



IL DIABETE VISTO DALL'INTESTINO

ALBERTO TOMMASINI, ELENA NERI, PATRICIA PETAROS, ALESSANDRO LENHARDT, VALENTINA BALDAS, TANIA GERARDUZZI, ELISABETTA PANFILI, VALENTINA KIREN, TARCISIO NOT, EMANUELE BURATTI*, CARLA TORTUL**, GIULIANO TORRE, GIORGIO TONINI, ALESSANDRO VENTURA

Clinica Pediatrica, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste; *Istituto di Medicina Clinica, Ospedale di Cattinara, Trieste;

**Servizio di Diabetologia, Ospedale Civile di Monfalcone

La possibilità di identificare soggetti ad alto rischio di sviluppare il diabete insulino-dipendente porta in sé la frustrazione derivante dall'assenza di un'efficace strategia preventiva della malattia¹⁴. La presenza di anticorpi diretti contro il pancreas e l'analisi dell'HLA consentono di predire con elevata affidabilità lo sviluppo del diabete in età pediatrica (fratelli o figli di diabetici), quando il rischio di sviluppare la malattia è ancora elevato e i tempi per la prevenzione sono più lunghi (Tabella I).

È chiaro che la determinazione di questo rischio ha senso, ed è eticamente accettabile, solo in presenza di efficaci strategie preventive o nell'ambito di studi sperimentali di prevenzione. D'altra parte, la presenza di una risposta auto-anticorpale persistente contro il pancreas indica forse qualcosa di più di una condizione di ri-

schio, qualcosa che è forse già l'inizio della malattia, lo specchio dell'insulite, cioè dell'attivazione di linfociti autoreattivi che infiltrano le isole pancreatiche, conducendo lentamente a una distruzione delle beta-cellule (deputate alla produzione di insulina) fino alla comparsa del diabete manifesto. Un intervento a questo punto avrebbe già il significato di una prevenzione secondaria.

Di fatto, due delle strategie preventive attualmente in corso di valutazione, basate sull'utilizzo di nicotinamide l'una e di insulina per via sottocutanea l'altra, sembrano mirate più a ritardare l'insufficienza delle beta-cellule che la progressione della malattia autoimmune (Box 1). La nicotinamide fornirebbe un substrato all'enzima NADP particolarmente importante nel metabolismo della beta-cellula, diminuendone la sofferenza. Più complesso appare il ra-

zionale della profilassi insulinica, proposta in seguito dall'osservazione che le prime somministrazioni di insulina nel diabetico si associano spesso a un recupero funzionale delle beta-cellule. È stato supposto che questo effetto sia mediato da un'azione trofica dell'ormone sulle isole, o da una sua capacità di indurre tolleranza immunitaria quando somministrato per via sottocutanea. In realtà non c'è alcuna evidenza che al miglioramento clinico si associ una soppressione della reazione autoimmune in corso. Una terza strategia di prevenzione, che ha dato risultati contrastanti nell'animale di laboratorio, si basa sulla somministrazione orale di insulina, allo scopo di indurre attraverso il sistema immunitario dell'intestino una risposta di tolleranza all'ormone e al tempo stesso alle cellule pancreatiche (fenomeno della *bystander suppression*, *Medico e Bambino*, N.1/1998)

VALORE PREDITTIVO POSITIVO DELLA SIEROLOGIA ANTI-PANCREAS PER LO SVILUPPO DI DIABETE CONCLAMATO: COMPARAZIONE CON IL RISCHIO CORRELATO ALLA PARENTELA

Autore, e nazione	N° soggetti	Anni di follow-up	Stato anticorpale	Valore predittivo positivo
Tarn AC, UK 1988 ⁴⁴	719 familiari di 1° grado	8	ICA (nella maggior parte associato a positività multiple)	42.3 %
McLaren N, USA 1999 ⁴⁵	15.224 familiari di 1° grado	5	Solo ICA 2 Ab 3 Ab	5.3 % 28.2 % 66.2 %
Yamamoto AM, Francia 1998 ⁴⁶	234 germani 2-29 aa	11	2 Ab	70 %
Knip M, Finlandia 1998 ⁴⁷	755 germani	7	1 Ab 2 Ab 3-4 Ab	2 % 25 % 66 %
Rischio (per tutta la vita) per figli di madre diabetica			2-3 %	
Rischio (per tutta la vita) per figli di padre diabetico			5-6 %	
Rischio (per tutta la vita) per fratelli di diabetici			6-8 %	
			Non-HLA identici	1 %
			HLA-identici	16-20 %

Nota:

- In tutti gli studi, eccetto che in quello di Tarn, vengono valutati diversi autoanticorpi (ICA, IAA, GAD, IA2A).
- La presenza ad alto titolo di qualsiasi Ac aumenta il loro valore predittivo positivo.
- La contemporanea presenza di più autoanticorpi correla quasi sempre con l'HLA di rischio.
- Il valore predittivo degli autoanticorpi sembra essere tanto maggiore quanto minore è l'età della loro comparsa.

Tabella I

(Tabella 1). Per quanto questa strategia non abbia portato finora ad apprezzabili risultati clinici, contiene un'idea originale: quella che l'intestino possa avere un ruolo nella genesi, e d'inverso nella prevenzione, del diabete autoimmune.

