



*Fondata nel 1562*

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI**  
**FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

***SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE BIOMEDICHE***

*Direttore: Prof. Eusebio Tolu*

***INDIRIZZO FISIOPATOLOGIA MEDICA***

*Responsabile: Prof. Nicola Glorioso*

**XXIII Ciclo**

**L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA  
L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA  
NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO  
(LADA)**

**Direttore della Scuola:**

*Prof. Eusebio Tolu*

**Coordinatore:**

*Prof. Nicola Glorioso*

**Relatore:**

*Dott. Giovanni Mario Pes*

**Dottorando:**

*Dott.ssa Silvia Masala*

Anno Accademico 2009-2010

*La nostra gloria più grande non sta nel non cadere mai,  
bensì nel rialzarci ogni volta che cadiamo.*

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

# INDICE

<b>1</b>	<b>RIASSUNTO</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>6</b>
	2.1 Definizione di Diabete Autoimmune Latente dell'Adulto (LADA)	10
	2.2 Epidemiologia del Diabete Autoimmune Latente dell'Adulto (LADA)	14
	2.3 Patogenesi del LADA	16
	2.4 LADA e immunità umorale	19
	2.5 Funzione residua delle cellule beta	23
	2.6 Associazione del LADA con altre malattie autoimmuni	24
	2.7 Aspetti metabolici e clinici del LADA	25
	2.8 Composizione corporea nei pazienti LADA	27
	2.9 Terapia del LADA	28
<b>3</b>	<b>SCOPO DELLA TESI</b> .....	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>PAZIENTI E METODI</b> .....	<b>31</b>
	4.1 Reclutamento del campione	31
	4.2 Analisi Bioimpedenziometrica (BIA)	33
	4.3 Densitometria a doppio raggio (DXA)	34
	4.4 Valutazione del dispendio energetico a riposo	35
	4.5 Analisi statistica dei dati	36
<b>5</b>	<b>RISULTATI</b> .....	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSIONE E CONCLUSIONI</b> .....	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>57</b>

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

# 1. RIASSUNTO

Il **diabete autoimmune latente nell'adulto (LADA)** è un condizione patologica poco conosciuta fino ad alcuni anni fa e caratterizzata, al momento della diagnosi, dalla presenza di autoanticorpi contro antigeni delle cellule beta pancreatiche, le quali vengono distrutte da un meccanismo autoimmune T-dipendente che procede tuttavia più lentamente rispetto al diabete di tipo 1 ad esordio precoce. Gli autoantigeni più importanti che inducono la risposta immune sono l'acido glutammico decarbossilasi (GAD65) e la tirosina fosfatasi (IA-2). I pazienti LADA, durante i primi sei mesi dalla diagnosi non sono insulino-dipendenti, ma mostrano la tendenza a diventarlo rapidamente. Almeno il 5-10% dei pazienti di età superiore ai 35 anni con diagnosi iniziale di diabete di tipo 2 rientrano in questa categoria. In realtà il LADA non sembra essere una entità nosologica singola ma piuttosto un insieme eterogeneo di condizioni, sia dal punto di vista immunopatologico che del fenotipo clinico, e ciò suggerisce l'esistenza di molteplici meccanismi fisiopatologici. Tuttavia tale eterogeneità non è al momento sufficientemente chiarita, a causa dell'esiguità e della scarsa omogeneità delle casistiche finora analizzate, ed in particolare non è chiaro se i pazienti LADA si caratterizzino per una distribuzione omogenea delle variabili antropometriche.

Lo scopo di questa tesi è stato quello di effettuare una indagine clinica (composizione corporea e metabolismo energetico) su una casistica di 251 pazienti LADA diagnosticati sulla base delle caratteristiche cliniche e della presenza di anticorpi anti-cellule beta (anti-GAD65 e anti-IA2). Nei pazienti arruolati è stata

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

eseguita la valutazione della composizione corporea mediante antropometria (peso, statura, calcolo del BMI, circonferenza addominale, rapporto vita-fianchi, plicometria) e in un sottocampione di 42 pazienti sono stati stimati massa grassa assoluta (FM) e percentuale (FM%), massa magra assoluta (FFM) e percentuale (FFM%) mediante impedenziometria bioelettrica con apparecchiatura in monofrequenza (AKERN<sup>®</sup>) e densitometria a doppio raggio (DXA) (Hologic<sup>®</sup>). Infine il dispendio energetico a riposo è stato misurato mediante calorimetria indiretta respiratoria (VIASYS<sup>®</sup>).

I dati raccolti nei pazienti LADA sono stati messi a confronto con quelli di un campione di pazienti con diabete di tipo 2 GAD-negativi e un campione di pazienti con diabete di tipo 1 insorto dopo i 30 anni. Le differenze tra le variabili continue, p. es. quelle tra i due sottogruppi di pazienti LADA ad alto e basso indice di massa corporea, sono state analizzate con il test *U* di Mann-Whitney a due code, mentre le differenze nelle variabili categoriche con il test  $\chi^2$ .

I risultati ottenuti indicano che i pazienti LADA hanno complessivamente un BMI inferiore a quello dei pazienti DM2 e che, nel sottogruppo di pazienti LADA con elevato BMI, sono più frequenti le componenti della sindrome metabolica (valori bassi di HDL, valori elevati di pressione arteriosa, adiposità viscerale). Il metabolismo a riposo, corretto per l'indice di massa corporea, è risultato più elevato nei pazienti LADA rispetto ai DM2 GAD-negativi.

In sintesi, in base all'indice di massa corporea si possono distinguere nell'ambito del LADA due sottogruppi di pazienti con caratteristiche fenotipiche e profilo di rischio cardiometabolico differenti.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Sono in corso indagini per chiarire ulteriormente le caratteristiche dei due sottogruppi LADA finora individuati, precisare le analogie e differenze con altre forme di diabete autoimmune e analizzare l'impatto della composizione corporea nei pazienti LADA sull'evoluzione del diabete verso l'esaurimento beta cellulare e l'insulino-dipendenza.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## 2. INTRODUZIONE

Il diabete mellito è una alterazione cronica del metabolismo glucidico caratterizzata da iperglicemia dovuta a difetti della secrezione e/o dell'azione fisiologica dell'insulina. È una malattia eterogenea alla cui patogenesi partecipano diversi meccanismi che vanno dalla distruzione autoimmune delle cellule beta del pancreas, con conseguente insulino-deficienza, ad alterazioni che determinano una resistenza dei tessuti bersaglio all'azione insulinica (1).

Nel 1997 l'“Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus”, col patrocinio della “American Diabetes Association” (ADA) ha pubblicato un rapporto contenente le nuove linee guida per la classificazione del Diabete Mellito (2,3) che si basa attualmente soprattutto sulla patogenesi piuttosto che sull'età di insorgenza (*diabete giovanile, diabete dell'adulto*) o sulla necessità di ricorrere alla terapia insulinica (*insulino-dipendente, non insulino-dipendente*). L'attuale classificazione del diabete mellito distingue quattro tipi (*Tabella 1*); tuttavia la grande maggioranza di casi di diabete rientra in due ampie categorie eziopatogenetiche: il diabete mellito di tipo 1 (DM1) e il diabete mellito di tipo 2 (DM2).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

*Tabella 1. Classificazione Eziologica del diabete mellito*

<b>I. Diabete tipo 1*</b> ( <i>distruzione <math>\beta</math>-cellulare, che generalmente conduce ad una carenza assoluta di insulina</i> )
A. Immuno-mediato
B. Idiopatico
<b>II. Diabete tipo 2*</b> ( <i>può esservi una predominante insulino-resistenza con relativa insulino-deficienza o un prevalente deficit secretorio con insulino-resistenza</i> )
<b>III. Altri tipi specifici</b>
<b>A. Difetti genetici della funzione <math>\beta</math>-cellulare</b>
1. Cromosoma 12, HNF-1 $\alpha$ (MODY3)
2. Cromosoma 7, glucokinasi (MODY2)
3. Cromosoma 20, HNF-4 $\alpha$ (MODY1)
4. DNA Mitocondriale
<b>B. Difetti genetici dell'azione dell'insulina</b>
1. Insulino-resistenza di Tipo A
2. Leprecaunismo
3. Sindrome di Rabson-Mendenhall
4. Diabetes Lipoatrofico
<b>C. Patologie del pancreas esocrino</b>
1. Pancreatite
2. Trauma/pancreasectomia
3. Neoplasia
4. Fibrosi cistica
5. Emocromatosi
<b>D. Endocrinopatie</b>
1. Acromegalia
2. Sindrome di Cushing
3. Glucagonoma
4. Feocromocitoma
5. Iper-tiroidismo
6. Somatostatina
7. Aldosteronoma
<b>E. Indotto da farmaci o da sostanze chimiche</b>
1. Pentamidina
2. Acido nicotinico
3. Glucocorticoidi
4. Ormoni tiroidei
5. Diazossido
6. Agonisti $\beta$ -adrenergici
7. Tiazidici
8. Fenitoina
9. Interferone $\alpha$
<b>F. Infezioni</b>
1. Rosolia congenita
2. Citomegalovirus
<b>G. Forme non comuni di diabete immuno-mediato</b>
1. "Stiff-man" syndrome
2. Anticorpi Anti- recettore insulinico
<b>H. Altre sindromi genetiche a volte associate con il diabete</b>
1. Sindrome di Down
2. Sindrome di Klinefelter
3. Sindrome di Turner
4. Sindrome di Wolfram
5. Atassia di Friedreich
6. Corea di Huntington
7. Sindrome di Laurence-Moon-Biedl
8. Distrofia miotonica
9. Porfiria
10. Sindrome di Prader-Willi
11. Altri
<b>IV. Diabete mellito Gestazionale (GDM)</b>
*Pazienti con ogni forma di diabete possono richiedere terapia insulinica in una certa fase della malattia ma questo di per sé non permette di classificare il tipo di diabete.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Il DM1 è una malattia immuno-mediata a patogenesi multifattoriale e poligenica e riguarda circa il 5-10% di casi di diabete (2,3). Si presenta più comunemente durante l'infanzia o l'adolescenza anche se possono essere colpite tutte le età. La prevalenza nella popolazione generale italiana è stimata tra lo 0,4 e l'1 per mille (4). L'incidenza è compresa tra i 6 e 10 casi/100.000/anno nella fascia di età da 0 a 14 anni, mentre è stimata in 6,72 casi/100.000/anno dai 15 ai 29 anni (4). La Sardegna, insieme ai paesi Scandinavi, ha un'incidenza tra le più alte al mondo, pari a 34 casi/100.000/anno nella fascia di età tra 0 e 14 anni (4). Il DM1 è caratterizzato da una progressiva distruzione immuno-mediata delle cellule beta del pancreas, con conseguente carenza insulinica e dalla presenza in circolo di autoanticorpi anti decarbossilasi dell'acido glutammico (GAD65 e GAD67), anti tiroxina-fosfatasi (IA-2 e IA-2 beta) anti insulina (IAA) e anti cellule beta (ICA). Gli anticorpi anti-GAD65 nei diabetici di tipo 1 all'esordio sono presenti nel 22-96% dei casi (5-8). Queste differenze sono dovute alle diverse tecniche impiegate, alle differenti fonti antigeniche, nonché all'eterogeneità delle popolazioni studiate. Anticorpi anti-IA-2 sono presenti in circa il 65% dei pazienti, con frequenza più alta tra i soggetti più giovani. Inoltre il diabete di tipo 1 presenta una forte associazione con il complesso di istocompatibilità (HLA) in particolare con il HLA-DR3, DR4 e DQ2 e vi sono almeno diciassette loci genici che possono contribuire alla suscettibilità per tale malattia; tra questi, i polimorfismi della regione promoter del gene dell'insulina (IDDM1 sul cromosoma 6). In questa forma di diabete il tasso di distruzione delle cellule beta è variabile: è più rapido specialmente negli individui giovani ed è più lento prevalentemente negli adulti (9). Nei giovani e negli adolescenti l'insorgenza è di solito brusca e

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

accompagnata da chetonuria, glicosuria, calo ponderale, poliuria e polidipsia; pertanto la diagnosi non presenta in genere difficoltà e deve essere seguita tempestivamente dall'instaurazione di un'adeguata terapia insulinica. Negli adulti talvolta può persistere una residua funzione delle cellule beta per diversi anni, benché la secrezione di insulina si riduca progressivamente, come è dimostrato dai bassi o assenti livelli plasmatici di C-peptide (9). Sebbene i pazienti con questo tipo di diabete siano raramente obesi, l'obesità non è incompatibile con la diagnosi.

Il DM1 inoltre non infrequentemente coesiste con altre malattie autoimmuni, sia organo-specifiche che non organo-specifiche, tra cui tireopatie, morbo di Addison, celiachia, artrite reumatoide, vitiligine (10,11).

Il DM2 rappresenta il 90% dei casi di diabete. La prevalenza nella popolazione mondiale si attesta intorno al 5% con una lieve predilezione della popolazione femminile (M:F=1:1,25) (12). In Italia la percentuale di individui affetti da tale patologia è mediamente del 4,45% (nelle fasce di età inferiori ai 35 anni è dello 0,5%, al di sopra dei 65 supera il 10%). Indagini mirate condotte con curva da carico di glucosio (OGTT) hanno fornito percentuali persino più elevate (13). Le basi genetiche del DM2 rimangono ancora sconosciute ma si pensa che risulti dall'interazione tra geni che controllano l'attività insulinica, la funzione delle cellule beta, fattori ambientali e mutazioni in altri geni background (14). Il rischio di sviluppare questa forma di diabete aumenta con l'età, il sovrappeso (definito come BMI > 85° percentile, o peso > 120% del peso ideale) e con la sedentarietà; è più comune nelle donne affette da diabete gestazionale (GDM), in soggetti con ipertensione, dislipidemie, ridotta tolleranza ai carboidrati, alterata glicemia a

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

digiuno, con anamnesi positiva per questa patologia e in alcuni gruppi etnici, in particolare quelli asiatici (15). Negli ultimi anni inoltre si è osservato un aumento del DM2 anche nei bambini e negli adolescenti (18). Alla base dell'eziopatogenesi del DM2 vi sarebbe un certo grado di insulinoresistenza dovuta ad un eccesso di tessuto adiposo, in particolare nella regione addominale e viscerale, spesso associato ad un aumento dei trigliceridi (19,20). In generale questa forma di diabete non presenta fenomeni autoimmuni e in condizioni normali ha una scarsa tendenza alla chetoacidosi; i pazienti con DM2 solitamente non manifestano insulino-dipendenza tuttavia in determinate situazioni e comunque dopo molti anni dalla diagnosi si può andare incontro ad un esaurimento delle cellule beta che conduce alla necessità di instaurare una terapia insulinica.

### *2.1. Definizione di Diabete Latente Autoimmune dell'Adulto (LADA)*

In realtà vi è una crescente evidenza clinica che mette in rilievo una significativa sovrapposizione tra DM1 e DM2, per cui la classificazione del diabete in due classi principali è stata messa in discussione.

La scoperta nel 1974 di anticorpi contro le cellule insulari nel siero di soggetti con DM1 ha fornito una forte evidenza che le lesioni delle cellule  $\beta$  riscontrate nel DM1 fossero di natura autoimmune (16, 17). Poiché non vi sono markers affidabili per il DM2, l'assenza di markers e/o di manifestazioni caratteristiche del DM1 è spesso utilizzata come metro di giudizio per indicare un DM2.

