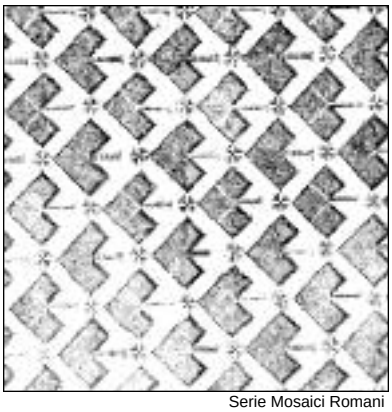
Sped. in A. P. 45% - art.2 comma 20/b legge 662/96 - n°126 - Novembre 1998 - Direttore responsabile: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Tipolitografia Nuova ATA Genova

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio *Italiano*



Serie Mosaici Romani

Rosanna Arcari
Nadia Grosso
Antonela Lezo
Daniela Boscolo
Paolo Cavallo Perin

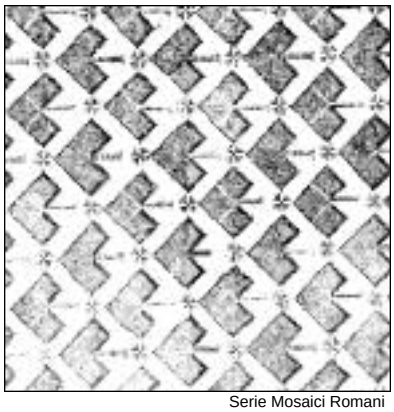
Eziopatogenesi del Diabete Mellito di Tipo 1

126

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1998

Caleidoscopio
Italiano


Serie Mosaici Romani

Rosanna Arcari
Nadia Grosso
Antonela Lezo
Daniela Boscolo
Paolo Cavallo Perin

Dipartimento di Medicina Interna
Università degli Studi
Torino

Eziopatogenesi del Diabete Mellito di Tipo 1

126

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1998

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Informazioni generali. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

Testo. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

Frontespizio. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

Bibliografia. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): The Endocrine Hypothalamus. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

Tabelle e figure. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

Unità di misura. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

Abbreviazioni. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

Presentazione della monografia. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spedite al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera alla Rivista *Caleidoscopio* con diritto di stampare, pubblicare, dare licenza a tradurre in altre lingue in Nazioni diverse rinunciando ai diritti d'Autore.

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

Dott. Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Editoriale

Il diabete mellito di tipo I, pur essendo meno frequente del tipo II con un rapporto di 1:9 costituisce, per la ricerca scientifica, una sfida ancora aperta per quel che riguarda l'eziologia e la patogenesi.

La malattia si manifesta generalmente nell'infanzia o nell'adolescenza, benché stiano aumentando le segnalazioni in età adulta. Microscopicamente è caratterizzata dalla subtotale (>80%) alla totale distruzione delle cellule β delle isole del pancreas causata da una insulite linfocitica che scompare quando le cellule beta sono state completamente distrutte.

Questa insulite è la manifestazione di una sequenza autoimmune innescata da numerosi fattori tra i quali sono importanti la predisposizione genetica (HLA DR3/DR4/DQ8), insieme a fattori ambientali (per es. i virus).

I marcatori immunologici di questo processo insulinitico sono gli autoanticorpi: anticorpi anti-insula pancreatica (ICA, che in realtà sono un insieme eterogeneo di autoanticorpi come viene precisato in questa monografia), autoanticorpi anti-insulinaIAA), e autoanticorpi anti-glutamato decarbossilasi (anti-GAD). Tutti questi autoanticorpi sono già presenti nella fase prediabetica benché non sia possibile oggi prevedere l'insorgenza delle manifestazioni cliniche.

La possibilità di capire quindi l'ezioloogia e la successiva patogenesi del diabete mellito di tipo I rappresenta quindi un obiettivo di estrema importanza perché potrebbe essere la base di possibili misure di prevenzione di una patologia che è causa rilevante di mortalità e morbilità nei paesi occidentali, con dei costi elevati sia per il paziente che per il sistema sanitario.

Il futuro non è lontano considerato che sono già in corso in numerosi Paesi dei programmi di predizione e prevenzione del diabete mellito di tipo I e che già sono disponibili i primi risultati che indicano nella predizione genetica economicamente più vantaggiosa rispetto a quelle immunologica.

Gli Autori di questa monografia appartengono alla prestigiosa Scuola del Prof. Pagano. Il Prof. Paolo Cavallo Perin si è laureato in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Torino. Ha effettuato un soggiorno di studio presso la *Unit for Metabolic Medicine* del Guy's Hospital di Londra. E' stato Assistente e quindi Aiuto presso l'Università di Torino, successivamente Professore Associato e dal 1993 è Professore Ordinario di Medicina Interna.

Ha eseguito ricerche sui fattori di rischio cardio-vascolare, diabete mellito, insulino-resistenza, nefropatia diabetica e metodologia clinica. E' autore di circa 250 pubblicazioni. Inoltre, è membro della *New York Academy of Sciences*, della Società Italiana di Medicina Interna, della Società Italiana di Diabetologia, dell'*European Association for the Study of Diabetes* e della *International Diabetes Federation*.

La Dr.ssa Rosanna Arcari si è laureata in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Torino ed ha ottenuto la specializzazione in Medicina Interna presso la stessa Università. Attualmente lavora come dirigente medico di I livello presso la III Divisione Universitaria di Medicina Generale diretta dal prof. G. Pagano. Ha partecipato a protocolli multicentrici di sperimentazione clinica e a protocolli locali di ricerca in campo glico-metabolico sul fallimento secondario al trattamento del diabete mellito di tipo 2 con sulfoniluree. Tra le competenze acquisite risultano la tipizzazione sierologica delle specificità HLA di classe II con test di microlinfocitotossicità e la tipizzazione molecolare degli alleli HLA di classe II DR e DQ. Nel 1997 si è recata presso il Dipartimento di Genetica e Microbiologia dell'Università di Ginevra diretto dal prof. B. Mach e ivi ha svolto attività di ricerca sul ruolo dei retrovirus nella patogenesi del diabete mellito di tipo I.

La Dr.ssa Nadia Grosso ha conseguito la laurea presso l'Università degli Studi di Torino. Frequenta presso l'Istituto Universitario di Medicina Interna il reparto del prof. Pagano e si occupa di studi epidemiologici sul diabete mellito.

Daniela Boscolo ha conseguito il diploma di Tecnico di Laboratorio Chimico-biologico ed è attualmente iscritta alla facoltà di Medicina e Chirurgia. Frequenta come tesista la III Divisione Universitaria di Medicina Generale diretta dal prof. G. Pagano.

La Dr.ssa Antonela Lezo ha conseguito presso l'Università di Tirana la laurea in Medicina Generale e successivamente la laurea in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Torino. Ha acquisito particolari esperienze sulla tipizzazione fenotipica degli antigeni HLA di classe II, sulla quantificazione degli anticorpi anti-insula pancreatica (ICA) in immunofluorescenza indiretta. Lavora nel gruppo di studio "Autoimmunità e malattie epatiche" con la dott.ssa M. Durazzo occupandosi della determinazione degli autoanticorpi in immunofluorescenza indiretta.

Sergio Rassu

Introduzione

Il diabete mellito di tipo 1, o diabete mellito insulino-dipendente, è una malattia multifattoriale caratterizzata dalla distruzione delle cellule β nelle insule pancreatiche del Langerhans.

Attualmente, nonostante la rapida evoluzione delle conoscenze scientifiche e delle tecniche di laboratorio, l'evento eziologico scatenante è indeterminato e sono numerosi i meccanismi patogenetici riconosciuti. E' interessante rilevare che la nuova classificazione del diabete mellito proposta dall'American Diabetes Association (1) sottolinea l'eterogeneità eziopatogenetica del diabete di tipo 1 distinguendo due categorie: una forma immunomediata caratterizzata dalla presenza del tipico movimento autoanticorpale e una forma idiopatica, meno frequente, nella quale non è presente alcun segno di autoimmunità.

I dati epidemiologici, nonché gli studi sperimentali condotti su animali sostengono il ruolo deterninante sia di fattori genetici sia di fattori ambientali.

Nel corso dell'ultimo decennio sono divenuti sempre più numerosi gli studi epidemiologici volti a valutare l'incidenza del diabete di tipo 1 e, in molte parti del mondo, sono stati istituiti registri del diabete di tipo 1 utilizzando criteri standardizzati per la raccolta dei dati. I tipi di studio finora condotti sono indicati in tabella 1.

Variazioni geografiche nell'incidenza del diabete di tipo 1: un'esauriente e dettagliata revisione della letteratura (2) evidenzia ampie variazioni geografiche non soltanto a livello mondiale, ma anche in corrispondenza di aree più ristrette. Nell'ambito intercontinentale, i tassi di incidenza più bassi si rilevano in Asia e Oceania, quindi nell'America del Sud e del Nord; le ampie variazioni geografiche nell'incidenza del diabete di tipo 1 sembrano essere in parte collegate al diverso patrimonio genetico delle varie popolazioni: l'incidenza nell'ambito delle popolazioni caucasiche risulta più elevata che tra le popolazioni mongoliche o nere.

E' poi evidente che esistono ampie differenze di incidenza anche tra gruppi etnici relativamente omogenei. I tassi di incidenza più elevati sono stati rilevati in Europa (fig. 1), dove sono peraltro presenti notevoli variazioni intracontinentali; ad esempio, la Finlandia ha un'incidenza di diabete di tipo 1 pari a 35.3/100000/anno, mentre la Grecia ha un'incidenza pari a 4.6/100000/anno. Inoltre sono state rilevate variazioni notevoli di incidenza anche nell'ambito di aree territoriali limitrofe: un esempio è rappresentato

Studi di epidemiologia del diabete di tipo 1
Variazioni geografiche dell'incidenza (numero di nuovi casi / anno su 100.000 abitanti)
Variazioni dell'incidenza per classi di età
Variazioni temporali "a lungo termine"
Analisi di popolazioni emigrate
Analisi di famiglie

Tabella 1. Vari tipi di approccio epidemiologico al diabete di tipo 1.

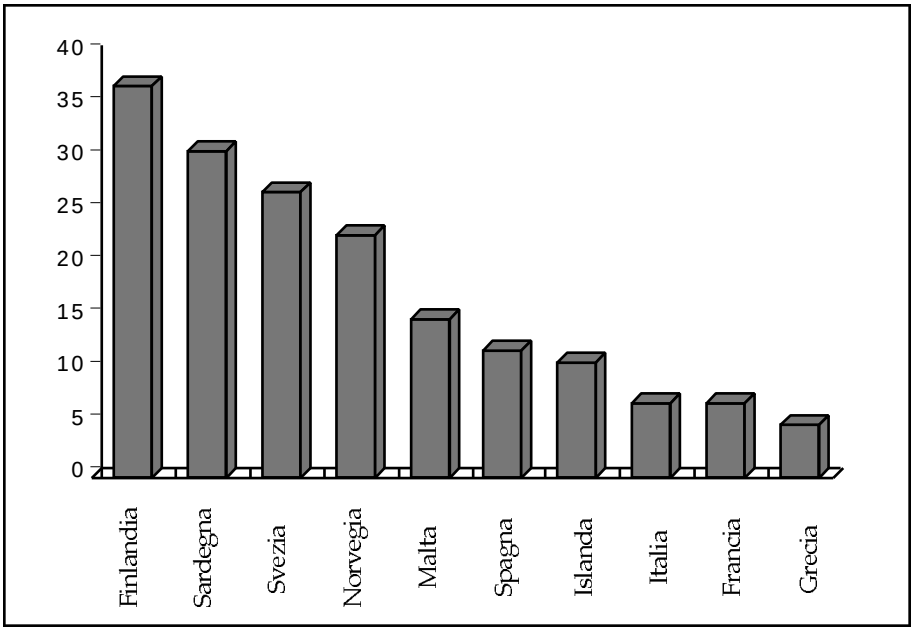


Figura 1. Incidenza (casi/100.000 abitanti/anno) del diabete di tipo 1 in alcuni Paesi europei (2, 3).

dalla zona Baltica, dove l'Islanda presenta un'incidenza (9 / 100000 / anno) pari alla metà di quella rilevata in Norvegia e in Svezia (circa 20 / 100000 / anno) e pari a un terzo di quella rilevata in Finlandia. Anche nell'area mediterranea sono evidenti importanti variazioni in zone limitrofe: Italia e Francia, ad esempio, presentano dei tassi di incidenza simili (circa 8 e

7.6 / 100000 / anno rispettivamente), mentre la Spagna, come risulta dai dati di Madrid e della Catalogna, presenta tassi di incidenza più elevati (10-11 / 100000 / anno). Da rilevare inoltre i dati provenienti dalle due isole Sardegna e Malta: la prima presenta un tasso di incidenza simile a quello della Finlandia (circa 30 / 100000 / anno) e la seconda presenta un tasso di incidenza pari a 13.6 / 100000 / anno (3).

Nell'ambito dell'Italia, se si esclude il caso particolare della Sardegna, non sono emerse rilevanti differenze di incidenza tra le varie regioni in cui sono stati condotti studi in proposito (3).

Incidenza per classe di età. I dati sopra riportati fanno riferimento essenzialmente alle diagnosi di diabete di tipo 1 nell'età 0-14 anni, mentre sono pochi i registri che hanno esteso il rilevamento all'età adulta, anche a causa della difficoltà di diagnosi del diabete insulino-dipendente in età post-puberale, quando le modalità di esordio sono spesso più subdole e la diagnosi differenziale rispetto al diabete di tipo 2 si presenta più complessa (4). Dai dati dello studio EURODIAB (5) emerge che l'Italia è caratterizzata da un'insorgenza più precoce rispetto ad altri Paesi europei, con un tasso di incidenza più elevato nella fascia di età 5-9 anni. I dati provenienti dal registro della Provincia di Torino che ha esteso il rilevamento dei casi incidenti sino all'età di 29 anni evidenziano un'incidenza più elevata nell'età 10-14 anni e un rischio maggiore di diabete di tipo 1 per i soggetti di età compresa tra 0-14 anni rispetto ai soggetti di età 15-29 (tassi di incidenza 8.42 / 100000 / anno e 6.72 / 100000 / anno rispettivamente) (6); inoltre, nei soggetti di età compresa tra 15 e 29 anni, è risultato un rischio 1.5 volte maggiore di sviluppare diabete nei soggetti di sesso maschile (6). Per quanto riguarda i dati relativi all'età adulta, particolarmente interessante è il registro belga dei casi incidenti di diabete di tipo 1, nel quale il rilevamento è stato esteso ai soggetti con età di esordio inferiore ai 40 anni: è risultato che più del 50% delle diagnosi riguarda soggetti con età di esordio compresa tra i 20 e i 40 anni (7).

Variazioni temporali nell'incidenza del diabete di tipo 1. In conseguenza della istituzione piuttosto recente dei registri dei casi incidenti di diabete di tipo 1, non è ancora possibile valutare eventuali tendenze nella variazione temporale a lungo termine. Tuttavia, numerosi Paesi hanno rilevato una tendenza all'incremento di incidenza (2); ciò è particolarmente evidente nell'Europa settentrionale, dove le popolazioni non hanno subito nel tempo un importante rimescolamento genetico: la Finlandia ha presentato un incremento di incidenza di circa il 60% (2).

In Italia attualmente non sono disponibili dati osservazionali sufficientemente protratti nel tempo da consentire il rilevamento di una eventuale tendenza alla variazione temporale di incidenza; per ora, i dati del registro della Provincia di Torino nel periodo 1984-1991 non evidenziano fluttuazioni di incidenza significative (6).

Sono anche state descritte delle fluttuazioni temporali di incidenza con un andamento di tipo epidemico: nel Nord America il periodo di massima incidenza è stato tra il 1981 e il 1984 e in Asia e Oceania il picco principale è stato tra il 1983 e il 1985; in Europa gli anni di picco sono stati tra il 1983 e il 1988 (2).

Infine, risulta evidente in numerosi Paesi una tendenza all'andamento stagionale nell'incidenza del diabete di tipo 1: in generale una incidenza minore viene registrata nei mesi caldi estivi, rispetto ai mesi freddi invernali. Dati analoghi provengono dal registro della Provincia di Torino dove si rileva una minore incidenza durante l'estate, in particolare nella fascia di età 0-14 (6). Esistono tuttavia delle eccezioni: in Francia e nella Siberia occidentale non sono state rilevate differenze stagionali e, in Italia, la regione Liguria sembra esente da questo andamento stagionale (3).

Studi su popolazioni emigrate. L'importanza relativa della componente ambientale e della componente genetica può essere valutata sulla base di studi, purtroppo limitati, che abbiano considerato l'eventuale modificazione del rischio di diabete di tipo 1 in popolazioni migranti. Tra questi studi possiamo ricordare quello di Bodansky *et al*. (8) che hanno valutato l'incidenza di diabete di tipo 1 in soggetti asiatici (prevalentemente Pakistani) emigrati nello Yorkshire e che hanno rilevato un progressivo aumento di incidenza dal tasso di 3.1 / 100000 / anno, paragonabile a quello dell'area geografica di origine, a un tasso di 11.7 / 100000 / anno, pari a quello dell'area geografica di residenza, in un arco di tempo di 12 anni e in assenza di una significativa modificazione della struttura genetica della popolazione studiata. In Italia, interessanti sono i dati relativi ai sardi emigrati a Torino, che hanno rilevato una tendenza alla riduzione rapida del rischio di diabete di tipo 1 nella migrazione da un'area ad alta incidenza come la Sardegna (9).

Studi familiari. Il diabete di tipo 1 colpisce circa 1 soggetto su 300 nella popolazione generale dei Paesi occidentali, ma la proporzione sale a 1 su 20 se si considerano i parenti di primo grado di soggetti diabetici di tipo 1; due studi eseguiti presso il Joslin Diabetes Center evidenziano un rischio pari al 2% di sviluppare diabete di tipo 1 entro i 20 anni di età per i figli di madri diabetiche (10), mentre il rischio sale al 5% se il genitore affetto è il padre

(11). Particolarmente interessanti risultano gli studi su gemelli monozigoti: il rischio di sviluppare la malattia per un gemello identico di un diabetico di tipo 1 oscilla, a seconda degli studi, tra il 13 e il 30% . Studi eseguiti nel Regno Unito evidenziano che il 90% di concordanza per il diabete di tipo 1 nei gemelli monozigoti si verifica entro 6 anni (12 e voci bibliografiche in esso contenute); risulta inoltre che nel 60% dei gemelli destinati a sviluppare il diabete il periodo di discordanza non supera i 3 anni (13). E' verosimile che il tasso di concordanza sia sottostimato a causa del breve periodo di osservazione: con un'osservazione più prolungata del tempo (fino a 39 anni) risulta che la concordanza dopo 10 anni dall'esordio nel gemello-indice è pari al 23%, mentre dopo 31 anni la concordanza risulta pari al 38% (14); inoltre, i due terzi dei gemelli rimasti discordanti presentano evidenza di autoimmunità diretta contro le β-cellule pancreatiche e/o di disfunzione β-cellulare valutata con l'IVGTT (14).

