

Biomarcatori del diabete

Applicazioni cliniche



CONTENUTI



1. Introduzione al diabete
2. Biomarcatori nella gestione del diabete
3. Linee guida
4. Soluzione completa

Introduzione al diabete



**International
Diabetes
Federation**

Il **diabete** è una malattia cronica che si verifica quando il pancreas non è più in grado di produrre insulina o quando l'organismo non riesce a sfruttare al meglio l'insulina che produce.



Aumento dei livelli di glucosio nel sangue (iperglicemia)



Nel lungo termine, livelli elevati di glucosio sono associati a danni a vari organi e tessuti



Iniezione addominale di insulina

I pazienti diabetici sono sempre grassi?

- Diabete di tipo I: pazienti "magri"
manca di insulina
- Il diabete di tipo II: sia pazienti "grassi" (80%)
che "magri"
adipociti insensibili all'insulina
iperlipemia porta a resistenza all'insulina

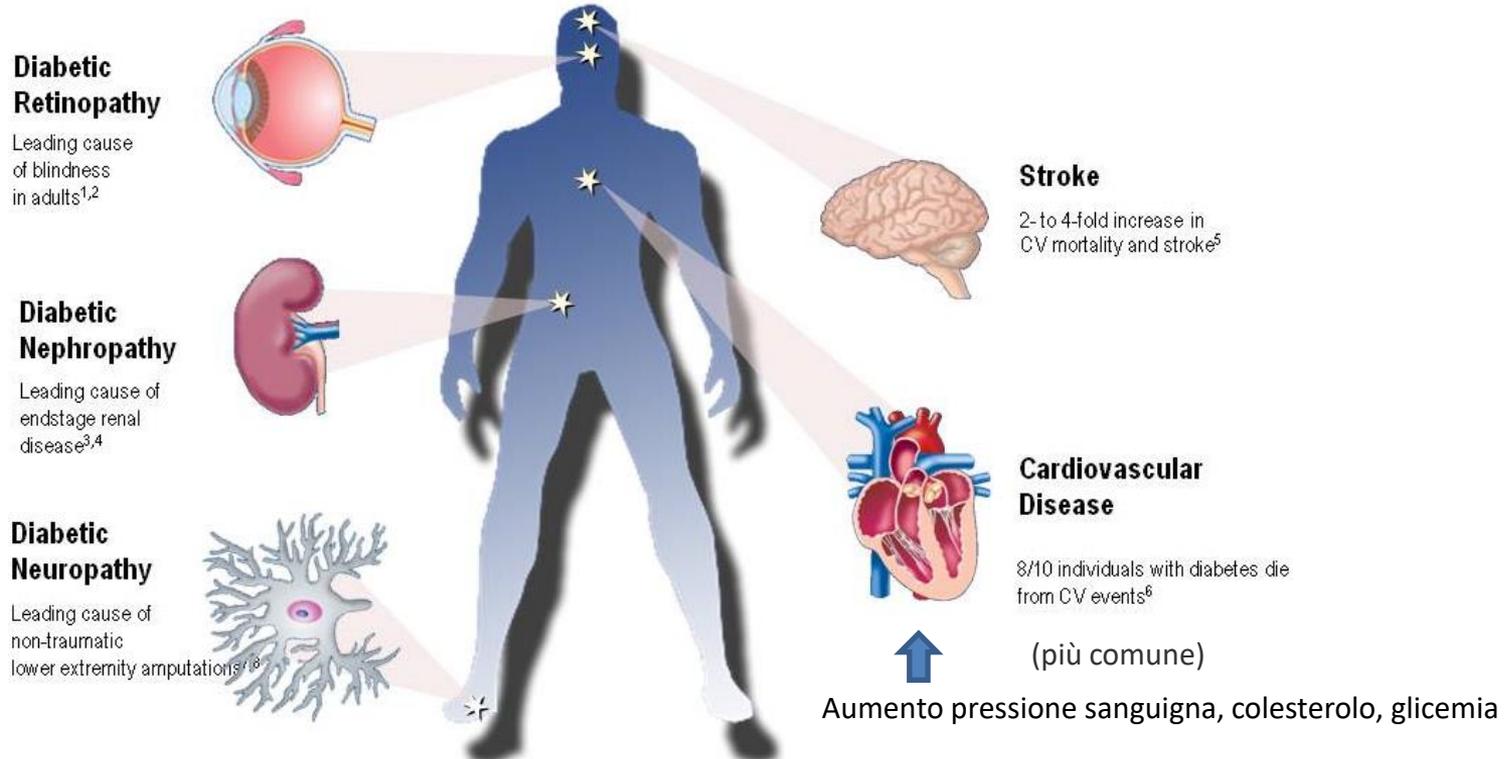
DIABETES

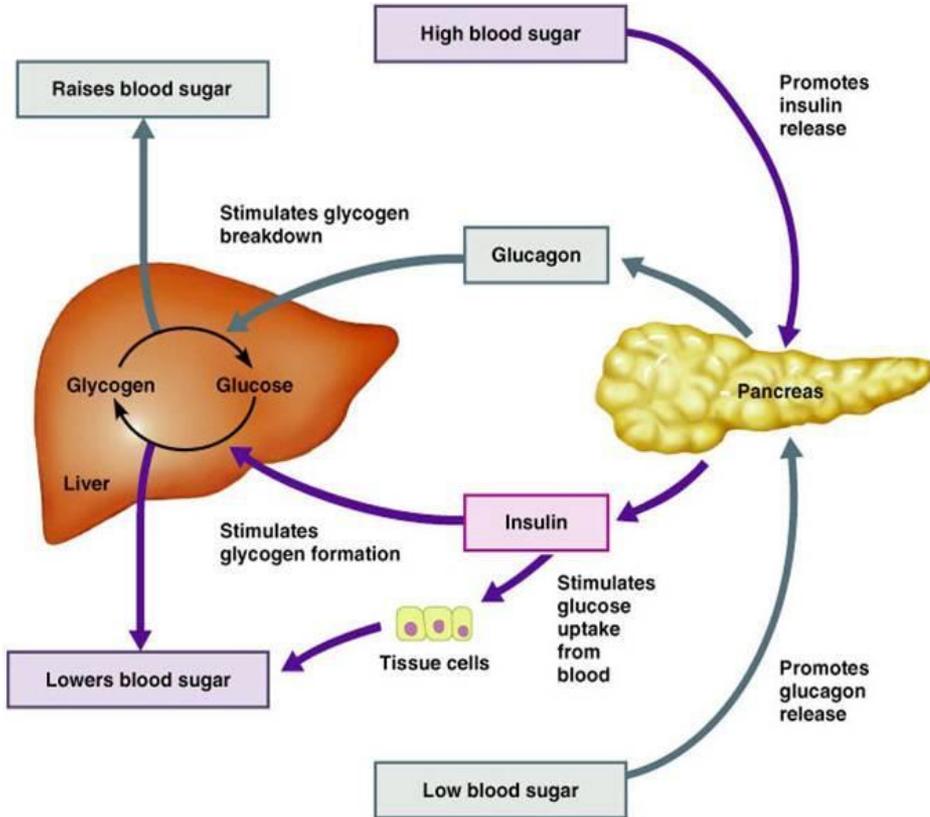
KNOW THE SYMPTOMS



■ Il diabete aumenta il rischio di sviluppare altre patologie:

È comune che le persone con diabete sviluppino complicazioni dopo aver sofferto di diabete per diversi anni

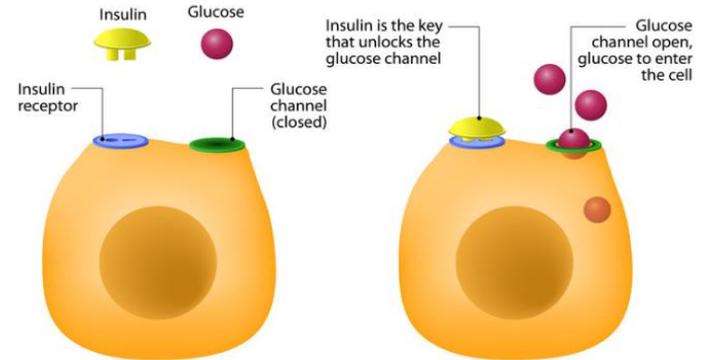




Regolazione del glucosio

All'interno del pancreas:

Insulina secreta dalle cellule β delle isole pancreatiche
Glucagone secreto dalle cellule α delle isole pancreatiche

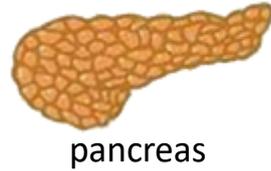


Diabete di tipo I o di tipo II?

YHLO

8

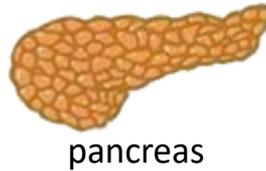
■ Persona sana:



Produce insulina correttamente



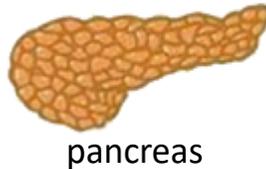
■ Diabete tipo I



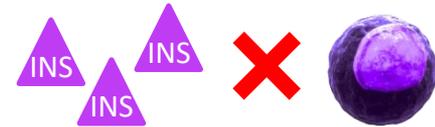
Non produce insulina



■ Diabete di tipo II

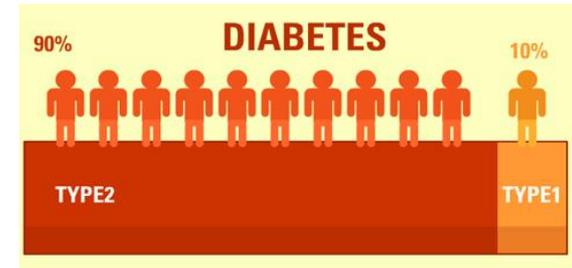
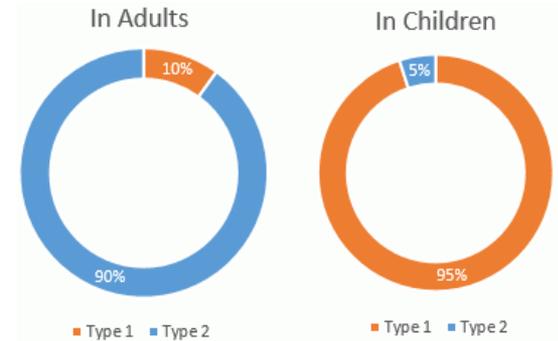


Insulino-resistenza



Diabete di tipo I o di tipo II?

	Tipo I	Tipo II
Età di insorgenza	Di solito durante l'infanzia o la pubertà	Di solito adulto, comunemente sopra i 35 anni
Prevalenza	5-10% dei diabetici diagnosticati	90-95% dei diabetici diagnosticati
Difetto o carenza	Le cellule B vengono distrutte, eliminando la produzione di insulina	Resistenza all'insulina; o carenza di insulina
Caratteristiche associate	Malattie autoimmuni, fattori ereditari	Obesità, invecchiamento, fattori ereditari
Richiesta insulina	Sempre	Qualche volta
Stato nutrizionale	Comunemente denutriti (magri)	Obesità solitamente presente



- Prevedere o valutare il rischio di diabete
- Aiutare a diagnosticare il diabete quando una persona è diabetica
- Distinguere tra diabete di tipo I e di tipo II
- Monitorarne il trattamento o la gestione



STOP
DIABETES.

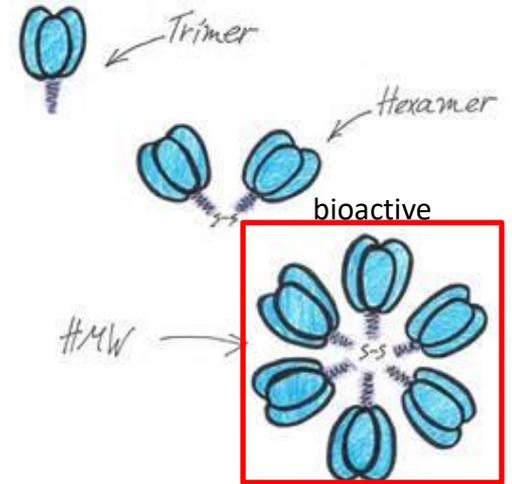
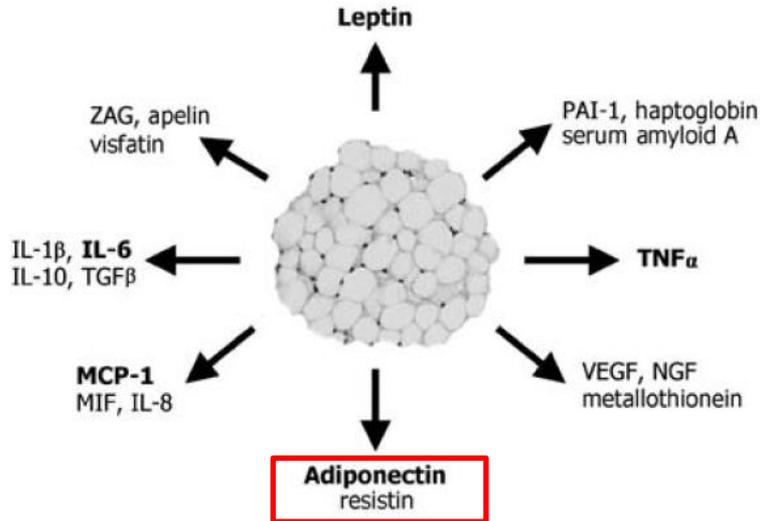
Biomarkers per il Diabete

Previsione/valutazione del rischio	Aiuto nella diagnosi	Distinzione tra tipo I e tipo II	Monitorare il trattamento
Adiponectina	Insulina	ICA	Insulina
	C-peptide	GADA	
		IA-2A	
		IAA	
		ZnT8A	

■ Adiponectina

Il tessuto adiposo non è solo una riserva di energia, ma secerne anche numerose adipochine, strettamente correlate al metabolismo e all'infiammazione

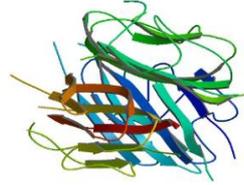
L'**adiponectina**, una delle adipochine, è stata recentemente studiata per la sua funzione metabolica.



