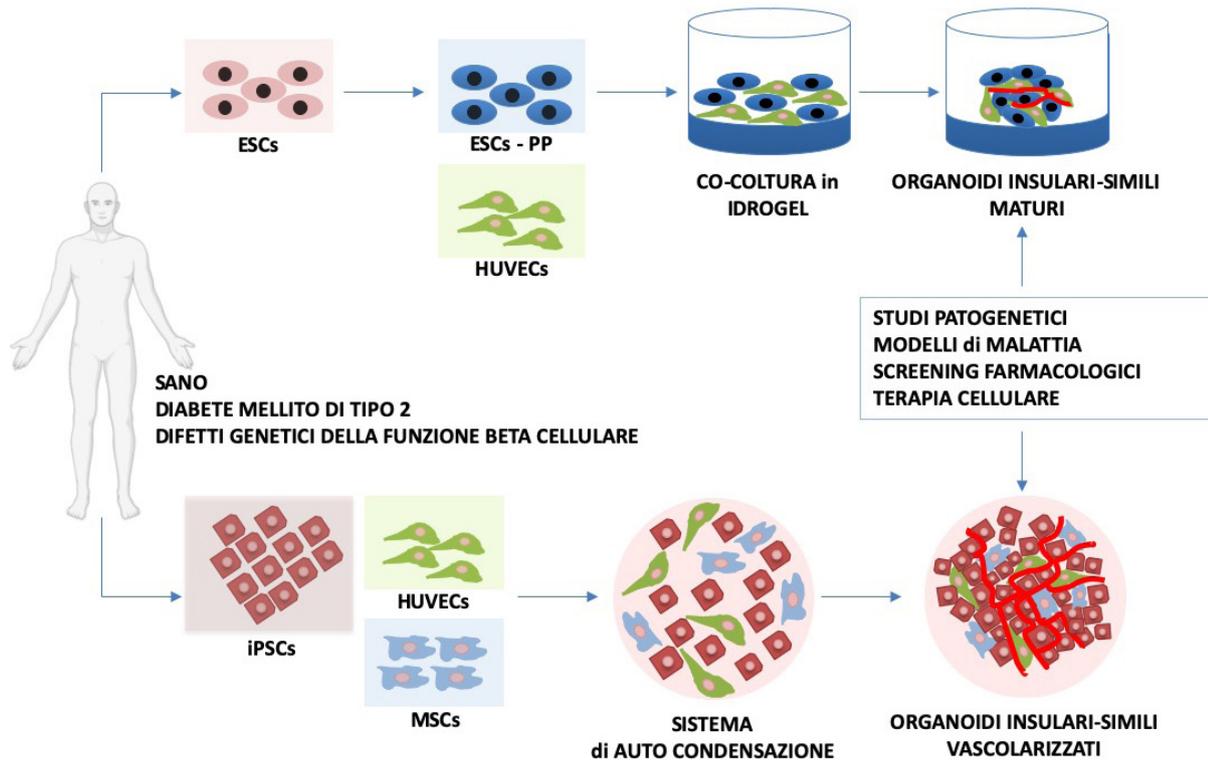
## TESSUTI COINVOLTI NELLA REGOLAZIONE DELL'OMEOSTASI GLICEMICA

### Pancreas

Le isole pancreatiche hanno un ruolo centrale nell'insorgenza e progressione della malattia diabetica; pertanto, la comprensione dei meccanismi patogenetici coinvolti nel danno  $\beta$ -cellulare, la conoscenza della fisiopatologia delle cellule insulari nella condizione diabetica e lo studio dei difetti  $\beta$ -cellulari associati a varianti genetiche potrebbero aprire la strada verso la scoperta di nuovi farmaci. Da questo punto di vista, gli organoidi insulari umani, oltre a costituire un valido supporto per lo studio della patologia a livello insulare, possono rappresentare anche un valido strumento per lo screening di nuovi farmaci.

I primi organoidi pancreatici sono stati ottenuti da cellule progenitrici pancreatiche embrionali di topo e di uomo dal gruppo di Anne Grapin-Bolton (22) e Raphael Scharfmann (23), rispettivamente. Gli organoidi, coltivati in Matrigel, avevano inizialmente la struttura di sfere cave costituite da cellule progenitrici, la cui attività replicativa e lo stato indifferenziato erano mantenuti da fattori di crescita (22-23); l'opportuna modificazione del mezzo di coltura ne favoriva il differenziamento, con la generazione di strutture aventi le caratteristiche delle linee cellulari acinari, duttali o endocrine negli organoidi murini (22), o espressioni marcatori molecolari delle cellule progenitrici pancreatiche negli organoidi umani (23). Pressoché contemporaneamente, organoidi sono stati ottenuti da cellule staminali adulte CD133<sup>+</sup> derivate dal pancreas di topo (24) e di uomo (25). Dopo l'espansione *in vitro*, modificando la tecnica di coltura, le cellule murine sono state differenziate in tutte le linee cellulari pancreatiche (24); al contrario, per la differenziazione delle cellule CD133<sup>+</sup> umane nelle linee endocrine, si è resa necessaria l'espressione transgenica dei fattori di trascrizione NGN3, MAFA, PDX1 e PAX6, regolatori dello sviluppo insulare (25). Le strutture simil- $\beta$ -cellulari sono state in grado di sintetizzare e rilasciare C-peptide in risposta a basse e ad alte concentrazioni di glucosio (2,5 mM e 16,7 mM) negli organoidi murini (24), mentre hanno risposto solo a basse concentrazioni di glucosio (2,0 mM) negli organoidi umani (25), deponendo per una immaturità funzionale delle strutture di derivazione umana.

Gli sforzi successivi si sono quindi concentrati sul miglioramento delle tecniche di coltura e il perfezionamento di protocolli con l'obiettivo di ottenere strutture simil- $\beta$ -cellulari umane funzionalmente mature, condizione indispensabile per lo studio dei difetti  $\beta$ -cellulari alla base della malattia diabetica. Al riguardo, colture in sospensione di PSCs e cellule staminali embrionali (Embryonic Stem Cells, ESCs) umane, associate all'utilizzo di protocolli scalabili, hanno portato alla differenziazione con generazione di strutture simil- $\beta$ -cellulari responsive alla stimolazione con basse ed elevate concentrazioni di glucosio *in vitro*, ma con la capacità di rimanere funzionali *in vivo*, nel topo trapiantato, solo per breve tempo (26-27). Un ulteriore passo in avanti è stato fatto con la produzione di organoidi aventi una struttura 3D simil-insulare ottenuti da ESCs (28-29) e PSCs (29) umane: utilizzando protocolli di differenziazione graduale, gli organoidi rilasciavano insulina in risposta al glucosio *in vitro*, tale capacità era conservata *in vivo* e, quando trapiantati in topi diabetici, ne normalizzavano la glicemia. Studi più recenti hanno consentito di ottenere organoidi insulari più

**Figura 1** ◆ Rappresentazione schematica dei processi per la creazione di organoidi insulari-simili

Organoidi possono essere ottenuti da ESCs umane differenziate in cellule progenitriche pancreatiche (ESCs-PP) poste su una piattaforma di idrogel, per formare, in presenza di cellule endoteliali umane del cordone ombelicale (HUVECs), organoidi insulari-simili endotelizzati. Organoidi insulari-simili vascolarizzati possono essere ottenuti da iPSCs coltivate in un sistema di auto condensazione, in presenza di HUVECs e MSCs, che porta alla formazione di organoidi insulari-simili contenenti cellule endoteliali organizzate in strutture vascolari. Rappresentazione schematica ottenuta e modificata da Candiello J et al. (30) e Takahashi Y et al. (31)

complessi e maturi, contenenti cellule endoteliali e strutture vascolari, co-coltivando ESCs e cellule endoteliali umane ottenute dal cordone ombelicale (human umbilical cord-derived endothelial cells, HUVECs) in idrogel sintetici (30), o co-coltivando PSCs indotte (iPSCs), HUVECs e cellule staminali mesenchimali (Mesenchymal Stem Cell, MSCs) in un sistema di auto condensazione (31) (Fig. 1). Tali organoidi presentavano un miglioramento delle caratteristiche funzionali sia *in vitro* che *in vivo*, un migliore attecchimento dopo il trapianto e un migliore potenziale terapeutico quando trapiantati in topi diabetici (31).

Gli organoidi insulari costituiscono un modello migliore rispetto alle tradizionali linee  $\beta$ -cellulari. Tuttavia, nonostante il miglioramento strutturale e funzionale, presentano ancora un limite, che è la loro immaturità funzionale; infatti, non riescono a rilasciare insulina in maniera adeguata in risposta a stimoli di natura fisiologica sostenuti da nutrienti. Per tale motivo, le colture primarie di isole pancreatiche rappresentano ancora il “gold standard” per lo studio funzionale.

Per le loro caratteristiche, è intuitiva la potenzialità degli organoidi insulari per lo studio del diabete mellito di tipo 2 (DMT2) e per lo studio del diabete associato a varianti genetiche. Queste strutture potrebbero inoltre essere utilizzate per lo studio dei processi che portano a distruzione delle  $\beta$ -cellule su base immunitaria, come nel diabete mellito di tipo 1, o per studiare le modalità con cui i loci di suscettibilità genetica interagiscono con il sistema immunitario per guidare l’insorgenza e la progressione della malattia. I modelli per lo studio di queste interazioni potrebbero andare dalla semplice aggiunta di citochine al mezzo di coltura o all’utilizzo di mezzi condizionati mediante coltura di cellule immunitarie (32), alla co-coltura con cellule immunitarie attivate (33), o all’utilizzo di tecniche più complesse sviluppate per mimare i microambienti immunitari tumorali (34).

