

a cura di Francesco Purrello

Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare, Università degli Studi di Catania

## La farmacogenetica della terapia ipoglicemizzante orale

Antonio Brunetti, Eusebio Chiefari

Dipartimento di Scienze della Salute, Cattedra di Endocrinologia,  
Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro

### SOMMARIO

L'esplosione pandemica del diabete mellito di tipo 2 (DM2), con le sue pesanti conseguenze socio-sanitarie ed economiche, rende impellente la necessità di approcci terapeutici sempre più efficaci. D'altro canto, gli interventi farmacologici attualmente disponibili nella cura dei pazienti diabetici mostrano un'ampia variabilità interindividuale nella risposta al trattamento farmacologico, sottolineando l'importanza di una terapia personalizzata (e per questo maggiormente efficace) per ogni singolo paziente. In tale ambito, sta acquisendo un crescente interesse la farmacogenetica, la disciplina che studia il ruolo dei fattori genetici nella risposta individuale al trattamento farmacologico. Le evidenze attuali indicano che i polimorfismi, o varianti genetiche, costituiscono potenziali fattori di rischio in grado di condizionare la risposta farmacologica e l'efficacia terapeutica degli ipoglicemizzanti orali attraverso meccanismi che implicano il coinvolgimento di proteine e/o enzimi coinvolti nella farmacocinetica e/o nella farmacodinamica di tali farmaci. Per esempio, varianti genetiche nei geni che codificano per i trasportatori di membrana della metformina sono implicate nella variabilità di risposta al trattamento con metformina che si osserva in alcuni pazienti diabetici; invece, le varianti genetiche nei geni che codificano per gli enzimi del citocromo P450 o per il canale del potassio ATP-sensibile sono responsabili della variabilità interindividuale di risposta alle sulfaniluree. La possibilità, in questi pazienti, di una terapia personalizzata sulla base del proprio profilo genetico rappresenta senza dubbio la sfida più ambiziosa ed affascinante della medicina moderna.

### INTRODUZIONE

Il diabete mellito di tipo 2 (DM2) è la patologia metabolica più diffusa al mondo, interessando, attualmente, oltre 380 milioni di individui (<http://www.idf.org>). La sua incidenza, in rapido e progressivo aumento, rappresenta una delle maggiori criticità sanitarie mondiali per i suoi risvolti sociali ed economici (1). La malattia si associa, infatti, a una miriade di comorbidità, esponendo il paziente al rischio di complicanze croniche micro e macrovascolari altamente invalidanti, quali la retinopatia, l'insufficienza renale e la malattia cardiovascolare (2), la cui gestione assorbe ingenti risorse finanziarie (1). Da qui la necessità di implementare strategie terapeutiche in grado di curare efficacemente la malattia diabetica, prevenendo la comparsa delle complicanze a lungo termine. Con tale finalità, l'Associazione dei Diabetologi Americani (ADA) pubblica annualmente le linee guida per la gestione pratica del paziente diabetico, elaborate sulla base delle più recenti acquisizioni fatte dalla ricerca clinica e di base (3), fornendo le indicazioni circa la scelta del trattamento farmacologico più appropriato (4). Questo approccio standardizzato, pur non risolutivo, ha determinato un sostanziale miglioramento nella cura del diabete, con riduzione della morbidità e della mortalità dei pazienti affetti (5-6). D'altro canto, la comune osservazione che i pazienti diabetici mostrano una grande variabilità nella risposta individuale al medesi-

mo trattamento farmacologico suggerisce l'importanza di una cura personalizzata, nella quale il trattamento più appropriato è indicato dalle peculiarità biologiche del singolo individuo (7).

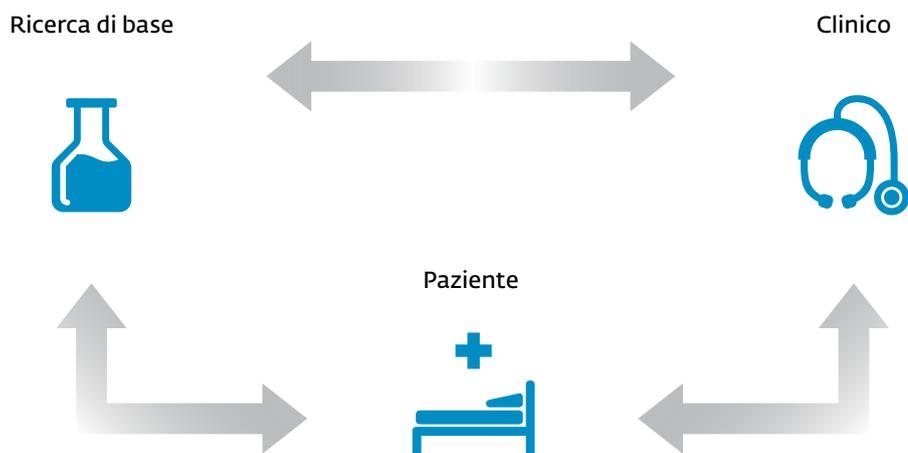
Il DM2 è una malattia multifattoriale, frutto di una complessa interazione tra fattori genetici predisponenti e fattori ambientali scatenanti (8). Se la componente ambientale, riconducibile essenzialmente alla ridotta attività fisica e all'iperalimentazione, è ampiamente documentata (8), lo studio della suscettibilità genetica si è, invece, rivelato molto ostico ed oneroso. L'introduzione del genome-wide association study (GWAS), nel 2007, ha consentito di studiare migliaia di singole variazioni del DNA (varianti genetiche) nell'ambito di quelle più comuni (minore frequenza allelica >5%) tra gli individui esaminati. Questa metodica, applicata a milioni di individui, ha portato all'identificazione di molteplici varianti genetiche associate al DM2 (9). Tuttavia, nessuna delle singole varianti sinora identificate è di per sé sufficiente a causare la malattia, ma è necessaria la combinazione di molte varianti genetiche tra loro (10-11). Tale combinazione (aplotipo) definisce il profilo genetico dell'individuo. Il fatto che la patogenesi del DM2 richieda il coinvolgimento di più geni in diversa combinazione tra loro, conferma che il DM2, lungi dall'essere una patologia geneticamente inquadrabile in poche forme, è costituito in realtà da un ampio numero di disordini diversi (11). Quindi, un particolare profilo genetico determina uno specifico fenotipo della malattia solo apparentemente identico ad un altro e, nel contempo, può essere responsabile della diversa risposta individuale ai farmaci e della diversa suscettibilità individuale ai loro effetti avversi.

Pertanto, chiarire i meccanismi molecolari riconducibili alla variante genetica è essenziale non solo per stabilirne il ruolo eziopatogenetico, ma anche per identificare nuovi bersagli terapeutici personalizzati. È questo l'obiettivo che si pone la farmacogenetica, una disciplina biomedica che mira a comprendere l'influenza della variabilità genetica sulla risposta individuale ai farmaci. Arricchita dalle più recenti acquisizioni scientifiche sul genoma umano, la farmacogenetica si inserisce, peraltro, nel più ampio contesto della medicina traslazionale che ha il compito di trasferire le informazioni ottenute nella ricerca biomedica pre-clinica alla pratica clinica, offrendo l'opportunità di trattamenti personalizzati sulla base della caratterizzazione molecolare del singolo paziente (Fig. 1).

#### LA FARMACOGENETICA

L'EMA (European Medicine Agency), il massimo organismo europeo di valutazione dei farmaci, ha definito la farmacogenetica come la scienza che studia le variazioni interindividuali nella sequenza del DNA in relazione alla risposta ai farmaci (<http://www.ema.europa.eu>). Essa nasce dall'osservazione clinica che individui affetti dalla stessa malattia non sempre rispondono in maniera univoca allo stesso trattamento farmacologico, sia in termini di efficacia terapeutica che di effetti collaterali o reazioni avverse indesiderate. Il suo obiettivo è quello di garantire una terapia personalizzata, su misura per ogni singolo individuo, in grado di ottimizzare l'efficacia e la sicurezza dei farmaci prescritti, prevenendo l'insorgere di problemi gravi e limitando le conseguenze sull'organismo. Già sul finire degli anni Cinquanta il termine "farmacogenetica" veniva

