

SS2_endocrinologia_continuazione lezione precedente + diabete di tipo 1

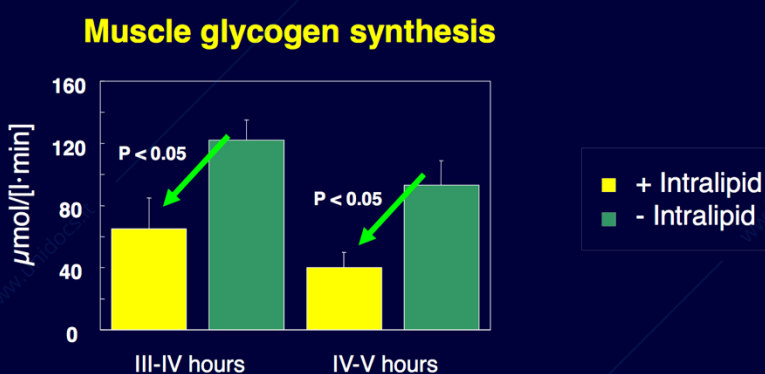
2° lezione

08.03.2016

Ripresa della lezione precedente: *se Mikowski non fosse stato in grado di sentire il sapore dolce delle urine dei cani diabetici forse non avremmo considerato il diabete come una malattia legata all'alterazione del metabolismo del glucosio ma l'avremmo considerata come un'alterazione del metabolismo degli acidi grassi.*

Le stesse alterazioni che riscontriamo nei soggetti con diabete, e che consideriamo essere le situazioni che patogeneticamente determinano la glicemia elevata, sono riproducibili in soggetti sani rendendo maggiormente disponibile nel sangue il substrato lipidico: aumentando i livelli circolanti di ag liberi siamo in grado di riprodurre negli organi di cui abbiamo parlato la scorsa settimana gli stessi deficit metabolici che caratterizzano il diabetico. Avevamo iniziato a vedere a livello del muscolo scheletrico di individui sani normali giovani che andavano incontro a procedure sperimentali. Servivano per spingere il m scheletrico a produrre glicogeno dando simultaneamente

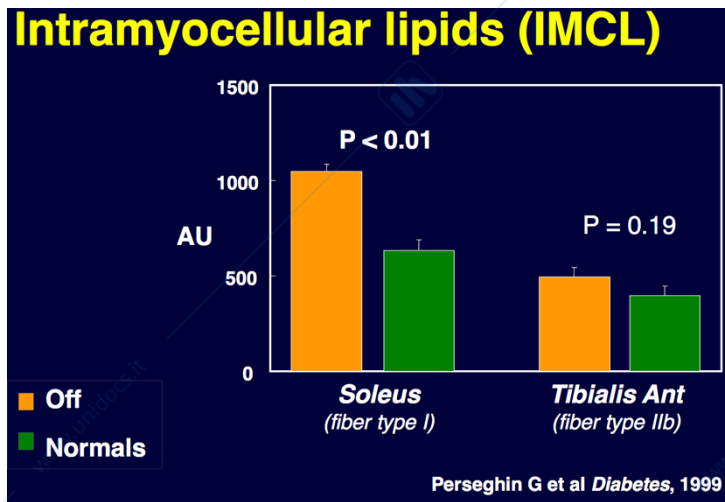
Fat-induced insulin resistance



insulina e glucosio. Le colonne verdi rappresentano la velocità con la quale il muscolo incorpora glucosio sotto forma di glicogeno, lo stesso soggetto poi ripete la stessa identica procedura dopo 3-4 h di infusione di lipide (tg e eparin a, perché questa idrolizza il tg

aumentando la concentrazione di ag liberi). Dopo questa infusione il soggetto sano, con aumentati ag liberi nel sangue, presenta le stesse caratteristiche del soggetto con diabete, ovvero una ridotta capacità di produrre glicogeno a livello muscolare. Nella terza e quarta ora e nella quarta quinta ora del test nel m scheletrico aumentando i livelli di ag liberi nel sangue si induceva nel m scheletrico una ridotta capacità di produrre glicogeno. Così facendo si è riprodotto lo stesso quadro di insulino resistenza muscolare che caratterizza il diabetico. Nel soggetto diabetico questa condizione di insulinoresistenza si è generata nel corso di anni (fino a 5-10-20 anni), aumentando la concentrazione plasmatica di ag liberi in 5 h è riproducibile l'insulino resistenza nel nostro

organismo e a livello del m scheletrico determinare una ridotta capacità di incorporare glucosio per fare glicogeno. Ovviamente queste procedure sperimentale avevano lo scopo di simulare in poche ore una situazione ambientale di eccesso calorico nella dieta.

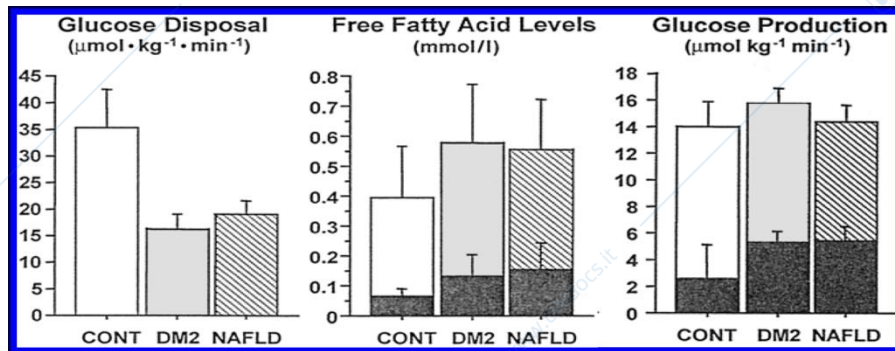


Effettivamente è possibile trovare un eccesso di lipidi dove noi non vorremmo trovarlo (si chiama grasso ectopico) e misurarlo in maniera non invasiva con RM nucleare misurando quanti tg sono nel citoplasma della fibra muscolare. Effettivamente questa alterazione è riscontrabile non solo nei soggetti diabetici, ma addirittura precocemente

nei loro figli, nei quali a dispetto dell'assenza di una chiara manifestazione di iperglicemia, è possibile dimostrare un accumulo di lipide nel m scheletrico e in maniera più marcata nel m soleo che è costituito da fibre di tipo 1 prevalentemente ossidative (per sforzi prolungati, come mantenimento della postura) rispetto alle fibre di tipo 2B che sono glicolitiche (come nel m tibiale anteriore, utile per rapide risposte alla stimolazione). Sono proprio le fibre che dal punto di vista energetico devono utilizzare prevalentemente ag e/o glucosio che soffrono di questo infarcimento di lipide, che è deleterio e causa dell'insulinoreistenza.