Il rischio di diabete: tra genetica e ambiente, tra HLA e auto-anticorpi

Il diabete insulino-dipendente è una malattia multifattoriale, nella patogenesi della quale concorrono fattori ereditari multigenici ed elementi ambientali. Il peso dei fattori ambientali sembra essere preponderante (la concordanza della malattia in gemelli monozigoti è intorno al 30%)^{5,6}, ma un substrato genetico "permissivo" è indispensabile al realizzarsi della malattia.

Lo studio genetico della regione HLA, dove risiedono numerosi geni regolatori della risposta immune (geni per le molecole responsabili della presentazione degli antigeni al sistema immune, geni per le ci-

tochine), appare particolarmente interessante, poiché attraverso la chiave patogenetica dell'autoimmunità è in grado di collegare la genetica con l'ambiente (le molecole HLA permettono ai linfociti di riconoscere i diversi antigeni estranei) (Box 2).

Anche sul fronte ambientale i fattori chiamati in causa sono numerosi e di difficile valutazione. Infatti, dato che nella maggior parte dei casi la fase preclinica del diabete dura diversi anni, non è facile risalire con studi epidemiologici ai possibili eventi che hanno scatenato l'inizio della risposta autoimmune. D'altra parte è probabile che il diabete insulino-dipendente abbia in molti soggetti una progressione a più gradini: in una prima fase si sviluppa una risposta autoimmune sufficiente a far comparire in circolo gli autoanticorpi ma senza apparente compromissione della funzione insulare; in una seconda fase altri fattori consentono di superare i meccanismi di controllo fino a condurre al diabete

manifesto. L'evoluzione dall'insulite (soggetti ICA positivi con HLA DR2) al diabete clinico non è infatti obbligatoria.

Gli studi epidemiologici hanno mostrato che l'incidenza del diabete negli anni può variare molto più di quanto vari il patrimonio genetico della stessa popolazione, suggerendo che sia possibile identificare i fattori ambientali attivi nella genesi della malattia^{7,8}. Un recente studio collaborativo europeo ha mostrato inoltre che l'aumento di incidenza del diabete mellito è maggiore nei bambini più piccoli (+ 6.3% negli ultimi 15 anni), con una tendenza all'anticipazione dell'età di insorgenza del diabete⁹. Tra i possibili fattori ambientali in causa, appaiono di particolare importanza l'alimentazione e le infezioni, in particolare quelle a carico del tratto gastrointestinale. Entrambi questi fattori si confrontano con l'organismo a livello della mucosa dell'intestino e i protagonisti del confronto tra la genetica e l'ambiente sono quindi i

SPERIMENTAZIONI CONTROLLATE IN CORSO PER LA PREVENZIONE DEL DIABETE INSULINO-DIPENDENTE

Nicotinamide

La nicotinamide riduce il contenuto di O₂- e NO proteggendo la beta-cellulare dal danno ossidativo, e inoltre aumenta i livelli intracellulari di NADP, sostanza importante nei processi metabolici della beta-cellula. Studi in topi NOD hanno dimostrato che un trattamento precoce con la nicotinamide, quando è ancora presente un sufficiente numero di beta-cellule, ritarda la comparsa del diabete.

ENDIT (European Nicotinamide Diabets Intervention Trial)

Avviato nel 1993, si propone di studiare 500 parenti di diabetici con anticorpi anti-insulina (ICA) e di valutare l'efficacia preventiva della nicotinamide rispetto al placebo, in un follow-up di 5 anni. Questo studio si basa sull'identificazione di soggetti ad alto rischio di sviluppare diabete tra i parenti di primo grado. Però il 90% dei pazienti con IDDM sono casi sporadici e non familiari e la prevenzione del diabete in essi richiede strategie sulla popolazione generale.

Studio di Elliot-Nuova Zelanda

È stata studiata una coorte di 81.993 bambini della popolazione scolastica di Auckland (età 5-7.9 anni). In un gruppo randomizzato di 20.195 soggetti sono stati identificati i soggetti ad alto rischio di sviluppare IDDM (ICA e altri fattori di rischio). Di questi 173/185 hanno iniziato un trattamento preventivo con nicotinamide (500 mg per os, 2 volte die). Dopo un follow-up medio di 8 anni, nel gruppo dove si erano identificati e trattati i bambini a rischio, l'incidenza di IDDM è stata di 8/20.195 (4.9/100.000/anno), mentre nei soggetti che non avevano usufruito dello screening l'incidenza è stata 78/61.798 (15.7/100.000/anno).

Insulina - Schwabing insulin prophylaxis trial (Monaco, Germania)

Quattordici parenti di diabetici con elevato rischio di IDDM (ICA positivi e alterata tolleranza al carico glicidico endo vena) sono stati randomizzati a ricevere o no insulina umana (dapprima per via endovenosa per una settimana e poi sottocute per 6 mesi).