Nel 1977 è stata dimostrata da Irvine et al. (21) la presenza di autoanticorpi diretti contro la cellula beta (ICA) in circa l'11% dei pazienti con diagnosi clinica di diabete tipo 2. In quello studio, si è evidenziato che i soggetti DM2 ICA-positivi

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

andavano incontro ad un fallimento della terapia con sulfaniluree e alla necessità di trattamento insulinico in tempi più rapidi rispetto ai DM2 ICA-negativi.

Questa osservazione è stata confermata da Groop et al. nel 1986 (22) in cui veniva riportata l'esistenza di un sottogruppo di pazienti diabetici di tipo 2, con una funzione beta-cellulare conservata alla diagnosi nonostante la presenza di autoanticorpi anti-insula, e confermata da studi successivi (23-24).

Nel 1993 per indicare tale forma di diabete fu coniato da Tuomi et al. l'acronimo LADA (Latent Autoimmune Diabetes of Adults) (23). Successivamente tale acronimo è stato utilizzato da Zimmet (9) per descrivere un sottogruppo di pazienti con insorgenza del diabete dopo i 35 anni, non obesi, con assenza di chetoacidosi o calo ponderale alla diagnosi e positività per ICA e/o autoanticorpi anti-GAD65 (30).

Il LADA rappresenta circa il 5-10% dei pazienti con diagnosi iniziale di DM2 (21, 25-27).

Sebbene non ci sia un consenso formale unanime per quanto riguarda criteri diagnostici ben definiti, il LADA è generalmente definito come la presenza di marcatori anticorpali di autoimmunità diretti verso la beta-cellula (principalmente anti-GAD65 ma anche anti-IA-2 e ICA) in adulti diabetici che inizialmente (per almeno 6 mesi dalla diagnosi) non richiedono terapia insulinica (28).

Nel 1998 l'OMS e l'American Diabetes Association (ADA) hanno proposto l'introduzione di una nuova categoria nosologica, il diabete tipo 1 a lenta insorgenza (1,29). Sono stati proposti numerose alternative al termine LADA per indicare tale forma di diabete, tra cui "Diabete di Tipo 2 con autoanticorpi anti insula", "Diabete Mellito insulino-dipendente lentamente progressivo", "Diabete 1,5 (o 1 ½)" (31,32),

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

“Diabete dell’adulto non richiedente insulina (NIRAD)” (33), ma risultano inappropriate. Infatti il termine “Diabete Tipo 1.5” implica che i pazienti abbiano caratteristiche cliniche sia del DM1 (insulino-deficienza e autoimmunità beta-pancreatica) sia del tipo 2 (insulino-resistenza ed obesità), ma i pazienti LADA non sono necessariamente obesi o insulino-resistenti. ‘Non-insulin-requiring autoimmune diabetes (NIRAD)’ non sembra appropriato in quanto la maggioranza dei pazienti sviluppa un’insulino-dipendenza. “Diabete Mellito insulino-dipendente lentamente progressivo” non rispetta il criterio dell’insulino-indipendenza alla diagnosi. Pertanto il termine più comune è Diabete Autoimmune Latente dell’Adulto (LADA), sebbene anch’esso sia suscettibile di critiche (9,23); latente è infatti un termine adottato in medicina per descrivere un processo nascosto che non si manifesta a livello clinico; la latenza del LADA quindi sarà o meno presente a seconda del parametro considerato, ovvero insulino-dipendenza, marker autoanticorpale, riserva beta-cellulare basale o sotto stimolo. Se alla diagnosi l’insulino-dipendenza non è ancora in atto, altrettanto non si può dire della presenza nel siero di autoanticorpi che oltretutto hanno attualmente anche valore diagnostico (34).

Per quanto riguarda l’età di insorgenza, il valore di 35 anni è stato deciso arbitrariamente in quanto costituisce l’età oltre la quale si riscontra un rapido aumento dell’incidenza del diabete di tipo 2 (9). Tuttavia la percentuale di positività anticorpale in soggetti con diabete di tipo 2 alla diagnosi con meno di 35 anni si attesta sui valori del 25% contro il 10% di quelli sopra tale soglia (31). Recentemente Fourlanos e Coll. hanno proposto di usare come limite minimo di età il valore di 30

Dott.ssa Silvia Masala

L’ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L’ESISTENZA DI UN’INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL’ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

anni ed hanno affermato che anche un indice di massa corporea più elevato della norma non deve essere considerato un criterio diagnostico di esclusione (35).

Nel tentativo di standardizzare la definizione di LADA, l'Immunology of Diabetes Society ha recentemente proposto i seguenti criteri:

età di insorgenza del diabete superiore o uguale a 30 anni, positività per almeno uno dei quattro anticorpi riscontrati comunemente nei pazienti con DM1 (ICA, anti GAD65, IA-2, anti-insulina) e assenza di terapia insulinica nei primi 6 mesi dopo la diagnosi. Sebbene l'ultimo requisito sia soggettivo (alcuni autori raccomandano almeno 8 mesi di insulino-indipendenza) è volto a distinguere il LADA dal DM1 insorto dopo i 30 anni (35,36).

A complicare l'interpretazione del quadro nosologico è sopraggiunto il recente tentativo di Lohmann et al., nel 2001 di sottoclassificare il LADA in due sottopopolazioni (LADA 1 e LADA 2) sulla base del titolo anticorpale (37) dato che i livelli anticorpali potrebbero indicare l'entità della distruzione beta-cellulare mediata dai linfociti T (38). Di fatto un alto titolo anticorpale è stato associato con un decadimento beta-cellulare completo, con una precoce insulino-dipendenza (39), con una maggiore prevalenza di positività anticorpale multipla (GAD65-IA2) e con parametri metabolici che avvicinano i due sottotipi di LADA alle rispettive forme di diabete. L'esistenza di livelli distinti di anticorpi GAD65 in sottogruppi di pazienti LADA è stata recentemente sottolineata in un ampio studio italiano che ha evidenziato una netta distribuzione bimodale dei titoli degli anticorpi anti-GAD 65 e l'associazione di un alto titolo anticorpale con un fenotipo clinico più simile al DM1 (40). Quindi con il passare del tempo alcuni autori hanno suggerito che più che due

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

forme di LADA distinte esiste uno spettro continuo dove il LADA occupa una posizione intermedia tra il diabete di tipo 1 ad un estremo e il diabete di tipo 2 sul versante opposto (41). Questo inquadramento, tuttavia, non è condiviso da altri autori, quali Gale et al., che considerano il LADA semplicemente un'estensione in età adulta del diabete di tipo 1 (42) e che di conseguenza suggeriscono di ammettere una forma unica di diabete autoimmune comprendente sia il diabete di tipo 1 che il LADA (35).

Come già detto precedentemente, i pazienti LADA mostrano un fenotipo clinico intermedio tra il DM1 e il DM2 (28) e un maggior rischio di progressione verso l'insulino-dipendenza (43,45). Tuttavia diversi aspetti del LADA devono essere ancora chiariti. Un punto di maggiore importanza è la sua eterogeneità, che emerge chiaramente dallo spettro dei fenotipi clinici, la possibile associazione con altre malattie autoimmuni, il profilo anticorpale composito e il sottostante background genetico polimorfo. La caratterizzazione molecolare degli autoanticorpi contro gli antigeni insulari, inclusa la determinazione del titolo, dimostra di essere uno strumento prezioso per la comprensione della storia naturale del processo autoimmune e la previsione della futura insulino-dipendenza nel DM1 classico (46).

## *2.2. Epidemiologia del LADA*

Le differenze nella grandezza e nell'etnia delle popolazioni in esame possono in parte spiegare le discrepanze nell'attuale prevalenza del LADA nei differenti studi. Essi hanno dimostrato che essa si attesta comunque intorno al 2-12% di tutti i casi di diabete mellito di tipo 2 (38,44). Occorre ricordare che la maggior parte degli studi si

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

è basata su casistiche piuttosto limitate con l'eccezione di alcuni lavori su grandi numeri di soggetti diabetici come l'UKPDS (45), lo studio BOTNIA (47), l'ADOPT (48) e il NIRAD (49). Lo studio inglese UKPDS, ha valutato la positività agli anticorpi ICA e anti-GAD65 in 3500 pazienti di tipo 2 alla diagnosi, e ha rilevato che la prevalenza del LADA si attesta su valori del 10% di tutti i casi di diabete di tipo 2. Lo studio BOTNIA ha mostrato invece una prevalenza dei pazienti diabetici GAD65-positivi del 9,3%. Per quanto riguarda la popolazione italiana lo studio NIRAD, lo studio più esteso sinora effettuato con 4250 pazienti con diabete di tipo 2 reclutati, ha mostrato una prevalenza del 4,5% analoga a quella trovata nello studio ADOPT. La prevalenza di positività anti-GAD65 in Sardegna è stata stimata da Maioli et al. in uno studio del 1999, condotto su 1436 pazienti sardi con nuova diagnosi clinica di DM2 (di età compresa tra i 35 e i 75 anni) che ha messo in evidenza una positività pari al 5,1% per i GAD65 e al 2,4% per gli IA-2 (50). In un recente studio di Maioli et al la frequenza di positività anti-GAD nei pazienti con diagnosi di diabete di tipo 2 all'esordio (di età compresa tra i 35 e i 70 anni) è stata stimata attraverso uno screening di 5568 pazienti provenienti da vari centri diabetologici sardi registrando una frequenza di 4,9% (51). Le differenze osservate al riguardo della prevalenza del LADA nelle varie popolazioni può essere attribuita alla sensibilità e la specificità dei metodi anticorpali, la scelta di criteri di selezione diversi, basati su BMI o livelli di C-peptide, il bacino di reclutamento dello studio (di popolazione, i centri per la cura del diabete ecc.).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

### *2.3. Patogenesi del LADA*

La patogenesi del LADA è stata recentemente discussa (35) con particolare enfasi sul possibile ruolo dell'autoimmunità e dell'insulino-resistenza come determinanti patogenetici coesistenti (42), come è già stato precedentemente suggerito da alcuni autori per il diabete tipo 1 ad insorgenza giovanile (52). Approfondendo la patogenesi del LADA si è riscontrata la compresenza di due processi: la progressiva riduzione della secrezione insulinica, dovuta alla distruzione autoimmune beta-cellulare e, anche se in misura inferiore al diabete di tipo 2 "classico", l'insulino-resistenza, valutata tramite indice HOMA (Homeostasis Model Assessment) (53). Tuttavia l'entità dell'insulino-resistenza risulta a tutt'oggi controversa dato che in alcuni studi sembra essere assimilabile o di poco inferiore al tipo 2 mentre in altri appare comparabile al tipo 1 (54).

In uno studio effettuato figli dei pazienti LADA si è riscontrata una secrezione insulinica ridotta rispetto ai controlli, ma nessuna differenza nella sensibilità insulinica (55), anche se l'interpretazione di questo dato è limitata poiché la maggioranza dei figli è risultata anticorpo-negativa.

Fino a ora lo studio della resistenza insulinica ha ricevuto scarsa attenzione nel LADA. La progressiva distruzione beta-cellulare è stata studiata in maniera molto più approfondita, come testimoniano gli studi multicentrici quali UKPDS, BOTNIA e ADOPT. Gli anticorpi presi in considerazione sono stati ICA, soprattutto nei primi tempi, IA2 e anti-GAD65. Questi ultimi si sono confermati nel tempo come i migliori marker di autoimmunità per la diagnosi di LADA anche se, per quanto riguarda la sola specificità, evidenze suggeriscono che gli ICA e gli IA2 possano

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

essere migliori degli anti-GAD65 (39). La predittività maggiore si ottiene con combinazioni anticorpali più che con un singolo anticorpo e, data la più alta frequenza degli ICA rispetto agli IA2, spesso l'associazione presa in considerazione è anti-GAD65/ICA. Comunque alcuni studi suggeriscono che la combinazione di anti-GAD65 e IA2 sia un predittore ottimo di insulino-dipendenza (56).

Lo studio UKPDS (45) ha dimostrato che gli anticorpi ICA e anti-GAD65 presentano un potere predittivo positivo nei confronti della insulino-dipendenza rispettivamente del 94% e dell'84% entro 6 anni dalla diagnosi nei pazienti di età compresa tra 35 e 44 anni. Nei soggetti con diagnosi superiore a 55 anni la capacità predittiva degli auto-anticorpi diminuisce rispettivamente al 44 e 34%. In uno studio durato 12 anni su pazienti con diabete insorto in età adulta, degli anti-GAD65 e/o ICA positivi alla diagnosi di diabete, quasi tutti hanno sviluppato una perdita completa della massa beta-cellulare entro 12 anni dopo la diagnosi, indipendentemente dall'età (39).

Uno dei quesiti fondamentali relativi al LADA è se tale forma di diabete possa essere considerata una manifestazione a lenta evoluzione di diabete immuno-mediato e pertanto differente dal DM1 solo nella velocità di progressione verso l'insulino-dipendenza o se debba essere annoverata tra le malattie con una propria identità patogenetica e clinica.

Recentemente è stato osservato che i pazienti LADA condividono aspetti genetici sia con il DM1 che con il DM2 (57). Il ruolo dell'obesità e il grado di insulino-resistenza nel LADA sono altri aspetti controversi. L'identificazione del ruolo rispettivo dell'insulino-dipendenza e dell'insulino-sensibilità nella determinazione del percorso

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

patogenetico fino all'esordio clinico risulta complicata dalla loro reciproca interazione nel modello di relazione curvilinea elaborato da Kahn. Le  $\beta$ -cellule normali compensano l'insulino-resistenza attraverso una maggiore secrezione insulinica, e il prodotto della sensibilità insulinica per la secrezione insulinica ("disposition index") è normalmente una costante (58). A parità di deficit insulinico più i pazienti saranno insulino-resistenti prima raggiungeranno l'iperglicemia. Poiché il BMI dei pazienti LADA abbraccia un ampio spettro che va dal normopeso all'obesità, le differenze nella sensibilità insulinica potrebbero essere una variabile importante nella loro fisiologia.

Alcuni autori hanno suggerito che la natura autoimmune comune sottenda differenti percorsi patogenetici (28) anche sulla base di differenze negli anticorpi anti-GAD65 per quanto riguarda gli epitopi più rappresentati (59) e delle differenti sottoclassi di IgG prevalenti nelle due popolazioni di diabetici (60), fenomeno che potrebbe suggerire una risposta autoimmune cellulare più orientata verso i linfociti TH2.

Le informazioni sulla risposta dei linfociti T agli autoantigeni insulari nel LADA sono scarse. È stato riscontrato che i monociti provenienti dal sangue periferico di pazienti anticorpo-positivi con fenotipo attribuibile al DM2 reagivano in vitro con insule pancreatiche umane lisate (61), ma l'antigene o gli antigeni bersaglio non sono stati identificati. Determinare se il LADA sia caratterizzato da linfociti T che reagiscono con specifici antigeni o con epitopi sia con metodi quantitativi che qualitativi richiederà dei miglioramenti nelle attuali metodologie di analisi. Gli studi dell'istologia pancreatica nel LADA sono limitati ad un singolo case-report di una

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

donna giapponese di 65 anni, in cui si evidenziava una infiltrazione di linfociti T nelle isole (insulite) e una significativa massa beta-cellulare residua (62).

#### *2.4 LADA e immunità umorale*

Gli autoanticorpi contro gli antigeni insulari ci permettono di distinguere chiaramente il DM2 dal diabete autoimmune.