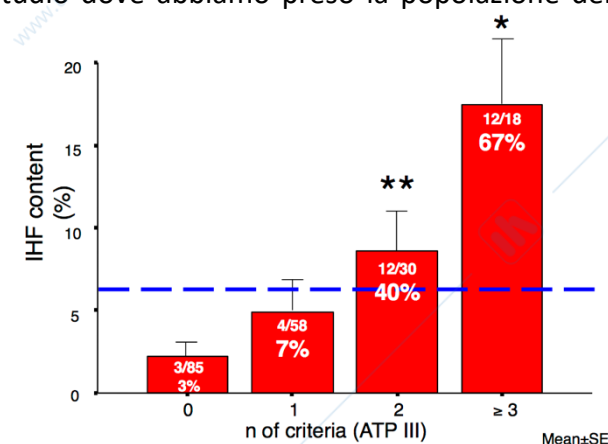
Le prossime diapositive hanno lo scopo di documentarvi che accade esattamente lo stesso nella **steatosi epatica** che caratterizza una larga fetta della popolazione, soprattutto maschile adulta. I dati per questa diapositiva sono stati generati da colleghi di Bologna che hanno voluto mostrare quello che abbiamo visto prima a livello del m scheletrico. Se si somministrano ag liberi nel giro di 5 h siamo in grado di indurre lo stesso difetto osservabile nel pz con diabete, ma in questo caso l'accumulo studiato è a livello del fegato. Il pannello di sx indica l'utilizzo di glucosio del m scheletrico. La colonna bianca indica i soggetti sani normali non diabetici senza fegato grasso, la colonna grigia indica i diabetici e la colonna con le righe oblique indica i non diabetici con fegato grasso. Anche se hanno un fegato grasso il m scheletrico è insulino-resistente, quindi quando somministro insulina il muscolo utilizza glucosio ad una velocità che è ridotta rispetto ai normali e comparabile rispetto al diabetico. Quindi i soggetti senza diabete ma con steatosi hanno un m scheletrico che quando stimolato a usare glucosio si comporta come il m scheletrico di un pz con

diabete. Il pannello centrale mostra la concentrazione di ag liberi. Ricordo che il t adiposo rilascia ag liberi idrolizzando i tg nel suo citoplasma. Al mattino a digiuno nella colonna di mezzo grigia i soggetti con diabete liberano molti più ag rispetto ai controlli (colonna bianca), quindi questi soggetti hanno un t adiposo che non sente l'insulina che gli dice di non produrre ag, e continua a produrne in eccesso.



E vedete che questo comportamento è identico ai soggetti con fegato grasso, ultima colonna a dx. Anche in questi soggetti la concentrazione di ag a digiuno è maggiore a quella dei controlli e comparabile a quella dei diabetici. Come vedete nelle colonnine nere in basso, quando io do loro l'insulina, il t adiposo dovrebbe inibire la lipolisi e gli ag dovrebbero diminuire, ed è quello che vedete bene nei soggetti sani normali. La soppressione degli ag è quasi completa e rapidissima. Mentre nei soggetti diabetici, come nei soggetti con fegato grasso la capacità di sopprimere la concentrazione di ag inibendo la lipolisi non funziona in maniera appropriata. Non solo il muscolo, ma anche il t adiposo nei soggetti con steatosi si comporta come nei soggetti con diabete. A dx si vede cosa accade a livello del fegato, poiché hanno fegato grasso: la produzione epatica di glucosio (ovvero la velocità con la quale il fegato rilascia nel sangue glucosio, che nel diabetico è aumentata per aumentata gluconeogenesi) al basale è normale, perché i soggetti che entravano la sera precedente allo studio dovevano garantire di partire allo stesso livello rispetto al gruppo di controllo altrimenti queste vie metaboliche hanno una diversa modalità di funzionamento. Quindi tendenzialmente un soggetto diabetico ha una produzione epatica di glucosio che è aumentata, che non vedete in questa diapositiva perché sperimentalmente è stato fatto partire allo stesso livello del controllo [a mio parere poco chiaro, ndr.]. Però vedete che quando gli si dà insulina nel soggetto sano normale la produzione di glucosio a livello epatico si sopprime quasi completamente nei soggetti col diabete permane una capacità di rilasciare glucosio più alta. Quindi capite che un diabetico dopo un pasto, quando l'insulina aumenta, anziché chiudere il rilascio di glucosio continua ad immettere nel sangue una certa quantità di glucosio in maniera afinalistica, perché non ce n'è

bisogno perché i carboidrati stanno arrivando dall'intestino. Nell'ultima colonna ancora vedete come le persone con steatosi epatica si comportano dal punto di vista metabolico come persone diabetiche pur non avendo il diabete. Ancora una volta a dirvi che quando aumenta la disponibilità del substrato ag nel fegato noi riproduciamo dal punto di vista metabolico gli stessi difetti che caratterizzano una persona con diabete, a dire che, come abbiamo visto nel muscolo, se noi immaginiamo una situazione non sperimentale con un eccesso calorico nella dieta, questo accumulo di calorie nel fegato innesca gli stessi deficit metabolici che caratterizzano il soggetto con diabete. Quindi è lecito attendere che le persone con eccesso calorico, se il tessuto adiposo non funziona appositamente assumendo tutto l'eccesso calorico, ma lo lascia disponibile nel torrente circolatorio, facilita l'accumulo di questo substrato negli organi dove non dovrebbe accumularsi, ad esempio appunto il fegato. Questo è un vecchio studio dove abbiamo preso la popolazione dei dipendenti del San Raffaele che riferivano di essere sani: non sapevano di avere alcuna malattia e non stavano assumendo nessuna terapia farmacologica, erano quasi 350. Quando si applica la metodica non invasiva (non biopsia, ma la RM nucleare spettroscopica del protone) per misurare il contenuto intraepatico di tg si vede, come nella diapositiva:



- Tra i soggetti con 0 criteri di sindrome metabolica → 3 individui su 85 hanno troppi tg
- Tra i soggetti con 1 criterio di sindrome metabolica → 4 su 58 troppi tg
- Tra i soggetti con 2 criteri di sindrome metabolica → 12 su 30 troppi tg
- Tra i soggetti con 3 o più criteri di sindrome metabolica → 12 su 18 troppi tg

Quindi la sindrome metabolica¹, condizione strettamente legata alla circonferenza vita, predispone molto alla steatosi epatica.

¹ Sindrome metabolica, almeno 3 criteri per diagnosi:

- Circonferenza vita (antropometrico);
- Glicemia (metabolico)
- HDL (lipidologico)
- Tg (lipidologico)
- Pressione arteriosa

Nel 2010 si è arrivati ad una visione della patogenesi del diabete che prevedeva la beta cellula che produce una relativa poca quantità di insulina che non funziona nel muscolo per dirgli di fare glicogeno, nel fegato per dirgli di smettere di fare gluconeogenesi, e nel t adiposo per dirgli di smettere di fare ag liberi. Quindi l'insulina non è efficace nel fare in modo che i substrati potenzialmente tossici se presenti in alte concentrazioni nel sangue (glucosio e ag) diminuiscano le loro concentrazioni, ergo iperglicemia e aumentata concentrazione plasmatica di ag liberi.

Non ne parleremo molto perché non abbiamo a disposizione molti dati, con le nuove metodiche di RM funzionale, si può vedere facendo studi in soggetti obesi che la velocità con la quale l'ossigeno viene captato in certe aree del **SNC**, non solo le aree tipiche della fame e della sazietà, quindi i nuclei laterale e ventromediale dell'ipotalamo, ma anche aree sottocorticali associate al piacere e al gusto, è diversa rispetto al soggetto normopeso. E quando si stimola questa captazione con l'insulina, con del cibo o semplicemente facendo vedere delle immagini di cibo accade che queste aree del SNC si accendono e si spengono in maniera diversa a seconda che l'individuo sia normopeso o sovrappeso. Quindi attraverso le efferenze dal SNC al periferico, ad esempio al fegato, è possibile che il fegato con una maggiore scarica ortosimpatica inappropriata rispetto alla parasimpatica rilasci più glucosio, oppure il t adiposo rilasci in maniera inappropriata più acido grasso. Non ne parleremo nel dettaglio perché le nostre evidenze sperimentali per dire che il nostro SNC è implicato nella patogenesi del diabete di tipo 2 attraverso specifici meccanismi e attraverso vie metaboliche è un po' prematuro, ma sulla base di dati ottenuti su modelli animali è sicuro e certo.

Domanda: le alterazioni a livello del SNC sono primarie o secondarie a fattori ambientali?

Esistono modelli animali nei quali deficit geneticamente determinati, come animali ingegnerizzati in modo tale da non poter differenziare il preadipocita in adipocita, quindi l'animale è magrissimo non avendo t adiposo. Eppure è diabetico, ipertrigliceridemico, ha la steatosi epatica perché il t adiposo non funziona e i tg vengono accumulati in tutti gli altri organi generando tutti i danni immaginabili dal punto di vista metabolico e cardiovascolare. È ovvio che questo è un modello sperimentale che determina una predisposizione nativa dell'animale. Dall'altro lato abbiamo a disposizione una serie di modelli animali, tra cui il più famoso è lo zucker rat, nei quali esiste una chiara tensione dell'animale nello sviluppare dopo che sia stato esposto all'ambiente, il sovrappeso, l'obesità, il diabete e le malattie metaboliche. Detto questo è difficile dire sulla base di modelli animali dire se viene prima l'uovo o la gallina, tendenzialmente si propende per il fatto che è soprattutto il fattore

ambientale che gioca un ruolo fondamentale. Poi ci saranno sicuramente soggetti protetti dal punto di vista genetico protetti perché hanno un t adiposo formidabile. Tendenzialmente la modificazione è secondaria, il diabete di tipo 2 non è definibile come una malattia geneticamente determinata, benché esista una forte predisposizione genetica. Ai miei tempi si diceva che nei pz con diabete di tipo 2 è altamente probabile che ci sia almeno un parente di primo grado con la malattia. A distanza di tanti anni si può fare la domanda: esiste una famiglia nella quale non siano presenti degli individui che siano affetti da diabete di tipo 2? Ora come ora in Lombardia non sono tantissime, perché siccome tutto è trainato dal sovrappeso, dall'obesità e dall'eccesso calorico il diabete è diventato pandemico. Quindi la risposta è che il diabete di tipo 2 è secondario ad un effetto dell'ambiente.

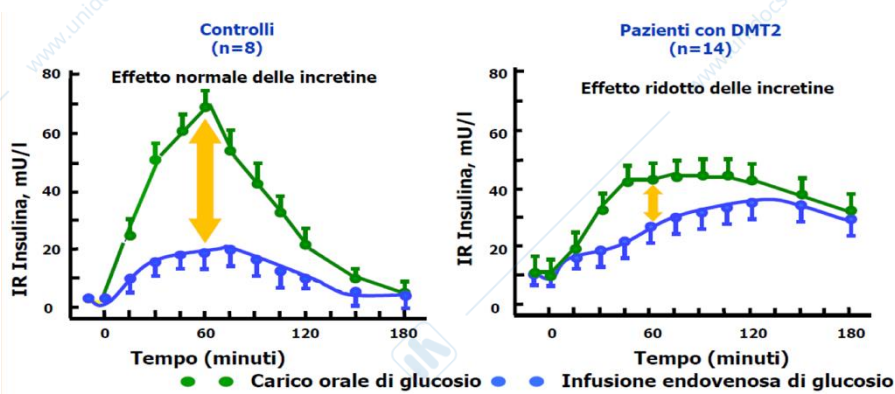
Ruolo del tratto gastroenterico

Dicevo la situazione è molto più complicata perché non sorprendentemente il tratto gastroenterico è un'enorme ghiandola endocrina che produce un'enorme quantità di ormoni e tra questi ce ne sono alcuni che vengono prodotti dopo il pasto, quando noi introduciamo degli alimenti. A livello dello stomaco e dell'intestino ci sono degli ormoni che stimolano la beta cellula a produrre insulina e questo meccanismo è particolare perché viene attivato solo quando nel tratto gastroenterico ci sono degli alimenti. Siccome sono ormoni prodotti dal tratto gastroenterico e li producono solo quando ci sono degli alimenti è ovvio che risultano un potenziamento della capacità della beta cellula di produrre insulina. Un potenziamento rispetto allo stimolo metabolico dato dall'aumento della glicemia. Dietro a questo aspetto metabolico c'è quindi anche un aspetto ormonale. Il tratto gastroenterico rilascia il **GLP1** (glucagon-like peptide 1) che stimola a livello beta cellulare la produzione di insulina. La stimola in maniera intelligente perché la stimola solo se ci sono gli alimenti. Si è visto che nei diabetici la capacità dell'intestino di produrre glp1 è ridotta.

Ruolo del rene

Anche il rene è coinvolto nella patogenesi del diabete di tipo 2. Nelle persone con il diabete di tipo 2 scompenstate comincia a comparire glucosio nelle urine, alla mattina, quando le glicemie durante la notte sono state elevate. La soglia al di sopra della quale il rene non riesce a riassorbire il glucosio della preurina è 180 mg/dl. In questo caso la patologia renale non è primitiva nella patogenesi del diabete ma secondaria, quindi uno prima sviluppa il diabete e poi questo problema. Dal punto di vista metabolico sembra che la soglia renale di riassorbimento del glucosio nelle persone con diabete si modifichi in maniera significativa, esasperando la capacità del nostro sistema metabolico

di non buttare via niente, di preservare il più possibile. Quindi la soglia da 180 va su. Motivo per cui i farmaci di ultima generazione, che sono stati introdotti per trattare il diabete, impediscono il riassorbimento del glucosio a livello tubulare, facendo in modo che dalla preurina non venga riassorbito ma rimanga nell'urina venendo eliminato. Questo determina quindi un vantaggio sia sulla glicemia, elimino del glucosio con l'urina, ma non solo, siccome per ogni grammo di glucosio eliminato elimino 4 kcal se perdo 50 g di glucosio al giorno perdo 200 calorie al giorno. Sono dei farmaci che non solo determinano una riduzione della glicemia ma anche una riduzione del peso. Quindi vedete che nella patogenesi del diabete di tipo 2 gli organi protagonisti su cui si può lavorare per ottenere un effetto di cura sono molti e sono diversi.



