



RELAZIONE FINALE PROGETTO DI RICERCA BORSA DI STUDIO FODIRI-MSD 2015/2016

“Studio delle complicanze croniche e analisi dei livelli sierici di molecole potenzialmente coinvolte nella loro patogenesi in soggetti con diabete autoimmune dell’adulto”

Background

Grazie al finanziamento ottenuto lo scorso anno dalla Fondazione Diabete Ricerca in collaborazione con MSD Italia s.r.l., mi è stato possibile portare avanti il progetto di ricerca volto allo studio delle complicanze croniche (micro e macrovascolari) e all’analisi dei livelli sierici di molecole potenzialmente coinvolte nella patogenesi di tali complicanze in soggetti con diabete autoimmune dell’adulto (LADA) rispetto a pazienti con diabete di tipo 1 e di tipo 2.

In questo anno di lavoro sono stati studiati 436 pazienti diabetici (n=76 pazienti LADA, n=116 pazienti con DM1 e n=244 pazienti con DM2), tutti afferenti al servizio ambulatoriale dell’UOC di Diabetologia Universitaria dell’Ospedale Santa Maria Goretti di Latina, e selezionati per avere simile durata di malattia.

In tutti i pazienti è stato eseguito il dosaggio dei seguenti autoanticorpi:

- anti glutammico decarbossilasi (GADA)
- anti tirosina fosfatasi IA-2 (frammenti: IA-2IC e IA-2(256-760))
- anti trasportatori dello zinco (ZnT8)

Il dosaggio è stato effettuato presso il laboratorio di Immunologia dell’Università “Sapienza” di Roma. La determinazione degli autoanticorpi è stata effettuata utilizzando un saggio radioimmunologico (RIA).

In ciascuno di questi pazienti sono stati poi valutati i seguenti parametri clinici e biochimici: Body Mass Index (BMI), pressione arteriosa sistolica e diastolica, glicemia a digiuno, HbA1c, colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi. Le determinazioni biochimiche sono state effettuate per mezzo di programmi di qualità controllata usando standard di riferimento internazionali.

L’ipertensione è stata definita come valore di pressione arteriosa $\geq 130/90$ mmHg; la dislipidemia è stata definita come presenza di valori di colesterolo LDL > 100 mg/dl e/o assunzione di terapia con statina.

Inoltre in ciascun paziente è stata valutata la presenza di complicanze micro e macrovascolari legate al diabete. In particolare, per la diagnosi di retinopatia è stato utilizzato l'esame del fondo oculare mediante utilizzo dell'oftalmoscopio diretto dopo dilatazione pupillare con tropicamide all'1%; la retinopatia è stata classificata secondo l'International Clinical Disease Severity Scale for Diabetic Retinopathy dell'Accademia Americana di Oftalmologia:

- Primo stadio: retinopatia non apparente
- Secondo stadio: retinopatia diabetica non proliferante lieve;
- Terzo stadio: retinopatia diabetica non proliferante moderata;
- Quarto stadio: retinopatia diabetica non proliferante severa;
- Quinto stadio: retinopatia proliferante.

La nefropatia è stata definita in base alla presenza di micro e macroalbuminuria nei campioni di urine dei pazienti, ossia è stata considerata presente se il tasso di escrezione di albumina era superiore rispettivamente a 30 e 300 mg/L.

La presenza della neuropatia autonoma cardiaca è stata valutata, in una sottopopolazione di pazienti, mediante l'esecuzione di test per lo studio dei riflessi cardiovascolari con l'utilizzo di uno strumento (Neuro-Tester, Meteda):

- il Deep Breathing, ossia la valutazione della variazione della frequenza cardiaca durante una serie di cicli respiratori profondi;
- il Lying to Standing, ossia la valutazione della frequenza cardiaca nel passaggio rapido da una posizione di clino ad una di ortostatismo;
- la Manovra di Valsalva, ossia la valutazione della frequenza cardiaca durante una persistente espirazione contro una resistenza prestabilita.