Durante il follow-up (durato da 1.7 anni a 7.1 anni) 3 parenti su 7 del gruppo trattato e 6 su 7 del gruppo di controllo hanno sviluppato il diabete. Inoltre si è visto che nel gruppo trattato la sopravvivenza libera dal diabete è stata più lunga (5.0 +/- 0.9 anni nel gruppo trattato contro 2.3 +/- 0.7 anni del gruppo di controllo, p < 0.03). Sebbene la comparsa del diabete sia stata ritardata dall'intervento, il processo autoimmune non ne è sembrato influenzato (i livelli di ICA, GAD e IA2 rimasero invariati). In altre parole si tratta di anticipare la profilassi (che ritarda l'esaurimento funzionale della beta-cellula) per ritardare la terapia. Ma sempre di insulina si tratta. Non sembra che si riproduca invece nell'uomo l'effetto di tolleranza immunologica dimostrato con l'insulina sottocutanea nel modello animale del diabete.

Insulina - Boston

Sono stati identificati 12 parenti di primo grado di diabetici, di età compresa tra i 7 e i 40 anni ad alto rischio di sviluppare diabete (71% di probabilità di sviluppare diabete in 3 anni e 90% in 4 anni) in base alla positività di diversi autoanticorpi e a un'alterata tolleranza glicidica. Di questi, 5 sono stati trattati con insulina (endovena e sottocute) (8-14 aa) mentre 7 hanno rifiutato il trattamento. Dopo un follow-up 2.3-3.3 anni 1 su 5 trattati e tutti i 7 non trattati hanno sviluppato il diabete.

Insulina orale

Diversi studi condotti nel modello animale dei topi NOD hanno dimostrato che la somministrazione orale di insulina è in grado di stimolare nell'intestino la produzione di linfociti regolatori in grado di raggiungere il pancreas e prevenire il diabete. Su questa base sono stati proposti anche nell'uomo due progetti di prevenzione del diabete, basati sulla somministrazione orale di insulina.

Lo studio americano DPT-1, per esempio, è articolato in due linee di ricerca che valutano rispettivamente la somministrazione orale e parenterale dell'insulina in soggetti a elevato rischio di diabete. I risultati preliminari di questo studio, come di un analogo studio avviato in Francia, non sono ancora noti.

PREVENZIONE DELL' IDDM			
Primaria	Secondaria		Terziaria
Prevenire l'IDDM	Bloccare l'autoimmunità	Proteggere la beta cellula	Prevenire le complicanze
Alimentazione Posticipare latte vaccino Dieta senza glutine	Immunosoppressori Ciclosporina A	Nicotinamide	Insulina
Tolleranza orale Insulina orale?			
Probiotici			

Tabella II

linfociti della mucosa intestinale. L'ipotesi che stiamo valutando, e cioè che il diabete nasca dall'intestino, appare coerente con questi dati.

La patogenesi del diabete insulino-dipendente

Il diabete mellito insulino-dipendente è classicamente considerato un esempio di malattia autoimmune d'organo, a indicare che il sistema immune sembra limitare la sua autoaggressività verso un singolo or-

gano. In effetti nelle isolette pancreatiche dei soggetti diabetici è possibile evidenziare un infiltrato cellulare, contenente linfociti autoreattivi responsabili della distruzione delle beta-cellule. A queste cellule, e alla loro funzione di produrre insulina, è limitato il danno. In realtà in molti casi di IDDM la presenza di altri autoanticorpi sierici (come quelli diretti contro la tiroide) suggerisce che, se anche la malattia autoimmune può essere definita d'organo, il substrato di malfunzionamento del sistema immune che ne è alla base ha una dimensione più generale. Di fatto, come vedremo, l'osservazione che nei soggetti diabetici siano identificabili sottili alterazioni del sistema immune intestinale, è coerente con una visione più allargata della patogenesi del diabete e delle altre malattie autoimmuni d'organo.

Il diabete dall'intestino: glutine, latte e virus

Glutine, latte vaccino e infezione da enterovirus sono tre fattori ambientali ritenuti importanti nella patogenesi dell'IDDM^{10,14}. La prima caratteristica che questi hanno in comune è quella di entrare in contatto con l'organismo a livello della mucosa intestinale. I due alimenti hanno poi una seconda caratteristica in comune, quella cioè di aver fatto parte nel secolo scorso di un importante cambiamento delle abitudini dietetiche (almeno per quanto riguarda le quantità), che non ha avuto né il tempo (poco più di un secolo) né le condizioni (almeno nei Paesi a elevato sviluppo socio-sanitario) di indurre un adattamento della specie in termini di selezione naturale. È possibile che il cambiamento dietetico spieghi, almeno in parte, la variabile incidenza di diabete nel tempo che si è osservata in diversi Paesi.

L'evidenza di un ruolo patogenetico del

glutine, almeno in una percentuale di diabetici, nasce dall'osservazione che i celiaci non diagnosticati, esposti a lungo alla dieta contenente glutine, hanno un rischio molto elevato di sviluppare il diabete (fino al 25% dopo 30 anni di dieta contenente glutine). Questo rischio si azzerava quasi completamente nei soggetti celiaci diagnosticati precocemente, e quindi a dieta, indicando che un'alimentazione senza glutine è in grado di prevenire in essi lo sviluppo di diabete.