Gli organoidi pancreatici risultano particolarmente utili anche per la comprensione della morfogenesi del pancreas e lo sviluppo insulare. Per esempio, uno screening genetico funzionale tra organoidi derivati da progenitori SOX9<sup>+</sup>, ha identificato nel gene *Prdm6*, codificante un fattore di trascrizione, un nuovo regolatore di sviluppo insulare (35), con la potenzialità di poter utilizzare la sua funzione nell'ambito della medicina rigenerativa. Organoidi derivati da PSCs umane sono stati utilizzati per delineare gli aspetti pancreatici della fibrosi cistica e per lo screening di un set di attivatori del regolatore della conduttanza trans-membrana della fibrosi cistica (CFTR) (19).

### Intestino

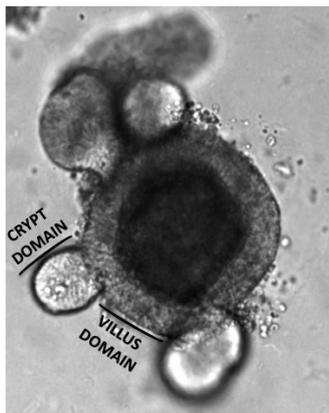
Dal 1986, anno in cui è stato descritto l'effetto incretinico nel paziente con diabete mellito (36), l'intestino ha cominciato a ricevere molto interesse come organo in grado di produrre ormoni. Alla data attuale sono stati descritti almeno 20 differenti ormoni prodotti dall'intestino; tra questi il GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide) (37) ed il GLP-1 (Glucagon-Like Peptide 1) (38). Data la loro importanza nel campo del diabete, dell'obesità e delle malattie cardiovascolari, molta attenzione è stata rivolta alla produzione di ormoni intestinali ed alla possibilità di modulare e controllare la loro secrezione sia in condizioni fisiologiche che in corso di malattie. La possibilità di creare strutture in grado di ripercorrere le tappe di sviluppo delle cellule endocrine intestinali riveste molto interesse, non solo nel campo della medicina rigenerativa. Diversi studi hanno dimostrato che gli organoidi intestinali offrono nuove opportunità di ricerca per comprendere la fisiologia e la fisiopatologia delle cellule endocrine intestinali (1).

Gli organoidi intestinali sono stati isolati per la prima volta da Sato et al. dalle cripte intestinali presenti nell'intestino tenue murino (3). Questi, facilmente isolabili in laboratorio, sono in grado di auto-organizzarsi in strutture tridimensionali ricapitolando sia l'architettura cripta-villo (Fig. 2A) che la fisiologia dell'epitelio intestinale e sono costituiti da tutti i tipi di cellule intestinali incluse le cellule staminali e le cellule enteroendocrine.

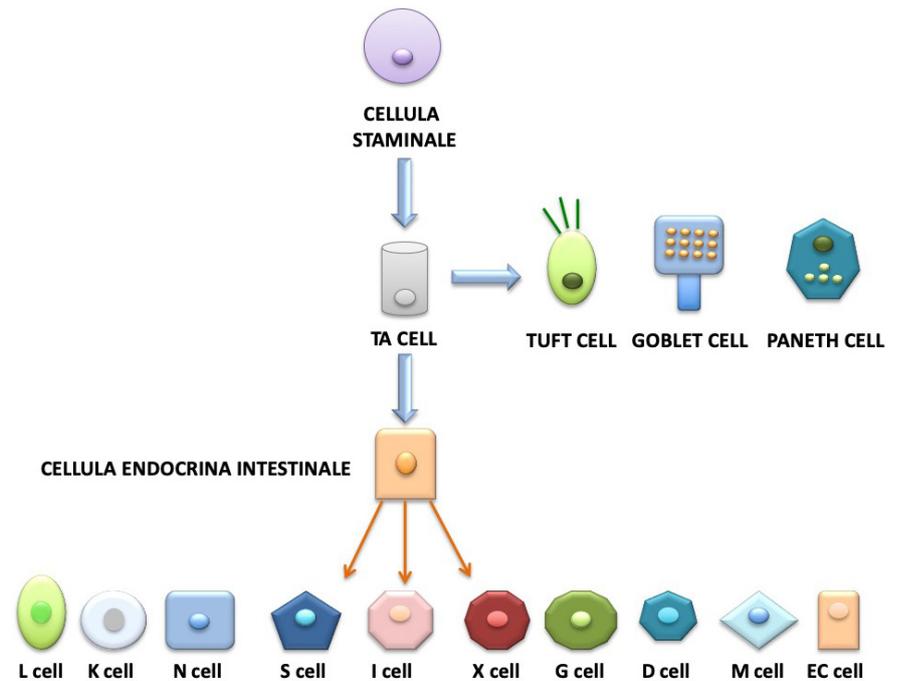
Le cellule enteroendocrine, insieme alle altre cellule intestinali originano tutte da nicchie di cellule staminali presenti all'interno delle cripte intestinali. Le cellule staminali intestinali sono in grado di proliferare regolarmente, dando origine ad una popolazione di progenitori cellulari chiamate cellule TA (Transit Amplifying) che proliferano e si differenziano migrando dall'area profonda delle cripte all'apice del villo intestinale; le cellule TA, a loro volta, vanno incontro a differenziamento, dando origine agli enterociti, alle cellule enteroendocrine ed alle cellule caliciformi (39); il processo di differenziamento delle cellule endocrine intestinali è finemente regolato e queste sono classificate in almeno dieci tipi cellulari, in base alla morfologia, alla localizzazione ed alla sintesi ormonale (Fig. 2B) (40). Negli organoidi intestinali è stata dimostrata la complessità di questo processo: le cellule che vengono prodotte alla base della cripta modificano il loro profilo di espressione ormonale durante il differenziamento verso il villo intestinale; questa plasticità ormonale potrebbe essere alterata in corso di diabete (41-42).

Gli organoidi intestinali permettono di studiare anche la funzione delle cellule enteroendocrine in condizioni fisiologiche o di stress metabolico analizzando l'assorbimento di nutrienti, le proteine di trasporto intestinali, la secrezione di più ormoni gastrointestinali contemporaneamente e le vie che regolano la loro secrezione (43).

Uno dei principali interessi terapeutici in campo diabetologico è quello di testare nuove molecole volte a migliorare la produzione endogena di GLP-1. Gli organoidi intestinali rappresentano un buon modello di studio per dimostrare ad esempio come molecole in grado di regolare differenti vie di signaling cellulare inducono un incremento del numero di L-cellule intestinali e migliorano la secrezione di GLP-1 (44-45). La produzione endogena di GLP-1 potrebbe essere migliorata anche da sostanze prodotte dell'organismo, un esempio è rappresentato dai prodotti della microflora intestinale del metabolismo batterico come gli acidi grassi a catena corta e gli acidi biliari che inducono l'espressione dei fattori di trascrizione che regolano il differenziamento delle L-cellule e la secrezione di GLP-1 negli organoidi intestinali (46-47). Il processo di sviluppo di farmaci antidiabetici aventi come target le L-cellule intestinali o altre cellule enteroendocrine è limitato anche dal numero esiguo di modelli cellulari umani; utilizzando organoidi intestinali ingegnerizzati attraverso la tecnologia CRISPR-Cas9 è stato possibile isolare L-cellule fisiologicamente funzionali come modello per testare nuovi farmaci *in vitro* (48).

**Figura 2** ◆ **Processo di differenziamento delle cellule endocrine intestinali****ORGANOIDE  
INTESTINALE**

**Figura 2A.** Organoide intestinale isolato dalle cripte intestinali murine presso il Laboratorio di Medicina Molecolare, Ospedale Garibaldi-Nesima, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania



**Figura 2B.** Rappresentazione schematica del processo di sviluppo e di differenziamento delle cellule intestinali da singole cellule staminali. Le cellule enteroendocrine a loro volta si differenziano in almeno dieci tipi cellulari differenti

Il microbiota intestinale è alterato nei soggetti obesi, ma le implicazioni patologiche di questa alterazione non sono conosciute; poiché gli organoidi mantengono la loro polarità cellulare *in vitro*, potrebbero essere impiegati per studiare l'effetto del microbiota e dei suoi metaboliti sulla membrana apicale posta sul versante luminale dei soggetti obesi (49-50).

In futuro, gli organoidi potranno essere applicati anche nel trapianto di isole pancreatiche: è stato dimostrato, infatti, che gli organoidi intestinali possono essere convertiti in cellule beta ed utilizzati come fonte alternativa di  $\beta$ -cellule pancreatiche nel trattamento del diabete (51-52).

### Fegato

Il fegato svolge un ruolo fondamentale nella regolazione dell'omeostasi glicemica. L'insulino-resistenza epatica comporta lo sviluppo di iperglicemia ed è implicata nella patogenesi della malattia non-alcolica da fegato grasso (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) che può successivamente evolvere in steatoepatite (non-alcoholic steatohepatitis, NASH). Gli attuali modelli animali di NAFLD e NASH non riproducono in maniera fedele la progressione della malattia umana. Gli organoidi epatici umani potrebbero pertanto costituire un valido strumento per lo studio dello sviluppo dell'insulino-resistenza, per lo studio del metabolismo del glucosio e delle risposte agli ormoni nel fegato, e per l'identificazione dei meccanismi sottostanti lo sviluppo di NAFLD e la sua progressione a NASH.

