

## Attività Diabetologica e Metabolica in Italia

### Riunione Annuale Congiunta AMD-SID Sezione Sardegna

Nuoro, 15-16 dicembre 2006

Comitato Scientifico: E. Cossu, G. Meloni, A. Pacifico, G. Pala

#### Riassunti

##### Valore predittivo della IFG 100 nella identificazione dell'alterata regolazione glicemica in una popolazione obesa in età evolutiva della Sardegna

Cambuli VM, Congiu T, Marras V, Musiu C, Cossu E, Loche S, Baroni MG

Dipartimento di Scienze Mediche Internistiche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo, Policlinico Universitario, Università di Cagliari; Servizio di Endocrinologia Pediatrica, Ospedale per le Microcitemie, Cagliari

**Introduzione.** I criteri diagnostici attuali per gli stati prediabetici secondo l'American Diabetes Association (ADA) prevedono come indicativa di *impaired fasting glycemia* (IFG) una glicemia a digiuno  $\geq 100$  mg/dl. La prevalenza di IFG in età pediatrica e adolescenziale obesa utilizzando tale soglia è del 17,8% negli USA, del 13,3% in Messico, del 2,4% in popolazioni europee. Il criterio IFG  $\geq 100$  mg/dl non è ancora universalmente accettato poiché in numerosi studi condotti su popolazioni adulte l'abbassamento della soglia da 110 a 100 mg/dl non ha portato, come si attendeva, a una maggiore sovrapposizione, in termini epidemiologici e di rischio cardiovascolare, con *impaired glucose regulation* (IGT). Nelle fasce d'età pediatrica e adolescenziale esiste un solo studio che ha preso in considerazione la predittività della nuova soglia IFG per IGT e diabete mellito (DM). Di fronte alla dilagante diffusione di sovrappeso e obesità e conseguentemente di diabete tipo 2 riscontrati in età evolutiva, appare di grande importanza capire quale test sia più utile nell'identificare precocemente le alterazioni del metabolismo dei carboidrati.

**Scopi del lavoro.** 1) Individuare precocemente, in tutti i bambini sovrappeso e obesi, alterazioni della tolleranza ai carboidrati (IGR), usando i criteri ADA 2003 (IFG  $\geq 100$  mg/dl); 2) valutare il valore predittivo di IFG  $\geq 100$  mg/dl per IGT o DM; 3) valutare nella popolazione studiata secrezione (HOMA-B%) e resistenza insulinica (HOMA-IR).

**Soggetti e metodi.** A partire da maggio 2006 tutti i bambini e ragazzi sardi con BMI  $\geq 85^{\circ}$  %ile afferenti per la prima volta al Servizio di Endocrinologia Pediatrica sono stati sottoposti a visita clinica, anamnesi, prelievo per routine ematochimica, OGTT (1,75 g di glucosio per kg di p.c. fino a un massimo di 75 g). I risultati sono stati calcolati come medie ( $\pm$  DS), mediane (+ range) o percentuali. Per il confronto tra medie si è utilizzato il test t di Student e per quello tra mediane il test di Mann-Whitney. I risultati sono stati assunti come significativi per valori di  $p < 0,05$ .

**Risultati.** Sono stati reclutati 62 soggetti (29 maschi e 33 femmine) di età media 10,9 anni (range 5-18). Di questi 30 erano prepuberi (Tanner 1) e 32 puberi (Tanner 2-5), 25 erano sovrappeso (BMI  $\geq 85^{\circ} < 97^{\circ}$  %ile) e 37 erano obesi (BMI  $> 97^{\circ}$  %ile). La glicemia media a digiuno era 96 mg/dl e l'insulinemia media 20,3  $\mu$ U/ml. Il 35,5% (22/62) presentava un qualche grado di

IGR. In particolare il 25,8% (n = 16) era IFG, il 4,8% (n = 3) IGT, il 3,2 (n = 2) presentava sia IFG sia IGT e infine in un caso (1,6%) era presente DM. La sensibilità di IFG per IGT è risultata essere del 40% con una specificità pari al 70%. Il potere predittivo positivo era dell'11%. In tabella sono riportati i risultati relativi al terzo scopo del lavoro.

	NGT	IFG	IGT	p
Glicemia 0'	91,33	103,13	96	0,0001 NGT vs IFG; NS NGT vs IGT; 0,0001 IFG vs IGT
Glicemia 120'	107	125,5	145	0,002 NGT vs IFG; 0,0001 NGT vs IGT; 0,009 IFG vs IGT
Insulinemia 0'	17,6	24,6	34,73	0,01 NGT vs IFG; 0,003 NGT vs IGT; NS IFG vs IGT
lnHOMA-IR	1,31	1,76	2,11	0,0001 NGT vs IFG; 0,002 NGT vs IGT; NS IFG vs IGT
HOMA-B%	100	99,8	111,2	NS NGT vs IFG; 0,02 NGT vs IGT; 0,01 IFG vs IGT

**Conclusioni.** Tra i bambini e gli adolescenti sovrappeso e obesi sardi c'è una prevalenza elevata (35,5%) di IGR e in particolare a IFG (25,8%). IFG  $\geq 100$  mg/dl tuttavia non predice adeguatamente IGT e DM, ma descrive comunque una popolazione iperinsulinemica e insulino-resistente, e quindi ad aumentato rischio. Nella popolazione studiata si osserva un *grading* delle alterazioni coerente con l'evoluzione del rischio per DM. I nostri dati indicano l'utilità dell'OGTT nel ricercare soggetti a rischio per implementare le opportune misure di prevenzione.

##### La malattia periodontale: studio caso-controllo con follow-up in pazienti diabetici tipo 2 sardi

Campus G, Salem A, Uzzau S, Carboni A, Manconi A, Baldoni E, Tonolo G

Clinica Odontoiatrica, Università di Sassari, UO Diabetologia ASL 2, Olbia

La periodontite si associa spesso al diabete mellito, tanto da poter essere considerata una delle tante complicanze croniche della malattia, sia nel diabete tipo 1 sia in quello tipo 2 (T2DM). Gli alti valori glicemici possono peggiorare la capacità difensiva della cavità orale favorendo la crescita batterica, così come la presenza di infiammazioni nel cavo orale può rendere più difficoltoso il mantenimento di un buon compenso metabolico. Questo studio caso-controllo è stato disegnato per valutare la possibile associazione tra diabete tipo 2 e i disturbi periodontali (clinici e microbiologici) in un gruppo di pazienti diabetici tipo 2 sardi. 212 soggetti hanno partecipato allo studio: 71 T2DM di età media  $61,0 \pm 11,0$  anni e 141 controlli non diabetici in buona salute di età media  $59,1 \pm 9,2$  anni. Tutti i soggetti sono stati esaminati dal punto di vista periodontale per la profondità delle tasche gengivali, presenza di calcoli, sanguinamento e determinazione

della placca. Da campioni ottenuti dalle tasche gengivali venivano identificati i seguenti microrganismi tramite la PCR (*multiplex polymerase chain reaction*): *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *T. forsythensis*. I pazienti T2DM mostravano un numero di denti significativamente inferiore rispetto ai controlli ( $p = 0,002$ ); un significativo aumento della presenza di tasche gengivali e una maggiore prevalenza di tasche gengivali superiori a 4 mm ( $p = 0,04$ ), una significativa maggiore prevalenza di periodontite ( $p = 0,046$ ), di sanguinamento dalle tasche gengivali ( $p = 0,02$ ) e di placca ( $p = 0,01$ ). Dai dati si può calcolare un'associazione significativa con il diabete per quanto riguarda le placche e il sanguinamento gengivale ( $\chi^2 = 4,46$ ;  $p < 0,05$ ;  $\chi^2 = 3,60$ ;  $p < 0,05$ ). Per quanto riguarda il rilievo dei microrganismi vi era un'associazione positiva con il diabete per quanto riguarda il *P. gingivalis* ( $\chi^2 = 2,80$ ;  $p < 0,05$ ) e il *T. forsythensis* ( $\chi^2 = 3,87$ ;  $p < 0,05$ ). La presenza di placche era associata positivamente allo status di diabete (odds ratio [OR] = 1,3; 95% [CI]: 1,2; 3,6) e alla prevalenza di *P. gingivalis* e *T. forsythensis* (OR = 1,2; 95% CI: 1,3; 2,2; e 1,2, 95% CI: 1,2; 1,8, rispettivamente). I pazienti ricevevano un trattamento esclusivamente meccanico per la periodontopatia e venivano rivalutati dal punto dei vista odontoiatrico dopo un follow-up di 24 mesi. Al follow-up i pazienti diabetici presentavano gli stessi valori basali di HbA<sub>1c</sub>, indicando nessun effetto apparente del trattamento dentale sul compenso metabolico glicemico. A parte il minor numero di denti che rimaneva, ovviamente, significativo rispetto ai controlli si rilevava un miglioramento della situazione dentale in circa il 69% dei pazienti con una riduzione della profondità delle tasche gengivali. Mentre al basale si notava un'associazione tra il livello di periodontite e il compenso metabolico glicemico (HbA<sub>1c</sub>) e il BMI, solo quest'ultimo rimaneva associato alla periodontite al follow-up. In conclusione, i pazienti T2DM hanno una maggiore suscettibilità ad avere forme più severe di periodontite rispetto alla popolazione non diabetica, il trattamento meccanico porta a un miglioramento della situazione buccale che tende a mantenersi nel tempo. Sia il compenso metabolico glicemico sia la situazione buccale nei pazienti diabetici tipo 2 sembrano essere in stretta relazione con la compliance verso il trattamento della malattia di base.

#### Il pane fermentato con pasta acida migliora il metabolismo glucidico postprandiale nei pazienti con ridotta tolleranza ai carboidrati (RTC)

Cherchi S, Sanna M, Pes GM, Dettori M, Tonolo G, Manca E, Farris GA, Maioli M

Cattedra di Malattie Metaboliche e del Ricambio, Servizio di Diabetologia, Istituto di Clinica Medica, Università di Sassari

**Obiettivo.** Scopo della ricerca è stato il confronto, in soggetti con ridotta tolleranza ai carboidrati (RTC), della risposta glicemica e insulinemica a un pasto misto contenente pane a pasta acida (preparato con uno starter contenente lievito *Saccharomyces cerevisiae* ceppo MM5.3 e vari lattobacilli in grado di produrre significative quantità di acido L- e D-lattico sino a una concentrazione finale di 400 mg/100 g) rispetto al consumo in quantità isoglicidica di un pane di riferimento ottenuto con solo *Saccharomyces cerevisiae*.

**Disegno dello studio e metodi.** Dodici pazienti con RTC (range di età 27-31 anni) sono stati arruolati in uno studio cross-over che prevedeva la somministrazione random di un pasto misto (60% carboidrati, 27% lipidi, 13% proteine, per un totale di 524 kCal) contenente pane fermentato per 8 ore con pasta acida e un pasto misto contenente pane di riferimento lievitato per 2 ore con comune lievito di birra. A distanza di una settimana gli stessi soggetti venivano sottoposti al test alternativo. La concentrazione di glucosio e insulina è stata misurata a digiuno e dopo 30, 60, 120 e 180 minuti dal pasto.

**Risultati.** Nei pazienti con RTC il pane fermentato con la pasta acida ha determinato una risposta glicemica a 30 e 60 minuti significativamente più bassa (-25%,  $p < 0,05$ ) rispetto al test effettuato col pane di riferimento. La risposta insulinemica seguiva un andamento analogo con picco significativamente più basso (-19%;  $p = 0,018$ ) entro la prima ora. Peraltro le differenze nella risposta glucosio/insulina scomparivano a distanza di 2 ore dal test pasto. L'analisi ultrastrutturale del pane mediante microscopia elettronica a scansione ambientale (ESEM) non ha messo in evidenza differenze sostanziali tra i due tipi di pane.

**Conclusioni.** I nostri risultati confermano che il pane fermentato con pasta acida è in grado di migliorare sensibilmente il metabolismo glucidico postprandiale nei soggetti con RTC e tale differenza è imputabile verosimilmente al maggior contenuto in acido L- e D-lattico prodotto durante il processo di fermentazione. Tuttavia, non si può escludere che l'azione fermentante dei batteri lattici abbia contribuito alla minore disponibilità di zuccheri semplici rispetto al pane fermentato con lievito di birra. Al contrario, l'assenza di differenze microstrutturali tra i due tipi di pane tende a escludere una diversa azione degli enzimi intestinali sull'amido. Tale tipo di pane potrebbe quindi assumere un ruolo fondamentale nel controllo della glicemia postprandiale nei pazienti con alterazioni della tolleranza ai carboidrati.

#### Ricerca di mutazioni mediante PCR-SSCP nel gene Beacon in bambini obesi

Congiu T, Cambuli VM, Sentinelli F, Prinzi A, Cossu E, Tuveri M, Loy E, Cocco S, Inchiani M, Baroni MG

Dipartimento di Scienze Mediche Internistiche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo, Policlinico Universitario, Università di Cagliari

**Introduzione.** Il gene Beacon (noto anche come UBL5) è stato inizialmente identificato perché differenzialmente espresso tra due gruppi di ratti (*Psammomys obesus* magri e obesi), un modello poligenico di obesità, diabete di tipo 2 e dislipidemia. In particolare l'espressione di Beacon nell'ipotalamo era positivamente correlata con la percentuale di massa grassa corporea. Inoltre, l'infusione intracerebroventricolare di Beacon risultava in un aumento dose-dipendente dell'accumulo di grasso, indicando che questo gene svolge un ruolo importante nella regolazione del bilancio energetico e nello sviluppo dell'obesità. In uno studio recente condotto su individui indo-mauriziani obesi, diabetici od obesi/diabetici è stato analizzato il gene Beacon per varianti genetiche. Sono state individuate 4 varianti di cui 2 associano con numerosi tratti legati alla sindrome metabolica: massa grassa, rapporto vita-fianchi, colesterolo totale, LDL, trigliceridi e insulinemia. Il gene omologo umano è localizzato sul cromosoma 19p13.2 ed è composto da 5 esoni per un totale di 2194 bp. Da studi di linkage sembra che la regione 19p13.2 contenga geni che influenzano tratti quali colesterolo totale, LDL e pressione arteriosa.

**Scopi del lavoro.** 1) ricercare varianti di sequenza nel gene Beacon; 2) valutare la presenza di associazione in una coorte di bambini con obesità.

**Soggetti e metodi.** Per il primo scopo un gruppo di bambini obesi è stato sottoposto a visita clinica e a prelievo per screening genetico mediante PCR-SSC MDE1X. Di ogni bambino sono stati inoltre raccolti i dati anamnestici e antropometrici dei genitori. Di fronte al riscontro di una variante di sequenza genica sono stati sottoposti alla stessa analisi genetica anche le famiglie del probando. Per il secondo scopo, su un nuovo gruppo di bambini obesi e su un numero equivalente di controlli, è stata valutata la distribuzione genotipica e allelica delle varianti individuate negli obesi del primo reclutamento.

**Risultati.** Sono stati reclutati 30 bambini obesi, di età media

10,38 ± 2,8 anni. Sono stati individuati 2 SNPs differenti, mai descritti in precedenza, in due bambini: -422T > C nella regione 5'-UTR e -860G > T nel promoter. L'analisi di segregazione nelle famiglie dei due bambini non ha rivelato segregazione delle varianti con l'obesità.

Sono stati reclutati altri 40 bambini obesi e 40 controlli per lo studio della distribuzione genotipica e allelica della variante -860G > T. L'analisi statistica dei risultati non ha evidenziato alcuna differenza significativa tra i polimorfismi trovati e la presenza di obesità, né per quanto riguarda la frequenza genotipica né per la frequenza allelica.

**Conclusioni.** L'analisi tramite PCR-SSCP non ha rivelato mutazioni significative all'interno del gene Beacon. Tale gene quindi non sembra essere implicato nella patogenesi dell'obesità in questa popolazione.

#### Utilità dello screening di marcatori per autoimmunità: case report

Erriu ICA<sup>2</sup>, Cocco S<sup>1</sup>, Congiu T<sup>1</sup>, Demelia L<sup>2</sup>, Baroni MG<sup>1</sup>, Cossu E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo; <sup>2</sup>Unità Operativa Complessa di Medicina Interna e Patologie Digestive, Policlinico Universitario, Università degli Studi di Cagliari

**Introduzione.** È noto che il diabete mellito di tipo 1 (T1DM), è spesso associato ad altre patologie autoimmuni come la malattia celiaca e la tiroidite autoimmune. La prevalenza della malattia celiaca, spesso asintomatica in età pediatrica e negli adulti affetti da T1DM, varia dallo 0,97 al 6,4%. Anche le tireopatie, in particolare modo la tiroidite autoimmune di Hashimoto, sono frequentemente associate alla malattia celiaca. È stato ipotizzato che il glutine sia l'antigene comune che innesca il meccanismo eziopatogenetico dell'associazione diabete mellito/malattia celiaca/tiroidite.

**Caso clinico.** La paziente M.A. di 43 anni, affetta da T1DM dall'età di 12 anni, con anamnesi negativa per familiarità diabetica, per tiroidite e per malattia celiaca, ex-fumatrice, modica bevitrice di alcol, con BMI 20,20, con media emoglobina glicosilata degli ultimi 2 anni pari a 5,91%, con diagnosi di retinopatia proliferante da 12 anni, attualmente in terapia con insulina rapida ai pasti e glargine, è seguita da 12 anni presso il Centro Diabetologico e Malattie Metaboliche del Policlinico Universitario di Cagliari.

Ha periodicamente effettuato screening per autoimmunità tiroidea risultato negativo fino al dicembre 2005, quando furono evidenziati alterati valori di anticorpi antiperoxidasi tiroidea (anti-TPO) pari a 40,14 mU/ml (v.n. < 35) con TSH, FT3, FT4 nella norma. L'ecografia tiroidea risultava priva di elementi patologici. Per l'insorgere di una sintomatologia caratterizzata da dispepsia lieve ed epigastralgia, e per il frequente riscontro di iposideremia, ha praticato lo screening per malattia celiaca. Sono stati evidenziati elevati valori di anticorpi antitransglutaminasi di tipo IgA pari a 16 UA/ml (v.n. < 7 UA/ml), e positività per gli anticorpi antiendomio (con titolo 1:25). Ha quindi praticato EGDS con biopsie in II e III porzione duodenale per la diagnosi di malattia celiaca. Il quadro endoscopico evidenziava la presenza di esofagite di grado A sec. Los Angeles, eritema gastrico; l'esame istologico mostrava la presenza di mucosa di intestino tenue normale. È stata quindi posta diagnosi di malattia celiaca latente (positività anticorpale e negatività all'esame istologico), da rivalutare con periodici esami di controllo.

La paziente, dietro sua esplicita richiesta, non è stata ancora posta in terapia con dieta aglutinata.

**Conclusioni.** Elevati valori autoanticorpali correlati alle tireopatie e alla malattia celiaca risultano di più frequente riscontro nei

pazienti affetti da T1DM, anche in assenza di sintomatologia tipica o di interessamento d'organo. Tali alterazioni immunologiche potrebbero essere il risultato di un comune meccanismo eziopatogenetico: il glutine, nei pazienti affetti da T1DM e geneticamente predisposti, potrebbe innescare ulteriori alterazioni di natura immunologica con produzione di autoanticorpi organo-specifici che nel tempo potrebbero esitare in danno d'organo permanente. Alcuni autori descrivono un calo del titolo degli anticorpi antiendomio, antitiroidite e specifici di T1DM, nei pazienti con malattia celiaca dopo l'esclusione del glutine dalla dieta. Altri studi hanno messo in evidenza che la tiroidite nei pazienti affetti da malattia celiaca regredisce dopo dieta aglutinata, con conseguente calo del titolo degli anticorpi antitiroidite. Nei pazienti affetti da T1DM è senza dubbio raccomandabile praticare lo screening per malattia celiaca e/o per tireopatie autoimmuni.

#### L'automonitoraggio glicemico nel paziente diabetico in dietoterapia

Lai A

Diabetologia Territoriale USL 3, Nuoro

**Introduzione.** L'autocontrollo della glicemia nel paziente diabetico si è dimostrato efficace nella gestione della malattia pur presentando delle evidenze diverse in base alla tipologia del trattamento. Infatti, mentre nel paziente con diabete di tipo 1 e in quello di tipo 2 insulino-trattato viene riconosciuto come parte integrante della terapia, nel paziente di tipo 2 non insulino-trattato la letteratura presenta risultati contrastanti e al momento ancora limitati.

**Scopo del lavoro.** Paragonare l'effetto sul compenso glicemico in due gruppi di pazienti di nuova diagnosi di diabete mellito di tipo 2, trattati con sola dietoterapia, differenti in base all'utilizzo o meno del controllo glicemico.

**Materiali e metodi.** I dati presentati sono preliminari. Al momento sono stati studiati 14 pazienti (7 maschi, 7 femmine) di età mediana di 56 anni, di nuova diagnosi di diabete di tipo 2 con glicata compresa tra 6 e 7, divisi progressivamente in ordine di visita in due gruppi (7 gruppo A e 7 gruppo B). I due gruppi al tempo zero avevano glicate medie di 6,47 e 6,35 e peso di 82 e 83 reciprocamente. Entrambi i gruppi hanno ricevuto indicazioni sull'alimentazione, sull'attività fisica e una dieta bilanciata ipocalorica, mentre per scelta non sono state incominciate terapie farmacologiche. Il gruppo A ha ricevuto l'indicazione all'autocontrollo glicemico da eseguire tre volte alla settimana con attenzione al digiuno al mattino e due ore dopo i pasti, mentre il gruppo B non ha ricevuto indicazione alla verifica della glicemia. I pazienti sono stati controllati dopo tre mesi.

**Risultati.** Ai tre mesi il gruppo A ha ridotto la sua glicata in media dello 0,25 ± 0,19 contro la riduzione del gruppo B 0,37 ± 0,18 (p = 0,29).

**Conclusioni.** La differenza della riduzione della glicata nei due gruppi a vantaggio del gruppo B non automonitorato non è risultata significativa. Questo risultato potrebbe trovare spiegazione nell'utilizzo dell'autocontrollo non come controllo della corretta terapia (vedi pazienti trattati farmacologicamente) con conseguente comportamento, ma come strumento di semplice verifica non capace in interferire con le scelte del paziente anzi paradossalmente con potenza negativa nel confortare una magari ridotta adesione alle indicazioni, condizione non possibile nel paziente non monitorato e forse per tale motivo più aderente alle indicazioni.

Un numero maggiore di pazienti è opportuno per verificare tale tendenza. Infatti, una maggior definizione nell'utilizzo del controllo glicemico è necessaria, considerando anche l'importanza dell'impatto economico determinato da tale procedura e giustificato solo da un effettivo beneficio in termini di salute.

### Epidemiologia del diabete mellito in Sardegna

Muntoni Sa<sup>1,2</sup>, Manca A<sup>3</sup>, Gentilini A<sup>3</sup>, Baule A<sup>3</sup>, Bianco P<sup>3</sup>, Muntoni Se<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Tossicologia, Sezione di Oncologia e Patologia Molecolare, Università degli Studi di Cagliari; <sup>2</sup>Centro per le Malattie Dismetaboliche e l'Arteriosclerosi, Associazione ME.DI.CO. Cagliari; <sup>3</sup>III Divisione Medicina e Servizio di Diabetologia, Ospedale SS Annunziata, Sassari

Il diabete mellito (DM) è una malattia metabolica in costante aumento in tutto il mondo, nonostante il fatto che la sua prevalenza sia tuttora sottostimata. Non di rado, infatti, in particolare per quanto riguarda il DM II, i sintomi sono quasi assenti e l'individuo può presentare a sua insaputa iperglicemie non gravi, ma che durano da anni determinando le complicanze dovute all'iperglicemia di lunga durata.

Lo scopo del presente lavoro è stato pertanto quello di misurare nella popolazione sarda, tramite uno studio effettuato a livello di popolazione, la prevalenza del DM (tipo I e tipo II) noto, della ridotta tolleranza glucidica (RTG) e del DM ignoto.

L'indagine è stata effettuata su una popolazione di 3097 individui (1941 maschi e 1156 femmine) proveniente da Ploaghe, Sorso, Sinnai, Maracalagonis e Pula. La fascia d'età era compresa tra i 20 e gli 80 anni di entrambi i sessi. A ciascun individuo è stato effettuato un prelievo di sangue venoso a digiuno per l'analisi dei principali parametri metabolici, sono state inoltre misurate le principali variabili antropometriche, ed è stato somministrato un questionario per la raccolta dei dati individuali, quali lo stile di vita, e familiari. Utilizzando le linee guida dell'American Diabetes Association (ADA), gli individui con una glicemia a digiuno  $\geq 126$  mg/dl sono stati considerati affetti da DM, mentre ai pazienti con valori glicemici tra 110 e 125 mg/dl è stata fatta diagnosi di RTG.

In 282 soggetti (9,1%) abbiamo riscontrato il DM, mentre in 210 persone una RTG (6,7%). I casi di DM ignorato erano 110 (3,6%). Entrambe le patologie correlavano con l'età dell'individuo, essendo infatti maggiormente presenti negli individui più adulti o anziani.

Questi risultati dimostrano come il DM sia una patologia presente anche in Sardegna. Dal momento che sia il DM tipo I sia il tipo II sono tipicamente malattie da interazione gene-ambiente, la prevenzione intesa sia come individuazione dei soggetti a rischio, ma soprattutto come modifica dello stile di vita, dovrà occupare uno spazio sempre maggiore nell'ambito delle attività sanitarie sarde.

### Valutazione della spesa energetica a riposo (REE) in soggetti con diabete di tipo 1, stimata attraverso i tassi di attività fisica in base al diario e confrontati col nuovo multisensore Sensewear Armband™

Pacifico A, Maioli L, Pes GM, Brundu A, Ruzzu S, Maioli M

Cattedra di Malattie Metaboliche e del Ricambio, Servizio di Diabetologia, Istituto di Clinica Medica, Università di Sassari

Il multisensore Sensewear Armband™ è un dispositivo indossabile recentemente immesso in commercio per la valutazione della spesa energetica a riposo (REE) e durante l'attività fisica. Inoltre lo strumento, essendo dotato di due accelerometri e una schiera di sensori cutanei, valuta il movimento compiuto da chi lo indossa e consente una stima dell'attività fisica compiuta.

**Obiettivo.** Lo scopo del presente lavoro è stato quello di 1) confrontare la REE rilevata mediante multisensore Armband™ con quella calcolata mediante l'equazione di Harris-Benedict (H-B) in pazienti affetti da diabete mellito tipo 1 (DMT1) e in soggetti di

controllo; 2) verificare se il metabolismo a riposo nei pazienti diabetici è influenzato dal valore della glicemia ottenuto mediante monitoraggio continuo con apparecchio "Guardian" (Medtronic®).

**Pazienti e metodi.** Sono stati reclutati 12 pazienti (2 F, 10 M) di età compresa tra 28 e 59 anni e BMI tra 21,93 e 36,05 affetti da DMT1. L'età media di insorgenza della malattia era di 24,5 anni e la sua durata oscillava tra 3 e 39 anni. Di essi, 6 praticavano terapia insulinica mediante infusore (somministrazione sottocutanea continua di insulina, SSC). Come controlli sono stati selezionati 12 soggetti di età compresa tra 28 e 65 anni, sovrapponibili per sesso e BMI. Dopo un periodo di digiuno di almeno 8 ore a tutti i partecipanti allo studio è stato praticato un prelievo di sangue venoso per gli esami ematochimici di routine (glicemia, creatininemia, emoglobina glicata, profilo lipidico e tiroideo). Veniva quindi applicato il multisensore Armband™ in corrispondenza dell'area tricipitale destra per una durata di 72 ore. Il metabolismo basale (MB) è stato inoltre calcolato mediante l'equazione di H-B che tiene conto dell'età, del peso e della statura [donne:  $655,095 + (9,563 \times \text{peso}) + (1,8496 \times \text{altezza}) - (4,6756 \times \text{età})$ ; uomini:  $66,473 + (13,7516 \times \text{peso}) + (5,0033 \times \text{altezza}) - (6,755 \times \text{età})$ ]. Le differenze tra i valori medi sono state analizzate mediante test *t* di Student a due code e l'analisi della correlazione è stata effettuata mediante costruzione dei diagrammi a dispersione e il calcolo del coefficiente di correlazione di Pearson (*r*). Le differenze venivano considerate statisticamente significative alla soglia di 0,05.

**Risultati.** Il confronto tra REE misurata dal multisensore Armband™ e il MB stimato mediante l'equazione di H-B ha messo in evidenza una correlazione molto elevata ( $r = 0,995$ ;  $p = 0,0001$ ) sia nei diabetici sia nei soggetti di controllo. Inoltre la REE nei diabetici non era influenzata dal valore della glicemia.

**Conclusioni.** I nostri dati permettono di affermare che il multisensore Armband™ è uno strumento affidabile per la determinazione della REE nel DMT1. Inoltre, benché i dati presentati siano da considerare ancora preliminari, si può escludere una influenza dei valori glicemici sul metabolismo a riposo nei pazienti affetti da DMT1. Considerate le altre caratteristiche dello strumento, riteniamo infine che esso sia molto utile per accertare lo stile di vita del paziente.

### Polimorfismi genetici dell'adducina in pazienti diabetici tipo 2 con pregresso ictus

Pala G, Carboni A, Manconi A, Manunta P, Tonolo G

Diabetologia Ospedaliera, Dipartimento Medicina, OC S. Francesco, Nuoro; UO Diabetologia, ASL 2 Olbia, Divisione di Nefrologia, Dialisi, Ipertensione, San Raffaele, Milano

La micromacroalbuminuria nel paziente diabetico tipo 2 è considerata un possibile marcatore di malattia cardiovascolare. Recentemente è stato inoltre ipotizzato che la microalbuminuria che precede lo sviluppo di proteinuria e d'insufficienza renale terminale (ESRD), sia dovuta a un'alterazione della barriera di filtrazione glomerulare a livello dei podociti. L'adducina è una proteina del citoscheletro presente nei pedicelli dei podociti e nei ratti congenici per la subunità beta dell'adducina la proteinuria è maggiore rispetto agli altri ceppi. Scopo dello studio è stato di valutare la distribuzione dei polimorfismi genetici delle varie isoforme dell'adducina: alfa (Gly/Trp ADD1, cromosoma 4), beta (C/T ADD2, cromosoma 2) e gamma (A/G ADD3, cromosoma 10) e la loro possibile associazione con l'evento ictus in una popolazione di diabetici tipo 2 (T2DM) del centro Sardegna. Sono stati valutati 411 pazienti T2DM: di cui 162 senza segni clinici di nefropatia diabetica e 242 con nefropatia incipiente stabilizzata.

	T2DM AER-	T2DM AER+	AER- vs AER+
N.	162	242	-
Età (anni)	69,4 ± 8,3	68,2 ± 10,3	0,067
Sesso (F/M)	82/80	104/138	0,19
BMI	28,3 ± 3,7	30,5 ± 5,8	0,0001
Fumo (Y/N)	32/130	61/181	0,18
Durata diabete (anni)	22,3 ± 6,1	15,3 ± 8,1	0,0001
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,50 ± 1,0	7,43 ± 1,3	0,46
Creatinina (mg/dl)	0,85 ± 0,3	0,94 ± 0,5	0,52
HT (Y/N)	92/70	156/86	0,095
Colesterolo T (mg/dl)	216,1 ± 41,1	223,6 ± 43,6	0,35
Colesterolo HDL (mg/dl)	51,6 ± 14,6	49,7 ± 12,5	0,28
Colesterolo LDL (mg/dl)	139,3 ± 36,2	143,3 ± 38,8	0,29
Trigliceridi (mg/dl)	126,2 ± 69,5	153,6 ± 89,1	0,0009
Diagnosi di ictus	10	14	-

Nelle popolazioni studiate l'equilibrio di Hardy-Wainberg per le tre adducine era rispettato. (ADD1 Gly/Gly 62%, Gly/Trp 32%, Trp/Trp 6%; ADD2 C/C 65%, C/T 30%, T/T 5%; ADD3 A/A 38%, A/G 45%, G/G 17%). L'analisi univariata su tutto il campione studiato, dopo correzione per i "fattori confondenti" (sesso, fumo, pressione arteriosa assetto lipidico, AER ecc.), evidenziava come i pazienti portatori di almeno un allele T per ADD2 avessero un rischio relativo di 2,8 volte superiore (C.I. 95% 1,25-6,45) di andare incontro a un ictus cerebrale. L'analisi di Kaplan-Meier riguardo l'evento ictus evidenziava un'associazione positiva su tutto il campione ( $p = 0,02$ ) e anche quando il campione era suddiviso per presenza o assenza di nefropatia incipiente ( $p = 0,017$  e  $p = 0,003$  rispettivamente). Non c'era associazione significativa dell'ictus con la presenza o meno di AER+ o di alcuna delle varianti genetiche analizzate con l'infarto miocardico. Questi risultati suggeriscono un possibile ruolo della beta-adducina nell'insorgenza di eventi cerebrovascolari nei pazienti con diabete mellito tipo 2.

#### Polimorfismo -1131T/C del gene APOA5 nel diabete di tipo 2: confronto tra la popolazione sarda e quella africana

Pes GM<sup>1</sup>, Makuyana D<sup>2</sup>, Tonolo G<sup>3</sup>, Errigo A<sup>3</sup>, Sechi G<sup>3</sup>, Maioli M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Sassari;  
<sup>2</sup>Università dello Zimbabwe, College of Health Sciences, Zimbabwe;  
<sup>3</sup>Istituto di Clinica Medica, Università di Sassari

L'ipertrigliceridemia è un'alterazione del metabolismo lipidico di frequente riscontro nei pazienti con diabete di tipo 2 (DMT2). Studi recenti, condotti prevalentemente nei Paesi del Sud-Est Asiatico, hanno riportato un'associazione tra il polimorfismo -1131T/C del gene APOA5 che controlla il metabolismo delle VLDL e valori elevati dei trigliceridi (TG) plasmatici sia nei pazienti con DMT2 sia nei soggetti con normale tolleranza ai glucidi, sia in condizioni basali sia dopo un pasto standard ricco di trigliceridi. Mentre nelle popolazioni asiatiche la frequenza della variante allelica -1131C è particolarmente elevata (~30%) nelle popolazioni di razza Caucasica tale frequenza è più bassa (10%), e l'allele C non sembra possedere l'effetto ipertrigliceridizzante nei diabetici. Al momento non è noto se in altre popolazioni non asiatiche con elevata frequenza dell'allele C e in altre popolazioni caucasiche sia presente lo stesso effetto.

**Obiettivi.** Verificare il ruolo del gene APOA5 quale fattore di rischio per la dislipidemia diabetica e confrontare la distribuzione

dei genotipi e delle frequenze alleliche del polimorfismo APOA5 -1131T/C in soggetti normali e affetti da DMT2 appartenenti a due popolazioni caratterizzate da notevoli differenze genetiche e ambientali, oltre che da una diversa distribuzione della variante allelica -1131C.

**Pazienti e metodi.** Sono stati reclutati 281 pazienti diabetici sardi e 236 pazienti diabetici provenienti dallo Zimbabwe con i rispettivi controlli. Questa popolazione centroafricana ha una frequenza più elevata dell'allele -1131C rispetto a quella sarda (18,8% vs 7,5%,  $p = 0,004$ ).

**Risultati.** Dopo aver stratificato i campioni delle due popolazioni per sesso ed età i livelli dei TG plasmatici non sono risultati più elevati tra i portatori dell'allele C rispetto ai non portatori, sia nei diabetici sia nel gruppo di controllo. In ambedue le popolazioni la percentuale di varianza dei TG basali attribuibile al polimorfismo APOA5 -1131C era inferiore al 3%. Inoltre in un sottogruppo di soggetti sardi portatori dell'allele C non è stato osservato un aumento significativo dei TG in risposta a un carico orale di lipidi rispetto a un gruppo senza l'allele C. Infine non sono state riscontrate evidenze di un'interazione statisticamente significativa tra i polimorfismi APOA5 e APOE.

**Conclusioni.** Benché siano necessarie ulteriori indagini per chiarire meglio il ruolo dei polimorfismi del gene APOA5 nei vari gruppi etnici, i nostri dati suggeriscono che la variante APOA5 -1131T/C non è un fattore di rischio per l'ipertigliceridemia nel DMT2. L'associazione positiva finora riportata in alcuni gruppi etnici non europei potrebbe avere un'origine diversa, non ancora identificata.

#### Il nuovo multisensore Sensewear Armband™ potrebbe essere un dispositivo utile per valutare lo stile di vita nei pazienti con ridotta tolleranza ai carboidrati nella pratica clinica

Pes GM, Ruzzu S, Maioli L, Brundu A, Pacifico A, Maioli M

Dipartimento di Scienze Biomediche; Cattedra di Malattie Metaboliche e del Ricambio; Servizio di Diabetologia, Università di Sassari

Il Sensewear Armband™ è un nuovo multisensore portatile recentemente immesso in commercio per la valutazione della spesa energetica a riposo (REE) e durante l'attività fisica. Inoltre lo strumento, dotato di due accelerometri, di termosensori cutanei e di misuratori della resistenza elettrica della cute, consente, attraverso una serie di algoritmi matematici implementati nel programma di controllo (Innerview Professional 5.0), una stima dell'attività fisica svolta.

**Obiettivi.** In un gruppo di pazienti affetti da ridotta tolleranza ai carboidrati (RTC): 1) è stata valutata la correlazione tra il metabolismo basale (MB) calcolato mediante l'equazione di Harris-Benedict e il metabolismo a riposo (MR) stimato mediante il multisensore Sensewear Armband™; 2) è stato confrontato il dispendio energetico dei pazienti ottenuto moltiplicando il risultato della formula di Harris-Benedict per i tassi di attività fisica (TAF) con il dispendio energetico calcolato con il multisensore Sensewear Armband™; 3) è stata verificata l'eventuale variazione dello stile di vita, inteso come attività fisica, tra il momento dell'arruolamento e il primo controllo dopo 30 giorni; 4) è stata verificata l'eventuale variazione della composizione corporea mediante bioimpedenziometria (BIA) dopo 30 gg dall'arruolamento.

**Casistica e metodi.** Sono stati arruolati 10 pazienti con diagnosi recente di RTC (diagnosticata mediante OGTT), di cui 4 erano femmine e 6 maschi, di età compresa tra 38 e 74 anni e con indice di massa corporea (IMC) tra 20 e 38 kg/m<sup>2</sup>. Tutti i pazienti, esenti da malattie epatiche e renali importanti, erano motivati e affidabili.

Dopo aver rilevato i parametri antropometrici ed ematochimici e aver eseguito un esame bioimpedenziometrico dopo un digiuno di almeno 8 ore, il multisensore è stato posizionato per 24 ore nell'area tricipitale superiore dx di tutti i partecipanti allo studio ed è stata loro richiesta la compilazione del diario alimentare di 7 gg (sulla base del quale è stato formulato lo schema dietetico personalizzato) e sono state impartite istruzioni per la compilazione di un diario dell'attività fisica. A distanza di 30 giorni dall'inizio della prescrizione del trattamento dietetico è stato ripetuto l'esame col multisensore e i dati registrati sono stati confrontati con quelli del diario dell'attività fisica. L'analisi statistica è stata effettuata mediante il test *t* di Student per campioni indipendenti e il calcolo del coefficiente di correlazione *r* di Pearson, con un valore soglia di significatività pari a  $p < 0,05$ .

**Risultati.** È stata osservata un'elevata correlazione ( $r = 0,997$ ;  $p = 0,001$ ) tra i valori del MR misurati con il multisensore e quelli calcolati mediante l'equazione di Harris-Benedict. I valori medi di attività fisica/24 ore al primo follow-up risultavano significativamente più elevati di quelli al momento dell'arruolamento (2734 vs 2453 kCal;  $p = 0,001$ ) ed erano correlati con la riduzione di peso ottenuta.

**Conclusioni.** Il multisensore Armband™ si è dimostrato uno strumento affidabile in quanto i dati da esso ottenuti non solo presentavano un'ottima correlazione col valore di MB calcolato in base alla equazione predittiva di H-B, ma anche con la spesa energetica giornaliera ricavata dalle TAF. Inoltre, la validità della registrazione dell'attività fisica da parte del multisensore è stata confermata dalla prevalente riduzione della massa grassa rispetto alla massa magra, confermando così l'effettiva adesione dei pazienti al programma terapeutico consigliato. Sulla base dei risultati ottenuti si ritiene di poter affermare che il multisensore Armband™ è uno strumento utile nella pratica clinica.

#### Sindrome metabolica e spessore medio-intimale: è solo una questione di millimetri?

Pisano L<sup>1</sup>, Perra F<sup>1</sup>, Nocco S<sup>1</sup>, Cossu E<sup>2</sup>, Cocco S<sup>2</sup>, Longu G<sup>1</sup>, Desogus A<sup>1</sup>, Manconi E<sup>1</sup>, Mercurio G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Cardiovascolari e Neurologiche;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche, Cattedra di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo, Policlinico Universitario, Università degli Studi di Cagliari

**Background.** La sindrome metabolica (SM) rappresenta un'aggregazione di fattori di rischio (FdR) cardiovascolare (CV) che induce o accelera l'aterogenesi. Elevati livelli plasmatici di dimetilarginina asimmetrica (ADMA), inibitore endogeno della NOS, sono stati osservati in pazienti portatori di CAD. È importante

riconoscere i segni più precoci della patologia arteriosa indotti dalla SM.

**Materiale e metodi.** 185 pazienti d'ambo i sessi, selezionati da una iniziale casistica di 200 individui, così suddivisi: I gruppo 117 pazienti affetti da DM con due o più caratteristiche dei criteri NCP III, (64 M, 53 D, età  $55 \pm 5$  aa), II gruppo 68 pazienti (36 M, 32 D età  $52 \pm 4$  aa) affetti da IGT con solo una delle caratteristiche indicate nell'NCP III. Misure effettuate: spessore medio-intimale (SMI) a livello delle carotidi comuni (CC, tratto medio e 1 cm dal bulbo); dosaggio dell'ADMA, test della riserva endoteliale.

**Risultati.** Sono stati analizzati il dosaggio dell'ADMA e lo spessore medio-intimale, quest'ultimo misurato in distretti meno frequentemente interessati da malattia aterosclerotica; si sono dimostrati significativamente più aumentati nel gruppo di pazienti malati ( $p < 0,001$ , con *t*-test). In un gruppo di 60 pazienti è stato effettuato il test della riserva endoteliale, misurata a livello brachiale, dimostratasi significativamente più ridotta nei pazienti del I gruppo.

**Discussione.** La misura dello SMI nelle sedi prescelte risulta immune dai fattori emodinamici di localizzazione. Il suo aumento in pazienti esenti da CAD, ma portatori di SM, potrebbe dimostrarsi, quando esteso a casistiche più ampie, una modalità innovativa e sensibile di screening del processo aterogenico. Le più elevate concentrazioni di ADMA riscontrate nei soggetti con SM rispetto ai controlli, nonché la loro positiva correlazione con il grado di ispessimento MI, si dimostrano un marker precoce quanto specifico di danno endoteliale, che anticipa gli altri segni, già noti, di lesione di parete arteriosa. Il test della riserva endoteliale sta confermando appieno i risultati finora ottenuti.

#### GADA positività in pazienti sardi adulti affetti da sindrome polighiandolare autoimmune

Prinzis A, Cambuli VM, Ghiani M, Cocco S, Strazzera A, Baroni MG, Cossu E, Mariotti S

Dipartimento di Scienze Mediche Internistiche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo, Policlinico Universitario, Università di Cagliari

**Introduzione.** Con il termine sindromi polighiandolari autoimmuni (*polyglandular autoimmune syndromes*, PGA) si indica quella condizione risultante dall'associazione in uno stesso individuo di almeno due malattie endocrine e non, a patogenesi autoimmune. Diversi studi hanno valutato la frequenza del diabete mellito tipo 1 (T1D) nei sottotipi di PGA (0-12% nella PGA I, 30-52% nella PGA II, 1-11% nella PGA III, variabile nella PGA IV). Il nostro gruppo ha precedentemente determinato che la prevalenza di diabete autoimmune in un gruppo di 70 poliendocrinopatici sardi adulti è circa del 35%, confermando i dati della letteratura internazionale per quanto concerne la prevalenza di diabete mellito tipo 1 nelle PGA II e IV e riscontrando una prevalenza nettamente superiore della malattia nelle PGA III (35,6% vs 11%). Considerata quindi l'elevata prevalenza del T1D nei poliendocrinopatici e considerato che il 15-20% dei soggetti affetti da una malattia autoimmune può, nel corso della vita, svilupparne un'altra, sarebbe utile determinare in tutti i pazienti affetti da PGA non clinicamente diabetici, la presenza di anticorpi contro specifici antigeni della cellula  $\beta$ -pancreatica. In particolare gli anticorpi anti glutammico acido decarbossilasi (GADA) sembrano i più adatti a individuare la presenza di diabete autoimmune a lenta insorgenza dell'adulto (LADA).

**Scopo dello studio.** Valutare la prevalenza di GADA in un gruppo di pazienti poliendocrinopatici non clinicamente affetti da T1D afferenti agli ambulatori del nostro centro.

**Soggetti e metodi.** In 39 su 46 (85%) pazienti non diabetici (5 maschi, 34 femmine, età media 43 anni con range 24-79) appartenenti al più ampio gruppo ( $n = 70$ ) di poliendocrinopati-

ci, si è proceduto al dosaggio della isoforma anti-GAD<sub>65</sub> attraverso metodica RIA (v.n. < 1 U/ml).

**Risultati.** Tre pazienti (7,6%) sono risultati GADA-positivi e il titolo riscontrato era in tutti e tre i casi elevato. Qui di seguito le caratteristiche dei tre pazienti:

- 1) donna; 62 anni, affetta da tiroidite di Hashimoto e vitiligo (PGA III); GADA = 79,19 U/ml;
- 2) donna; 55 anni, affetta da ipoparatiroidismo autoimmune, tiroidite di Hashimoto, artrite reumatoide, celiachia (PGA IV); GADA = 135 U/ml;
- 3) donna; 54 anni, affetta da tiroidite di Hashimoto e vitiligo (PGA III); GADA = 42,41 U/ml.

**Conclusioni.** La prevalenza di GADA-positività nella nostra coorte di pazienti sardi adulti poliendocrinopatici è risultata essere del 7,6%. In letteratura non sono presenti studi simili con i quali confrontarsi. Nei pazienti GADA-positivi è importante indagare la presenza di eventuali alterazioni del metabolismo glucidico in condizioni basali e dopo carico di glucosio e, qualora non siano presenti, eseguire un follow-up periodico. A nostro avviso è importante ampliare la coorte oggetto di studio per individuare un numero rilevante di soggetti positivi e caratterizzare quindi il fenotipo a rischio (sesso, età, malattie autoimmuni associate). In questo modo sarebbe possibile nella pratica clinica riservare il dosaggio dei GADA ai pazienti poliautoimmuni a maggiore rischio.

#### Prevalenza del diabete mellito in pazienti sardi affetti da epatite cronica da virus C

S. Solinas<sup>1</sup>, S. Cocco<sup>2</sup>, S. Acquas<sup>1</sup>, E. Cossu<sup>2</sup>, L.Chessa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Internistiche, Policlinico Universitario, Università degli Studi di Cagliari; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Mediche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo, Policlinico Universitario, Università degli Studi di Cagliari

La Sardegna rappresenta una regione con una prevalenza di infezione da HCV al di sopra della media nazionale, con elevata incidenza di cirrosi epatica ed epatocarcinoma correlati all'infezione da HCV. La nostra Isola è ai primi posti per incidenza e prevalenza del diabete mellito di tipo 1, mentre per il diabete mellito di tipo 2 (T2DM) è sovrapponibile ai dati nazionali e internazionali. Non esistono studi sull'incidenza e prevalenza del T2DM nei pazienti sardi affetti da infezione da HCV.

In considerazioni di ciò è stato intrapreso uno studio con lo scopo di valutare la prevalenza del T2DM nei pazienti affetti da epatite cronica da virus C (CHC).

Abbiamo studiato 502 pazienti (266 M, età media 56 ± 16 DS, BMI 25,7 ± 4,1 DS; 236 F, età media 61 ± 14 DS, BMI 25,7 ± 4,7 DS), affetti da CHC, che si sono presentati presso l'ambulatorio di Epatologia del Policlinico Universitario di Cagliari, dal 1 gennaio 2006 al 30 settembre 2006. Sono state valutate le comorbidità per ipertensione, obesità, ipercolesterolemia e su 410 pazienti (214 M, 196 F) è stato determinato il genotipo dell'HCV.

Dall'analisi degli esami ematochimici sono stati identificati 86 pazienti con T2DM (CHC-DM), 43 pazienti con alterata glicemia a digiuno (CHC-IFG), mentre 373 pazienti non presentavano alcuna alterazione del metabolismo glucidico (CHC). La coesistenza di ipertensione arteriosa è stata evidenziata in 178 pz (32,4%) di cui 72 M (27%) e 106 F (44,9%); obesità in 87 pz (17,3%) di cui 41 M (1,4%) e 46 F (16,5%); ipercolesterolemia in 138 pz (25,1%) di cui 59 M (22,2%) e 79 F (33,5%). L'assunzione abitudinaria di bevande alcoliche riguardava 284 pz (56,6%), 197 M (74%) e 87 F (36,9%) che, considerando la preliminarità dei risultati, non è stata distinta per quanto riguarda l'entità.

L'analisi della varianza per l'età tra i tre gruppi è risultata altamente significativa ( $p < 0,0001$ ); i confronti tra i gruppi (CHC-DM e CHC-IFG con CHC) secondo il test di Newnam-Keuls, ha evidenziato in ambedue i casi un'alta significatività ( $p < 0,001$ ), mentre il confronto tra l'età media dei CHC-DM e dei CHC-IFG ha messo in evidenza  $p < 0,05$ .

L'analisi della varianza per il BMI tra i tre gruppi ha evidenziato una  $p < 0,05$ .

Per quanto riguarda la familiarità per DM, il confronto tra CHC-DM e CHC è risultato  $p < 0,0004$ . I pazienti CHC-DM ipertesi (61,6%) vs CHC ipertesi (29%) hanno evidenziato  $p < 0,0001$ , mentre CHC-DM ipertesi vs CHC-IFG (39,5%) ipertesi  $p < 0,03$ . Il confronto tra i tre gruppi riguardante l'assunzione di bevande alcoliche ha messo in evidenza  $p < 0,0001$  tra CHC-IFG vs CHC. Anche il confronto tra i CHC-DM vs CHC è risultato ai limiti della significatività ( $p < 0,04$ ).

Per quanto riguarda l'analisi dei genotipi, i più rappresentati sono risultati i genotipo 1 (61,2%), seguiti dai genotipo 2 (13,9%), dai genotipo 3 (13,4%) e infine dai genotipo 4 (11,4%). L'analisi della distribuzione dei genotipo tra i tre gruppi ha rivelato una  $p < 0,0001$  nella percentuale dei genotipo 1 tra CHC-DM (79,1%) e CHC (56,5%); il genotipo 3 è risultato più frequente nei CHC (16%) vs CHC-DM (3%), con  $p < 0,002$ .

I nostri risultati hanno rivelato una prevalenza di T2DM del 17,1%, in contrasto con i dati della letteratura riportati in altri studi internazionali che evidenziano una prevalenza di T2DM in pazienti con CHC dell'8,7%.

Dai risultati si evince poi che i pazienti diabetici hanno un'età media significativamente più elevata rispetto ai pazienti che non presentano alterazioni del metabolismo glucidico e, in minor misura, anche rispetto ai pazienti con alterata glicemia a digiuno.

La percentuale di genotipo 1 nei CHC-DM è risultata del 79,1% contro il 38% dei dati della letteratura, mentre il genotipo 3, normalmente associato a quadri di steatosi epatica, presenta una bassissima prevalenza (3%). In considerazione della preliminarità dei dati, non è possibile trarre delle conclusioni definitive riguardo al reale significato statistico di questi risultati.

#### La simvastatina mantiene i parametri del GRF e migliora la AER e l'espressione delle proteine dello slit diaphragm in pazienti diabetici tipo 2

Tonolo G, Manconi A, Carboni A, Velussi M, Morgia G, Satta A, Faedda R, Abhyankar A, Luthmann H, Nosadini R

UO Diabetologia ASL 2, Olbia, Università di Sassari e Università di Lund (Svezia)

In precedenza abbiamo dimostrato che la terapia con statine (sia simvastatina sia atorvastatina) è in grado di: 1) ridurre l'escrezione urinaria di albumina in pazienti diabetici tipo 2 normotensi microalbuminurici (Diab Care 1997), 2) ridurre l'escrezione urinaria di albumina, e la pressione arteriosa in pazienti diabetici tipo 2 microalbuminurici e ipertesi (Eur J Clin Invest 2000), 3) ridurre l'escrezione urinaria di glicosaminoglicani in pazienti diabetici tipo 2 ipertesi (SID Roma 2004); tutti questi effetti sono indipendenti dalla riduzione del colesterolo LDL (Neph Dial Transp 2003). In questi studi non era stato possibile valutare modificazioni significative del filtrato glomerulare. Abbiamo anche dimostrato che in pazienti diabetici tipo 2 si osserva costantemente una riduzione della espressione del mRNA delle proteine dello slit diaphragm (Diabetes 2005, 2006). I fattori che determinano l'evoluzione del filtrato glomerulare (GFR), dell'escrezione di albumina e della espressione del mRNA delle proteine dello slit diaphragm (SD) e dei podociti nei pazienti diabetici tipo 2 ipertesi e microalbuminurici, non sono al momento chiari. Abbiamo valutato GFR, AER e l'espressione del mRNA delle proteine dello SD in 86 diabetici tipo 2 ipertesi microalbu-

minurici (AER+) basamente e dopo un periodo di 4 anni durante il quale i pazienti ricevevano in doppio cieco simvastatina 40 mg/die (gruppo 1) o colestiramina (gruppo 2). Sia il gruppo 1 sia il gruppo 2 avevano mostrato nei 2-4 anni precedenti un decadimento medio del GFR di 3 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Ambedue i gruppi hanno mostrato una riduzione significativa del colesterolo LDL sia dopo simvastatina sia dopo colestiramina ( $p < 0,01$ ). I valori di hs-PCR e di interleukin-6 non mostravano differenze significative nei due gruppi indipendentemente dal trattamento, mentre solo dopo simvastatina si osservava un significativo calo dell'escrezione urinaria di 8-hydroxydeoxyguanosine. Al termine del trattamento con simvastatina non si osservava nessuna modificazione significativa del GFR che invece calava al termine del trattamento con colestiramina (simvastatina vs colestiramina:  $-0,21$  vs  $-2,75$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>,  $p < 0,01$ ). L'AER diminuiva nel gruppo 1 ( $p < 0,01$ ), ma non nel gruppo 2. La misurazione tramite RT-PCR (*real-time-polymerase chain reaction*) dell'espressione del mRNA di alcune delle proteine dello SD (CD2AP, FAT, Actn 4, NPHS1 e NPHS2) mostrava valori più elevati nelle biopsie renali ottenute dai soggetti trattati con simvastatina, rispetto a quelle ottenute dai pazienti trattati con colestiramina. La simvastatina, ma non la colestiramina, stabilizza durante il trattamento per 4 anni i parametri di funzionalità renale (GFR), migliora la AER e l'espressione delle proteine dello SD in pazienti diabetici tipo 2 ipertesi microalbuminurici, nonostante gli effetti simili ottenuti sul colesterolo LDL dai due trattamenti.

#### Etnomedicina sul diabete

Zanda M<sup>1</sup>, Pala G<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina, "Ospedale San Francesco" Nuoro; <sup>2</sup>Diabetologia Ospedaliera, Dipartimento di Medicina, "Ospedale San Francesco", Nuoro

La malattia è uno degli eventi più personali che coinvolgono l'individuo e allo stesso tempo il sociale, determinando, in ogni società, pratiche e rappresentazioni peculiari.

Attualmente una certa parte della medicina tenta di aprire la propria esperienza fino a comprendere il discorso antropologico. Secondo questa prospettiva anche la medicina, come tutti i sapere dell'uomo, è legata al contesto storico e socioculturale in cui nasce, per cui non è possibile considerare la malattia solo dal punto di vista biologico, perché a "creare" la persona malata non contribuiscono solo fattori organici, ma anche fattori culturali.

La malattia in generale e il diabete soprattutto è per certi versi oggetto di conoscenza medica (*disease*) e per altri, oggetto di esperienza e significato dove storia e relazioni sociali segnano la "traccia" (*illness*).

Il nostro lavoro sul diabete come malattia cronica si focalizza sull'analisi degli aspetti più profondi della sofferenza del corpo e dell'esperienza della malattia, dalla ricerca di senso che l'individuo opera per ricostruire la realtà.

La nostra ricerca si è focalizzata sul diabete mellito, una malattia cronica che interessa tutte le fasce di età, coinvolgendo l'individuo, sia personalmente sia nelle sue relazioni col mondo circostante. I disturbi che accusano tali individui infatti sono espressi nella stessa maniera in cui vengono elaborati nel contesto familiare e nella rete di relazioni dell'interessato. Dai dati raccolti da 20 pazienti intervistati emerge che tutti rifiutano la condizione di malattia per paura di essere "stigmatizzati" dagli altri. Attraverso le parole si evidenzia come il diabete sia imprevedibile sotto diversi aspetti e comporta non solo un dolore fisico, ma anche un dolore emotivo, che modifica la percezione del mondo della vita. È possibile conoscere questo aspetto solo attraverso le narrazioni e il vissuto di malattia, che ci fanno entrare nella dimensione psicologica ed emozionale del malato. L'analisi approfondita di tali argomentazioni ci ha permesso di arrivare a questi risultati.

#### Ricerca di loci per l'autoimmunità mediante un'analisi di linkage su famiglie sarde con diabete di tipo 1 e sclerosi multipla

Zavattari P<sup>1\*</sup>, Pitzalis M<sup>1\*</sup>, Deidda E<sup>1</sup>, Murru D<sup>1</sup>, Moi L<sup>1</sup>, Motzo C<sup>1</sup>, Murru R<sup>2</sup>, Costa G<sup>2</sup>, Mancosu C<sup>2</sup>, Solla E<sup>2</sup>, Fadda E<sup>2</sup>, Schirru L<sup>2</sup>, Melis C<sup>2</sup>, Orrù V<sup>1</sup>, Zoledziewska D<sup>1</sup>, Contu D<sup>1</sup>, Lampis R<sup>1</sup>, Porru C<sup>1</sup>, Nucaro A<sup>1</sup>, Porcedda E<sup>1</sup>, Porceddu R<sup>1</sup>, Angius E<sup>3</sup>, Frongia P<sup>3</sup>, Chessa M<sup>3</sup>, Ricciardi R<sup>3</sup>, Galassi S<sup>3</sup>, Pacifico A<sup>4</sup>, Maioli M<sup>4</sup>, Tonolo G<sup>4</sup>, Lostia S<sup>5</sup>, Floris R<sup>5</sup>, Marinaro AM<sup>6</sup>, Ogana A<sup>6</sup>, Meloni GF<sup>6</sup>, Pala G<sup>7</sup>, Lepori S<sup>8</sup>, Milia AF<sup>8</sup>, Landis N<sup>9</sup>, Zedda MA<sup>10</sup>, Marrosu MG<sup>2</sup>, Devoto M<sup>11</sup>, Cucca F<sup>12</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università di Cagliari; <sup>2</sup>Centro Sclerosi Multipla, Dipartimento di Neuroscienze, Università di Cagliari; <sup>3</sup>Divisione di Pediatria, Ospedale G. Brotzu, Cagliari; <sup>4</sup>Istituto di Clinica Medica, Servizio di Diabetologia, Università di Sassari; <sup>5</sup>Centro Diabetologico, Ospedale G. Brotzu, Cagliari; <sup>6</sup>Dipartimento Pediatrico e Neonatologico, Università di Sassari; <sup>7</sup>Diabetologia Ospedaliera, Dipartimento di Medicina, Ospedale San Francesco, Nuoro; <sup>8</sup>Divisione di Pediatria, Ospedale S. Francesco, Nuoro; <sup>9</sup>Divisione di Pediatria, Ospedale Crobu, Iglesias; <sup>10</sup>Prima Clinica Pediatrica, Unità Operativa di Diabetologia dell'Età Evolutiva, Cagliari; <sup>11</sup>Genetic Epidemiology Research Lab. Nemours Children's Clinic, Wilmington USA; <sup>12</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Sassari

\*Questi autori hanno contribuito in uguale misura alla realizzazione di questo progetto

Il diabete di tipo 1 (DT1) e la sclerosi multipla (SM) sono malattie infiammatorie comuni, entrambe risultato di un processo autoimmune, nel primo caso rivolto contro le cellule beta pancreatiche e nel secondo contro il sistema nervoso centrale. Il DT1 e la SM mostrano un'incidenza particolarmente alta in Sardegna. È stata inoltre evidenziata una prevalenza di DT1 circa 5 volte maggiore rispetto alla popolazione generale, in soggetti affetti da SM. Questi dati suggeriscono la presenza di una cosegregazione delle due malattie dovuta, presumibilmente, a basi genetiche comuni. Da tempo è nota l'associazione dei loci HLA-*DRB1* e *DQB1* sia con DT1 sia con SM, ma abbiamo recentemente dimostrato che gli assetti genotipici a tali loci possono spiegare solo in parte la cosegregazione dei due disordini suggerendo l'esistenza di varianti di suscettibilità condivise localizzate al di fuori della regione HLA.

Per identificare tali varianti, in questo studio abbiamo effettuato un'analisi di *linkage* in una casistica di 954 individui distribuiti in 157 famiglie sarde con più figli affetti e 18 famiglie con più pazienti distribuiti in differenti multigenerazioni. In totale, 413 pazienti sono stati studiati: 285 con DT1, 116 con SM e 12 con entrambe le malattie. Sono stati analizzati inizialmente 439 marcatori microsatelliti dislocati lungo l'intero genoma. L'analisi di *linkage* è stata effettuata usando la statistica di Merlin considerando le due patologie sia separatamente sia in maniera congiunta per la ricerca di potenziali loci di autoimmunità condivisi. I risultati ottenuti analizzando le famiglie con DT1 mostrano oltre al ben noto coinvolgimento della regione HLA altre 4 regioni cromosomiche con un LOD score  $> 1$  (1p31.1, 6q26, 10q21.2 e 22q11.22); lo scan effettuato sulle famiglie SM ha evidenziato 4 regioni con LOD score  $> 1$  (1p13.3, 1q42.2, 18p11.21 e 20p12.3). Dall'analisi congiunta delle due patologie risultano 4 regioni 1p21.3, 6q26, 22q13.2 e 10q21.1 in cui il LOD score mostrava un incremento. Nel loro insieme i nostri dati sono in accordo con l'esistenza di geni coinvolti in entrambe le malattie

e più in generale in processi di autoimmunità, suggerendo che l'analisi congiunta dei due disordini possa migliorare il potere statistico e quindi facilitare l'identificazione dei loci di predisposizione.

#### Alterazione del metabolismo glucidico in corso di curva da carico orale di glucosio (OGTT) utilizzando i criteri dell'American Diabetes Association (ADA) 2006

Zedde A, Mandas M, Cambuli VM, Cocco S, Baroni MG, Cossu E

Dipartimento di Scienze Mediche, Cattedra di Endocrinologia e Metabolismo, Policlinico Universitario, Università degli Studi di Cagliari

È noto che la prevalenza del diabete mellito di tipo 2 (T2DM) è in continuo incremento e stime recenti suggeriscono che il loro numero è destinato ad aumentare fino a 300 milioni nel 2025<sup>1,2</sup>. Questo vertiginoso aumento e le associate complicanze d'organo rischiano di determinare gravi ripercussioni sull'aspettativa e qualità di vita del singolo individuo e sui costi sociali della gestione della malattia. Per questi motivi la diagnosi più precoce ha un profondo impatto sulla speranza di vita. Allo scopo abbiamo valutato le OGTT effettuate presso il Centro Diabetologico e Malattie Metaboliche del Policlinico Universitario nel periodo aprile 2004-marzo 2006 utilizzando i criteri dell'ADA 2006 per la loro classificazione e il calcolo dell'indice *homeostasis model assessment* (HOMA index = glicemia basale in (mmol/L) × insulinemia basale in (μU/ml)/22,5) per valutare la prevalenza di insulino-resistenza. Sono stati valutati 1216 OGTT (M 398, età 52,53 ± 14,65 DS, BMI 29,53 ± 6,16 DS; F 818, età 47,56 ± 15,99 DS, BMI 30,18 ± 6,70 DS). Su 843 OGTT (M 237, F 606) è stata dosata l'insulinemia basale e calcolato l'HOMA index e utilizzando il calcolo del BMI si sono suddivisi i gruppi in: sottopeso (BMI < 18,5), normopeso (BMI 18,5-24,9), sovrappeso (BMI 25-29,9) e obeso (BMI ≥ 30). Sono risultati sottopeso 13 pz (1,54%) di cui 12 con normotolleranza glucidica (NGT) e 1 T2DM; 163 normopeso (19,34%) di cui 107 NGT (65,64%), 27 alterata glicemia a digiuno (IFG) (16,56%), 22 ridotta tolleranza glucidica (IGT) (13,50%) e 7 T2DM (4,30%); 234 sovrappeso (27,76%) di cui 111 NGT (47,44%), 46 IFG (19,66%), 60 IGT (25,64%) e 17 T2DM (7,26%); 433 obesi (51,36%) di cui 228 NGT (52,66%), 78 IFG (18,01%), 105 IGT (24,25%), 22 T2DM (5,08%). Nessun pz dei sottopeso presentava insulino-resistenza al calcolo HOMA index. Nei normopeso il calcolo HOMA index ha evidenziato 2 pz (1,22%) con insulino-resistenza di cui 1 NGT e 1 IGT; nei sovrappeso il calcolo HOMA index ha evidenziato 16 pz (6,83%) con insulino-resistenza di cui 4 NGT (25,00%), 1 IFG (6,25%), 7 IGT (47,75%), 4 T2DM (25,00%); negli obesi il calcolo HOMA index ha evidenziato 104 pz (24,01%) con insulino-resistenza di cui 27 NGT (25,97%), 28 IFG (26,92%), 41 IGT (39,42%), 8 T2DM (7,69%). I 373 OGTT a cui non è stato praticato dosaggio dell'insulinemia sono stati suddivisi, in gruppi, in base al BMI: 109 pz normopeso (29,22%) di cui 51 NGT (46,78%), 24 IFG (22,01%), 24 IGT (22,01%), 10 T2DM (3,17%); 130 sovrappeso (34,85%) di cui 33 NGT (25,38%), 43 IFG (33,08%), 43 IGT (33,08%), 11 T2DM (8,46%); 134 obesi (35,93%) di cui 29 NGT (21,64%), 41 IFG (30,60%), 47 IGT (35,07%), 17 T2DM (12,69%).

I dati, seppur preliminari, confermano l'utilità dell'OGTT associato al calcolo dell'HOMA index nell'identificare precocemente i soggetti a rischio cardiovascolare. Inoltre, si conferma come il test dinamico sia importante per non sottostimare i pazienti con alterato metabolismo glucidico, ma con normoglicemia a digiuno.

**Bibliografia.** 1. King H et al. *Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections*. Diabetes Care 1998;21:1414-31.

2. Zimmet P et al. *Global and societal implications of the diabetes epidemic*. Nature 2001;414:782-7.

#### Dissezione della natura multiallelica e multilocus del diabete di tipo 1 nella regione HLA

Zoa B<sup>1\*</sup>, Perra C<sup>1\*</sup>, Almerighi A<sup>1\*</sup>, Zavattari P<sup>1</sup>, Cucca F<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie dell'Università degli Studi di Cagliari, presso l'Ospedale Microcitamico, Cagliari; <sup>2</sup>Dipartimento di Genetica Medica, Università degli Studi di Sassari

\*Questi autori hanno contribuito in uguale misura alla realizzazione di questo progetto

Il diabete di tipo 1 (DT1) è una malattia multifattoriale complessa determinata dalla distruzione autoimmune delle beta-cellule pancreatiche. Esiste una regione genetica maggiore di suscettibilità nei confronti della malattia rappresentata da specifiche varianti aplotipiche a livello dei loci *DRB1-DQB1* nella regione HLA sul cromosoma 6p21.3. Uno dei due principali aplotipi di predisposizione, è rappresentato dall'aplotipo HLA-DR3 (*DRB1\*0301-DQB1\*0201*) che ha una frequenza particolarmente alta in Sardegna. Utilizzando un'analisi di associazione condizionale su 586 famiglie diabetiche sarde abbiamo dapprima identificato tre marcatori a livello dei geni *DMB*, *DOB* e del microsatellite TNF $\alpha$  in grado di definire aplotipi HLA-DR3 estesi identici ai loci canonici di suscettibilità *DRB1-DQB1*, ma con una diversa associazione con la malattia. In particolare, l'aplotipo più comune nella popolazione sarda era definito dalle varianti *DMB\*0101-DOB\*0101-DRB1\*0301-DQB1\*0201-TNF $\alpha$ \*169* ed era fortemente predisponente nei confronti della malattia mentre gli alleli *DMB\*0102*, *DOB\*0103* e *TNF $\alpha$ \*167* definivano 3 aplotipi DR3 indipendenti non associati con la malattia. Da tali evidenze si può concludere che gli alleli ai loci *DQB1* e *DRB1* non spiegano l'intera associazione della regione HLA con la malattia e che esistono alcune varianti alleliche ad altri loci HLA in grado di annullare la suscettibilità nei confronti della malattia. Per identificare tali varianti abbiamo rifequenziato gli intervalli cromosomici di interesse (a partire da quelli intorno ai loci *DMB* e *DOB*) e genotipizzazione di 17 SNPs (la maggior parte dei quali derivanti dal rifequenziamento delle regioni di interesse) e 8 microsatelliti in circa 800 famiglie diabetiche sarde. Le nostre analisi di associazione condizionale e di comparazione della struttura fine degli aplotipi estesi (*cross match haplotype analysis*) ci hanno permesso di individuare i blocchi aplotipici peculiari degli aplotipi DR3 predisponenti e protettivi nella popolazione sarda dandoci quindi la possibilità di ricostruire le ipotetiche ricombinazioni storiche che li hanno generati. Contemporaneamente, dal nostro data set di famiglie diabetiche sarde abbiamo selezionato un campione di individui informativi, costituito da genitori di pazienti omozigoti per le varianti HLA-*DRB1\*0301-DQB1\*0201*, ma eterozigoti per le varianti predisponenti e protettive ai loci *DMB*, *DOB* e TNF $\alpha$  per testare possibili differenze qualitative e quantitative nei trascritti a livello delle regioni geniche di interesse. A tal proposito, è stato sequenziato il cDNA del gene *DMB* proveniente da soggetti con aplotipo protettivo *DQB1\*0201-DRB1\*0301-B18* con la variante allelica *DMB\*0102* (codone 144C > A, sostituzione aminoacidica Ala144Glu) che ha consistentemente evidenziato la presenza di un *frameshift* nell'esone 3 in posizione nt715. È stato quindi ipotizzato un meccanismo di parziale *exon skipping*, dovuto all'attivazione di un sito donatore di splicing in conseguenza della mutazione C > A. L'isoforma che ne deriva mantiene la lettura *in frame*, ma con perdita di 141nt codificanti per 47 aminoacidi. I dati in nostro possesso suggeriscono che tale splicing alternativo sia aplotipo specifico e possa essere alla base della protezione nei confronti

ti della malattia conferita da specifici polimorfismi all'interno di particolari aplotipi DR3 estesi. Stiamo attualmente testando tale modello con opportuni test funzionali.

#### Studio di associazione fra il gene *PTPN22* e il diabete di tipo 1 nella popolazione sarda

Zoledziewska M<sup>1,2\*</sup>, Perra C<sup>1\*</sup>, Orru V<sup>1,4\*</sup>, Zavattari P<sup>3</sup>, Moi L<sup>1</sup>, Frongia P<sup>5</sup>, Pusceddu P<sup>5</sup>, Bottini N<sup>4</sup>, Congia M<sup>3</sup>, Cucca F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Sassari; <sup>2</sup>Department of Forensic Medicine, Institute of Molecular Technologies, Medical University of Wrocław, Poland; <sup>3</sup>Ospedale Microcitemico, Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università di Cagliari; <sup>4</sup>University of South California, Los Angeles; <sup>5</sup>Divisione Pediatrica, Ospedale Brotzu, Cagliari

\*Questi autori hanno contribuito in uguale misura alla realizzazione di questo progetto

Recentemente è stata individuata, e replicata da diversi gruppi di ricerca, l'associazione positiva tra un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP), 1858 C > T (rs2476601), localizzato nel gene *PTPN22*, e il diabete di tipo 1 (DT1). Il gene è localizzato sul braccio corto del cromosoma 1 (1p13.3), è composto da 21 esoni e codifica per una proteina citoplasmatica, *Lyp* (*lymphoid protein tyrosine phosphatase*) facente parte della famiglia delle tirosinofosfatasi (PTPs). La mutazione +1858C > T, localizzata nell'esone 14, causa una sostituzione aminoacidica da arginina (R) a triptofano (W) nel codone 620 della proteina, positivamente associa-

ta con varie malattie autoimmuni quali, oltre al DT1, la malattia di Graves, l'artrite reumatoide e il lupus eritematoso sistemico. Studi genetici e funzionali suggeriscono un'associazione primaria di questa variante con lo stato di malattia, ma le evidenze a supporto sono ancora incomplete e alcuni studi suggeriscono che tale polimorfismo non spieghi interamente l'associazione di *PTPN22* con il DT1 e le altre malattie autoimmunitarie.

In questo studio abbiamo inizialmente sequenziato gli esoni e le porzioni funzionalmente rilevanti del gene *PTPN22* in 64 genitori di pazienti diabetici rilevando la presenza di 27 polimorfismi (26 SNPs e una delezione) dei quali 18 non ancora descritti. Abbiamo quindi selezionato, genotipizzato in 744 famiglie DT1 sarde (3050 individui) e testato per associazione con il DT1 15 varianti bialleliche (12 delle suddette varianti polimorfiche e 3 SNPs precedentemente testati in altri studi e localizzati in regioni da noi non risequenziate). L'associazione con il DT1 è stata analizzata con il *transmission disequilibrium test* (TDT). La variante 1858T, nonostante sia molto rara in Sardegna (frequenza allelica 1,4%), è positivamente associata al T1D in modo significativo. L'aplotipo in cui tale mutazione è insorta è relativamente frequente (frequenza aplotipica 9,1%), ma non mostra alcuna associazione con la malattia suggerendo in questo modo che la variante +1858T sia primariamente associata con il T1D. Abbiamo inoltre individuato altre due varianti rare, localizzate rispettivamente nell'esone 10 e nell'introne 17, in forte *linkage disequilibrium* fra loro ( $r^2 = 0,8$ ) e completamente indipendenti dal polimorfismo 1858T ( $r^2 = 0$ ), con un'evidenza significativa di associazione positiva con il T1D nel campione testato ( $p = 8,1 \times 10^{-3}$  e  $3,2 \times 10^{-3}$  rispettivamente). Tali evidenze suggeriscono un modello di associazione multiallelica di *PTPN22* con il DT1.