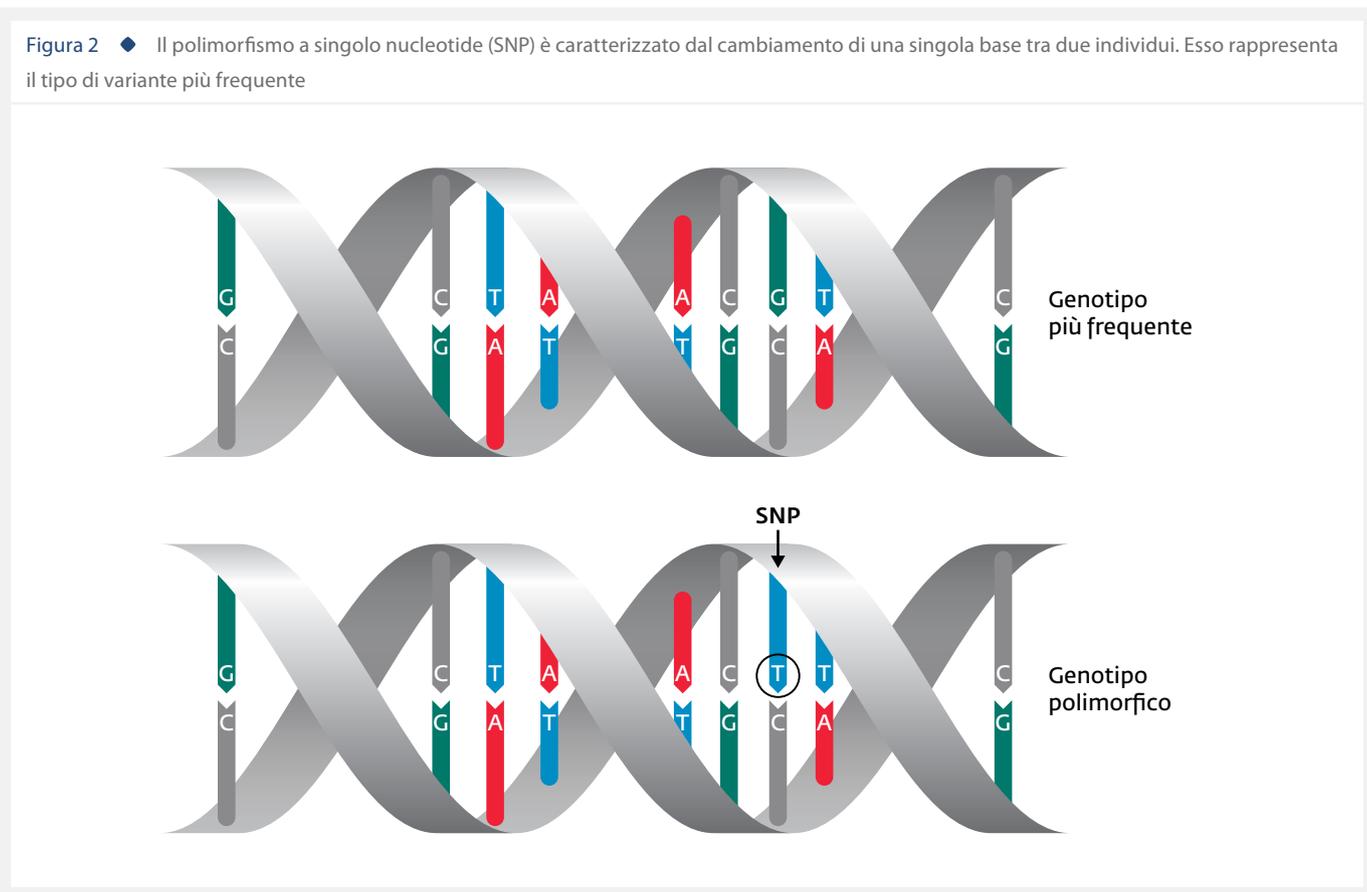
Figura 1 ◆ La medicina traslazionale si prefigge di connettere direttamente la ricerca di base con l'assistenza al paziente



coniato da Friedrich Vogel per indicare l'importanza della componente ereditaria nella risposta ai farmaci (12). Tuttavia, elementi di farmacogenetica si fanno risalire addirittura ai tempi dell'antica Grecia, allorquando era noto il rischio di crisi emolitica da favismo, ciò che in tempi più recenti veniva messo in relazione con un deficit genetico dell'enzima glucosio-6-fosfato-deidrogenasi. Le prime evidenze scientifiche sul ruolo delle varianti genetiche nella risposta farmacologica risalgono agli anni Settanta e riguardano l'enzima CYP2D6 della famiglia degli enzimi del citocromo P-450, che ha un importante ruolo nel metabolismo dei farmaci. Tali varianti sono in grado di modificare profondamente l'attività enzimatica, fino anche ad azzerarla, influenzando la velocità e l'efficacia del metabolismo di numerosi farmaci (13). Negli anni successivi, molte altre varianti sono state descritte a carico di geni appartenenti alla stessa famiglia. Tuttavia, non vi è dubbio che il maggiore contributo alla farmacogenetica derivi dal sequenziamento dell'intero genoma umano, realizzato nel 2003, il quale ha consentito di accertare che il 99% del DNA è identico per tutti gli esseri umani e che, pertanto, le differenze fenotipiche tra gli individui, così come la maggiore o minore suscettibilità alle malattie, nonché la variabilità interindividuale nella risposta ai farmaci, dipendono da varianti genetiche che riguardano meno dell'1% dei 3 miliardi di basi pari del DNA. Nella maggior parte dei casi tali varianti consistono nel cambiamento di una singola base nucleotidica e sono definite polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs, pronuncia "snips") (Fig. 2). La capacità che ha la variante di determinare variazioni qualitative e/o quantitative di una proteina è il presupposto di un suo ruolo etiopatogenetico e della possibilità di condizionare la risposta farmacologica e l'efficacia terapeutica di un farmaco attraverso meccanismi sia farmacocinetici che farmacodinamici. Sulla base di queste nuove acquisizioni, i GWAS hanno permesso di identificare numerose varianti genetiche in grado di condizionare sia l'efficacia terapeutica che l'insorgenza di reazioni avverse in seguito all'assunzione di farmaci (14-16).

#### FARMACOGENETICA DELLA METFORMINA

La metformina, in uso dal 1959, è il farmaco di prima scelta nel trattamento iniziale del DM2. Dopo somministrazione orale essa viene assorbita nel tratto gastrointestinale, si distribuisce rapidamente nei tessuti dell'organismo, ed escreta nelle urine in forma pressoché immo-



sulla membrana citoplasmatica di numerose cellule, in particolare intestinali, epatiche e renali (17). La risposta terapeutica alla metformina è altamente variabile e meno dei 2/3 dei pazienti trattati raggiunge il controllo glicemico (18). Ciò significa che l'identificazione delle varianti genetiche associate con tale variabilità costituirebbe un prerequisito fondamentale per l'efficace trattamento di questi pazienti. Tuttavia, gli studi sulla farmacogenetica della metformina sono relativamente limitati, soprattutto perché il suo meccanismo d'azione è ancora poco definito. Finora, la maggior parte degli studi, in questo ambito, ha riguardato il gene SLC22A1 il quale, codificando per la proteina di trasporto OCT1, svolge un ruolo fondamentale nell'assorbimento cellulare del farmaco (19). È stato dimostrato che polimorfismi di questo gene (R61C, rs12208357; G401S, rs34130495; M420del, rs72552763; G465R, rs34059508), riducendo la capacità funzionale di OCT1, sono in grado di alterare la biodisponibilità della metformina e di attenuare la sua risposta ipoglicemizzante in individui sani portatori di tali varianti, sottoposti a test da carico orale di glucosio (20-22). Un altro studio molto recente, ha invece evidenziato come due polimorfismi di SLC22A1 (rs628031 e rs36056065) siano associati ad effetti collaterali gastrointestinali in pazienti diabetici trattati con metformina (23). Nello stesso tempo, altri autori (24-25) hanno dimostrato come la biodisponibilità della metformina aumenti in individui sani portatori di varianti del gene SLC22A2, il quale codifica per il fattore di trasporto OCT2. Varianti di questo gene, essendo in grado di indurre un deficit funzionale del fattore OCT2, riducono la clearance della metformina, aumentandone le concentrazioni plasmatiche con rischio di eventi ipoglicemici.

Variazioni interindividuali nella risposta alla metformina sono state recentemente osservate in individui con varianti genetiche a carico dei geni che codificano per MATE1 (g.-66T C, rs2252281) e MATE2 (g.-130G A, rs12943590), implicati nell'estrusione della metformina nelle urine. Una maggiore risposta alla metformina, con riduzione dei livelli di emoglobina glicata HbA1c, è stata descritta in associazione con la variante rs2252281 nel gene SLC47A1 (26-29). Una ridotta risposta alla metformina è stata osservata, invece, nei pazienti carrier della variante rs12943590 nel gene SLC47A2 (28-29). Pertanto, questi risultati suggeriscono che le varianti genetiche di MATE1 e MATE2 sono importanti determinanti della risposta alla metformina nei pazienti diabetici trattati con questo farmaco. Il primo GWAS sull'efficacia glicemica della metformina ha dimostrato che la variante rs11212617 localizzata in prossimità del gene ATM (ataxia telangiectasia mutated) si associa più frequentemente con livelli di HbA1c <7,0% (30). La spiegazione di tale fenomeno risiederebbe nel ruolo che questo gene svolge nell'ambito della resistenza insulinica e del DM2.