I primi organoidi epatici umani sono stati ottenuti da iPSCs, coltivate assieme a MSCs e cellule endoteliali, in Matrigel. Queste strutture consistevano principalmente di epatoblasti proliferanti (53-54). Più recentemente organoidi sono stati ottenuti da cellule progenitrici derivate da dotti biliari umani adulti (55) o da epatociti primari (56-57). La creazione di modelli di NAFLD e NASH è in fase di studio. L'esposizione di organoidi epatici di varie specie, compresa quella umana, ad acidi grassi porta ad accumulo intracellulare di lipidi, dimostrando che gli organoidi possono costituire un utile modello per lo studio di NAFLD (58). Più recentemente un modello umano di steatoepatite è stato descritto da

Takanori Takebe. Utilizzando iPSCs umane derivate da soggetti sani e malati, sono stati ottenuti organoidi epatici multicellulari, che, quando esposti ad acidi grassi non esterificati (NEFA), sono andati incontro ad accumulo di lipidi e, in successione, ad infiammazione e fibrosi – caratteristiche salienti della steatoepatite umana. L'aspetto interessante è che il fenotipo è regredito in seguito al trattamento con un agonista del recettore farnesoide X (farnesoid X receptor, FXR) (59). È auspicabile che una tale piattaforma possa essere usata per la comprensione dei meccanismi sottostanti la progressione di NAFLD a NASH e per la identificazione di nuovi trattamenti per queste patologie, per le quali al momento non ci sono opzioni farmacologiche approvate.

### **Muscolo scheletrico**

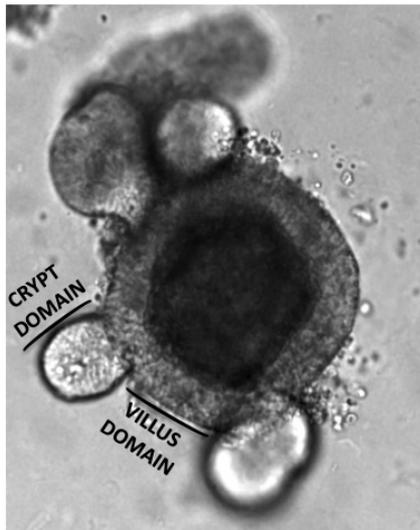
Il muscolo scheletrico rappresenta la principale sede di captazione e utilizzo di glucosio, processi mediati dall'insulina. Si stima che, in uno stato di riposo e a digiuno, il muscolo scheletrico disponga del 25% del glucosio plasmatico, e del 70-80% in fase postprandiale. Di conseguenza, l'insulino-resistenza a livello del muscolo scheletrico si ripercuote negativamente sul metabolismo del glucosio a livello sistemico e rappresenta un problema tipico di numerose patologie metaboliche, tra cui obesità e DM2.

Lo sviluppo di un modello 3D umano, *in vitro*, di muscolo scheletrico permetterebbe di studiare i meccanismi alla base della patogenesi dell'insulino-resistenza muscolare nelle malattie metaboliche (1) e fornirebbe un nuovo modello pre-clinico per testare *in vitro* l'efficacia terapeutica e la tossicità di nuove molecole.

L'utilizzo di colture primarie tridimensionali di muscolo scheletrico è antecedente alla scoperta degli organoidi nel senso stretto del termine (1). Già diversi decenni fa, Vandenberg et al., partendo da mioblasti murini isolati da biopsie di muscolo scheletrico, risospesi in Matrigel e/o collagene, coltivati in stampi di silicone con siti di attacco alle estremità, e sottoposti a stimoli meccanici, furono in grado di generare, *in vitro*, un muscolo scheletrico bioartificiale (bioartificial muscles, BAMS) (60-61). Si trattava di una struttura tridimensionale, contenente fibre muscolari postmitotiche, parallele, connesse a strutture simil-tendinee, organizzate in fasci muscolari in grado di contrarsi quando stimolati (60-61). Negli anni successivi, sono stati ottenuti BAMS anche a partire da mioblasti umani (human bioartificial muscles, HBAMS) (62-63). Questi organoidi possono essere modificati geneticamente, indotti a produrre e secernere proteine esogene e quindi utilizzati a scopo terapeutico come dispositivi impiantabili, secernenti proteine ricombinanti (61-62). Con gli studi di Gholobova D et al. (64-65), mediante co-colture di mioblasti e HUVECs, su idrogel di fibrina, è stato possibile vascolarizzare i BAMS e garantirne un miglior trofismo e dimensioni maggiori. Inoltre, per simulare l'innervazione del muscolo scheletrico, è possibile allestire co-colture di mioblasti e neuroni o espianiti di nervi, oppure sottoporre i BAMS a stimolazione elettrica (66-67).

Gli organoidi di muscolo scheletrico, a differenza delle colture 2D, forniscono un modello molto più vicino alla fisiologia: le cellule sono differenziate, orientate, innervate, irrorate, sotto tensione e in grado di contrarsi. Tuttavia, i mioblasti umani hanno un potenziale di espansione limitato e uno stato differenziativo instabile. Per superare questi problemi, sono stati messi a punto numerosi protocolli per la generazione di organoidi muscolari a partire da diversi tipi cellulari (per es. cellule satellite, mioblasti, mesoangioblasti, periciti, MSCs, PSCs, iPSCs, ESCs), differenziati *in vitro* in cellule muscolari scheletriche (66-68). Gli step necessari alla produzione di un organoide di muscolo scheletrico *in vitro* sono schematizzati nella figura 3.

In futuro, la sfida sarà quella di generare organoidi di muscolo scheletrico umano a partire da cellule (preferenzialmente mioblasti primari o derivati da PSCs umane) isolate da pazienti obesi o diabetici, per comprendere i meccanismi alla base dello sviluppo dell'insulino-resistenza e le sue conseguenze e testare nuove molecole per contrastarla (Fig. 4). Ad esempio, recentemente, Iovino et al. hanno generato miotubi da volontari sani e individui affetti da sindrome di Donohue, una malattia genetica associata a mutazioni nel recettore dell'insulina (69). I miotubi derivati da soggetti con sindrome di Donohue presentavano difetti nella trasmissione del segnale dell'insulina, nell'assorbimento del glucosio e nell'accumulo di glicogeno.

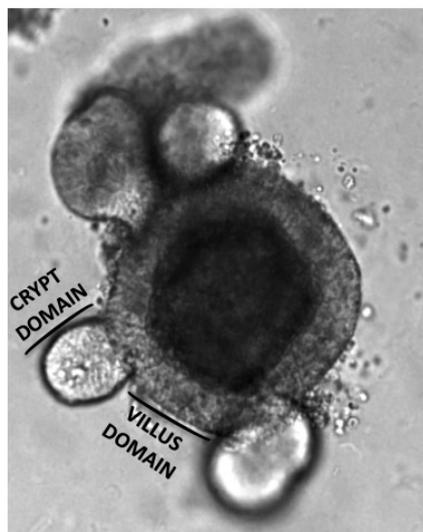
**Figura 3** ◆ **Step per la creazione di organoidi di muscolo scheletrico, in vitro****A**

### **ORGANOIDE INTESTINALE**

La creazione di organoidi di muscolo scheletrico può avere origine da diverse linee cellulari: cellule satellite (SCs), mioblasti, mesoangioblasti, periciti, cellule staminali mesenchimali (MSCs), cellule staminali pluripotenti (PSCs) derivanti da progenitori miogenici, cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs), cellule staminali embrionali (ESCs). Il giusto orientamento delle fibre muscolari, necessario per la contrazione e la corretta trasduzione del segnale, viene ottenuto sottoponendo le cellule, durante la fusione in fibre, a forze unidirezionali mediante l'uso di punti di attacco alle estremità delle piastre di coltura oppure l'utilizzo di scaffold conduttivi. Le nascenti fibre muscolari devono essere mantenute in costante tensione per evitare l'atrofia: l'utilizzo di scaffold polimerici elastici o di tendini ingegnerizzati permette di bypassare questo problema. La co-coltura con cellule nervose e/o endoteliali garantisce la corretta innervazione e vascolarizzazione dell'organoide. Gli scaffold fungono da matrice extracellulare, sono cruciali per la corretta vascolarizzazione e per la sopravvivenza dell'organoide. Gli scaffold possono essere di origine biologica (es. matrice extracellulare di modelli animali), idrogel (es. collagene, gelatina, fibrina), polimeri sintetici o biologici (es. collagene, fibrina, alginato). Rappresentazione schematica ottenuta e modificata da Gholobova D et al. (66), Maffioletti SM et al. (67) e Chal J et al. (68)

### **Tessuto adiposo**

Il tessuto adiposo bianco è responsabile sia dell'immagazzinamento, sotto forma di trigliceridi, dei lipidi derivanti dalla dieta o sintetizzati attraverso la *de novo* lipogenesi, che, durante il digiuno, della produzione di acidi grassi attraverso la lipolisi, del loro rilascio in circolo e del loro utilizzo come substrato energetico attraverso la  $\beta$ -ossidazione. Nei pazienti affetti da DM2, l'insulino-resistenza del tessuto adiposo provoca una ridotta soppressione della lipolisi da parte dell'insulina e un aumento della concentrazione plasmatica di acidi grassi, che si accumulano in sedi ectopiche provocando danni lipotossici in diversi organi. Inoltre, il tessuto adiposo agisce anche da organo endocrino in grado di sintetizzare un numero di composti biologicamente attivi (adipochine, citochine, interleuchine) che regolano l'omeo-

**Figura 4** ◆ Possibili applicazioni degli organoidi di muscolo scheletrico e tessuto adiposo in ambito metabolico

### ORGANOIDE INTESTINALE

Gli organoidi di muscolo scheletrico e tessuto adiposo rappresentano dei modelli *in vitro* utili per lo studio dei meccanismi alla base dell'insorgenza dell'insulino-resistenza e per testare l'efficacia e/o la tossicità di nuove molecole atte a contrastarla. La prospettiva futura è quella di generare tali organoidi a partire da cellule isolate da pazienti obesi o diabetici al fine di studiare le differenze metaboliche e molecolari esistenti rispetto ai controlli sani. Gli organoidi di muscolo scheletrico possono essere utilizzati anche in un'ottica di medicina rigenerativa per sostituire *in vivo* il muscolo danneggiato; se indotti a produrre e secernere proteine esogene, possono essere utilizzati anche a scopo terapeutico come dispositivi impiantabili secernenti proteine ricombinanti. Inoltre, gli organoidi di tessuto adiposo possono essere utilizzati per studiare i processi di lipolisi, lipogenesi e adipogenesi

stasi metabolica, la sensibilità dei tessuti all'insulina e l'infiammazione. Nell'obesità e nel DMT2, questi processi sono inevitabilmente alterati.