Una distinzione con elevato grado di certezza tra il diabete autoimmune dell'adulto e quello infanto-giovanile non è possibile sebbene gli anticorpi anti-GAD65, ICA, IAA e IA-2 Ab si riscontrino assai frequentemente in quest'ultimo, mentre nel diabete autoimmune dell'adulto solo gli ICA e anti-GAD65 sono riscontrabili con una certa frequenza e la positività per Ab IA-2 e IAA è più rara. È stato riscontrato inoltre che la presenza di più di un anticorpo si associa con un rischio maggiore di sviluppo di DM1 nei familiari di 1° grado dei pazienti con DM1, infatti in quelli con positività per tutti e tre gli autoanticorpi il rischio stimato di andare incontro al DM1 entro 7 anni è del 100% (63).

Alcuni studi hanno evidenziato che i livelli di anti-GAD65 alla diagnosi permangono elevati per un lungo periodo di tempo mentre le concentrazioni di ICA e IA-2 Ab tendono a ridursi (64), probabilmente in parallelo alla distruzione della cellula beta.

Uno studio prospettico eseguito in pazienti con diabete insorto in età adulta (età compresa tra 21 e 73 anni) ha evidenziato che tutti quelli con positività per anti-GAD65 e/o ICA alla diagnosi, sviluppavano una completa disfunzione della cellula beta (C-peptide plasmatico a digiuno non determinabile) entro 12 anni dalla diagnosi (39). Peraltro i pazienti con positività isolata per anti-GAD65 avevano un più lento

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

sviluppo dell'esaurimento della beta cellula rispetto ai pazienti con positività anticorpale multipla.

Inoltre tale studio ha evidenziato che gli ICA si possono sviluppare molti anni dopo la diagnosi di diabete in alcuni pazienti che erano ICA negativi alla diagnosi e che la concentrazione di C-peptide in questi pazienti diminuisce più rapidamente rispetto a quella dei pazienti che erano rimasti autoanticorpo-negativi, dimostrando così l'importanza delle misurazioni ripetute degli anticorpi dopo la diagnosi.

Un altro studio ha determinato la prevalenza degli anti-GAD65 e ICA in relazione alla funzione beta-cellulare in adulti con nuova diagnosi di diabete mellito (65). Il valore predittivo positivo per insulino-deficienza degli anti-GAD65 e ICA era pari rispettivamente al 39% e 78%. La sensibilità di entrambi gli anticorpi per rilevare l'insulino-deficienza era pari all'85% per gli anti-GAD65 e al 97% per gli ICA, mentre la positività di entrambi gli autoanticorpi ha dato una specificità ed un valore predittivo positivo per insulino-deficienza pari al 99% e una sensibilità del 50%.

Anche i dati relativi alle analisi eseguite nello studio UKPDS hanno mostrato che la presenza sia di ICA che di anti-GAD65 era un maggior predittore di insulino-dipendenza rispetto ai soli anti-GAD65 tra i pazienti con età superiore a 45 anni (45).

Un lavoro più recente di Lohmann T. et al (37) in un gruppo di pazienti diabetici di età superiore a 35 anni ha evidenziato che autoanticorpi multipli specifici per le cellule insulari ed alte concentrazioni di anti-GAD65 (LADA-1) sono associati con valori più bassi di C-peptide a digiuno, mentre i pazienti con la presenza di un solo anticorpo e a bassa concentrazione (LADA-2) avevano gli stessi marcatori clinici e

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

metabolici dei pazienti DM2 anticorpo-negativi. Questi dati dimostrano che la perdita della funzione delle cellule beta nel fenotipo DM2 può essere predetta dagli ICA e dagli anti-GAD65. Tuttavia, a causa dei costi più bassi e del dosaggio relativamente più facile, la determinazione degli anti-GAD65 fornisce un' alternativa più pratica agli ICA, particolarmente negli screening di popolazione.

Recentemente Hosszufalusi e coll. (66) hanno valutato i parametri clinici, i livelli di C-peptide e gli autoanticorpi specifici delle cellule insulari in 54 pazienti affetti da LADA, 57 pazienti con DM1 ad insorgenza in età adulta e 190 pazienti con DM2. La differenza tra i due gruppi di pazienti riguardava gli autoanticorpi. In particolare, mentre i LADA presentavano una sola positività anticorpale (ICA o anti-GAD65), i pazienti DM1 presentavano la positività per più autoanticorpi. La stessa differenza era presente confrontando i LADA con i pazienti nei quali il diabete era insorto in età infantile. Inoltre non era presente alcuna differenza per quanto concerne il titolo degli autoanticorpi, al contrario di quanto rilevato da Lohmann (37). Pertanto questi dati dimostrano che l'effetto più aggressivo della malattia è correlato soprattutto alla presenza di più autoanticorpi e meno alla concentrazione dei singoli anticorpi.

Poiché nei pazienti LADA gli autoanticorpi ICA possono essere presenti da soli, Hosszufalusi e coll. (66) ritengono che per identificare i pazienti con LADA sia necessario determinare entrambi gli autoanticorpi ICA e anti-GAD65. Ciò è valido solo nella fase iniziale della malattia diabetica in quanto la concentrazione degli ICA può diminuire con la durata della malattia e ciò avviene sia nei pazienti LADA che nei pazienti con DM1.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Per quanto concerne gli autoanticorpi anti IA-2, il loro dosaggio per lo screening non sembra importante in quanto sono sempre associati ad altri autoanticorpi, peraltro la loro presenza associata agli ICA e/o anti-GAD65 è indicativa di una precoce distruzione beta cellulare. Sebbene la presenza di anti-GAD65 abbia un alto valore predittivo per una futura insulino-dipendenza, alcuni soggetti anti-GAD65 positivi non sembrano progredire verso l'insulino-dipendenza (38).

Recenti studi hanno dimostrato che nei pazienti LADA i titoli degli anticorpi anti-GAD65 hanno una distribuzione bimodale ed identificano due sottogruppi di pazienti con caratteristiche cliniche, autoimmunitarie e genetiche distinte: i pazienti con elevati titoli di anti-GAD65 tendevano ad essere più giovani, ad avere un BMI inferiore ed avevano una minor prevalenza di sindrome metabolica e delle sue componenti, con una maggior presenza di segni di insulino-deficienza (livelli di C-peptide più bassi, HbA1C più elevata) e un'autoimmunità più marcata (maggior prevalenza di altri autoanticorpi rivolti contro la cellula beta [IA-2, ICA] o di autoanticorpi anti-TPO (tireoperossidasi) rispetto ai soggetti con bassi titoli di anti-GAD65 (40). Questi risultati sono indicativi dell'eterogeneità esistente all'interno del LADA: i soggetti con multipla positività anticorpale ed elevati titoli di anti-GAD65 per molti aspetti erano più simili ai pazienti con diabete di tipo 1, mentre i soggetti con singola positività e basso titolo anticorpale somigliavano maggiormente ai pazienti con diabete di tipo 2 (40,67). Questo potrebbe anche avere delle implicazioni terapeutiche, dal momento che potrebbero essere applicati diversi approcci ai due sottogruppi.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

### *2.5 Funzione residua delle cellule beta*

In diversi studi è stato riportato che la disfunzione della  $\beta$ -cellula nel LADA è intermedia tra il diabete di tipo 1 e il diabete di tipo 2 (39,68,69). Tuttavia molti fattori possono complicare l'interpretazione della funzione beta cellulare come l'età di insorgenza della malattia, il tipo di terapia, la presenza o meno di obesità.

I pazienti LADA sembrano avere un declino dei livelli di C-peptide più rapido rispetto ai pazienti con diabete di tipo 2 anticorpo-negativi (39,66,69) ma più lento rispetto ai pazienti con diabete di tipo 1 insorto in età adulta (66,70).

La presenza o l'assenza di autoanticorpi alla diagnosi costituisce, comunque, un valore predittivo per il funzionamento delle cellule  $\beta$ , misurato tramite i livelli di C-peptide a digiuno o dopo stimolazione, al momento della diagnosi e nel follow-up. In tutti gli studi sinora effettuati, elevati titoli di anti-GAD65 e/o multipla positività anticorpale (in particolare l'associazione anti-GAD65/ICA) sono negativamente correlati con la funzione residua delle cellule  $\beta$  (28,37,71-73). Alti livelli di anti-GAD65 e/o multipli anticorpi costituiscono, quindi, un valore predittivo per una severa disfunzione delle cellule beta confrontata con l'isolata anti-GAD65 positività o con bassi livelli di anti-GAD65 o con DM2. Sia lo studio UKPDS (45) condotto su pazienti di età superiore ai 45 anni, sia altri studi (71,74) hanno mostrato che, a tutte le età, alti titoli di anti-GAD65 costituiscono un più forte fattore predittivo di insulino-dipendenza a sei anni dalla diagnosi, rispetto a bassi livelli di anti-GAD65. Inoltre la presenza di positività per anti-GAD65 e ICA risulta essere un migliore predittore di richiesta insulinica rispetto ai soli anti-GAD65 tra i pazienti di età superiore ai 45 anni (28).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

In un recente lavoro di Maioli et al. (51) è stato messo in evidenza che nei pazienti LADA elevati titoli di anti-GAD65 non costituiscono di per sé un fattore di rischio maggiore per la progressione verso l'insulino-dipendenza, mentre il numero di autoanticorpi ne è un notevole predittore.

#### *2.6 Associazione del LADA con altre malattie autoimmuni*

Il diabete di tipo 1 si associa frequentemente con altre malattie autoimmuni sia organo-aspecifiche che organo-specifiche tra cui le tireopatie autoimmuni (75) e la malattia celiaca (76). La prevalenza di tiroidite autoimmune nei bambini con diabete di tipo 1 è compresa tra il 4 e il 16% (77,78). La presenza di autoanticorpi anti-TPO (tireoperossidasi) aumenta con l'età e raggiunge il 25% circa tra i 15 e 20 anni (79). Per quanto riguarda il diabete di tipo 2 uno studio italiano (80) ha dimostrato che nei pazienti anti-GAD65 positivi la prevalenza di anticorpi anti-TPO è più elevata (24%) rispetto a quelli anticorpo-negativi (5%). La frequenza di anticorpi antitiroide è maggiore sia nel sottogruppo di pazienti LADA con alti titoli di anti-GAD65 che in quello con multipla positività anticorpale rispetto ai pazienti DM2, ai pazienti con basso titolo anti-GAD65 e con singola positività anticorpale (26,79).

Uno studio finlandese (22) ha rilevato che il gruppo dei pazienti DM2, che richiedevano insulina per controllare la loro glicemia, presentavano una maggiore prevalenza (34%) di autoanticorpi anti-tireoperossidasi (TPO) rispetto al gruppo di pazienti DM2 sovrapponibili per età trattati con ipoglicemizzanti orali (20%). Un altro studio finlandese (23) ha mostrato che i pazienti DM2 anti-GAD65 positivi presentavano una maggiore prevalenza di anticorpi anti-TPO (29%) e tireoglobulina

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

(7%) rispetto ai pazienti DM2 anti-GAD65 negativi (rispettivamente 19% e 3%).

### *2.7 Aspetti metabolici e clinici del LADA*

Tuomi T. et al. (28) hanno osservato che i pazienti diabetici del Botnia Study GAD65-positivi presentavano una maggiore insulino-deficienza (C-peptide basale e insulina dopo OGTT più bassi) rispetto ai pazienti GAD65-negativi. In particolare più elevato era il titolo di anti-GAD65, minore era la produzione di C-peptide anche se in ogni caso superiore rispetto ai pazienti con DM1.

Nella stessa popolazione, Isomaa et al. (81) hanno messo in evidenza che i pazienti LADA presentavano valori di BMI, rapporto vita/fianchi e concentrazioni di C-peptide più bassi, colesterolo HDL più elevato e minore prevalenza di ipertensione arteriosa rispetto ai pazienti con DM2. Al contrario, i due gruppi non differivano per frequenza di retinopatia, neuropatia, microalbuminuria, cardiopatia ischemica e mortalità cardiovascolare.

Nel 2001 Lohmann et al. (37) ha osservato che i pazienti con più anticorpi anti-beta cellula e/o con alto titolo di anti-GAD65 (definiti come LADA-1) presentavano valori più bassi di C-peptide, di BMI, minore prevalenza di ipertensione e di complicanze croniche associate al diabete mellito rispetto ai pazienti diabetici con un singolo anticorpo e/o basso titolo (definiti come LADA-2). Questi ultimi presentavano caratteristiche cliniche simili a quelle dei pazienti DM2.

Nel 2005 lo studio ADOPT (48), in cui erano stati studiati 4134 pazienti con DM2, non in trattamento con farmaci ipoglicemizzanti orali, dei quali 1922 erano europei e 2212 nord-americani ha riportato che i pazienti GAD65-positivi differivano dai

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

GAD65-negativi solo per i valori di colesterolo HDL (significativamente più elevati), trigliceridi (più bassi) e la resistenza all'insulina (indice HOMA più basso), mentre non sono emerse differenze per quanto riguarda BMI, pressione arteriosa, HbA1c e colesterolo non HDL. Inoltre nei pazienti GAD65-positivi la prevalenza di sindrome metabolica era inferiore rispetto ai GAD65-negativi.

Hosszufalusi et al. (66) valutando i parametri clinici, i livelli di C-peptide e gli autoanticorpi specifici delle cellule insulari in 54 pazienti affetti da LADA, 57 pazienti con DM1 ad insorgenza in età adulta e 190 pazienti con DM2 ha trovato che il profilo lipidico, la frequenza dell'ipertensione, il BMI e il rapporto vita-fianchi, erano simili nei pazienti LADA e nel gruppo di pazienti con DM1 insorto in età adulta. Anche i livelli di C-peptide non differivano nei due gruppi al momento della diagnosi, ma nel gruppo LADA diminuivano meno rapidamente.

Da un punto di vista metabolico la perdita della funzione della  $\beta$ -cellula è più lenta nel LADA rispetto al DM1 insorto nell'infanzia, ma più veloce rispetto ai DM2 anticorpo-negativi (32).

Il ruolo dell'insulino-resistenza nel LADA è controverso. Alcuni autori hanno riportato una frequenza più bassa di insulino-resistenza nel LADA rispetto al DM2 (48,82) mentre altri (32) non hanno osservato differenze significative tra pazienti DM2 e LADA benché entrambi presentino una frequenza di insulino-resistenza superiore a quella dei soggetti non diabetici. In particolare, nello studio ADOPT è stato rilevato che nei pazienti GAD65-positivi l'insulino-resistenza era meno frequente rispetto ai pazienti GAD65-negativi sulla base della concentrazione insulinica basale e dell'HOMA-IR (48).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## *2.8 Composizione corporea dei pazienti LADA*

Nonostante siano presenti in letteratura vari studi sulla valutazione della composizione corporea nel DM2 con metodiche appropriate, attualmente non esistono studi sistematici sulla composizione corporea nei pazienti LADA.

Sebbene il LADA presenti dei caratteri fenotipici del diabete di tipo 2, alcune sue caratteristiche cliniche sembrano avvicinarlo al diabete autoimmune infantile-giovanile (28); pertanto non è prudente ritenere che la composizione corporea in questa forma di diabete sia sovrapponibile a quella del DM2; in realtà, questa patologia non è una entità nosologica specificamente definita, ma piuttosto uno status eterogeneo.

Inoltre bisogna considerare che non tutti i pazienti LADA praticano terapia insulinica ed è noto che questa ha un'influenza non trascurabile sulla composizione corporea.

In un recente lavoro di Maioli et al. (51) è stato dimostrato che i pazienti LADA con BMI inferiore a 28 kg/m<sup>2</sup> hanno una probabilità più elevata di sviluppare insulino-dipendenza entro 4 anni dalla diagnosi rispetto a coloro con un BMI superiore a tale valore.