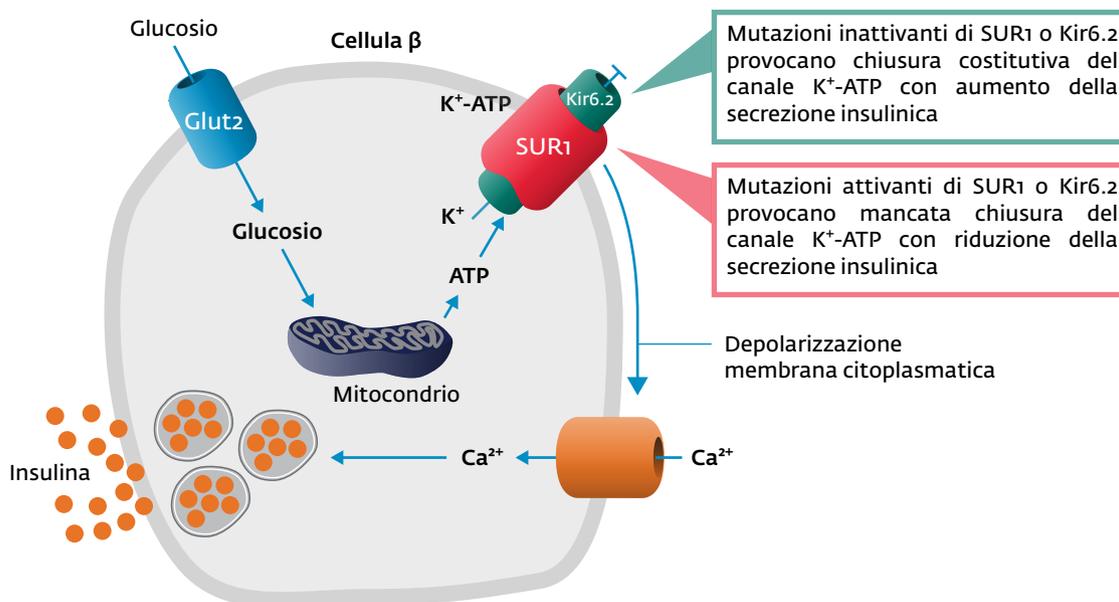
Pertanto, varianti genetiche di SLC22A1 e SLC22A2 sono importanti nell'azione terapeutica della metformina, potendo contribuire alla variazione interindividuale nella risposta al farmaco. Inoltre, la genotipizzazione di SLC22A1 e SLC22A2 è utile per predire l'efficacia terapeutica della metformina.

## FARMACOGENETICA DELLE SULFANILUREE

Nei caucasici le sulfaniluree sono metabolizzate principalmente a livello epatico ad opera del citocromo CYP2C9, deputato alla farmacometabolizzazione. Recentemente è stato dimostrato che polimorfismi del gene CYP2C9 influenzano significativamente la risposta farmacologica alle sulfaniluree (31), potendo determinare una riduzione dell'attività catalitica nel metabolismo di questi farmaci (32-36), con conseguente aumento della loro biodisponibilità nei pazienti diabetici trattati. In particolare, in alcuni pazienti diabetici con le varianti Ile359Leu e Arg144Cis, nel gene CYP2C9, la clearance della glibenclamide si riduce del 30-80%, rendendo necessario l'impiego di dosi minori di questo farmaco per evitare il rischio di ipoglicemia (31, 37-40). D'altra parte, uno studio su un'ampia popolazione ha confermato che la contemporanea presenza (o la presenza in omozigosi) delle varianti Ile359Leu e Arg144Cis, nel gene CYP2C9, è associata con un miglioramento dei markers del controllo glicemico, in particolare dei livelli di HbA1c (41). Pertanto, la genotipizzazione del gene CYP2C9 è utile per predire gli effetti negativi di tali farmaci e per aiutare il medico nella prescrizione degli ipoglicemizzanti orali.

In condizioni fisiologiche, l'ingresso del glucosio e il suo metabolismo nella cellula beta pancreatica determina un aumento della concentrazione intracellulare di ATP, favorendo la chiusura del canale del potassio ATP-sensibile (K-ATP) con conseguente depolarizzazione della membrana citoplasmatica, ingresso degli ioni calcio nella cellula e rilascio di insulina (Fig. 3). Il canale K-ATP è costituito da due proteine strutturali, quella esterna rappresentata dal recettore delle sulfaniluree (SUR1) e quella interna ATP-sensibile (Kir6.2) (42-43). Varianti genetiche inattivanti il gene KCNJ11, il quale codifica per la proteina Kir6.2, e il gene ABCC8, che codifica per SUR1, sono responsabili del diabete mellito neonatale. Al contrario, mutazioni attivanti di questi due geni provocano iperinsulinismo e ipoglicemia neonatale (44). Le mutazioni a carico di KCNJ11 rappresentano un esempio di farmacogenetica applicata alla personalizzazione della terapia. Infatti, recenti evidenze hanno dimostrato che i diabetici con mutazioni a carico di KCNJ11 rispondono più efficacemente alla terapia con sulfaniluree rispetto a quella con insulina (45-47). Il polimorfismo Glu23Lys (E23K) nel gene KCNJ11 è associato sia con un maggiore rischio di sviluppare DM2, sia con una ridotta risposta alle sulfaniluree (48). Sebbene i dati non siano così evidenti e univoci sull'effettivo ruolo di questa variante, uno studio recente ha confermato la sua associazione con una riduzione della secrezione insulinica e con un'aumentata sensibilità all'insulina, quale risultato di un'attivazione del canale K-ATP (49).

Figura 3 ◆ Canale del potassio ATP-sensibile (K<sup>+</sup>-ATP) della cellula β pancreatica



Un'associazione tra il polimorfismo Ser1369Ala nel gene ABCC8 e l'efficacia terapeutica della gliclazide è stata riscontrata in pazienti diabetici dopo due mesi di trattamento (50). Infatti, nei pazienti con genotipo Alanina/Alanina gli Autori osservavano sia una maggiore riduzione della glicemia plasmatica a digiuno e dopo 2 ore dal carico orale di glucosio, che una riduzione dei livelli di HbA1c rispetto ai pazienti con genotipo Serina/Serina (50). Da notare che le due varianti, E23K nel gene KCNJ11 e Ser1369Ala nel gene ABCC8, risultano spesso associate tra loro in linkage disequilibrium, formando un aplotipo che aumenta il rischio di sviluppare il DM2 (51). Inoltre, è particolarmente interessante l'osservazione che questo aplotipo mostra una sensibilità diversa agli effetti delle varie sulfaniluree: maggiore alla gliclazide, minore alla tolbutamide, clorpropamide e glimepiride, invariata alla glibenclamide e glipizide (52).

Risultati interessanti sono stati ottenuti dallo studio del gene TCF7L2, che codifica per un fattore di trascrizione che sembra essere importante nella funzione beta-cellulare. Varianti genetiche di questo gene aumentano di circa 1,5 volte il rischio di DM2 negli individui portatori della mutazione (9). In studi recenti è stata riportata l'associazione di 2 varianti del TCF7L2 [rs7903146 (G>T) e rs7903146 (C>T)] con l'efficacia terapeutica delle sulfaniluree (53-55). In particolare, la riduzione dei livelli di HbA1c e della glicemia a digiuno era maggiore nei pazienti diabetici portatori dei genotipi GG e CC delle 2 varianti (53-55). Invece, i pazienti diabetici col genotipo TT di entrambe le varianti mostravano una minore risposta alle sulfaniluree e andavano incontro più facilmente a fallimento terapeutico (53-55).

