

Caso clinico

Un caso di diabete mellito neonatale permanente: aspetti attuali di una patologia rara

M.G. Ignaccolo, G. Greco, I. Rabbone, F. Cerutti

SCUD Endocrinologia e Diabetologia
Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza,
Università di Torino
Ospedale Infantile Regina Margherita di Torino

Corrispondenza: prof. Franco Cerutti,
Unità Operativa Pediatria, Ospedale Regina Margherita,
piazza Polonia 94, 10126 Torino

G It Diabetol Metab 2009;29:207-210

*Pervenuto in Redazione il 13-08-2009
Accettato per la pubblicazione il 07-10-2009*

Parole chiave: diabete mellito neonatale, mutazioni del gene KCNJ11, terapia con sulfonilurea

Key words: neonatal diabetes mellitus, gene KCNJ11 mutations, sulphonylurea treatment

Storia clinica

D.G.F. secondogenito è nato il 06/11/94 da genitori non consanguinei a termine di gravidanza con taglio cesareo per iniziale sofferenza fetale. Alla nascita le condizioni generali erano buone con indice APGAR di 10 (espressione della normale vitalità/reattività del neonato) e peso 2850 g. Allattato al seno, D.G.F. ha presentato nei primi 3 mesi di vita accrescimento ponderale regolare. All'età di 95 giorni il bambino è stato ricoverato per febbre e gastroenterite in Ospedale della cintura di Torino, da dove è stato trasferito dopo 2 giorni al nostro reparto per l'aggravamento delle condizioni e comparsa di ematemesi e melena. All'arrivo nel DEA le condizioni apparivano gravi e il peso era di 4550 g (con un calo riferito di circa 750 rispetto alla settimana precedente). Gli esami eseguiti evidenziavano glicemia 1133 mg/dl; EGA con pH 7,00 e bicarbonato plasmatico 6,8 mmol/L; K 2,52 mEq/L; Na 163 mEq/L (pari a 179 di Na "vero"); osmolarità di 404 mOsm/L (valori normali: 275-290); marcata glicosuria e chetonuria (4+), ematuria e proteinuria 2+. Posta diagnosi di chetoacidosi diabetica, si è iniziata terapia ev secondo protocollo, pochi minuti dopo l'inizio della quale il bambino ha presentato una crisi di ipertono degli arti superiori risolta con somministrazione di diazepam ev. Nelle 24 ore successive la ipernatremia è stata gradualmente corretta con normalizzazione del quadro biochimico. Ciononostante in seconda giornata si è verificata nuova crisi di ipertono generalizzato seguita da stato di coma per cui si è reso necessario trasferimento in Rianimazione per 2 giorni. Nel successivo decorso il quadro metabolico è rimasto nella norma, ma è residuo danno neurologico con cerebropatia epilettogena. Il bambino è stato dimesso dopo una degenza di 21 giorni con terapia insulinica suddivisa in 2 somministrazioni di insulina regolare e insulina protamina al giorno.

Esami di laboratorio e diagnosi iniziale

Gli esami eseguiti durante il ricovero hanno evidenziato emoglobina glicata (HbA_{1c}) 7,2%, C-peptide basale 0,02 ng/ml con negatività degli autoanticorpi GAD e IA-2 e positività per uno solo dei 4 eterodimeri di suscettibilità per diabete mellito di tipo 1 (T1DM). La diagnosi di dimissione è stata sofferenza neurologica conseguente a grave ipernatremia in T1DM. Verso la diagnosi della forma più frequente di DM in età pediatrica orientava l'esordio al di fuori del periodo neonatale (prime 3 settimane di vita), la grave carenza di secrezione insulinica e il seppur limitato rischio genetico; l'assenza di autoanticorpi anti-insulina era compatibile con la giovane età del paziente.