La macroangiopatia, invece, è stata valutata mediante la raccolta di una accurata anamnesi patologica circa la presenza di precedenti eventi cardiovascolari (infarto miocardico acuto, ictus, procedure di rivascularizzazione miocardica o periferica). Nei pazienti senza storia di precedenti episodi cardiovascolari la presenza di macroangiopatia è stata investigata con l'esecuzione di esami di funzionalità cardiaca di primo e secondo livello (Elettrocardiogramma, Ecocardiogramma, Scintigrafia miocardica, Test da sforzo) nonché mediante l'esecuzione di un EcocolorDoppler carotideo, nell'intento di valutare lo spessore dell'intima e della media dei vasi sovraortici e la presenza di placche aterosclerotiche.

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il SAS (versione 9.3). I dati sono stati espressi come frequenze, medie e deviazioni standard o mediane e range interquartile. Le frequenze sono state confrontate utilizzando il test χ^2 o il test di Fisher esatto. Il trend tra i tre gruppi (D1M, D2M e LADA) è stato saggiato con il test di Cochran-Armitage. Il test di Shapiro-Wilk è stato utilizzato

per testare la normalità delle distribuzioni delle variabili continue. Quando la normalità non era verificata sono state provate, in base allo skewness, opportune trasformazioni logaritmiche. Le differenze tra i valori medi delle variabili continue normalmente distribuite nei gruppi di pazienti analizzati, è stata testata con il test t di Student, mentre il test di Mann-Whitney è stato utilizzato per le variabili non normalmente distribuite. La regressione logistica multivariata è stata eseguita per identificare i possibili fattori di rischio per la retinopatia, le malattie cardiovascolari e la nefropatia diabetica. Le variabili considerate sono state: età, durata malattia, emoglobina glicata, dislipidemia, ipertensione e genere. Il metodo di selezione utilizzato nella logistica multivariata è stata la backward. Il valore soglia di significatività era $p < 0.05$.

Risultati ottenuti

Dei 116 pazienti con DM1, 53 erano maschi e 63 femmine (età mediana 34.8 anni); dei 76 pazienti con LADA, 45 erano maschi e 31 femmine (età mediana 58.3 anni); dei 244 pazienti con DM2, 148 erano maschi e 96 femmine (età mediana 67.9 anni).

La differenza nella mediana della durata di malattia tra i 3 gruppi di pazienti si è dimostrata non statisticamente significativa (rispettivamente 11 anni per i pazienti con DM1, 12.4 anni per i pazienti con LADA e 13.9 anni per i pazienti con DM2).

L'HbA1c è risultata significativamente più alta nei DM1 e nei LADA rispetto ai DM2 ($p < 0.0001$ e $p = 0.002$, rispettivamente).

Analizzando i livelli di colesterolo totale non è stata riscontrata una differenza significativa tra i tre gruppi; prendendo però in considerazione la percentuale di pazienti che assumevano terapia ipolipemizzante con statine, essa è risultata più alta nei pazienti con DM2 rispetto agli altri 2 gruppi (20.3% nei pazienti con DM1, 40.1% nei pazienti con LADA e 75.8% nei pazienti con DM2; $p < 0.0001$ DM1 vs DM2, $p < 0.0001$ LADA vs DM2, $p = 0.01$ DM1 vs LADA). Anche i livelli di trigliceridi sono risultati più alti nei DM2 rispetto sia ai DM1 che ai LADA ($p < 0.0001$ per entrambi); i pazienti LADA, a loro volta, hanno mostrato livelli di trigliceridi più alti rispetto ai DM1 ($p = 0.02$).

I valori di colesterolo HDL non si sono dimostrati significativamente differenti tra i pazienti DM1 e LADA, ma significativamente inferiori nei DM2 rispetto sia ai DM1 che ai LADA ($p < 0.0001$ DM1 vs DM2; $p = 0.002$ LADA vs DM2).

Abbiamo infine considerato la presenza globale di dislipidemia, considerata come la presenza di livelli di LDL > 100 mg/dl e/o l'assunzione di statina; essa è risultata essere più frequente nei pazienti con DM2 rispetto ai DM1 e ai LADA ($p < 0.0001$ per entrambi).