#### FARMACOGENETICA DEI TIAZOLIDINEDIONI (TZD)

Varianti genetiche in grado di influenzare la farmacogenetica degli ipoglicemizzanti orali sono state valutate anche in pazienti in terapia con TZD (pioglitazone e rosiglitazone). In qualità di agonisti del PPAR-g (peroxisome proliferator-activated receptor gamma), i TZD agiscono come insulino-sensibilizzanti, riducendo il rilascio epatico di glucosio e aumentando la captazione del glucosio nel muscolo (56). Il gene PPAR-g è stato ampiamente indagato negli studi di farmacogenetica dei TZD, tanto più che varianti di questo gene sono state associate ad un maggiore rischio di DM2 (9). Tuttavia, gli studi effettuati in questo ambito hanno dimostrato risultati contrastanti probabilmente perché presentavano un numero limitato di campioni esaminati (57). Simile discordanza è emersa dagli studi condotti sulle varianti genetiche del citocromo CYP2C8, responsabile della biotrasformazione del pioglitazone (57). Uno studio recente ha riportato una riduzione dell'effetto ipoglicemizzante del pioglitazone in pazienti diabetici portatori del polimorfismo Ser447X a carico del gene che codifica per la lipoprotein lipasi (58). Un altro studio ha evidenziato che la variante SNP-420 del gene della resistina potrebbe essere un predittore indipendente dell'efficacia terapeutica del pioglitazone sui livelli di glicemia basale e sui valori di HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment-Insulin Resistance) (59). Come è noto, l'impiego dei TZD è spesso gravato dalla comparsa di ritenzione idrica ed edema periferico, con aumentato rischio di insufficienza cardiaca congestizia (60). Pertanto, è evidente come la variante rs296766 del gene AQP2 che codifica per l'acquaporina-2 (il canale per l'acqua regolato dalla vasopressina), e la variante rs12904216 del gene SLC12A1 che codifica per un cotrasportatore Na-K-Cl, rappresentino entrambe un fattore di rischio per lo sviluppo di edema in pazienti in corso di trattamento con TZD (61).

#### FARMACOGENETICA DELLE METIGLINIDI

Le metiglinidi (repaglinide e nateglinide) agiscono legandosi al recettore SUR1, condividendo, quindi, lo stesso meccanismo d'azione con le sulfaniluree (62). La nateglinide è anch'essa metabolizzata da CYP2C9 e varianti genetiche di CYP2C9 risultano associate a variabilità dell'effetto ipoglicemizzante della nateglinide (63). La repaglinide è, invece, metabolizzata dai citocromi P450 CYP2C8 e CYP3A4 (64). Sebbene con risultati a volte contraddittori, varianti del gene CYP2C8 sono state associate ad una maggiore clearance della repaglinide (65). Il gene SLCO1B1 codifica per un polipeptide che funge da carrier di anioni organici (OATP1B1) e regola l'uptake epatico delle statine. Studi recenti, in questo ambito, hanno riportato il ruolo di alcune varianti del gene SLCO1B1 nella farmacocinetica delle metaglinidi (66-69). Una maggiore efficacia ipoglicemizzante della repaglinide è stata riscontrata in pazienti diabetici portatori delle varianti E23K nel gene KCNJ11 (70) e rs13266634 nel gene SLC30A8 (71). Allo stesso modo, i polimorfismi dei geni NEUROD1/BETA2, PAX4 (72) e UPC2 (73) sono risultati predittivi dell'efficacia ipoglicemizzante della repaglinide. Un'associazione della variante G2677 T/A nel gene MDR1, che codifica per una P-glicoproteina di trasporto, con la variabilità nella farmacocinetica della repaglinide è stata riscontrata recentemente in uno studio cinese, in volontari sani (74).

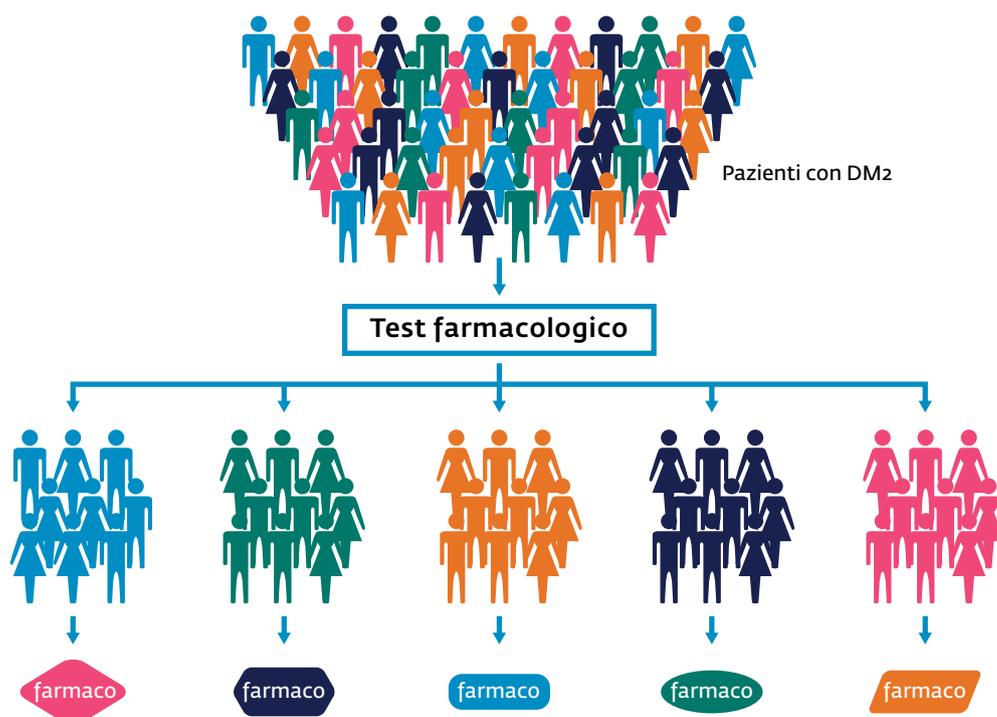
#### FARMACOGENETICA DELLE INCRETINE

Il GLP-1 (glucagon-like peptide-1) è un enterormone che stimola fisiologicamente la secrezione di insulina e viene rapidamente degradato dall'enzima DPP-IV (dipeptidil-peptidasi IV). Negli ultimi anni la ricerca farmacologica ha consentito di allestire una serie di molecole in grado di agire su questo meccanismo fisiologico. Oggi, esistono farmaci (exenatide, liraglutide) che mimano l'azione del GLP-1 e altri (gliptine) che bloccano il DPP-IV (75). Varianti genetiche del recettore del GLP-1 sono associate ad un'alterata sensibilità al GLP-1 (76). Inoltre, varianti del TCF7L2, KCNQ1 e wolframina 1 sono associate con la ridotta secrezione incretinica e la ridotta sensibilità recettoriale (77). L'unico studio significativo sulla farmacogenetica delle gliptine ha dimostrato che tre loci (TMEM114, CHST3 e CTRB1/2) influenzano la secrezione insulinica indotta dal GLP-1 durante clamp euglicemico (78).

## CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

La terapia personalizzata, basata sulle diversità genetiche di ogni individuo rappresenta una delle sfide più affascinanti della medicina moderna. I risultati ottenuti con lo studio delle varianti genetiche nei pazienti con DM2 potranno essere utilizzati per la realizzazione di un test farmacogenetico predittivo del tipo di risposta agli ipoglicemizzanti orali, che consentirà di personalizzare il trattamento del diabete sulla base del profilo genetico di ciascun paziente, migliorando globalmente la gestione della malattia e garantendo risultati migliori in termini di efficacia e sicurezza. L'implementazione clinica della farmacogenetica, attraverso l'identificazione delle varianti genetiche individuali, potrà fornire un'alternativa più razionale dell'attuale empirismo terapeutico, essendo in grado di individuare i soggetti responsivi ad una terapia piuttosto che ad un'altra, contribuendo ad evitare il fallimento farmacologico e riducendo parallelamente l'incidenza delle reazioni avverse di un farmaco (Fig. 4). Rimane aperta la questione relativa alla variabilità individuale di risposta ai farmaci determinata dalle modificazioni epigenetiche, come la metilazione del DNA, le modificazioni degli istoni e gli RNA non codificanti, in grado di influenzare l'espressione genica. Di questo sta iniziando ad occuparsi la farmacoepigenetica.