Interessante è inoltre il lavoro di Kumar *et al*.(13) che hanno valutato, oltre alle coppie di gemelli monozigoti, anche le coppie di gemelli dizigoti rilevando che, se il gemello indice ha sviluppato il diabete prima dei 15 anni, il rischio a lungo termine risulta pari al 44% nel gemello monozigote e al 19% nel gemello dizigote; il rischio raggiunge il 65% nel gemello identico di un diabetico di tipo 1 con età di esordio inferiore ai 5 anni. E' inoltre da rilevare che il rischio per il gemello dizigote di un soggetto affetto risulta significativamente più elevato di quello di un parente di primo grado non gemello (13).

Dall'insieme dei dati epidemiologici presentati emergono alcune considerazioni:

1. Il ruolo della componente genetica è confermato dall'aggregazione familiare, bisogna peraltro considerare che i diabetici di tipo 1 nel 90% dei casi non hanno storia familiare di diabete (15);
2. Gli studi su gemelli monozigoti, identici quindi in termini di fattori di rischio genetici, evidenziano una concordanza nettamente inferiore al 100% (quella attesa se la componente genetica fosse l'unica in causa) suggerendo quindi il ruolo di determinanti ambientali nell'eziologia del diabete di tipo 1; questo dato risulta avvalorato dal rischio più elevato nei gemelli dizigoti rispetto ad altri parenti di primo grado (maggiore condivisione di fattori ambientali ?);
3. L'incremento temporale nell'incidenza del diabete di tipo 1 in un arco di tempo troppo limitato perché possano essere considerate modificazioni della composizione genetica delle popolazioni studiate e il rilievo di una progressiva acquisizione del rischio del Paese di residenza in popolazioni migranti depongono a favore del ruolo di determinanti ambientali;
4. Le variazioni stagionali e di tipo simil-epidemico sembrano suggerire il ruolo di agenti infettivi nella eziologia del diabete di tipo 1.

Modelli animali

Nello studio dei meccanismi eziopatogenetici del diabete di tipo 1, considerando la difficoltà tecnica e etica di studi sull'uomo, risulta importante il contributo di modelli animali della malattia; questi comprendono sia modelli in cui la malattia si sviluppa spontaneamente, sia modelli sperimentali indotti da vari tipi di intervento (16) (tabella 2).

I due modelli principali sono i topi diabetici non obesi (NOD) e i ratti Bio Breedig (BB), i quali sviluppano spontaneamente una malattia molto simile al diabete mellito di tipo 1 umano.

I topi NOD sviluppano la malattia tra i 4 e i 6 mesi di vita, con una frequenza più elevata nelle femmine; l'esordio clinico del diabete è preceduto, all'età di circa 1 mese, con uguale frequenza nei due sessi, dalla comparsa di insulite, cioè dall'infiltrazione delle insule pancreatiche da parte di cellule mononucleate. I topi NOD presentano spesso anche patologie autoimmuni extrapancreatiche, quali tiroidite, sialite e anemia emolitica autoimmune. Le colonie di topi NOD attualmente presenti nelle varie parti del mondo sono caratterizzate da una notevole differenza nella frequenza e nell'età di insorgenza del diabete, in relazione con multeplici fattori ambientali.

1. Modelli spontanei
topo NOD
Ratto BB

2. Modeli sperimentali
Diabete chimicamente indotto: iniezioni ripetute di streptozotocina a basse dosi
Diabete da immunomanipolazione: timectomia, irradiazione sub-letale
Topo transgenico

Tabella 2. Principali modelli animali di diabete di tipo 1 (16).

Nei ratti BB la malattia insorge all'età di circa 4 mesi; anche in questo caso l'esordio clinico è preceduto da una fase di insulite. Sono frequenti altre patologie autoimmuni, in particolare la tiroidite e inoltre questi ratti sviluppano una forma particolare di linfopenia.

Tra i vari modelli sperimentali, si possono ricordare i topi NOD/nudi ottenuti introducendo, mediante multipli incroci, il genotipo nudo (privo di timo) nel terreno genetico dei topi NOD, e i topi NOD/scid, caratterizzati da una grave forma di immunodeficienza combinata; questi animali risultano particolarmente utili in esperimenti di trasferimento cellulare, nei quali è importante escludere l'interferenza del sistema immunitario del ricevente. Da ricordare ancora i modelli di diabete accelerato indotto dalla ciclofosfamide, la quale agisce verosimilmente eliminando cellule T dotate di attività immunosoppressiva.

Genetica del diabete di tipo 1

Come emerge dai dati esposti nelle premesse epidemiologiche, la predisposizione genetica riveste un ruolo importante nell'eziologia del diabete di tipo 1, tuttavia la ricerca dei geni di suscettibilità a questa patologia risulta complessa poiché si tratta di una malattia multifattoriale e i geni coinvolti sono delle varianti alleliche normali. L'aggregazione familiare di una patologia può essere valutata dal rapporto tra la prevalenza della malattia tra i parenti di un soggetto affetto e la prevalenza nella popolazione generale; tale rapporto, definito λs, si avvicina a 1 quando non c'è evidenza di una aggregazione familiare ed è tanto più elevato quanto più l'aggregazione familiare è rilevante: nel caso del diabete di tipo 1 il valore di λs è pari a 15 (17) (tab. 3).

Ovviamente l'aggregazione familiare non implica un coinvolgimento esclusivo di fattori genetici, in quanto i membri di una stessa famiglia verosimilmente condividono anche alcuni fattori ambientali.

Per l'identificazione dei geni predisponenti sono disponibili due strategie differenti (16):

a) la ricerca del legame tra la malattia e il polimorfismo di geni che codificano prodotti potenzialmente implicati nel processo patogenetico (ad esempio il maggior complesso di istocompatibilità)

Patologia	**prevalenza nella popolazione generale (%)**	**Rischio nei familiari dei pazienti (%)**	**λs**
Morbo celiaco	0,05	3	60
Spondilite anchilosante	0,13	7	54
Morbo di Crohn	0,06	1,2	20
Lupus eritematoso sistemico	0,1	2	20
Sclerosi multipla	0,1	2	20
Morbo di Graves	0,5	7,5	15
Diabete di tipo 1	0,4	6	15
Artrite reumatoide	1,0	8	8
Psoriasi	2,8	17	6

Tabella 3. Aggregazione familiare di alcune malattie autoimmuni.

b) la ricerca di una associazione tra la segregazione della malattia e la segregazione di marcatori polimorfi distribuiti nell'ambito dell'intero genoma.

I marcatori sono rappresentati da sequenze dette microsatelliti che si ripetono nel genoma dei mammiferi e presentano una notevole variabilità; in tal modo è possibile valutare, nelle famiglie, la eventuale associazione tra la trasmissione di tali marcatori e la trasmissione della malattia in studio. Il numero di microsatelliti necessari per una valutazione estesa di tutto il genoma risulta pari a 100 marcatori nelle famiglie di topi e circa 300 marcatori nelle famiglie umane (17). Con questa metodica sono stati evidenziati circa 20 loci potenzialmente associati al diabete di tipo 1 (17).

Il ruolo del complesso HLA (human leukocyte antigens) o locus IDDM1. I geni codificati dal complesso HLA, localizzato sul braccio corto del cromosoma 6, rappresentano i principali determinanti della suscettibilità genetica al diabete di tipo 1. Gli antigeni di superficie codificati dai geni del complesso HLA si distinguono in antigeni di classe I (A, B, C), costituiti da una catena altamente polimorfa associata alla β2 microglobulina, e in antigeni di classe II (DR, DQ, DP) che sono degli eterodimeri costituiti da una catena α e da una catena β. Entrambe le catene delle molecole DQ e DP e la catena β delle molecole DR sono altamente polimorfe e possono essere codificate da geni localizzati sul medesimo aplotipo (in cis) oppure su differenti aplotipi (in trans); ogni soggetto, quindi, può esprimere fino a quattro differenti varianti delle molecole DQ e DP. Una caratteristica dei geni HLA è rappresentata dal "linkage disequilibrium", per cui alcuni alleli di un locus, ad esempio il DQ, sono associati ad alcuni particolari alleli di un altro locus, ad esempio il DR, con una frequenza nettamente superiore a quella attesa se l'associazione fosse puramente casuale.

Gli antigeni HLA di classe I sono espressi su tutte le cellule nucleate dell'organismo e i peptidi di origine tumorale oppure provenienti da virus e da batteri endocellulari che vengono presentati in associazione a queste molecole inducono una risposta delle cellule T citotossiche (CD8 positive). Gli antigeni di classe II sono presenti sulla superficie dei linfociti B e delle cellule specializzate nella presentazione dell'antigene (monociti, macrofagi, cellule dendritiche), ma la loro espressione può essere indotta anche in altre cellule nucleate da parte di alcuni stimoli, tra cui l'interferon γ; gli antigeni presentati in associazione a queste molecole, essenzialmente antigeni esogeni idrolizzati all'interno della cellula, inducono una attivazione delle cellule T helper (CD4 positive) (per una rassegna sull'argomento vedere la voce 18).

Il rilievo di un'associazione tra il diabete di tipo 1 e alcuni antigeni HLA risale ai primi anni '70, quando, grazie all'uso di marcatori sierologici per la

determinazione del polimorfismo degli antigeni di classe I, è emersa una associazione con le specificità HLA-B8, B15 e B18 (19).

In seguito, la disponibilità di marcatori sierologici per gli antigeni HLA di classe II ha consentito di evidenziare nei diabetici di razza caucasica una più elevata frequenza di alcuni antigeni, in particolare delle specificità DR3 e DR4 (rischio relativo 3-6 e 6-7 rispettivamente), che sono in "linkage disequilibrium" con gli antigeni B8 e B15; un'associazione più debole è risultata con le specificità DR1 e DR8. Di rilievo è l'osservazione che il rischio associato all'eterozigosi DR3/DR4 è maggiore del rischio rilevato per l'omozigosi DR3 o DR4. Alcuni antigeni risultano invece protettivi: tra questi ricordiamo l'antigene DR15, un sottotipo del DR2 (rischio relativo 0.2); nei pazienti giapponesi sono risultati più rappresentati gli antigeni DR4 e DR9 (19).

Una svolta fondamentale si è avuta negli anni '80 con l'introduzione di metodiche di biologia molecolare che hanno consentito la determinazione del polimorfismo degli alleli HLA, in particolare degli alleli DQ, e il rilievo di una associazione preferenziale di alcuni di questi alleli con il diabete di tipo 1 (20); è risultata significativa l'osservazione che gli alleli protettivi codificano un residuo di acido aspartico in posizione 57 della catena β, mentre gli alleli a rischio per il diabete di tipo 1 non codificano l'acido aspartico, ma un residuo aminoacidico neutro (alanina, valina o serina) (21) (tab. 4).

D'altra parte non sempre gli aplotipi privi dell'acido aspartico β 57 conferiscono suscettibilità al diabete insulino-dipendente, come risulta dalla constatazione che l'allele DQB1*0201 (Asp 57 negativo) è associato al diabete nell'aplotipo DR3-DQB1*0201, mentre non è associato a un maggiore rischio di malattia nell'aplotipo DR7-DQB1*0201 (22,23); inoltre nei diabetici di razza nera la catena DQα associata alle specificità DR 7 e DR 9 (a maggiore rischio di diabete) è identica alla catena DQα associata alla specificità DR4, a rischio di diabete nei soggetti di razza caucasica, come risulta dall'analisi molecolare dei geni DQA1 (24).

Si è quindi supposto che il polimorfismo degli alleli DQA1 sia coinvolto nel determinare il rischio HLA dipendente (25); in particolare, gli alleli che codificano l'aminoacido arginina in posizione 52 della catena α si associano a un rischio più elevato di diabete di tipo 1 (tab. 4); si può quindi supporre che gli eterodimeri DQα/β, codificati in cis o in trans e costituiti da una catena α Arg 52 positiva e da una catena β Asp 57 negativa determinino un rischio più elevato di diabete. Dal lavoro di Khalil *et al.* (26), in cui sono stati studiati 115 diabetici di razza caucasica e 108 controlli non diabetici, risulta infatti che:

1. gli eterodimeri DQα Arg52/DQβ non-Asp57 sono fortemente associati al diabete di tipo 1, poiché il 97% dei diabetici e il 46% dei controlli presenta almeno un eterodimero a rischio (RR 32);
2. il numero di eterodimeri prevedibili sulla base del genotipo DQA1-

DQB1 condiziona il grado di suscettibilità alla malattia; infatti i soggetti con 4 eterodimeri DQ di suscettibilità presentano il più elevato rischio relativo (RR 41);

3. soltanto alcuni degli eterodimeri a rischio sono più rappresentati nei diabetici, per cui esiste una differente influenza dei vari genotipi; il più elevato rischio relativo (35.3) è conferito dalla combinazione in trans DQA1*0501-DQB1*0302, seguito dalla combinazione in cis o in trans DQA1*0301-DQB1*0201 (15.6);

4. la presenza simultanea di quattro eterodimeri di suscettibilità giustifica il rischio più elevato degli eterozigoti DR3-DQA1*0501-DQB1*0201 / DR4-DQA1*0301-DQB1*0302 rispetto agli omozigoti DR3 o DR4.

E' inoltre interessante rilevare, come già accennato in precedenza, che lo studio di soggetti di etnie differenti (Neri, Caucasici, Giapponesi) ha dimostrato che la suscettibilità al diabete di tipo 1 si associa a particolari combinazioni dei geni DQA1 e DQB1 in ciascuna etnia; in particolare gli

Alleli DQA1	**Arginina 52**
0101	NO
0102	NO
0103	NO
0201	NO
0301	**SI**
0401	SI
0501	**SI**
0601	SI
Alleli DQB1	**Aspartato 57**
0501	NO
0502	NO
0503	SI
0601	SI
0602	SI
0603	SI
0604	NO
0201	**NO**
0301	SI
0302	**NO**
0303	SI
0401	SI
0402	SI

Tabella 4. Alleli DQA1 e DQB1 in relazione alla presenza o assenza di Arginina o Aspartato nelle posizioni α52e β57 rispettivamente. In grassetto sono indicati gli alleli positivamente associati al diabete di tipo 1 (26).

alleli DQA1*0301, DQB1*0302, DQA1*0501 e DQB1*0201 risultano associati al diabete in tutti i gruppi etnici (27).

E' inoltre da ricordare l'effetto protettivo dell'aplotipo DRB1*1501 / DQA1* 0102-DQB1*0602, uno degli aplotipi della specificità DR2; questo aplotipo si trova infatti in meno dell'1% dei diabetici di tipo 1 in numerosi gruppi etnici differenti. In effetti, i casi di associazione tra DR2 e diabete sono da attribuire ad altri aplotipi privi dell'allele DQB1*0602, i quali possono svolgere un ruolo debolmente predisponente o neutro. E' quindi evidente che l'allele DQB*0602 è l'unico allele rilevato esclusivamente negli aplotipi DR2 protettivi, inoltre la sua presenza può risultare protettiva anche in associazione con alleli HLA a elevato rischio (28).

Risulta poi da considerare che l'associazione degli alleli DR con il diabete di tipo 1 non è la semplice conseguenza del "linkage disequilibrium" con gli alleli DQ a rischio, poiché il polimorfismo della catena DR β è in grado di condizionare il rischio intrinseco alla specificità DQ ad essa associata (19). Infatti, il rischio relativo determinato dall'aplotipo DQA1-DQB1 può essere modificato dal tipo di allele DR4 ad esso associato (tab. 5).

La suscettibilità al diabete è osservata nei soggetti portatori degli alleli DRB1 0402 e 0405 e 0401, mentre gli alleli 0403, 0406, 0404 e 0407 confe-

Aplotipi HLA protettivi			
DR2	**DRB1*1501**	**DQA1*0102**	**DQB1*0602**
DR4	*DRB1*0401*	*DQA1*0301*	*DQB1*0301*
**DR4*	*DRB1*0403*	*DQA1*0301*	*DQB1*0302*
Aplotipi HLA a rischio			
DR3	**DRB1*0301**	**DQA1*0501**	**DQB1*0201**
***DR4**	**DRB1*0401**	**DQA1*0301**	**DQB1*0302**
***DR4**	**DRB1*0402**	**DQA1*0301**	**DQB1*0302**
DR8	*DRB1*0801*	*DQA1*0401*	*DQB1*0402*
DR2	*DRB1*1501*	*DQA1*0102*	*DQB1*0502*

Tabella 5. Aplotipi HLA di classe II e rischio di diabete di tipo 1 (12). In neretto sono indicati gli aplotipi fortemente protettivi o fortemente a rischio; in corsivo sono indicati gli alleli associati a protezione/rischio deboli. Con l'asterisco sono indicati tre aplotipi DR4 nei quali l'unica variante è rappresentata dall'allele DR4 che modifica il rischio intrinseco all'aplotipo DQA1*0301-DQB1*0302.

riscono protezione; in particolare la protezione conferita dagli alleli 0403 e 0406 è dominante rispetto al rischio associato all'aplotipo DQA1* 0301-DQB1*0302. E' significativo rilevare che nei diabetici giapponesi e cinesi la frequenza dell'allele DQB1*0302 è particolarmente ridotta, a differenza di quanto si rileva nelle popolazioni caucasiche; ciò è verosimilmente spiegato dal fatto che nei Giapponesi e nei Cinesi questo allele è in "linkage disequilibrium" con gli alleli DRB1*0403 e 0406, che risultano fortemente protettivi (19).

Anche nel caso delle specificità DR sembra essere importante il ruolo di un residuo di acido aspartico in posizione 57 della catena β: la presenza dell'aspartato sembra svolgere un ruolo protettivo, mentre la presenza di aminoacidi differenti sembra determinare suscettibilità (29).