Lo sviluppo di un modello 3D umano, *in vitro*, risulterebbe estremamente vantaggioso per studiare le disfunzioni del tessuto adiposo nelle malattie metaboliche e le alterazioni nell'assetto di secrezione delle adipochine e dei mediatori infiammatori, in un contesto di cross-talk multicellulare dinamico (1) (Fig. 4).

Vari tentativi per generare colture 3D di cellule adipose sono stati descritti. I primi protocolli prevedevano una co-coltura di cellule stromali adipose umane, ottenute da tessuto adiposo viscerale o lipoaspirato, con pre-adipociti, cellule endoteliali (ECs) e cellule muscolari lisce, in presenza di scaffold 3D o idrogel (70-71). Quando gli adipociti e le ECs erano isolati da soggetti obesi, esse mantenevano un fenotipo infiammatorio per almeno 7 giorni *in vitro* e un'alterata secrezione di adipochine, che erano responsabili di una ridotta insulino-sensibilità e di un'alterazione della via lipolitica (70). I protocolli di ultima generazione prevedono l'utilizzo di progenitori adiposi e/o cellule endoteliali, isolati entrambi dalla frazione stromale-vascolare del tessuto adiposo bianco umano (72-73), coltivati su scaffold 3D come il matrigel o semplicemente in "goccioline sospese", a creare organoidi sferoidali, auto-organizzati, vascolarizzati, con adipociti uniloculati, in grado di secernere adipochine e di eseguire lipolisi e lipogenesi (72-73).

Anche in questo caso, le PSCs differenziate in adipociti maturi, ma anche in cellule endoteliali, potrebbero fornire una valida alternativa per la creazione di organoidi di tessuto adiposo.

Questi nuovi protocolli aprono la strada all'utilizzo di colture adipose di lunga durata, derivate direttamente dai pazienti obesi o diabetici, per esplorare la patologia del tessuto adiposo nelle malattie metaboliche, i processi di lipolisi,

lipogenesi e adipogenesi, i meccanismi alla base dell'insorgenza dell'insulino-resistenza del tessuto adiposo, il network secretorio degli adipociti in diversi contesti fisiopatologici e, infine, il cross-talk tra adipociti e altri tipi cellulari che compongono il tessuto adiposo (cellule endoteliali e cellule del sistema immunitario) (Fig. 4).

## MODELLI PER LO STUDIO DELLE COMPLICANZE DIABETICHE

Parte delle complicanze croniche del diabete sono determinate da alterazioni a carico del microcircolo, che portano a nefropatia, retinopatia e neuropatia diabetica. La mancanza di modelli accurati che riproducono le alterazioni patologiche molecolari e funzionali di queste complicanze ha limitato la comprensione dei meccanismi di malattia coinvolti, e delle modalità con cui tali complicanze possono essere trattate o prevenute. Al riguardo, gli organoidi possono costituire una opportunità.

L'esposizione all'iperglicemia provoca un ispessimento della membrana basale dei vasi, con conseguente compromissione della distribuzione di ossigeno e nutrienti ai tessuti, che porta ad infiammazione e danno tissutale. L'esposizione di organoidi vascolari umani derivati da iPSCs ad elevate concentrazioni di glucosio ha determinato un ispessimento anomalo della membrana basale, analogamente a quanto osservato nei vasi sanguigni quando esposti alla condizione di iperglicemia. Lo screening farmacologico eseguito su questo modello, ha consentito di identificare una nuova via, coinvolta nell'ispessimento della membrana basale, quale bersaglio farmacologico, confermando la potenzialità degli organoidi quali modelli di malattia (74).

Organoidi renali derivati da PSCs umane e di topo sono stati generati utilizzando protocolli diversi (75-76). Nelle prime strutture non erano riprodotti tutti i tipi cellulari renali e i nefroni erano disconnessi dai dotti collettori. Il miglioramento dei protocolli, con differenziazione separata per generare nefroni e bottoni ureterici, ha prodotto organoidi renali meglio definiti. L'applicazione di questi protocolli a iPSCs umane ha reso possibile la produzione di strutture nefroniche e bottoni ureterici *in vitro*; queste strutture, una volta trapiantate sotto la capsula renale di topo, sono andate incontro a connessione e vascolarizzazione (77). Studi per la creazione di modelli di nefropatia diabetica e danno renale, derivati da PSC, sono in corso, come pure per la creazione di un modello di fibrosi renale.

La retina umana è un organo complesso privo di capacità rigenerativa, che la rende particolarmente vulnerabile al danno. Organoidi retinici possono essere generati da ESCs umane e murine e da iPSCs umane, che, incluse in Matrigel, formano spontaneamente vescicole ottiche epiteliali emisferiche, che si invaginano e formano la coppa ottica (78-80). L'affinamento dei protocolli ha consentito di ottenere coppe retiniche in 3D contenenti fotorecettori maturi, provvisti di dischi nel segmento esterno e fotosensibilità (81). Organoidi retinici derivati dalle cellule di pazienti con retinopatia diabetica costituiscono una opportunità per meglio comprendere la fisiopatologia della complicanza, forniscono una piattaforma per lo screening di farmaci, e consentono di esplorare le varianti genomiche che rendono alcuni pazienti diabetici più suscettibili di altri al danno retinico.

## IL FUTURO IN 3D

La tecnologia ha reso possibile la creazione di organoidi, quali modelli fedeli di qualsiasi tessuto corporeo. Essi promettono di facilitare la scoperta di nuovi meccanismi di malattia e di rendere veloce e sicura la scoperta di nuovi farmaci. Tuttavia, non esistono organi isolati; il cross-talk tra organi è rilevante per la fisiopatologia, soprattutto per malattie che colpiscono organi diversi come il diabete. Pertanto gli organoidi non possono sostituire gli studi *in vivo* condotti sull'intero organismo. Un contributo per lo studio *in vitro* delle interazioni tra organi proviene dalla bioingegneria attraverso la creazione di chip multifluidici ("organ-on-a-chip"): si tratta di sistemi in cui strutture rappresentative di organi diversi possono essere coltivate simultaneamente in compartimenti diversi e un sistema multifluidico controlla il flusso tra compartimenti simulando la attività, la meccanica e la risposta fisiologica di interi organi (82). Questi sistemi sono stati già utilizzati per le colture di cellule in 2D, la sfida ora è la loro applicazione alla tecnologia degli organoidi in 3D. Al riguardo, organoidi di isole umane derivati da iPSCs generati su una piattaforma "organ-on-a-chip",

