

RIUNIONE CONGIUNTA DELLA SEZIONE CAMPANIA DELL'ASSOCIAZIONE MEDICI DIABETOLOGI E DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI DIABETOLOGIA

NAPOLI, 18 MAGGIO 2002

Comitato Scientifico: B. Capaldo, D. Giugliano, C. Iovine, R. Marfella, L. Misso, G. Romano, S. Turco

Riassunti

Le infezioni nel piede diabetico

E. Bellinfante, C. Miranda, F. Nappo, G. Russo, L. Misso, S. Iuliano, F. Saccomanno, S. Scambato, D. Giugliano

Dipartimento di Gerontologia, Geriatria e Malattie del Metabolismo, II Università di Napoli

Le infezioni del piede sono la principale causa di ricovero ospedaliero per i pazienti diabetici e causa di amputazioni maggiori o minori in circa il 30% dei casi.

Scopo del nostro lavoro è stato quello di descrivere la flora microbica isolata dalle lesioni e di valutarne la sensibilità ai comuni antibiotici. Nell'ultimo anno abbiamo eseguito 43 esami colturali con l'ausilio di specifici tamponi su 43 pazienti. Sono stati isolati 67 agenti patogeni di cui 39 cocchi gram positivi, 23 cocchi gram negativi, 5 miceti. I cocchi gram positivi erano così suddivisi: 27 stafilococchi, 12 streptococchi; mentre tra i cocchi gram negativi sono stati isolati: 11 *Pseudomonas auriginosa*, 5 *Proteus*, 1 *E. coli* e 3 *Klebsiella*, 3 *Serratia*. Le colture sono state divise in mono- e plurimicrobiche, le infezioni monomicrobiche rappresentavano il 36% delle infezioni e l'agente patogeno più frequentemente isolato è risultato essere lo stafilococco, mentre le infezioni polimicrobiche rappresentavano il 64% ed erano costituite nella maggioranza dei casi (47%) da 2 agenti patogeni e nel 17% dei casi da 3 o più germi patogeni. Per quanto concerne la sensibilità agli antibiotici si è avuta una notevole resistenza dei comuni antibiotici allo stafilococco aureo, sensibile nell'82% dei casi solo a vancomicina e teicoplanina; mentre per quanto riguarda i gram⁻ gli antibiotici più sensibili sono risultati essere le cefalosporine di III e IV generazione, lincosamidi, imipenem, teicoplanina e cilastatina. Nelle infezioni profonde, per lo più polimicrobiche, gli antibiotici più efficaci sono risultati essere l'associazione imipenem + cilastatina e la teicoplanina. Nelle infezioni superficiali gli antibiotici più efficaci sono risultati essere chinolonici e cefalosporine. I nostri dati, sovrapponibili a quelli presenti in letteratura, dimostrano un aumento delle infezioni, sostenute da ceppi stafilococchi meticillino resistenti e delle infezioni polimicrobiche da parte di gram⁻. È importante, quindi, sia per un corretto trattamento delle infezioni stesse, sia per non selezionare ceppi microbici antibiotico-resistenti, praticare sempre un tampone colturale con relativo antibiogramma.

Il rischio glicometabolico in soggetti non diabetici affetti da cardiopatia ischemica

R. D'ambrosio, O. Carbonara, L. Coppola, R. Nasti, B. Campana, S. Moschella, R. Torella, M. Torella*, G.A. Nappi*, F.C. Sasso

V Divisione di Medicina Generale, Dipartimento di Geriatria, Gerontologia e Malattie del Metabolismo; *Cattedra di Cardiologia, SUN

La qualità del controllo glicometabolico condiziona in maniera significativa la probabilità di eventi cardio-vascolari (CV) nella popolazione diabetica. Alcune osservazioni consentono di allargare tale correlazione anche alla popolazione generale. Scopo del lavoro era di valutare l'impatto del metabolismo glucidico sulla cardiopatia ischemica in una popolazione non diabetica.

Sono stati reclutati 224 pazienti maschi, senza storia né familiarità per diabete mellito, consecutivamente afferenti all'Unità di Emodinamica per seguire esame coronarografico per sospetto di cardiopatia ischemica. Sulla base dell'indagine angiografica i pazienti erano quindi distinti in soggetti con patologia coronaria monovasale (M), bivasale (B) e trivasale (T) e soggetti con coronarie sane (S). A distanza di più di tre mesi e meno di sei mesi da un evento coronarico acuto i pazienti, dopo un TTGo indicativo di una normotolleranza ai carboidrati, sono stati sottoposti a determinazione a digiuno di insulina, colesterolo totale e HDL e trigliceridi, nonché HbA_{1c}. La valutazione dei fattori di rischio CV era completata da PA, BMI, fumo e familiarità. Dei pazienti reclutati 21 furono esclusi dallo studio per una risposta al TTGo di tipo diabetico (14) o per ridotta tolleranza ai carboidrati (7). Dei rimanenti 68 erano M, 56 B, 44 T e 35 S. Inoltre 21 soggetti presentavano una re-stenosi (R) dopo intervento di angioplastica (PTCA). I valori di glicemia a 2 ore dal TTGo, l'insulinemia a digiuno, la HbA_{1c} nonché l'insulino-resistenza espressa con l'HOMA nei pazienti B, T e R risultavano significativamente ($p < 0,01$) più elevati rispetto al gruppo a coronarie sane (S) (112 ± 10 , 115 ± 9 , 115 ± 8 vs 105 ± 12 mg/dL; $8,2 \pm 3,5$, $9,1 \pm 3,1$, $9,6 \pm 2,9$ vs $6,1 \pm 2,2$ U/mL; $5,4 \pm 0,3$, $5,5 \pm 0,4$, $5,4 \pm 0,4$ vs $4,6 \pm 0,3$). Tali dati consentono di ipotizzare nel danno coronarico un ruolo per il metabolismo glucidico, pur quando esso è nei limiti dei range della normalità. Sembra pertanto trovare conferma l'ipotesi che il rischio CV correlato al milieu gluco-metabolico rappresenti un *continuum*, in cui risulta difficile fissare rigidi cut-off.