Coerente con questi dati è l'osservazione che gli anticorpi antipancreas, quando presenti in soggetti celiaci, tendono a scomparire a dieta senza glutine.

Questi dati suggeriscono che, in soggetti con il substrato genetico della celiachia (HLA e altro non noto), il glutine sia in grado di favorire una risposta autoimmune anti-pancreas e infine il diabete conclamato. L'associazione con la celiachia sembra spiegare solo una parte minore dei casi di IDDM (meno del 10%), ma è possibile che anche in soggetti non tipicamente celiaci il glutine abbia un ruolo nel favorire l'insorgere del diabete. Questa ipotesi, finora mai valutata, è attualmente oggetto di un nostro studio. Di fatto, in alcuni modelli animali, non celiaci, il rischio di diabete appare correlato all'assunzione di diversi alimenti, tra cui il glutine.

Più controverso è il ruolo del latte vaccino. Le evidenze a favore di un ruolo del latte vaccino nella patogenesi del diabete nascono da due approcci diversi. Il primo, epidemiologico, mostra una correlazione tra il consumo pro capite di latte vaccino e l'incidenza di diabete^{15,16}. Ancora, il prolungato allattamento materno è stato dimostrato in grado di diminuire il rischio di diabete, mentre tanto più l'introduzione del latte vaccino è precoce, tanto più questo rischio risulta elevato. In uno studio viene calcolato che l'introduzione di latte vaccino prima dei 2-3 mesi aumenterebbe il rischio di diabete di 1.5-2 volte rispetto a quello della popolazione. Sebbene sia possibile che il ruolo protettivo di un prolungato allattamento materno stia nelle capacità immunomodulanti di questo, un'analisi multivariata e successivi studi sembrano indicare che la precoce esposizione alle proteine del latte vaccino in sé è l'elemento di rischio più rilevante. Nell'animale da esperimento, inoltre, una dieta a base di proteine idrolizzate del latte vaccino sembra in grado di prevenire il diabete^{19,20}, ma le proteine del latte non sono l'unico antigene in grado di aumentare il rischio^{21,22}.

Il secondo approccio, immunologico, studia la similitudine tra antigeni del latte vaccino e antigeni pancreatici, nell'ipotesi

HLA E DIABETE

L'associazione tra diabete insulino-dipendente e HLA è da tempo nota. Il 90% dei soggetti diabetici presenta l'HLA DR3 e/o DR4. L'importanza patogenetica di questi dati è sottolineata da recenti osservazioni, che mostrano come il rischio sia correlato a singole sostituzioni aminoacidiche nella regione dell'HLA deputata al legame con l'antigene. In particolare, la presenza di una acido aspartico alla posizione 57 dell'HLA DQ beta si è dimostrata fortemente protettiva per l'insorgenza del diabete. D'altra parte, la presenza nella stessa posizione degli amminoacidi Alanina, Valina o Serina, predispone allo sviluppo del diabete. Un analogo discorso può essere fatto in alcuni soggetti per l'arginina alla posizione 52 dell'HLA DQ alfa.

È possibile che queste regioni HLA siano implicate nel legame di peptidi importanti per l'inizio della reazione autoimmune contro il pancreas. Secondo calcoli matematici, però, l'HLA è in grado di spiegare solo il 35% circa della suscettibilità genetica.

Box 2

che la risposta autoimmune nasca da una confusione, un inganno ai danni del sistema immune che, non riuscendo a tollerare il latte vaccino, reagisce contro di esso (anticorpi anti-albumina), ma ahimé anche contro l'organismo ospite (anticorpi anti-pancreas). Questa ipotesi nasce dall'osservazione che un titolo elevato di anticorpi anti-latte è frequente in soggetti diabetici e che esiste una omologia nella sequenza aminoacidica dell'albumina sierica bovina e dell'antigene pancreatico p69. In realtà la risposta anti-alimenti del diabetico (presente frequentemente anche nel suo familiare con identico HLA) non interessa solo il latte vaccino ma anche il glutine (al di fuori della diagnosi di celiachia e dell'HLA tipico della celiachia^{23,24}), suggerendo che essa sia lo specchio di un'alterata tolleranza intestinale, forse correlata a un'alterazione della permeabilità mucosale^{25,27}.

Anche per quanto riguarda il ruolo delle infezioni da enterovirus gli studi sono stati complicati dalla difficoltà di associare l'evento infettivo allo sviluppo del diabete clinicamente manifesto, che può seguire anche di diversi anni l'infezione. A poco vale la correlazione tra diabete e anticorpi contro specifici virus gastro-enteritici, sia per la relativa frequenza di questi nella popolazione generale, sia per la possibilità che non un singolo virus ma diversi virus intestinotropi siano implicati nella patogenesi del diabete²⁸. Un sostanziale passo avanti è stato compiuto in un recente studio prospettico che ha seguito comparativamente lo sviluppo di infezioni da enterovirus e la positivizzazione degli anticorpi anti-insula (ICA) in 756 fratelli di diabetici, di età compresa tra i 3 e i 19 anni. In un tempo di osservazione medio di 3.4 anni gli ICA compaiono in 23 soggetti (in 11 dei quali in modo persistente). Nel 70% dei periodi di comparsa degli ICA si era verificata un'infezione da enterovirus contro il 23% dei periodi non associati a ICA conversione. Lo stesso studio mostra altri interessanti argomenti: in famiglie con più fratelli la tendenza a fare ICA in concomitanza con un episodio gastroenteritico non è legata all'HLA di rischio del diabete ma ad altri fattori individuali non noti. Inoltre è interessante rilevare che la stessa correlazione descritta per gli enterovirus non si riscontra con altri virus come il citomegalovirus e il virus di Epstein-Barr³⁰.