in cui le cellule sono state prima differenziate e quindi portate a maturazione, hanno mostrato una somiglianza con i tessuti nativi maggiore rispetto agli organoidi ottenuti in coltura statica, con strutture insulino-simili funzionali (83). Attualmente sono disponibili sistemi “organ-on-a-chip” che variano da sistemi semplici, che usano la forza di gravità per dirigere il flusso, a tecnologie più complesse, basate su chip dotati di pompe di perfusione. È facile prevedere un futuro dove saremo in grado di connettere organoidi rappresentativi di tessuti umani diversi utilizzando la tecnologia basata su chip per studiare la comunicazione tra organi nella patogenesi del diabete. La tecnologia degli organoidi è pronta per poter essere applicata alla ricerca diabetologica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tsakmaki A, Fonseca Pedro P, Bewick GA. Diabetes through a 3D lens: organoid models. *Diabetologia* 63: 1093-1102, 2020.
2. Fatehullah A, Tan SH, Barker N. Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nat Cell Biol* 18: 246-254, 2016.
3. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 459: 262-265, 2009.
4. Sugimoto S, Sato T. Establishment of 3D intestinal organoid cultures from intestinal stem cells. *Methods Mol Biol* 1612: 97-105, 2017.
5. McCracken KW, Howell JC, Wells JM, Spence JR. Generating human intestinal tissue from pluripotent stem cells in vitro. *Nat Protoc* 6: 1920-1928, 2011.
6. Spence JR, Mayhew CN, Rankin SA, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. *Nature* 470: 105-109, 2011.
7. Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 345: 1247125, 2014.
8. Sinagoga KL, Wells JM. Generating human intestinal tissues from pluripotent stem cells to study development and disease. *EMBO J* 34: 1149-1163, 2015.
9. Drost J, Clevers H. Translational applications of adult stem cell-derived organoids. *Development* 144: 968-975, 2017.
10. Artegiani B, Clevers H. Use and application of 3D organoid technology. *Hum Mol Genet* 27: R99-R107, 2018.
11. Takahashi T. Organoids for drug discovery and personalized medicine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 59: 447-462, 2019.
12. Driehuis E, Clevers H. CRISPR/Cas 9 genome editing and its applications in organoids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 312: G257-G265, 2017.
13. Gonneaud A, Asselin C, Boudreau F, Boisvert FM. Phenotypic analysis of Organoids by proteomics. *Proteomics* 17: 1700023, 2017.
14. Basak O, Beumer J, Wiebrands K, et al. Induced quiescence of Lgr5+ stem cells in intestinal organoids enables differentiation of hormone-producing enteroendocrine cells. *Cell Stem Cell* 20: 177-190 e174, 2017.
15. Lindeboom RG, van Voorthuijsen L, Oost KC, et al. Integrative multi-omics analysis of intestinal organoid differentiation. *Mol Syst Biol* 14: e8227, 2018.
16. Dekkers JF, Alieva M, Wellens LM, et al. High-resolution 3D imaging of fixed and cleared organoids. *Nat Protoc* 14: 1756-1771, 2019.
17. Holloway EM, Capeling MM, Spence JR. Biologically inspired approaches to enhance human organoid complexity. *Development* 146: dev166173, 2019.
18. Watson CL, Mahe MM, Munera J, et al. An in vivo model of human small intestine using pluripotent stem cells. *Nat Med* 20: 1310-1314, 2014.
19. Hohwieler M, Illing A, Hermann PC et al. Human pluripotent stem cell-derived acinar/ductal organoids generate human pancreas upon orthotopic transplantation and allow disease modelling. *Gut* 66: 473-486, 2017.
20. Dayem AA, Lee SB, Kim K, et al. Recent advances in organoid culture for insulin production and diabetes therapy: methods and challenges. *BMB Rep* 52: 295-303, 2019.

21. Dossena M, Piras R, Cherubini A, et al. Standardized GMP-compliant scalable production of human pancreas organoids. *Stem Cell Res Ther* 11: 94, 2020.
22. Greggio C, De Franceschi F, Figueiredo-Larsen M, et al. Artificial three-dimensional niches deconstruct pancreas development in vitro. *Development* 140: 4452-4462, 2013.
23. Bonfanti P, Nobecourt E, Oshima M, et al. Ex vivo expansion and differentiation of human and mouse fetal pancreatic progenitors are modulated by epidermal growth factor. *Stem Cells Dev* 24: 1766-1778, 2015.
24. Jin L, Feng T, Shih HP, et al. Colony-forming cells in the adult mouse pancreas are expandable in Matrigel and form endocrine/acinar colonies in laminin hydrogel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 3907-3912, 2013.
25. Lee J, Sugiyama T, Liu Y, et al. Expansion and conversion of human pancreatic ductal cells into insulin-secreting endocrine cells. *Elife* 2: e00940, 2013.
26. Pagliuca FW, Millman JR, Gurtler M, et al. Generation of functional human pancreatic beta cells in vitro. *Cell* 159: 428-439, 2014.
27. Russ HA, Parent AV, Ringler JJ, et al. Controlled induction of human pancreatic progenitors produces functional beta-like cells in vitro. *EMBO J* 34: 1759-1772, 2015.
28. Shim JH, Kim J, Han J, et al. Pancreatic islet-like threedimensional aggregates derived from human embryonic stem cells ameliorate hyperglycemia in Streptozotocin-induced diabetic mice. *Cell Transplant* 24: 2155-2168, 2015.
29. Kim Y, Kim H, Ko UH, et al. Islet-like organoids derived from human pluripotent stem cells efficiently function in the glucose responsiveness in vitro and in vivo. *Sci Rep* 6: 35145, 2016.
30. Candiello J, Grandhi TSP, Goh SK, et al. 3D heterogeneous islet organoid generation from human embryonic stem cells using a novel engineered hydrogel platform. *Biomaterials* 177: 27-39, 2018.
31. Takahashi Y, Sekine K, Kin T, et al. Self-condensation culture enables vascularization of tissue fragments for efficient therapeutic transplantation. *Cell Rep* 23: 1620-1629, 2018.
32. Powell N, Pantazi E, Pavlidis P, et al. Interleukin-22 orchestrates a pathological endoplasmic reticulum stress response transcriptional programme in colonic epithelial cells. *Gut* 69: 578-590, 2019.
33. Ibiza S, Garcia-Cassani B, Ribeiro H, et al. Glial-cell derived neuroregulators control type 3 innate lymphoid cells and gut defence. *Nature* 535: 440-443, 2016.
34. Neal JT, Li X, Zhu J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell* 175: 1972-1988, 2018.
35. Sugiyama T, Benitez CM, Ghodasara A, et al. Reconstituting pancreas development from purified progenitor cells reveals genes essential for islet differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 12691-12696, 2013.
36. Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 29: 46-52, 1986.
37. Buffa R, Polak JM, Pearse AC, et al. Identification of the intestinal cell storing gastric inhibitory peptide. *Histochemistry* 43: 249-255, 1975.
38. Eissele R, Göke R, Willemer S, et al. Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *Eur J Clin Invest* 22: 283-291, 1992.
39. Barker N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15: 19-33, 2014.
40. Sjölund K, Sandén G, Håkanson R, Sundler F. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology* 85: 1120-1130, 1983.
41. Beumer J, Artegiani B, Post Y, et al. Enteroendocrine cells switch hormone expression along the crypt-to-villus BMP signalling gradient. *Nat Cell Biol* 20: 909-916, 2018.
42. Gehart H, van Es JH, Hamer K, et al. Identification of enteroendocrine regulators by Real-Time single-cell differentiation mapping. *Cell* 176: 1158-1173, 2019.
43. Zietek T, Rath E, Haller D, Daniel H. Intestinal organoids for assessing nutrient transport, sensing and incretin secretion. *Sci Rep* 5: 16831, 2015.

44. Petersen N, Reimann F, van Es JH, et al. Targeting development of incretin-producing cells increases insulin secretion. *J Clin Invest* 125: 379-385, 2015.
45. Petersen N, Frimurer TM, Terndrup Pedersen M, et al. Inhibiting RHOA signaling in mice increases glucose tolerance and numbers of enteroendocrine and other secretory cells in the intestine. *Gastroenterology* 155: 1164-1176, 2018.
46. Petersen N, Reimann F, Bartfeld S, et al. Generation of L cells in mouse and human small intestine organoids. *Diabetes* 63: 410-420, 2014.
47. Lund ML, Sorrentino G, Egerod KL, et al. L-Cell differentiation is induced by bile acids through GPBAR1 and paracrine GLP-1 and serotonin signaling. *Diabetes* 69: 614-623, 2020.
48. Goldspink DA, Lu VB, Miedzybrodzka EL, et al. Labeling and characterization of human GLP-1-secreting L-cells in primary ileal organoid culture. *Cell Rep* 31: 107833, 2020.
49. Nagpal R, Newman TM, Wang S, et al. Obesity-linked gut microbiome dysbiosis associated with derangements in gut permeability and intestinal cellular homeostasis independent of diet. *J Diabetes Res* 2018: 3462092, 2018.
50. Co JY, Margalef-Català M, Li X, et al. Controlling epithelial polarity: a human enteroid model for host-pathogen interactions. *Cell Rep* 26: 2509-2520.e4, 2019.
51. Chen YJ, Finkbeiner SR, Weinblatt D, et al. De novo formation of insulin-producing “neo- $\beta$  cell islets” from intestinal crypts. *Cell Rep* 6: 1046-1058, 2014.
52. Bouchi R, Foo KS, Hua H, et al. FOXO1 inhibition yields functional insulin-producing cells in human gut organoid cultures. *Nat Commun* 5: 4242, 2014.
53. Takebe T, Sekine K, Enomura M, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 499: 481-484, 2013.
54. Takebe T, Sekine K, Kimura M, et al. Massive and reproducible production of liver buds entirely from human pluripotent stem cells. *Cell Rep* 21: 2661-2670, 2017.
55. Huch M, Gehart H, van Boxtel R, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell* 160: 299-312, 2015.
56. Peng WC, Logan CY, Fish M, et al. Inflammatory cytokine TNF $\alpha$  promotes the long-term expansion of primary hepatocytes in 3D culture. *Cell* 175: 1607-1619, 2018.
57. Hu H, Gehart H, Artegiani B, et al. Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids. *Cell* 175: 1591-1606, 2018.
58. Kruitwagen HS, Oosterhoff LA, Vernooij I, et al. Long-term adult feline liver organoid cultures for disease modeling of hepatic steatosis. *Stem Cell Rep* 8: 822-830, 2017.
59. Ouchi R, Togo S, Kimura M, et al. Modeling steatohepatitis in humans with pluripotent stem cell-derived organoids. *Cell Metab* 30: 374-384, 2019.
60. Vandenburgh HH, Swadison S, Karlisch P. Computer-aided mechanogenesis of skeletal muscle organs from single cells in vitro. *FASEB J* 5: 2860-7, 1991.
61. Vandenburgh H, Del Tatto M, Shansky J, et al. Tissue engineered skeletal muscle organoids for reversible gene therapy. *Hum Gene Ther* 7: 2195-200, 1996.
62. Powell C, Shansky J, Del Tatto M, et al. Tissue-engineered human bioartificial muscles expressing a foreign recombinant protein for gene therapy. *Hum Gene Ther* 10: 565-577, 1999.
63. Powell CA, Smiley BL, Mills J, et al. Mechanical stimulation improves tissue-engineered human skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 283: C1557-1565, 2002.
64. Gholobova D, Decroix L, Van Muylder V, et al. Endothelial network formation within human tissue-engineered skeletal muscle. *Tissue Eng Part A* 21(19-20): 2548-558, 2015.
65. Gholobova D, Gerard M, Terrie L, et al. Coculture method to obtain endothelial networks within human tissue-engineered skeletal muscle. *Methods Mol Biol* 1889: 169-183, 2019.
66. Gholobova D, Terrie L, Gerard M, et al. Vascularization of tissue-engineered skeletal muscle constructs. *Biomaterials* 235: 119708, 2020.