Malgrado alcuni ritengano che la terapia insulinica provochi allo stesso tempo un aumento sia della massa magra (FFM) che della massa grassa (FM) (83), altri autori sostengono che il suo effetto si espliciti prevalentemente sulla FFM (84). Naturalmente la valutazione della composizione corporea deve avvalersi di metodiche specifiche e validate, poiché la sola determinazione del BMI è ormai considerata inaffidabile per monitorare le variazioni della FM nel DM2 (85).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## *2.9 Terapia del LADA*

La terapia del LADA è rivolta principalmente alla correzione del metabolismo glucidico e alla prevenzione delle complicanze micro- e macrovascolari. Essa varia da caso a caso a seconda che il paziente presenti caratteristiche più simili al DM1 o al DM2. In tutti i casi uno stile di vita corretto, che preveda una dieta bilanciata, povera di zuccheri semplici e con un limitato apporto di grassi ed una regolare attività fisica è di grande beneficio in tutti i pazienti LADA.

Per i pazienti con caratteristiche cliniche più vicine al DM1, e in particolar modo quelli con doppi positività (GAD65+ e IA2+), la terapia insulinica dovrebbe essere iniziata precocemente al fine di ottenere un miglior controllo metabolico e una minore probabilità di complicanze croniche.

L'assunzione di farmaci ipoglicemizzanti secretagoghi come le sulfoniluree è da sconsigliare in quanto sembra accelerare la distruzione delle cellule  $\beta$  e far progredire più rapidamente verso l'insulino-dipendenza.

Nei pazienti LADA con caratteristiche cliniche più simili al DM2, caratterizzati da gradi variabili di insulino-resistenza, è molto vantaggioso somministrare farmaci ipoglicemizzanti orali come la metformina e i tiazolidinedioni.

Oltre alla correzione del dismetabolismo glucidico il trattamento del LADA dovrebbe essere rivolto alla soppressione del processo autoimmunitario e alla conservazione della funzione delle cellule beta delle isole pancreatiche.

Alcuni, inoltre, sostengono che il trattamento insulinico, diminuendo la secrezione endogena dell'ormone potrebbe rallentare il processo autoimmune caratterizzato dalla compromissione della secrezione delle cellule beta delle isole pancreatiche.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Tuttavia al momento attuale l'effetto positivo dell'insulina nella prevenzione del DM1 in soggetti ad alto rischio non è stato confermato.

In conclusione, non è chiaro se nel LADA abbia luogo un processo patologico analogo a quello che causa il DM1 nel giovane o se il diabete autoimmune presente nell'adulto possa essere considerato una forma autoimmune propria. Anche se la maggior parte degli autori ritiene che il processo patologico responsabile del LADA sia di tipo immunitario come quello del DM1, alcuni sostengono che in realtà si tratti di processi patologici differenti. Esistono evidenze che suggeriscono che i pazienti LADA presentino un background genetico diverso dal DM1, caratterizzato da una predisposizione genetica meno marcata di quella dei pazienti diagnosticati in età infantile-giovanile e dalla presenza di alleli protettivi, quasi sempre assenti nel diabete insorto nei primi anni di vita (51).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

### **3. SCOPO DELLA TESI**

In questo lavoro è stata analizzata un'ampia casistica di pazienti LADA (la seconda al mondo per numerosità) allo scopo di:

- 1) valutare i parametri antropometrici e la composizione corporea (con metodica bioimpedenziometrica e densitometrica a doppio raggio) rispetto a due gruppi di controllo costituiti rispettivamente da pazienti con diagnosi di diabete di tipo 2 anticorpo-negativi e diabete di tipo 1 insorto dopo i 30 anni;
- 2) verificare se i pazienti stratificati in base all'indice di massa corporea (BMI) presentino caratteristiche cliniche distinte;
- 3) studiare il metabolismo energetico a riposo dei pazienti mediante calorimetria indiretta e paragonarlo con quello di pazienti con DM2 e DM1 insorto dopo i 30 anni.
- 4) valutare l'accuratezza delle metodiche BIA e DXA per quanto riguarda la stima dei compartimenti corporei nei gruppi sottoposti ad indagine e il loro grado di concordanza;

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## 4. PAZIENTI E METODI

### 4.1. *Reclutamento del campione*

Nel periodo compreso tra la fine del 2005 e la fine del 2008 un totale di 5.568 pazienti con diagnosi di diabete mellito di tipo 2 di età compresa tra 35 e 75 anni, afferenti ai principali centri diabetologici della Sardegna (Sassari, Cagliari, Nuoro e Oristano) sono stati sottoposti a screening per la ricerca degli anticorpi anti-GAD65. I criteri di inclusione per la diagnosi di LADA consistevano nella positività  $\geq 98^{\circ}$  percentile degli anticorpi anti-GAD65 misurati con metodica radioimmunologica (51). In totale 276 pazienti pari al 4,9% sono risultati anticorpo-positivi e 251 di essi (134 F, 117 M) acconsentito a partecipare allo studio il quale è stato approvato dai Comitati Etici locali.

La diagnosi del diabete nei partecipanti allo studio risale ad un periodo compreso tra 8 mesi e 5 anni prima del reclutamento. Nessuno dei pazienti aveva presentato chetoacidosi e/o calo ponderale importante e nessuno aveva praticato terapia insulinica per almeno 8 mesi dopo la diagnosi. Tutti i pazienti erano di origine sarda da almeno due generazioni e nessuno di essi mostrava segni di epatopatia o nefropatia gravi. Sono stati selezionati due gruppi di controllo: (i) 251 pazienti diabetici di tipo 2 e (ii) 135 pazienti affetti da diabete di tipo 1 insorto dopo i 30 anni, sovrapponibili per sesso ed età al gruppo dei LADA.

Dei 251 pazienti con diagnosi di LADA reclutati, 49 hanno acconsentito ad essere sottoposti ad una valutazione approfondita della composizione corporea.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Accanto ai pazienti LADA sono stati reclutati 42 pazienti (14 maschi e 28 femmine) con DM1 insorto dopo i 30 anni di età media 51 anni e un gruppo di 49 pazienti (35 maschi, 14 femmine) con diabete di tipo 2 sovrapponibili per età ai gruppi precedenti selezionati tra coloro che erano risultati GAD65-negativi allo screening iniziale.

In tutti i pazienti età e sesso sono stati rilevati al momento del reclutamento mentre altri parametri clinici quali gli indici pondero-staturali tra cui l'indice di massa corporea (*body mass index*, BMI = peso in kg/altezza in m<sup>2</sup>), la circonferenza addominale, il rapporto vita/fianchi (WHR), lo spessore di 4 pliche cutanee (bicipitale, tricipitale, sottoscapolare e sovrailiaca), glicemia basale, creatinina, profilo lipidico (colesterolo totale e HDL, trigliceridi), acido urico, emoglobina glicata, pressione arteriosa sistolica e diastolica sono stati ricavati dalle cartelle cliniche conservate presso il Servizio di Diabetologia e Malattie Metaboliche dell'Università di Sassari a distanza di almeno 3 mesi dalla diagnosi per garantire un buon compenso metabolico. Inoltre è stata registrata l'eventuale presenza di sindrome metabolica in base ai criteri proposti dall'International Diabetes Federation (IDF) (86).

In tutti i partecipanti allo studio è stata valutata la composizione corporea mediante impedenziometria bioelettrica (BIA) e mediante densitometria a raggi X a doppio raggio (DXA).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

#### 4.2. *Analisi Bioimpedenziometrica (BIA)*

La determinazione della composizione corporea nei pazienti LADA e nei gruppi di controllo è stata effettuata mediante impedenziometria bioelettrica con strumento portatile monofrequenza a 4 elettrodi (AKERN<sup>®</sup>) con l'ausilio del software Biavector<sup>®</sup> per l'interpretazione dei dati di impedenza e reattanza. Il test è stato eseguito dopo un digiuno di almeno 8 ore, svuotamento della vescica e astensione dall'attività fisica da almeno 12 ore.

Per effettuare la misurazione con il Bioanalizzatore Akern<sup>®</sup> il soggetto è stato posto in posizione orizzontale per 5 minuti, con gambe e braccia leggermente divaricate a 45°, onde permettere un'omogenea distribuzione dei liquidi corporei. Sono stati applicati 4 elettrodi adesivi monouso collegati mediante cavi allo strumento. Gli elettrodi adesivi iniettori e rilevatori sono stati applicati in corrispondenza del dorso della mano (2 elettrodi) e del piede omolaterale (2 elettrodi). I valori di resistenza (Rz) e reattanza (Xc) rilevati dallo strumento sono stati quindi inseriti in un software (Biavector<sup>®</sup>) che genera il rapporto d'analisi.

Le misure di impedenza total body (resistenza: R,  $\Omega$ ; reattanza: Xc,  $\Omega$ ) sono state effettuate usando frequenze operative tra 50 kHz e 800 A. L'accuratezza è stata verificata con un circuito di calibrazione ad impedenza nota (R = 380  $\Omega$ , Xc = 47  $\Omega$ , errore 1%). I valori di R e Xc sono stati standardizzati per la statura del soggetto (H) al fine di annullare l'effetto lunghezza del conduttore. Inoltre, per eliminare l'effetto delle misure trasverse i valori di R e Xc sono stati aggiustati per circonferenza corporea mediante analisi della covarianza. L'angolo di fase (gradi) è stato calcolato come arcotangente (Xc/R); il vettore impedenza (Z) come  $(R^2 + Xc^2)^{0.5}$ . I vettori

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

individuali (R/H, Xc/H) sono stati plottati in ellissi di confidenza al 95% (R-Xc-graph). La posizione del vettore all'interno del grafico R-Xc consente l'esame semiquantitativo dello stato nutrizionale: l'asse minore indica la massa cellulare (più massa cellulare sul lato sinistro) e l'asse maggiore si riferisce allo stato di idratazione (gli individui disidratati verso il polo superiore). Le differenze tra i vettori medi di impedenza nelle diverse età e gruppi di sesso sono stati accertati con il test T2 di Hotelling. È stata calcolata anche la distanza D di Mahalanobis. Mediante l'uso di equazioni predittive sono state calcolate le seguenti variabili: acqua totale corporea (TBW), acqua intracellulare (ICW) ed extracellulare (ECW), metabolismo basale stimato (RER).

#### 4.3. *Densitometria a doppio raggio (DXA)*

L'analisi densitometrica sia *total body* che distrettuale è stata effettuata con strumento DXA (QDR 4500W-Explorer; Hologic Inc, Bedford, MA) che consente di misurare la massa grassa assoluta in kg (fat mass, FM), la percentuale di massa grassa (FM%), la massa magra assoluta in kg (FFM) e percentuale (FFM%). Tutti gli oggetti metallici sono stati rimossi dal soggetto per garantire l'accuratezza delle misurazioni. Durante il test il paziente è stato posizionato al centro di un lettino, dove lo strumento di emissione dei raggi X, situato sotto il materassino, è accoppiato ad un braccio mobile che contiene il rilevatore dei raggi e che, scorrendo lungo una serie di linee trasversali distanziate di un centimetro l'una dall'altra, in poco tempo (circa 6-7 minuti) effettua la scansione completa di tutto il corpo. Per l'analisi dei dati densitometrici è stato utilizzato il software "Subregion Whole Body<sup>®</sup>". Alla fine del

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

test è stato generato un referto che riporta i valori percentuali e in kg della massa grassa e della massa magra sia *total body* che nei vari distretti corporei (braccio destro e sinistro, tronco, gamba destra e sinistra). La precisione delle misure ripetute era del < 3% per la massa grassa percentuale.

L'esposizione alle radiazioni durante un esame di DEXA è relativamente bassa (1  $\mu\text{Sv/d}$ , micro-Sievert) e può essere paragonata alla naturale esposizione a fonti radiogene terrestri, come suolo o rocce, o extraterrestri, come i raggi cosmici. Negli USA l'esposizione annuale media è valutata essere intorno agli 8  $\mu\text{Sv/d}$  al giorno. Come confronto, l'esposizione a radiazioni associata alla DEXA è generalmente inferiore ad 1 giorno di esposizione naturale (Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations, Washington).

#### *4.4. Valutazione del dispendio energetico a riposo*

Il dispendio energetico a riposo è stato determinato in tutti i partecipanti allo studio con tre metodi differenti:

- 1) mediante calcolo attraverso le equazioni di Harris-Benedict a partire da età, sesso e peso;
- 2) mediante impedenziometria bioelettrica;
- 3) mediante calorimetria indiretta respiratoria, attraverso la determinazione della quantità di  $\text{O}_2$  consumata e  $\text{CO}_2$  prodotta in condizioni di riposo.

Per il calcolo del metabolismo a riposo sono state utilizzate le formule di Harris-Benedict:

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Uomini :  $66 + (13,7 * Kg) + (5 * h \text{ cm.}) + (6,8 * \text{età in anni})$ .

Donne :  $665 + (9,6 * Kg) + (1,7 * h \text{ cm.}) + (4,7 * \text{età in anni})$ .

Il metabolismo a riposo è influenzato non solo dal peso corporeo, dal sesso, dall'età, ma anche dalla presenza di uno stato morboso, dal background genetico, dal clima e dalla razza.

Per la determinazione del metabolismo a riposo mediante calorimetria indiretta è stato utilizzato un metabolimetro (Vmax VIASYS<sup>®</sup>) dotato di apposita maschera respiratoria (canopy). L'analisi dei gas respiratori consente il calcolo del cosiddetto indice respiratorio ( $VCO_2$  prodotta/ $VO_2$  consumato) che fornisce indirettamente informazioni sul tipo di substrato preferenzialmente ossidato.

#### 4.5. *Analisi statistica dei dati*

L'analisi statistica è stata effettuata mediante il software SPSS per Windows ver. 8.0.1. Le differenze tra i valori medi per i parametri ematochimici sono state analizzate mediante test  $t$  di Student a due code. Le differenze tra le variabili categoriche sono state analizzate mediante test del  $\chi^2$  di Pearson. I valori dei parametri antropometrici, immunologici ed ematochimici sono stati espressi come media  $\pm$  deviazione standard e le differenze tra i valori medi per le variabili continue sono state analizzate mediante test  $U$  di Mann-Whitney a due code. L'analisi della correlazione è stato effettuato con la costruzione dei diagrammi a dispersione bivariati e il calcolo del coefficiente di correlazione di Pearson ( $r$ ). La soglia della significatività statistica è stata fissata a 0,05.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## 5. RISULTATI

La tabella 1 riporta i principali dati clinici dei pazienti affetti da LADA messi a confronto rispettivamente con quelli di pazienti affetti da DM1 insorto dopo i 30 anni e DM2 anticorpo-negativi.