Follow-up e diagnosi definitiva

Nei 9 anni successivi alla diagnosi il compenso metabolico è parso sempre stabile con HbA_{1c} comprese tra 6,8-7,5% nonostante terapia insulinica condotta con 2 iniezioni quotidiane di miscele estemporanee di insulina e fabbisogno quotidiano di circa 0,5 unità/kg. Gli autoanticorpi specifici per T1DM risultavano sempre negativi. Permaneva inoltre il quadro di grave cerebropatia con impossibilità di mantenere la statura eretta senza appoggio e mancata acquisizione di capacità di parlare.

Nel 2002 i dati clinici di D.G.F. sono stati inseriti, insieme a quelli di altri 111 bambini con T1DM esordito nel primo anno di vita nel periodo 1980-97, nel database dello studio multicentrico promosso dal GdS Diabetologia della SIEDP. Circa il 60% di questi pazienti si erano ammalati dopo il 6° mese di vita e avevano tutte le caratteristiche clinico-laboratoristiche di T1DM. Il restante 40% aveva sviluppato diabete tra la nascita e il secondo trimestre di vita (180 giorni) e per lo più non risultava negativo sia per aplotipi HLA sia per autoanticorpi specifici per T1DM: ciò faceva ipotizzare che i bambini fossero affetti da una forma di diabete monogenico dovuto a una o più mutazioni di geni coinvolti nella struttura e funzione pancreatica¹. Essendo stata esclusa dopo indagine molecolare la diagnosi di MODY 2 e 4, è stata presa in considerazione la possibilità che D.G.F. e gli altri bambini con esordio entro i 6 mesi di vita fossero affetti da diabete mellito neonatale (DMN). La tipizzazione eseguita presso il laboratorio di Genetica della Clinica Pediatrica – Ospedale G. Gaslini di Genova ha evidenziato sostituzione in eterozigosi nell'esone 1 (R50P) del gene codificante la proteina Kir6.2.

Per questa, come per altre mutazioni del gene KCNJ11, a partire dal 2004 è stata avanzata la possibilità di sostituire la terapia insulinica con sulfoniluree del tipo glibenclamide (Glb). Dopo aver ottenuto il consenso informato dei genitori, a distanza di più di 11 anni dalla diagnosi iniziale, si è iniziato il tentativo di svezamento dall'insulina e sua sostituzione con glibenclamide alla dose iniziale di 0,4 mg/kg/die salita progressivamente sino a 0,9 mg/kg/die. Dalla 10ª giornata di trattamento le glicemie pre- e postprandiali sono migliorate con aumento del valore di C-peptide a digiuno passato da indosa-

bile a 0,70 ng/mL. La terapia insulinica è stata sospesa completamente a partire dal 20° giorno e non è più stata ripresa nei 3 anni di follow-up. Il valore medio attuale di HbA_{1c} è 5,6% e il ragazzo continua ad assumere Glb alla dose di 0,6 mg/kg/die senza effetti collaterali. Le condizioni generali di D.G.F. sono buone, non si sono più verificati episodi di convulsioni e sebbene la situazione neurologica permanga fortemente deficitaria, la capacità di deambulazione autonoma e l'interazione con l'ambiente circostante appare migliorata.

Discussione

Sino a pochi anni fa con il termine diabete mellito neonatale (DMN) si indicava una patologia rara (frequenza complessiva 1/400.000 nati vivi) a esordio alla nascita o al massimo entro i primi 30-45 giorni di vita con iperglicemia e chetoacidosi spesso molto gravi, a patogenesi non nota. In circa la metà dei pazienti la terapia insulinica era necessaria per un periodo di 1-6 mesi (forma transitoria DMNT), nel restante 50% per tutta la vita (forma permanente DMNP). Le due forme sono difficilmente distinguibili alla diagnosi. Il bambino con DMNT si presenta con minore peso neonatale, associato talora a macroglossia, quadro clinico meno grave e fabbisogno insulinico più contenuto; durante l'adolescenza, l'iperglicemia tende a ricomparire con le caratteristiche di diabete mellito di tipo 2 (T2DM)^{2,3}.