Il maggior complesso di istocompatibilità anche nei topi NOD rappresenta il principale determinante della predisposizione genetica allo sviluppo del diabete di tipo 1. Nel topo NOD è localizzato sul cromosoma 17 e comprende almeno due loci distinti (Idd1 e Idd16). Il locus Idd1, a sua volta costituito da più di un gene, è localizzato nella regione codificante gli antigeni di classe II e corrisponde a mutazioni nell'esone 2 del gene IA (analogo al gene DQ nell'uomo) e a una delezione nel gene IE (analoga al gene DR nell'uomo) che determina la mancata espressione del corrispondente antigene. In topi NOD transgenici, il ripristino dell'espressione dell'antigene IE e del tipo nativo dell'antigene IA previene la comparsa della malattia (30). Anche nel topo NOD è dimostrato il ruolo chiave dell'aminoacido in posizione β 57 nelle molecole IE e IA: gli alleli che presentano un residuo di acido aspartico in questa posizione risultano protettivi (29).

Attualmente non è ancora chiaro il ruolo svolto dagli alleli HLA di classe II nella patogenesi del diabete di tipo 1, tuttavia è possibile ipotizzare un coinvolgimento dei meccanismi di presentazione dell'antigene: il notevole polimorfismo degli antigeni di classe II potrebbe infatti determinare una notevole variabilità nell'affinità di legame con differenti peptidi. Come risulta dall'esauriente rassegna di Wucherphennig e Strominger (31), l'analisi strutturale dei complessi HLA-antigene e l'identificazione dei siti specifici di legame hanno consentito un notevole passo in avanti. La notevole eterogeneità di struttura ha reso particolarmente difficile definire i siti di legame degli antigeni HLA di classe II, tuttavia la struttura cristallografica dell'antigene DR1 ha dimostrato l'esistenza, nei potenziali ligandi, di un sito di ancoraggio dominante (P1), in corrispondenza della regione aminoterminale, e di altri siti secondari. Il sito di legame principale è costituito dal primo dominio delle catene DRα e DRβ che formano una tasca idrofobica in grado di ospitare il primo sito di ancoraggio del peptide. Le molecole DR1, inoltre, presentano altre tasche più strette che interagiscono con catene laterali del potenziale ligando, dette P4, P6, P7, P9. In pratica, i peptidi che si legano alle

molecole DR presentano tutti un residuo idrofobico in P1, mentre la variabilità nelle dimensioni e nella carica delle tasche che ospitano le catene laterali determina le differenti affinità di legame delle specificità DR. In particolare, risulta critico il ruolo degli aminoacidi localizzati in corrispondenza delle posizioni β71 e α57 della molecola DR, interagenti rispettivamente con le posizioni P4 e P9 del ligando: residui aminoacidici dotati di carica elettrica in β71 e α57 condizionano la carica consentita in corripondenza delle posizioni P4 e P9 del ligando; in pratica, peptidi dotati di scarsa specificità presentano residui aminoacidici neutri nelle posizioni P4 e P9, mentre i peptidi dotati di carica elettrica in P4 e P9 possono legarsi a una particolare molecola DR esclusivamente se questa presenta un aminoacido di carica opposta o neutra nelle posizioni chiave suddette.

Particolarmente significativo a questo proposito è l'esempio dell'associazione di due malattie autoimmuni, l'artrite reumatoide e il pemfigo volgare, con alcuni alleli DR4; l'artrite reumatoide è associata con gli alleli DRB1*0401 e 0404, mentre il pemfigo volgare è associato con l'allele DRB1*0402. E' infatti stato dimostrato che gli alleli DRB1*0404 e DRB1*0402, i quali differiscono esclusivamente nella regione β67-71, hanno una capacità di legame condizionata dalla carica presentata dal ligando nella posizione P4: precisamente, i peptidi con carica negativa in P4 si legano alle molecole codificate dall'allele DRB1*0404 e non a quelle codificate dall'allele DRB1*0402 e viceversa.

La variabilità nella posizione β71 risulta essere la responsabile di questa selettività di legame, in quanto le molecole codificate dall'allele DRB1*0404 presentano un residuo di arginina in posizione β71 e legano selettivamente peptidi con carica negativa in P4, mentre l'allele DRB1*0402 codifica una molecola con un residuo di glutamato in β71 che lega preferenzialmente peptidi carichi positivamente in P4 (31 e voci biliografiche in esso contenute). Come già accennato in precedenza, un ruolo chiave nel determinare la specificità delle molecole HLA di classe II, sia DR sia DQ, è svolto dal dimorfismo Asp / non-Asp in posizione β57; Nepom *et al.* (32) hanno studiato la capacità di legame di molecole DR e DQ strettamente omologhe, ma differenti per l'aminoacido in posizione β57 rilevando che i peptidi carichi negativamente in posizione P9 sono dotati di affinità per le molecole prive dell'acido aspartico β57, ma non sono in grado di legarsi a molecole Asp β57 positive; viceversa, modificando i peptidi in corrispondenza del singolo residuo aminoacidico interagente con la posizione β57, hanno ottenuto un'inversione dell'affinità di legame.

Si tratta a questo punto di stabilire in quale modo la differente affinità di legame dei vari alleli HLA di classe II possa condizionare il meccanismo autoimmune alla base del danno β-cellulare; tra le numerose ipotesi possiamo ricordare le seguenti:

a) le molecole codificate dagli alleli HLA a rischio sarebbero associate al diabete di tipo 1 poichè capaci di legare in maniera più efficiente particolari peptidi (autoantigeni?) in grado di indurre una risposta autoimmune contro le β-cellule (33) e inoltre, tra alleli a rischio e alleli protettivi, si verificherebbe una competizione per il legame con peptidi potenzialmente diabetogeni (fig. 2); in pratica, l'affinità di legame per i potenziali peptidi diabetogeni sarebbe maggiore negli antigeni protettivi rispetto agli antigeni a rischio e questi, a loro volta, presenterebbero una affinità maggiore rispetto agli antigeni neutri;

b) gli alleli HLA negativamente associati al diabete codificherebbero degli antigeni di superficie capaci di legare con una elevata affinità e presentare nella corretta posizione ipotetici peptidi β-cellulari (autoantigeni?), inducendo in tal modo una più efficace acquisizione della tolleranza immunitaria (tab. 6); gli antigeni HLA a rischio presenterebbero invece una scarsa affinità per i medesimi peptidi (34) o li presenterebbero in maniera inadeguata;

c) gli alleli HLA di classe II a rischio si legherebbero preferenzialmente a

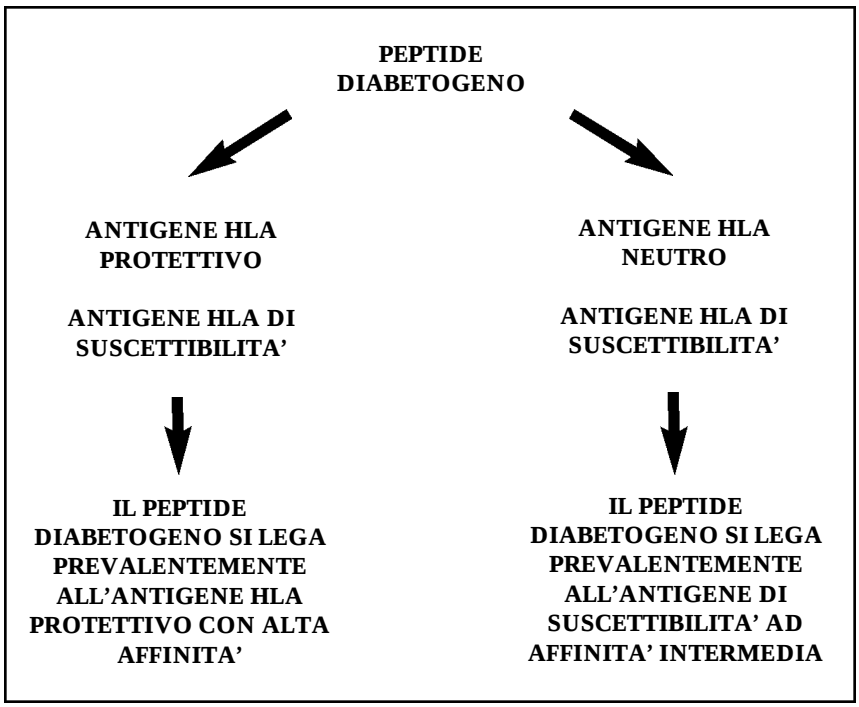


Figura 2. Ipotesi di Nepom (33) sull'interazione tra peptidi e antigeni HLA di classe II nella patogenesi del diabete di tipo 1.

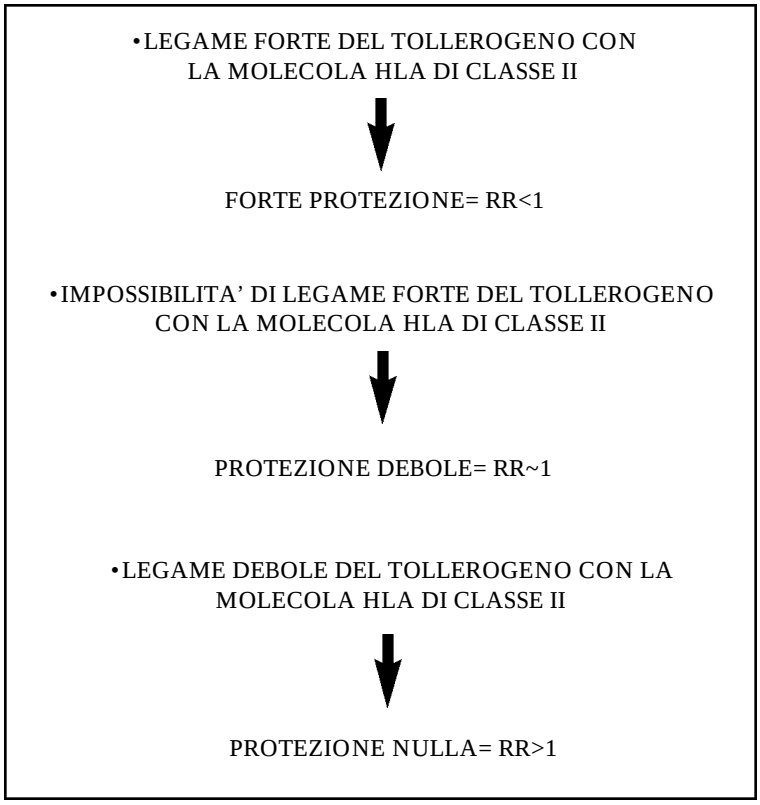


Tabella 6. Ipotesi di Sheehy (34) sull'interazione tra peptidi e antigeni HLA di classe II nella patogenesi del diabete di tipo 1.

peptidi in grado di stimolare prevalentemente le cellule Th1, mentre gli alleli protettivi presenterebbero una maggiore affinità per peptidi capaci di indurre una proliferazione delle cellule Th2; questa ipotesi è particolarmente suggestiva considerando, come verrà esposto in dettaglio successivamente, che lo squilibrio tra le cellule T helper di tipo 1 (Th1) e le cellule T helper di tipo 2 (Th2) potrebbe svolgere un ruolo determinante nella patogenesi del danno β-cellulare; in topi NOD transgenici esprimenti alleli IA Aspβ57 positivi si è ottenuta una riduzione dell'incidenza di diabete di tipo 1 e alcuni studi suggeriscono che questa ridotta incidenza sia il risultato di un risposta T cellulare prevalentemente di tipo Th2, ma al momento mancano dati definitivi a favore di questa ipotesi (29).

Le ipotesi sinora considerate potranno ottenere una conferma soltanto

dall'identificazione di epitopi derivanti da antigeni β-cellulari fondamentali e dalla valutazione della loro capacità di indurre insulite e di stimolare le cellule T immunoreattive (29).

Due analisi complete del genoma umano che hanno esaminato rispettivamente 61 e 96 famiglie (35, 36) hanno evidenziato che il locus associato allo HLA di classe II (detto anche IDDM1) è probabilmente il locus più importante nel determinare la predisposizione genetica al diabete di tipo 1; peraltro, il valore di λs associato allo HLA di classe II è risultato essere circa 2.4, molto inferiore al valore di 15 rilevato valutando in generale il grado di aggregazione familiare (17).

A questo proposito è da considerare che il sistema HLA ha un peso differente nel conferire suscettibilità al diabete di tipo 1 a seconda dell'età di insorgenza della malattia. Caillat-Zucman *et al.* (37) hanno infatti rilevato che nei diabetici con età di esordio superiore ai 15 anni la percentuale di genotipi nonDR3/nonDR4 è significativamente più elevata che nei diabetici a esordio in età pediatrica. Risultato analogo hanno ottenuto Vandewalle *et al.*(38), i quali hanno rilevato che nei diabetici con esordio prima del 10 anni la frequenza dell'aplotipo DQA1*0301-DQB1*0302 è significativamente superiore a quella rilevata nei diabetici a esordio tra i 10 e i 39 anni (75% vs 54%). L'insieme di queste osservazioni suggerisce che, accanto allo HLA, altri geni influenzino il rischio di sviluppare il diabete di tipo 1 e che il loro ruolo, eventualmente in associazione a fattori ambientali, possa essere differente a seconda dell'età di insorgenza della malattia.

Il locus IDDM2. Il polimorfismo in corrispondenza della regione del cromosoma 11 contenente il gene dell'insulina e delle sequenze ad essa limitrofe è noto influenzare la suscettibilità al diabete di tipo 1 (28 e voci biliografiche in esso contenute).

I polimorfismi identificati in questa regione si trovano all'esterno della sequenza codificante e precisamente in un locus denominato VNTR (variable number of tandem repeats) localizzato all'estremità 5' del gene dell'insulina e riconosciuto come il reale locus di suscettibilità (IDDM2). Sulla base del numero di ripetizioni della sequenza ACAGGGGTGTGGGG, gli alleli VNTR sono stati suddivisi in tre classi: classe I i più corti (da 26 a 63 ripetizioni), classe III i più lunghi (140-200 ripetizioni) e classe II, particolarmente rara nei Caucasici, quelli di lunghezza intermedia. Lo stato di omozigosi per le sequenze di classe I è associato con un incremento del rischio di diabete di tipo 1 da 2 a 5 volte, mentre le sequenze di classe III svolgono un ruolo protettivo. Numerosi studi hanno inoltre evidenziato l'esistenza di un effetto parentale sulla trasmissione degli alleli VNTR: studi in famiglie di razza caucasica suggeriscono che gli alleli di classe III conferiscono protezione dal

diabete di tipo 1 solo quando ereditati dal padre, altri studi confermano questa influenza, ma quando ereditati dalla madre.

Questa influenza parentale può essere spiegata dall' "imprinting genomico", un meccanismo regolatorio che consente l'espressione fenotipica di una sola copia di un gene, mentre l'altra è inibita; si tratta di un fenomeno spesso tessuto-specifico e temporaneo, essendo limitato al periodo fetale e immediatamente post-natale. Il locus IDDM2 sembra essere effettivamente soggetto a questo meccanismo: nel topo infatti, entrambi i geni dell'insulina sono soggetti a un "imprinting genomico". Risulta inoltre che approssimativamente il 20% dei timi appartenenti a eterozigoti classe I/III esprime soltanto uno dei due alleli e in tutti i casi l'allele soppresso è di classe III; ciò potrebbe spiegare la mancata protezione osservata per gli alleli di classe III di origine materna nelle famiglie caucasiche (28).

Il locus VNTR svolge un ruolo di regolazione della trascrizione del gene dell'insulina in condizioni basali, poiché correla con i livelli di RNA messaggero (mRNA) per l'insulina sia in pancreas proveniente da cadavere, sia in linee cellulari di roditori transfettate in vitro. Nel pancreas umano gli alleli protettivi (classe III) si associano a livelli di mRNA per l'insulina inferiori rispetto a quanto rilevato per gli alleli di classe I; questi dati non spiegano comunque in quale modo gli alleli VNTR possano influenzare la suscettibilità al diabete di tipo 1. A questo proposito risulta suggestiva l'osservazione che nel timo, sia umano, sia murino, avviene la trascrizione del gene dell'insulina e di altri antigeni β-cellulari, la cui espressione potrebbe condizionare la successiva tolleranza a tali antigeni. Inoltre, i livelli di mRNA per l'insulina nel timo correlano con gli alleli VNTR in maniera opposta rispetto a quanto avviene nel pancreas. Si può quindi ipotizzare che gli alleli VNTR di classe III, inducendo una maggiore espressione timica dell'insulina, potenziale autoantigene, possano indurre una più efficiente delezione dei cloni T linfocitari insulino-specifici (28).

Risulta infine interessante la valutazione dell'interazione tra gli alleli HLA di classe II e il locus IDDM2; a questo proposito i dati della letteratura sono alquanto discordanti, infatti alcuni autori (39) non hanno rilevato alcuna associazione, mentre altri hanno evidenziato l'espressione preferenziale di alleli VNTR a rischio di soggetti DR4 positivi (40). Uno studio condotto su diabetici di tipo 1 rilevati dal registro belga (7) ha tuttavia evidenziato un quadro di associazione ben articolato. Infatti, il genotipo VNTR a rischio (omozigosi I/I) è risultato essere più frequente nei diabetici che nella popolazione di controllo (RR 2.3), ma è meno rappresentato nei pazienti con il genotipo ad alto rischio DQA1*0301-DQB1*0302/DQA1*0501-DQB1*0201; inoltre, il rischio relativo (24.9) conferito dal suddetto genotipo DQ non viene modificato dalla presenza del genotipo VNTR I/I, mentre l'associazione

tra il genotipo VNTR I/I e i genotipi DQ a rischio intermedio, neutri o protettivi determina un incremento del rischio relativo. Infine, il genotipo VNTR I/I non risulta essere associato alla presenza di autoanticorpi.

Locus	Cromosoma	Contributo all'aggregazione familiare (%)
IDDM1 (HLA)	6p21	35
IDDM2 (INS/VNTR)	11p15	9,4
IDDM4	11q13	2,5
IDDM5	6q25	5,5
IDDM8	6q27	12,9
IDDM12 (CTLA-4)	2q33	-

Tabella 7. Loci la cui associazione con il diabete di tipo 1 è attualmente confermata (30, 91) e rispettivo contributo all'aggregazione familiare della malattia.

Altri loci. Le analisi di linkage in famiglie con più membri affetti (35, 36) hanno condotto all'individuazione di 20 regioni cromosomiche associate con il diabete di tipo 1, tra cui i loci IDDM1 e IDDM2 di cui si è discusso precedentemente; non sono invece ancora disponibili dati conclusivi per quanto riguarda gli altri loci identificati. Al momento i loci dei quali si può considerare certo il coivolgimento, in quanto l'associazione è stata confermata anche in altri studi familiari, sono i loci IDDM4, IDDM 5 e IDDM 8 (41) (tab. 7).