**Tabella 1.** Caratteristiche cliniche e antropometriche dei pazienti LADA e dei gruppi di controllo

Variabili	LADA (media ± DS)	DM1 > 30 anni (media ± DS)	DM2 GAD-negativi (media ± DS)
N° di casi (%)	251	135	251
Età media alla diagnosi (anni)	54.3 ± 11.2	42,6 ± 10,0	57.7 ± 10.1 <sup>§</sup>
Età media al momento del reclutamento (anni)	55.2 ± 11.6	55,9 ± 12,6	58.1 ± 11.9
Rapporto M:F	117:134	71:64	116 :135
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	27.7 ± 4.8	23,6 ± 3,5	30.8 ± 6.1 <sup>§</sup>
Circonferenza addominale (cm)	96.0 ± 10.8	86.3 ± 10.6	101.1 ± 12.1 <sup>§</sup>
Rapporto vita/fianchi (WHR)	0,90±0,08	0,84±0,07	0,97±0,07
Colesterolo totale (mg/dL)	210.9 ± 44.0	197,7 ± 37,8 <sup>§§</sup>	220.9 ± 54.4 <sup>§§§</sup>
Colesterolo HDL (mg/dL)	55.5 ± 16.5	56.0 ± 14.9	48.3 ± 21.4 <sup>§</sup>
Trigliceridi (mg/dL)	117.7 ± 69.3	89,2 ± 42,2	123.2 ± 108.2
Glicemia basale (mg/dL)	135.2 ± 29.5*	-	138.8 ± 27.4
HbA1c (%)	6.9 ± 2.4*	9,4 ± 2,6	7.1 ± 1.8
Acido urico (mg/dL)	4.9 ± 2.1*	3.9 ± 1.6	5.3 ± 2.8
Sindrome metabolica (%)	106 (42%)	3 (2%)	218 (87%) <sup>§§</sup>
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	134.3 ± 19.4	126,0 ± 19,7	141.4 ± 7.9 <sup>§</sup>
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	81.7 ± 10.1	77,8 ± 9,4	87.3 ± 12.6 <sup>§</sup>
TPOAb positività (%)	103 (41%)	20 (15%)	28 (11%) <sup>§§</sup>

<sup>§</sup>  $p < 0.0001$ : LADA vs DM2 e LADA vs DM1 > 30 anni (Test U di Mann-Whitney)

\*\* n.s. (Fisher's exact test)

<sup>§§</sup>  $p < 0.0001$  (Fisher's exact test)

<sup>§§§</sup>  $p = 0.020$  (Fisher's exact test)

Per quanto riguarda la distribuzione per sesso si può notare una prevalenza di maschi nel DM1 > 30 anni rispetto a LADA e DM2, con un rapporto F/M nei pazienti LADA di 1,14, nei pazienti con DM2 di 1,16 e nei DM1 ad esordio tardivo di 0,90. La distribuzione per sesso nei pazienti LADA risulta quindi essere più simile a quella

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

che si osserva abitualmente nel DM2 e si discosta alquanto da quella osservata nel DM1 ad esordio nell'età adulta.

Per quanto riguarda l'indice di massa corporea (BMI) e la circonferenza addominale, nei pazienti LADA sono stati osservati valori intermedi tra quelli dei pazienti con DM1 e quelli dei pazienti con DM2 anticorpo-negativi in accordo con l'ipotesi che il LADA sia una forma intermedia ("diabete 1 e ½") tra DM1 e DM2 (87); anche il rapporto vita/fianchi assume valori intermedi tra quelli del DM1 e del DM2 anticorpo-negativo.

Inoltre i dati riportati nella tabella evidenziano che, a parte i trigliceridi, gli altri parametri clinico-laboratoristici dei pazienti LADA si discostano significativamente da quelli dei diabetici GAD-negativi; in particolare i valori di colesterolo HDL risultano più elevati, mentre indice di massa corporea (BMI), circonferenza addominale, pressione arteriosa, percentuale di sindrome metabolica e positività per anti TPO risultano più bassi. Inoltre si può osservare che i pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni presentano valori di BMI, colesterolo totale, trigliceridi e pressione arteriosa significativamente inferiori rispetto ai pazienti LADA.

La distribuzione dei titoli degli anticorpi anti-GAD65 nei pazienti LADA presenta una netta bimodalità con due picchi in corrispondenza rispettivamente dei valori logaritmici di *index* di -2,0 e +1,0 .

Nella Tabella 2 sono riportate le principali differenze tra i due sottogruppi di pazienti LADA.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

**Tabella 2.** Confronto dei parametri clinici nei due sottogruppi di pazienti LADA, suddivisi per titolo anticorpale.

Variabili	Basso titolo anti-GAD65 (media ± DS)	Alto titolo anti-GAD65 (media ± DS)
N° di casi (%)	124 (49)	127 (51)
Età media alla diagnosi (anni)	55.4 ± 11.7	53.4 ± 10.9
Età media al momento del reclutamento (anni)	56.0 ± 12.8	54.5 ± 10.4
Rapporto M:F	59:65	58:69
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28.8 ± 4.9	26.9 ± 4.6 <sup>§</sup>
Circonferenza addominale (cm)	97.5 ± 11.8	94.9 ± 10.1
Colesterolo totale (mg/dL)	206.9 ± 44.5	213.5 ± 43.8
Colesterolo HDL (mg/dL)	55.1 ± 14.0	55.8 ± 18.1
Trigliceridi (mg/dL)	118.2 ± 76.0	117.6 ± 65.1
Glicemia basale (mg/dL)	134.3 ± 28.1	136.8 ± 31.4
HbA1c (%)	7.3 ± 2.7	6.5 ± 1.9
Acido urico (mg/dL)	5.2 ± 3.3	4.7 ± 1.7
Sindrome metabolica (%)	59 (47)	47 (37)
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	135.3 ± 20.4	133.8 ± 18.8
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	82.3 ± 10.9	81.3 ± 9.6
TPOAb positività (%)	42 (34)	62 (49)

<sup>§</sup>  $p = 0,008$ : alto titolo anti-GAD65 vs basso titolo anti-GAD65 (Test U di Mann-Whitney)

Il confronto delle caratteristiche fenotipiche tra il sottogruppo a basso titolo e quello ad alto titolo di anti-GAD65 ha messo in evidenza una differenza statisticamente significativa per quanto riguarda il BMI, che risulta essere inferiore nel sottogruppo ad alto titolo.

Abbiamo quindi focalizzato l'attenzione sul BMI nei tre gruppi di pazienti diabetici.

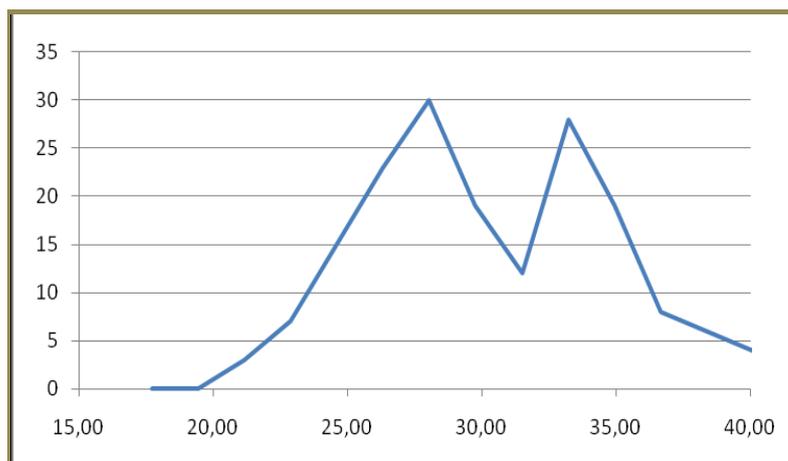
### 6.1 Distribuzione di frequenza dell'indice di massa corporea

I parametri antropometrici sono stati analizzati nei tre gruppi di diabetici per verificare la loro distribuzione e mettere in luce eventuali scostamenti dalla normalità. La Figura 1 riporta la distribuzione in classi di frequenza del BMI nei pazienti LADA e consente di apprezzare una chiara distribuzione bimodale con un primo picco a 28 kg/m<sup>2</sup> e un secondo picco a 33 kg/m<sup>2</sup>.

Dott.ssa Silvia Masala

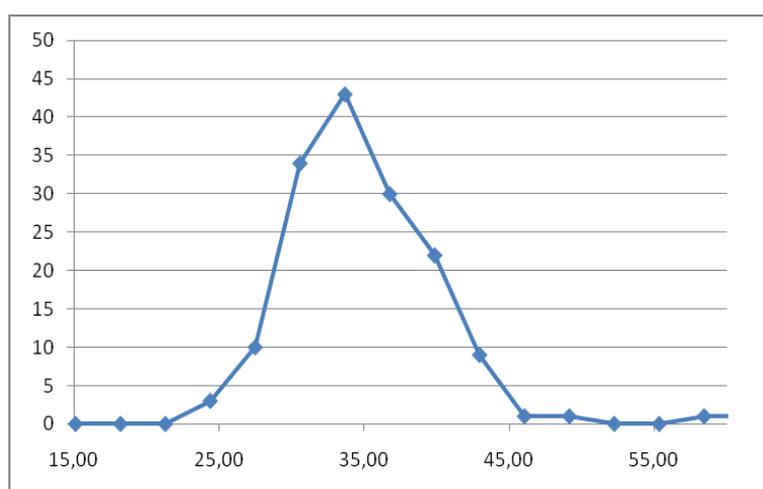
L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari



**Figura 1.** Distribuzione del BMI in classi di frequenza nei pazienti LADA

Tale distribuzione suggerisce l'esistenza di due popolazioni distinte di pazienti LADA che differiscono per composizione corporea, e sottolinea ulteriormente l'eterogeneità clinica di questa forma di diabete (37), mentre nei due gruppi di controllo rappresentati dai pazienti con DM1 ad esordio dopo i 30 anni (Figura 2) e DM2 antiGAD-65 negativi (Figura 3) la distribuzione del BMI è risultata rigorosamente unimodale.

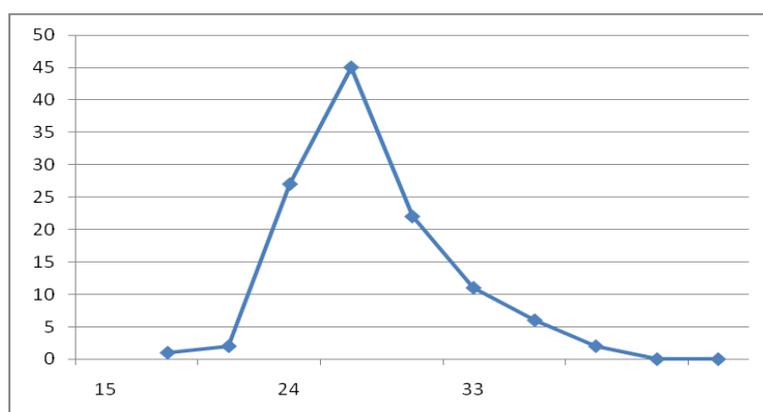


**Figura 2.** Distribuzione del BMI in classi di frequenza nei diabetici GAD-negativi.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari



**Figura 3.** Distribuzione del BMI in classi di frequenza nei DMI > 30 anni.

Sulla base dei valori modali del BMI il campione di pazienti LADA è stato suddiviso in due sottogruppi assumendo come valore di taglio 31 kg/m<sup>2</sup> (Tabella 3).

**Tabella 3.** Confronto dei parametri clinici nei due sottogruppi di pazienti LADA, suddivisi BMI.

Variabili	BMI moda 1 (media ± DS)	BMI moda 2 (media ± DS)
N° di casi (%)	148	103
Età media alla diagnosi (anni)	52,9 ± 10,8	57,0 ± 9,9
Circonferenza addominale (cm)	92,0 ± 10,5 <sup>§</sup>	102,7 ± 7,1
Colesterolo totale (mg/dL)	214,4 ± 45,2 <sup>§</sup>	197,9 ± 37,7
Colesterolo HDL (mg/dL)	57,8 ± 18,5	49,9 ± 10,9
Trigliceridi (mg/dL)	118,1 ± 73,8	107,3 ± 39,4
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	132,8 ± 18,7 <sup>§</sup>	140,3 ± 19,4
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	80,7 ± 9,7 <sup>§</sup>	85,7 ± 10,8

<sup>§</sup>BMI moda 1 vs BMI moda 2 ( $p < 0.001$ , Test U di Mann-Whitney)

Come atteso, si può osservare che la circonferenza addominale era più elevata nel sottogruppo di pazienti a BMI elevato rispetto a quella dei pazienti a BMI più basso. L'analisi del profilo lipidico ha evidenziato valori superiori di colesterolo totale e HDL, ma non di trigliceridi, nei pazienti LADA con basso BMI. I valori pressori, sia sistolici che diastolici, sono risultati significativamente superiori nel sottogruppo di

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

LADA ad elevato BMI; in questo gruppo sembra pertanto prevalere un fenotipo più simile a quello del DM2.

### 6.2 Plicometria cutanea

La percentuale di grasso totale è stata stimata nei tre gruppi di diabetici mediante il rilevamento delle pliche cutanee e l'impiego della formula di Durning e i risultati sono riportati nella Tabella 4. Il valore medio nei pazienti LADA era  $28,6 \pm 6,6\%$  mentre nei DM1 tardivi e nei diabetici anticorpo-negativi era rispettivamente  $27,2 \pm 6,4\%$  e  $31,6 \pm 5,6\%$ .

**Tabella 4.** Plicometria cutanea nei pazienti LADA, nei pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni e nei diabetici di tipo 2 GAD65-negativi.

Variabili	LADA (media $\pm$ DS)	DM1 > 30 anni (media $\pm$ DS)	DM2 GAD-negativi (media $\pm$ DS)
Plica bicipitale	8,3 $\pm$ 3,5	7,2 $\pm$ 3,2	10,0 $\pm$ 2,5
Plica tricipitale	15,7 $\pm$ 5,2	14,7 $\pm$ 5,2	15,7 $\pm$ 5,9
Plica sottoscapolare	16,0 $\pm$ 4,9	15,0 $\pm$ 4,3	22,3 $\pm$ 5,0
Plica sovrailiaca	11,6 $\pm$ 5,2	9,3 $\pm$ 2,7	17,5 $\pm$ 4,9
% di massa grassa (Durnin) <i>§(p=0,016)</i>	28,6 $\pm$ 6,6	27,2 $\pm$ 6,4	31,6 $\pm$ 5,6 <sup>§</sup>

La percentuale di massa grassa stimata mediante plicometria cutanea nei pazienti LADA risulta essere significativamente più bassa di quella dei pazienti con DM2 GAD65 negativo e paragonabile a quella dei pazienti con DM1 insorto tardivamente.

### 6.3 Bioimpedenziometria

Per confermare i dati di composizione corporea ricavati in base alle pliche cutanee è stata quindi effettuata un'analisi della distribuzione dei compartimenti corporei mediante impedenziometria bioelettrica in un numero limitato di pazienti appartenenti ai vari gruppi di diabetici esaminati (Tabella 5).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

**Tabella 5.** Bioimpedenziometria nei pazienti LADA, nei pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni e nei diabetici di tipo 2 GAD-negativi.