Indagini epidemiologiche e soprattutto lo sviluppo della genetica molecolare hanno contribuito non solo a definire la diffusione e le cause della malattia, ma anche a modificare l'approccio terapeutico e la prognosi dei pazienti. La nazione con la più elevata frequenza di DMN è l'Oman (1/45.000 nati vivi) dove il 55% dei matrimoni avviene tra consanguinei, fatto suggestivo della possibile origine genetica di questa forma di diabete. Secondo un recente studio collaborativo condotto in 3 Stati europei (Inghilterra, Olanda, Polonia) la frequenza del DMNP è passata da 1/800.000 nati vivi a 1/260.000, non tanto a causa di un incremento nell'incidenza della malattia quanto piuttosto per la differente definizione della malattia adottata⁴. Come conseguenza di diversi studi internazionali e di quello SIEDP citato in precedenza, si è stabilito infatti come cut-off temporale per porre il sospetto diagnostico di DMN i primi 6 mesi di vita estendendo le analisi genetiche a un maggior numero di pazienti (anche adulti) in precedenza classificati come affetti da T1DM.

L'utilizzo della genetica molecolare ha dimostrato che nella maggior parte dei casi il DMNT è dovuto ad anomalie della regione 6q24 correlate a isodisomia uniparentale paterna, duplicazione del locus 6q24 o difetto di metilazione della regione DMNT CGI, ove sono collocati i geni ZAC (*zinc finger protein associated with apoptosis and cell cycle arrest*) e HYMAI (*imprinted in hydatiform mole*) che nelle cellule neuronali pancreatiche sono coinvolti nella regolazione intracellulare del rilascio di insulina. Circa un terzo dei pazienti con DMNT presenta mutazione attivante del gene KCNJ11 che codifica la proteina Kir6.2 del canale del potassio della beta-cellula^{2,3}.

Il DMNP è geneticamente più eterogeneo, essendo associato a mutazioni di geni coinvolti nello sviluppo del pancreas,

nella produzione e secrezione insulinica e nella funzione immunitaria, quali:

- *gene FOXP3*: è espresso nella popolazione dei linfociti T-regolatori CD4+ CD25+ e codifica la proteina Scurfin, coinvolta nella regolazione della tolleranza timica. Topi carenti di questa popolazione di linfociti sviluppano malattie autoimmuni (tiroiditi, gastriti e diabete mellito di tipo 1). Nel bambino le mutazioni nel locus Xp11.23 si esprimono con la sindrome IPEX (poliendocrinopatia, enteropatia, X-linked) trasmessa con meccanismo recessivo, che si presenta a partire dai primi mesi di vita con patologie autoimmuni, quali diabete mellito, diarrea intrattabile, rash cutaneo, eczematoso psoriasico e talora anemia emolitica e trombocitopenia. La sindrome è letale, ma di recente è stata sottoposta con successo a trapianto di midollo;
- *gene EIF2AK3*: la mutazione del locus 2p12, dove è allocato il gene altamente espresso nelle beta-cellule che agisce come regolatore nella sintesi proteica, causa la sindrome di Wolcott-Rallison. La malattia, trasmessa con meccanismo autosomico recessivo, è caratterizzata da diabete mellito (a volte a insorgenza in epoca neonatale), displasia spondiloepifisaria e ritardo dell'accrescimento, talora associate anche a malformazioni renali, fibroelastosi endocardica e ritardo mentale;
- *gene INS*: mutazioni ereditate per via autosomica dominante o a comparsa de novo determinano anomalie della molecola della proinsulina con sua degradazione nel reticolo endoplasmico, stress del medesimo e morte delle beta-cellule per apoptosi: la comparsa di iperglicemia avviene più entro i primi 2 mesi di vita;
- *gene PTF1α*: posto su un locus sul cromosoma 10p13-p12.1, è coinvolto in una forma di DMNP caratterizzato da agenesia pancreatica e cerebellare;
- *gene IPF-1 (insulin promoter factor-1)*: regolatore dello sviluppo pancreatico e dell'espressione di geni specifici della beta-cellula (Glut-2, glucocinasi) e del gene dell'insulina. La mutazione omozigote inattivante di IPF-1 porta alla nascita di bambini con agenesia del pancreas; la situazione di eterozigosi è alla base del MODY 4 (*maturity onset diabetes of the young*);
- *gene GCK (glucocinasi)*: regola la sintesi dell'enzima essenziale per il metabolismo ossidativo del glucosio, che nella beta-cellula attraverso la produzione di ATP determina la chiusura del canale del potassio ATP-dipendente necessaria per la secrezione di insulina. L'eterozigosi è causa del MODY 2 (la forma MODY più frequente nelle casistiche pediatriche), mentre i rari casi di omozigosi si manifestano con DMNP;
- *gene KCNJ11 e gene ABCC8*: codificano rispettivamente per le proteine strutturali della subunità Kir6.2 (rettificante inverso del K) e SUR1 (recettore della sulfonilurea) del canale K ATP-dipendente. Quest'ultimo, presente in molte cellule di organi e tessuti, tra cui sistema nervoso e muscolo scheletrico e cardiaco, a livello pancreatico regola la secrezione di insulina. A riposo, il potenziale di membrana della beta-cellula è mantenuto dall'azione delle pompe Na⁺-K⁺ ATP-dipendenti, che controllano la fuoriuscita di K⁺ attraverso il canale ATP-dipendente che è

costantemente aperto. Allorché entra nella beta-cellula, il glucosio viene avviato a opera della glucocinasi (GCK) alla glicolisi con aumento del rapporto ATP/ADP. Questo effetto metabolico determina in successione chiusura del canale del K, depolarizzazione della membrana cellulare, apertura dei canali del Ca²⁺, notevole aumento del Ca²⁺ intracellulare in prossimità della membrana plasmatica e infine esocitosi di granuli contenenti insulina²⁻⁵.

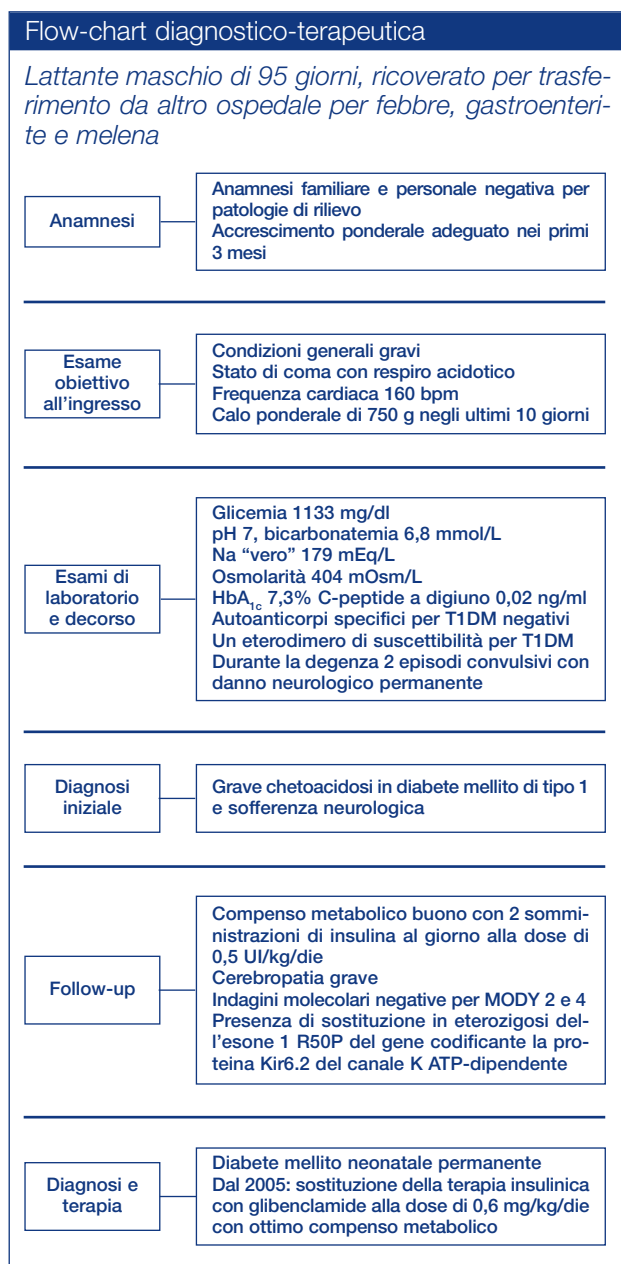
La mutazione attivante del gene KCNJ11 è la causa più frequente di DMNP (30-50% dei casi), mentre quella del gene SUR1 è stata osservata in un numero di pazienti più limitato. Il ruolo patogenetico del gene KCNJ11 è stato avanzato dopo la dimostrazione che mutazioni inattivanti causano il quadro clinico dell'ipoglicemia persistente da iperinsulinismo dell'infanzia (PHHI, *persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy*, in precedenza nota anche come nesidioblastosi) che in una discreta percentuale dei pazienti può essere curata con somministrazione di farmaci che aprono il canale del K come il diazossido⁶. Negli ultimi anni sono state identificate numerose mutazioni sia attivanti sia inattivanti del gene KCNJ11 caratterizzate da un ampio spettro di quadri fenotipici (riassunti nella tabella 1) che vanno dall'ipoglicemia persistente da iperinsulinismo dell'infanzia alla sindrome DEND (*development delay, epilepsy, neonatal diabetes*)²⁻⁷. In quest'ultima l'interessamento neurologico è di gravità differente, in relazione al tipo di mutazione genica riscontrata; la variabilità fenotipica è caratteristica anche dei rari casi di mutazione del gene ABCC8. Nel nostro paziente la grave sintomatologia neurologica e muscolare potrebbe indirizzare la diagnosi verso la sindrome DEND, a sfavore della quale sta il riscontro della mutazione R50P del gene KCNJ11, di solito associata al solo quadro di DMNP.