Risposta post-prandiale delle lipoproteine plasmatiche in pazienti con diabete tipo 2 e normotrigliceridemia a digiuno

C. De Natale, G. Annuzzi, C. Iovine, L. Patti, L. Di Marino, P. Cipriano, S. Lilli, S. Del Prato*, G. Riccardi, A.A. Rivellese

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università Federico II, Napoli; *Dipartimento di Endocrinologia e Metabolismo, Università di Pisa

Nei pazienti con diabete mellito tipo 2 e livelli plasmatici di trigliceridi a digiuno elevati sono presenti alterazioni delle lipoproteine nella fase post-prandiale, riguardanti in particolare chilomicroni e VLDL. Non è noto se tali alterazioni siano presenti anche in pazienti con trigliceridemia a digiuno nella norma. Pertanto lo scopo dello studio è stato quello di analizzare l'andamento delle lipoproteine e delle sub-frazioni lipoproteiche nel periodo post-prandiale in pazienti diabetici con trigliceridemia a digiuno < 150 mg/dL. Hanno partecipato allo studio sette pazienti diabetici tipo 2 in compenso stabile da almeno 3 mesi con terapia dietetica o dieta + sulfaniluree e 5 soggetti di controllo non diabetici (età 49 ± 7 e 48 ± 4 anni, IMC 28 ± 4 e 25 ± 4 kg/m², trigliceridemia a digiuno 92 ± 31 e 77 ± 9 mg/dL, M \pm DS). Dopo almeno 12 ore di digiuno, ogni soggetto assumeva un pasto standard di 944 kcal (carboidrati 31%, grassi 57%, proteine 12%). Prima del pasto e durante le 6 ore successive sono stati eseguiti prelievi per la determinazione nel plasma di glucosio, insulina, acidi grassi liberi (FFA), colesterolo (COL) e trigliceridi (TG) delle lipoproteine e delle principali sub-frazioni (chilomicroni, VLDL grandi, VLDL piccole, IDL, LDL e HDL). Come atteso nei pazienti diabetici si è osservato un aumento della glicemia in risposta al pasto, mentre l'insulinemia, dopo il rialzo precoce simile a quello osservato nei controlli, permaneva elevata nella fase tardiva. Non vi erano differenze significative nella risposta post-prandiale degli FFA. A digiuno COL e TG dei chilomicroni erano significativamente più alti nei pazienti diabetici rispetto ai controlli (COL $0,25 \pm 0,17$ vs $0,06 \pm 0,04$ mg/dL, $p = 0,008$; TG $4,75 \pm 4,28$ vs $1,36 \pm 1,25$ mg/dL, $p = 0,08$). Nel periodo post-prandiale COL e TG delle VLDL più grandi si mantenevano costantemente più elevati nei diabetici rispetto ai controlli. L'area incrementale nella fase tardiva post-prandiale (3-6 h) per i TG delle VLDL più grandi era 7409 ± 3276 per i diabetici e 3934 ± 2575 mg/dL · min per i controlli, $p < 0,04$, quella del COL 317 ± 219 e 179 ± 190 mg/dL · min, n.s. In conclusione, il nostro studio mostra che i pazienti con diabete mellito tipo 2, anche se con livelli di trigliceridi a digiuno nella norma, presentano nella fase post-prandiale alterazioni lipoproteiche che riguardano in particolare VLDL più grandi. Inoltre, questi pazienti, anche dopo 12 ore di digiuno, presentano concentrazioni di chilomicroni significativamente più elevate, per cui essi potrebbero essere considerati in costante fase assorbitiva.

Citochine infiammatorie, molecole di adesione e funzione endoteliale nell'obesità: effetti della perdita di peso

K. Esposito, A. Pontillo, E. Martedì, C. Carusone, S. Marzano, D. Carleo, S. Iuliano, D. Giugliano

Dipartimento di Geriatria e Malattie del Metabolismo, Centro per la Cura dell'Obesità, Seconda Università di Napoli

Lo scopo del presente studio è stato di valutare la funzione endoteliale, i livelli di citochine proinfiammatorie e le molecole di adesione nell'obesità e gli effetti di una perdita di peso sostenuta. Sono state studiate 56 donne obese (BMI = $37,2 \pm 2,2$, età $35 \pm 4,8$) e 40 donne normopeso (BMI = $23,5 \pm 1,7$) di pari età. I livelli di TNF- α ($p = 0,01$), IL-6 ($p = 0,01$), P-selectina ($p < 0,01$), ICAM-1 ($p < 0,02$) e VCAM-1 ($p =$