Il meccanismo con cui le infezioni da enterovirus avviano o precipitano l'autoimmunità contro il pancreas non è noto. È possibile che un ruolo sia giocato dalla similitudine (mimetismo molecolare) tra proteine virali e pancreatiche, come è stato descritto in una proteina del Coxsachie-

virus B e l'antigene pancreatico GAD. In ogni caso, quello che preme sottolineare è ancora il fatto che gli enterovirus esercitano la loro azione a partire dalla mucosa intestinale.

È verosimile che il diabete insulino-dipendente si verifichi in soggetti geneticamente suscettibili che abbiano incontrato in tempi e/o in combinazioni sfavorevoli i diversi fattori ambientali di rischio. Sembra inoltre che l'equilibrio tra autoimmunità (insulte e autoanticorpi) e tolleranza immune (inibizione della malattia) possa durare per molti anni o anche per sempre, finché non intervenga una particolare combinazione di fattori offendenti che precipiti la reazione autoimmune e dia luogo alla malattia conclamata.

L'intestino e l'alimentazione nei modelli animali di diabete

Anche nei principali modelli animali di diabete autoimmune, il ratto BB e il topo diabetico non obeso (NOD), lo sviluppo del diabete è strettamente correlato alla dieta. Nel caso del ratto BB (come forse anche nell'uomo) i giochi cominciano con lo svezzamento³². L'introduzione in questo periodo del glutine o, in minor misura, del latte vaccino aumenta il rischio di IDDM e anticipa il tempo della sua comparsa. Di particolare interesse è il fatto che questi ratti sviluppano un'importante alterazione della permeabilità intestinale proprio a partire dal periodo dello svezzamento. Non è noto se sia la tossicità degli alimenti a favorire l'aumento di permeabilità in un sistema immune mucosale predisponente o se sia invece la suscettibilità alla permeabilità a favorire l'azione tossica degli alimenti (che possono attraversare la mucosa per via paracellulare). In ogni caso, la perdita della tolleranza immune e lo svi-

luppo di autoimmunità che ne consegue sembrano nascere chiaramente dall'incontro tra ambiente e intestino. Anche nell'uomo, un aumento della permeabilità intestinale è tipicamente presente all'esordio del diabete, suggerendo l'importanza della mucosa intestinale nella patogenesi della malattia³³.

Anche nel topo NOD fattori dietetici sono stati implicati nel rischio di diabete³⁴ (Elliot, 1988, già citato). Un recente studio ha inoltre dimostrato che, a parità di altri fattori, la precoce introduzione di glutine nella dieta aumenta fortemente l'incidenza di diabete e ne anticipa la comparsa³⁵.

Il sistema immune mucosale nel prediabete e nel diabete

Sebbene esistano diverse evidenze a sostegno del ruolo di fattori ambientali operanti a livello intestinale nella genesi del diabete, il legame tra questi e l'inizio della reazione autoimmune contro il pancreas non è del tutto compreso (Tabella III).

Il ruolo della mucosa intestinale nella genesi del diabete è indirettamente sostenuto dall'azione protettiva, sempre nel topo NOD, di microrganismi capaci di influire sull'immunologia mucosale (*Lactobacillus casei*)³⁶ o dalla possibilità di prevenire il diabete inducendo tolleranza verso il pancreas per mezzo della somministrazione orale di antigeni pancreatici³⁷ (vedi anche *Medico e Bambino* n.1/1998).

Di un certo rilievo nel comprendere la relazione tra fattori ambientali e diabete può essere il dato che dopo un'infezione da Rotavirus i linfociti diretti contro il virus presentano lo stesso fenotipo di origine intestinale che si ritrova anche nelle insule infiammate del soggetto diabetico (molecola di adesione $\alpha 4\beta 7$ integrina e ad-

ELEMENTI A SOSTEGNO DI UNA "GENESI" INTESTINALE DEL DIABETE

- L'aumento di permeabilità intestinale precede lo sviluppo di IDDM nei topi BB
- Un aumento di permeabilità intestinale è presente anche nei diabetici all'esordio
- I linfociti che infiltrano il pancreas nell'IDDM hanno recettori tipici dei linfociti della mucosa intestinale (molecola di adesione $\alpha 4\beta 7$ integrina e addressina MacCAM-1)
- I linfociti anti-Rotavirus in circolo hanno lo stesso fenotipo dei linfociti mucosali e dei linfociti che infiltrano le insule pancreatiche
- Linfociti mesenterici dei topi NOD sono in grado di trasferire il diabete quando infusi in altri animali non diabetici
- Anticorpi diretti contro l'adesina $\alpha 4\beta 7$ sono in grado di prevenire il diabete nei topi NOD⁴⁸
- Sia nell'animale che nell'uomo l'incidenza di IDDM può essere influenzata da fattori alimentari e da infezioni gastro-intestinali e una risposta anti-alimenti (in particolare latte e glutine) è comune nel soggetto diabetico
- Nel soggetto celiaco il rischio di diabete è correlato all'esposizione al glutine
- La somministrazione di antigeni pancreatici (insulina, GAD) per via orale può indurre tolleranza verso il pancreas e prevenire l'IDDM nel topo

Tabella III

dressina MadCAM-1³⁸⁻⁴²).