Questo è il **deficit incretinico**, cioè il deficit della capacità del tratto gastroenterico di produrre glp1. Focalizzatevi un attimo sul pannello di sinistra sono soggetti sani normali nei

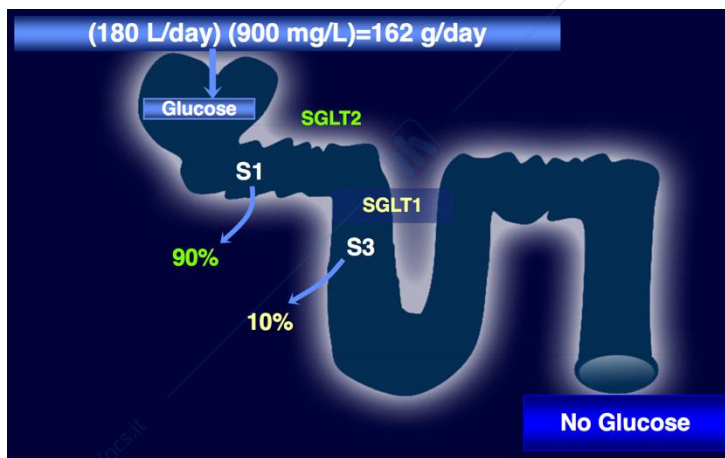
quali determiniamo (non si vede dal pannello ve lo spiego dal punto di vista sperimentale) un incremento della glicemia identico in due giornate diverse con due procedure sperimentali diverse. Il profilo della glicemia, costruito ad arte dallo sperimentatore in quei due giorni, è identico, aumenta in maniera esattamente uguale, la differenza è che un giorno quell'incremento è determinato dal fatto che io ho somministrato glucosio per bocca e l'altro giorno per via endovenosa. Voi vedete benissimo l'effetto incretinico a sinistra, quando io ho ottenuto un aumento della glicemia somministrandolo per bocca la produzione di insulina è enormemente superiore a quando io l'ho somministrato per via endovenosa. Le glicemie sono identiche però vedete che la beta cellula produce molto di più quando viene somministrato per bocca e questo perché quando il tratto gastroenterico vede arrivare gli alimenti produce glp1 che dice alla beta cellula di fare insulina. Quanta di più, lo vedete nel pannello a sinistra. Nel diabetico vedete la variazione dell'effetto incretinico generato dagli alimenti. Quando nel diabetico riproduco la stessa situazione sperimentale, due profili glicemici identici, una volta ottenuti con il glucosio per bocca e una volta endovena vedete che la differenza è piccola. È come se il tratto gastroenterico non fosse in grado di produrre adeguate quantità di glp1 e lo vedete dalla curva verde, produce meno insulina

perché fa meno gip1. Qui vedete che l'effetto del gip1 è importante sulla glicemia. Se infondo gip1 la glicemia scende. Scende perché, pannello di mezzo, infusione di gip1, il C peptide, che è un marker di secrezione endogena, aumenta in maniera significativa. Il gip1 sta dicendo al nostro pancreas di rilasciare insulina, tanto è vero che il c peptide va su. Quindi la glicemia scende perché il gip1 provoca un aumento di insulina, ma non solo, pannello di destra, perché il gip1 aiuta a mantenere sotto controllo la glicemia perché non solo stimola la produzione di insulina ma inibisce quella di glucagone, quindi stimola la beta cellula e sopprime l'alfa cellula. Il glucagone è l'ormone insulare contro regolatore, se l'insulina riduce la glicemia il glucagone l'aumenta. Quindi vedete che il gip1 agisce riducendo la glicemia, pannello di sinistra, non solo stimolando la produzione di insulina, pannello di centro, ma anche inibendo la produzione di glucagone, quindi un doppio effetto. Il gip1 ha un altro meccanismo di azione nel ridurre la glicemia, ritarda lo svuotamento gastrico, quindi se somministrate un farmaco di questo genere a una persona vi lamenterà effetti collaterali, che non sono effetti collaterali ma il meccanismo d'azione, quali la nausea e il vomito perché lo stomaco non riesce a svuotarsi. È il motivo perché il profilo glicemico migliora, perché ritardando lo svuotamento gastrico la velocità con cui i carboidrati passeranno nel sangue sarà una velocità ridotta perché ci impiegano di più per arrivare a livello intestinale. Ultimo meccanismo per il gip1, è un mediatore che supera la BEE e va a finire nelle aree del SNC sottocorticale che accendono o spengono la sensazione di piacere quando noi mangiamo, quindi un effetto anche di tipo centrale.

Terapia

Se il gip1 nel diabetico viene prodotto poco bisogna fare in modo che nel sangue ce ne sia di più in maniera farmacologica. Due possibilità sono commercialmente disponibili. Il primo farmaco inibisce l'enzima che degrada il gip1. Gip1 che nel sangue viene degradato nel giro di pochi minuti dall'enzima dipeptidasi 4. Sono una classe di farmaci che sono gli inibitori di dipeptidasi 4, l'enzima non funziona, il gip1 non viene degradato, rimangono alte le concentrazioni nel sangue e quindi la glicemia tende a scendere. L'altra strategia è più farmacologica, non c'è gip1 quindi do il gip1. Ovviamente per una serie di strategie legate alla farmacocinetica e farmacodinamica non si userà il gip1 ma degli analoghi del gip1, un po' modificati per rendere l'emivita più lunga, fino alla possibilità di somministrarlo una sola volta alla settimana addirittura, quindi sono degli analoghi non esattamente uguali ma che svolgono le stesse funzioni. Quindi due differenti modalità: somministrazione del gip1 che è carente (terapia sostitutiva), oppure inibisco l'enzima che lo degrada. Ovviamente la terapia sostitutiva è molto più potente perché io posso arrivare anche a

dosi farmacologiche di glp1 che viene in questo caso iniettato, mentre l'inibitore di dp4 è una semplice compressa.



Questo invece è grossolanamente il glomerulo, tubulo prossimale, tubulo distale, è il vostro nefrone. In condizioni normali nelle vostre urine non compare glucosio perché tutto quello filtrato viene riassorbito. Il 90 % viene riassorbito da un trasportatore che si chiama **sGLT2** (sodium/glucose cotransporter 2), una

piccola quota, più distale viene riassorbito dall'1, sono due isoenzimi. Quindi nelle nostre urine non c'è glucosio. Se noi inibiamo questo sGLT2 con dei farmaci è ovvio che dal tratto prossimale arriverà al tratto distale del tubulo una quantità molto elevata che sGLT1 non riuscirà a compensare e quindi comparirà nelle urine del glucosio, quindi questa nuova classe di farmaci inibisce l'sGLT2 perché inibisce il riassorbimento di glucosio. È ovvio che l'individuo, avendo la glicosuria, fisiologicamente determinerà uno dei classici sintomi del diabete che è la poliuria. Non è un natriuretico, come i farmaci antiipertensivi, ma è un gluco-retico. In realtà è anche natriuretico perché per ogni molecola di glucosio esce una molecola di sodio. Inoltre il glucosio in uscita si porta dietro dell'acqua libera e in questo senso ridurrà non sola la glicemia, non solo il peso, ma anche la pressione arteriosa.

Cremona Study

Sono molti gli organi implicati nella genesi del diabete di tipo 2 ma anche i fattori ambientali quali vita sedentaria piuttosto che un grande apporto nella dieta sono fondamentali nello sviluppo dell'insulino-resistenza. Questa è così importante perché i dati epidemiologici, che servono ancora una volta a ricordare che il diabete è una malattia seria e grave, dicono che un maschio ogni 8 individui e una donna ogni 16, in 10 anni avranno un infarto e più spesso questo sarà fatale se l'individuo è affetto da diabete. Un maschio ogni 16 e una donna ogni 16 avranno in 10 anni un ictus e più spesso questo sarà fatale se il soggetto ha il diabete. Dietro questo profilo di rischio ci sta un piccolo ruolo dell'iperglicemia e un enorme ruolo dell'insulino-resistenza. Per darvi un'idea dell'interazione tra il ruolo che alcuni organi possono avere sul sistema omeostatico dell'intero organismo vi faccio vedere questi dati epidemiologici, non fisiopatologici, diversa tipologia di evidenza che abbiamo generato nel 2011. Uno studio lombardo, si chiama Cremona study, è uno

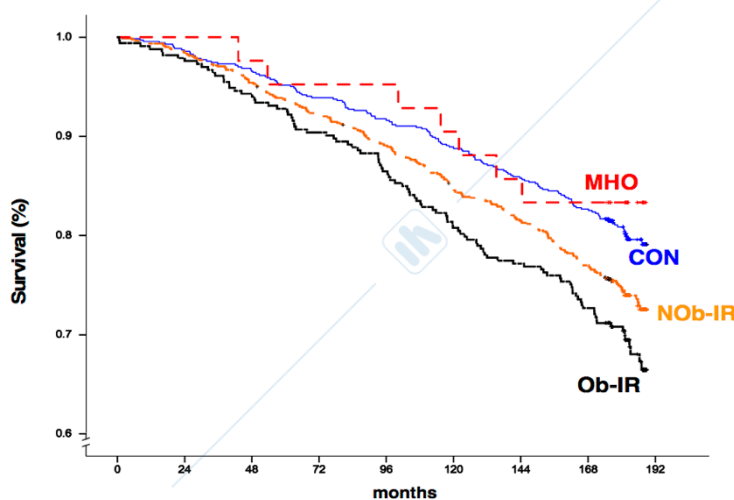
studio che era originato nel 1991. Allora non si sapeva quale fosse la prevalenza del diabete di tipo 1 in Lombardia. Si sono presi 3 comuni: Cremona, Casal Buttano e Vescovato. Si è chiesto a tutti gli abitanti di queste 3 municipalità di partecipare allo studio e hanno accettato in 2074 con un'età media di 57 anni. A tutti è stato fatto un carico orale di glucosio (OGTT). Il carico orale di glucosio negli anni 90, quando l'emoglobina glicosilata non era molto usata, era la modalità con cui si faceva diagnosi di diabete. Quindi il carico orale faceva vedere quanti erano diabetici sapendo di esserlo, quanti hanno scoperto facendo OGTT di essere diabetici, quanti erano intolleranti al glucosio e quanti normali. Nel 1991 tutti hanno fatto questa prova e sono stati registrati una serie di dati: peso, altezza, l'insulinemia, le transaminasi, la creatinina... 15 anni dopo siamo andati a vedere quanti di quei 2074 sono sopravvissuti e dei morti per quale motivo erano morti: cause cardiovascolari, cancro, morte epato-correlata (cirrosi ed epatocarcinoma, HCC). Siamo andati a vedere questi parametri e abbiamo preso un marker: nel 1991 non c'erano i fondi per fare un'ecografia a tutti i 2074 dello studio, quindi ci sono dei markers surrogati che stimano il rischio che una persona abbia steatosi epatica. Questo marker surrogato che è stato proposto da un investigatore italiano, Bedogni, ha dimostrato che se conosciamo i tg al mattino a digiuno, il BMI, le gamma glutamil transpeptidasi e la circonferenza addominale, siamo in grado con una formula che è inutile vedere nel dettaglio, di calcolare un marcatore, che lui poi ha battezzato come **FLI** (fatty liver index).

Il FLI predice se una persona ha un basso, medio o alto rischio di avere il fegato grasso. Abbiamo fatto questo calcolo e siamo andati a vedere se nelle persone che nel 1991 avevano un certo valore di FLI, questo predicesse la loro prognosi a distanza di 15 anni. Abbiamo visto, ancora una volta, come l'accumulo ectopico di grasso nel fegato incida nell'aspettativa di vita di una persona. Non sorprendentemente chi ha un fegato grasso muore con una velocità superiore in maniera significativa. L'analisi multivariata diceva la variabile che spiega la mortalità con maggiore frequenza che, come sempre, è l'età. Più vecchi siamo più elevato è il rischio. Quindi l'età, poi il sesso, risultava essere più alto il rischio nei maschi perché accumulano il grasso a livello addominale, i livelli di LDL e il FLI, che prediceva il rischio di morte epatica siccome c'è la steatosi che in pochi casi evolve a fibrosi, che in pochi casi evolve a cirrosi, che in pochi casi evolve a HCC. Ma i dati mostravano che il FLI veniva pescato anche per la mortalità per tutte le cause: cardiovascolare, cancro, incidente stradale, incidente domestico, malattie respiratorie e gastrointestinali. Qualsiasi fosse la causa il FLI si associava in maniera significativa come variabile indipendente. Per le malattie cardiovascolari, il fegato che è steatosico produce un sacco di infiammazione, ed è per questo che è un fattore di

rischio per le malattie cardiovascolari ma questo si sapeva. Lo stesso vale per le malattie neoplastiche. Tutto questo per dirci che avere un accumulo di grasso a livello del fegato paradossalmente non ci deve far pensare subito a questo soggetto è a rischio per lo sviluppo di un'epatopatia, perché il rischio per il singolo individuo è piccolo, per la società è enorme perché i maschi sopra ai 50 anni uno su tre ce l'hanno tutti, ma per il singolo individuo è un rischio piccolo. Il rischio non è di sviluppare la cirrosi ma di sviluppare malattie cardiovascolari e malattie neoplastiche che ne mineranno la sua prognosi. Quindi vedete che il FLI mediato dall'insulino-resistenza diventa un marcatore prognostico. Per altro se noi inseriamo un marcatore di insulino-resistenza queste associazioni scompaiono, a dirci che l'effetto del fegato grasso è mediato non dal fegato grasso di per sé ma dall'insulino-resistenza che ha causato il fegato grasso. È l'insulino-resistenza che si associa al rischio cardiovascolare e neoplastico. Questo è un aspetto metodologico, se nel sistema di analisi statistica che cerca di prendere tra tutte le variabili quelle che meglio predicono, se noi nel sistema forziamo l'insulino-resistenza, sparisce praticamente tutto perché l'insulino-resistenza la fa da padrona. Da sola lei spiega quasi tutto, tranne l'età.

La dimostrazione fisiopatologica è che se il t adiposo funziona bene siamo protetti dal rischio di sviluppare malattie gravi.

Possiamo ricavare altre informazioni sempre dallo studio Cremona ma analizzato in maniera diversa. Abbiamo suddiviso i 2074 soggetti in obesi e non obesi, a seconda di un BMI maggiore o minore di 30. Poi abbiamo diviso loro in insulino-resistenti e insulino-sensibili. L'**HOMA-IR** è un marcatore di insulino-resistenza, è il prodotto matematico glucosio x insulina, quindi più alto è più uno è insulino-resistente, più è basso più è insulino-sensibile. La popolazione l'abbiamo divisa in insulino-resistenti

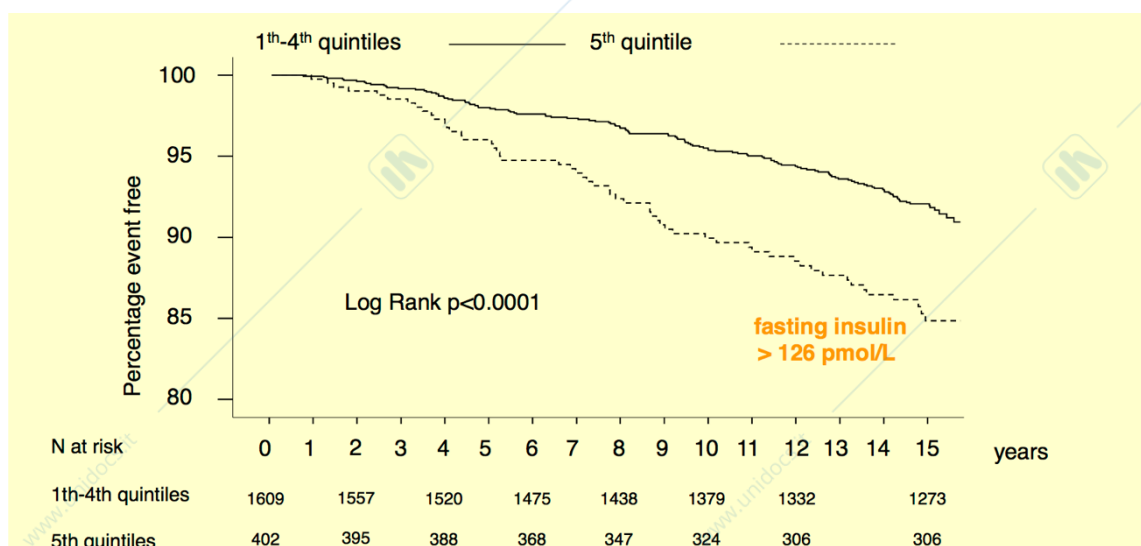


Non-obese insulin sensitive (CON)	708	693	679	662	645	625	603	581	366
Non-obese insulin resistant (NOb-IR)	923	899	872	841	812	769	741	699	462
Metabolically healthy obese (MHO)	43	43	41	40	40	38	35	35	27
Obese insulin resistant (Ob-IR)	337	325	313	301	288	269	257	242	171

e insulino-sensibili. Quindi abbiamo generato 4 categorie: i non obesi insulino-sensibili (i controlli diciamo), i non obesi insulino-resistenti, obesi insulino-resistenti, abbiamo detto che l'obesità è un fattore di rischio per l'insulino-resistenza, e la categoria più interessante, la quarta, gli obesi non insulino-resistenti,

che hanno quindi un t adiposo che funziona bene, quindi sono obesi ma non hanno alterazioni metaboliche. Qui siamo andati a vedere se nel 1991 un individuo veniva classificato in uno di questi 4 sottogruppi, con quale velocità questi morivano.

Qui vedete rappresentate le curve di sopravvivenza. La riga nera sono gli obesi insulino-resistenti, quelli che o morivano con la velocità più alta, infatti a distanza di 15 anni era sopravvissuto solo il 65 %; l'altro 35 era morto. Il controllo, la riga blu, alla stessa distanza di tempo erano morti il 20 %. Gli MHO (metabolic healthy obese), obesi metabolicamente sani, morivano alla stessa velocità dei controlli. Quindi non è l'obesità di per sé che aumenta il rischio ma è l'insulino-resistenza, tant'è che se prendete la categoria arancione, i non obesi, ma insulino-resistenti morivano di più degli obesi insulino-sensibili, a dirci che non è il BMI a fare la differenza ma proprio l'insulino-resistenza. L'altra considerazione che dobbiamo fare è che in basso dovete vedere i numeri dei soggetti: il numero dei soggetti obesi metabolicamente sani era 43/2074, e rispetto agli obesi erano l'11 %, quindi nell'ambito della popolazione dei soggetti obesi quelli metabolicamente sani non sono una fetta molto grossa. Se non volete usare l'HOMA-IR ma la sindrome metabolica, se quel soggetto è obeso ma non ha la sindrome metabolica, quel soggetto avrà un rischio più basso. La domanda è: se una persona è metabolicamente sana, rimarrà tale per tutta la vita o ad un certo punto non riuscirà più a garantire tale protezione? Non si conosce con certezza la risposta anche se sembra che non sia una protezione che dura per tutta la vita ma solo per un certo periodo. Se noi spingiamo con un bilancio energetico positivo cronico, che sia sedentarietà o che sia dieta, il t adiposo che funziona bene comincia ad esaurirsi anche lui, e l'obeso che era metabolicamente sano nel corso del tempo non lo sarà più e comincerà a vedere le HDL andare giù, i tg e la glicemia andare su e ad avere valori di pressione che inizieranno ad essere un pochino borderline. Il rischio non è solo metabolico ma anche di cancro.



Sempre nella popolazione di Cremona, dati poi comunque confermati da altri studi, coloro che hanno un'insulina alta al mattino saranno insulino-resistenti. Esempio: il vostro collega qui che sarà normopeso sicuramente, ha una glicemia al mattino a digiuno di 95 mg/dl e io che sono approssimativamente 25/30 anni più vecchio di lui ho la stessa glicemia, è ovvio che io sono a rischio più alto del suo perché ho un grado di insulino-resistenza superiore al suo. La glicemia al mattino a digiuno è di 95 mg/dl indipendentemente dall'età del soggetto, quello che si può osservare è che nelle persone normopeso il valore di insulina è 5 microU/ml mentre una persona in sovrappeso può arrivare ad avere 25 microU/ml. L'obesità viscerale rende una persona marcatamente insulino-resistente e quindi il pancreas deve produrre più insulina per poter mantenere la glicemia a 95 mg/dl. Quando viene fatta la diagnosi la persona con diabete di tipo 2 potrebbe avere insuline normali o addirittura superiori rispetto a quelle del gruppo di controllo perché il suo pancreas sta cercando di vincere l'insulino-resistenza. Finché non si sviluppa il diabete quindi la discriminante non sarà la glicemia ma sarà l'insulinemia. L'iperinsulinemia al mattino a digiuno è l'equivalente dell'insulino-resistenza, poiché per vincere quest'ultima il pancreas deve produrre più insulina. Se divido le 2074 persone dello studio di Cremona in quintili di insulinemia, quelle sono le velocità di sopravvivenza da eventi fatali legati al cancro. Il gruppo nel quinto quintile, cioè le persone che hanno insulina >25 microU/ml, va incontro a morte per cancro più rapidamente rispetto ai gruppi dei primi 4 quintili: l'iperinsulinemia quindi si associa a morte per cancro. I messaggi quindi sono:

- **l'insulino resistenza** che noi definiamo come evento sistemico può avere luogo in diversi tessuti (fegato, m scheletrico, tessuto adiposo e in parte miocardio);
- **l'accumulo ectopico di grasso**, per esempio nel fegato (fatty liver), nel muscolo o nella beta-cellula, è deleterio: non è chiaro se sia la causa o semplicemente la manifestazione dell'alterazione metabolica ma è un marker surrogato dell'insulino-resistenza. Se una persona ha molto grasso nel fegato (nell'ECO si vedrà un fegato brillante come da epatopatia steatosica) vi è un'alta probabilità che ci sia anche una insulino resistenza. Molto spesso questa persona avrà anche:
 - glicemia mossa
 - Hdl basse
 - tg alti
 - iperuricemia (presente solo in alcuni casi);

Questo lo identifica come un soggetto con sindrome metabolica.

- **L'insulino resistenza non va considerata solo come un marcatore o un attore fondamentale nella patogenesi del diabete di tipo 2** ma è un attore fondamentale nell'aspettativa di vita: indipendentemente dal fatto di avere il diabete, una persona con insulino-resistenza avrà una aspettativa di vita ridotta. Il tempo 0 è il momento in cui compare il diabete ma l'insulino-resistenza è presente magari da 20 anni: i PS sono pieni di persone che non hanno il diabete ma che si presentano con sindrome metabolica e la sindrome coronarica acuta.

Abbiamo quindi fatto una overview sul diabete di tipo 2 che è una malattia metabolica. Alla domanda: è una predisposizione primitiva o è secondaria all'ambiente? La risposta è dipende dall'ambiente

DIABETE DI TIPO I (dmt1)

Il diabete di tipo 1 non è una malattia metabolica ma bensì una malattia autoimmune che si basa su una predisposizione a generare un'alterata risposta immunitaria ad un'infezione. Anche in questo caso c'è un fattore ambientale importante ovvero un'infezione virale, è anche vero che di l'alterata risposta è nella stragrande maggioranza dei casi marcatamente legata al background genetico. Il diabete di tipo 1 rientra nella categoria delle malattie rare anche se in relazione all'età di insorgenza è una malattia estremamente drammatica. Queste sono alcune caratteristiche [credo si riferisca ad una slide, ndr.]: ci potrà essere anche qui un grado di insulino-resistenza se l'adolescente è sovrappeso ma non è frequente, la persona con dmt1 si caratterizza per una insulino-deficienza assoluta. Il livello di insulina circolante in un bambino con Dmt1 sarà però normale poiché viene somministrata. Per affermare che è totalmente insulino-deficiente non potremo misurare il livello di insulina ma dovremo misurare il c-peptide poiché nell'insulina commercialmente disponibile in questo momento c'è la presenza dei due segmenti di insulina legati da due ponti disolfuro senza il c-peptide. In pz con dmt1 da molti anni il c-peptide è indosabile, ci sono tuttavia dei pz in cui persiste una secrezione residua per cui è basso ma non proprio indosabile. L'insulino-deficienza assoluta è dovuta ad una distruzione completa delle beta-cellule nelle isole di Langerhans a causa di un processo infiammatorio autoimmune. Nella stragrande maggioranza dei casi è una malattia

autoimmune per la quale possiamo anche individuare dei marcatori tranne che per una piccola percentuale di pz in cui non si riesce a trovare una traccia sierologica della reazione autoimmune e questi vengono definiti idiopatici.

Descrizione slide: l'ascissa è il tempo. Immaginiamo, sulla base della ricostruzione dei dati che noi abbiamo da studi trasversali "cross sectional", che la sequenza sia la seguente:

1. Prima si ha un'isola in mezzo normale, non c'è processo infiammatorio, il parenchima del pancreas endocrino ed esocrino è perfettamente preservato, ci sono solo degli individui geneticamente suscettibili a sviluppare la malattia.
2. Dal punto di vista morfologico si vede che compare un processo infiammatorio: intorno all'isola arrivano le cellule che mediano i processi infiammatori ovvero i macrofagi. Il monocita circolante supera l'endotelio, passa nel tessuto interstiziale, si sposta grazie agli pseudopodi diventando un macrofago e comincia a produrre tutti i mediatori dell'infiammazione che a loro volta richiameranno i linfociti, i granulociti neutrofili etc. Noi vediamo il processo insulitico, il bambino adolescente non ha ancora il diabete e non si sta accorgendo di niente ma ha già un processo infiammatorio a livello beta-cellulare.
3. Il processo infiammatorio a livello delle isole del pancreas continua a progredire e nel tempo determina una distruzione dell'isola. Questo processo ricorda un'altra malattia endocrina: la tiroidite su base autoimmune (Hashimoto). Nella diagnosi nei bambini con diabete bisogna subito andare a controllare se non sia presente anche una tiroidite su base autoimmune perché i meccanismi sono veramente simili e sovrapponibili.
4. Le beta-cellule continuano ad essere distrutte e le isole vengono sovvertite nella loro struttura portando il pancreas a ridurre sempre più la capacità di produrre insulina. L'insulina è rappresentata da una riga rossa che nel tempo scende, questo non determina subito una iperglicemia ma la determina quando l'insulina è quasi azzerata e quindi il bambino si presenta in PS in coma iperglicemico o con una marcata iperglicemia associata ad una acidosi metabolica. Questo avviene perché non avendo insulina che stimola l'utilizzo ossidativo del glucosio il corpo utilizzerà come substrato ag e avendone tanti a disposizione si avrà la formazione di corpi chetonici.

Alla formazione di un processo infiammatorio a livello dell'isola concorrono in maniera ugualmente importante:

- La produzione di anticorpi generati da cloni di linfociti B;

- La immunità cellulo-mediata gestita dai linfociti T;
- Un quadro infiammatorio mediato dai macrofagi;

La malattia quindi si manifesta acutamente ma il bambino che si presenta in PS è da mesi che ha instaurato un processo su base autoimmune a livello pancreatico, molto spesso i fattori ambientali contribuiscono all'insorgere dell'episodio acuto: un esempio è la disidratazione. Non è ben chiaro il perché in una persona si inizi a produrre una immunità contro il self che è rappresentato dalla beta-cellula, viene ritenuto altamente probabile che ci possa essere un'esposizione ad un determinato virus: si parla di una qualche proteina virale contro cui viene attivata un'immunità o anticorpale o cellulo-mediata. Probabilmente la proteina virale ha delle caratteristiche simili a quelle della beta-cellula o dell'insulina (gli anticorpi che misuriamo nel sangue sono o contro l'insulina o contro la beta-cellula).

Tempo fa un immunologo di nome Bottazzo riteneva che la componente ambientale, ovvero l'infezione virale, fosse quella predominante. In Europa ci sono due aree dove il dmt1 è predominante: la Sardegna e la Finlandia. Bottazzo nel 1991 fece una lettura a Milano sostenendo che in Sardegna ci dovesse essere un virus che causava l'insorgenza della malattia. Furono in seguito avviate molte ricerche sui virus nella popolazione in Sardegna per capire se ci fosse un pattern diverso ma i risultati non sono stati soddisfacenti. Più verosimilmente la Sardegna è un'area dove fino ad un po' di tempo fa era presente una certa conservazione del patrimonio genetico e quindi si sono selezionati sempre più gli individui predisposti.

I marcatori della malattia autoimmune sono degli autoanticorpi, prodotti e misurabili nel siero. Alcuni sono **anti-insulina** altri sono **anti beta-cellula**: il più comune è quello di un enzima che si chiama GAD. **L'anticorpo anti-GAD** è quello che tipicamente permette di fare la diagnosi di dmt1 anche se ci sono casi definiti idiopatici perché queste persona hanno clinicamente il dmt1 in assenza degli anticorpi anti-isola e anti-insulina.

Rispetto a una storia metabolica molto complicata come nel diabete di tipo 2 qui abbiamo una storia di autoimmunità molto complicata, poiché ancora non risulta essere chiara la causa. Sulla base degli assunti che vi ho mostrato si potrebbe pensare di ottenere ottimi risultati trattando i fratelli di bambini con diabete preventivamente, con farmaci immuno-soppressori, prevenendo l'insorgenza della malattia. In realtà se compaiono due dei quattro anticorpi che vi ho mostrato il bambino svilupperà ineluttabilmente il dmt1: non esiste al momento un trattamento che permetta di prevenire il dmt1 anche nei soggetti che sono ad altissimo rischio di svilupparlo.