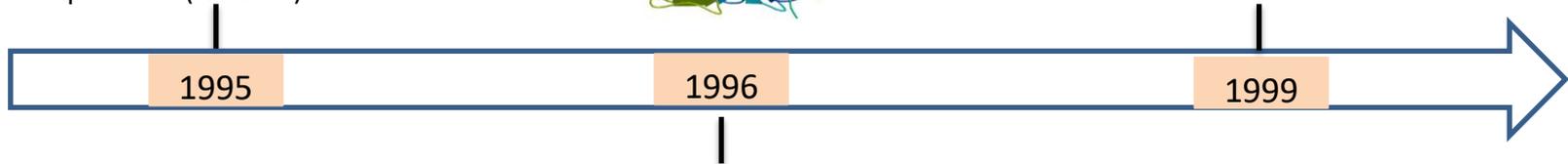
Struttura dell'adiponectina (esiste in trimero, esamero o HMW12-18)

■ Storia dell'adiponectina

Lo scienziato americano Scherer per primo scoprì e la chiamò proteina correlata al complemento degli adipociti 30 (ACRP30)



Viene chiamata Adiponectina

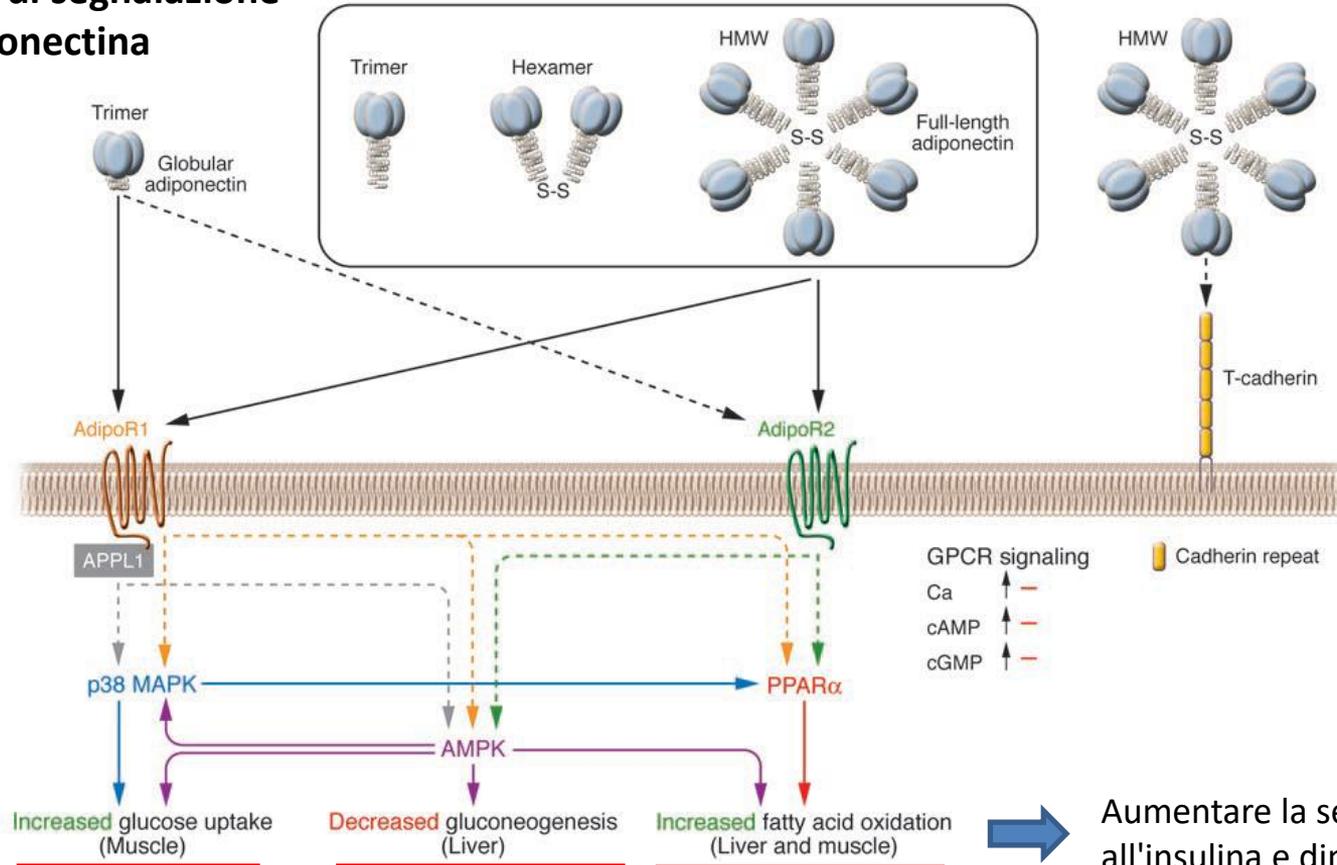


Maeda e colleghi clonano il gene umano dell'adiponectina apM1

Funzioni principale dell'adiponectina:

- Secreta dagli adipociti
- Quando si è a digiuno, favorisce l'immagazzinamento degli acidi grassi e l'attivazione dell'insulina
- Quando il grasso corporeo raggiunge un certo livello, gli adipociti smettono di secernerla, in modo da impedire l'accumulo di grasso

■ Percorso di segnalazione dell'adiponectina



Aumentare la sensibilità all'insulina e diminuire la glicemia

■ Apiponectina in pazienti con Diabete di tipo II

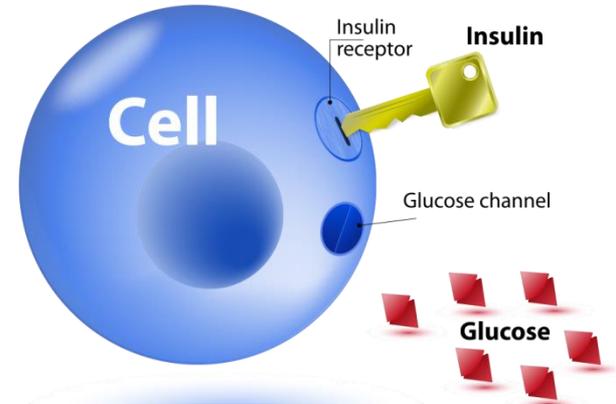
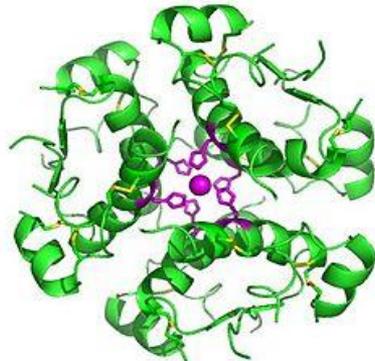
	Cases (n=187)	Controls (n=376)	p
BMI (kg/m ²)	30.1 (4.8)	26.4 (3.5)	<0.0001
WHR	0.94 (0.09)	0.89 (0.09)	<0.0001
Sport (h/week)	0.5 (1.1)	0.9 (1.6)	0.007
Alcohol consumption (g/day)	7.5 (28.3)	10.5 (16.4)	0.456
Adiponectin (µg/mL)	5.34 (3.49)	6.87 (4.58)	<0.0001
Haemoglobin A _{1c} (%)	6.39 (2.16)	4.73 (0.72)	<0.0001
Age (years)	56 (7)	56 (7)	*
Men	110 (59%)	221 (59%)	*
Current smokers	36 (19%)	79 (21%)	0.658
Hypertension	147 (79%)	194 (52%)	<0.0001
Hyperlipoproteinaemia	79 (43%)	118 (31%)	0.005
Less than high school education	83 (44%)	142 (38%)	0.033

Data are mean (SD) or number (%). *Age and sex were matching variables.