<b>Variabile</b>	<b>LADA (media ± DS)</b>	<b>DM1 &gt; 30 anni (media ± DS)</b>	<b>DM2 GAD-negativi (media ± DS)</b>
<b>No. dei casi</b>	42	42	44
<b>Resistenza (Rz)</b>	524,5 ± 69,5*	526,8 ± 102,6	488,2 ± 73,0
<b>Reattanza (Xc)</b>	54,0 ± 8,6	52,4 ± 10,7	51,9 ± 10,0
<b>Angolo di fase</b>	5,8 ± 0,9*	5,7 ± 0,6	6,1 ± 1,0
<b>Massa grassa (Kg)</b>	22,3 ± 9,3 <sup>§</sup> *	21,3 ± 9,5	33,5 ± 10,7
<b>Massa grassa (%)</b>	31,1 ± 9,8 <sup>§</sup> *	29,7 ± 10,2	37,1 ± 8,1
<b>Massa magra (Kg)</b>	47,9 ± 8,0*	49,7 ± 10,2	55,9 ± 11,3
<b>Massa magra (%)</b>	67,7 ± 14,2	70,3 ± 10,2	63,1 ± 8,5
<b>MB BIA</b>	1259,1 ± 280,8	1191,6 ± 306,3	1351,0 ± 263,6

<sup>§</sup>*P*<0.05; LADA vs DM1 > 30 (test U di Mann-Whitney)

\**P*<0.05; LADA vs DM2 GAD-negativi (test U di Mann-Whitney)

L'analisi mediante BIA è stata effettuata sia con il metodo delle equazioni predittive per la stima delle massa grassa e della massa magra, sia con l'analisi del vettore impedenza (Biavector®). Nei pazienti LADA si può notare innanzitutto una percentuale di massa grassa (31%) superiore al valore considerato normale in un individuo sano di pari età, sesso e BMI; tuttavia tale incremento non è così marcato come quello riscontrato, sia nei valori assoluti che percentuali, nei pazienti DM2 GAD-negativi. I valori medi di FM % non si discostano invece da quelli dei pazienti DM1 ad insorgenza tardiva. Peraltro, anche in questi ultimi, è stato riscontrato un aumento percentuale di massa grassa (29,7 ± 10,2%) rispetto ai valori normali, per la presenza in questo gruppo di 3 pazienti con un BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>, in contrasto con un esordio della malattia molto simile al classico DM1.

Il valore percentuale di massa grassa nei LADA, misurato con la bioimpedenziometria, pur se lievemente superiore di quello stimato in precedenza con l'analisi delle pliche cutanee non se ne discostava comunque in maniera significativa: 31,1 ± 9,8% contro 28,6 ± 6,6% (*p*>0,05), confermando così

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

l'importanza di una buona indagine antropometrica a completamento delle metodiche strumentali di valutazione della composizione corporea. Inoltre nei LADA la massa magra in valore percentuale era più elevata, anche se non significativamente, di quella dei DM2 anticorpo-negativi e si avvicinava maggiormente ai valori dei DM1 ad esordio tardivo.

Il grafico successivo (Figura 4) illustra l'analisi dei dati di Resistenza e Reattanza mediante il nomogramma Biavector®.

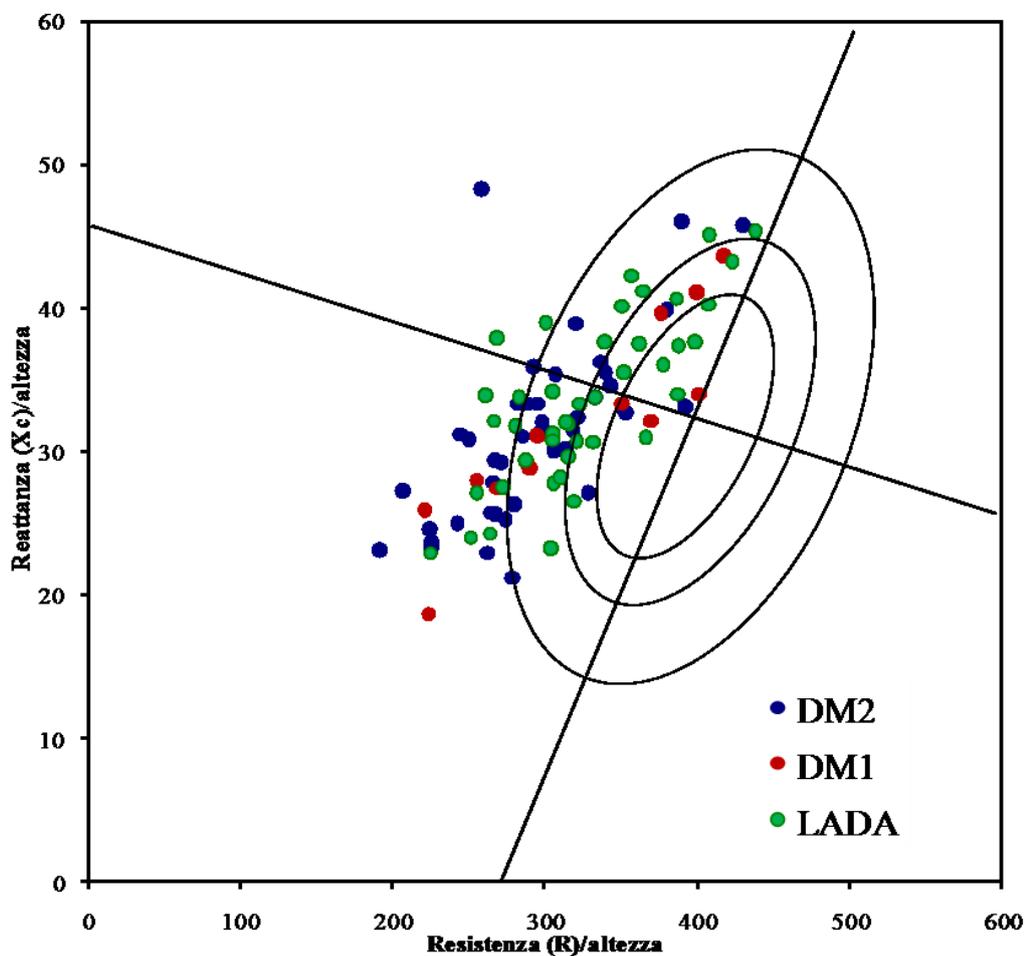
Complessivamente il 90% dei valori di impedenza dei pazienti appartenenti ai tre gruppi esaminati si situa all'interno dell'ellisse di confidenza al 95%. Tuttavia la maggior parte dei soggetti, indipendentemente dalla diagnosi, tendeva a situarsi nei settori caratterizzati da maggiore cellularità a discapito di quelli a prevalenza idrica. Inoltre si può osservare una lieve tendenza dei DM2 rispetto ai DM1 a collocarsi in misura maggiore nel settore dell'obesità. I valori impedenziometrici registrati nei pazienti LADA, al contrario, tendevano a distribuirsi in maniera più uniforme nei due settori a maggior prevalenza cellulare.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## BIAVECTOR



*Figura 4. Nomogramma Biavector<sup>®</sup>*

### 6.4 Densitometria a doppio raggio (DXA)

Poiché la Densitometria a doppio raggio (DXA) è considerata il *gold standard* per la valutazione della composizione corporea, negli stessi pazienti è stata effettuata un'analisi della distribuzione dei compartimenti corporei mediante tale metodica

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

strumentale. I valori medi total body assoluti e percentuali sia della FM che della FFM sono riportati nella Tabella 6.

**Tabella 6.** Densitometria a doppio raggio (DXA) nei pazienti LADA, nei pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni e nei diabetici di tipo 2 GAD-negativi.

Variabile	LADA (media $\pm$ DS)	DM1 > 30 anni (media $\pm$ DS)	DM2 GAD-negativi (media $\pm$ DS)
No. dei casi	42	42	44
FM (kg)	22,0 $\pm$ 7,9	19,6 $\pm$ 6,2	23,7 $\pm$ 7,1
FM (%)	29,5 $\pm$ 8,8	27,2 $\pm$ 7,8	30,4 $\pm$ 7,3
FFM (kg)	48,1 $\pm$ 8,8	49,8 $\pm$ 9,2	53,8 $\pm$ 11,5
FFM (%)	66,9 $\pm$ 8,2	69,8 $\pm$ 7,6	67,6 $\pm$ 6,5

Con tale metodica è stata osservata nei pazienti LADA una FM% sostanzialmente paragonabile a quella dei DM2 classici senza marcatori di autoimmunità e significativamente superiore rispetto a quella dei pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni; la FFM % invece risulta lievemente inferiore nei LADA rispetto sia ai DM1 che ai DM2 anche se, tuttavia, si avvicina maggiormente a quella riscontrata in questi ultimi.

Nella tabella 7 sono riportati i valori percentuali di massa grassa suddivisi per distretti corporei nei tre gruppi di pazienti esaminati.

**Tabella 7.** Composizione corporea distrettuale stimata mediante DXA

Variabile	LADA (media $\pm$ DS)	DM1 > 30 anni (media $\pm$ DS)	DM2 GAD-negativi (media $\pm$ DS)
FM % totale	29,5 $\pm$ 8,8	27,2 $\pm$ 7,8	30,4 $\pm$ 7,3
FM% L arm	31,7 $\pm$ 12,1	31,5 $\pm$ 14,0	31,2 $\pm$ 10,4
FM% R arm	30,8 $\pm$ 11,3	30,5 $\pm$ 13,0	31,5 $\pm$ 9,0
FM% Trunk	28,6 $\pm$ 7,4	23,3 $\pm$ 7,6	31,3 $\pm$ 7,0
FM% L leg	31,4 $\pm$ 10,1	32,1 $\pm$ 10,2	28,5 $\pm$ 8,3
FM% R leg	31,7 $\pm$ 9,8	32,4 $\pm$ 9,6	29,2 $\pm$ 8,1

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

I pazienti LADA presentano valori percentuali di grasso addominale intermedi tra quelli del DM1 insorto tardivamente e quelli del DM2 classico, in accordo con quanto già messo in evidenza dalla circonferenza addominale. Questo sembra indicare che i pazienti LADA, pur presentando una FM% sovrapponibile ai DM2, hanno una distribuzione del grasso prevalentemente sottocutanea e non viscerale.

### 6.5 Confronto tra composizione corporea stimata con la BIA e con la DXA

Le due metodiche DXA e BIA sono state quindi messe a confronto per accertare la loro validità per la stima dei parametri corporei e soprattutto della massa grassa.

I grafici 1 e 2 riportano la correlazione tra FM e FFM in tutti partecipanti allo studio, indipendentemente dalla diagnosi:

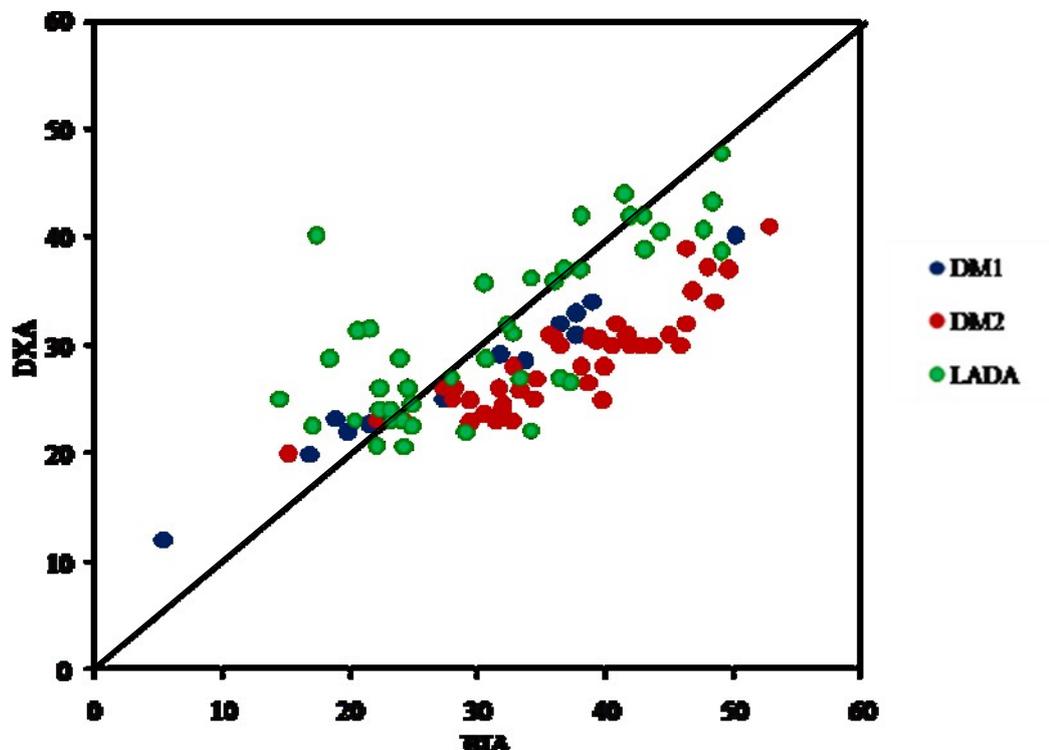


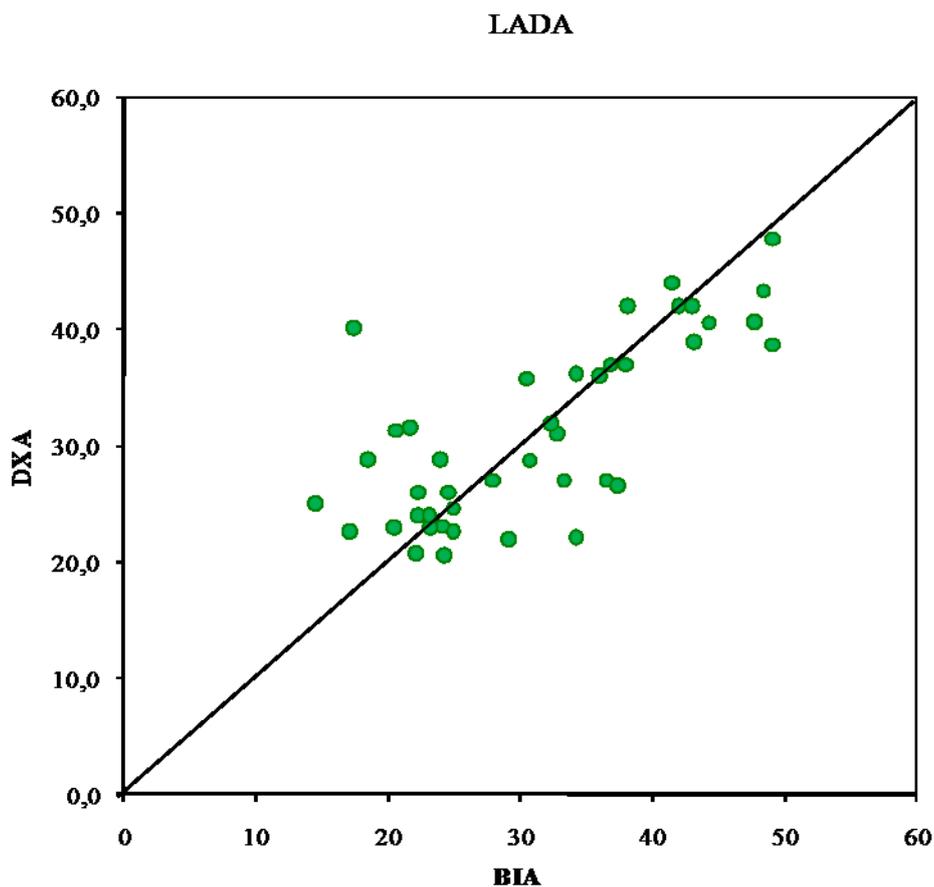
Grafico 1

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Considerando cumulativamente i tre gruppi la concordanza tra BIA e DXA è sufficiente ( $r^2=0,216$ ). La correlazione risultava migliore nell'ordine: nel gruppo DM1 ( $r^2=0,707$ ), nel DM2 anticorpo-negativo ( $r^2=0,591$ ) e nel LADA ( $r^2=0,312$ ). In generale la BIA sembra sovrastimare il valore della massa grassa percentuale rispetto alla DXA nei diabetici di tipo 2, come peraltro già riportato in letteratura (88), mentre la concordanza è migliore nel caso dei DM1 tardivi.