Figura 4 ♦ Test farmacogenetico. Attraverso l'identificazione di SNPs individuali è possibile selezionare i pazienti che rispondono ai farmaci specifici



BIBLIOGRAFIA

1. Zhang P, Zhang X, Brown J et al. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 87: 293-301, 2010.
2. Krolewski AS, Warram JH. Epidemiology of late complications of diabetes: a basis for the development and evaluation of preventive program. In: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, Jacobson AM eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*, New York, NY: Lippincott, Williams & Wilkins, 2005.
3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes–2011. *Diabetes Care* 34(Suppl. 1): S11-S61, 2011.
4. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB et al. Medical management of hyperglycemia in Type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 32: 193-203, 2009.
5. Hoerger TJ, Zhang P, Segel JE et al. Improvements in risk factor control among persons with diabetes in the United States: evidence and implications for remaining life expectancy. *Diabetes Res and Clin Pract* 86: 225-232, 2009.
6. Wang J, Geiss LS, Cheng YJ et al. Long-term and recent progress in blood pressure levels among U.S. adults with diagnosed diabetes, 1988-2008. *Diabetes Care* 34: 1579-1581, 2011.
7. Hamburg MA, Collins FS. The path to personalized medicine. *N Engl J Med* 363: 301-304, 2010.
8. Unger RH. Reinventing type 2 diabetes: pathogenesis, treatment, and prevention. *JAMA* 299: 1185-1187, 2008.
9. Brunetti A, Chiefari E, Foti D. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 5: 128-140, 2014.
10. McCarthy MI, Zeggini E. Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 9: 164-171, 2009.
11. Doria A, Patti ME, Kahn CR. The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* 8: 186-200, 2008.
12. Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd* 12: 52-125, 1959.
13. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG et al. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet* 2: 584-586, 1977.
14. Crowley JJ, Sullivan PF, McLeod HL. Pharmacogenomic genome-wide association studies: lessons learned thus far. *Pharmacogenomics* 10: 161-163, 2009.
15. Daly AK. Genome-wide association studies in pharmacogenomics. *Nat Rev Genet* 11: 241-246, 2010.
16. Moutsier-Reif AA, Jorgenson E, Relling MV et al. Genome-wide association studies in pharmacogenomics: successes and lessons. *Pharmacogenet Genomics* 23: 383-394, 2013.
17. Violette B, Guigas B, Sanz Garcia N et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* 122: 253-270, 2012.
18. Kahn SE, Haffner SM, Helse MA et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 355: 2427-2443, 2006.
19. Wang DS, Jonker JW, Kato Y, et al. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther* 302: 510-515, 2002.
20. Shu Y, Sheardown SA, Brown C et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest* 117: 1422-1431, 2007.
21. Shu Y, Brown C, Castro RA et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1, OCT1, on metformin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 83: 273-280, 2008.
22. Christensen MM, Brasch-Andersen C, Green H et al. The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenet Genomics* 21: 837-850, 2011.
23. Tarasova L, Kalnina I, Geldner K et al. Association of genetic variation in the organic cation transporters OCT1, OCT2 and multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein genes with the gastrointestinal side effects and lower BMI in metformin-treated type 2 diabetes patients. *Pharmacogenet Genomics* 22: 659-666, 2012.
24. Song IS, Shin HJ, Shim EJ et al. Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clin Pharmacol Ther* 84: 559-562, 2008.
25. Wang ZJ, Yin OQ, Tomlinson B et al. OCT2 polymorphisms and in-vivo renal functional consequence: studies with metformin and cimetidine. *Pharmacogenet Genomics* 18: 637-645, 2008.
26. Becker ML, Visser LE, van Schaik RH et al. Genetic variation in the multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein influences the glucose-lowering effect of metformin in patients with diabetes: a preliminary study. *Diabetes* 58: 745-749, 2009.

27. Jablonski KA, McAteer JB, de Bakker PI et al. Common variants in 40 genes assessed for diabetes incidence and response to metformin and lifestyle intervention in the diabetes prevention program. *Diabetes* 59: 2672-2681, 2010.
28. Choi JH, Yee SW, Ramirez AH et al. A common 5'-UTR variant in MATE2-K is associated with poor response to metformin. *Clin Pharmacol Ther* 90: 674-684, 2011.
29. Stocker SL, Morrissey KM, Yee SW et al. The effect of novel promoter variants in MATE1 and MATE2 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin. *Clin Pharmacol Ther* 93: 186-194, 2013.
30. Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC et al. Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nat Genet* 43: 117-120, 2011.
31. Becker ML, Visser LE, Trienekens PH et al. Cytochrome P450 2C9 \*2 and \*3 polymorphisms and the dose and effect of sulfonylurea in type II diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 83: 288-292, 2008.
32. Kirchheiner J, Bauer S, Meineke I et al. Impact of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tolbutamide kinetics and the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 12: 101-109, 2002.
33. Kirchheiner J, Brockmoller J, Meineke I, Bauer S et al. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 71: 286-296, 2002.
34. Elliot DJ, Suharjono, Lewis BC et al. Identification of the human cytochromes P450 catalysing the rate-limiting pathways of gliclazide elimination. *Br J Clin Pharmacol* 64: 450-457, 2007.
35. Kidd RS, Curry TB, Gallagher S et al. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics* 11: 803-808, 2001.
36. Wang R, Chen K, Wen SY et al. Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 78: 90-92, 2005.
37. Ragia G, Petridis I, Tavridou A et al. Presence of CYP2C9\*3 allele increases risk for hypoglycemia in Type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Pharmacogenomics* 10: 1781-1787, 2009.
38. Holstein A, Plaschke A, Ptak M et al. Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol* 60: 103-106, 2005.
39. Bozkurt O, de Boer A, Grobbee DE, et al. Pharmacogenetics of glucose-lowering drug treatment: a systematic review. *Mol Diagn Ther* 11: 291-302, 2007.
40. Distefano JK, Watanabe RM. Pharmacogenetics of Anti-Diabetes Drugs. *Pharmaceuticals (Basel)* 3: 2610-2646, 2010.
41. Zhou K, Donnelly L, Burch L et al. Loss-of-function CYP2C9 variants improve therapeutic response to sulfonylureas in type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Clin Pharmacol Ther* 87: 52-56, 2010.
42. Shyng S, Nichols CG. Octameric stoichiometry of the KATP channel complex *J Gen Physiol* 110: 655-664, 1997.
43. Winkler M, Stephan D, Bieger S et al. Testing the bipartite model of the sulfonylurea receptor binding site: binding of A-, B-, and A + B-site ligands. *J Pharmacol Exp Ther* 322: 701-708, 2007.
44. Flanagan SE, Clauin S, Bellanne-Chantelot C et al. Update of mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K(ATP) channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and sulfonylurea receptor 1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 30: 170-180, 2009.
45. Pearson ER, Flechtner I, Njolstad PR et al. Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *N Engl J Med* 355: 467-477, 2006.
46. Siklar Z, Ellard S, Okulu E et al. Transient neonatal diabetes with two novel mutations in the KCNJ11 gene and response to sulfonylurea treatment in a preterm infant. *J Pediatr Endocrinol Metab* 24: 1077-1080, 2011.
47. Dupont J, Pereira C, Medeira A et al. Permanent neonatal diabetes mellitus due to KCNJ11 mutation in a Portuguese family: transition from insulin to oral sulfonylureas. *J Pediatr Endocrinol Metab* 25: 367-370, 2012.
48. Sesti G, Laratta E, Cardellini M et al. The E23K variant of KCNJ11 encoding the pancreatic beta-cell adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channel subunit Kir6.2 is associated with an increased risk of secondary failure to sulfonylurea in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 2334-2339, 2006.
49. Villareal DT, Koster JC, Robertson H et al. Kir6.2 variant E23K increases ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel activity and is associated with impaired insulin release and enhanced insulin sensitivity in adults with normal glucose tolerance. *Diabetes* 58: 1869-1878, 2009.

50. Feng Y, Mao G, Ren X et al. Ser1369Ala variant in sulfonylurea receptor gene ABCC8 is associated with antidiabetic efficacy of gliclazide in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 31: 1939-4194, 2008.
51. Fatehi M, Raja M, Carter C et al. The ATP-sensitive K(+) channel ABCC8 S1369A type 2 diabetes risk variant increases MgATPase activity. *Diabetes* 61: 241-249, 2012.
52. Lang VY, Fatehi M, Light PE. Pharmacogenomic analysis of ATP-sensitive potassium channels coexpressing the common type 2 diabetes risk variants E23K and S1369A. *Pharmacogenet Genomics* 22: 206-214, 2012.
53. Schroner Z, Javorsky M, Tkacova R et al. Effect of sulphonylurea treatment on glycaemic control is related to TCF7L2 genotype in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 13: 89-91, 2011.
54. Pearson ER, Donnelly LA, Kimber C et al. Variation in TCF7L2 influences therapeutic response to sulfonylureas: a GoDARTs study. *Diabetes* 56: 2178-2182, 2007.
55. Holstein A, Hahn M, Korner A et al. TCF7L2 and therapeutic response to sulfonylureas in patients with type 2 diabetes. *BMC Med Genet* 12: 30. doi: 10.1186/1471-2350-12-30, 2011.
56. Chen L, Yang G. PPARs Integrate the Mammalian Clock and Energy Metabolism. *PPAR Res* 2014: 653017, 2014.
57. Becker ML, Pearson ER, Tkáč I. Pharmacogenetics of Oral Antidiabetic Drugs. *Int J Endocrinol* 2013: 686315, 2013.
58. Wang G, Wang X, Zhang Q et al. Response to pioglitazone treatment is associated with the lipoprotein lipase S447X variant in subjects with Type 2 diabetes mellitus. *Int. J Clin Pract* 61: 552-557, 2007.
59. Makino H, Shimizu I, Murao S et al. A pilot study suggests that the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 may be an independent predictor of a reduction in fasting plasma glucose and insulin resistance by pioglitazone in type 2 diabetes. *Endocr J* 56: 1049-1058, 2009.
60. Karalliedde J, Buckingham RE. Thiazolidinediones and their fluid-related adverse effects: facts, fiction and putative management strategies. *Drug Saf* 30: 741-753, 2007.
61. Chang TJ, Liu PH, Liang YC et al. Genetic predisposition and nongenetic risk factors of thiazolidinedione-related edema in patients with type 2 diabetes. *Pharmacogenet Genomics* 21: 829-836, 2011.
62. Yan FF, Casey J, Shyng SL. Sulfonylureas correct trafficking defects of disease-causing ATP-sensitive potassium channels by binding to the channel complex. *J Biol Chem* 281: 33403-13, 2006.
63. Kirchheiner J, Roots I, Goldammer M et al. Effect of genetic polymorphisms in cytochrome p450 (CYP) 2C9 and CYP2C8 on the pharmacokinetics of oral antidiabetic drugs: clinical relevance. *Clin Pharmacokinet* 44: 1209-1225, 2005.
64. Bidstrup TB, Bjornsdottir I, Sidelmann UG et al. CYP2C8 and CYP3A4 are the principal enzymes involved in the human in vitro biotransformation of the insulin secretagogue repaglinide. *Br J Clin Pharmacol* 56: 305-314, 2003.
65. Tomalik-Scharte D, Fuhr U, Hellmich M et al. Effect of the CYP2C8 genotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide. *Drug Metab Dispos* 39: 927-932, 2011.
66. Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ et al. The effect of SLCO1B1 polymorphism on repaglinide pharmacokinetics persists over a wide dose range. *Br J Clin Pharmacol* 66: 818-825, 2008.
67. Zhang W, He YJ, Han CT et al. Effect of SLCO1B1 genetic polymorphism on the pharmacokinetics of nateglinide. *Br J Clin Pharmacol* 62: 567-572, 2006.
68. Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ et al. Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *J Clin Pharmacol* 48: 311-321, 2008.
69. Kalliokoski A, Backman JT, Neuvonen PJ et al. Effects of the SLCO1B1\*1B haplotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *Pharmacogenet Genomics* 18: 937-942, 2008.
70. He YY, Zhang R, Shao XY et al. Association of KCNJ11 and ABCC8 genetic polymorphisms with response to repaglinide in Chinese diabetic patients. *Acta Pharmacol Sin* 29: 983-989, 2008.
71. Huang Q, Yin JY, Dai XP et al. Association analysis of SLC30A8 rs13266634 and rs16889462 polymorphisms with type 2 diabetes mellitus and repaglinide response in Chinese patients. *Eur J Clin Pharmacol* 66: 1207-1215, 2010.
72. Gong ZC, Huang Q, Dai XP et al. NeuroD1 A45T and PAX4 R121W polymorphisms are associated with plasma glucose level of repaglinide monotherapy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol* 74: 501-509, 2012.
73. Wang S, Se YM, Liu ZQ et al. Effect of genetic polymorphism of UCP2-866 G/A on repaglinide response in Chinese patients with type 2 diabetes. *Pharmazie* 67: 74-79, 2012.

74. Xiang Q, Cui YM, Zhao X et al. The Influence of MDR1 G2677T/a genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of repaglinide in healthy Chinese volunteers. *Pharmacology* 89: 105-110, 2012.
75. Umpierrez GE, Meneghini L. Reshaping diabetes care: the fundamental role of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and glucagon-like peptide-1 receptor agonists in clinical practice. *Endocr Pract* 19: 718-728, 2013.
76. Sathananthan A, Dalla Man C, Micheletto F et al. Common genetic variation in GLP1R and insulin secretion in response to exogenous GLP-1 in nondiabetic subjects: a pilot study. *Diabetes Care* 33: 2074-2076, 2010.
77. Smushkin G, Sathananthan M, Sathananthan A et al. Diabetes-associated common genetic variation and its association with GLP-1 concentrations and response to exogenous GLP-1. *Diabetes* 61: 1082-1089, 2012.
78. 't Haart LM, Fritsche A, Nijpels G et al. The CTRB1/2 locus affects diabetes susceptibility and treatment via the incretin pathway. *Diabetes* 62: 3275-3281, 2013.

a cura di Francesco Dotta<sup>1</sup>, Anna Solini<sup>2</sup>

<sup>1</sup>U.O.C. Diabetologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Università degli Studi di Siena; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Pisa

## Un caso di diabete autoimmune associato ad altre manifestazioni cliniche: presenza di una complicanza cronica o di un'altra patologia autoimmune?

Laura Salvi, Giuseppe Pugliese

Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare, Università "La Sapienza", Roma

Nel dicembre del 2006 giunge per la prima volta alla nostra osservazione la Sig.ra Mirella P., di anni 38, per il recente riscontro di iperglicemia (330 mg/dl).

Anamnesi familiare: padre affetto da diabete mellito tipo 2, ipertensione arteriosa e cardiopatia ischemica; madre affetta da tiroidite di Hashimoto; una sorella affetta da LES.

Anamnesi fisiologica: menarca a 13 anni, cicli di ritorno irregolari con amenorrea da circa 4 mesi. Nega gravidanze. Fuma 15 sigarette al giorno dall'età di 19 anni. Riferisce di svolgere attività fisica regolare (corsa 40 minuti 6 volte a settimana e tennis 3 volte a settimana).

Anamnesi patologica remota: tonsillectomia (1980).

Anamnesi patologica prossima: comparsa da circa un mese di una sintomatologia caratterizzata da poliuria, polidipsia e dimagrimento (5 kg) non attribuibile a cambiamenti dello stile di vita. La paziente riferisce inoltre il riscontro, circa 8 settimane prima, di una vulvovaginite da Candida, al momento in terapia con preparato topico a base di Clotrimazolo.

Esame obiettivo: altezza: 168 cm; peso: 57 kg; BMI: 20,2 kg/m<sup>2</sup>; circonferenza vita: 71 cm; HGT: 321 mg/dl; P.A.: 110/65 mmHg; F.C.: 76 bpm ritmica. Sottocute di spessore ridotto in tutti i distretti, muscolatura normotonica e normotrofica, cute ipoidratata. Nessuna alterazione degli altri organi e apparati.

Esami di laboratorio: per la comparsa dei sintomi di cui sopra il medico curante le aveva prescritto diversi esami di laboratorio che la paziente porta in visione e che risultano nella norma tranne: Emo-

globina glicata (HbA1c): 10,1%; Glicemia a digiuno 330 mg/dl; Esame delle urine: glicosuria ++, chetonuria tracce, miceti +.

Alla luce di questi dati, poniamo la diagnosi di diabete mellito.

### 1° QUESITO

#### Quali ulteriori esami richiedere per classificare il diabete e come impostare la terapia?

Considerando l'età, le caratteristiche antropometriche della paziente e la modalità d'esordio della malattia, pur avendo familiarità di I grado per diabete mellito tipo 2, è verosimile sospettare una forma di diabete autoimmune ad insorgenza nell'adulto. Per questo motivo, come primo approccio terapeutico, decidiamo di istituire un trattamento insulinico con analogo rapido Lispro ai pasti principali (4 UI colazione; 6 UI pranzo e cena) ed analogo ritardo Glargine la sera (10 UI). Dopo aver educato la paziente alla corretta somministrazione dell'insulina, al riconoscimento e alla correzione di eventuali episodi di ipoglicemia, all'automonitoraggio della glicemia capillare, le raccomandiamo di mantenere una corretta idratazione ed una dieta normoglicidica-lipidica-proteica a ridotto contenuto di zuccheri semplici. Consigliamo alla paziente di tornare in visita dopo 3 settimane e, nel sospetto di una forma di diabete autoimmune, richiediamo il dosaggio di GADA, IA-2, IAA, glicemia e C-peptide.

Per il trattamento della vulvovaginite da candida prescriviamo Miconazolo in ovuli.

Controllo ambulatoriale dopo 3 settimane

Peso: 57,9 kg; P.A.: 120/70 mmHg; F.C.: 70 bpm ritmica; HGT: 137 mg/dl.

Profili glicemici domiciliari: valori a target sia a digiuno che nel post-prandiale.

Gli esami di laboratorio mostrano i seguenti risultati: Esame delle urine: nella norma; C-Peptide: 1,1 ng/ml (vn 0,5-2,0); GADA: 15,6 UI (v.n. < 5); ICA, IA-2: negativi.

## 2° QUESITO

### Come classifichiamo questa forma di diabete mellito?

Considerando la positività dei GADA, confermiamo l'ipotesi diagnostica di una forma di diabete autoimmune dell'adulto. I marcatori sierologici di questo processo autoimmune, riscontrabili prima e al momento della diagnosi clinica di malattia, comprendono gli anticorpi anti-isola pancreatica (ICA), anti-GAD65 (GADA), anti-insulina, e anti-proteine simil-tirosin fosfatasi IA-2. Nel corso della storia naturale del diabete di tipo 1, gli eventi causali che conducono a morte cellulare possono agire in tempi e con intensità variabili, determinando un processo distruttivo rapido in alcuni soggetti, lento e graduale in altri. La forma a progressione rapida si osserva più comunemente nei bambini (diabete di tipo 1 dell'infanzia), ma può manifestarsi in qualsiasi età successiva (diabete di tipo 1 dell'adulto). Per la forma lentamente progressiva, più caratteristica anche se non esclusiva dei soggetti adulti, è stata proposta la denominazione di LADA (Latent Autoimmune Diabetes mellitus in Adults). Il termine LADA è stato introdotto per definire un sottogruppo di pazienti affetti da diabete mellito autoimmune che, a differenza del diabete tipo 1 dell'adulto, non necessita di trattamento insulinico, almeno nei primi sei mesi dalla diagnosi.

Programmiamo un nuovo appuntamento ambulatoriale a distanza di 4 mesi e chiediamo alla paziente di eseguire TSH, fT4, anti-TPO e anti-tireoglobulina per valutare la funzionalità tiroidea e l'autoimmunità tiroidea, EMA, tTG e IgA totali per lo screening della celiachia. Confermiamo la terapia in atto, ma dopo circa due settimane la paziente ci contatta telefonicamente per riferirci diversi episodi di ipoglicemia notturna avvenuti negli ultimi giorni. Le consigliamo pertanto di sospendere la somministrazione serale di Glargine.

## 3° QUESITO

### Quali esami richiedere e quando richiederli per eseguire lo screening di altre patologie autoimmuni eventualmente associate al diabete?

Secondo gli Standard italiani di cura per il diabete mellito, lo screening della malattia autoimmune della tiroide e della malattia celiaca deve essere eseguito alla diagnosi attraverso la determinazione di TSH, fT4, anticorpi anti-tireoglobulina e anti-tireoperossidasi (TPO), anti-transglutaminasi tissutale (tTG) (IgA e IgG) e anticorpi anti-endomisio (EMA). Annualmente è necessario controllare TSH, anticorpi anti-tiroide, tTG o EMA. In caso di tTG o EMA positivi in 2 occasioni è opportuno eseguire la biopsia duodenale che rimane il gold standard per formulare la diagnosi di celiachia. Relativamente allo screening delle altre patologie autoimmuni eventualmente associate, gli Standard di cura consigliano, nei pazienti con patologia autoimmune multipla, la ricerca degli anticorpi anti-surrene (anti-21-OH) e anticellule parietali gastriche (PCA).

Controllo ambulatoriale maggio 2007

Il peso è 58,6 kg.

La paziente porta in visione gli esami richiesti: HbA1c: 7,2%; Emocromo nella norma; Esame urine nella norma; Anti-TPO e Anti-Tg: negativi; TSH 2,1 UI/ml; fT4 1,2 ng/ml; EMA, tTG: negativi; C-Peptide: 1,0 ng/ml.

Nonostante il ripristino di un buon controllo glicemico, il recupero ponderale e la funzionalità tiroidea nella norma, la paziente lamenta la persistenza di amenorrea. A questo punto richiediamo esami di livello per la valutazione dell'amenorrea secondaria (FSH, LH, PRL ed 17-β Estradiolo).

Controllo ambulatoriale giugno 2007

Dopo circa 2 settimane la paziente porta in visione gli esami richiesti: FSH: 50 nUI/ml; LH: 34 mUI/ml; Estradiolo: 27,4 pg/ml; PRL: 14,8 ng/ml. In base ai risultati degli esami poniamo diagnosi di insufficienza ovarica prematura. Nel sospetto di un'eziologia autoimmune dell'insufficienza ovarica, richiediamo come indagine di II livello il dosaggio degli anticorpi anti-ovaio che risultano positivi.

Controllo DH febbraio 2010

La paziente torna in regime di Day Hospital per eseguire uno screening delle complicanze croniche del diabete. Lamenta astenia, scarsa concentrazione, irritabilità e soprattutto parestesie a livello degli arti inferiori.

Peso: 59,2 kg; P.A.: 125/70 mmHg; F.C.: 72 bpm ritmica; HGT: 108 mg/dl.

Profili glicemici domiciliari: valori a target sia a digiuno che nel post-prandiale.

In tale occasione, richiediamo anche gli esami di screening per manifestazioni autoimmuni associate che, essendo la paziente affetta da

due patologie autoimmuni, stavolta comprendono anche il dosaggio degli anti-21-OH e degli anti-PCA. I risultati mostrano: Glicemia 108 mg/dl; HbA1c: 6,9%; Emocromo: lieve anemia normocromica macrocitica (Hb 11,4 g/dl, Hct 34%, MCV 99; MCHC 29); Esame delle urine: nella norma; Anti-TPO e Anti-Tg: negativi; tTG ed EMA: negativi; TSH 1,6 UI/ml; fT4 1,1 ng/ml; Ab anti-21-OH: negative; Ab anti-PCA: positivi; Microalbuminuria su campione di urine del mattino: 6 mg/l; Creatinuria su campione di urine del mattino: 158 mg/dl; UACR: 3,8 mg/g; Fondo oculare: non segni di retinopatia diabetica; ECG: nella norma. All'esame obiettivo neurologico si rileva: VPT di 22 Hz all'alluce destro e di 20 Hz all'alluce sinistro; riflessi rotulei evocabili con rinforzo bilateralmente; presenza di riflessi achillei deboli bilateralmente; test del monofilamento alterato in 2 punti a destra e 3 punti a sinistra; sensibilità termica, tattile e nocicettiva nella norma bilateralmente; assenza di deformità del piede bilateralmente.

#### 4° QUESITO

**Qual è l'orientamento diagnostico? Possiamo concludere per una neuropatia diabetica o pensiamo ad una neuropatia in paziente diabetica?**

Una forma di polineuropatia assonale cronica può insorgere come complicanza cronica del diabete. Tuttavia, diverse condizioni sistemiche, metaboliche e tossiche possono essere responsabili di una neuropatia periferica anche in un paziente diabetico. Le cause più comuni comprendono l'ipotiroidismo e i deficit nutrizionali, come ad esempio la carenza di vitamina B12, che sospettiamo per la presenza di lieve anemia macrocitica. In caso di neuropatia periferica, il percorso diagnostico prevede la localizzazione della patologia a livello dei nervi periferici e l'identificazione della causa eziologica sottostante, incluse le cause potenzialmente trattabili. Per distinguere tra neuropatie assonali, demielinizzanti e miste possono essere utili gli esami elettrodiagnostici, come gli studi di conduzione nervosa (elettro-neurografia) e l'elettromiografia (EMG). L'elettro-neurografia valuta la forma, l'ampiezza, la latenza e la velocità di conduzione dei segnali elettrici trasmessi lungo il nervo in esame. Una lesione assonale determina una minore ampiezza del segnale, mentre le forme demielinizzanti determinano un allungamento della latenza ed un rallentamento della velocità di conduzione. L'EMG può individuare un danno assonale attivo, evidenziabile dalla presenza di un'attività elettrica spontanea delle fibre muscolari derivante dall'assenza di una regolazione nervosa (denervazione). Una potenziale limitazione degli studi elettrodiagnostici riguarda il fatto che questi esami sono in grado di valutare solo le fibre mielinizzate di grosso diametro. Il riscontro di una perdita della sensibilità (vibratoria, come nel caso della nostra

paziente) a livello delle estremità distali degli arti suggerisce una neuropatia periferica; lo stesso vale per il riscontro di una alterazione dei riflessi. Se dopo un'accurata anamnesi ed un approfondito esame obiettivo neurologico la diagnosi rimanesse ancora incerta, possono essere richiesti gli esami elettrodiagnostici.

A questo punto consigliamo di eseguire l'EMG con elettro-neurografia che mostra alterazioni suggestive di polineuropatia assonale sensitivo-motoria degli arti inferiori.

Richiediamo inoltre i dosaggi di: Vitamina B12: <150 pg/ml; Omocisteina: 19 µmol/l; VES: 22 mm/h; PCR: 0,8 mg/l; Acido folico (4 ng/ml v.n. > 3,1).

In base a questi risultati, poniamo diagnosi di carenza di vitamina B12. Una delle cause di ipovitaminosi B12 è la presenza di gastrite atrofica, che nella forma autoimmune si presenta nel 2,6-4% degli adulti affetti da diabete tipo 1. Il 15-25% degli adulti affetti da diabete autoimmune presenta positività agli anticorpi anti-PCA. In presenza di una seconda positività per anticorpi anti-PCA, per confermare la presenza di gastrite atrofica autoimmune, il gold standard è rappresentato dall'esame istologico su un campione biotoco prelevato tramite EGDS. Ripetiamo il dosaggio degli anti-PCA, che risultano nuovamente positivi, e consigliamo eseguire EGDS con biopsia, che conferma la presenza di gastrite cronica atrofica.

Sia l'anemia che la neuropatia possono pertanto essere ascritte alla carenza di vitamina B12. La paziente, infatti, dopo aver iniziato una terapia con supplementazione di Cianocobalamina (5.000 µg i.m. seguiti da 1.000 µg i.m. una volta a settimana) riferisce riduzione dell'astenia e miglioramento, fino alla scomparsa, delle parestesie.

#### Controllo ambulatoriale giugno 2014

Dopo anni di stabilità del quadro clinico e di laboratorio, la paziente chiede un controllo anticipato perché estremamente preoccupata. Da un paio di mesi riferisce malessere generale, astenia e diversi episodi di ipoglicemia che insorgono 1-2 ore dopo il pasto, seguiti da iperglicemia a circa 3-4 ore dal pasto.

Peso: 56,1 kg; PA: 110/70 mmHg; FC: 82 bpm ritmica; HGT: 106 mg/dl.

Porta in visione alcuni esami richiesti dal medico curante:

HbA1c 7,6%; Emocromo: lieve anemia ipocromica normocitica (Hb 10,1 g/dl, Hct 32%, MCV 83; MCHC 25; RDW 15%).

Terapia in atto: Insulina Glargine 8 UI die, Insulina Lispro 2 + 4 + 6. Cianocobalamina 1.000 µg i.m. una volta a settimana.

L'astenia e i frequenti episodi ipoglicemici potrebbero essere attribuiti alla presenza di insufficienza surrenalica ma una situazione di questo tipo si può presentare anche in caso di alterato transito gastrointestinale o di malassorbimento, condizioni che si associano ad aumentato rischio di ipoglicemia e in generale ad un più difficile controllo glicemico.

Decidiamo di organizzare diversi incontri educazionali con la paziente per rivedere il calcolo delle dosi di insulina da somministrare ai pasti in base al conteggio dei carboidrati e contemporaneamente programmiamo un nuovo screening delle complicanze croniche.

Dopo due settimane la paziente torna in ambulatorio portando in visione i profili glicemici, che mostrano ancora notevoli oscillazioni, nonostante abbia eseguito scrupolosamente il conteggio dei carboidrati.

## 5° QUESITO

### Qual è l'orientamento diagnostico?

Ancora una volta ci troviamo di fronte a manifestazioni cliniche che possono essere causate da patologie autoimmuni associate al diabete mellito, come il morbo di Addison o il morbo celiaco, oppure da una complicanza cronica del diabete stesso, come la gastroparesi diabetica, che comporta un'alterazione del transito e, conseguentemente, dell'assorbimento dei nutrienti. Riguardo alla prima ipotesi, è nota l'associazione tra diabete autoimmune e celiachia e anche tra diabete autoimmune e morbo di Addison. Alla diagnosi di diabete tipo 1, il 4,5% dei soggetti è affetto da celiachia e nel 90% dei casi la positività anticorpale per la celiachia si manifesta entro un anno dalla diagnosi di diabete, ma in una minoranza dei casi si può verificare più tardivamente. Gli anticorpi anti-21-OH, indicativi della possibile presenza del morbo di Addison, sono invece presenti nel 0,7-3% dei pazienti affetti da diabete tipo 1. La gastroparesi diabetica difficilmente si presenta in assenza di altre complicanze croniche e, soprattutto, di manifestazioni di neuropatia somatica o autonoma, ma va ricercata mediante indagini specifiche, perché la sua presenza non può essere esclusa in caso di normalità dei test per la neuropatia autonoma cardiovascolare. Inoltre, queste indagini sono invasive per il paziente e comprendono uno studio completo del transito con EGDS, RX con pasto baritato e scintigrafia gastrica con <sup>99m</sup>Tc.

#### Controllo ambulatoriale luglio 2014

Alla luce di quanto esposto, decidiamo di eseguire i seguenti esami: Anti-TPO e Anti-Tg: negativi; tTGlgA: positivi (40 UI/ml); TSH 1,8 UI/ml; ft4 1,0 ng/ml; Ab anti 21-OH: negative; Microalbuminuria su campione di urine del mattino: 10 mg/l; Creatinuria su campione di urine del mattino: 174 mg/dl; UACR: 5,7 mg/g; Fondo oculare: non segni di retinopatia diabetica; ECG: nella norma; Test cardiovascolari autonomici (deep breathing, lying to standing, Valsalva, ipotensione ortostatica): nella norma.

All'esame obiettivo neurologico si rileva: VPT di 15 all'alluce destro e di 11 all'alluce sinistro; riflessi rotulei evocabili bilateralmente; presenza di riflessi achillei evocabili bilateralmente; test del monofila-

mento nella norma bilateralmente; sensibilità tattile, termica e nocicettiva nella norma bilateralmente; assenza di deformità del piede bilateralmente.

A questo punto ripetiamo il dosaggio dei tTG IgA che risultano nuovamente positivi (24 UI/ml rispettivamente – v.n. < 4). L'assenza di segni di neuropatia e la positività degli anticorpi specifici per il morbo celiaco, ci sconsigliano di eseguire indagini specifiche per la gastroparesi e ci inducono a richiedere una biopsia duodenale, che rappresenta il gold standard per la diagnosi di celiachia. Il risultato è il seguente: "...atrofia dei villi di grado moderato associata ad iperplasia delle cripte ghiandolari, enterociti di superficie di altezza ridotta con brush-border irregolare (grado III b di Marsh-Obelhuber)".

Alla luce dei risultati della biopsia, prescriviamo una dieta priva di glutine e un controllo di tTG ed EMA a 6 mesi. Il ripristino di una mucosa intestinale normale dovrebbe garantire un adeguato assorbimento dei nutrienti con minori oscillazioni glicemiche.

## CONCLUSIONI

La paziente è affetta da sindrome polighiandolare autoimmune (APS) con diabete mellito autoimmune, insufficienza ovarica prematura autoimmune (che ha una prevalenza del 10-20% nell'ambito delle APS tipo 2 tipiche dell'età adulta), gastrite atrofica autoimmune con anemia perniziosa, e celiachia. Non esiste una sequenza specifica per la comparsa delle singole manifestazioni autoimmuni e la determinazione dei livelli di anticorpi circolanti diretti contro le ghiandole endocrine o i loro componenti è utile nella diagnostica delle malattie autoimmuni in un contesto di APS anche se tali anticorpi possono persistere per anni senza che il paziente sviluppi un'insufficienza endocrina o, viceversa, risultare inizialmente negativi per poi comparire nel corso degli anni.

Le complicanze del diabete, soprattutto quelle microvascolari, si possono presentare invece dopo almeno 5 anni dalla diagnosi nei pazienti con diabete di tipo 1, e sono più frequenti nei soggetti con C-peptide non dosabile o soppresso, come dimostrato da un'analisi post-hoc dello studio DCCT/EDIC (Lachin JM, McGee P, Palmer JP; DCCT/EDIC Research Group. Impact of C-peptide preservation on metabolic and clinical outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*. 2014; 63: 739-748). Nel caso della paziente, la durata di malattia era di 8 anni, ma i livelli di C-peptide all'esordio erano ancora nella norma, e lo screening della retinopatia e della nefropatia è risultato sempre negativo, pur se erano presenti delle manifestazioni cliniche che hanno generato il sospetto di una neuropatia. La presentazione clinica dei pazienti con APS è la somma dei quadri clinici dei singoli deficit endocrini e delle singole patologie autoimmuni non endocrine, e talvolta questi quadri presentano un corteo

sintomatologico simile a quello delle complicanze croniche del diabete. Per questo motivo è importante indagare in entrambe le direzioni nel caso in cui, nella storia di un individuo affetto da diabete mellito autoimmune, si presentino determinate alterazioni che possono essere attribuite all'una o all'altra causa.