$0,02$) erano significativamente più elevati nel gruppo di donne obese rispetto alle donne non obese. La funzione endoteliale, valutata come risposte emodinamica e reologica alla L-arginina, era diminuita nelle donne obese: la riduzione della pressione arteriosa in risposta alla L-arginina (differenza tra valori basali e valori a 10 minuti) era di $2,0 \pm 1,5$ mmHg, la diminuzione dell'aggregazione piastrinica di $4,5 \pm 2,7\%$. I valori corrispondenti nelle donne non obese erano $6,2 \pm 1,7$ mmHg ($p < 0,01$) e $12 \pm 4,5\%$ ($p < 0,05$), rispettivamente. Le concentrazioni di TNF- α e IL-6 correlavano con le concentrazioni di molecole di adesione e le risposte vascolari alla L-arginina, ma non con i parametri lipidici, il glucosio e l'insulina. Le concentrazioni di TNF- α correlavano con quelle della IL-6 ($r = 0,45$, $p < 0,01$). Dopo un anno di trattamento multidisciplinare (dieta - 1300 kcal -, supporto psicologico e nutrizionale, esercizio fisico) tutte le donne obese avevano perso almeno il 10% del loro peso corporeo iniziale con un decremento medio di $9,8 \pm 1,5$ kg (range 7,5-13 kg). Tale perdita era associata con una significativa riduzione del BMI, del WHR, dei livelli di glucosio a digiuno e dell'insulina, della concentrazione di TNF- α , di IL-6, e delle molecole di adesione, e con una migliorata risposta vascolare alla L-arginina. Questo studio dimostra che nelle donne obese la disfunzione endoteliale correla con il grasso viscerale, probabilmente attraverso una inappropriata secrezione di citochine. La perdita di peso rappresenta un mezzo efficace per migliorare la funzione endoteliale e ridurre il rischio cardiovascolare associato con l'obesità viscerale.

L'insulina regola l'attivazione di PDK-1 (Phosphoinositides-Dependent Kinase-1) mediante fosforilazione in tirosina e interazione con il recettore

F. Fiory, F. Oriente, S. Santopietro, C. Miele, I. Esposito, F. Giacco, G. Perruolo, G. Pascarella, P. Formisano, F. Beguinot

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "L. Califano" & CEOS-CNR, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

La via di traduzione del segnale mediata dall'enzima fosfatidil-inositolo-3-chinasi (PI3-K) e dalla serino-treonino chinasi PKB/Akt svolge un ruolo chiave nella regolazione del trasporto del glucosio e della sintesi di glicogeno insulino-stimolati. L'attivazione di PI3-K in risposta all'insulina può realizzarsi in seguito ad associazione diretta dell'enzima al carbossi-terminale del recettore dell'insulina (IR) oppure può essere mediata dalle proteine IRSs. Tuttavia il ruolo specifico delle proteine IRSs e del recettore stesso nell'attivazione di PI3-K/PKB non è ancora stato chiarito. A tale scopo è stato sovraespresso in cellule L6 un recettore dell'insulina debole di 43 aminoacidi al carbossi-terminale ($\Delta 43$). Il recettore ($\Delta 43$) fosforica normalmente le proteine IRS-1, -2 e -4 ma è incapace di legare direttamente la subunità p85 della PI3-K. L'attività di PI3-K misurata in immunoprecipitanti anti-P-Tyr di cellule L6 $\Delta 43$ è paragonabile a quella misurata in cellule L6 esprimenti livelli simili di recettore wilde-type (L6-hIR). L'attività di PDK-1, invece, è ridotta dell'80% nelle cellule L6 $\Delta 43$, così come la fosforilazione della Thr308 di PKB e di GSK- α e - β . Parallelamente è stata osservata una riduzione dell'80% del trasporto di glucosio e dell'attività della glicogeno-sintetasi in risposta all'insulina. È stato inoltre osservato che PDK-1 co-precipita con il recettore dell'insulina ed è fosforilata in tirosina nelle cellule L6-hIR ma non nelle cellule L6 $\Delta 43$. La fosforilazione in tirosina di PDK-1 e la sua associazione con il recettore sono fenomeni PI3-K dipendenti, infatti sono inibiti dal trattamento con LY294002. Infine è stato osservato che preparazioni di IR derivanti da cellule L6-hIR, ma non da cellule L6 $\Delta 43$, sono in grado di fosforilare in vitro PDK-1 immunopurificate. Dunque è possibile concludere che l'attivazione

di PDK-1 in risposta all'insulina è accompagnata dalla sua fosforilazione in tirosina in maniera PI3-K-dipendente e richiede la presenza dei 43 aminoacidi al carbossiterminale del recettore dell'insulina.

Studio "CO.DI.FA.R" - Studio per la valutazione delle conoscenze sul diabete e sui fattori di rischio cardiovascolare

I. Gaeta, G. De Simone, G. Corigliano, R. Di Palo, M. Gobbo, P. Maida, C. Martino, V. Mastrilli, D. Pascucci, S. Sorrentino, A. Tatavitto, R. Troise, A. Vecchiato, F. Zerella, P. Di Bonito

Gruppo di lavoro AMD campano per le complicanze cardiovascolari nel diabete

Il diabete mellito di tipo 2 è associato a elevata incidenza di morbilità e mortalità per patologie cardiovascolari sia per cause intrinseche alla malattia stessa che per la frequente associazione con altri fattori di rischio CV, che svolgono un ruolo cruciale nel determinismo di tali complicanze. Negli ultimi anni numerose evidenze hanno enfatizzato il ruolo positivo che la terapia educativa ha nella gestione della malattia diabetica. Pertanto, nella pratica quotidiana, il ruolo educativo del diabetologo assume un'importanza rilevante, soprattutto nella prevenzione delle complicanze CV. Attualmente non è noto in che misura le informazioni che lo specialista fornisce siano adeguatamente recepite dal paziente diabetico. Il gruppo di lavoro sul rischio cardiovascolare della Sezione Campana dell'AMD ha elaborato un questionario rivolto al diabetico per valutare se e quali aspetti relativi alla gestione della malattia e dei fattori di rischio CV associati siano stati realmente compresi e messi in pratica.

I questionari sono stati compilati direttamente dai pazienti in varie strutture diabetologiche operanti sul territorio Campano nei primi due mesi del 2002. Dai dati preliminari relativi ai primi 300 questionari su un totale di 700 report, è risultato che solo al 17% dei pazienti è noto il significato e l'importanza dell'HbA_{1c}, così come solo una ridotta percentuale ha recepito le indicazioni delle ultime linee guida sulla prevenzione delle malattie cardiovascolari relative al colesterolo (40%), trigliceridi (27%), PA (24%). L'importanza dell'attività fisica è nota al 21% dei pazienti, il 43% ha affermato di seguire "spesso" la dieta e il 51% conosce il significato del termine "fattore di rischio cardiovascolare".

Ne emerge un dato preoccupante, a dispetto delle risorse e dell'impegno spesi in campo diabetologico. Tali risultati, in parte legati al basso livello culturale emerso da tale studio (7,7% analfabeti, 54% licenza elementare, solo il 2% laureati) dovrebbero indurre il diabetologo ad adottare strumenti educativi più adeguati ed efficaci nel raggiungere gli obiettivi di prevenzione cardiovascolare prefissati.

Studio multicentrico regionale sulla valutazione della glicemia post-prandiale nel diabete tipo 2: entità, riproducibilità e correlazioni con l'aterosclerosi

D. Giugliano¹, F. Beneduce², R. Carleo³, F. Carlino⁴, M. Cutolo⁵, A. De Matteo⁶, P. Mattei⁷, E. Migliaro⁸, S. Mignano⁹, F. Saccomanno¹⁰

¹Dipartimento di Geriatria SUN, ²ASLNA5, ³ASLNA1, ⁴ASLCE1, ⁵ASLNA4, ⁶ASLNA1, ⁷ASLNA1, ⁸ASLNA1, ⁹ASLNA1, ¹⁰Servizio Diabetologia SUN

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare prospetticamente l'andamento della glicemia post-prandiale nella quotidianità di

diabetici tipo 2. L'analisi attuale si riferisce a 112 diabetici (60 M/52 F, età 56,8 ± 8,6) che soddisfacevano i criteri di inclusione: età > 35 anni, BMI > 23, HbA_{1c} > 7%, dieta o ipoglicemizzanti orali. Tutti i soggetti erano istruiti a eseguire a domicilio, in occasione del pasto principale a noto contenuto calorico, una valutazione della glicemia capillare in cinque punti (0, 30, 60, 90 e 120 minuti) servendosi di reflattometri messi a disposizione dal singolo centro; la valutazione era ripetuta 3 volte. La determinazione dell'HbA_{1c} (nefelometria) e dello spessore medio intimale (SMI) carotideo (in prossimità del bulbo, bilateralmente, in zona priva di placca) era effettuata presso il centro di riferimento dello studio. L'entità media dell'incremento glicemico post-prandiale era di 70 ± 42 mg/dL (m ± SD) con ampia variabilità individuale (0-213 mg/dL); le curve glicemiche effettuate in occasione di tre pasti erano riproducibili (differenze tra le medie dei singoli punti: 4,5 ± 1,0 mg/dL); il picco glicemico massimo si aveva nella prima ora (30 o 60 minuti) nel 95% dei pazienti. Con l'analisi univariata (aggiustata per età e sesso), tutti i parametri glicemici (HbA_{1c}, glicemia basale, glicemia a due ore, picco massimo, area sottesa) correlavano con lo SMI; la più elevata correlazione era con il picco glicemico (r = 0,33, p = 0,006). Nell'analisi della regressione logistica, il picco glicemico risultava essere il determinante più forte dello SMI tra tutti i parametri glicemici; nelle analisi multivariate il picco restava un determinante indipendente. Nel diabete tipo 2 l'andamento della glicemia post-prandiale è riproducibile nella quotidianità; rispetto alla glicemia a digiuno, alla glicemia a due ore dal pasto e alla HbA_{1c}, il picco glicemico post-prandiale rappresenta il parametro maggiormente associato allo SMI della carotide.

La sovraespressione della proteina PED in topi Tg causa alterata tolleranza al glucosio e insulino-resistenza

U. Goglia, G. Condorelli, G. Vigliotta, A. Perfetti, E. Autori, A. Trencia, A. Cassese, F. Beguinot

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare & Centro di Endocrinologia e Oncologia Sperimentale del CNR, Università "Federico II", Napoli

PED (Phosphoprotein Enriched in Diabetes) è una proteina del peso di 15 kDa il cui gene mappa sul cromosoma 1. PED è sovraespressa in pazienti con diabete mellito di tipo 2 ed è coinvolta nei meccanismi molecolari dell'insulino-resistenza.

Infatti cellule muscolari scheletriche che sovraesprimono PED presentano un aumento del trasporto del 2-deossi-glucosio in assenza di insulina, rispetto alle cellule di controllo e una diminuzione del trasporto del 2DG in risposta all'insulina.

Per studiare il ruolo di PED *in vivo*, nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato un animale transgenico (tg) sovraesponente la proteina PED in tutti i tessuti.

Abbiamo ottenuto più fondatori e abbiamo analizzato in particolare due linee la linea 1 e la linea 61. Gli animali sono stati caratterizzati per la tolleranza al glucosio e la sensibilità insulinica mediante esperimenti di IPGTT (intra-peritoneal glucose tolerance test) e di ITT (insulin tolerance test), rispettivamente. Inoltre sono stati determinati i valori a digiuno di glicemia, trigliceridi, acidi grassi liberi e insulina.

Nei topi Tg-PED si è riscontrata un'alterata tolleranza al glucosio e una ridotta sensibilità insulinica rispetto ai topi wt a 3, 6 e 9 mesi. Inoltre i topi PED Tg presentano elevati livelli di insulina in assenza di stimolo e una ridotta risposta al glucosio. I valori di trigliceridi e acidi grassi liberi sono inoltre più elevati negli animali transgenici rispetto ai controlli. Da questi risultati è possibile concludere che PED rappresenta

una proteina in grado di indurre alterazioni nella tolleranza del glucosio, e quindi rappresentare un potenziale target terapeutico nei diabetici di tipo 2.

Diabete a elevata familiarità in provincia di Benevento

D. Iafusco*, L. Carpinelli*, G. Colucciello**, C. Simone**, A. Cocca***, M.R. Di Stasio***, P. Lacerra***, F. Prisco*

*Dipartimento di Pediatria Seconda Università degli Studi, Napoli; **Cooperativa di Medici di Medicina Generale "Samnium", Benevento; ***ASL Benevento 1, Benevento

Gli autori presentano la metodica e i risultati preliminari di una ricerca pilota, iniziata nel mese di novembre 2000 e condotta a Benevento con la collaborazione dei colleghi della medicina generale di base organizzati in cooperative scientifiche.

Metodica. Lo studio è nato con lo scopo di individuare casi di diabete non autoimmune ereditario (in particolare MODY-2) attraverso il riscontro di iperglicemia durante profili glicemici nei membri più giovani di pedigree a elevata familiarità per diabete. La ricerca si è svolta in tre fasi: formazione dei medici partecipanti; esecuzione dei profili glicemici nei membri più giovani dei pedigree sospetti; approfondimenti diagnostici (*marker*, genetica) nei pedigree selezionati.

Risultati preliminari. Durante la prima fase sono stati segnalati 157 pedigree di cui 41, significativi per i criteri di selezione, arruolati per l'esecuzione di glicemie.

I medici hanno segnalato tutti i casi di diabete presenti nel pedigree indipendentemente dalla gravità, dall'età e dal trattamento pregresso e in corso. Ciò per evitare che eventuali criteri terapeutici assumessero un valore discriminante in termini patogenetici come per esempio la somministrazione di insulina che può erroneamente indurre alla definizione di diabete "insulino-dipendente". La ridotta specificità nel reclutamento iniziale dei pazienti è apparsa agli autori un *bias* accettabile, poiché si affiancava a una contemporanea altissima sensibilità (gli autori si proponevano di far sì che nessun caso di diabete mellito sfuggisse alla selezione della prima fase). I dati dei profili glicemici effettuati nei membri dei 41 pedigree hanno evidenziato che 26 pedigree (oltre la metà) avevano probandi con iperglicemie: 12 pedigree avevano un solo probando, 10 : 2 probandi e 4 più di 2.

I pedigree sospetti di diabete non autoimmune sono stati avviati alla tipizz. genetica.

Conclusioni. Questo tipo di approccio appare di notevole utilità e sembra evidenziare che il diabete non autoimmune in età pediatrica sia presente con una prevalenza enormemente superiore rispetto a quanto previsto. Tale approccio "globale" ai pedigree a elevata familiarità diabetica, inoltre, può offrire enormi vantaggi in termini di prevenzione delle complicanze microvascolari in età adulta.

Coautori sono i seguenti medici di medicina generale e pediatri di libera scelta:

N. Aceto*, M. Aversano, B. Bocchino*, P. Braucci*, G. Buono*, G. Buonomo*, A. Casani, A. Catalano***, N. Cicchella, G. Cirocco**, D. Cocca**, G. Cosenza*, G.A. Cuttillo*, D. De Blasio*, L. De Camillis*, F. De Cicco*, F. Di Mezza*, S. Di Palo*, N. Gentile*, A. Immediato, U. Iuliano*, A. Izzo*, V. Lago*, F. Lavorgna*, G.M. Lombardi*, L. Lonardo***, V. Luciani*, Marcarelli***, R. Marra*, D. Martini**, R. Mazzarelli*, P. Meola*, Molfetta***, A. Montefusco*, E. Onofrio, B. Pasquariello, M. Petroccia*, A. Renzi*, V. Rosa, E. Ruggiero**, A. Sabione*, S. Sale***, B. Salerno*, A. Sannino*, S. Sasso, M.C. Saviano, R. Servodio*, N. Sorice, P. Togna*, V. Vicario, R. Viscusi*

*Cooperativa SAMNIUM, Benevento; **Cooperativa "IPPOCRATE", Benevento; ***Cooperativa "MEDICAL 2000", Benevento

Prevalenza della nefropatia diabetica in una popolazione ambulatoriale di diabetici tipo 2

C. Lambiase, G. Capuano, P. Memoli, P. Calatola

ASL Salerno 2, Centro Diabetologico, Distretti 99/97

Introduzione. La nefropatia diabetica (ND) è una delle cause più invalidanti di insufficienza renale terminale nei paesi occidentali. La microalbuminuria è marker di ND e si associa a ipertensione e ad aumento del rischio di mortalità per cause cardiovascolari. Scopo di questo studio è di determinare la prevalenza di nefropatia diabetica in una popolazione di diabetici tipo 2 ambulatoriale.

Metodi. Sono stati osservati in un anno 368 pazienti diabetici tipo 2 randomizzando i primi 3 pazienti dei giorni dispari della settimana, 177 maschi e 191 femmine, età media 57 ± 9 anni, durata di malattia $9,4 \pm 7,2$ anni. Sono stati sottoposti a dosaggio della microalbuminuria (3 campioni raccolti in un periodo non inferiore ai 3 mesi), esame completo delle urine, urinocoltura, esami ematochimici, anamnesi completa con esame obiettivo.

Risultati. 72,01% normoalbuminurici (NA), 20,92% microalbuminurici (MA), 6,52% macroalbuminurici (MA), 0,54% I.R.C. I pazienti con ND presentavano una maggior durata di malattia rispetto ai NA, significativa associazione tra il sesso maschile e la presenza di ND. I valori di HbA_{1c} mostravano un incremento in relazione alla gravità di ND. La prevalenza di retinopatia risultava maggiore nei nefropatici rispetto ai normoalbuminurici (11,68% NA, 66,23% MA, 19,48% MA, 2,59% IRC), così pure per l'ipertensione (40,81% NA, 41,49% MA, 16,32% MA, 1,36% IRC), per la cardiopatia ischemica (14,0% NA, 50,87% MA, 33,33% MA, 1,75% IRC) e per l'arteriopatia periferica e cerebrovascolare (12,5% NA, 47,5% MA, 37,5% MA, 2,5% IRC).

Conclusioni. La nefropatia diabetica si accompagna a una maggiore frequenza di altre complicanze croniche in particolare di quelle macrovascolari. La microalbuminuria nel diabetico di tipo 2 oltre che marker di nefropatia specifica come nel tipo 1, è indice di danno vascolare sistemico.

Ruolo dell'iperglicemia sull'estensione dell'area infartuale e sull'espressione del fattore angiogenetico HIF-1 α in ratti diabetici

R. Marfella*, M. D'Amico**, C. Di Filippo**, P. Gualdiero*, M.A. Marfella*, A. Santorelli*, L. Cocozza*, L. Marino*, L. Misso*, S. Marzano*, D. Giugliano*

*Dipartimento di Geriatria, Gerontologia; **Malattie del Metabolismo e Istituto di Farmacologia, Seconda Università di Napoli

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare gli effetti dell'iperglicemia sull'evoluzione dell'infarto miocardico e sull'espressione del fattore angiogenetico ipossico (HIF-1 α) nel ratto. In ratti resi diabetici con la streptozotocina (STZ), l'area infartuale (valutata con nitro-blu-tetrazolium) era significativamente più estesa ($p < 0,01$) negli animali iperglicemici (22 mmol/L) rispetto ai ratti diabetici normoglicemici (7 mmol/L) e ai ratti non diabetici (5 mmol/L). Nei ratti non diabetici, l'espressione basale di HIF-1 α mRNA non era apprezzabile e aumentava significativamente dopo l'ischemia ($762 \pm 86\%$ rispetto al basale, $p < 0,001$); l'aumento di HIF-1 α in risposta all'ische-

nia era significativamente ridotta nei ratti diabetici iperglicemici ($52 \pm 16\%$ $p < 0,01$) e aumentava nei ratti diabetici normoglicemici ($480 \pm 10\%$ $p < 0,001$). In cuori isolati di ratti non diabetici, la perfusione con elevate concentrazioni di glucosio (33 mmol/L) produceva un significativo aumento dell'area infartuale ($p < 0,01$) rispetto ai cuori perfusi con concentrazione di glucosio più basse (11 mmol/L) e ai cuori perfusi con elevate concentrazioni di glucosio più glutazione ($0,3$ mmol/L). Nei cuori isolati perfusi con normali concentrazioni di glucosio, l'espressione basale di HIF-1 α mRNA non era apprezzabile e aumentava significativamente dopo l'ischemia ($887 \pm 96\%$, $p < 0,001$); l'aumento di HIF-1 α in risposta all'ischemia era significativamente ridotto nei cuori perfusi con elevate concentrazioni di glucosio ($66 \pm 18\%$ rispetto al basale) e aumentava nei cuori perfusi con elevate concentrazioni di glucosio più glutazione ($600 \pm 16\%$ rispetto al basale). Elevate concentrazioni di glucosio aumentano l'area di necrosi infartuale in ratti diabetici e in cuori isolati di ratti non diabetici; tale condizione è associata con una ridotta espressione di HIF-1 α . Poiché queste alterazioni sono contrastate totalmente o parzialmente dalla normoglicemia o dal glutatone, è probabile che un'aumentata produzione di radicali liberi, provocata dall'iperglicemia, possa influenzare l'estensione dell'area infartuale e la successiva risposta angiogenetica all'ischemia.

Ambulatorio del piede diabetico: 12 anni di attività

C. Miranda, E. Bellinfante, A. Santorelli, L. Misso, F. Nappo, F. Saccomanno, S. Sgambato, D. Giugliano

Dipartimento di Gerontologia, Geriatria e Malattie del Metabolismo, Il Università di Napoli

Il piede diabetico rappresenta una grave complicanza cronica della malattia diabetica con rischio di amputazioni che è circa 15–20 volte maggiore rispetto ai pazienti non diabetici.

Di seguito è riportato un bilancio di 12 anni di attività dell'ambulatorio per la prevenzione e la cura del piede diabetico operante presso il Servizio Speciale di Diabetologia della SUN. Il periodo di osservazione è stato diviso in 6 bienni. Nella tabella sono riportati il numero dei pazienti osservati e la tipologia degli interventi effettuati nei bienni considerati.

Biennio	N. paz.	N. medicazioni	M/F	Ricoveri	Rivascolarizzazioni	Amputazioni
1990/91	185	630	123/62	27	–	26
1992/93	249	802	169/80	24	2	37
1994/95	307	1228	174/133	35	9	35
1996/97	315	1293	183/132	39	12	39
1998/99	301	1177	253/154	21	29	9
2000/01	407	1343	171/130	23	38	3

Dai dati in nostro possesso si evince che nell'ultimo biennio si è avuto un considerevole aumento degli interventi di rivascolarizzazione per lo più distali e di amputazioni minori. Si è avuto, inoltre, un incremento della prescrizione di ortesi e plantari ortopedici accompagnata da una significativa riduzione delle amputazioni maggiori e dei rico-

veri. Questo a dimostrare, ancora una volta, come la prevenzione e la fattiva collaborazione tra diversi specialisti possano ridurre in maniera significativa le amputazioni nel paziente con piede diabetico con conseguente miglioramento della qualità di vita di tali pazienti e riduzione dei costi sanitari.

Ruolo dei carboidrati e dei grassi nell'attivazione endoteliale post-prandiale in soggetti normali e pazienti diabetici

F. Nappo, G. Celiento, C. Miranda, G. Russo, F. Palmieri, E. Bellinfante, E. Maglione, F. Saccomanno, D. Giugliano

Dipartimento di Gerontologia, Geriatria e Malattie del Metabolismo, Seconda Università di Napoli

Scopo del presente studio è stato quello di comparare gli effetti di un pasto ad alto contenuto di grassi e uno ad alto contenuto di carboidrati sulle concentrazioni plasmatiche di tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleuchina-6 (IL-6), intercellular adhesion molecole-1 (ICAM-1) e vascular cell adhesion molecole-1 (VCAM-1) in venti soggetti normali e in venti pazienti diabetici di tipo 2. Ai due gruppi erano somministrati i seguenti pasti: 1) pasto ad alto contenuto di grassi (760 Kcal); b) pasto isoenergetico (760 Kcal) ad alto contenuto di carboidrati (Pizza); c) gli stessi pasti preceduti dall'assunzione di vitamina E (800 UI) e acido ascorbico (1000 mg). In tutti i soggetti sono stati valutati, prima e dopo 4 ore dal pasto, i livelli di glucosio, colesterolo, trigliceridi, TNF- α , IL-6, ICAM-1 e VCAM-1. Nei soggetti normali l'ingestione del pasto grasso, ma non della pizza, determinava un incremento significativo dei livelli plasmatici di TNF- α ($p = 0,009$), IL-6 ($p = 0,01$), ICAM-1 ($p = 0,011$) e VCAM-1 ($p = 0,01$). La supplementazione di vitamine riduceva la risposta delle citochine e delle molecole di adesione al pasto grasso ($p < 0,05$). Nei soggetti diabetici la pizza provocava un aumento più marcato e più duraturo della glicemia rispetto al pasto grasso ($p = 0,008$ vs basale, $p = 0,02$ vs pasto grasso). L'aumento delle citochine e delle molecole di adesione era significativamente più elevato dopo pasto grasso rispetto alla pizza: TNF- α ($p = 0,025$), IL-6 ($p = 0,036$), ICAM-1 ($p = 0,016$) e VCAM-1 ($p = 0,026$), rispettivamente. Questi risultati dimostrano che a) un pasto grasso attiva l'endotelio in modo più marcato nei pazienti diabetici rispetto ai soggetti normali; b) la pizza attiva l'endotelio solo nei pazienti diabetici, ma non nei soggetti normali; c) l'assunzione contemporanea di vitamine antiossidanti riduce l'attivazione endoteliale in entrambi i gruppi suggerendo un meccanismo di tipo ossidativo.

Gli AGEs (Advanced Glycation End Products) inducono resistenza agli effetti metabolici dell'insulina in cellule muscolari scheletriche L6

F. Paturzo, C. Miele, M.A. Maitan, C. Romano, M. Allocca, E. Parretta, F. Andreozzi*, P. Formisano, F. Beguinot

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare e Centro di Endocrinologia e Oncologia Sperimentale del CNR, Università di Napoli "Federico II"; *Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Catanzaro, Magna Grecia

L'ipotesi degli AGEs propone che la glicosilazione non enzimatica delle proteine, modificandone struttura e funzioni, contribuisca allo sviluppo delle complicanze associate al diabete. Tuttavia, restano ancora da investigare le vie di trasmissione del segnale indotto dagli

AGEs e il ruolo potenziale degli AGEs nella patogenesi dell'insulino-resistenza. In questo studio abbiamo cercato di chiarire se gli AGEs possano interferire con le vie di trasmissione del segnale dell'insulina in cellule muscolari scheletriche L6. Inizialmente, abbiamo studiato l'effetto cronico degli AGEs sull'utilizzazione del glucosio e sulla proliferazione cellulare indotti dall'insulina nelle L6. Quando le cellule vengono pretrattate con 0,1 mg/mL di AGEs per 24 ore, l'effetto dell'insulina sul trasporto del 2-deossiglucosio viene ridotto del 85% rispetto a cellule di controllo. L'incorporazione di timidina nel DNA è, invece, normalmente stimolata dall'insulina anche in presenza degli AGEs. Per studiare il meccanismo potenziale coinvolto in quest'effetto degli AGEs, abbiamo valutato l'azione degli AGEs sulle principali vie di trasmissione del segnale dell'insulina. La pre-incubazione delle cellule L6 con AGEs per 24 ore porta a una diminuzione di circa il 90% della fosforilazione in tiroxina di IRS1 e IRS2 indotta dall'insulina, rispetto alle cellule non trattate, mentre il contenuto proteico di queste proteine non viene modificato. Al contrario, l'autofosforilazione del recettore dell'insulina e la fosforilazione di She vengono normalmente indotte dall'insulina in presenza degli AGEs. L'attivazione di PKB indotta dall'insulina viene bloccata dalla pre-incubazione delle cellule L6 con AGEs, mentre l'attività della MAP chinasi è normalmente stimolata dall'ormone. Questi risultati mostrano per la prima volta l'esistenza di un cross-talk tra l'azione dell'insulina e il signalling degli AGEs, in grado di generare insulino-resistenza nella trasmissione dei segnali metabolici dell'insulina in cellule muscolari scheletriche L-6.

Identificazione di nuove mutazioni del gene WFS1 in pazienti affetti da sindrome di Wolfram

F. Prisco, S. Perrotta, A. La Manna, G. Corigliano, D. Di Pinto, B. Nobili, L. Cennamo, L. Carpinelli, D. Iafusco

Dipartimento di Pediatria, Seconda Università di Napoli, Napoli

La sindrome di Wolfram (SW), conosciuta anche con l'acronimo DID-MOAD (diabete insipido, diabete mellito, atrofia bilaterale del nervo ottico e sordità) è un disordine neurodegenerativo a carattere autosomico recessivo. In molti soggetti sono state, inoltre, descritte una serie di complicanze quali atonia del tratto urinario, atassia, neuropatia periferica e, soprattutto, disturbi psichiatrici. La SW può essere causata, ma non sempre, da mutazioni, in particolare delezioni, del DNA mitocondriale (mtDNA). Recentemente è stato identificato un gene (WFS1), localizzato sul cromosoma 4p16, la cui alterazione determina la SW. Riportiamo la nostra esperienza su tre pz con SW da tre diverse famiglie. In una sola delle tre famiglie esisteva consanguineità tra i genitori e in due soggetti era stato effettuato lo screening (negativo) del mtDNA. Abbiamo analizzato gli esoni 2-8 (con le regioni fiancheggianti) del gene WFS1 nei tre probandi identificando tre nuove mutazioni e un nuovo polimorfismo (T436T), ma anche due mutazioni missense (I333V, R611H) e alcuni polimorfismi precedentemente descritti (K811K, S855S, V395V). Le tre nuove mutazioni, ognuna delle quali trovata in un diverso soggetto, comprendono: 1) una mutazione nonsense (Tyr528Stop); 2) una delezione di tre nucleotidi GTG in posizione 1620 che determina un frameshift con un prematuro codone di stop nella posizione 891 e conseguente delezione degli ultimi 13 aminoacidi della "wolframina" e 3) una delezione di due nucleotidi AT in posizione 1465 che determina un frameshift con un prematuro codone di stop in posizione 541 e conseguente delezione degli ultimi 330 aminoacidi. Tutte le tre mutazioni descritte causano una precoce interruzione della sintesi proteica. Per quanto riguarda il ruolo delle mutazioni missense, non è ancora chiaro il significato funzionale della sostituzione I333V, mentre è stata riportata una possibile correlazione tra la mutazione R611H e i disordini bipolari. Lo screening molecolare effettuato rappresenta uno dei primi in Italia. L'identificazione di nuove mutazioni nei tre soggetti studiati ci porta a ipotizzare che esiste un pattern genetico diverso rispetto ad altre popolazioni studiate e pertanto l'estensione dell'analisi molecolare ad altri pazienti italiani potrebbe consentirci un rapporto tra genotipo e fenotipo.