L'ipotesi che stiamo valutando è che il soggetto geneticamente disposto a sviluppare il diabete abbia un aumentato rischio di rispondere in modo anomalo ad alcuni alimenti e infezioni, producendo una perturbazione dell'immunità mucosale e/o aumento della permeabilità intestinale. Conseguenza di questi disordini potrebbe essere una incapacità di mantenere la tolleranza immune non solo nei confronti di alimenti (come rivelato dalla presenza di anticorpi anti-latte e anti-glutine), ma anche nei confronti di antigeni self (specialmente se somigliano in qualche loro parte ad antigeni estranei).

In conclusione, la patogenesi del diabete sembra legata alla combinazione di fattori ambientali con alterazioni nell'equilibrio tra tolleranza e immunità mucosale, la cui natura è tuttora sfuggente.

Esiste autoimmunità glutine-indotta al di fuori della celiachia?

La domanda nasce da alcune considerazioni:

- il glutine sembra avere un ruolo nello sviluppo dell'IDDM in animali che non presentano le caratteristiche immunologiche della celiachia (non producono autoanticorpi);
- un aumento di permeabilità intestinale e altre anomalie mucosali (come un'aumentata risposta della mucosa rettale dopo instillazione di gliadina) si osservano oltre che in celiaci floridi anche in loro parenti non celiaci⁴³;
- in soggetti diabetici, i segni sierologici della celiachia possono comparire tardivamente.

L'insieme di questi dati giustifica l'ipotesi che la dieta senza glutine possa essere efficace nel ridurre il rischio di diabete almeno in una parte dei soggetti a rischio (come i familiari ICA positivi di diabetici o i familiari di celiaci anche quando i marcatori sierologici della celiachia (EMA ecc.) sono assenti. È l'ipotesi che stiamo verificando in un gruppo di parenti di primo grado di diabetici con elevato rischio di diabete, ma negativi per la ricerca di anticorpi anti-endomisio.

I criteri di inclusione, lo svolgimento dello studio e i primi risultati sono illustrati nel *Box 3*. L'aspetto che per ora possiamo sottolineare è la presenza di importanti alterazioni della mucosa intestinale nella maggior parte dei soggetti studiati. Il passaggio successivo prevede di valutare se un periodo di dieta senza glutine è in grado di far scomparire gli anticorpi diabeto-correlati e/o di modificare le caratteristiche della mucosa intestinale.

SPERIMENTAZIONE DELLA DIETA SENZA GLUTINE PER LA PREVENZIONE DELL'IDDM IN SOGGETTI A RISCHIO NON CELIACI

Criteri di inclusione

- Parentela di primo grado di un diabetico (genitori, figli, fratelli) = 1° fattore di rischio
- Positività ripetuta per anticorpi correlati al diabete (ICA, IAA, GAD) = 2° fattore di rischio
- Negatività per anticorpi anti-endomisio

Soggetti inclusi nello studio

Pz	Parentela	Età	Sesso	Positività AB-diabete	EMA	Altro
1	padre	41	M	GAD	-	Hashimoto
2	figlia	6	F	ICA	-	
3	padre	36	M	GAD & ICA	-	
4	fratello	36	M	GAD & ICA	-	
5	madre	70	F	GAD	-	Basedow, psoriasi
6	fratello	31	M	GAD & ICA	-	
7	figlio	11	M	GAD & ICA	-	
8	padre	39	M	ICA	-	poliuria, polidipsia, non glicosuria

Protocollo dello studio

- Conferma positività autoanticorpi
- Esami di routine
- IVGTT
- Biopsia intestinale
- Proposta di una dieta senza glutine per un anno o di effettuare dieta libera
- Follow-up di un anno dall'inizio della dieta con controlli trimestrali
- Dopo un anno di dieta controllo dell'istologia intestinale, IVGTT, autoanticorpi

Valutazioni alla diagnosi

- IVGTT: | dei soggetti avevano una curva da carico alterata (iperglicemie >300 o insulinemie molto basse)
- BIOPSIE: 3 atrofie totali della mucosa duodenale con infiltrato linfo-monocitario, 3 atrofie subtotali con infiltrato linfomonocitario, 2 con solo infiltrato linfomonocitario

Box 3

Conclusioni

In conclusione, esistono sufficienti evidenze a favore di un ruolo patogenetico di fattori alimentari e infettivologici nella patogenesi del diabete. Sappiamo che, nel caso della celiachia, il glutine è il fattore ambientale più rilevante, tanto che una dieta senza glutine avviata precocemente è in grado di portare il rischio di diabete dai livelli elevati del celiaco a quelli molto più bassi della popolazione generale. Il latte vaccino, almeno nei primi mesi, si è dimostrato correlato a un aumentato rischio di diabete, e questo dato costituisce un ennesimo motivo per raccomandare l'allattamento materno esclusivo nel primo semestre di vita. Infine, alcuni dati suggeriscono un ruolo del glutine nella patogenesi del diabete anche in soggetti non celiaci. L'ipotesi di una tossicità del glutine su ampie fasce di popolazione, se validata, riproporrà a breve termine l'utilità di una dieta

senza glutine nei soggetti a rischio e a lungo termine la sostituzione del grano attualmente in uso con nuove specie modificate.

Bibliografia

1. Maclaren N, Lan M, Coutant R, Schatz D, Silverstein J, et al. Only multiple autoantibodies to islet cells (ICA), insulin, GAD65, IA-2 and IA-2beta predict immune-mediated (Type 1) diabetes in relatives. *J Autoimmun* 1999;12:279-87.
2. Yamamoto AM, Deschamps I, Garchon HJ, Roussely H, Moreau N, et al. Young age and HLA markers enhance the risk of progression to type 1 diabetes in antibody-positive siblings of diabetic children. *J Autoimmun* 1998;11:643-50.
3. Reijonen H, Vahasalo P, Karjalainen J, Ilonen J, Akerblom HK, et al. HLA-DQB1 genotypes and islet cell antibodies in the identification of siblings at risk for insulin-dependent diabetes (IDDM) in Finland. *Childhood*

- Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. *J Autoimmun* 1994;7:675-86.
4. Krischer JP, Schatz D, Riley WJ, Spillar RP, Silverstein JH, et al. Insulin and islet cell autoantibodies as time-dependent covariates in the development of insulin-dependent diabetes: a prospective study in relatives. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:743-9.
 5. Barnett AH, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981;20:87-93.
 6. Kaprio J, Tuomilehto J, Koskenvuo M, et al. Concordance of Type 1 (insulin-dependent) and Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia* 1992;35:1060-1067.
 7. Bingley PJ, Gale EAM. Rising incidence of IDDM in Europe. *Diabetes Care* 1989;12:289-295.
 8. Secular trends in the incidence of childhood IDDM in 10 countries. Diabetes Epidemiology Research International Group. *Diabetes* 1990;39:858-64.
 9. Patterson CC, et al. EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 2000;355:873-876.
 10. Knip M, Akerblom HK. Environmental factors in the pathogenesis of type diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999; 107:S93-S100.
 11. Scott FW, Elliott RB, Kolb H. Diet and autoimmunity: prospects of prevention of type 1 diabetes. *Diabetes Nutr Metab* 1989;2:61-73
 12. Cavallo MG, Fava SD, Monetini L, et al. Cell mediated immune response to beta casein in recent-onset insulin-dependent diabetes: implication for disease pathogenesis. *Lancet* 1996;348:926-928.
 13. Saukkonen T, Virtanen SM, Karppinen M, et al. Significance of cow's milk protein antibodies as risk factor for childhood IDDM: interactions with dietary cow's milk intake and HLA-DQB1 genotype. *Diabetologia* 1998;41:72-78.
 14. Saukkonen T, Savilahti E, Varala O, et al. Children with newly diagnosed IDDM have increased levels of antibodies to bovine serum albumine but not to ovalbumin. *Diabetes Care* 1994;17:970-976.
 15. Scott FW. Cow milk and insulin dependent diabetes mellitus: is there a relationship? *Am J Clin Nutr* 1990;51:489-491.
 16. Dahl-Jorgensen K, Joner G, Hanssen KF. Relationship between cow's milk consumption and incidence of IDDM in childhood. *Diabetes Care* 1991;14:1081-1083.
 17. Borch-Jonsen K, Joner G, Mandrup-Poulsen T, et al. Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. A hypothesis. *Lancet* 1984;2:1083-1086.
 18. Virtanen SM, Räsänen L, Aro A, et al. The Childhood Diabetes in Finland Study Group. Early introduction of dairy products associated with increased risk for insulin-dependent diabetes mellitus in Finnish children. *Diabetes* 1993;42:1786-1790.
 19. Elliot RB, Martin JM. Dietary protein: a trigger of insulin-dependent diabetes in the BB rat? *Diabetologia* 1984;26:297-299
 20. Elliot RB, Reddy SN, Bibby NJ, Kida K. Dietary prevention of diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia* 1998; 31:62-64.
 21. Paxson JA, Weber JG, Kulczycki A Jr. Cow's milk free diet does not prevent diabetes in NOD mice. *Diabetes* 1997;46:1711-1717.
 22. Malkani S, Nompleggi D, Hansen JW, et al. Dietary cow's milk does not alter the frequency of diabetes in the BB rat. *Diabetes* 1997;46:1133-1140.
 23. Catassi C, Guerrieri A, Bartolotta E, et al. Antigliadin antibodies at onset of diabetes in children. *Lancet* 1987;2:158.
 24. Klemetti P, Savilahti E, Ilonen J, et al. T cell reactivity to wheat gluten in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand J Immunol* 1998;47:48-53.
 25. Vaarala O, Klemetti P, Savilathi E, et al. Cellular immune response to cow's milk b-lactoglobulin in patients with newly diagnosed IDDM. *Diabetes* 1996;45:178-182.
 26. Paronen J, Klemetti P, Kantele JM, et al. Glutamate decarboxylase-reactive peripheral blood lymphocytes from patients with IDDM express gut-specific homing receptor a4b7-integrin. *Diabetes* 1997;46:583-8.