*Grafico 2*

Nel caso del LADA la concordanza non è molto elevata e non si nota una particolare sovrastima della BIA sui valori DXA, anzi nel caso dei pazienti LADA l'errore da cui la BIA è affetta presenta uniformemente la tendenza alla sovrastima o alla sottostima.

#### 6.6 Dispendio energetico a riposo

La misurazione del metabolismo a riposo nei vari partecipanti allo studio è stata effettuata attraverso tre metodi: l'uso di equazioni predittive come la formula di Harris-Benedict, l'impedenziometria bioelettrica, e la calorimetria indiretta respiratoria. I risultati sono riassunti nella Tabella 7.

**Tabella 7.** Dispendio energetico a riposo nei pazienti LADA, nei pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni e nei diabetici di tipo 2 GAD-negativi.

Variabile	LADA (media $\pm$ DS)	DM1 > 30 anni (media $\pm$ DS)	DM2 GAD-negativi (media $\pm$ DS)
Metabolismo basale (kCal/die)	1268,2 $\pm$ 205,4 <sup>§</sup>	1241,5 $\pm$ 173,1	1479,4 $\pm$ 243,7
MB/BMI	40,7	29,0	22,0
Quoziente respiratorio	0,84 $\pm$ 0,10	0,80 $\pm$ 0,06	0,83 $\pm$ 0,06

<sup>§</sup> $p < 0.05$ ; LADA vs DM2 GAD65-negativi (test U di Mann-Whitney)

Nei tre gruppi il valore teorico del metabolismo a riposo stimato mediante la formula di Harris-Benedict era superiore a quello misurato con la calorimetria. Il valore misurato mediante calorimetria indiretta era inferiore nei pazienti LADA rispetto a quello dei pazienti con diabete tipo 2 GAD-negativi; tuttavia dopo correzione per l'indice di massa corporea il valore nel LADA e nel DM1 > 30 anni risultava superiore a quello nel DM2, mentre il valore del quoziente respiratorio (QR) era praticamente sovrapponibile nei tre gruppi di diabetici esaminati.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

## 5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Circa il 5-10% di pazienti con diagnosi iniziale di diabete di tipo 2 presenta marcatori di autoimmunità beta-cellulare (anti-GAD65 e anti-IA-2). Questa entità clinica, denominata diabete “autoimmune latente nell’adulto” (LADA), viene considerata da molti ricercatori una forma di diabete intermedia tra il diabete di tipo 1 e il diabete di tipo 2. Gli studi più rappresentativi finora intrapresi sul LADA (UKPDS, Botnia Study, HUNT, ADOPT) sembrano indicare che questa forma di diabete è caratterizzata da un certo grado di eterogeneità che si esprime non solo a livello immunologico (presenza di uno o più autoanticorpi, titoli anticorpali estremamente variabili) ma anche a livello clinico (variazioni notevoli nel fenotipo, imprevedibilità della progressione verso l’insulino-deficienza al momento della diagnosi). Dal punto di vista immunologico l’eterogeneità del LADA è stata recentemente rimarcata da uno studio italiano (40) che ha rivelato l’esistenza di una netta distribuzione bimodale dei titoli degli anticorpi anti-GAD65 ed altri autori (70,89) hanno descritto una variabilità del numero di marcatori di autoimmunità presenti nel siero di questi pazienti. Ciò sottolinea l’esistenza di una particolare variabilità fenotipica di questa forma di diabete. A partire dalla pubblicazione dei risultati del Botnia Study l’attenzione si è focalizzata anche sugli aspetti più propriamente clinici del LADA con particolare riferimento ai parametri antropometrici e alla prevalenza della sindrome metabolica (81). Questi studi hanno messo in evidenza che, rispetto ai diabetici GAD65-negativi, i pazienti LADA presentano indice di massa corporea, rapporto vita/fianchi e valori di colesterolo

Dott.ssa Silvia Masala

L’ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L’ESISTENZA DI UN’INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL’ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

HDL più elevati, e minore prevalenza di ipertensione. Nonostante il profilo di rischio cardiovascolare dei pazienti LADA del Botnia Study appaia ridotto, lo studio non ha mostrato differenze significative rispetto al DM2 per quanto riguarda il rischio di complicanze sia macro- che microvascolari. Anche Lohmann et al. nel 2001 ha riportato la presenza di differenze tra LADA e DM2; peraltro questo autore ha riscontrato l'esistenza di fenotipi clinici distinti nell'ambito di questo tipo di diabete autoimmune. Sulla base del numero di anticorpi e del titolo anticorpale Lohmann ha proposto una distinzione tra pazienti con alto titolo di anti-GAD65 (definiti come LADA-1) e pazienti con basso titolo (definiti come LADA-2). Tale distinzione si basa sul fatto che i pazienti LADA-1 presentano valori più bassi di BMI, minore prevalenza di ipertensione e di complicanze croniche, mentre i LADA-2 presentano sostanzialmente le stesse caratteristiche cliniche dei pazienti DM2 anticorpo-negativi. Anche lo studio ADOPT, che ha indagato una casistica mista europea e nord-americana di oltre 4000 pazienti con diabete di tipo 2, ha messo in evidenza differenze tra LADA e DM2 che riguardavano però solo i valori del colesterolo HDL (significativamente più elevati), dei trigliceridi (più bassi) e della resistenza all'insulina (indice HOMA più basso), mentre l'indice di massa corporea e la pressione arteriosa in tale studio non erano significativamente differenti rispetto al DM2. Gli autori dello studio ADOPT hanno sottolineato la minore prevalenza di sindrome metabolica nel LADA rispetto ai pazienti GAD65-negativi. Un recente studio effettuato in adulti diabetici di origine europea ha mostrato che la prevalenza della sindrome metabolica è significativamente maggiore nei pazienti con diabete di tipo 2 rispetto ai pazienti LADA o con diabete di tipo 1 dell'adulto (90).

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

In questo studio abbiamo voluto analizzare i parametri antropometrici e la composizione corporea in un campione di pazienti LADA, mettendoli a confronto con quelli di due gruppi di controllo costituiti da diabetici DM2 e da diabetici con DM1 ad esordio in età superiore ai 30 anni. L'obiettivo dello studio era quello di valutare se l'indice di massa corporea possa avere un ruolo discriminante per l'individuazione di sottotipi distinti all'interno del LADA. Come già riportato da studi precedenti, anche nella nostra casistica sono state osservate differenze significative tra LADA e DM2 riguardo ad alcuni parametri clinici: i LADA hanno valori più elevati di colesterolo HDL, mentre età media alla diagnosi, indice di massa corporea (BMI), circonferenza addominale e pressione arteriosa risultano più bassi (51). Il fenotipo dei pazienti LADA sembra dunque avere caratteristiche intermedie tra quelle del DM2 e quelle del DM1 ad esordio tardivo, come più volte segnalato da vari autori.

L'analisi effettuata sulla distribuzione dell'indice di massa corporea ha dimostrato che nei pazienti LADA esso presenta una distribuzione bimodale, mentre nel DM2 e nel DM1 ad insorgenza tardiva la distribuzione del BMI è risultata rigorosamente unimodale. Suddividendo i pazienti LADA in due gruppi in base al valore elevato o basso del BMI e confrontando i valori medi delle altre variabili cliniche sono emerse differenze interessanti. In particolare, rispetto ai pazienti LADA con BMI elevato (>31 kg/m<sup>2</sup>) nel sottogruppo di pazienti a BMI l'analisi del profilo lipidico ha evidenziato valori superiori di colesterolo totale e HDL nei pazienti LADA con BMI inferiore a 31 kg/m<sup>2</sup>, mentre i valori dei trigliceridi erano sovrapponibili nei due gruppi. I valori pressori sistolici e diastolici sono risultati significativamente

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

superiori nel sottogruppo di LADA ad elevato BMI, che pertanto presentavano un fenotipo più vicino a quello del DM2. Questi dati non solo sottolineano ancora una volta l'eterogeneità clinica del LADA ma suggeriscono anche che i parametri di composizione corporea possano essere di aiuto per identificare sottogruppi con caratteristiche cliniche distinte nell'ambito del diabete autoimmune. In generale confrontando i valori medi dei parametri clinici dei due sottogruppi LADA a basso ed alto BMI rispettivamente con quelli del gruppo di pazienti con DM1 e con DM2 alcune differenze sono apparse immediatamente evidenti e possono essere così riassunte: (i) i valori di colesterolo HDL nei LADA a basso BMI sono molto simili a quelli del DM1 insorto in età adulta (58 mg/dL) e nettamente superiori rispetto a quelli dei LADA ad alto BMI (50 mg/dL) e del DM2 (48 mg/dL); (ii) i valori di pressione arteriosa, sia sistolica che diastolica, nei LADA a BMI elevato erano molto simili a quelli dei pazienti con DM2 e più alti di quelli dei LADA con BMI < 31 kg/m<sup>2</sup> e dei DM1 ad insorgenza tardiva.

Il valore percentuale di massa grassa nei LADA, misurato con la bioimpedenziometria, pur se lievemente superiore di quello stimato in precedenza con l'analisi delle pliche cutanee non se ne discostava comunque in maniera significativa, confermando così l'importanza di una buona indagine antropometrica a completamento delle metodiche strumentali di valutazione della composizione corporea. Nei LADA la massa magra in valori percentuali era più elevata, anche se non significativamente, di quella dei DM2 anticorpo-negativi e si avvicinava maggiormente ai valori dei DM1 ad esordio tardivo, mentre la percentuale di massa

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

grassa appare inferiore a quello del diabete tipo 2 e si avvicina di più ai valori osservati nel DM1 insorto in età adulta.

Dall'analisi della distribuzione dei compartimenti corporei mediante DXA si può osservare nei LADA una FM % superiore rispetto ai pazienti con DM1 insorto dopo i 30 anni, sovrapponibile a quella dei DM2 Gad65-negativi, mentre la FFM % invece risulta lievemente inferiore nei LADA rispetto sia ai DM 1 che ai DM2, pur avvicinandosi maggiormente a quella riscontrata in questi ultimi.

Analizzando i valori percentuali di massa grassa suddivisi per distretti corporei nei tre gruppi di pazienti esaminati, si nota che i pazienti LADA presentano valori percentuali di grasso addominale intermedi tra quelli del DM1 insorto tardivamente e quelli del DM2 classico, in accordo con quanto già messo in evidenza dalle misure antropometriche. I pazienti LADA quindi, pur presentando una FM% sovrapponibile ai DM2, hanno una distribuzione del grasso prevalentemente sottocutanea piuttosto che viscerale.

Infine, le due metodiche DXA e BIA sono state messe a confronto per accertare la loro validità nella stima dei parametri corporei e soprattutto della massa grassa. I risultati ottenuti indicano che le due metodiche tendono a concordare in misura più marcata nel caso dei diabetici di tipo 1, in misura lievemente inferiore nei diabetici di tipo 2 senza marcatori di autoimmunità mentre nel caso dei pazienti LADA il grado di concordanza è decisamente basso. Ciò è verosimilmente da ascrivere al fatto che, mediamente, i diabetici di tipo 1 sono più magri; è noto, inoltre, in letteratura, che la BIA fornisce risultati più accurati per valori di BMI non molto elevati. Di conseguenza nei pazienti con diabete di tipo 2, caratterizzati da un eccesso di tessuto

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

adiposo specialmente viscerale, la BIA tende a sovrastimare in modo marcato la quantità di massa grassa. È interessante notare che tale inaccuratezza consiste prevalentemente in una sovrastima dei valori di FM reali da parte della BIA nei pazienti con diabete non autoimmune, mentre nel caso dei pazienti LADA l'errore da cui la BIA è affetta presenta in modo più uniforme la tendenza alla sovrastima o alla sottostima. Possiamo ipotizzare che, almeno in parte, ciò sia dovuto all'intrinseca eterogeneità dei pazienti LADA, i quali sembrano essere costituiti da vari sottogruppi con caratteristiche cliniche differenti, per lo più intermedie tra quelle dei soggetti con DM1 e con DM2.

In ultimo, l'analisi del dispendio energetico a riposo ci ha permesso di completare la caratterizzazione del fenotipo clinico dei pazienti LADA. Il valore medio del metabolismo basale nei pazienti LADA è risultato essere inferiore a quello dei pazienti DM2: questo dato è però influenzato dal BMI che è nettamente superiore nel gruppo dei DM2. Dopo aver "corretto" il valore del metabolismo basale in base al BMI, il dispendio energetico nel LADA è risultato in realtà più elevato che nel DM2 (e anche nel DM1 tardivo). Questo dato può essere interpretato alla luce dell'aumentata resistenza dei tessuti periferici all'azione dell'insulina nel DM2, che determina alterazioni del metabolismo ossidativo nel fegato e nel tessuto muscolare. Si può ipotizzare che, a parità di tessuto metabolicamente attivo (FFM), il LADA e il DM2 si comportino diversamente poiché in quest'ultimo prevalgono disfunzioni metaboliche a carico soprattutto del tessuto muscolare che si traducono in ultima analisi in differenze nella composizione corporea.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

Sono in corso indagini per chiarire ulteriormente le caratteristiche dei due sottogruppi LADA finora individuati, precisare le analogie e differenze con altre forme di diabete autoimmune e analizzare l'impatto della composizione corporea nei pazienti LADA sull'evoluzione del diabete verso l'esaurimento beta cellulare e l'insulino-dipendenza.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ  
CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

# BIBLIOGRAFIA

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29:S43–S48.
2. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-97.
3. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26:3160-63.
4. La Loggia A. Organization of pediatric diabetes units in Italy. *Acta Biomed.* 2005;76 Suppl 3:70-74.
5. Martino GV, Tappaz ML, Braghi S, Dozio N, Canal N, Pozza G, Bottazzo GF, Grimaldi LM, Bosi E. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase (GAD) detected by an immuno-trapping enzyme activity assay: relation to insulin-dependent diabetes mellitus and islet cell antibodies. *J Autoimmun.* 1991 Dec;4(6):915-23.
6. Honeyman MC, Stone N, de Aizpurua H, Rowley MJ, Harrison LC. High T cell responses to the glutamic acid decarboxylase (GAD) isoform 67 reflect a hyperimmune state that precedes the onset of insulin-dependent diabetes. *J Autoimmun.* 1997 Apr;10(2):165-73.
7. LaGasse JM, Brantley MS, Leech NJ, Rowe RE, Monks S, Palmer JP, Nepom GT, McCulloch DK, Hagopian WA; Washington State Diabetes Prediction Study. Successful prospective prediction of type 1 diabetes in schoolchildren through multiple defined autoantibodies: an 8-year follow-up of the Washington State Diabetes Prediction Study. *Diabetes Care.* 2002 Mar; 25(3):505-11.
8. Borg H, Marcus C, Sjöblad S, Fernlund P, Sundkvist G. Islet cell antibody frequency differs from that of glutamic acid decarboxylase antibodies/IA2 antibodies after diagnosis of diabetes. *Acta Paediatr.* 2000 Jan; 89(1):46-51.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

9. Zimmet PZ, Tuomi T, Mackay IR, Rowley MJ, Knowles W, Cohen M et al. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabet Med.* 1994;11: 299-303.
10. De Block CE, De Leeuw IH, Vertommen JJ, Rooman RP, Du Caju MV, Van Campenhout CM et al. Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in Type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 2001; 126: 236-41.
11. Liu E, Eisenbarth GS. Type 1A diabetes mellitus-associated autoimmunity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2002; 31: 391-410.
12. Zimmet PZ. Kelly West Lecture 1991. Challenges in diabetes epidemiology--from West to the rest. *Diabetes Care.* 1992 Feb;15(2):232-52.
13. Finch CF, Zimmet Pz, Alberti KGMM. Determining diabetes prevalence: a rational basis for the use of fasting plasma glucose concentrations? *Diabetic Medicine* 1990; 7: 603-10.
14. Kahn CR. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes (Banting Lecture). *Diabetes* 1994; 43:1066-84.
15. Engelgau ME, Narayan KMV, Herman WH. Screening for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23:1868-69.
16. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974; 2:1279-82.
17. MacCuish AC, Irvine WJ, Barnes EW, Duncan LJP. Antibodies to pancreatic islet cells in insulin-dependent diabetics with coexistent autoimmune disease. *Lancet* 1974; 2:1529-31.
18. American diabetes association. Type 2 diabetes in children and adolescents (Consensus Statement). *Diabetes Care* 2000; 23:381-89.
19. Jensen MD. Lipolysis: Contribution from Regional Fat. *Annu Rev Nutr* 1997; 17, 127-39.
20. Meek SE, Nair KS, Jensen MD. Insulin Regulation of Regional Free Fatty Acid Metabolism. *Diabetes* 1999; 48: 10-14.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

21. Irvine WJ, McCallum CJ, Gray RS, Campbell CJ, Duncan LJ, Farquhar JW, et al. Pancreatic islet-cell antibodies in diabetes mellitus correlated with the duration and type of diabetes, coexistent autoimmune disease, and HLA type. *Diabetes*. 1977; 26:138-47.
22. Groop L, Miettinen A, Groop PH et al. Organ –specific autoimmunity and HLA –DR antigens as markers for beta–cell destruction in patients with type II diabetes. *Diabetes* 1988; 37:99-103.
23. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, et al. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. *Diabetes* 1993; 42:359-62.
24. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE et al. A genome-wide search for human Type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature*. 1994; 371:130-36.
25. Maioli M, Alejandro E, Tonolo G, Gilliam LK, Bekris L, Hampe CS, et al. Study Group for the Genetics of Diabetes in Sardinia. Epitope-restricted 65-kilodalton glutamic acid decarboxylase autoantibodies among new-onset Sardinian type 2 diabetes patients define phenotypes of autoimmune diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89:5675-82.
26. Maioli M, Tonolo G, Bekris L, Cirillo R, Schranz D, Cossu E, et al. Study Group for the Genetics of Diabetes in Sardinia (SGGDS). GAD65 and IA-2 autoantibodies are common in a subset of siblings of Sardinian Type 2 diabetes families. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002; 56:41-47.
27. Pozzilli P, Di Mario U. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care*. 2001; 24:1460-67.
28. Tuomi T, Carlsson A, Li H, Isomaa B, Miettinen A, Nilsson A et al. Clinical and genetic characteristics of type 2 diabetes with and without antibodies. *Diabetes* 1999; 48:150-57.
29. World Health Organization. *Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group*. Geneva: WHO, 1995. Technical Report series 727.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

30. Zimmet P: The pathogenesis and prevention of diabetes in adults: genes, autoimmunity and demography. *Diabetes Care*. 1995; 18:1050-64.
31. Juneja R, Palmer JP. Type 1 ½ diabetes: myth or reality? *Autoimmunity*. 1999; 29:65-83.
32. Palmer JP, Hirsch IB. What's in a name: latent autoimmune diabetes of adults, Type 1,5 adult-onset, and Type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2003; 26:536-53.
33. Pozzilli P., Di Mario U. Autoimmune Diabetes non Requiring insulin diagnosis (Latent autoimmune Diabetes in Adult). *Diabetes Care* 2001; 24 (8).
34. Buzzetti R, Capizzi M, Tuccinardi D. Il diabete autoimmune dell'adulto (LADA): stato attuale delle conoscenze. *G It Diabetol Metab* 2007;27:23-8.
35. Furlanos S, Dotta F, Greenbaum CJ, et al. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) should be less latent. *Diabetologia* 2005; 48: 2206-12.
36. Palmer JP, Hampe CS, Chiu H, Goel A, Brooks-Worrell BM. Is latent autoimmune diabetes in adults distinct from type 1 diabetes or just type 1 diabetes at an older age? *Diabetes* 2005; 54: 562-67.
37. Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, et al. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Diabetologia* 2001; 44:1005-10.
38. Borg H, Gottsater A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Sundkvist G. High levels of antigen-specific islet antibodies predict future  $\beta$ -cell failure in patients with onset of diabetes in adult age. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3032-8.
39. Borg H, Gottsater A, Fernlund P, et al. A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and beta-cell function at and after the diagnosis in patients with adult-onset diabetes. *Diabetes* 2002; 51:1754-62.
40. Buzzetti R, Di Pietro S, Giaccari A, Petrone A, Locatelli M, Suraci C, et al. The Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) Study Group: High titer of autoantibodies to GAD identifies a specific phenotype of adult-onset autoimmune diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 932-8.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

41. Leslie RD, Williams R, Pozzilli P. Clinical review: Type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults: one end of the rainbow. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1654-9.
42. Gale EAM. Latent autoimmune diabetes in adults: a guide for the perplexed *Diabetologia* 2005; 48: 2195-9.
43. Bottazzo GF, Bosi E, Cull CA, Bonifacio E, Locatelli M, Zimmet P, Mackay IR, Holman RR: IA-2 antibody prevalence and risk assessment of early insulin requirement in subjects presenting with type 2 diabetes (UKPDS 71). *Diabetologia* 2005; 48: 703-8.
44. Urakami T , Miymoto Y , Matsunaga H, et al. Serial changes in the prevalence of islet cell antibody titer in children with IDDM of abrupt or slow onset. *Diabetes Care* 1995; 18: 1095-9.
45. Turner R, Stratton I, Horton V, et al. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet*. 1997;350:1288-93.
46. Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJK, Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler AG: Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* 2004; 53:384-92.
47. Tuomi T, Carlsson A, Li H, et al. Clinical and genetic characteristics of type 2 diabetes with and without antibodies. *Diabetes* 1999; 48:150-7.
48. Zinman B, Kahn SE, Haffner SM, O'Neill MC, Heise MA, Freed MI; ADOPT Study Group. Phenotypic characteristics of GAD antibody-positive recently diagnosed patients with type 2 diabetes in North America and Europe. *Diabetes* 2004; 53: 3193-200.
49. Buzzetti R, Locatelli M, Giaccari A., Petrone A, Di Pietro S, Suraci C et al. Identification of two subtypes of adult-onset autoimmune diabetes (The NIRAD Study). *Diabetologia* 2006; 49(suppl 1):180.
50. Maioli M, Alejandro E, Tonolo G, et al.: (Study Group for the Genetics of Diabetes in Sardinia). Epitope-restricted 65-kilodalton glutamic acid

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

decarboxylase autoantibodies among new-onset Sardinian type 2 diabetes patients define phenotypes of autoimmune diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5675-82.

51. Maioli M, Pes GM, Delitala G, Puddu L, Falorni A, Tolu F, Lampis R, Orrù V, Secchi G, et al. Number of autoantibodies and HLA genotype, more than high titers of glutamic acid decarboxylase autoantibodies, predict insulin dependence in latent autoimmune diabetes of adults. *Eur J Endocrinol* 2010; 163: 541-49.
52. Wilkin T: The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between type I and type II diabetes. *Diabetologia* 2001; 44:914-22.
53. Carlsson A, Sundkvist G, Groop L, Tuomi T. Insulin and glucagon secretion in patients with slowly progressing autoimmune diabetes (LADA). *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:76-80.
54. Groop LC, Bottazzo GF, Doniach D. Islet cell antibodies identify latent type 1 diabetes in patients aged 35-75 years at diagnosis. *Diabetes* 1986;35:237-41.
55. Vauhkonen I, Niskanen L, Knip M et al. Impaired insulin secretion in non-diabetic offspring of probands with latent autoimmune diabetes mellitus in adults. *Diabetologia* 2000; 43:69-78.
56. Kasuga, A, Maruyama T, Nakamoto S, Ozawa Y, Suzuki Y, Saruta T. High titer autoantibodies against glutamic acid decarboxylase plus autoantibodies against insulin and IA-2 predicts insulin requirement in adult diabetic patients. *J Autoimmun* 1999;12:131-5.
57. Cervin C, Lyssenko V, Bakhtadze E, Lindholm E, Nilsson P, Tuomi T, Cilio CM, Groop L. Genetic similarities between latent autoimmune diabetes in adults, type 1 diabetes, and type 2 diabetes. *Diabetes* 2008;57:1433-37
58. Kahn SE. The importance of  $\beta$ -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4047-58.
59. Hampe CS, Kockum I, Landin-Olsson M, Torn C, Ortqvist E, Persson B et al. GAD65 antibody epitope patterns of type 1.5 diabetic patients are consistent with slow-onset autoimmune diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25:1481-2.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

60. Hillman M, Torn C, Thorgeirsson H, Landin-Olsson M. IgG4-subclass of glutamic acid decarboxylase antibody is more frequent in latent autoimmune diabetes in adults than in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004; 47:1984-9.
61. Brooks-Worrell BM, Juneja R, Minokadeh A, Greenbaum CJ, Palmer JP. Cellular immune responses to human islet proteins in antibody-positive type 2 diabetic patients. *Diabetes* 1999; 48:983-8.
62. Shimada A, Imazu Y, Morinaga S et al. T-cell insulinitis found in anti-GAD65+diabetes with residual beta-cell function. A case report. *Diabetes Care* 1999; 22:615-17.
63. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, et al. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes* 1996; 45:926-933.
64. Palmer JP. What is the best way to predict IDDM? *Lancet* 1994; 343:1377-78
65. Willis JA, Scott RS, Brown LJ, et al. Islet cell antibodies and antibodies against glutamic acid decarboxylase in newly diagnosed adult-onset diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 1996;33:89-97.
66. Hosszufalusi N, Vatay A, Rajczy K et al. Similar genetic features and different islet cell autoantibody pattern of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) compared with adultonset type 1 diabetes with rapid progression. *Diabetes Care* 2003;26:452–457.
67. Leslie RD, Kolb H, Schloot NC, Buzzetti R, Mauricio D, De Leiva A, Yderstraede K, Sarti C, Thivolet C, Hadden D, Hunter S, Schernthaner G, Scherbaum W, Williams R, Pozzilli P. Diabetes classification: grey zones, sound and smoke: Action LADA 1. *Diabete Metab Res Rev* 2008; 24: 511-19.
68. The Diabetes Control and Complications Trials Research Group. Effectsof intensive therapy on residual  $\beta$ -cell function in patients with type 1 diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1998; 128:517-23.
69. Törn C, Landin-Olsson M, Lenmark A, Palmer JP, Arnqvist HJ, Blohmé G, Lithner F, Littorin B, Nyström L, Scherstén B, Sundkvist G, Wibell L, Ostman

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

- J. Pronostic factors for the course of  $\beta$ -cell function in autoimmune diabetes. *J Clin Endocr Metab* 2000; 85:4619-23.
70. Gottsäter A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Lenmark A, Sundkvist G.  $\beta$ -Cell function in relation to islet cell antibodies during the first 3 yr after clinical diagnosis of diabetes in type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1993; 16:902-10.
  71. Hamaguchi K, Kimura A, Kusuda Y, Yamashita T, Yasunami M, Takahashi M et al. Clinical and genetic characteristics of GAD antibody positive patients initially diagnosed as having Type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 66: 163–171.
  72. Yang L, Zhou ZG, Huang G, Ouyang LL, Li X, Yan X. Six-year follow-up of pancreatic beta cell function in adults with latent autoimmune diabetes. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2900-05.
  73. Monge L, Bruno G, Pinach S, Grassi G, Maghenzani G, Dani F et al. A clinically orientated approach increases the efficiency of screening for latent autoimmune diabetes in adults (LADA) in a large clinic based cohort of patients with diabetes onset over 50 years. *Diabet Med* 2004; 21: 456-59.
  74. Genovese S, Bazzigaluppi E, Goncalves D, Ciucci A, Cavallo MG, Purrello F et al. Clinical phenotype and beta-cell autoimmunity in Italian patients with adult-onset diabetes. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 441-47.
  75. McKenna MJ, Herskowitz R, Wolfsdorf JI. Joslin diabetes Center, Boston, Massachusetts Screening for thyroid disease in children with IDDM. *Diabetes Care*. 1990; 13:801-3.
  76. Smith CM, Clarke CF, Porteous LE, Elsom H, Cameron DJ. Prevalence of celiac disease and longitudinal follow-up of antigliadin antibody status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2000; 1:199–203
  77. Pavia Sesma C, Valls Tolosa C, Eighian Baho B, et al. Thyroid autoimmunity in type I (insulin dependent) diabetes mellitus. *An Esp Pediatr*. 1989; 31:523-527.
  78. Hansen D, Bennedbaek FN, Hansen LK, et al. Thyroid function, morphology and autoimmunity in young patients with insulin-dependent diabetes mellitus *Eur J Endocrinol*. 1999; 140:512-518.
  79. Holl RW, Grabert M, Heinze E, et al. Age at onset and long-term metabolic control affect height in type-1 diabetes mellitus *Eur J Pediatr*. 1998; 157:972-77.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari

80. Gambelunghe G, Forini F, Laureti S, et al. Increased risk for endocrine autoimmunity in Italian type 2 diabetic patients with GAD65 autoantibodies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52:565-573.
81. Isomaa B, Almgren P, Henricsson M, et al. Chronic complications in patients with slowly progressing autoimmune type 1 diabetes (LADA). *Diabetes Care*. 1999; 22:1347-53.
82. Behme MT, Dupre J, Harris SB, et al. Insulin resistance in latent autoimmune diabetes of adulthood. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;1005:374-77.
83. Bagg W, Planck LD, Gamble G et al. The effects of intensive glycaemic control on body composition in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2001; 3: 410-6.
84. Sinha DP, Ahmed S, Banerjee AK et al. Significance of an index of insulin resistance in non diabetic patients with impaired fasting glucose with acute myocardial infarction and its correlation with short-term outcome. *Indian Heart J*, 2009;61:40-3.
85. Looker HC, Knowler WC, Hanson RL. Stability of body weight in type 2 diabetes: response to Chaudhry et al. *Diabetes Care* 2006;9:1991.
86. Ferrannini E. Metabolic Syndrome: a solution in search of a problem. *JCEM* 2007; 92:396-8.
87. Groop L, Tuomi T, Rowley M, Zimmet P, Mackay IR. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) - more than a name. *Diabetologia* 2006;49(9):1996-8.
88. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Boschi F, Cicognani A, Gasbarrini G. Measurement of body fat in healthy elderly men: a comparison of methods. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999;54(2):M70-6.
89. Pietropaolo M, Yu S, Libman IM, Pietropaolo SL, Riley K, LaPorte RE, et al. Cytoplasmic islet cell antibodies remain valuable in defining risk of progression to type 1 diabetes in subjects with other islet autoantibodies. *Pediatr Diabetes* 2005;6:184-92.
90. Hawa MI, Thivolet C, Mauricio D, Alemanno I, Cipponeri E, Collier D, Hunter S, Buzzetti R, de Leiva A, Pozzilli P, Leslie RD. Metabolic syndrome and autoimmune diabetes: action LADA 3. *Diabetes Care* 2009; 32:160-64.

Dott.ssa Silvia Masala

L'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA RIVELA L'ESISTENZA DI UN'INTRINSECA ETEROGENEITÀ CLINICA NEL DIABETE LATENTE AUTOIMMUNE NELL'ADULTO (LADA)

Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche - Indirizzo Fisiopatologia Medica - Università degli Studi di Sassari