Conclusion: riduzione della concentrazione di adiponectina nel siero di pazienti con diabete di tipo II

■ Insulina

- L'insulina è un ormone prodotto e immagazzinato nelle cellule beta del pancreas
- L'insulina aiuta a trasportare il glucosio dal sangue all'interno delle cellule, aiuta a regolare i livelli di glucosio nel sangue e svolge un ruolo nel metabolismo dei lipidi.



L'insulina come “chiave” per aprire la porta che consente al glucosio del sangue di entrare nelle cellule.

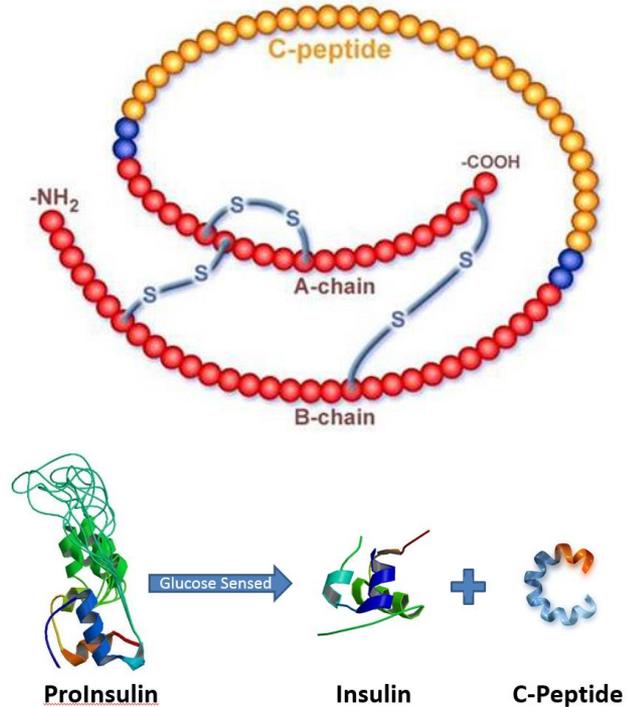
■ Applicazione clinica del rilevamento dell'insulina

- Identificare la resistenza all'insulina
- Monitorare la quantità di insulina prodotta dalle cellule β nel pancreas (endogena); può essere eseguito anche il test C-peptide
- Diagnosticare la causa dell'ipoglicemia in un individuo con segni e sintomi
- Diagnosticare un insulinoma, verificare che la rimozione del tumore abbia avuto successo e/o monitorare la recidiva

DISTURBO	INSULINA A DIGIUNO	GLUCOSIO A DIGIUNO
Nessuno	Normale	Normale
Insulino-resistenza	Alta	Normale o elevato
Non abbastanza insulina prodotta dalle cellule β (diabete, pancreatite, ad esempio)	Bassa	Alto
Ipoglicemia dovuta ad eccesso di insulina (insulinomi, insulina esogena eccessiva, ecc.)	Normale o alta	Basso

■ C-peptide

- C-peptide viene rilasciato nel sangue come sottoprodotto della formazione di insulina da parte del pancreas
- C-peptide può essere utilizzato per valutare la produzione di insulina e per differenziarla dall'insulina che non è prodotta dall'organismo (esogena) e che quindi non genera C-peptide
- Aiuta a determinare la causa dell'ipoglicemia



■ LADA

Diabete autoimmune latente degli adulti

- è una forma di diabete di tipo I che si manifesta in età adulta, spesso con un decorso più lento rispetto al diabete di tipo I diagnosticato nei giovani
- Gli adulti affetti da LADA potrebbero inizialmente ricevere una diagnosi errata di diabete di tipo II in base alla loro età, soprattutto se presentano fattori di rischio per il diabete di tipo II, come una forte anamnesi familiare o l'obesità
- Si stima che oltre il 50% delle persone a cui viene diagnosticato il diabete di tipo II non correlato all'obesità possano in realtà essere affette da LADA

TYPE 1
LADA
Latent Autoimmune Diabetes in Adults
TYPE 2



■ La prevalenza di LADA nel diabete di tipo II

Table 2—Prevalence of LADA in patients with type 2 diabetes and all participants

Age	LADA in patients with type 2 diabetes			LADA in all participants		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
n		498			8,109	
<40 years	1/12 (8.3)	1/20 (5.0)	2/32 (6.3)	1/1,221 (0.1)	1/1,372 (0.1)	2/2,593 (0.1)
40–49 years	2/33 (6.1)	6/57 (10.5)	8/90 (8.9)	2/931 (0.2)	6/975 (0.6)	8/1,906 (0.4)
50–59 years	12/77 (15.6)	14/110 (12.7)	26/187 (13.9)	12/948 (1.3)	14/1,021 (1.4)	26/1,969 (1.3)
≥60 years	7/77 (9.1)	3/112 (2.7)	10/189 (5.3)	7/778 (0.9)	3/863 (0.3)	10/1,641 (0.6)
Total	22/199 (11.1)	24/299 (8.0)	46/498(9.2)	22/3,878 (0.6)	24/4,231 (0.6)	46/8,109 (0.6)

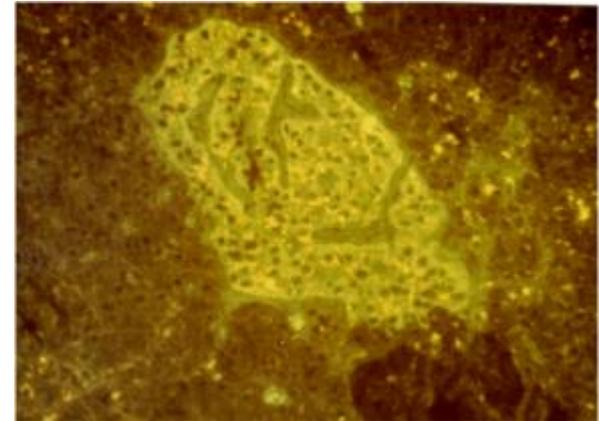
Data are n (%) unless otherwise indicated.

La prevalenza di LADA era del 9,2% (8,0% nelle donne e 11,1% negli uomini) negli individui con diabete di tipo II. Tra tutti i partecipanti, la prevalenza di LADA era dello 0,6% sia per gli uomini che per le donne ed era dello 0,7% nei partecipanti di età >35 anni.

■ ICA

autoanticorpi anti insula pancreatica

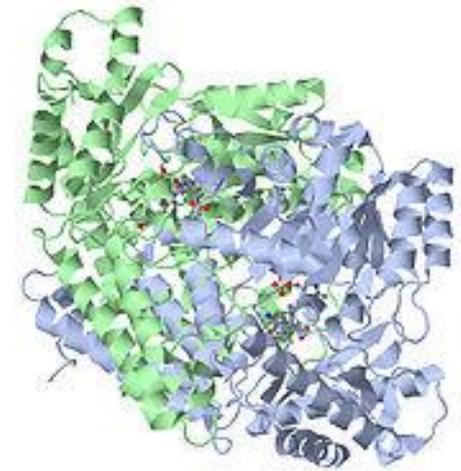
- Nel 1974 gli ICA furono descritti per la prima volta da Bottazzo e colleghi in pazienti con autoimmunità polighiandolare. Successivamente, gli ICA furono descritti in pazienti con diabete mellito di tipo I (T1DM) in assenza di autoimmunità polighiandolare
- Gli ICA sono un gruppo di autoanticorpi delle cellule insulari diretti contro una varietà di proteine delle cellule insulari
- Uno degli autoanticorpi più comunemente rilevati. Dal 70% all'80% degli individui con T1DM di nuova insorgenza sono positivi all'ICA. Dopo la diagnosi, la positività all'ICA diminuisce. Dopo 10 anni, pochi pazienti rimangono positivi all'ICA



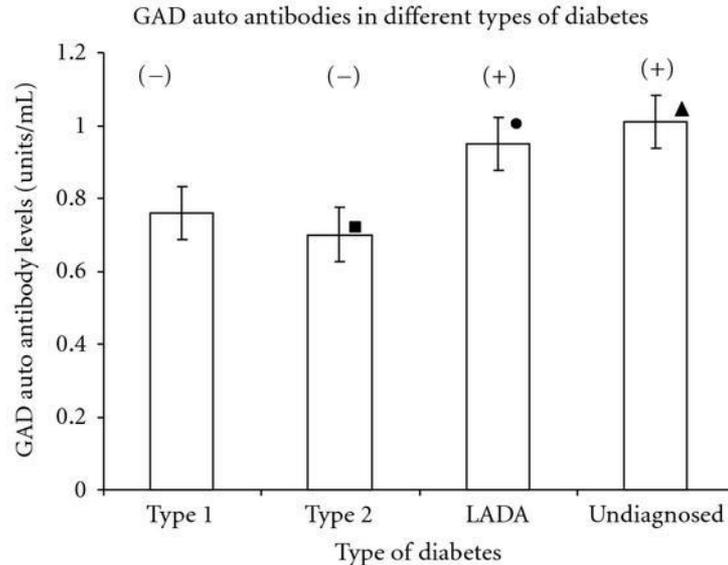
■ GADA

Autoanticorpi anti-decarbossilasi dell'acido glutammico

- Autoanticorpi anti-GAD sono diretti contro la proteina (antigene) delle cellule β , ma non sono specifici per le cellule beta. Uno degli autoanticorpi più comunemente rilevati nei pazienti diabetici di tipo I di recente diagnosi (circa il 70-80%)
- Dopo l'IAA, i GADA sono gli anticorpi rilevati più spesso alla sierconversione nell'infanzia, con un'incidenza che supera l'IAA nella tarda infanzia. Persistono anche nell'età adulta e agiscono come marcatore per il diabete autoimmune ad esordio nell'adulto
- La maggior parte degli studi ha indicato che i GADA sono più persistenti nei pazienti affetti da diabete di lunga data rispetto a IA-2A o ZnT8A



■ Diagnosi differenziale GADA nel LADA e Diabete di tipo I/II



Conclusioni:

- Quadrato nero: livelli di GADA significativamente più bassi nel diabete di tipo II rispetto al diabete di tipo I, LADA e pazienti non diagnosticati
- Cerchio nero: livelli di GADA significativamente più alti nel LADA rispetto al diabete di tipo I e al diabete di tipo II

Figura 1. Livelli medi di autoanticorpi GAD in diversi tipi di diabete.

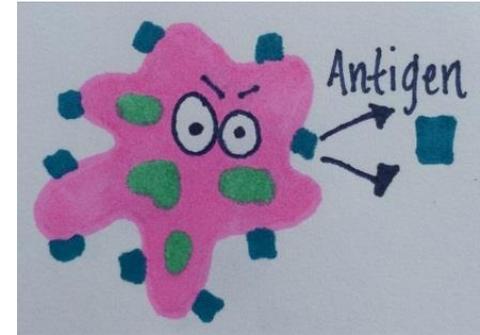
(+) indica la presenza di autoanticorpi GAD.
(-) indica l'assenza di autoanticorpi GAD.

Hosszúfalusi N, Vataj Á, Rajczy K, et al. Similar genetic features and different islet cell autoantibody pattern of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) compared with adult-onset type 1 diabetes with rapid progression[J]. Diabetes care, 2003, 26(2): 452-457.

■ IA-2A

Autoanticorpi associati all'insulinoma 2 – Autoanticorpi anti-tirosina fosfatasi

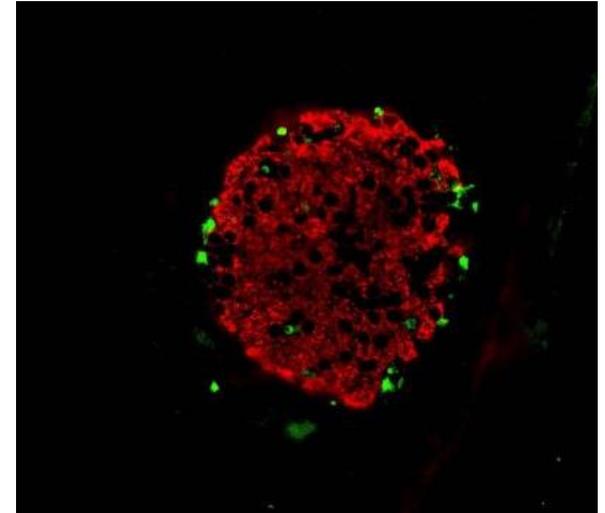
- IA-2A è un bersaglio principale degli autoanticorpi delle cellule insulari. Gli autoanticorpi IA-2 sono diretti contro gli antigeni delle cellule β ma non sono specifici.
- Gli autoanticorpi anti-IA-2A sono presenti in circa il 60% dei pazienti diabetici di tipo I
- L'IA-2A si sviluppa generalmente più tardi nel processo che porta al diabete di tipo I ed è associato a una progressione più rapida
- La presenza di IA-2A negli individui asintomatici indica un rischio maggiore di sviluppare il diabete di tipo I



■ IAA

Autoanticorpi anti-insulina

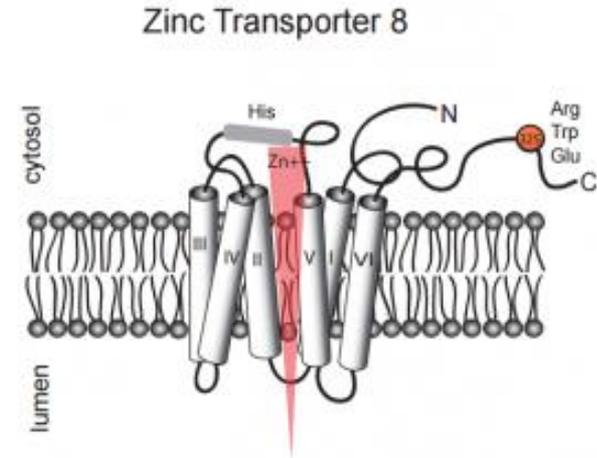
- Gli IAA sono stati dimostrati per la prima volta in modo convincente nel 1983. Gli IAA sono mirati all'insulina; l'insulina è l'unico antigene ritenuto altamente specifico per le cellule beta
- Il test IAA non distingue tra autoanticorpi che hanno come bersaglio l'insulina endogena e l'insulina esogena. Affinché il risultato IAA sia valido, il paziente non deve essere trattato con insulina per più di 14 giorni
- Gli IAA sono presenti in circa il 50% dei bambini con diabete di tipo I di nuova insorgenza. Gli IAA sono rari negli adulti con diabete di tipo I
- La presenza di IAA in individui asintomatici indica un rischio maggiore di sviluppare il diabete di tipo I



■ ZnT8A

Autoanticorpi contro il trasportatore 8 dello Zinco

- ZnT8 fa parte di una grande famiglia conservata di proteine di efflusso cationico che svolgono un ruolo fondamentale nell'esportazione di Zn^{++} nel lume del granulo secretorio delle cellule beta, dove consente la cristallizzazione dell'insulina
- Gli autoanticorpi ZnT8 vengono rilevati in circa il 70% dei pazienti con diabete di tipo I di recente diagnosi. Gli ZnT8A sono utili anche nella diagnosi di LADA
- Negli individui prediabetici, gli autoanticorpi ZnT8 compaiono nella fase prodromica anni prima della malattia clinica e la loro misurazione migliora l'accuratezza della previsione del rischio di malattia



ZnT8 ha un'elevata specificità per le isole pancreatiche

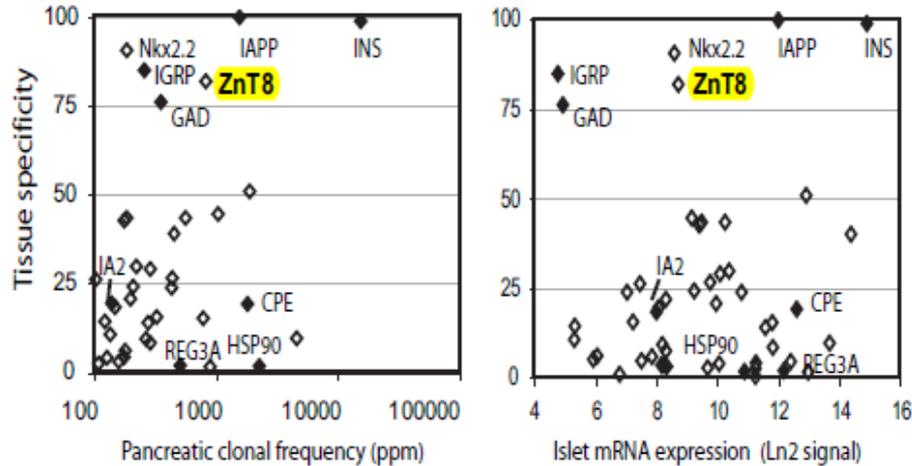
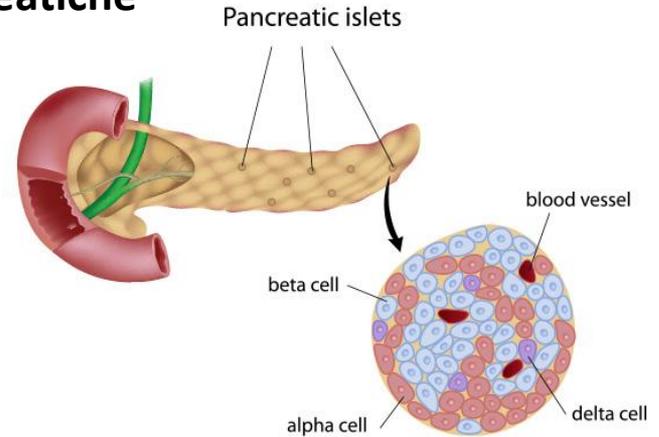


Fig. 1. Identification of candidate autoantigens. Pancreas specificity is plotted against the pancreatic abundance (pancreatic EST clones per all tissues ESTs) and against the level of mRNA expression in human islets from microarray data (SI Table 1). Approximate positions are shown for diabetes autoantigens (filled symbols).



Conclusion:

ZnT8 si è classificato al primo posto nella gerarchia dei geni candidati in base alla sua specificità per le isole pancreatiche

■ ZnT8A come principale autoanticorpo nel diabete di tipo I

- L'età media di comparsa di IAA tende a essere precedente a quella ZnT8A, ma ZnT8A è correlato con tutti e tre gli autoanticorpi all'inizio
- L'analisi della tavola attuariale (D) ha mostrato che la presenza di ZnT8A aumenta significativamente la probabilità che un individuo altrimenti classificato come a basso rischio progredisce verso il diabete clinico entro 5 anni ($P=0.007$)

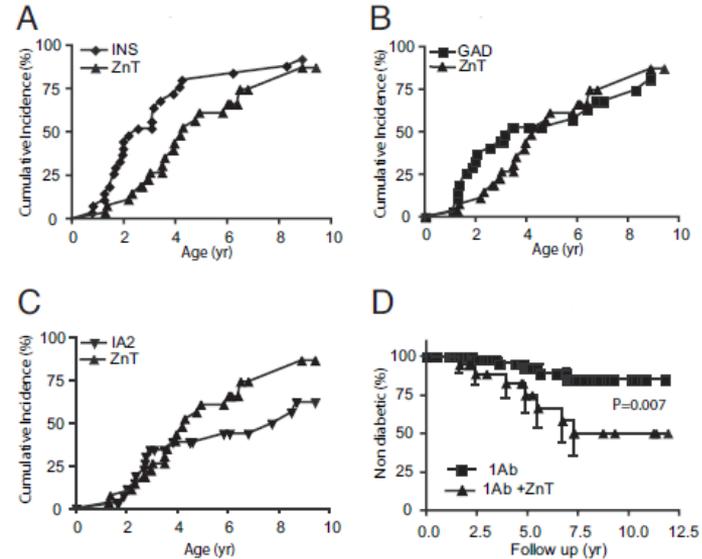
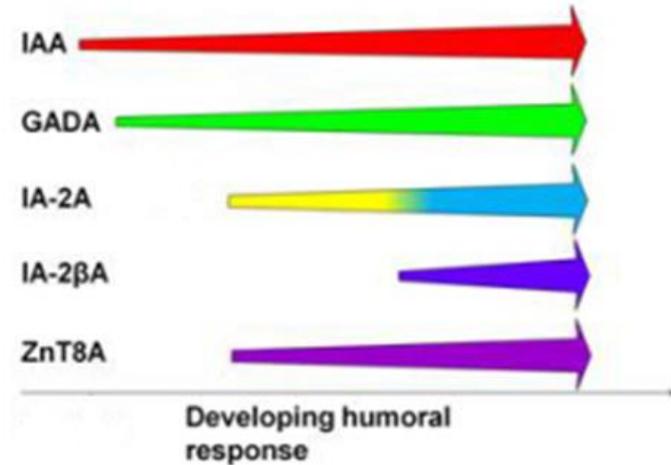


Figure 4. ZnT8A nel prediabete. (A–C) L'incidenza cumulativa di autoanticorpi in 27 soggetti seguiti fino al diabete di tipo 1 è mostrata per l'autoreattività C-terminale di ZnT rispetto a GADA, IA2A e IAA. (D) L'analisi di sopravvivenza confronta l'esito della malattia (media \pm SEM) per gli individui sieropositivi a ZnT8A rispetto a quelli negativi.

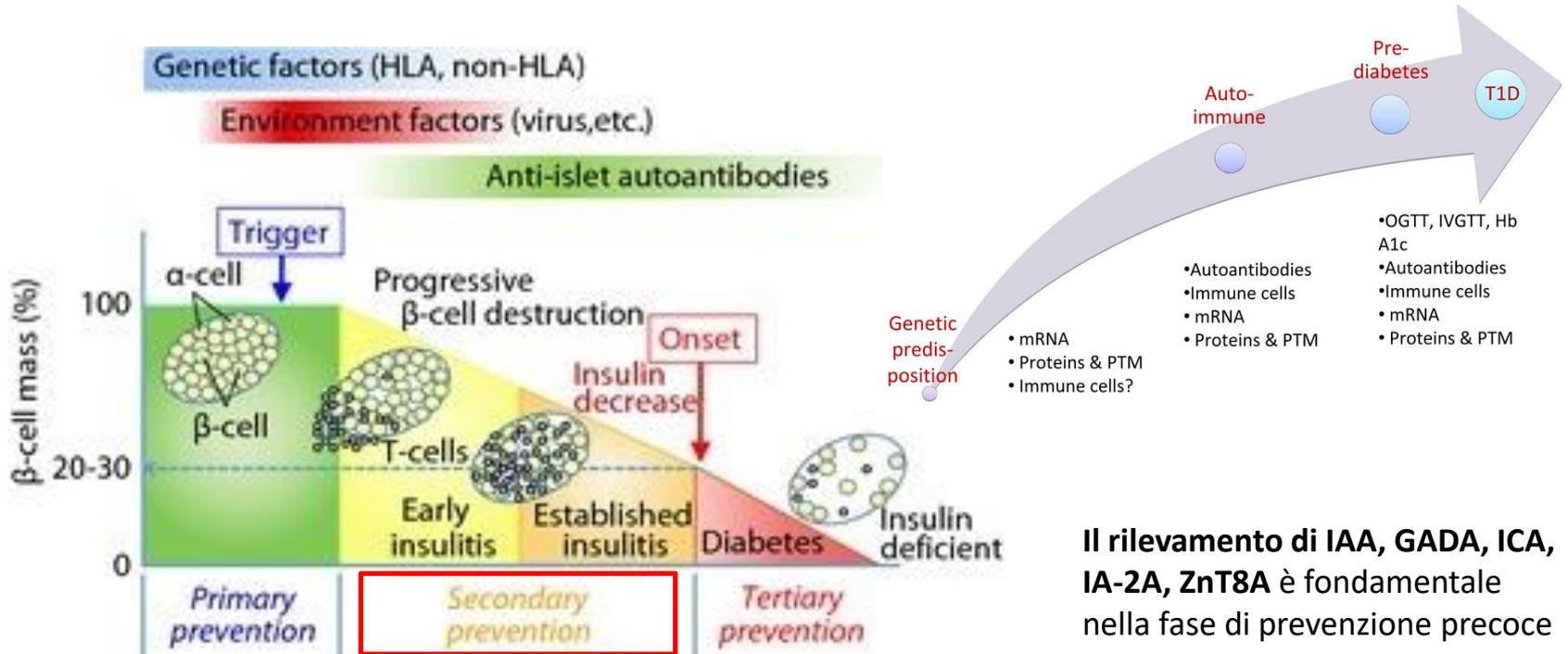
■ Gli autoanticorpi compaiono in sequenza

- Gli autoanticorpi del diabete spesso si manifestano secondo una sequenza particolare: gli autoanticorpi insulina o GAD si sviluppano per primi, talvolta già a partire dai 6 mesi di età, seguiti dagli autoanticorpi IA2 e ZnT8A
- Questo processo autoimmune verso le diverse proteine delle isole pancreatiche indica che il processo che porta alla distruzione delle cellule che producono insulina sta progredendo



*IA2 autoantibodies bind to two main regions of the molecule

Lo sviluppo del diabete di tipo I



Il rilevamento di IAA, GADA, ICA, IA-2A, ZnT8A è fondamentale nella fase di prevenzione precoce

Linea guida

■ Insulina and C-peptide

- L'insulina è la sostanza più importante nella regolazione del glucosio e dovrebbe essere testata insieme al C-peptide per identificare il diabete
- C-peptide, in quanto sottoprodotto della proinsulina, offre un buon riferimento per valutare la produzione endogena di insulina e aiuta anche nella diagnosi differenziale del diabete di tipo I o di tipo II.



I. Type 1 diabetes
A. Immune mediated
B. Idiopathic
II. Type 2 diabetes
III. Other specific types
A. Genetic defects of beta-cell function
B. Genetic defects in insulin action
C. Diseases of the exocrine pancreas
D. Endocrinopathies
E. Drug or chemical induced
F. Infections
G. Uncommon forms of immune-mediated diabetes
H. Other genetic syndromes sometimes associated with diabetes
IV. GDM

Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus

David B. Sacks,^{1*} Mark Arnold,² George L. Bakris,³ David E. Bruns,⁴ Andrea Rita Horvath,⁵ M. Sue Kirkman,⁶ Ake Lernmark,⁷ Boyd E. Metzger,⁸ and David M. Nathan⁹

TYPE 1 AND TYPE 2 DIABETES MAY BE MADE IN MOST CASES ON THE BASIS OF THE CLINICAL PRESENTATION AND THE SUBSEQUENT COURSE. THESE ASSAYS ARE USEFUL PRIMARILY FOR RESEARCH PURPOSES. OCCASIONALLY, C-PEPTIDE MEASUREMENTS MAY HELP DISTINGUISH TYPE 1 FROM TYPE 2 DIABETES IN AMBIGUOUS CASES, SUCH AS PATIENTS WHO HAVE A TYPE 2 PHENOTYPE BUT PRESENT IN KETOACIDOSIS

■ Autoanticorpi correlati al diabete

- Diabete autoimmune causato dall'attività di vari autoanticorpi correlati
- Gli anticorpi devono essere utilizzati a scopo predittivo, di screening e di diagnosi differenziale

RECOMMENDATIONS — Screening for immune or genetic markers of risk of type 1 diabetes should usually be undertaken only in the context of defined research studies.

Testing for antibodies to **GAD** and/or **IA-2** or for GAD antibodies and/or **IAA** using sensitive radiobinding assays can identify >85% of cases of newly diagnosed or future type 1 diabetes with 98% specificity. It is therefore recommended that, as a minimum, primary testing to identify relatives at increased risk should include measurement of levels of antibodies to GAD with either IAAs or antibodies to IA-2. The appearance of IAAs may precede that of antibodies to GAD and/or IA-2, and IAAs may be the only antibodies detected at diagnosis in very young children. Thus, it is recommended that determination of IAAs be included in primary testing of children aged <10 years to maximize sensitivity.



Diabetes Care.

Assessment of risk of type 1 diabetes in relatives was initially based on detection of circulating **islet cell antibodies (ICAs)** supplemented by measurement of **insulin autoantibodies (IAAs)**, and evaluation of β -cell function by determination of the first-phase insulin response (FPIR) in the intravenous glucose tolerance test. Other islet autoantigens, including **GAD** and the protein tyrosine phosphatase **IA-2/ICA512**, have subsequently been identified, and the role of autoantibodies to these antigens in assessment of risk of type 1 diabetes in first-degree relatives has been investigated in a number of large prospective studies. In

LADA: Un consenso da un gruppo di esperti internazionali

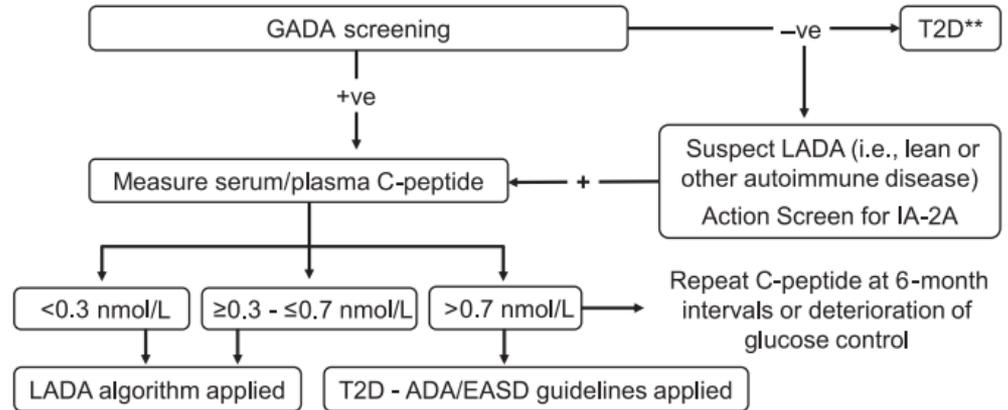


Table 1—Broad characteristics of LADA*

- Age >30 years**
- Family/personal history of autoimmunity
- Reduced frequency of metabolic syndrome compared with T2D—lower HOMA, lower BMI, lower blood pressure, and normal HDL compared with T2D
- No disease-specific difference in cardiovascular outcomes between these patients and those with T2D
- C-peptide levels decrease more slowly than in T1D
- Positivity for GADA as the most sensitive marker; other autoantibodies less frequent (ICA, IA-2A, ZnT8A, and tetraspanin 7 autoantibodies)
- Non-insulin requiring at onset of diabetes

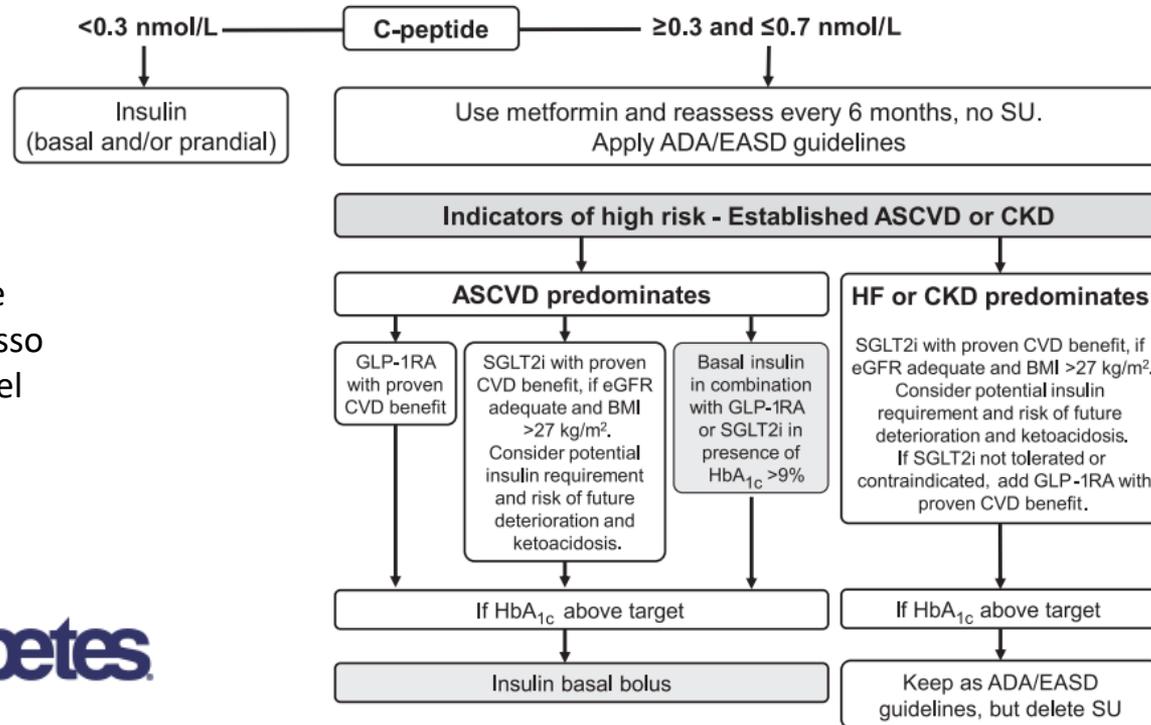
*None of these features categorically define LADA. **Limited data on older patients with higher probability of T1D in younger patients.

Il pannello ha convenuto che tutti i pazienti con diabete di tipo 2 di recente diagnosi dovrebbero essere sottoposti a screening per la positività al GADA, per consentire una diagnosi e l'implementazione di una terapia appropriata e il follow-up della progressione dell'insufficienza delle cellule β



LADA: Un consenso da un gruppo di esperti internazionali

C-peptide la misurazione dovrebbe guidare il processo decisionale per la scelta del trattamento LADA



Soluzione completa