La definizione del ruolo delle mutazioni dei geni KCNJ11 e ABCC8 nella patogenesi del DMN e nel meccanismo di secrezione beta-cellulare ha radicalmente modificato anche la terapia e la prognosi dei pazienti, sino a pochi anni fa destinati ad assumere insulina per tutta la vita. Fondamentale in questo senso è stato lo studio secondo cui pazienti con difetto di Kir6.2, non responsivi al carico di glu-

Tabella 1 Mutazioni del canale K ATP-dipendente e manifestazioni fenotipiche.

Mutazioni inattivanti	Mutazioni attivanti				
	PHHI	T2DM	DMNT	DMNP	DEND
	E23K	G53R	G53N	V59G	
		G53S	F35L	V59M	
		I182V	R50P	Q52R	
			K170N	I296L	
			R201C		
			F333I		

DEND: *development delay, epilepsy, neonatal diabetes*; DMNP: forma permanente di diabete mellito neonatale; DMNT: forma transitoria di diabete mellito neonatale; PHHI: *persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy*; T2DM: diabete mellito di tipo 2.



cosio ev, evidenziavano un aumento della secrezione di insulina dopo stimolo combinato di glucosio e sulfonilurea (SFU). I primi trial sperimentali in alcuni soggetti con mutazioni del gene KCNJ11 hanno dimostrato che la somministrazione di SFU determina, attraverso il legame alla subunità SUR1, la chiusura del canale K ATP-dipendente e netto miglioramento della secrezione insulinica⁸. Negli ultimi anni in un numero crescente di bambini con DMNP l'impiego di SFU (per lo più glibenclamide, ma anche glipezide) ha permesso di sospendere la terapia insulinica, normalizzare le glicemia e mantenere i valori di HbA_{1c} intorno a 5-6%⁹. La SFU può essere somministrata nei lattanti previa sua soluzione in acqua alla concentrazione di 5 mg/ml. In taluni casi di sindrome DEND è stato segnalato anche un possibile miglioramento del qua-