Possiamo ancora ricordare il locus IDDM12, il quale è localizzato all'interno del gene CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte associated-4); tale gene svolge un ruolo importante nella regolazione della risposta immunitaria in quanto è coinvolto nel processo di apoptosi dei linfociti T. In 46 famiglie italiane con multipli membri diabetici, Nisticò *et al.* (42). hanno rilevato l'associazione di questo locus con il diabete di tipo 1 e la trasmissione preferenziale ai soggetti diabetici di un allele con una particolare mobilità elettroforetica (microsatellite *104 mu*). Gli autori hanno quindi valutato il ruolo di una mutazione puntiforme in corrispondenza dell'esone 1 del gene CTLA-4 (transizione A/G in posizione 49) rilevando che gli alleli G sono in netto "linkage-disequilibrium" con l'allele microsatellite 104 mu: tutti i cromosomi parentali con l'allele *104 mu* presentano l'allele G. Questa associazione è stata confermata in famiglie spagnole, ma non in famiglie del Regno Unito, degli Stati Uniti e della Sardegna. E' inoltre da sottolineare che, in soggetti di razza caucasica, è stata rilevata un'associazione tra il gene CTLA-4 e il morbo di Graves (43).

Determinanti ambientali

I dati epidemiologi esaminati nella parte introduttiva suggeriscono che la componente genetica, benché fondamentale nello sviluppo del diabete di tipo 1, non sia sufficiente nel determinare l'insorgenza della malattia. E' quindi sempre più verosimile l'ipotesi che l'ambiente possa svolgere un ruolo importante nell'eziologia del diabete di tipo 1, almeno modulando in senso positivo e negativo l'espressione di fattori genetici predisponenti. I fattori ambientali presi in considerazione sono in primo luogo gli agenti infettivi, quindi gli agenti tossici e le abitudini alimentari (tab. 8).

Fattori ambientali	
Virus	Enterovirus, Herpesvirus, Rubivirus, Retrovirus
Batteri	Micobatteri
Tossici	Allossana, streptozotocina, Vacor, pentamidina
Sostanze alimentari	Latte vaccino, sostanze diabetogene nella soya e nel frumento

Tabella 8. Fattori ambientali potenzialmente implicati nell'eziopatogenesi del diabete di tipo 1.

Agenti infettivi. La possibilità dell'intervento di agenti virali nell'eziologia del diabete di tipo 1 è stata da tempo presa in considerazione (44, 45), inoltre le variazioni stagionali nell'incidenza del diabete e gli incrementi simil-epidemici di incidenza sono dati fortemente suggestivi (2).

Un esempio patogenetico noto da tempo è quello della rosolia congenita; risulta infatti che il 20% dei soggetti che hanno contratto la rosolia durante la vita intrauterina sviluppa il diabete nell'arco di circa 10 anni e la malattia compare prevalentemente negli individui geneticamente predisposti (46).

Un ruolo particolare nell'eziologia del diabete di tipo 1 è stato attribuito agli Enterovirus (47, 48) che sono virus a RNA appartenenti alla famiglia delle Picornaviridae e comprendenti i Poliovirus, i Coxsackievirus (A e B) e gli Echovirus; essi sono trasmessi prevalentemente per via oro-fecale e respiratoria, penetrano attraverso la mucosa dell'apparato digerente, si moltiplicano negli organi linfatici della faringe e dell'intestino e quindi raggiungono per via ematica vari organi bersaglio, tra cui il sistema nervoso centrale, il fegato, il pancreas e il cuore.

Esistono alcune evidenze dirette di un potenziale coinvolgimento degli Enterovirus: dal pancreas di un bambino deceduto all'esordio del diabete è stato isolato un virus Coxsackie B in grado di indurre il diabete se inoculato nel topo (49), inoltre un altro virus Coxsackie B è stato evidenziato nel pancreas di un bambino deceduto per diabete e miocardite dopo un intervento cardiochirurgico (50).

Tuttavia, come riportato nella recente rassegna di Graves *et al* (48), i dati più recenti sono fondati essenzialmente sul riscontro più frequente di anticorpi diretti contro i virus in questione in soggetti affetti da diabete di tipo 1 rispetto ai controlli non diabetici; in particolare, è stato rilevato che il 64% dei diabetici all'esordio delle malattia contro il 4% dei soggetti di controllo presenta anticorpi contro il virus suggerendo che l'infezione da enterovirus possa scatenare l'esordio del diabete in soggetti predisposti. Studi compiuti nei Paesi Scandinavi hanno inoltre suggerito che l'infezione da enterovirus contratta dalla madre durante la gravidanza possa essere associata con lo sviluppo di diabete nei figli, in particolar modo se il diabete esordisce in età precoce, mentre non risulterebbe rilevante il ruolo delle infezioni da herpesvirus e da virus della parotite. E' tuttavia da considerare che la maggiore prevalenza di movimento anticorpale contro i virus potrebbe essere semplicemente secondaria a una particolare reattività immunitaria in soggetti portatori di particolari antigeni HLA, quali i diabetici di tipo 1 o i loro genitori (48).

Per quanto riguarda il meccanismo patogenetico del danno virale, al momento non esistono dati conclusivi; l'ipotesi più semplice è quella di un effetto citolitico diretto sulla cellula β pancreatica: questo meccanismo è dimostrato nel topo (16), tuttavia, considerando la lunga fase preclinica del diabete, tale effetto risulta poco probabile nell'uomo. E' poi possibile che l'infezione virale possa indurre una risposta autoimmune, oppure rappresentare il fattore scatenante del diabete in soggetti con autoimmunità. Ciò può verificarsi con diversi meccanismi (48): una prima infezione precoce può determinare un'infezione persistente e una successiva infezione con un virus antigenicamente simile può scatenare la risposta autoimmune, oppure infezioni litiche ricorrenti della β-cellula possono portare alla progressiva perdita di cellule funzionanti in soggetti con movimento autoimmune, oppure la β-cellula può essere semplicemente lo spettatore innocente leso dai mediatori chimici liberati durante la risposta immunitaria contro il virus.

Un'ipotesi interessante è quella del mimetismo molecolare: la tolleranza verso un autoantigene potrebbe essere compromessa dal contatto con un antigene esogeno dotato di reattività crociata nei confronti dell'autoantigene in questione; un esempio suggestivo è la somiglianza di struttura tra una

proteina del virus Coxsackie B e la glutamato decarbossilasi, che è uno degli autoantigeni β- cellulari (51).

Studi più recenti condotti con metodiche di biologia molecolare non hanno rilevato la presenza di genoma virale nel pancreas di soggetti all'esordio del diabete di tipo 1 (52, 53) e ciò potrebbe rappresentare una prova a sostegno di un meccanismo indiretto responsabile del danno mediato dai virus.

Il ruolo dei virus nella patogenesi del diabete di tipo 1 può anche essere considerato in maniera del tutto speculare alle precedenti ipotesi; è infatti possibile che i virus svolgano un ruolo protettivo: l'infezione precoce con alcuni virus potrebbe proteggere dallo sviluppo del diabete di tipo 1, ad esempio attivando l'espressione di cellule Th2 (16), oppure è possibile che l'infezione con un ceppo meno virulento di un virus diabetogeno possa garantire una migliore capacità di difesa nei confronti dell'infezione con il virus selvaggio. Prove sul ruolo protettivo delle infezioni provengono da studi sui topi NOD, dai quali risulta che l'allevamento dei topi in ambiente sterile determina un incrementonell'incidenza del diabete mellito (54).

Una affascinante ipotesi alternativa sulla patogenesi del diabete di tipo 1 prevede l'intervento di un superantigene microbico. I superantigeni sono proteine di origine batterica o virale che possono stimolare un numero insolitamente elevato di cellule T legandosi direttamente a un sottotipo di regioni Vβ del recettore T cellulare. Il legame si verifica in una zona differente dall'abituale sito di riconoscimento dell'antigene (fig. 3) e ciò

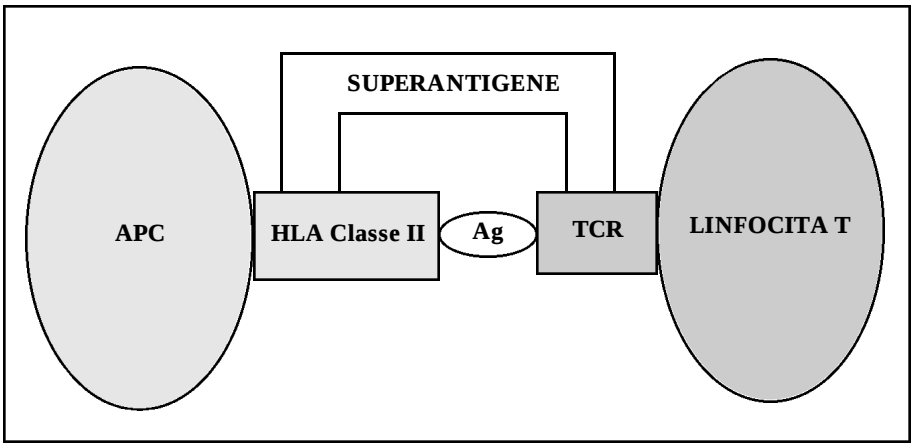


Figura 3. Rappresentazione schematica dell'interazione tra recettore T (TCR), antigene HLA di classe II sulla superficie di una "antigen presenting cell" (APC) e un antigene convenzionale (Ag), oppure un superantigene. Come risulta dallo schema, il sito di legame per il superantigene è distinto dal sito di legame per l'antigene convenzionale (18, 55).

giustifica l'attivazione policlonale di un sottotipo di cellule T con una particolare specificità V β (55, 56).

Conrad *et al*. (57) hanno analizzato il repertorio di T linfociti infiltranti le isole del Langerhans nel pancreas di due pazienti diabetici di tipo 1 deceduti alla diagnosi e hanno evidenziato un arricchimento in cellule T il cui recettore antigenico (TCR) presentava la regione variabile Vβ7; questa particolare espansione di una sottopopolazione di cellule T è compatibile con l'espressione di un superantigene microbico.

Considerando l'assenza di dati epidemiologici suggestivi di un legame certo tra specifiche infezioni batteriche o virali e il diabete di tipo 1, gli Autori hanno ipotizzato che il superantigene in questione fosse di origine retrovirale endogena.

Questa ipotesi è stata confermata in un lavoro successivo (58), nel quale è stato isolato un nuovo retrovirus endogeno umano, denominato $IDDMK_{1,2}22$, filogeneticamente simile al retrovirus del tumore mammario del topo (MMTV) e alla famiglia dei retrovirus endogeni umani HERV-K10. La regione N-terminale del gene dell'envelope del virus isolato è in grado di codificare un superantigene MHC di classe II-dipendente.

Il modello patogenetico proposto da Conrad *et al*. (58) è il seguente:

a) in seguito a vari stimoli ambientali e/o ormonali (ormoni steroidei, infezioni da virus ubiquitari, vari stress ambientali) potrebbe avere inizio la trascrizione del genoma retrovirale nei leucociti con l'espressione del superantigene;

b) la sintesi del superantigene in cellule specializzate nella presentazione dell'antigene determinerebbe un'ampia risposta sistemica da parte di linfociti T Vβ7 positivi (fase di attivazione sistemica);

c) tra le cellule T così attivate potrebbero essere presenti cellule autoreattive in grado di riconoscere antigeni espressi nelle β cellule pancreatiche;

d) le cellule T autoreattive così attivate potrebbero invadere le isole pancreatiche e distruggere le β-cellule (fase organo-specifica).

Considerando le caratteristiche biologiche di retrovirus noti e filogeneticamente simili all'$IDDMK_{1,2}22$, quali lo MMTV e lo HERV-K10, è verosimile che l'espressione del SAG possa essere modulata da stimoli endogeni fisiologici e/o stimoli ambientali come gli ormoni steroidei, le infezioni da virus ubiquitari (ad esempio l'Herpes virus) e vari stress ambientali (56, 59, 60).

Queste osservazioni, se confermate anche per l'$IDDMK_{1,2}22$, spiegherebbero i dati epidemiologici che rilevano una più elevata incidenza del diabete di tipo 1 in età puberale (6), in concomitanza quindi di una maggiore sintesi di ormoni sessuali; inoltre, infezioni con virus ubiquitari, potrebbero agire in maniera sinergica con l'incremento dei livelli di ormoni steroidei circolanti. D'altra parte, per la sua stessa natura di retrovirus endogeno, l'$IDDMK_{1,2}22$

può anche essere considerato come un elemento genetico mobile, nè può esserne esclusa la trasmissione infettiva.

Esso avrebbe quindi la possibilità di essere trasmesso sia come un tratto genetico, sia come un agente infettivo e potrebbe causare direttamente la malattia in soggetti geneticamente suscettibili. Questo retrovirus potrebbe quindi fornire un'ipotesi patogenetica unificante in grado di spiegare sia la presenza di una componente genetica, sia il ruolo di fattori ambientali nella genesi del diabete di tipo 1.

Infine, è interessante rilevare il quasi contemporaneo isolamento di una sequenza retrovirale, denominata MSRV (61), in soggetti affetti da sclerosi multipla, patologia che, analogamente al diabete di tipo 1, risulta essere associata con fattori autoimmunitari, genetici e ambientali.

Oltre ai virus, altri microrganismi potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 1 sono i micobatteri; a questo proposito esistono evidenze sperimentali nei topi NOD, nei quali la comparsa di diabete di tipo 1 può essere prevenuta dall'iniezione dell'adiuvante di Freund, il quale è costituito da micobatteri in una emulsione di olio e acqua (16). Analoghi risultati sono stati ottenuti con l'iniezione del Bacillo di Calmette-Guerin (BCG) nel topo NOD: uno studio non randomizzato eseguito nell'uomo ha rilevato che la somministrazione del BCG si associa a una remissione del danno β cellulare. Al momento sono in corso studi clinici controllati sull'argomento (12).

Agenti tossici. Numerose sono le sostanze in grado di produrre un danno β cellulare, tra queste l'allossana e la streptozotocina, utilizzate anche in modelli sperimentali di diabete di tipo 1. Inoltre si possono ricordare il Vacor, un rodenticida diabetogeno alle dosi utilizzate in tentativi di suicidio, e la pentamidina, farmaco utilizzato nella prevenzione delle polmoniti da Pneumocystis Carinii. Si tratta comunque di situazioni non comuni nella pratica clinica (16).

Alimentazione. La precoce introduzione del latte vaccino nella dieta è uno dei fattori alimentari che ha suscitato la maggiore attenzione; i primi dati a favore di un potenziale effetto diabetogeno del latte vaccino nella dieta dei neonati provengono da uno studio danese che rilevava un'associazione tra l'introduzione di latte vaccino nei primi tre mesi di vita e il rischio di diabete di tipo 1 (62); inoltre, nei ratti BB esistono evidenze a favore del fatto che una dieta a base di latte bovino possa precipitare l'esordio del diabete di tipo 1, mentre una dieta priva di lattalbumina risulterebbe

essere protettiva (63). Un'ulteriore conferma proviene da uno studio svedese (64) che ha evidenziato, nel 100% dei diabetici di tipo 1 all'esordio, la presenza di anticorpi anti-sieroalbumina bovina diretti contro un frammento detto ABBOS; tali autoanticorpi presenterebbero una reattività crociata con l'antigene β-cellulare ICA69.

Esistono fondamentalmente due tipi di studi che hanno valutato la relazione tra consumo di latte bovino e incidenza del diabete di tipo 1 (65 e voci bibliografiche in esso citate): studi di tipo ecologico e studi di tipo caso-controllo. Gli studi di tipo ecologico hanno considerato la relazione tra l'entità del consumo di latte vaccino in vari Paesi e il rischio di sviluppare il diabete di tipo 1 e hanno rilevato una correlazione positiva; tuttavia il loro limite è rappresentato dal fatto che i dati riguardano l'intera popolazione e non il singolo individuo, rendendo piuttosto difficile l'individuazione di un rapporto causa-effetto. Gli studi caso-controllo eseguiti sono nella maggior parte retrospettivi e si basano su una raccolta anamnestica di dati relativi all'alimentazione. Una metanalisi della letteratura sino al 1994 (66) ha rilevato che l'assunzione precoce di latte vaccino si associa a un incremento del rischio di diabete di tipo 1 (RR 1.5), ma altri studi pubblicati successivamente hanno fornito dati discordanti (65).

Un ulteriore problema è rappresentato dal fatto che non è possibile escludere il ruolo di sostanze alimentari diverse dal latte vaccino; nell'animale da esperimento risulta che una dieta a base di cereali è fortemente diabetogena, probabilmente a causa di sostanze presenti nel frumento e nella soya, mentre l'alimentazione con idrolizzati di caseina e con altre fonti di aminoacidi ha un effetto protettivo; inoltre l'esposizione a alimenti diabetogeni ha effetto anche se avviene più tardivamente nella vita e ciò rappresenta un ulteriore limite degli studi caso-controllo disponibili, i quali hanno valutato prevalentemente il ruolo dell'alimentazione entro il primo anno di vita. Infine l'esposizione di topi NOD e ratti BB a proteine del latte bovino, in particolare alla sieralbumina, ha fornito dei risultati molto contrastanti sia relativamente all'effetto diabetogeno, sia relativamente alla produzione di anticorpi anti-sieralbumina (65).

D'altra parte, la riproduzione in vitro delle condizioni enzimatiche dell'intestino neonatale ha evidenziato l'imprevedibilità della produzione del frammento ABBOS della sieralbumina bovina, con conseguente incostanza dell'assorbimento intestinale (67, 68).

La dieta risulterebbe quindi un fattore importante nella diabetogenesi, ma il latte vaccino potrebbe rappresentare soltanto uno dei potenziali nutrienti diabetogeni, la cui identificazione sembra al momento ancora piuttosto lontana.

Il danno β-cellulare

Le isole del Langerhans di diabetici all'esordio della malattia sono infiltrate da cellule mononucleate che comprendono prevalentemente macrofagi e linfociti T, con una predominanza di cellule CD8 positive; può essere presente anche una piccola quota di linfociti B. A distanza di 2-4 mesi dall'inizio della terapia insulinica, meno del 10% delle β-cellule è ancora presente. Il danno riguarda selettivamente le cellule β, mentre le altre cellule endocrine dell'isola del Langerhans rimangono intatte (16) (fig. 4).