Il BMI (mediana=23.7 nei DM1, 26 nei LADA e 28.6 nei DM2) è risultato significativamente più alto nei pazienti DM2 rispetto ai DM1 e LADA ($p<0.0001$ per entrambi), e più alto nei LADA rispetto ai DM1 ($p<0.0001$). Differenze significative sono state, inoltre, riscontrate anche per la frequenza dell'ipertensione nei 3 gruppi (DM2= 76.6%; LADA= 45.3%; DM1= 12.9; LADA vs DM1 $p<0.0001$; DM2 vs DM1 $p<0.00001$; DM2 vs LADA $p<0.0001$).

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e biochimiche dei pazienti DM1, LADA e DM2

Variabili	DM1 (n=116)	LADA (n=76)	DM2 (n=244)	p (DM1 vs LADA)	p (DM1 vs DM2)	p (LADA vs DM2)
Genere (M/F)	53/63	45/31	148/36	ns	0.007	ns
Età (anni)	34.8	58.3	67.9	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Durata malattia (anni)	11	12.4	13.9	ns	ns	ns
BMI (Kg/m ²)	23.7 (17.2-50)	26 (16.2-49.1)	28.6 (18.8-45.3)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
HbA1C (%)	7.5 (5.3-12.5)	7.4 (5.4-14.3)	6.9 (4.3-13)	ns	<0.0001	0.002
Colesterolo totale (mg/dl)	169.1 ± 31.7 169 (99-232)	178.1 ± 38.2	172.5 ± 36.7 170.5 (86-297)	ns	ns	ns
Trigliceridi (mg/dl)	67 (22-398)	79.5 (27-336)	120 (30-762)	0.02	<0.0001	<0.0001
HDL (mg/dl)	55.02 ± 15.92 53 (23-104)	51.74 ± 13.07 52 (24-77)	45 (25-86)	ns	<0.0001	0.002
Terapia con statina n(%)	13 (20.3)	22 (40.1)	185 (75.8)	0.01	<0.0001	<0.0001
Dislipidemia*	48 (56.5)	48 (63.2)	216 (88.5)	ns	<0.0001	<0.0001
Iipertensione	15 (12.9)	34 (45.3)	187 (76.6)	<0.0001	<0.0001	<0.0001

I dati sono espressi come mediane (range interquartile), medie (deviazioni standard) o n (%)

*La dislipidemia è stata considerata come presenza di colesterolo LDL >100 mg/dl e/o presenza di terapia con statine

Dall'analisi delle complicanze microvascolari, i dati a nostra disposizione dimostrano che tra i 3 gruppi la frequenza di retinopatia diabetica è significativamente più alta nei pazienti con DM1 (19.8%) rispetto ai pazienti con LADA (7.9%) ($p=0.02$), e che nessuna differenza significativa emerge invece dal confronto tra DM1 vs DM2, e DM2 vs LADA.

Per quanto riguarda invece la nefropatia, nessuna differenza significativa è stata evidenziata nel confronto tra i pazienti (frequenza 10.3% nei DM1, 14.4% nei LADA e 17.6% nei DM2; $p=ns$ per tutti i confronti).

Riguardo alla presenza di neuropatia autonoma, al momento attuale la valutazione è stata effettuata su un numero di pazienti ancora troppo esiguo per poter trarre conclusioni definitive; ulteriori indagini su un numero più elevato di pazienti saranno svolte a tal proposito.

Per quanto riguarda le complicanze macrovascolari, la frequenza più elevata di macroangiopatia è stata riscontrata nei DM2, sia rispetto ai LADA (32.8% vs 16.4%, $p=0.004$) che ai DM1 (32.8% vs 15.8%, $p=0.001$). Nessuna significativa differenza risultava invece dal confronto dei DM1 vs i LADA (Tabella 2).

Tabella 2. Frequenza delle complicanze croniche nei pazienti con DM1, LADA e DM2

	DM1	LADA	DM2	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p for trend</i>
	N=116	N=76	N=244	DM1 vs LADA	DM1 vs DM2	LADA vs DM2	
	n (%)	n (%)	n (%)				
Retinopatia	23 (19.8)	6 (7.9)	33 (13.5)	0.002	ns	ns	0.04
Nefropatia	12 (10.3)	11 (14.4)	43 (17.6)	ns	ns	ns	ns
Macroangiopatia	19 (16.4)	12 (15.8)	80 (32.8)	ns	0.001	0.004	ns