dro neuromuscolare dovuto alla presenza dei canali del K anche nei tessuti extrapancreatici. In realtà le SFU sono attive sulla isoforma SUR-1 presente nelle cellule-beta del pancreas, mentre non sono in grado di legarsi alla isoforma SUR-2 che è prevalente nei neuroni e nei muscoli. La reale efficacia della terapia sulla funzione muscolare e neurologica nella sindrome DEND necessita pertanto di ulteriori verifiche. L'interesse del nostro caso, oltre per la sua rarità, deriva dalla dimostrazione che, anche a distanza di più di 10 anni dall'inizio della terapia sostitutiva con insulina, la beta-cellula è in grado di mantenere la propria vitalità e, adeguatamente stimolata da SFU, di riprendere un'adeguata funzione di secrezione insulinica. La persistenza nel tempo dell'effetto positivo della terapia con SFU merita di essere valutata in studi longitudinali multicentrici su ampie casistiche. In conclusione riteniamo che l'impiego delle tecniche di genetica molecolare inciderà notevolmente sulle nostre conoscenze in campo di epidemiologia, classificazione, patogenesi e farmacoterapia del diabete. Il DMN per esempio, che alla luce dei recenti studi attuali è forse più corretto definire con il termine di diabete mellito permanente dell'infanzia, si sta rivelando come un insieme sempre più differenziato di forme di malattia, suggestivo dell'utilità di rivedere la classificazione ADA del 1997.

Bibliografia

1. Iafusco D, Cotechini MA, Cotelessa M, Martinucci ME, Gazzella G, Cherubini V et al. *Permanent diabetes mellitus in the first year of life*. *Diabetologia* 2002;45:798-804.
2. Polak M, Shield J. *Neonatal and very-early-onset diabetes mellitus*. *Semin Neonatol* 2004;9:59-65.
3. Aschroft FM. *ATP-sensitive potassium channelopathies: focus on insulin secretion*. *J Clin Invest* 2005;115:2047-58.
4. Singerland AS, Shields BM, Flanagan SE, Bruining GJ, Noordam K, Gach A et al. *Referral rates for diagnostic testing support an incidence of permanent neonatal diabetes in three European countries of at least 260,000 live births*. *Diabetologia* 2009;52:1680-2.
5. Sagen JV, Raeder H, Hathout E, Shehadeh N, Gudmundsson M, Baevre H et al. *Permanent neonatal diabetes due to mutations in KCNJ11 encoding Kir6.2*. *Diabetes* 2004;53:2713-8.
6. Dunne MJ, Cosgrove KE, Shepherd RM, Aynsley-Green A, Lindely KJ. *Hyperinsulinism in infancy: from basic science to clinical disease*. *Physiol Rev* 2004;84:239-75.
7. Flanagan SE, Edghill EL, Gloyn AL, Ellard S. *Mutations in KCNJ11, which encodes Kir6.2, are a common cause of diabetes diagnosed in the first 6 months of life, with the phenotype determined by genotype*. *Diabetologia* 2006;49:1190-7.
8. Sagen JV, Raeder H, Hathout E, Shehadeh N, Gudmundsson K, Baevre H et al. *Permanent neonatal diabetes due to mutations in KCNJ11 encoding Kir6.2: patient characteristics and initial response to sulfonylurea therapy*. *Diabetes* 2004;53:2713-8.
9. Tonini G, Bizzarri G, Bonfanti R, Vanelli M, Cerutti F, Faleschini E et al.; early-Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology. *Sulfonylurea treatment outweighs insulin therapy in short-term metabolic control of patients with permanent neonatal diabetes mellitus due to activating mutations of the KCNJ11 (KIR6.2) gene*. *Diabetologia* 2006;49:2210-4.