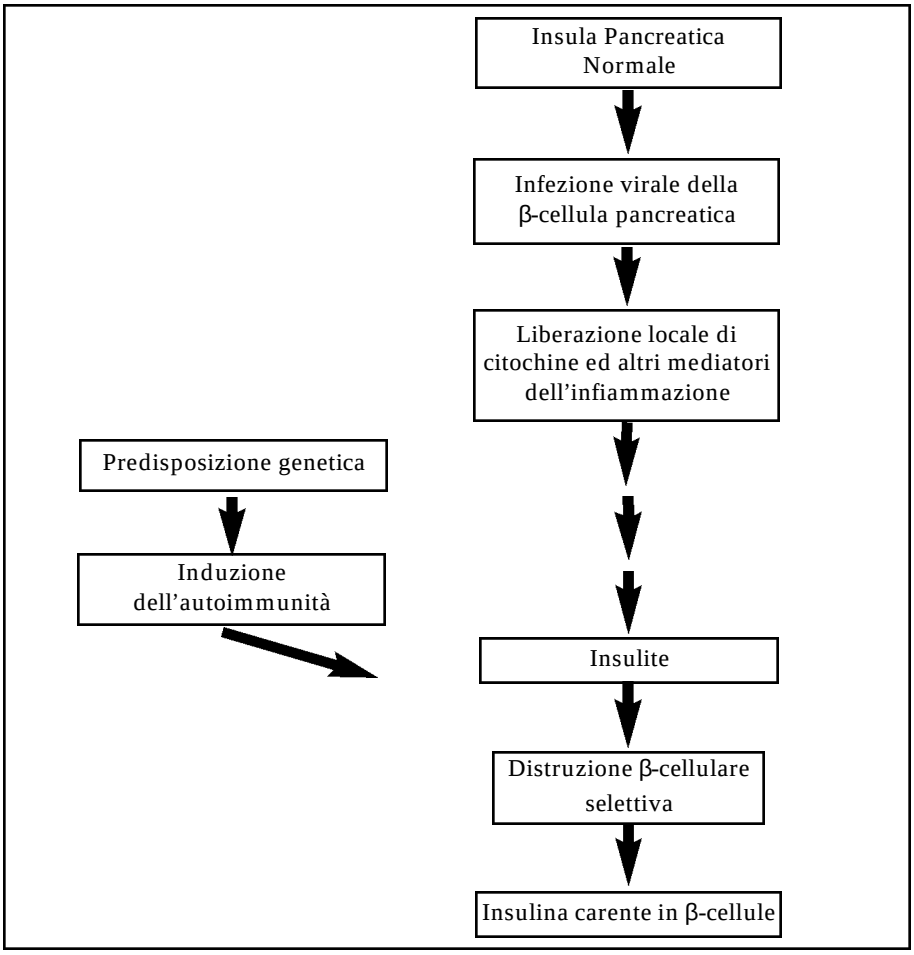


Figura 4. Progressione del danno β-cellulare dall'insula pancreatica normale alla insulino-deficienza.

Gli studi su modelli animali (16) hanno evidenziato che l'invasione delle insule è preceduta dalla comparsa, alla quarta-sesta settimana di vita, di un infiltrato di cellule mononucleate (cellule dendritiche, macrofagi e linfociti) intorno alle insule stesse (peri-insulite) e da un quadro di insulite periferica (presenza di linfociti alla periferia dell'insula); in seguito, l'infiltrazione di cellule mononucleate si estende fino all'interno dell'insula (29). Il diabete insorge più tardivamente della dimostrazione dell'insulite franca, verso la diciottesima-ventesima settimana.

I linfociti T infiltranti sono sia CD4 sia CD8 attivati; alcuni studi hanno dimostrato che le prime cellule a invadere l'insula sono linfociti T CD4 positivi e in loro assenza le cellule CD8 non migrano nell'insula. Studi immunoistologici hanno evidenziato che le cellule T infiltranti esprimono varie citochine, in particolare IL-4 e IFNγ, con una tendenza a un basso rapporto IFNγ/IL-4 nell'insulite iniziale e a un elevato rapporto IFNγ/IL-4 nell'insulite franca. E' da notare che non sono stati rilevati depositi significativi di immunoglobuline (16).

Autoantigeni β−cellulari. Il primo riscontro di anticorpi diretti contro le insule pancreatiche in soggetti diabetici di tipo 1 risale al 1974 (69): tali anticorpi sono stati definiti "islet cell autoantibodies" (ICA) e sono caratterizzati dalla capacità di reagire con antigeni localizzati nel citoplasma delle cellule del pancreas endocrino. La frequenza degli ICA risulta essere inferiore all'1% nei soggetti non diabetici, pari al 2-5% nei consanguinei dei diabetici e al 70-80% nei diabetici di tipo 1 all'esordio della malattia; la frequenza di positività per gli ICA tende a ridursi nel tempo (70).

La metodica utilizzata per evidenziare gli ICA consiste nell'immunofluorescenza indiretta su sezioni di pancreas umano e, nonostante i numerosi tentativi di standardizzazione, presenta un certo grado di dipendenza dall'operatore e dalle caratteristiche del tessuto pancreatico utilizzato come substrato.

Gli ICA rappresentano un insieme eterogeneo di autoanticorpi, il cui bersaglio è in gran parte ancora ignoto, sebbene negli ultimi anni numerosi potenziali autoantigeni siano stati identificati; rimane poi da definire se la risposta anticorpale sia semplicemente un epifenomeno del danno β-cellulare, oppure se alcuni autoanticorpi possano essere la causa scatenante dell'aggressione immunologica delle insule pancreatiche. Nella tabella 9 sono indicati i principali autoanticorpi correntemente dosabili.

Anticorpi anti-GAD (glutamato-decarbossilasi): il primo riscontro di questi anticorpi risale al 1982 con l'identificazione di un autoantigene di 64 kD riconosciuto cimentando lisati di cellule insulari con il siero di diabetici di tipo 1; questo autoantigene è stato successivamente identificato come l'enzima glutamato-decarbossilasi (GAD), il quale sintetizza l'acido gamma-amino-butirrico (GABA) (70), un neurotrasmettitore inibitorio presente in

Anticorpo	Antigene	Diabetici all'esordio (%)	Parenti di primo grado (%)	Popolazione generale (%)	Peculiarità
ICA	Multipli antigeni citoplasmatici	70-80	2-5	0.1-2	Riduzione della prevalenza con l'aumentare della durata della malattia
Anti-GAD65	Glutamato -decarbossilasi	75-80	4-7	1-2	Prevalenza invariata con il crescere dell'età alla diagnosi
Anti-insulina (IAA)	Insulina	37-69	0.7-7.4	0.3-2.8	Prevalenza più elevata nelle forme a esordio in età precoce
Anti ICA512-IA2	Tirosina-fosfatasi (?)	40-70	3-5	<1	Prevalenza più elevata nelle forme a esordio in età precoce

Tabella 9. Principali autoanticorpi rilevabili nel diabete di tipo 1. I valori di prevalenza sono tratti dai lavori citati nel testo (70-76, 79).

molti tessuti endocrini, oltre che nel sistema nervoso centrale. Studi successivi hanno rilevato la presenza di due isoenzimi, GAD 65 e GAD 67, dotati di una notevole analogia strutturale, ma di differente peso molecolare e codificati da due geni localizzati in cromosomi diversi. Le due isoforme sono differentemente rappresentate nei vari tessuti: nel cervello sono presenti entrambe, mentre nelle insule pancreatiche umane è presente prevalentemente il GAD 65 (71). Il GAD è localizzato sia nel citoplasma, sia nelle vescicole secretorie, nelle quali prevale il GAD65; non è chiaro al momento quale sia il significato della presenza di un neurotrasmettitore come il GABA nelle β-cellule. E' interessante ricordare l'esistenza di una rara malattia neurologica, la cosidetta "stiff man syndrome" (SMS), caratterizzata da rigidità e spasmi muscolari dolorosi, nella quale è presente un importante movimento anticorpale diretto contro il GAD; inoltre, una proporzione non trascurabile di pazienti con questa sindrome sviluppa il diabete di tipo 1 (71).

Gli anticorpi anti-GAD rilevati nei soggetti diabetici riconoscono prevalentemente il GAD 65 senza interferire con la sua attività enzimatica; essi reagiscono con due epitopi conformazionali dell'enzima, in parte differenti dai siti antigenici riconosciuti dagli anticorpi anti-GAD presenti nei soggetti

affetti da SMS (71). Grazie alla disponibilità del GAD ricombinante, sono state approntate diverse metodiche di determinazione degli anticorpi anti-GAD, tra le quali la più sensibile è un metodo radioimmunologico in fase liquida, adeguatamente standardizzabile e in grado di garantire una notevole riproducibilità dei risultati (72). Gli anticorpi anti-GAD sono presenti in una percentuale elevata di soggetti all'esordio del diabete di tipo 1 (80% circa) soprattutto se di sesso femminile (72). Nei bambini la prevalenza degli anti-GAD è risultata pari al 64%, contro l'86% degli ICA e il 78% degli IAA; tuttavia, mentre la prevalenza di ICA e di IAA tende a ridursi con il crescere dell'età di esordio, la prevalenza di anti GAD rimane costante (circa 80% nei soggetti con età alla diagnosi sopra i 20 anni) (72). Gli anticorpi anti-GAD sono rilevabili anche nel 4% dei parenti di primo grado dei diabetici di tipo 1: in particolare, circa il 7% dei figli di diabetici presenta anticorpi anti-GAD che possono essere rilevati anni prima dell'esordio clinico del diabete (73).

Nell'ipotesi che il GAD potesse rappresentare uno degli autoantigeni scatenanti l'autoimmunità diretta contro la β-cellula, alcuni studi hanno valutato la risposta T cellulare al GAD 65: la semplice esposizione di linfociti T al GAD 65 ricombinante non risultava essere in grado di indurre proliferazione cellulare, ma dopo multiple stimolazioni è stato possibile isolare alcune linee cellulari proliferanti in risposta ad alcune regioni del GAD (variabili da una linea cellulare all'altra). Alcune osservazioni sono di rilievo: innanzitutto una delle sequenze aminoacidiche del GAD 65 in grado di indurre una risposta T cellulare è risultata essere adiacente a una sequenza analoga a una regione dell'antigene PC-2 del virus Coxsackie B, in secondo luogo le cellule T sono risultate di tipo helper e gli antigeni HLA di classe II presenti sulla superficie cellulare sono risultati in grado di condizionare la capacità di legame con il GAD ricombinante (73). Considerando che nel topo NOD la risposta anticorpale al GAD è molto precoce, essendo già rilevabile quando sono presenti soltanti segni minimi di insulite, è ipotizzabile un ruolo patogenetico della risposta immune a questo antigene. Sono stati iniziati alcuni studi di prevenzione del diabete mediante la somministrazione endovenosa, intraperitoneale e intratimica del GAD 65: si è ottenuta una netta riduzione nell'incidenza di diabete nei topi NOD trattati, verosimilmente grazie all'induzione di cellule T regolatorie (29).

Anticorpi anti-insulina. Dei vari antigeni β-cellulari, indubbiamente l'insulina è il più specifico; anticorpi anti-insulina sono evidenziabili in pazienti in trattamento insulinico, ma sono stati rilevati anche in soggetti diabetici prima dell'inizio dell'insulino-terapia (74). Attualmente sono state messe a punto varie metodiche per il dosaggio degli anticorpi anti-insulina (RIA, ELISA), sembra comunque che il dosaggio RIA in fase liquida sia quello più sensibile; l'unico svantaggio di questa metodica è la necessità di volumi di siero relativamente elevati. Nella popolazione generale la prevalenza

di anticorpi anti-insulina (IAA) oscilla tra il 2.8% (Svezia) e lo 0.35% (Spagna). La prevalenza di IAA nei soggetti all'esordio del diabete di tipo 1 è compresa tra il 37 e il 69% raggiungendo anche il 100% nei bambini al di sotto dei 5 anni di età, ad indicare che gli IAA si associano a un andamento più aggressivo della distruzione β-cellulare. La prevalenza di IAA nei parenti di primo grado di diabetici di tipo 1 oscilla tra lo 1% e il 7% e anche in questo caso la prevalenza più elevata si riscontra nei bambini (74). Inoltre, alcuni studi hanno dimostrato un'associazione tra positività per IAA e aplotipi HLA di classe II, con una maggiore prevalenza di IAA in soggetti con specificità HLA a elevato rischio ed è stata rilevata una gradazione nella prevalenza di IAA a seconda della sequenza aminoacidica degli alleli DQA1 (74). Anche per l'insulina è stata valutata la risposta T cellulare: è stato osservato che cloni T cellulari reattivi nei confronti della catena B dell'insulina erano in grado di accelerare l'evoluzione della malattia in topi NOD o di trasferire la malattia in ceppi NOD/scid (29). Sono inoltre stati intrapresi studi sulla prevenzione del danno β–cellulare mediante somministrazione orale o parenterale di insulina o della catena B dell'insulina: si è visto che questo trattamento era in grado di proteggere i topi NOD dal diabete, nonostante la persistenza di insulite (12); uno studio pilota sulla somministrazione di insulina (per via endovena, quindi per via sottocutanea) in soggetti ad alto rischio di diabete ha rilevato un effetto protettivo del trattamento: in 7 anni di osservazione, 3 dei 9 parenti di diabetici trattati sono diventati diabetici, contro 8 su 8 dei parenti non trattati (12).

Anticorpi diretti contro gli antigeni 37/40 kD (IA-2/ICA512). I frammenti noti come 37/40kD derivano dalla digestione con proteasi degli immunoprecipitati di 64kD comprendenti anche l'enzima GAD (76 e voci bibliografiche in esso contenute); una reattività contro questi antigeni è stata rilevata nel 60% dei soggetti con nuova diagnosi di diabete di tipo 1 ed è stata associata a una rapida progressione della malattia (75); ulteriori studi hanno rilevato una stretta relazione tra la presenza di anticorpi anti-37/40kD e rischio di diabete di tipo 1 in parenti di primo grado di soggetti affetti e in bambini in età scolare. L'identificazione della natura di questi antigeni è stata ottenuta cimentando costrutti ricombinanti di potenziali antigeni β-cellulari con i sieri di pazienti; due delle proteine clonate sono risultate reattive con questi anticorpi e precisamente l'antigene ICA512 e un costrutto più lungo, detto IA-2. In realtà, l'antigene ICA512 che rappresenta una proteina transmembrana dotata di attività tirosino-fosfatasica è una parte dell'antigene IA-2 e la reattività anticorpale diretta conro la proteina IA-2 sembra riconoscere il frammento 40kD. Successivamente si è giunti all'identificazione anche dell'autoantigene corrispondente al frammmento di 37 kD, il quale coincide con una proteina omologa alla IA-2, detta IA-2β definita anche phogrina. E' da notare comunque che la proteina IA-2β/phogrina inibisce parzialmente

la precipitazione del frammento 37 kD: è quindi probabile che una parte del precipitato 37 kD possa derivare dalla proteina IA-2. Attualmente non è nota la funzione biologica delle proteine identificate, tuttavia la disponibilità di antigeni ricombinati ha reso possibile una più rapida identificazione dei soggetti portatori di autoanticorpi confermando la maggiore prevalenza di questi autoanticorpi nei soggetti con età di esordio più precoce e portatori degli alleli a rischio DRB1*04 (76).

Altri autoanticorpi. Un ulteriore potenziale autoantigene nel diabete di tipo 1 è rappresentato da una proteina di peso molecolare pari a 69kD e definita ICA69, anch'essa identificata cimentando dei costrutti ricombinanti con sieri ICA positivi (77). L'antigene ICA69 è una molecola citoplasmatica localizzata verosimilmente nel reticolo endoplasmatico e nell'apparato di Golgi delle cellule neuroendocrine; non si tratta di una proteina specificamente espressa nel pancreas e inoltre la sua struttura è notevolmente conservata in specie differenti. Attualmente non è nota la sua funzione biologica e non è disponibile un metodo di laboratorio sufficientemente semplice e riproducibile per essere applicato su larga scala. E' interessante notare che questa proteina presenta un certo grado di omologia strutturale con la sieroalbumina bovina, considerata, come è noto, uno dei potenziali fattori ambientali implicati nella patogenesi della malattia (77).

Infine è da ricordare il potenziale ruolo dell'autoimmunità diretta contro la "heat shock protein" 60 (hsp60), una proteina di 60kD, scoperta casualmente come uno degli autoantigeni riconosciuti da sieri provenienti da topi NOD. Nell'animale da esperimento si è visto che era possibile trasferire la malattia mediante cloni T cellulari sensibilizzati contro la hsp60, che il trattamento con hsp60 (ricombinante, umana, o murina) per via sottocutanea era in grado di prevenire lo sviluppo del diabete in topi NOD e che topi NOD transgenici esprimenti hsp60 nel timo non sviluppavano diabete. Inoltre il trattamento di topi NOD con hsp60 era in grado di stimolare una risposta prevalentemente Th2 e una soppressione della risposta Th1 (78).

Valore predittivo del dosaggio di multipli autoanticorpi. Un aspetto di notevole importanza, sia dal punto di vista dello studio dei meccanismi eziopatogenetici sia in previsione di eventuali interventi di prevenzione, è rappresentato dall'individuazione di soggetti a rischio per lo sviluppo del diabete di tipo 1. La presenza di ICA nei parenti di primo grado è indubbiamente predittiva, tuttavia, come già ricordato precedentemente, la determinazione di questi autoanticorpi si basa su un metodo istochimico impegnativo e piuttosto difficile da standardizzare. La attuale disponibilità di antigeni ricombinanti e di metodiche di laboratorio relativamente semplici e standardizzabili rende indubbiamente più agevole l'approccio a questo tipo di problema.