Per andare ad individuare i possibili fattori di rischio dello sviluppo di complicanze croniche, è stata effettuata una analisi logistica multivariata nei 436 pazienti con diabete (Tabella 3). Considerando la retinopatia, la macroangiopatia e la nefropatia come variabili dipendenti, i fattori di rischio per lo sviluppo di esse sono risultati rispettivamente:

- la durata di malattia ($p<0.0001$), la HbA1c ($p=0.022$) e l'ipertensione ($p=0.029$) per la retinopatia;
- la durata di malattia ($p<0.027$), la dislipidemia ($p=0.023$) e l'ipertensione ($p=0.012$) per la macroangiopatia;
- l'HbA1c per la nefropatia ($p=0.006$).

Tabella 3. Regressione logistica multivariata in $n=436$ pazienti con diabete

	RETINOPATIA n=62	NEFROPATIA n=66	MACROANGIOPATIA n=111
Genere	1.20 (0.62-2.33)	0.78 (0.38-1.60)	1.53 (0.91-2.57)
Età (anni)	1.01 (0.99-1.04)	1.05 (0.99-1.04)	1.05 (0.99-1.07)
Durata di malattia (anni)	1.13 (1.07-1.18)*	1.04 (0.99-1.10)	1.04 (1.005-1.08)*
HbA1c (%)	1.29 (1.04-1.61)*	1.40 (1.10-1.79)*	0.99 (0.82-1.19)
Dislipidemia	1.94 (0.70-5.40)	1.24 (0.42-3.63)	2.56 (1.14-5.77)*
Iipertensione	2.32 (1.09-4.95)*	1.43 (0.56-3.63)	2.27 (1.20-4.2)*

*I dati sono espressi come odds ratio (OR) (intervallo di confidenza 95%); $p<0.03$

I dati sono stati corretti per genere e per età

Discussione

L'analisi dei dati finora ottenuti dal nostro studio, ha messo in evidenza come il LADA sia una forma di diabete con caratteristiche "intermedie" tra quelle del DM2 e del DM1, e tale osservazione risulta valida sia per ciò che concerne le caratteristiche cliniche e bio-umorali che lo sviluppo di complicanze croniche ad esse correlate. Analizzando dapprima le caratteristiche cliniche, i parametri della sindrome metabolica (sovrappeso, dislipidemia, ipertensione, ecc) risultano maggiormente presenti nei pazienti DM2 rispetto ai LADA, ma i LADA mostrano a loro volta una maggiore frequenza di tali parametri rispetto al DM1. Anche i precedenti studi volti a valutare la presenza di sindrome metabolica nel LADA (1,2) si pongono d'altronde in accordo con i nostri dati, in quanto la sindrome metabolica in questi pazienti, seppur presente, risulta comunque meno prevalente che nel DM2. I dati circa il compenso metabolico ci mostrano come la HbA1c dei LADA e dei DM1 risulti più elevata rispetto ai DM2. Rispetto al LADA invece, la retinopatia diabetica nel DM1 risulta significativamente più frequente. Questo risultato è interpretabile alla luce della più giovane età di diagnosi e della minore riserva beta-cellulare del DM1 rispetto al LADA; uno studio effettuato sul DM1 ha mostrato infatti che gli individui con riserva beta-cellulare conservata avevano un livello minore di HbA1c e di complicanze microvascolari (proteinuria e retinopatia) rispetto ai pazienti con esaurimento beta-cellulare (3). La riserva beta-cellulare sembra quindi essere inversamente proporzionale alla prevalenza della retinopatia, come dimostrato anche nello studio del 1998 condotto dal "Diabetes Control and Complications Trial Research Group" (4). Rispetto al DM2, invece, la frequenza risulta essere simile, nonostante un BMI, e una prevalenza di sindrome metabolica significativamente inferiori. La stessa prevalenza di retinopatia, nonostante una minore prevalenza di fattori di rischio, potrebbe essere attribuita al peggiore grado di compenso metabolico dei LADA rispetto al DM2. Bisogna inoltre considerare che la diagnosi di DM2 spesso avviene tardivamente, anche dopo anni dall'inizio della patologia, poiché l'iperglicemia, seppur presente, si sviluppa gradualmente e, negli stadi iniziali, non è sufficientemente severa da portare ai classici sintomi del diabete mellito che conducono poi alla diagnosi. Questa fase "pre-clinica", che nei LADA è più breve poiché il tasso di distruzione delle beta cellule è più rapido rispetto al DM2, condiziona molto lo sviluppo delle complicanze micro vascolari (5-6). Conclusioni simili alle nostre erano state evidenziate nel lavoro di Isomaa et al. del 1999 (7), in cui nei pazienti LADA la retinopatia era significativamente meno frequente rispetto al DM1, ma non venivano evidenziate differenze significative con il DM2. La simile prevalenza di retinopatia tra i pazienti con LADA e quelli con DM2, questi ultimi negativi alla presenza degli anticorpi anti GAD, potrebbe dunque suggerire che la positività anticorpale di per sé non influenza lo sviluppo della retinopatia. Sempre nel lavoro di Isooma et al (7), la prevalenza della nefropatia appariva simile tra i tre gruppi di