 27. Carratù R, Secondulfo M, de Magistris L, et al. Altered intestinal permeability to mannitol in diabetes mellitus type 1. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:264-269.
 28. Asplin CM, Cooney MK, Crossley JR, et al. Coxsackie B4 infection and islet cell antibodies three years before overt diabetes. *J Pediatr* 1982;101:398-400.
 29. Hiltunen M, Hyöty H, Knip M, et al. Islet cell antibody seroconversion in children is temporally associated with enterovirus infections. *J Infect Dis* 1997;175 :554-60.
 30. Hiltunen M, Hyöty H, Karjalainen J, et al. Serological evaluation of the role of cytomegalovirus in the pathogenesis of IDDM : a prospective study. *Diabetologia* 1995;38:705-10.
 31. Kaufman DL, Erlander MG, Clare-Saltzer M, et al. Autoimmunity to two forms of glutamate decarboxylase in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992;89:283-92
 32. Scott FW, Gloutier EH, Kleemann R, et al. Potential mechanisms by which certain foods promote or inhibit the development of spontaneous diabetes in BB rats: dosage, timing, early effect on islet area, and swich in infiltrate from Th1 to Th2 cells. *Diabetes* 1997;46:589-598.
 33. Carratù R, Secondulfo M, de Magistris L, Iafusco D, Urio A, et al. Altered intestinal permeability to mannitol in diabetes mellitus type I. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:264-9
 34. Hoorfar J, Buschard K, Dagnes-Hansen F. Prophylactic nutritional modification of the incidence of diabetes in autoimmune non-obese diabetic (NOD) mice. *Br J Nutr* 1993;69:597-607.
 35. Funda DP, Kaas A, Bock T, et al. Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice. *Diabetes Metab Res Rev* 1999;15:323-327.
 36. Matsuzaki T, Nagata Y, Kado S, et al. Prevention of onset in an insulin-dependent diabetes mellitus model, NOD mice, by oral feeding of *Lactobacillus casei*. *APMIS* 1997;105:643-649.
 37. Ma SW, Zhao D, Yin ZQ, et al. Transgenic plants expressing autoantigens feed to mice to induce oral immune tolerance. *Nat Med* 1997;3:793-796.
 38. Hänninen A, Salmi M, Simmel O, Jalkanen S. Mucosa associated (beta 7 integrin high) lymphocytes accumulated early in the pancreas of NOD mice and show aberrant recirculation behavior. *Diabetes* 1993;45:1173-1180.
 39. Mackay CR, Andrew DP, Briskin M, et al. Phenotype and migration properties of three major subsets of tissue-homing T cells in sheep. *Eur J Immunol* 1996;26:1892-1898.
 40. Hänninen A, Jaakkola I, Jalkanen S. High prevalence of diabetogenic lymphocytes in gut-associated lymphoid tissue of young NOD mice. *Scand J Immunol* 1996;43:35.
 41. Rott LS, Rosé JR, Bass D, et al. Expression of mucosal homing receptor alpha 4 beta 7 by circulating CD4 positive cells with memory for intestinal Rotavirus. *J Clin Invest* 1997;100:1204-1208.
 42. Savilahti E, Ormälä T, Saukkonen T, et al. Jejuna of patients with insulin-dependent diabetes mellitus show signs of immune activation. *Clin Exp Immunol* 1999;116:70-77.
 43. Troncone R, Greco L, Mayer M, Mazzarella G, Maiuri L, Congia M, Frau F, De Virgili S, Auricchio S. In siblings of celiac children, rectal gluten challenge reveals gluten sensitization not restricted to celiac HLA. *Gastroenterology* 1996;111:318-24.
 44. Tarn AC, Thomas JM, Dean BM, Ingram D, et al. Predicting insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1988; 1:845-50.
 45. McLaren N, Lan M, Coutant R, et al. Only multiple autoantibodies to islet cells (ICA), insulin, GAD65, IA-2 and IA-2beta predict immune-mediated (Type 1) diabetes in relatives. *J Autoimmun* 1999 ;12 :279-287.
 46. Yamamoto AM, Deschamps I, Garchon HJ, et al. *J Autoimmun* 1998 Dec;11(6):643-50.
 47. Knip M. Prediction and prevention of type 1 diabetes. *Acta Paediatr Suppl* 1998;425: 54-62
 48. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, et al. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes. *J Clin Invest* 1998;101:327-336.
 49. Yang XD, Michie SA, Tisch R, et al. A predominant role of integrin alpha 4 in the spontaneous development of autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:12 604-12 608.
 50. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987;329:599-604
 51. Khalil I, D'Auriol L, Gobet M, et al. A combination of HLA-DQ beta Asp 57 negative and HLA-DQ alpha Arg 52 confers susceptibility to insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1990;85:1315-1319.