Al momento il migliore metodo per predire lo sviluppo del diabete di tipo 1 è il dosaggio di multipli autoanticorpi. Possiamo a questo proposito citare i dati del lavoro di Verge *et al.* (79) che hanno valutato, in 882 parenti di primo grado di diabetici di tipo 1, il valore predittivo di una combinazione di autoanticorpi (anti-insulina, anti-GAD, anti ICA512/IA-2) in associazione o meno al dosaggio degli ICA. Dei soggetti studiati, 50 hanno sviluppato il diabete dopo un periodo medio di osservazione di 2 anni; di questi il 98% presentava uno o più degli autoanticorpi considerati, con un titolo superiore al 99esimo percentile della distribuzione rilevata in controlli sani, mentre lo 80% presentava positività per due o più di questi autoanticorpi. La valutazione del rischio di diabete effettuata sulla base di stime di sopravvivenza ha evidenziato un incremento significativo del rischio in relazione al numero di autoanticorpi rilevati e, inoltre, è stata dimostrata una indipendenza dall'età dei soggetti e dalla positività o negatività per gli ICA. Per i parenti di primo grado con due o più di questi autoanticorpi, il rischio di diabete entro 3 anni è stato stimato essere circa pari al 39% e a 5 anni al 68%, mentre il rischio a 5 anni per il soggetti portatori dei 3 autoanticorpi è stato stimato intorno al 100%. E' inoltre interessante rilevare che nessuno dei soggetti portatori dell'allele HLA-DQB1*0602 è diventato diabetico.

Bisogna però sottolineare che il diabete di tipo 1 si presenta in soggetti con una storia familiare positiva soltanto nel 10% dei casi, quindi un aspetto interessante è il valore predittivo del dosaggio degli autoanticorpi nella popolazione generale. Ponendo come limite di positività un titolo anticorpale superiore al 99esimo percentile della distribuzione nei controlli sani, il dosaggio di anticorpi anti-GAD, anti-insulina e anti-ICA-512 nella popolazione generale ha evidenziato che circa il 3% dei soggetti esprime un singolo autoanticorpo, mentre, in più di 300 soggetti senza storia familiare di diabete, nessuno esprime 2 o più autoanticorpi, contro lo 80% dei diabetici di nuova diagnosi. Quindi la ricerca di due o più autoanticorpi tra quelli citati in precedenza potrebbe fornire un test dotato di una elevata specificità con una sensibilità intorno all'80% (12). A questo proposito è tuttavia da sottolineare che l'estensione di un simile approccio potrebbe presentare dei costi alquanto proibitivi, considerando che il rischio di diabete di tipo 1 nella popolazione generale è pari allo 0.4% e che al momento non disponiamo di mezzi di efficacia certa nella prevenzione del diabete nei soggetti a rischio: fondamentali saranno quindi i risultati degli studi di prevenzione attualmente in corso (DENIS, ENDIT, DPT-1) (12).

Le cellule T nel diabete di tipo 1. La risposta immunitaria implica l'intervento di molteplici cellule effettrici; l'evento iniziale è rappresentato dalla processazione dell'antigene da parte delle cellule specializzate (APC) e precisamente da parte dei macrofagi, delle cellule dendritiche, delle cellule di Langerhans e di Kuppfer. Anche i linfociti B hanno la capacità di processare e presentare gli antigeni. Le APC presentano ai linfociti T l'antigene

processato in associazione agli antigeni di istocompatibilità di classe I o di classe II. Le cellule T a loro volta riconoscono il complesso antigene-MHC: le cellule T CD8 positive (suppressor/citotossiche) riconoscono l'antigene associato alle molecole MHC di classe I, mentre le cellule T CD4 positive (helper, Th) riconoscono l'antigene associato alle molecole MHC di classe II (18).

Lo studio dell'evoluzione del danno insulare nei topi NOD ha evidenziato che entrambi i tipi di cellule T sono coinvolti nella patogenesi del danno β-cellulare. Tuttavia sembra che le cellule CD4 positive siano più efficienti nel trasferimento della malattia rispetto alle cellule CD8 positive. Sembra invece che le cellule T CD8 positive possano svolgere un ruolo importante nella fase iniziale del danno: i topi NOD che non esprimono antigeni MHC di classe I non sviluppano insulite e la comparsa delle cellule CD8 positive è più precoce rispetto a quella delle cellule CD4 positive (29).

Le cellule T possono essere ulteriormente caratterizzate sulla base delle citochine da esse prodotte; vengono definite Th1 le cellule che producono prevalentemente IL-2 e γ-IFN, mentre vengono definite Th2 le cellule che producono prevalentemente IL-4 e IL-5 (tab. 10). L' IL-12 secreta dai macrofagi stimola la differenziazione in senso Th1, mentre il γ-IFN sostiene l'attività citolitica delle cellule T citotossiche e stimola la fagocitosi da parte dei macrofagi, infine l'IL-4 stimola la proliferazione e l'attività dei linfociti B e inibisce la differenziazione in senso Th1. Dal punto di vista funzionale, i due sottotipi di cellule Th svolgono ruoli ben distinti essendo le cellule di tipo Th1 prevalentemente coinvolte nell'immunità cellulo mediata e le cellule Th2 prevalentemente coinvolte nella risposta umorale di tipo allergico. Studi su modelli animali evidenziano infatti che topi C57BL/6 infettati da Leishmania sviluppano una risposta prevalentemente di tipo Th1 e eliminano il parassita, mentre gli stessi animali trattati con anticorpi anti-γ IFN sviluppano una risposta di tipo Th2 e non riescono a eliminare il parassita; analogamente i topi BALB/c che sviluppano una risposta Th2 soccombono all'infezione da Leishmania, ma recuperano la loro capacità di reazione se vengono trattati con anticorpi anti-IL-4 che impediscono la differenziazione in senso Th2 (80).

	Th1	**Th2**
Tipo di citochine	IL-2, γ-IFN, TNF-β	IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13
Attivazione dei Macrofagi	++++	
Ipersensibilità ritardata	++++	
Produzione IgE e Attivazione eosinofili		++++

Tabella 10. Principali caratteristiche funzionali delle cellule Th1 e Th2 (18, 20).

Si ritiene che nel diabete di tipo 1 predomini una risposta di tipo Th1 che stimolerebbe una attività di tipo prevalentemente citotossico; studi su animali evidenziano, infatti, che la somministrazione di citochine che stimolano la differenziazione in senso Th1 favorisce lo sviluppo del diabete, mentre la somministrazione di anticorpi monoclonali specifici per le citochine di tipo Th1 arresta la progressione della malattia (29). Inoltre, risulta che cloni cellulari T che presentano un fenotipo Th1 sono in grado di trasferire la malattia in topi NOD, mentre le cellule Th2 che stimolano la produzione di anticorpi svolgono un ruolo protettivo. Sembra, quindi, che nello sviluppo del diabete sia importante lo sbilanciamento nell'equilibrio Th1/Th2: in effetti, negli infiltrati linfocitari di insule trapiantate sotto la casula renale nei topi NOD il rapporto tra γ-IFN/IL-4 è anormalmente elevato (29). Al momento non sono noti gli elementi che determinano tale squilibrio nella differenziazione dei linfociti Th, è tuttavia ipotizzabile un ruolo dei geni del maggior complesso di istocompatibilità, nonché di altri geni di suscettibilità al diabete.

D'altra parte esistono dati contrastanti rispetto all'ipotesi di uno squilibrio Th1/Th2: cellule Th1 autoreattive sono in grado di secernere un fattore ignoto che sopprime il trasferimento della malattia, inoltre cellule T esprimenti un recettore diabetogeno coltivate in condizioni tali da indurre una differenziazione Th2 non sono in grado di proteggere i topi NOD dallo sviluppo della malattia (29).

Il problema ulteriore consiste nel fatto che le numerose prove esistenti a favore del ruolo patogenetico della risposta di tipo Th1 provengono esclusivamente da studi *in vivo* o *in vitro* nell'animale da esperimento, mentre nell'uomo i dati disponibili sono scarsi a causa dell'estrema difficoltà di studiare il processo di distruzione β–cellulare.Tuttavia, in un recente lavoro (81) è stata studiata, in diabetici di tipo 1 e in soggetti a rischio per diabete (comprendenti gemelli monozigoti di diabetici), la risposta secretoria di un particolare tipo di linfociti T CD4- CD8- esprimenti il recettore T non variabile Vα24JαQ. Nell'uomo circa il 5-10% delle cellule T circolanti non esprime né il CD4 né il CD8 e il ligando per queste cellule è probabilmente rappresentato da una molecola MHC-simile che agisce da presentatore dell'antigene per i glicolipidi prodotti da Micobatteri e Nocardia; alcune di queste cellule hanno un arrangiamento non casuale dei geni per il recettore T, verosimilmente come risultato di una selezione per particolari microrganismi che vengono meglio eliminati con una risposta di tipo Th1 (18). Gli Autori del lavoro citato (81) sono partiti dall'osservazione che nel topo la differenziazione fenotipica tra cellule Th1 e Th2 può essere condizionata dalla secrezione di IL-4 e γ-IFN da parte di cellule T esprimenti il recettore non variabile Vα14α281 (analogo al recettore T Vα24JαQ umano) e che sono in grado di rispondere precocemente alla stimolazione antigenica. Dallo studio è risultato che i soggetti diabetici presentano una ridotta frequenza di

cellule T CD4 - CD8- con il recettore T Vα24JαQ rispetto ai consanguinei non diabetici; inoltre, tutti i cloni cellulari T CD4- CD8- Vα24JαQ+ ottenuti dai diabetici producono esclusivamente γ-IFN, a differenza dei cloni ottenuti dai soggetti a rischio e dai controlli sani che producono sia IL-4 che γ-IFN. Questi dati suggeriscono che l'espansione preferenziale delle cellule Th1 possa essere scatenata da una anomalia di tale particolare tipo di T CD4- CD8-, le quali nei diabetici produrrebbero prevalentemente IFNγ.

L'apoptosi. La caratteristica fondamentale del diabete di tipo 1 è la distruzione delle β-cellule, ma restano da definire i meccanismi che dall'insulite portano alla morte cellulare. La maggior parte dei dati di cui disponiamo derivano da studi sull'animale e in particolare sui topi NOD e sui loro derivati transgenici. La difficoltà nello studio di questo aspetto dipende dalla lentezza del processo infiammatorio e dalla rapida eliminazione delle cellule morte. In un lavoro recente (82) è stato studiato il processo di morte cellulare in topi ottenuti dall'incrocio tra topi transgenici portatori di un particolare recettore T (TCR) specifico per le β-cellule e topi NOD/scid; in questi animali, i quali producono cellule CD4 esprimenti il TCR transgenico, ma non cellule T CD8 positive, né linfociti B, il diabete si sviluppa in tempi molto brevi consentendo di disporre di un numero elevato di β-cellule morte: la morte cellulare nell'ambito delle insule infiammate non avviene per necrosi, ma per apoptosi e le cellule interessate si trovano in stretta vicinanza dell'infiltrato infiammatorio. (fig. 5).

La morte cellulare può verificarsi attraverso vari meccanismi:

- la cellula T attivata può uccidere direttamente la β-cellula tramite il rilascio di granuli contenenti perforina, oppure attraverso l'attivazione del sistema Fas/ligando del Fas;
- la celluta T attivata può indurre indirettamente la morte della β-cellula attraverso la produzione di mediatori solubili, oppure attivando i macrofagi; i possibili mediatori solubili sono rappresentati dal γ-IFN, dall'IL-1, dal TNF-α e dallo NO (83).

Esistono studi a favore di ognuna di queste possibili vie, in particolare ricordiamo uno studio recente (84) che ha rilevato l'importanza del Fas nel diabete autoimmune; sia il Fas (CD95) che il legando del Fas (FasL) sono espressi nei linfociti T attivati e determinano un'autolimitazione della risposta T cellulare. Altri siti privilegiati, come il sistema nervoso l'occhio e il testicolo esprimono il legando per il Fas come difesa dall'attacco T cellulare. Gli Autori dello studio citato (84) hanno tentato di prevenire lo sviluppo del diabete creando dei topi NOD transgenici esprimenti il legando del Fas sulla superficie β-cellulare, ma hanno ottenuto un risultato imprevisto; infatti, le β-cellule di questi animali presentano una maggiore sensibilità all'azione dei linfociti T diabetogeni, poiché il FasL espresso costitutivamente può legarsi al Fas, la cui espressione sulla superficie β-cellulare è indotta dai T linfociti:

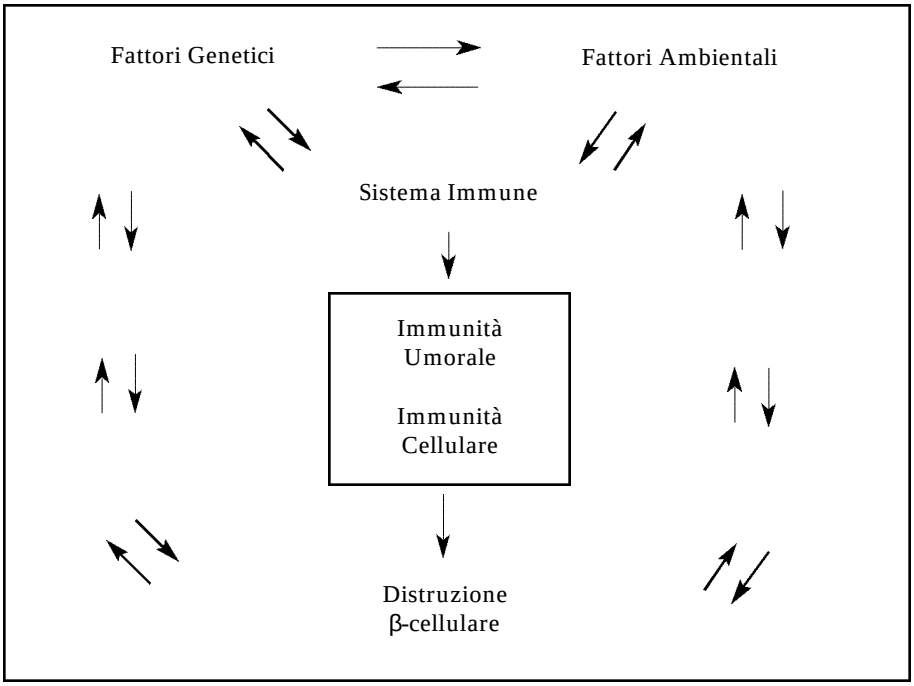


Figura 5. Interazione tra vari fattori eziologici nella patogenesi del danno β-cellulare.

ciò determina un processo di autodistruzione. Gli autori hanno inoltre rilevato che, nei topi NOD, la capacità di esprimere il Fas viene acquisita dalle β-cellule durante lo sviluppo del diabete .

Nell'uomo, il sistema Fas/FasL sembra essere coinvolto nel meccanismo di morte cellulare nella tiroidite di Hashimoto, patologia che condivide molti aspetti immunopatogenetici con il diabete di tipo 1. Giordano *et al.* (85) hanno rilevato che i tireociti di soggetti affetti da tiroidite di Hashimoto, ma non i tireociti di soggetti affetti da struma non tossico, esprimono il Fas, la cui espressione può essere indotta anche in tireociti normali dall'interleuchina 1β(IL-1β). Il dato sorprendente è che il FasL risulta essere presente costitutivamente sia nei tireociti normali sia in quelli provenienti da soggetti con tiroidite autoimmune. Inoltre, l'IL1β è in grado di indurre apoptosi nei tireociti e la sua azione è inibita da anticorpi anti-Fas. E' quindi verosimile che l'anomala espressione del Fas determinata dal processo infiammatorio possa indurre i tireociti a produrre l'apoptosi in se stessi o nei tireociti vicini.

Il diabete autoimmune latente dell'adulto (LADA)

Un problema particolarmente attuale è rappresentato dal riconoscimento del diabete autoimmune a esordio in età adulta come entità clinica autonoma. Il diabete di tipo 1 è generalmente considerato come una malattia piuttosto semplice da diagnosticare con un quadro ben definito sia dal punto di vista clinico sia dal punto di vista laboratoristico. Nella sua forma classica il diabete di tipo 1 è caratterizzato dalla assoluta necessità di un trattamento insulinico immediato, tuttavia, nell'adulto, la comparsa dell'insulino-dipendenza può essere molto più tardiva suggerendo una erronea diagnosi di diabete di tipo 2.

Come ampliamente illustrato da Zimmet (4) (tab. 11), il diabete dell'adulto è quindi eterogeneo in quanto comprende, oltre al diabete di tipo 2, le forme monogeniche e il diabete insulino-dipendente che può presentare il decorso acuto tipico del diabete di tipo 1, oppure un decorso più subdolo che caratterizza la particolare entità definita LADA (*latent autoimmune diabetes in adults*).

Nell'adulto il diabete di tipo 1 a esordio acuto è sia clinicamente sia immunologicamente analogo al diabete che esordisce in età pediatrica; è importante sottolineare che la frequenza del diabete di tipo 1 nell'adulto non è affatto trascurabile: da uno studio danese (86) risulta che l'incidenza cumulativa di diabete insulino-dipendente, a partire dall'età di 30 anni, si mantiene costante nel tempo e inoltre, come già segnalato nella premessa epidemiologica, il numero di diagnosi nell'età compresa tra i 15 e i 40 anni è quasi doppio rispetto al numero di diagnosi effettuate prima dei 15 anni (7).

Le maggiori difficoltà diagnostiche si riscontrano nei diabetici non obesi con esordio della malattia in età superiore ai 35 anni, tra i quali possiamo trovare soggetti che, dopo un periodo variabile di buon compenso glicemico con la sola terapia dietetica o ipoglicemizzante orale, sviluppano una progressiva insulino-dipendenza. Alcuni studi, in particolare del gruppo di Zimmet, hanno rilevato che i diabetici con esordio in età adulta, nel 10-20% dei casi, presentano un diabete autoimmune caratterizzato da una evoluzione lenta; in questi pazienti è comune il riscontro di genotipi HLA e del movimento autoanticorpale associati comunemente al diabete di tipo 1 (4).

IDDM
Componente genetica nota: HLA DR e DQ
- Esordio acuto
- LADA
- Non autoimmune

NIDDM
Componente genetica nota (sufficientemente provata):
- Glucochinasi
- DNA mitocondriale
- Recettore dell'insulina
- Gene dell'insulina

Componente genetica ignota (nella maggior parte dei casi):
- Resistenza all'insulina
- Difetto di secrezione dell'insulina

DIABETE GESTAZIONALE
- Transitorio
- Insulino-dipendente
- Non-insulino-dipendente

ALTRI TIPI
- Pancreatico
- Endocrino
- Da malnutrizione
- Da farmaci
- Sindromi genetiche rare

Tabella 11. Classificazione del diabete proposta da Zimmet (4).

E' molto probabile che la percentuale di pazienti con diabete autoimmune possa risultare nettamente più elevata se si considera una casistica di diabetici non obesi.