pazienti. Conclusione differente veniva invece tratta nello studio di Arikan et al (8), in cui la presenza di microalbuminuria nei pazienti LADA era dell'84.6% contro una prevalenza del 50% nei pazienti con DM2. Nel nostro studio, come in quello di Isooma (7), non risulta essere presente alcuna differenza significativa tra i tre gruppi di pazienti riguardo alla presenza della nefropatia. Bisogna però sottolineare che tale risultato è probabilmente condizionato dalla ridotta numerosità dei dati a nostra disposizione. Al momento attuale possediamo ancora pochi dati circa la presenza di neuropatia autonoma nella nostra coorte di pazienti; ulteriori analisi saranno svolte a riguardo. Consideriamo infine le complicanze macroangiopatiche; a tal proposito, lo studio di Myhill et al del 2008 (9) non evidenziava nessuna differenza significativa nel confronto tra pazienti GADA positivi e GADA negativi, così come altri tre precedenti studi (7,10,11) non mostravano differenze significative tra la frequenza delle complicanze macroangiopatiche dei pazienti LADA rispetto ai DM2; nello studio olandese del 2006 di Romkens (12), invece, si evidenziava una prevalenza più bassa di ictus nei pazienti GADA positivi rispetto ai DM2. I nostri dati mostrano una prevalenza significativamente superiore di macroangiopatia nei pazienti con DM2, sia rispetto ai LADA che ai DM1; la spiegazione di tale risultato è da attribuire alla maggior presenza in questi pazienti delle caratteristiche proprie della sindrome metabolica, quali la dislipidemia (con più alti livelli di trigliceridi e più bassi di colesterolo HDL) il sovrappeso e l'ipertensione, fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo della macroangiopatia diabetica, nella sua localizzazione coronarica, cerebrale e periferica degli arti inferiori. E' necessario sottolineare la profonda differenza nella patogenesi delle complicanze microvascolari, quali la retinopatia, la nefropatia e la neuropatia, e macrovascolari, quali la cardiopatia ischemica, la vasculopatia cerebrale e l'arteriopatia periferica, soprattutto a livello degli arti inferiori. A parte le dimensioni del calibro arterioso, sono soprattutto i fattori di rischio che influenzano queste due forme di complicanze. Infatti mentre la microangiopatia riconosce soprattutto l'iperglicemia come fattore di rischio, per la macroangiopatia l'iperglicemia è solo uno dei fattori, essendo gli altri rappresentati prevalentemente dal fumo, dall'ipertensione arteriosa e dalla dislipidemia, oltre che da una predisposizione genetica. Inoltre gli studi epidemiologici attualmente a disposizione ci permettono di identificare la responsabilità stessa del diabete come un fattore che aumenta la prevalenza di lesioni macroangiopatiche di circa tre volte. Fondamentale infine evidenziare che, come mostra l'analisi logistica multivariata da noi svolta, la durata di malattia gioca un ruolo determinante nello sviluppo delle complicanze micro e macrovascolari, in ciascuna forma di diabete. Quest'ultimo dato trova riscontro in quasi tutti i precedenti lavori sinora svolti sulla valutazione delle complicanze croniche del LADA. In conclusione, lo studio enfatizza importanti differenze nello sviluppo delle complicanze croniche del diabete tra LADA, DM1 e DM2, con il LADA che si comporta come una forma di diabete