Commenta una slide: questa diapositiva enfatizza un aspetto leggermente metabolico: siccome può succedere che in famiglia ci sia già un caso di dmt1 anche gli altri familiari vengono seguiti, valutando se compare la positività degli auto-anticorpi contro:

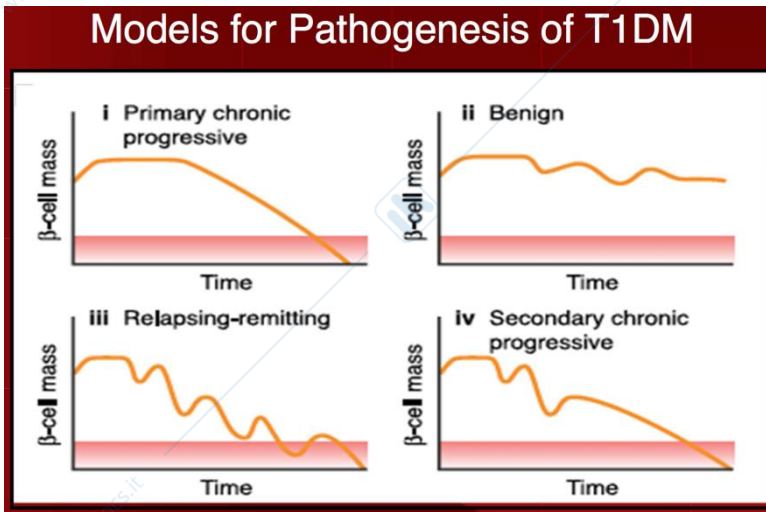
- GAD
- IA-2
- ICA
- ZN8

Dal punto di vista metabolico compare la loss of first phase insulin response: quando noi mangiamo, la curva della glicemia avrà un aspetto vagamente gaussiano, se noi cerchiamo di studiarla invece in maniera sperimentale, mantenendola elevata artificialmente dopo il picco post-prandiale per un numero x di ore, si osserva che la beta-cellula risponde in maniera bifasica. L'insulina viene prodotta con un picco iniziale nella prima fase e poi si mantiene costante nella seconda fase. Studi di fisiologia hanno dimostrato che la prima fase è fondamentale: la beta-cellula, appena vede salire la glicemia, rilascia un **burst di insulina** che ha il compito di dare un messaggio immediato al fegato, che deve immediatamente interrompere la gluconeogenesi. Quello che si osserva infatti è che se manca la prima fase il fegato non sopprime immediatamente la produzione di glucosio: le persone con steatosi epatica hanno una prima fase ridotta. Nei bambini che non hanno ancora sviluppato dmt1 la prima fase scompare, l'insulina viene prodotta "correndo dietro" alla glicemia ma non esiste questo meccanismo di segnale immediato di tipo endocrino che il pancreas dà al fegato per interrompere la produzione di glucosio.

Commenta la slide sugli anticorpi: alcuni anticorpi sono contro insulina, altri contro beta-cellula (GAD e ZN8), sono misurabili nel sangue e vengono fatti in pochi laboratori. Il centro che in questo momento si occupa della raccolta dei dati è al San Raffaele. Questa è l'evoluzione classica: c'è una suscettibilità genetica, si sviluppa una risposta auto-immune inappropriata che genera un processo infiammatorio locale: si determina l'insorgenza clinica della malattia quando la capacità di produrre insulina è diventata meno del 30 % del potenziale pancreatico del bambino (questo evento può richiedere mesi prima di svilupparsi ed è necessario aspettare qualche anno prima che il c-peptide diventi indosabile).

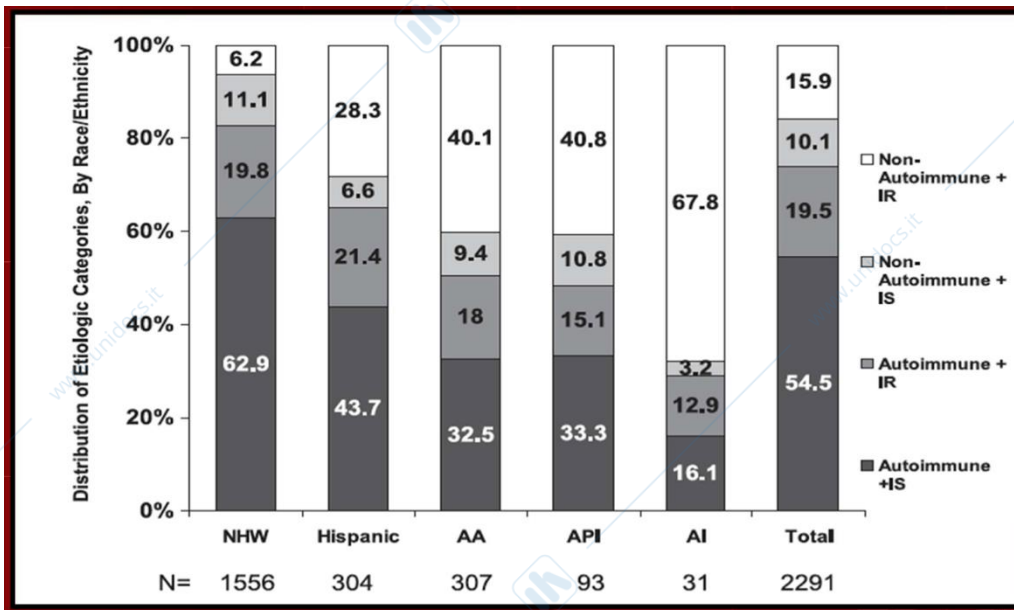
Ci sono persone che possono sviluppare il dmt1 in età più avanzata (fino a 30 anni) e magari nella nostra società attuale hanno assunto caratteristiche antropometriche (sovrappeso) tali per cui la diagnosi rimarrà in dubbio tra il dmt1 e il dmt2. Se tende a sviluppare acidosi sarà prevalentemente

di tipo 1, ma quello che garantisce la certezza della diagnosi sarà la determinazione del titolo anticorpale (anticorpi anti-GAD). Ci



sono dei fratelli dei bambini ammalati che mantengono la positività per due anticorpi ma nessuno dei due è l'antiGAD, questi bambini possono rimanere tutta la vita con la sierologia positiva senza sviluppare la malattia. Altri pz invece hanno un andamento che fluttua nel tempo, tanto che

anche dopo la diagnosi clinica ci può essere una fase in cui la famiglia e i bambini si illudono di essere guariti poiché tornano a produrre una quantità di insulina tale da non aver più bisogno di insulina esogena. Questa fase è definita Luna di miele e può durare qualche giorno, qualche settimana o qualche mese. Ci possono essere individui che rimangono in luna di miele anche per anni, pur avendo anticorpi positivi ad altissimo titolo.



Questa è una diapositiva che dovete cominciare a conoscere: sulle ascisse vedete diversi gruppi etnici: il non ispanico bianco (NHV), l'ispanico, l'afroamericano e l'indiano che sono diverse tipologie di pz che possono sviluppare dmt1. Vedete nella prima colonna a sx le caratteristiche dei pz sono quelle di avere una malattia autoimmune + insulino-sensibilità e sono più del 60 % degli individui di razza bianca, la franca insulino-resistenza è 6.2 %. Se invece prendiamo gli individui indiani

l'autoimmunità non è più così importante, fluttua tra il 16 % e il 33 % e c'è una grossa componente di insulino-resistenza. Negli afroamericani anche se c'è un dmt1 con anticorpi positivi l'autoimmunità come fenotipo clinico non è così dominante. Questo rientra nella eterogeneità dei quadri clinici del diabete: nell'area caucasica il diabete di tipo 1 e tipo 2, lada e mody sono i quadri clinici largamente dominanti.