E' utile sottolineare che la positività per gli anticorpi anti-GAD persiste a lungo nel tempo, mentre il titolo degli ICA e degli anticorpi anti-insulina tende a decrescere con una certa rapidità dopo la diagnosi (87); ciò rende il dosaggio degli anti-GAD un utile strumento nella diagnosi del LADA che è caratterizzato da una fase preclinica particolarmente protratta. E' stato infatti rilevato che i diabetici con esordio in età adulta che evolvono verso l'insulino-dipendenza hanno una più frequente positività per gli anticorpi anti-

GAD rispetto ai pazienti che non necessitano di terapia insulinica (73.7% contro 4.3%) (88); un analogo risultato è stato ottenuto da Tuomi *et al.* (89), i quali hanno valutato dei soggetti con diabete esordito in età adulta e insulino-indipendenti per almeno 6 mesi dalla diagnosi e hanno rilevato la positività per gli anti-GAD nel 76% dei pazienti con insulino-deficienza al test al glucagone e nel 12% dei pazienti con funzionalità β-cellulare conservata; tale differenza è risultata nettamente più significativa di quella ottenuta per gli ICA.

Interessanti sono i risultati di uno studio di Niskanen *et al* (90) i quali hanno valutato il valore predittivo per l'insulino-dipendenza del dosaggio degli ICA e degli anticorpi anti-GAD alla diagnosi in una popolazione non selezionata di diabetici non insulino-dipendenti che sono stati rivalutati a 5 e a 10 anni dalla diagnosi: la sensibilità e la specificità degli anti-GAD nel predire l'insulino-dipendenza assoluta o relativa sono risultate rispettivamente pari al 67% vs 94% e 60% vs 95%, mentre per gli ICA sono risultate pari al 33% vs 97% e al 60% vs 95%, rispettivamente. Il valore predittivo positivo per gli anti-GAD è risultato pari al 50%, mentre il valore predittivo negativo è risultato pari al 97%. Risulta quindi che il dosaggio degli anti-GAD è più sensibile del dosaggio degli ICA nel predire l'evoluzione verso l'insulino-dipendenza; inoltre, i titoli elevati di anti-GAD sono risultati persistenti nel tempo.

Possiamo quindi sottolineare l'importanza del dosaggio degli anticorpi anti-GAD, unitamente alla valutazione della funzionalità β-cellulare, nell'inquadramento diagnostico e nell'identificazione del più idoneo approccio terapeutico del diabete mellito nell'adulto non obeso.

Conclusioni

Il diabete mellito di tipo 1 è una malattia multifattoriale nella quale è molto frequentemente rilevabile una componente autoimmune; tuttavia, attualmente, la sua eziologia rimane indeterminata e i meccanismi potenzialmente coinvolti nella sua patogenesi sono numerosi. I dati epidemiologici (2, 3, 5, 6, 8-15) suggeriscono che sia i fattori genetici sia i fattori ambientali svolgano un ruolo determinante nello sviluppo della malattia, verosimilmente integrandosi a vicenda.

Il ruolo dei fattori genetici è sostenuto dall'aggregazione familiare della malattia, infatti il rischio di malattia nei parenti di primo grado risulta pari al 6%, contro un rischio dello 0.2-0.4% nella popolazione generale. Grazie all'evoluzione rapida delle metodiche di biologia molecolare, sono stati identificati almeno 13 loci potenzialmente associati al diabete di tipo 1 (17, 30,31). Tra i determinanti genetici, quello quantitativamente più rilevante è rappresentato dal complesso dei geni HLA di classe II (IDDM1), il quale contribuisce per circa il 35% alla componente genetica del diabete di tipo 1; il rischio più elevato risulta essere conferito dal genotipo DQA1*0301-DQB1*0302 / DQA1*0501-DQB1*0201 (19-27). L'influenza del genotipo HLA risulta più rilevante nel diabete di tipo 1 a esordio in età pediatrica (37, 38).

Il secondo determinante genetico, in ordine di importanza, è rappresentato dal polimorfismo degli alleli VNTR (IDDM2), locus localizzato in prossimità del gene dell'insulina e che contribuisce per il 10% alla componente genetica; esso sembra svolgere un ruolo più rilevante nei soggetti non portatori di antigeni HLA a rischio (7, 28).

Per quanto riguarda i determinanti ambientali, una particolare attenzione è stata riservata ai virus, in particolare agli Enterovirus, il cui ruolo sembra essere dimostrato da alcuni studi autoptici su pazienti deceduti all'esordio del diabete, ma soprattutto dal rilievo di più elevati livelli di anticorpi contro i virus in questione nei diabetici di tipo 1. Non sono note con certezza le modalità con cui i virus determinano un danno β-cellulare, ma è verosimile che, più che con un effetto citolitico diretto, essi possano agire alterando la tolleranza immunitaria nei confronti di antigeni β-cellulari, ad esempio con fenomeni di mimetismo molecolare.

Un'ipotesi interessante è quella relativa al coinvolgimento di un retro-

virus recentemente isolato, IDDMK$_{1,2}$22, il quale codificando un superantigene potrebbe determinare una attivazione policlonale di linfociti T, tra cui potenziali cellule autoreattive capaci di innescare il processo di distruzione β-cellulare. Considerando le caratteristiche di retrovirus ad esso filogeneticamente affini, l'IDDMK$_{1,2}$22 potrebbe essere steroido-inducibile e inoltre, come ogni elemento geneticamente mobile, potrebbe essere trasmissibile per via genetica (58).

Tra i determinanti ambientali, possiamo ricordare ancora i fattori alimentari, tra cui la precoce introduzione nella dieta infantile del latte bovino, il cui ruolo è sostenuto da studi epidemiologici, dal rilievo di anticorpi anti-sieroalbumina in diabetici all'esordio e dalla dimostrazione di una reattività crociata tra un frammento della sieroalbumina bovina e l'antigene β-cellulare ICA69. Tuttavia i dati a questo proposito sono ancora discordanti e non si deve trascurare il ruolo di altre sostanze alimentari, come la farina di soya e altri fattori verosimilmente ancora sconosciuti (62-68).

Il danno β-cellulare è caratterizzato da alcune fasi successive che dalla peri-insulite vanno all'insulite franca e alla distruzione totale delle β-cellule. Il processo è caratterizzato dall'infiltrazione di cellule mononucleate, in particolare di macrofagi e linfociti T. Sono state rilevate numerose anomalie nella funzionalità dei linfociti T: in particolare risulterebbe importante, nella patogenesi del diabete di tipo 1, uno squilibrio nella funzione delle cellule T, con un elevato rapporto γ-IFN / IL-4 che potrebbe determinare una prevalente risposta di tipo Th1 e una conseguente attività di tipo prevalentemente citotossico (54, 80, 81). Recentemente è stata rivolta una particolare attenzione alle modalità con cui avviene la morte delle β-cellule ed è stato evidenziato che essa si verifica non per necrosi, ma per apoptosi; nel meccanismo di apoptosi, un ruolo particolare sarebbe svolto dal sistema Fas / FasL. E' interessante il rilevo che questo sistema risulta essere coinvolto anche nella morte dei tireociti in pazienti affetti da tiroidite di Hashimoto (82-85).

Nel diabete di tipo 1 è caratteristica la presenza di un movimento autoanticorpale contro le β-cellule e negli ultimi anni sono stati identificati numerosi antigeni β-cellulari contro cui è stata rilevata una attività autoanticorpale. Tra questi possiamo ricordare la glutamato-decarbossilasi (GAD), l'insulina, gli antigeni 37 / 40 kD (IA2-ICA 512); per alcuni degli autoantigeni citati, in particolare per il GAD e per l'insulina, è stato ipotizzato un ruolo patogenetico e sono disponibili dei dati sperimentali che sostengono tale ipotesi (69-78). Tuttavia, attualmente non è ancora chiaro se i vari autoanticorpi identificati siano coinvolti nello sviluppo del diabete, o se rappresentino la semplice conseguenza dell'esposizione di autoantigeni secondaria al danno β-cellulare.

Risulta invece riconosciuta l'utilità del dosaggio di multipli autoanticorpi, eventualmente associato alla tipizzazione molecolare dello HLA di classe II, per la diagnosi differenziale tra diabete di tipo 1 e diabete di tipo 2 nelle forme a esordio atipico in età adulta (71, 79, 86-90).

La valutazione del rischio di diabete nei parenti di primo grado dei diabetici di tipo 1 merita un preciso commento. La possibilità di identificare con i metodi di biologia molecolare e con il dosaggio degli autoanticorpi i soggetti con un aumentato rischio per diabete di tipo 1 rispetto a quello della popolazione generale consente un particolare sviluppo della ricerca epidemiologica ed eziopatogenetica. Inoltre, rende possibile l'espletamento di studi preliminari di intervento di prevenzione primaria (farmaci, insulina orale). In attesa di una dimostrazione di efficacia di uno di questi interventi, non pare oggi giustificato estendere su larga scala la tipizzazione del rischio nei parenti di primo grado dei diabetici di tipo 1. Ciò porterebbe ad una conoscenza anticipata della probabilità di sviluppare il diabete di tipo 1 in un soggetto a rischio, senza poter intervenire con mezzi efficaci nel ridurre il rischio stesso.

Questo tipo di problema, caratterizzato dal progresso delle conoscenze senza una contemporanea possibilità di intervento terapeutico, non è confinato al diabete di tipo 1. Lo studio del genoma umano, in gran parte ormai mappato, estenderà nel prossimo futuro la discrepanza tra conoscenza della causa e possibilità di intervento per correggerla. Questo è un prezzo che attualmente la scienza sta facendo pagare all'uomo.

Bibliografia

1. The 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: 1183-1197.
2. Karvonen M., Tuomilehto J., Loibman I., La Porte R. for the Worl Health Organization DIAMOND Project Group: A review of the recent epidemiological data on the worldwide incidence of Type 1(insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1993, 36: 883-892.
3. Bruno G.: Epidemiologia del diabete mellito insulino-dipendente in Italia. In: Il diabete in Italia. Ed. Kurtis 1996: pp 1-15.
4. Zimmet P.Z.: The pathogenesis and prevention of diabetes in adults. Genes, autoimmunitiy, and demography. Diabetes Care 1995, 18: 1050-1064.
5. Green A., Gale E.A.M., Patterson C.C. for the EURODIAB ACE Study Group: Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabetes mellitus: The EURODIAB ACE Study. Lancet 1992, 339: 905-909.
6. Bruno G., Merletti F., De Salvia A., Lezo A., Arcari R., Pagano G. on behalf of the Piedmont Study Group for Diabetes Epidemiology: Comparison of incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in children and young adults in the Province of Turin, Italy, 1984-91. Diabetic Med 1997, 14: 964-969.
7. Van Der Auwera B., Schuit F., Lyaruu I., Falorni A., Svanholm S., Vandewalle C.L., Gorus F.K., and the Belgian Diabetes Registry: Genetic susceptibility for insulin-dependent diabetes mellitus in Caucasians revisited: the importance of diabetes registries in disclosing interactions between HLA-DQ and insulin gene-linked risk. J Clin Endocrinol Metab 1995, 80: 2567-2573.
8. Bodansky H.J., Staines A., Stephenson C., Haigh D., Cartwright R.: Evidence for an environmental effect in the aetiology of insulin dependent diabetes in a transmigratory population. BMJ 1992, 304: 1020-1022.
9. Bruno G., Merletti F., Pagano G.: Incidence of insulin-dependent diabetes among Sardinian migrants to Northern Italy. Lancet 1996, 347: 193-194.
10. Warram J.H., Krolewski A.S., Gottlieb M.S., Kahn C.R.: Differences in risk of insulin-dependent diabetes in offspring of diabetic mothers and diabetic fathers. N Engl J Med 1984, 311: 149-152.

11. El-Hashimy M., Angelico M.C., Martin B. C., Krolewski A. S., Warram J.H.: Factors modifying the risk of IDDM in offspring of an IDDM parent. Diabetes 1995, 44: 295-299.

12. Slover R.H., Eisenbarth G.S.: Prevention of type I diabetes and recurrent β-Cell destruction of transplanted islets. Endocrine Rev 1997, 18: 241-257.

13. Kumar D., Gemayel N.S., Deapen D., Kapadia D., Yamashita P.H., Lee M., Dwyer J.H., Roy-Burman P., Bray G.A. Mack T.M.: North-American twins with IDDM. Genetic, etiological, and clinical significance of disease concordance according to age, zygosity, and the interval after diagnosis in first twin. Diabetes 1993, 42: 1351-1363.

14. Verge C.F., Gianani F., Yu L., Pietropaolo M., Smith T., Jackon R.A., Soeldner M.S., Eisenbart G.S.: Late progression to diabetes and evidence for chronic β-cell autoimmunity in identical twins of patients with type I diabetes. Diabetes 1995, 44: 1176-1179.

15. Dahlquist G., Blom L., Lönnberg: The Swedish Childhood Diabetes Study-A multivariate analysis of risk determinants for diabetes in different age groups. Diabetologia 1991, 34: 757-762.

16. Bach J.F.: Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. Endocrine Rev 1994, 15: 516-542.

17. Vyse T.J., Todd J.A.: Genetic analysis of autoimmune disease. Cell 1996, 85: 311-318.

18. Huston D.P.: The biology of the immune system. JAMA 1997, 278: 1804-1814.

19. Boitard C., Caillat-Zucman S., Timsit J.: Insulin-dependent diabetes and human leucocyte antigens. Diabetes & Metabolism 1997, 23: 22-28.

20. Todd J.A., Bell J.I., McDevitt H.O.: HLA-DQ contribute to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. Nature 1987, 329: 599-604.

21. Dorman J.S., La Porte R. E., Stone R. A., Trucco M.: Worldwide differences in the incidence of type I diabetes are associated with amino acid variation at position 57 of the HLA-DQβ chain. Proc Natl Acad Sci USA 1990, 87: 7370-7374.

22. Klitz W.: Inheritance of insulin dependent diabetes. Nature (Lond.) 1988, 333: 402-403

23. Todd J.A:, Bell J.I., McDevitt H.O.: HLA antigen and insulin dependent diabetes. Nature (Lond.) 1988: 710.

24. Todd J.A., Mijovic C., Flether J., Jenkins D., Bradwel A.R., Barnerd H.: Identification of susceptibility loci for insulin-dependent diabetes mellitus by trans-racial gene mapping. Nature (Lond) 1989, 338: 587-89.

25. Khalil I., D'Auriol L., Morin G.M., Lepage V., Deschamps I., Park M.S., Degos L., Galibert F., Hors J.: A combination of HLA DQβ Asp 57 negative and HLA DQα Arg 52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest 1990, 8: 1315-1319.

26. Khalil I., Deschamps I., Lepage V., Al-Daccak R., Degos L., Hors J.: Dose Effect of Cis- and Trans-Encoded HLA-DQαβ heterodimers in IDDM Susceptibility. Diabetes 1992, 41: 376-384.

27. Thorsby E., Ronningen K.S.: Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1993, 36: 371-377.

28. Pugliese A.: Genetic protection from insulin-dependent diabetes mellitus. Diab Nutr Metab 1997, 10: 169-179.

29. Tisch R., McDevitt H.: Insulin-dependent diabetes mellitus. Cell 1996, 85: 291-297.

30. Todd J.A., Farral M.: Panning for gold: genomewide scanning in type 1 diabetes. Diabetes rev 1997, 5: 284-291.

31. Wucherpfennig K.W., Strominger J.L.: Selective binding of self peptides to disease-associated major histocompatibility complex (MHC) molecules: a mechanism for MHC-linked susceptibility to human autoimmune diseases. J Exp Med 1995, 181: 1597-1601.

32. Nepom B.S., Nepom G.T., Coleman M., Kwok W.W.: Critical contribuiton of β chain residue 57 in peptide binding ability of both HLA-DR and -DQ molecules. Proc Nat. Acad Sci USA 1996, 93: 7202-7206.

33. Nepom G.T.: A unified hypothesis for the complex genetics of HLA associations with IDDM. Diabetes 1990, 39: 1153-1157.

34. Sheehy M.J.: HLA and insulin-dependent diabetes. A protective perspective. Diabetes 1992, 41: 123-129.

35. Hashimoto L., Habita C., Beressi J., Delepine M., Besse C., Cambon-Thomsen A., Deschamps I., Rotter J., Djoulah S., James M., Froguel P., Weissenbach J., Lathrop G., Julier C.: Genetic mapping of a susceptibility locus for insulin-dependent diabetes mellitus on chromosome 11q. Nature 1994, 371: 161-164.

36. Davies M.L., Kawaguchi Y., Bennett S.T., Copeman J.B., Cordell H.J., Pritchard L.E., Reed P.W., Gough S.C.L., Jenkins S.C., Palmer S.M.,

Balfour K.M., Rowe B., Farral M., Barnett A.H., Bain S.C.l, Todd J.A.: A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. Nature 1994, 371: 130-136.

37. Caillat-Zucman S., Garchon H.J., Timsit J., Assan R., Boitard C., Djilali-Saiah I., Bougnères P., Bach J.F.: Age-dependent HLA genetic heterogeneity of type 1 insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest 1992, 90: 2242-2250.

38. Vandewalle C.L., Decraene T., Schuit F.C., De Leeuw J.H., Pipeleers D.G., Gorus F.K., the Belgian Diabetes Registry: Insulin autoantibodies and high titre islet cell antibodies are preferentially associated with the HLA DQA1*0301-DQB1*0302 haplotype at clinical onset of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus before age 10 years, but not at onset between age 10 and 40 years. Diabetologia 1993, 36: 1155-1162.

39. Van der Auwera B.J., Heimberg H., Schrevens A.F., Van Waeyenberge C., Flament J., Schuit F.C.: 5' Insulin gene polymorphism confers risk to IDDM independently of HLA class II susceptibility. Diabetes 1993, 42: 851-854.

40. Julier C., Hyer R.N., Davies J., Herlin F., Soularue P., Briant L., Cathelineau G., Dechamps I., Rotter J.I., Froguel P., Boitard C, Bell J.I., Lathrop G.M.: Insulin-IGF2 region on chromosome 11p encodes a gene implicated in HLA-DR4-dependent diabetes susceptibility. Nature 1991, 354: 155-159.

41. De-Fang L., Buzzetti R., Rotter J.I., Maclaren N.K., Raffel L.J., Nisticò L., Giovannini C., Pozzilli P., Thomson G., She J-X: Confirmation of three susceptibility genes to insulin-dependent diabetes mellitus: IDDM4, IDDM5 and IDDM8. Hum Mol Genet 1996, 5: 693-698.