intermedia tra il DM1, le cui caratteristiche sono legate alla spiccata autoimmunità e all'esordio precoce di questa forma di diabete, e il DM2, il cui decorso e sviluppo risulta essere strettamente legato alla alta prevalenza delle condizioni cliniche caratteristiche delle sindrome metabolica. Certo è che sono fondamentali una repentina diagnosi di questa forma di diabete e l'individuazione di una terapia adeguata, volta soprattutto a preservare la residua funzione beta cellulare pancreatica e il raggiungimento di un controllo metabolico ottimale. L'incompleta conoscenza della storia naturale di questa forma di diabete non permette al momento attuale di definire quale possa essere l'atteggiamento terapeutico migliore. Sono quindi necessari ulteriori studi volti a fare luce sui meccanismi patogenetici e a chiarire quale sia la migliore forma di terapia per questi pazienti al fine di preservare il più a lungo possibile la funzionalità delle beta-cellule pancreatiche ed evitare o dilazionare lo sviluppo delle complicanze croniche del diabete.

- 1) Zinman B, Kahn SE, Haffner SM, O'Neill MC, Heise MA, Freed MI. The ADOPT Study Group. Phenotypic characteristics of GAD antibody-positive recently diagnosed patients with type 2 diabetes in North America and Europe. *Diabetes* 2004;53:3193-20
- 2) Hawa MI, thivolet C, Mauricio C, Alemanno I, Cipponeri E, Collier D, Hunter S, Buzzetti R, De Leiva A, Pozzilli P, Leslie PD. Metabolic Syndrome and autoimmune diabetes: action LADA 3, *diabetes Care* 2009; 32:160-164;
- 3) Sjoberg S, Gunnarsson R, Gjotterberg M, Lefvert AK, Persson A, Ostman J. Residualinsulin production, glycaemic control and prevalence of microvascularlesions and polyneuropathy in longtermtype 1 (insulin-dependent) diabetesmellitus. *Diabetologia* 1987;30:208-13;
- 4) The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1998;128:517-52;
- 5) Bongaerts BW, Rathmann W, Heier M, et al. Older subjects with diabetes and prediabetes are frequently unaware of having distal sensorimotor polyneuropathy: the KORA F4 study. *Diabetes Care* 2013; 36(5): 1141–1146;

- 6) Diabetes Prevention Program Research G. The prevalence of retinopathy in impaired glucose tolerance and recent onset diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabet Med* 2007; 24(2):137–144;
- 7) Isomaa B, Almgren P, Henricsson M, Taskinen MR, Tuomi IT, Groop L et al. Chronic complications in patients with slowly progressing autoimmune type 1 diabetes (LADA). *Diabetes Care* 1999;22:1347-53;
- 8) Arikan E, Sabuncu T, Ozer EM, Hatemi H. The clinical characteristics of latent autoimmune diabetes in adults and its relation with chronic complications in metabolically poor controlled Turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2005;19:254-8;
- 9) Myhill P, Davis WA, Bruce DG, Mackay IR, Zimmet P, Davis TME. Chronic complications and mortality in community-based patients with latent autoimmune diabetes in adults: the Fremantle Diabetes Study. *Diabet Med* 2008, 25:1245–1250;
- 10) Li X, Yang L, Zhou Z, Huang G, Yan X. Glutamic acid decarboxylase 65 autoantibody levels discriminate two subtypes of latent autoimmune diabetes in adults, *Chin Med J* 2003, 116:1728-1732;
- 11) Owen KR, Stride A, Ellard S, Hattersley AT. Etiological investigation of diabetes in young adults presenting with apparent Type 2 diabetes, *Diabetes Care* 2003, 26: 2008- 2093
- 12) Romkens TE, Kusters GC, Netea MG, Netten PM. Prevalence and clinical characteristics of insulin-treated, anti-GAD-positive, Type 2 diabetic subjects in an outpatient clinical department of a Dutch teaching hospital. *Neth J Med* 2006; 64: 114–118.

In fede
Chiara Moretti
Chiara Moretti