67. Maffioletti SM, Sarcar S, Henderson ABH, et al. Three-dimensional human iPSC-derived artificial skeletal muscles model muscular dystrophies and enable multi-lineage tissue engineering. *Cell Rep* 23: 899-908, 2018.
68. Chal J, Pourquie O. Making muscle: skeletal myogenesis in vivo and in vitro. *Development* 144: 2104-2122, 2017.
69. Iovino S, Burkart AM, Warren L, et al. Myotubes derived from human-induced pluripotent stem cells mirror in vivo insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113: 1889-94, 2016.
70. Pellegrinelli V, Rouault C, Veyrie N, et al. Endothelial cells from visceral adipose tissue disrupt adipocyte functions in a three-dimensional setting: partial rescue by angiopoietin-1. *Diabetes* 63: 535-549, 2014.
71. Abbott RD, Wang RY, Reagan MR, et al. The use of silk as a scaffold for mature, sustainable unilocular adipose 3D tissue engineered systems. *Adv Healthc Mater* 5: 1667-77, 2016.
72. Klingelhutz AJ, Gourronc FA, Chaly A, et al. Scaffold-free generation of uniform adipose spheroids for metabolism research and drug discovery. *Sci Rep* 8: 523, 2018.
73. Muller S, Ader I, Creff J, et al. Human adipose stromalvascular fraction self-organizes to form vascularized adipose tissue in 3D cultures. *Sci Rep* 9: 7250, 2019.
74. Wimmer RA, Leopoldi A, Aichinger Met, al. Human blood vessel organoids as a model of diabetic vasculopathy. *Nature* 565: 505-510, 2019.
75. Taguchi A, Kaku Y, Ohmori T, et al. Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 14: 53-67, 2014.
76. Takasato M, Er PX, Chiu HS, et al. Kidney organoids from human iPSCs contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature* 526: 564-568, 2015.
77. Tsujimoto H, Kasahara T, Sueta SI, et al. A modular differentiation system maps multiple human kidney lineages from pluripotent stem cells. *Cell Rep* 31: 107476, 2020.
78. Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, et al Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 472: 51-56, 2011.
79. Nakano T, Ando S, Takata N, et al. Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell* 10: 771-785, 2012.
80. Meyer JS, Howden SE, Wallace KA, et al. Optic vesicle-like structures derived from human pluripotent stem cells facilitate a customized approach to retinal disease treatment. *Stem Cells* 29: 1206-1218, 2011.
81. Zhong X, Gutierrez C, Xue T, et al. Generation of three dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs. *Nat Commun* 5: 4047, 2014.
82. Sosa-Hernandez JE, Villalba-Rodriguez AM, Romero-Castillo KD, et al. Organs-on-a-chip module: a review from the development and applications perspective. *Micromachines* 9: 536, 2018.
83. Tao T, Wang Y, Chen W, et al. Engineering human islet organoids from iPSCs using an organ-on-chip platform. *Lab Chip* 19: 948-958, 2019.

a cura di Francesco Dotta<sup>1</sup>, Anna Solini<sup>2</sup><sup>1</sup>U.O.C. Diabetologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Università degli Studi di Siena; <sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica, Università di Pisa

## Percorso riabilitativo psico-nutrizionale nei soggetti affetti da diabete mellito di tipo 2 e disturbo da alimentazione incontrollata. Un case report

Luisa Barana<sup>1</sup>, Massimiliano Cavallo<sup>1</sup>, Valentina Pierotti<sup>1</sup>, Simone Pampanelli<sup>2,3</sup><sup>1</sup>Scuola di Specializzazione in Scienza dell'Alimentazione, Università degli Studi di Perugia;<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Struttura Complessa di Endocrinologia e Metabolismo, Università degli Studi di Perugia;<sup>3</sup>Centro Disturbi dell'Alimentazione Incontrollata e Obesità, USL Umbria 1, Città della PieveDOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003g>

### INTRODUZIONE

L'obesità e il diabete di tipo 2 costituiscono una delle vere sfide del mondo occidentale. Molto spesso l'una concausa dell'altro, al punto di parlare di diabesità (*diabesity*) (1), sono entrambe patologie complesse in grado di condurre a complicanze (2) incrementando il rischio cardiovascolare e la mortalità e riducendo, al contempo, qualità ed aspettativa di vita.

L'impatto sulla salute ed i costi associati alla gestione delle complicanze costituiscono capitoli gravosi sui Sistemi Sanitari Nazionali. L'introduzione di nuove classi di farmaci ha permesso di personalizzare sempre più le strategie terapeutiche, nell'ottica di ottenere una prevenzione delle complicanze a breve e lungo termine. È stata inoltre dimostrata l'efficacia delle modifiche dello stile di vita nel prevenire o ritardare l'insorgenza del diabete di tipo 2 (3). Trattare l'obesità risulta dunque fondamentale nel percorso di prevenzione e di cura del diabete e ciò deve essere fatto indagando l'etiologia dell'incremento ponderale; spesso infatti le cause sono associate ad un disturbo del comportamento alimentare di tipo *binging* (assunzione, in un determinato periodo di tempo, di una quantità di cibo significativamente maggiore di quella che la maggior parte degli individui mangerebbe nello stesso tempo ed in circostanze simili, vedi oltre), che riduce le

probabilità di successo di un trattamento standard, sia esso nutrizionale, farmacologico o chirurgico (4).

### CASO CLINICO

M.F., di anni 58, è affetto da diabete di tipo 2 insorto all'età di 46 anni con complicanze neuropatiche e precoce lesione da piede diabetico. Coesiste storia di obesità presente fin dai 25 anni (BMI alla diagnosi: 37.5 kg/m<sup>2</sup>), ipertensione, dislipidemia, steatosi epatica ed epatomegalia, insufficienza renale cronica, cardiopatia ipocinetica ed ateromasia coronarica diffusa. Sin dall'esordio la sua condizione clinica ha richiesto trattamento insulinico. Nel 2017, a causa di un periodo di immobilità dovuto ad una riacutizzazione della lesione all'arto inferiore, si verifica un incremento ponderale di circa 30 kg con contestuale peggioramento del controllo glico-metabolico. Alla luce della clinica, viene intensificata la terapia insulinica basale con GLP1-rA a somministrazione giornaliera. Tuttavia, nei mesi successivi, si osservano numerosi episodi di riacutizzazione delle lesioni croniche ai piedi che rendono necessarie plurime amputazioni di falangi. Nel 2019, vista la sostanziale stabilità del quadro ponderale e delle sequele ad esso associate, esegue una prima valutazione presso il centro per il Disturbo da Alimentazione Incontrollata (D.A.I.) di Città della Pieve, dove

**Tabella 1** ◆ Confronto dei valori parametrici misurati in ingresso, uscita e nei successivi follow-up

	INGRESSO	USCITA	6 MESI	12 MESI	V.N.
PESO kg	152.5	136.1	142.4	141.7	
BMI kg/m <sup>2</sup>	50.49	44	47	46,6	18-24.9
CIRC VITA cm	149	140.9	146.4	141.5	<102
PAOS	147	120			<135
PAOD	88	80			<85
GLICEMIA mg/dl	176	110	106		<90
HBA1C %	8,6		6,7		<7
FM%	27	25	27		20-25
FFM%	73	75	73		>80
BCM%	58	58	60		34-45
AF°	6.9	7	7.5		5.6-7.5
TBW%	53.4	54.5	53.2		56-60
ECW%	41.9	41.5	39.7		42-50
MB kcal/die	2600	2470	2560		

viene posta diagnosi di Obesità III grado (BMI 49,1) e di Disturbo dell'Alimentazione senza specificazione (NOSFED, 307.50- F 50.9 DSM-V) caratterizzato da moderata iperfagia ai pasti e da un incrementato *intake* calorico fuori pasto, con comportamento quotidiano tipo *grazing* (ingestione di quantità di cibo limitate ma in maniera continuativa nell'arco della giornata); viene riscontrata altresì una deflessione del tono dell'umore, per la quale il paziente non assume alcun tipo di terapia. Pertanto viene predisposto un ricovero per un percorso di tipo residenziale che ha la durata effettiva di 8 settimane. All'ingresso M.F. presenta un peso pari a 152.5 kg (BMI 50.49 kg/m<sup>2</sup>), una circonferenza vita di 149 cm, una PAO di 147-88 mmHg, la glicemia a digiuno è pari a 176 mg/dl, il valore di HbA1c 8,6%. Viene eseguita una valutazione bioimpedenziometrica (BIA) che mostra una alterazione della composizione corporea, caratterizzata da un'eccessiva massa grassa (FM) ed una ridotta massa magra (FFM), vedi Tab. 1.

**Terapia riabilitativa psico-nutrizionale del Centro DAI.** L'intervento nutrizionale nel Centro è multidisciplinare e si attua attraverso il counselling nutrizionale, la programmazione alimentare, i pasti assistiti e il monitoraggio del peso settimanale (5). La maggior

parte degli interventi sono di gruppo: attraverso l'uso di strumenti cognitivo-comportamentali (Diario Alimentare, programmazione settimanale, ABC, ecc.) vengono migliorati apprendimento ed utilizzo di strategie di autocontrollo, automonitoraggio e problem solving (6). L'attività fisica programmata e la fisioterapia mirano ad un miglioramento della composizione corporea, oltre che al recupero delle sensazioni fisiche della propria corporeità. Il percorso prevede tre livelli ad intensità crescente a seconda della gravità del caso: ambulatoriale, semiresidenziale, residenziale (7).

**Decorso clinico.** Attraverso il percorso residenziale M.F. è in grado di riequilibrare il proprio ritmo alimentare e le porzioni dei nutrienti ai pasti; il lavoro psicoterapico individuale e le attività di gruppo gli permettono di imparare a reagire alle proprie emozioni senza l'utilizzo del sintomo alimentare e senza far ricorso a terapia psicofarmacologica. Il temporaneo miglioramento della sintomatologia neuropatica e l'assunzione corretta dei nutrienti gli consentono di svolgere 60 minuti di attività fisica al giorno (nordic walking).

Sin dalla prima settimana si osserva una riduzione dei valori glicemici che permette la diminuzione graduale delle unità di insulina, dimezzate già nel primo mese. Il persistere di valori glicemici a digiuno <120mg/dl ne porta all'azzeramento.

Al termine del percorso M.F. pesa 136.1 kg (BMI 44 kg/m<sup>2</sup>, circonferenza vita 140.9 cm, vedi Fig. 1), la PAO appare stabilmente ridotta a valori

medi di 120/80 mmHg. Si documenta completa remissione degli episodi iperfagici fuori pasto. La BIA eseguita in dimissione mostra un miglioramento della composizione corporea, con una riduzione percentuale della FM ed un incremento della FFM, un miglioramento lieve dell'angolo di fase e stabilità degli altri parametri (vedi Tab. 1). I valori glicemici medi a digiuno sono pari a 110 mg/dl circa.

**Follow-up.** Ad una prima rivalutazione a breve presso il Centro Diabetologico di riferimento si conferma il buon andamento glico-metabolico domiciliare, pertanto viene mantenuta la sospensione della terapia con glargine ed il GLP1rA viene implementato al suo dosaggio pieno, per la comprovata efficacia nel controllo del peso e delle sue determinanti neurobiologiche (8).

Al follow-up semestrale, a causa di una riduzione dell'attività fisica per l'acuirsi della sintomatologia neuropatica, si osserva un aumento ponderale (+ 6 kg), tuttavia l'andamento glicemico è buono; la misurazione di HbA1c eseguita dopo le dimissioni mostra valori di 6,7%, la glicemia a digiuno 106 mg/dl. L'esecuzione della BIA di controllo mostra un incremento della BCM (Body Cellular Mass, 60%), dell'angolo di fase (7,5°) e del MB (2560 kcal/die). Al follow-up eseguito ad un anno dalla dimissione, il peso si mantiene stabile a 141,7 kg, come stabilmente buono permane il controllo glico-metabolico.

## DISCUSSIONE

**Diabete e stili di vita: il punto dalla letteratura.** Le modifiche dello stile di vita sono un fattore chiave nel controllo glicometabolico del diabetico, benché l'impatto e l'aderenza ad esso siano dei parametri difficili da quantificare e la letteratura sia carente di forti evidenze a riguardo. Il DPP Trial (9) ha mostrato la superiorità dell'intervento intensivo sullo stile di vita (ILI, *Intensive Lifestyle Intervention*) rispetto alla metformina nel prevenire l'insorgenza di diabete in popolazioni a rischio, vantaggio che viene mantenuto nel successivo follow-up decennale nei pazienti arruolati (10). Una recente metanalisi (11) condotta su 12 RCT conferma l'efficacia della dieta associata ad un programma di attività fisica nel prevenire o ritardare l'insorgenza di diabete nei soggetti affetti da alterata tolleranza glucidica. Gli studi DIRECT (12) e LOOK AHED (13), inoltre, sono stati in grado di dimostrare come l'ILI può condurre alla remissione del diabete ed alla sospensione del trattamento farmacologico. Una recente analisi (14) evidenzia che l'aderenza ad un corretto stile di vita sin della diagnosi di diabete è associata ad un ridotto rischio di sviluppo di complicanze cardiovascola-

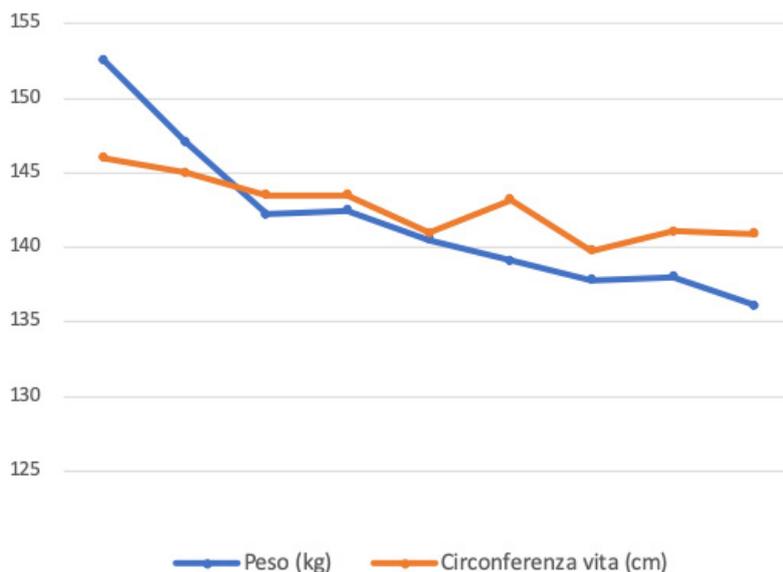
ri o di morte per patologia cardiovascolare a 10 anni. Su quest'ultimo punto, tuttavia, non vi è in letteratura ancora un chiaro accordo: non tutti i trial si sono mostrati efficaci nella prevenzione delle complicanze cardiovascolari (15); a ciò si aggiunga inoltre la difficoltà nel quantificare e dimostrare l'efficacia a lungo termine di tali interventi.

**Diabete e DAI: il circolo vizioso.** Il percorso clinico di M.F. dimostra la stretta connessione tra andamento ponderale e controllo glicometabolico nel paziente diabetico; tale connessione si esplica soprattutto nell'attuazione di scorretti comportamenti alimentari e stili di vita non salutari.

I Disturbi del Comportamento Alimentare sono patologie psichiatriche classificate secondo il DSM-V; tra i disturbi caratterizzati da alimentazione per eccesso sono annoverati: il Disturbo dell'Alimentazione Incontrollata (DAI o Binge Eating Disorder, BED), definito dalla presenza di ricorrenti episodi abbuffate; la Sindrome da Night Eating (NES), che rientra nella categoria OSFED (*Other Specified Feeding or Eating Disorders*), caratterizzata da frequenti episodi di alimentazione notturna e il *grazing* (spiluccamento continuo di piccole quantità di cibo), che rientra nella terza categoria diagnostica NOSFED (*Non Other Specified Feeding or Eating Disorders*) (16). Nel loro complesso, si stima che la presenza di BED e NES si attesti almeno nel 10-15% di pazienti obesi diabetici (17). Petroni ML e collaboratori hanno dimostrato, in un'ampia coorte italiana di diabetici di tipo 2 (dei quali l'82% con BMI superiore alla norma), una prevalenza del 21% di comportamento alimentare disfunzionale, di cui il 16,5% classificabile come grave alla scala BES (*Binge Eating Scale*). Tale percentuale sale drasticamente nel gruppo di pazienti con Obesità di III grado (81,4%) (18).

La presenza di DAI in uno studio di popolazione svedese è associata all'incrementato rischio di sindrome metabolica (doppio) e di diabete (quintuplo): paragonati a pazienti obesi non affetti da DA, vi è una maggiore presenza di adiposità centrale, incremento dei valori glucidici a digiuno, insulino resistenza associato a incremento dei valori di A1c ed ipertensione (19). Nel soggetto diabetico, inoltre, la presenza di DA peggiora il controllo glicometabolico ed appare in grado di ridurre la sensibilità insulinica (Fig. 2) (20).

**Figura 1** ◆ Grafico dell'andamento ponderale e della circonferenza vita di M.F. durante il percorso residenziale presso il Centro DAI



Le evidenze considerano l'approccio cognitivo comportamentale (CBT) la strategia più efficace nel ridurre i comportamenti disfunzionali del paziente affetto da DAI (21), migliorando nel complesso le capacità neurocognitive; nel paziente obeso tale approccio permette un cambiamento stabile e duraturo nel lungo termine (22). L'utilizzo di CBT, peraltro, viene proposto anche nella gestione cronica del paziente diabetico, come strumento in grado di ridurre ansia, frustrazione e depressione correlate all'andamento della patologia ed alla preoccupazione delle sue complicanze (23). Sebbene non vi siano evidenze chiare, in letteratura, del ruolo del trattamento del DA sul controllo glicometabolico e sulla prevenzione delle complicanze a lungo termine (24), appare evidente come trattare il diabete nel paziente obeso con DA è un percorso clinico complesso volto a migliorare lo stile di vita, controllando nel contempo i sintomi psichiatrici ed ottimizzando il controllo glicometabolico.

## CONCLUSIONI

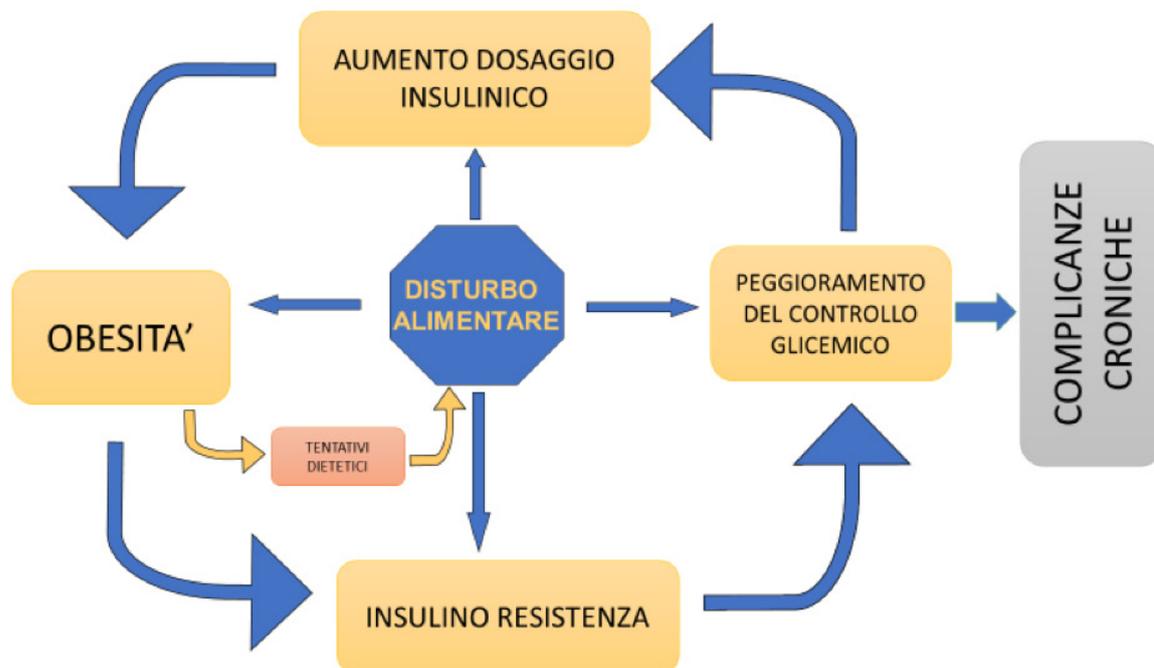
Il percorso di cura del diabete si focalizza sulla gestione dei parametri glicidici nel breve termine e sulla prevenzione delle complicanze a medio e lungo termine; laddove coesista un quadro di obesità, spesso viene posta indicazione di una dieta per una perdita di peso che dif-

ficilmente viene raggiunta. Il caso di M.F. mette in luce come la presenza di un Disturbo Alimentare sia causa dell'eccesso ponderale e possa condizionare il decorso del diabete.

Sebbene la letteratura manchi di evidenze chiare, un percorso di cura integrato e multidisciplinare è in grado di affrontare efficacemente diabete, obesità e DAI, permettendo di ottenere dei risultati a medio e lungo termine. Sono senza dubbio necessari nuovi studi che dimostrino l'efficacia dell'approccio multidisciplinare integrato sul controllo glicidico nel medio e lungo termine e sulla prevenzione delle complicanze acute e croniche della patologia diabetica.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano il prof. Riccardo Calafiore (Direttore del Dipartimento di Medicina Interna, Struttura Complessa di Endocrinologia e Metabolismo, Università degli Studi di Perugia); il prof. Carmine Fanelli (Direttore della Scuola di Specializzazione in Scienza dell'Alimentazione, Università degli Studi di Perugia) e la dr.ssa Laura Dalla Ragione (Responsabile del Centro Disturbi dell'Alimentazione Incontrollata e Obesità e della Rete DCA, USL Umbria 1, Città della Pieve).

**Figura 2** ◆ Circolo vizioso che si viene a generare nel paziente obeso affetto da DMT2

**BIBLIOGRAFIA**

1. Sims EA, Danforth Jr E, Horton ES, Bray GA, Glennon JA, Salans LB. Endocrine and metabolic effects of experimental obesity in man. *Recent Prog Horm Res* 29: 457-496, 1973.
2. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444(7121): 840-846, 2006.
3. Balk EM, Earley A, Raman G, et al. Combined diet and physical activity promotion programs to prevent type 2 diabetes among persons at increased risk: a systematic review for the community preventive services task force. *Ann Intern Med* 163: 437-51, 2015.
4. McCuen-Wurst C, Ruggieri M, Allison KC. Disordered eating and obesity: associations between binge-eating disorder, night-eating syndrome, and weight-related comorbidities. *Ann N Y Acad Sci* 1411(1): 96-105, 2018. doi:10.1111/nyas.13467.
5. Pampanelli S, Bartolini L. La riabilitazione nutrizionale. In: Prigionieri del cibo, Roma, Il Pensiero Scientifico Editore, 2016, pp. 113-119.
6. Dalla Ragione L. Lavorare insieme: l'equipe multidisciplinare. In: Prigionieri del cibo. Roma, Il Pensiero Scientifico Editore, 2016, pp. 99-109.
7. Ruocco G, Andrioli Stagno R, Ballardini D, Cotugno A, Dalla Ragione L, Dalle Grave R, et al. Linee di Indirizzo Nazionale per la riabilitazione Nutrizionale dei Disturbi dell'Alimentazione, Quaderni del Ministero della Salute, 29: 59-64, 2017.
8. Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ. Liraglutide for Type 2 diabetes and obesity: a 2015 update. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 13(7): 753-767, 2015. doi:10.1586/14779072.2015.1054810.
9. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, et al. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 346: 393-403, 2002.
10. The Diabetes Prevention Program Research Group. 10-year follow-up of diabetes incidence and weight loss in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet* 374(9702): 1677-1686, 2009. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61457-4.
11. Hemmingsen B, Gimenez-Perez G, Mauricio D, et al. Diet, physical activity or both for prevention or delay of type 2 diabetes mellitus and its associated complications in people at increased risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 12, 2017. doi: 10.1002/14651858.CD003054.

12. Lean MEJ, Leslie WS, Barnes AC, et al. Primary care-led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open-label, cluster-randomised trial. *Lancet* 391: 541-51, 2019.
13. Unick JL, Beavers D, Bond DS, Clark JM, Jakicic JM, Kitabchi AE, Knowler WC, Wadden TA, Wagenknecht LE, Wing RR. Look AHEAD Research Group. The long-term effectiveness of a lifestyle intervention in severely obese individuals. *Am J Med* 126(3): 236-242, 2013.
14. Liu G, Li Y, Hu Y. Influence of Lifestyle on Incident Cardiovascular Disease and Mortality in Patients with Diabetes Mellitus *J Am Coll Cardiol* 71(25): 2867-2876, 2018.
15. Dutton GR, Lewis CE. The Look AHEAD Trial: Implications for Lifestyle Intervention in Type 2 Diabetes Mellitus. *Prog Cardiovasc Dis* 58(1): 69-75, 2015. doi: 10.1016/j.pcad.2015.04.002.
16. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013.
17. Abbott S, Dindol N, Tahrani AA, Piya MK. Binge eating disorder and night eating syndrome in adults with type 2 diabetes: a systematic review. *J Eat Disord* 6: 36, 2018.
18. Petroni ML, Barbanti FA, Bonadonna R, et al. Dysfunctional eating in type 2 diabetes mellitus: a multicenter Italian study of socio-demographic and clinical associations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 29(9): 983-990, 2019. doi:10.1016/j.numecd.2019.06.006.
19. Thornton LM, Watson HJ, Jangmo A, et al. Binge-eating disorder in the Swedish national registers: Somatic comorbidity. *Int J Eat Disord* 50(1): 58-65, 2017. doi:10.1002/eat.22624.
20. Parry S, Woods R, Hodson L, Hulston C. A single day of excessive dietary fat intake reduces whole-body insulin sensitivity: the metabolic consequence of binge eating. *Nutrients* 9(8): 818, 2017. doi:10.3390/nu9080818.
21. Linardon J, Wade TD, De La Piedad Garcia X, Brennan L. The efficacy of cognitive-behavioral therapy for eating disorders: A systematic review and meta-analysis. *J Consult Clin Psychol* 85(11): 1080-1094, 2017. doi:10.1037/ccp0000245.
22. Dalle Grave R, Sartirana M, Calugi S. Personalized cognitive-behavioural therapy for obesity (CBT-OB): theory, strategies and procedures. *Biopsychosocial Medicine* 14(1): 5, 2020. doi: 10.1186/s13030-020-00177-9.
23. Uchendu C, Blake H. Effectiveness of cognitive-behavioural therapy on glycaemic control and psychological outcomes in adults with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabet Med* 34: 328-339, 2017. doi: 10.1111/dme.13195.
24. Chevinsky JD, Wadden TA, Chao AM. Binge Eating Disorder in Patients with Type 2 Diabetes: Diagnostic and Management Challenges. *Diabetes Metab Syndr Obes* 13: 1117-1131, 2020. doi: 10.2147/DMSO.S213379.