42. Nisticò L., Buzzetti R., Pritchard L., Van der Auwera B., Giovannini C., Bosi E., Martinez Larrad M.T., Serrano Rios M., Chow C.C., Cockram C.S., Jacobs K., Mijovic C., Bain S.C., Barnett A.H., Vandewalle C.L:, Schuit F., Gorus F.K., Belgian Diabetes Registry, Tosi R., Pozzilli P., Todd J.A.: The CTLA-4 gene region of chromosme 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. Hum Mol genet 1996, 5: 1075-1080.

43. Yanagawa T., Hidaka Y., Guimaraes V., Soliman M., DeGroot L.J.: CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. J Clin Endocrinol Metab 1995, 80: 41-45.

44. Yoon J.W., Ihm S.M.: Viruses as triggering factors of autoimmune type I diabetes. In Farid N.R:; Bona C.A. (eds). The molecular aspects of autoimmunity. Acad Press, London, 1990, pp 231-240.

45. Yoon J.W.: Role of viruses in the pathogenesis of IDDM. Ann Med 1990, 23: 437-445.

46. Menser M.A., Forrest J.M., Bransby R.D.: Rubella infection and diabetes mellitus. Lancet I 1978: 57-60.

47. Szopa T.M., Titchener P.A., Portwood N.D., Taylor K.W.: Diabetes mellitus due to viruses: same recent developments. Diabetologia 1995, 36: 687-695.

48. Graves P.M., Norris J.M., Pallansch M.A., Gerling I., Rewers M.: The role of enteroviral infections in the development of IDDM. Limitations of current approaches. Diabetes 1997, 46: 161-168.

49. Yoon J.W., Austin M., Onodera T., Notkins A.L: Virus induced diabetes mellitus. N Engl J Med 1979, 300: 1173-1179.

50. Gladisch R., Hofmann W., Waldherr R.: Myokarditis und Insulitis nach Coxsackie-Virus Infekt.Zeitschrift für Kardiologie 1976, 65: 837-849.

51. Kaufman D.J., Erlander M.G., Clare-Salzler M., Atkinson M.A., Maclaren N.K., Tobin A.M.: Autoimmunity to two forms of glutamate decarboxylase in insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest 1992, 89: 283-292.

52. Foulis A.K., McGill M., Farquharson M.A., Hilton D.A.: A search for evidence of viral infection in pancreases of newly diagnosed patients with IDDM. Diabetologia 1997, 40: 53-61.

53. Itoh N., Hanafusa T., Yamagata K., Nakajima H., Tomita K., Tamura S., Inada M., Kawata S., Kono N., Kuwajima M., Matsuzawa Y.: No detectable cytomegalovirus and Epstein-Barr virus genomes in the pancreas of recent-onset IDDM patients. Diabetologia 1995, 38: 667-671.

54. Rabinovitch A.: Immunoregulatory and cytokine imbalances in the pathogenesis of IDDM. Therapeutic intervention by immunostimulation? Diabetes 1994, 43: 613-621.

55. Janeway C.A.: Self superantigens? Cell 1990, 63: 659-661.

56. Acha-Orbea H., MacDonald H.R.: Superantigens of mouse mammary tumor virus. Annu Rev Immunol 1995, 13: 459-486.

57. Conrad B., Weldmann E., Trucco G., Rudert W.A., Bahboo R., Ricordi C., Rodriquez-Rilo N., Finegold D., Trucco M.: Evidence for superantigen involvement in insulin-dependent diabetes mellitus aetiology. Nature, 1994 371: 351-355.

58. Conrad B., Weissmahr R.N., Böni J., Arcari R., Schüpbach, Mach B.: A

human endogenous retroviral superantigen as candidate autoimmune gene in Type I Diabetes. Cell 1997, 90: 303-313.

59. Roizman B.: Herpesviridae. In Fields Virology. B.N: Fields et al., eds. (Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers), 1996, pp 2221-2230.
60. Wilkinson D.A., et al.: Endogenous human retroviruses. In The Retroviridae, J.A. Levy, ed. (New York: Plenum Press), 1994, pp 465-535.
61. Perron H., Garson J.A., Bedin F., Beseme F., Paranhos-Baccala G., Komurian-Pradel F., Mallet F., Tuke P.W., Voisset C., Blond J.L., Lalande B., Seigneurin J.M., Mandrand B., and the Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis: Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 1997, 94: 7583-7588.
62. Borch-Johnsen K., Mandrup-Poulsen T., Zachau-Christiansen B., Joner G., Christy M., Kastrup K.: Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet 1984: 1083-1086.
63. Elliott R.B., Martin J.M.: Dietary protein: a trigger of insulin-dependent diabetes in the BB rat? Diabetologia 1984, 26: 297-299.
64. Karjalainen J., Martin J.M., Knip M., Ilonen L., Robinson B.H:, Savilahti E., Akerblom H., Dosch H-M: A bovine albumin peptide as a possible trigger of insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1992, 327: 302-307.
65. Scott F.W., Norris J.M., Kolb H.: Milk and type I diabetes. Examining the evidence and broadening the focus. Diabetes Care 1996, 19: 379-383.
66. Gerstein H.C.: Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. Diabetes Care 1994, 17: 13-19.
67. Alting A.C., Meijer R.J.G.M., Van Beresteijn E.C.H.: Incomplete elimination of the ABBOS epitope of bovine serum albumin under simulated gastrointestinal conditions of infants. Diabetes Care 1997, 20: 875-901.
68. Hammond-McKibben D., dosch H-M: Cow's milk, bovine serum albumin, and IDDM: can we settle the controversies? Diabetes Care 1997, 20: 897-901.
69. Bottazzo G.F., Florin-Christensen A., Doniach D.: Islet cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiency. Lancet ii 1974: 1279-1283.
70. Atkinson M.A., Maclaren N.K.: Islet cell autoantigens in insulin-dependent diabetes. J Clin Invest 1993, 92: 1608-1616.

71. Kawasaki E., Eisenbarth G.S.: Multiple autoantigens in the prediction and pathogenesis of type I diabetes. Diab Nutr, Metab 1996, 9: 188-198.

72. Sanjeevi C.B., Falorni A., Robertson F., Lernmark Å.: Glutamic acid decarboxylase (GAD) in insulin-dependent diabetes mellitus. Diab Nutr Metab 1996, 9: 167-182.

73. Lernmark Å.: Glutamic acid decarboxylase - gene to antigen to disease. J Intern Med 1996, 240: 259-277.

74. Naserke H.E., Ziegler A.G.: Humoral and cellular immune response to insulin. Diab Nutr Metab 1996, 9: 208-214.

75. Christie M.R., Genovese S., Cassidy D., Bosi E., Brown T.J., Lai M., Bonifacio E., Bottazzo G.F.: Antibodies to islet 37k antigen, but not to glutamic acid decarboxylase, discriminate rapid progression to IDDM in endocrine autoimmunity. Diabetes 1994, 43: 1254-1259.

76. Bonifacio E., Christie M.R.: Tyrosine phosphatase-like proteins as autoantigens in insulin-dependent diabetes mellitus: the targets for 37/40k antibodies. Diab Nutr Metab 1996, 9: 183-187.

77. Pietropaolo M.: Islet cell autoantigen 69 kDa (ICA 69). Diab Nutr Metab 1996, 9: 199-207.

78. Cohen I.R., Elias D.: Immunity to 60 kDa heat shock protein in autoimmune diabetes. Diab Nutr Metab 1996, 9: 229-232.

79. Verge C.F., Gianani R., Kawasaki E., Liping Y., Pietropaolo M., Jackson R.A., Chase P., Eisenbart G.S.: 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.

80. Hartemann Heurtier A., Boitard C.: T-cell regulation in murine and human autoimmune diabetes: the role of Th1 and Th2 cells. Diabetes & Metabolism 1997, 23: 377-385.

81. Wilson B.S., Kent S.C., Patton K.T., Orban T., Jackson R.S., Exley M., Porcelli S., Schatz D.A., Atkinson M.A., Balk S.P., Strominger J.L., Hafler D.A.: Extreme Th1 bias of invariant Vα24JαQ T cells in type 1 diabetes. Nature 1998, 39: 177-181.

82. Kurrer M.O., Pakala S.V., Hanson H.L., Katz J.D.: β cell apoptosis in T cell-mediated autoimmune diabetes. Proc Natl Acad Sci USA 1997, 94: 213-218.

83. Benoist C., Mathis D.: Cell death mediators in autoimmune diabetes-No shortage of suspects. Cell 1997, 89: 1-3.

84. Chervonsky A., Wang Y., Wong S., Visintin I., Flavel R.A., Janeway C. Jr., Matis L.A.: The role of Fas in autoimmune diabetes. Cell 1997, 89: 17-24.

85. Giordano C., Stassi G., De Maria R., Todaro M., Richiusa P., Papoff G., Ruberti G., Bagnasco M., Testi R., Galluzzo A.: Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. Science 1997, 14: 960-963

86. Mølbak A.C., Christau B., Marner B., Borch-Jonsen K., Nerup J.: Incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in age groups over 30 years in Denmark. Diabetic Med 1994, 11: 650-655.

87. Palmer J.P.: Predicting IDDM: use of humoral immune markers. Diabetes rev 1993, 1: 104-115.

88. Zimmet P.Z., Tuomi T., Mackay I.R., Rowley M.J., Knowles W., Cohen M., Lang D.A.: Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. Diabetic Med 1994, 11: 299-303.

89. Tuomi T., Groop L.C., Zimmet P.Z., Merril J.R., Knowles W., Mackay I.R: Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin dependent onset of disease. Diabetes 1993, 42: 359-362.

90. Niskanen L.K., Tuomi T., Karjalainen J., Groop L.C., Uusitupa M.I.J.: GAD antibodies in NIDDM. Ten-year follow-up from the diagnosis. Diabetes Care 1995, 18: 1557-1565.

91. Buzzetti R.: Geni di suscettibilità al diabete tipo I: familiarità, differenze etniche d'incidenza e implicazioni sull'età di insorgenza della malattia. Dagli atti del 16° Congresso Nazionale della SID, maggio 1996. Il Diabete 1997, 9: 47-51.

Indice

Editoriale . . . . . pag. 3
Introduzione . . . . . » 5
Variazioni geografiche nell'incidenza del diabete di tipo 1 . . . . . » 5
Incidenza per classe di età . . . . . » 7
Variazioni temporali nell'incidenza del diabete di tipo 1 . . . . . » 7
Studi su popolazioni emigrate . . . . . » 8
Studi familiari . . . . . » 8
Modelli animali . . . . . » 10
Genetica del diabete di tipo 1 . . . . . » 12
Il ruolo del complesso HLA (human leukocyte antigens) o locus IDDM1 . . . . . » 13
Il locus IDDM2 . . . . . » 21
Altri loci . . . . . » 22
Determinanti ambientali . . . . . » 24
Agenti infettivi . . . . . » 24
Agenti tossici . . . . . » 28
Alimentazione . . . . . » 28
Il danno β–cellulare . . . . . » 30
Autoantigeni β–cellulari . . . . . » 31
Anticorpi anti-GAD (glutamato-decarbossilasi) . . . . . » 31
Anticorpi anti-insulina . . . . . » 33
Anticorpi diretti contro gli antigeni 37/40 kD (IA-2/ICA512) . . . . . » 34
Altri autoanticorpi . . . . . » 35
Valore predittivo del dosaggio di multipli autoanticorpi . . . . . » 36
Le cellule T nel diabete di tipo 1 . . . . . » 36
L'apoptosi . . . . . » 39
Il diabete autoimmune latente dell'adulto (LADA) . . . . . » 41
Conclusioni . . . . . » 44
Bibliografia . . . . . » 47
Indice . . . . . » 55

Caleidoscopio
Italiano

1. **Rassu S.:** ***Principi generali di endocrinologia.*** **Gennaio '83**
2. **Rassu S.:** ***L'ipotalamo endocrino.*** **Giugno '83**
3. **Rassu S.:** ***L'ipofisi.*** **Dicembre '83**
4. **Alagna., Masala A.:** ***La prolattina.*** **Aprile '84**
5. **Rassu S.:** ***Il pancreas endocrino.*** **Giugno '84**
6. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).*** **Luglio '84.**
7. **Rassu S.:** ***L'obesita'.*** **Settembre '84**
8. **Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*****Aspetti morfofunzionali del - l'ovaio.*** **Novembre '84.**
9. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (1).*** **Dicembre '84.**
10. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.*** **Gennaio'85.**
11. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.*** **Febbraio '85.**
12. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.*** **Aprile '85.**
13. **Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.:** ***Il TSH.*** **Giugno '85.**
14. **Facchinetti F. e Petraglia F.:** ***La β-endorfina plasmatica e liquorale.*** **Agosto '85.**
15. **Baccini C.:** ***Le droghe d'abuso (1).*** **Ottobre '85.**
16. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.*** **Dicembre '85.**
17. **Nuti R.:** ***Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.*** **Febbraio '86**
18. **Cavallaro E.:** ***Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.*** **Marzo '86.**
19. **Fanetti G.:** ***AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.*** **Maggio '86.**
20. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Toxoplasmosi, immunologia e clinica.*** **Luglio '86.**
21. **Limone P.:** ***Il feocromocitoma.*** **Settembre '86.**
22. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.:** ***Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici.*** **Novembre '86.**
23. **Bolcato A.:** ***Allergia.*** **Gennaio '87.**
24. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico.*** **Febbraio '87.**
25. **Carani C.:** ***Patologie sessuali endocrino-metaboliche.*** **Marzo '87.**
26. **Sanna M., Carcassi R., Rassu S.:** ***Le banche dati in medicina.*** **Maggio '87.**
27. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.:** ***L'amenorrea.*** **Giugno '87.**
28. **Zilli A., Pagni E., Piazza M.:** ***Il paziente terminale.*** **Luglio '87.**
29. **Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.:** ***Patologie prostatiche.*** **Settembre '87.**
30. **Cingolani M.:** ***Manuale di ematologia e citologia ematologica.*** **Novembre '87.**
31. **Kubasik N.P.:** ***Ibridomi ed anticorpi monoclonali.*** **Gennaio '88.**
32. **Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.:** ***Diagnostica del carcinoma mammario.*** **Febbraio '88.**

33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: ***Neuroendocrinologia dello stress.*** **Marzo '88.**
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: ***La fecondazione in vitro.*** **Maggio '88.**
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: ***Il gozzo nodulare.*** **Giugno '88.**
36. Baccini C.: ***Le droghe d'abuso (2).*** **Luglio '88.**
37. Piantino P., Pecchio F.: ***Markers tumorali in gastroenterologia.*** **Novembre '88.**
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: ***Le leucemie acute infantili.*** **Gennaio '89.**
39. Sommariva D., Branchi A.: ***Le dislipidemie.*** **Febbraio '89.**
40. Butturini U., Butturini A.: ***Aspetti medici delle radiazioni.*** **Marzo '89.**
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: ***Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.*** **Aprile '89.**
42. Palleschi G.: ***Biosensori in Medicina.*** **Maggio '89.**
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: ***HTLV-I.*** **Giugno '89.**
44. Fanetti G.: ***Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.*** **Luglio '89.**
45. Contu L., Arras M..: ***Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.*** **Settembre '89.**
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: ***Immunologia dell'occhio.*** **Ottobre '89.**
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E. : ***Infezioni oppor - tunistiche in corso di AIDS.*** **Gennaio '90.**
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: ***La coriogonadotropina umana.*** **Febbraio '90.**
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: ***L'immunologia del diabete mellito.*** **Marzo '90.**
50. Cappi F.: ***La trasfusione di sangue: terapia a rischio.*** **Aprile '90.**
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: ***I micobatteri.*** **Maggio '90.**
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: ***Anticorpi antinucleo.*** **Giugno '90.**
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: ***Le macchine in terapia intensiva.*** **Luglio '90.**
54. Goracci E., Goracci G.: ***Gli allergo-acari.*** **Agosto '90.**
55. Rizzetto M.: ***L'epatite non A non B (tipo C).*** **Settembre '90.**
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: ***Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali.*** **Ottobre '90.**
57. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).*** **Gennaio '91.**
58. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).*** **Febbraio '91.**
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: ***Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti.*** **Marzo '91.**
60. Bedarida G., Lizioli A.: ***La neopterina nella pratica clinica.*** **Aprile '91.**
61. Romano L.: ***Valutazione dei kit immunochimici.*** **Maggio '91.**
62. Dondero F. e Lenzi A.: ***L'infertilità immunologica.*** **Giugno '91.**
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: ***Gli Oncogèni.*** **Luglio '91.**
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: ***In - fezione-malattia da HIV in Africa.*** **Agosto '91.**
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: ***L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni.*** **Settembre '91.**
66. Gentilomi G.A.: ***Sonde genetiche in microbiologia.*** **Ottobre '91.**
67. Santini G.F. , Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: ***Le sonde di DNA e la virulenza batterica.*** **Gennaio '92.**
68. Zilli A., Biondi T.: ***Il piede diabetico.*** **Febbraio '92.**
69. Rizzetto M.: ***L'epatite Delta.*** **Marzo '92.**
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: ***Gli screening neonatali.*** **Aprile '92.**
71. Tavani A., La Vecchia C.: ***Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari.*** **Luglio '92.**

72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita.* Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I).* Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I.* Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti.* Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II.* Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa.* Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin.* Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II).* Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale.* Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C.* Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti.* Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow.* Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza.* Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici.* Gennaio 94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I lnfociti B.* Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptoccocchi beta emolitici di gruppo B (SGB).* Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodel - lamento osseo.* Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare.* Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario.* Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori.* Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica.* Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr.* Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P, Romano L.: *Im - munoflogosi nell'asma bronchiale.* Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi.* Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da prin - cipi di origine vegetale.* Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani.* Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica.* Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive.* Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma.* Marzo '96.
101. Cogato I. Montanari E.: *La Sclerosi Multipla.* Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale.* Maggio '96.
103. Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin.* Giugno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale.* Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tis - sutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative.* Ottobre '96.

106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Palleschi G. Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina.* Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118. Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute.* Gennaio '98.
119. Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120. National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide.* Marzo '98.
121. Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122. Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123. Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (1)*. Luglio '98.
125. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo 1*. Novembre '98.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 16, numero 126

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: rassu@ssnet.it

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

EDITORE

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Letizia Cuccuru

Servizio Abbonamenti
Fina Grandeppieno
Flavio Damarciasi

...il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 Numero Verde 167 801005 (senza prefisso);
Telex 270310 Ideal I.
Telefax (010) 803498- 809070.
Internet URL:http://medicalsystems.editoria.com e http://www.medicalsystems.it
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay, Guida Pratica Immulite®, Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora, Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa
Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Novembre 1998
Sped. in Abb. Post. 50%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano