

**Facolta' di Medicina e Chirurgia
Universita' degli Studi di Parma**

**Sede Consorziata:
Universita' "Magna Græcia" - Catanzaro**

**Dottorato di Ricerca in Gastroendocrinologia
Pediatria - XXI ciclo**

**Problematiche endocrinologiche in
pazienti affetti da malattie croniche e
genetiche.**

**COORDINATORE
Prof. Giulio Bevilacqua**

**TUTORE
Prof. Pietro Strisciuglio**

**CANDIDATO
Dott. Gianluca Muzzi**

INDICE

<i>Premessa</i>	pag. 4
 Capitolo 1. Diabete neonatale transitorio classico: la disfunzione Beta cellulare è caratterizzata da un'alterazione della risposta insulinica al glucosio e normale risposta al glucagone	
Introduzione	pag. 6
conclusioni	pag. 8
 Capitolo 2. Prevalenza di anticorpi anti diabete nella malattia celiaca	
Introduzione	pag. 10
Pazienti e Metodi	pag. 13
Risultati	pag. 14
Discussione	pag. 17
Conclusioni	pag. 19
 Capitolo 3. Diabete e malattie genetiche: la Neurofibromatosi	
Introduzione	pag. 20
Caso clinico	pag. 20
Discussione	pag. 21
 Capitolo 4. Diabete e malattie genetiche: la sindrome di Alstrom.	
Introduzione	pag. 22
Caso clinico	pag. 25
Discussione	pag. 26
 Capitolo 5. Studio epidemiologico sulla prevalenza dell'obesità nella prevenzione del diabete nella provincia di Catanzaro	
Introduzione	pag. 27
Metodi	pag. 28
Risultati	pag. 29
Discussione	pag. 36
Conclusioni	pag. 38
 Capitolo 6 Valutazione endocrinologica nella Mucopolisaccaridosi III A: la pubertà precoce	
Introduzione	pag. 39
Discussione	pag. 41

Capitolo 7. Fenilchetonuria da deficit di DHPR: utilizzo della prolattina come indice indiretto di una corretta terapia sostitutiva

Introduzione	pag. 43
Discussione	pag. 44

Capitolo 8. Deficit di IGF1: follow-up a lungo termine in un paziente con terapia sostitutiva

Introduzione	pag. 47
Paziente e metodi	pag. 49
Discussione	pag. 50

Capitolo 9. Considerazioni conclusive pag. 51

Appendice. Pubblicazioni scientifiche prodotte nell'ambito del Dottorato di Ricerca. pag. 56

Bibliografia pag. 59

PREMESSA

Durante gli anni del corso di dottorato ho avuto la possibilità di occuparmi in particolar modo del diabete in età pediatrica. Il diabete mellito è una delle malattie metaboliche più diffuse (tra i bambini e gli adolescenti è certamente la più comune: in Italia i portatori della malattia sono circa 20000). Il tipo I è una condizione cronica caratterizzata da un'insufficiente o assente produzione di insulina dalle cellule β del pancreas che vengono distrutte tramite un processo immunologico errato (autoimmune); pertanto l'organismo non è così in grado di usare il glucosio per produrre energia.

I sintomi del diabete tipo 1 generalmente appaiono purtroppo quando la distruzione delle cellule beta è ormai praticamente conclusa. I sintomi sono: aumento della frequenza e della quantità di urina, diminuzione di peso, fame, sete. Solitamente l'esordio della malattia avviene durante l'infanzia e raramente dopo i 30 anni. In realtà il diabete può esordire anche in epoca neonatale con gli stessi sintomi e richiede anche una terapia insulinica di supporto. Nel primo capitolo della tesi è descritta l'evoluzione clinica e terapeutica di 4 ragazzi con diabete neonatale di tipo ricorrente. Il DMT1 è una malattia multifattoriale in cui gioca un fattore fondamentale l'autoimmunità. Per tale motivo spesso si associano al diabete tipo 1 altre malattie autoimmunitarie tra le quali la celiachia che è presente dal 3 al 10% nei bambini e negli adolescenti diabetici (è una percentuale da 10 a 50 volte maggiore che nella popolazione sana e ciò varia da regione a regione). La malattia celiaca dovrebbe essere presa in considerazione ogni volta che un bambino diabetico ha problemi gastrointestinali quali diarrea, dolori addominali, flatulenza, dispepsia, ulcere aftose ricorrenti ma anche manifestazioni non-gastrointestinali come anemia, crescita rallentata, sviluppo puberale ritardato, inspiegabile ipoglicemia ricorrente (specialmente associata a scarso aumento di peso), dermatite erpetiforme; in alcuni casi la celiachia è asintomatica. Anche se oggi non ci sono cure efficaci per prevenire il DMT1 esistono tuttavia delle popolazioni in cui la percentuale dello sviluppo della malattia è più probabile rispetto alla popolazione generale e dove sarebbe opportuno uno screening anticorpale (per esempio i familiari dei soggetti affetti da diabete oppure i pazienti con celiachia). Nel secondo capitolo di questa tesi è stata trattata proprio la prevalenza e la significatività della presenza di anticorpi anti diabete in una popolazione di ragazzi celiaci.

Il diabete inoltre non si presenta solo come tipo 1 o neonatale ma può essere anche associato ad altre malattie genetiche (sindrome di Down, sindrome di

Alstrom, Neurofibromatosi). In particolare sono stati studiati due pazienti con diabete associato a sindrome di Alstrom e Neurofibromatosi.

A differenza di quello giovanile, in cui il pancreas non produce insulina, le persone con diabete mellito tipo 2, sono in grado di produrre insulina; tuttavia il loro organismo non ne produce una quantità sufficiente o le loro cellule mostrano una certa resistenza all'azione dell'insulina. Generalmente il DMT2 colpisce individui di età superiore ai 40 anni e si associa quasi sempre ad obesità. Negli ultimi anni invece vengono segnalati in letteratura sempre più casi di diabete tipo 2 in età pediatrica. Per tale motivo abbiamo istituito negli scorsi anni un programma di screening e prevenzione nelle scuole della provincia di Catanzaro per conoscere la prevalenza dell'obesità. Negli ultimi tre capitoli di questa tesi sono stati infine presi in esame alcuni aspetti endocrinologici relativi alla diagnosi o terapia di patologie croniche quali le mucopolisaccaridosi IIIA, la fenilchetonuria da deficit di diidrofolato reduttasi (DHPR) ed il deficit del gene dell'IGF1.

L'obiettivo delle ricerche esposte in questa Tesi è stato quello di un avanzamento delle conoscenze nel campo degli strumenti diagnostici e delle opportunita' terapeutiche per il trattamento di vari disordini endocrinologici, quali il diabete, spesso di difficile gestione in eta' pediatrica ed alterazioni di natura endocrina in alcune condizioni genetiche.

CAPITOLO 1

Diabete neonatale transitorio classico: la disfunzione Beta cellulare è caratterizzata da un'alterazione della risposta insulinica al glucosio e normale risposta al glucagone

Introduzione

Prima dell'inizio degli anni '90, il diabete mellito neonatale (NDM) era una patologia poco trattata in letteratura. Comunque negli ultimi 10 anni abbiamo assistito a numerosi passi avanti nella comprensione della patogenesi del diabete mellito neonatale.

Il diabete mellito neonatale (NDM) è una condizione caratterizzata da iperglicemia che richiede terapia insulinica e colpisce i neonati entro il primo mese di vita. L'incidenza del diabete mellito neonatale è di 1/400.000 nati (1). Si possono distinguere due principali varianti:

La forma **transitoria** (TNDM) è una patologia caratterizzata da un difetto della produzione di insulina che si risolve dopo la nascita e copre il 50-60 % delle forme di diabete neonatale(2-3-4-5). La metà di questa bambini guariscono all'età media di 3 mesi circa mentre il resto ha un diabete di tipo ricorrente. In un significativo numero di pazienti si trova nell'età avanzata il diabete tipo II.

Molti neonati presentano un ritardo di crescita intrauterino, alla nascita iperglicemia e difficoltà di respirare associata spesso a disidratazione. La produzione di insulina è inadeguata e pertanto necessita la terapia sostitutiva. Gli anticorpi anti pancreas e l' HLA associati al diabete tipo I sono negativi. Per spiegare la forma transitoria è stato suggerito un difetto di maturazione delle cellule beta, ma tuttora la patogenesi rimane sconosciuta. Molti casi sono sporadici. La disomia uniparentale paterna del cromosoma 6 (UPD6[pat]) è stata trovata in molti pazienti con la forma transitoria (6-7-8). Altri invece hanno una parziale duplicazione del braccio lungo del cromosoma 6 paterno. In un'altra percentuale di pazienti è stata trovata un'area nella quale la differente metilazione tra i cromosomi materni e paterni è stata localizzata all'interno della regione critica del DMN, e anomali pattern di metilazione sono stati riportati in pazienti con TNDM senza altre anomalie sul cromosoma 6. Queste osservazioni suggeriscono che il TNDM possa essere determinato dalla over espressione di un gene imprinted, localizzato sul 6q24, che spiega l'espressione paterna. Due geni paterni espressi sono stati identificati in questa regione e di conseguenza hanno generato interesse come geni candidati al TNDM: uno è il fattore di

trascrizione ZAC e l'altro un gene dalla funzione sconosciuta chiamato HYMAI(9).

Le anomalie genetiche che causano il TNDM sono 3:

- 1) isodisomia paterna uniparentale del cromosoma 6
- 2) duplicazione paterna sbilanciata del 6q24
- 3) difetti di metilazione sul 6q24

Tutti meccanismi coinvolti nei disordini dell'imprinting e pertanto il gene o i geni coinvolti sono di origine paterna.

Test al glucagone nei 4 pazienti

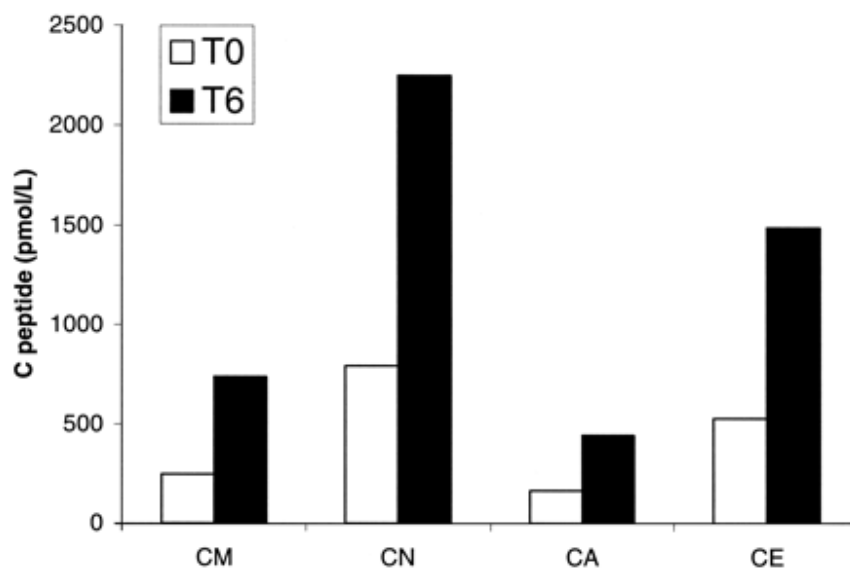


Fig. risultati del test da stimolo al glucagone nei 4 pazienti (CM, CN, CA,CE)

Conclusioni

Abbiamo descritto la funzione delle cellule β del pancreas alla ricaduta del diabete in pazienti con forma neonatale e la crescita longitudinale fino all'età adulta in due soggetti con duplicazione di UPD6 paterno e due fratelli con duplicazione paterna parziale di 6q24.

Tre pazienti si sono presentati con diabete neonatale nei primi mesi di vita, mentre un quarto ha avuto la diagnosi di diabete Tipo II in maniera accidentale all'età 14 anni. Nel diabete neonatale classico infatti si trova il diabete nei primi mesi di vita, ma può accadere che non sia riconosciuto subito e quindi venga diagnosticato in seguito, quando si ripresenta.

Inoltre, UPD6 è stata individuata casualmente in persone senza storia di TND.

E' stato ipotizzato che la malattia neonatale nel TND potrebbe essere dovuta ad un difetto nella maturazione delle cellule β quindi nella capacità secretoria dell'insulina. Qualunque sia il difetto, i livelli di insulina in risposta ad un IVGTT sono ridotti di almeno il 50% nei pazienti in fase di remissione, suggerendo che il difetto intrinseco persiste durante remissione clinica ma diventa manifesto solo nei momenti di stress metabolico. In linea con questo, la ricaduta del diabete è stata riportata nel 50-60% dei soggetti con TND. Tuttavia questa percentuale può aumentare se si effettua un monitoraggio continuo di questi pazienti. Pochissimi dati sono disponibili sulla funzione delle cellule β dopo la ricaduta: livelli bassi di C-peptide sono stati segnalati in un bambino di 9 anni. Nei nostri pazienti, la risposta di insulina sia per l'OGTT che per l'IVGTT è stato subnormale in due, mentre il C-peptide basale era a livelli normali. Siccome il C-peptide può avere una cross-reattività con la proinsulina, non possiamo essere certi che questi risultati non includono una possibile iperproinsulinemia. Tuttavia, riteniamo improbabile questa evenienza in quanto in letteratura vengono riportati normali livelli di proinsulina nei pazienti con TND in remissione. Un'ulteriore evidenza è dato dal fatto che non vi sono prove di insulino-resistenza a digiuno, come indicato dal normale QUICKI. In base ai risultati ottenuti dai tre più grandi lavori di pazienti con TND, l'età media della ricaduta del diabete è 13-16 anni. Ciò implica che la pubertà esercita un ruolo fondamentale, a causa della maggiore richiesta di insulina in una cellula beta che non funziona bene. Non sono disponibili studi a lungo termine sul decorso del diabete e della funzione delle cellule β in questi pazienti. Il trattamento del diabete dopo la ricaduta è stato recentemente rivisto. L'insulina è usata più spesso della sola dieta o dei farmaci ipoglicemizzanti orali, e la sua posologia sembra essere inferiore a

quella descritta nel diabete di tipo 1 oppure può essere intermittente, almeno inizialmente. Vi è anche qualche elemento di prova a sostegno dell'insulino-resistenza, anche se vi sono studi che stanno cercando di capire il meccanismo di ricaduta del diabete. Abbiamo attentamente monitorato la richiesta insulinica durante tutto lo sviluppo puberale nelle due ragazze trattate con insulina. La loro dose giornaliera di insulina erano leggermente aumentate, tra B4 e menarca, mentre i livelli di HbA1c era peggiorata. Durante l'ultimo controllo, la dose quotidiana di insulina era di 0.76 unità / kg, che è simile a quella richiesta nei nostri diabetici di tipo 1 adolescenti (0.85 ± 0.21 unità / kg). NC è stato trattato con dieta, mentre CE ha richiesto farmaci ipoglicemizzanti orali, in quanto ha rifiutato l'insulina. Nonostante uno scarso controllo, tuttavia, non ha mai avuto chetoacidosi, ma ha sviluppato complicanze microvascolari. Questo è il primo lavoro che mostra le complicanze del diabete in un soggetto con TND e sottolinea l'importanza di una buona gestione del diabete in questi pazienti (10). Il C-peptide in risposta al test al Glucagone era normale in tutti i pazienti, suggerendo che i soggetti con anomalie 6q24, la β cellula è in grado di produrre una secrezione insulinica e di glucagone dopo stimolazione, mentre non è in grado di rispondere alla stimolazione di glucosio per via orale o endovenosa. La degranulazione di insulina preformata nel citoplasma vescicole si verifica attraverso due distinti percorsi di trasduzione: 1) il glucagone agisce attraverso proteine G accoppiate ai recettori, che aumentano cAMP e attivano la produzione di proteine chinasi, mentre 2) glucosio agisce attraverso il trasportatore GLUT2, attivando la glucochinasi e aumentando l'efflusso di calcio. Ciò suggerisce che l'over espressione del locus del TNDM blocca la classica risposta insulinica stimolata dal glucosio. La maggior parte dei TND bambini sono nati piccoli per l'età gestazionale, ma la loro crescita diventa normale entro 2 anni. Di conseguenza, l'altezza finale nei nostri pazienti è rientrata all'interno dei percentili normali. In conclusione, i nostri dati preliminari suggeriscono che nel TND, a causa di anomalie 6q24, la β cellula è conservata e in grado di secernere insulina attraverso la G protein, mentre presenta uno difetto di secrezione di insulina dopo stimolazione di glucosio. Questa forma di diabete può essere gestita con insulina o dieta, anche se nuovi agenti terapeutici, come analoghi sintetici glucagone-simile potrebbero rivelarsi utili per il futuro. I medici ed i pazienti devono essere consapevoli che il fallimento del trattamento o scarsi risultati, anche senza il rischio di chetoacidosi, sono associati al rischio di complicanze microangiopatiche.

Capitolo 2

Prevalenza di anticorpi anti diabete nella malattia celiaca

INTRODUZIONE

Il diabete tipo I è una malattia autoimmune mediata dai T linfociti (11) che può essere anche essere prevenuta ma solo in modelli animali (12-13). Più di 30 anni fa è stata resa evidente l'associazione tra celiachia e diabete, soprattutto in campo pediatrico. Le prime stime valutavano un'associazione attorno a 1- 1,5 % dei bambini con IDDM che soffrivano anche di celiachia. Attualmente la frequenza dell'associazione tra IDDM e celiachia è stimata attorno ai 5,4- 7,4 % con una media di circa 4 % (14-15-16-17-18-19). Negli ultimi anni tale frequenza è nettamente aumentata anche grazie alla maggiore sensibilità e specificità dei tests sierologici anticorpali che vengono effettuati come screening in questa popolazione di soggetti a rischio. Il rischio di sviluppare la celiachia in questi pazienti è infatti più alto rispetto alla popolazione generale (0,5-1 %). La suscettibilità a sviluppare la celiachia è determinata da un numero significativo di fattori genetici. La coesistenza di celiachia e patologie autoimmunitarie appare essere dovuta in parte ad una comune predisposizione genetica. La suscettibilità di questa patologia è stata localizzata sul cromosoma 6 , regione che codifica per l'HLA. Approssimativamente il 90 % dei pazienti celiaci mostra un HLA DR3- DQ2 (codificati dagli alleli DQA1*0501 e DQB1 *0201), e la maggior parte dei restanti mostra un HLA DR4-DQ8 (codificato dagli alleli DQA1 *0301, DQB1* 0302). La prevalenza del HLA DQ2 è del 20-30% nella popolazione, e solo una minor parte di tale percentuale sviluppa la celiachia. Questo implica la possibilità del coinvolgimento di altri geni nel determinismo della celiachia. La suscettibilità al diabete ugualmente per quella evidenziata nella celiachia si esprime con l'associazione dell' HLA DR3- DQ2 e DR4- DQ8. L'associazione tra queste due patologie potrebbe quindi essere spiegata parzialmente da questi comuni fattori genetici nella regione dell' HLA. Quindi ad oggi è comunemente accettato che alla base del danno della mucosa nella celiachia ci sia un meccanismo immunitario innescato dall'ingestione del glutine. Negli ultimi anni è stato anche evidenziato come gli anticorpi anti endomisio ematici (EMA), riconoscono degli enzimi tissutali chiamati transglutaminasi (tTg), che attivano cellule endoteliali, fibroblasti e cellule mononucleate che sono una ricco fonte.

Questi enzimi sembrano giocare un ruolo critico nel controllo dell'omeostasi cellulare, nella regolazione e del ciclo cellulare e specificamente nella proliferazione, differenziazione e apoptosi cellulare. La gliadina è un eccellente substrato per la transglutaminasi tissutale (tTg), che è stato dimostrato essere il principale autoantigene nella celiachia. Le cellule T (HLA DQ2- DQ8) sensibili all'antigene gliadina, sono presenti nella lesione mucosale del piccolo intestino dei pazienti celiaci. Le cellule presentanti l'antigene presenti nella lamina propria presentano alle cellule T CD4+, peptidi di glutine digeriti, attraverso le loro molecole DQ2. Le tTg modificano i peptidi di gliadina attraverso la deamidazione dei residui di glutine e caricare negativamente l'acido glutammico, e facilitando quindi il legame dei peptidi di gliadina che si incastrano con le molecole di HLA DQ2 e DQ8. Questo legame determina successivamente una migliore capacità di legame ed incrementa la reattività delle cellule T. Le cellule T una volta attivate, inducono una risposta infiammatoria locale, che può continuare fino a quando la gliadina è presente. Le cellule T attivate secernono le citochine del pattern Th1 tra le quali il TNF α e l'interferon γ , che sono in grado di danneggiare la mucosa intestinale e determinare l'enteropatia. I recettori intestinali del TNF α inducono la secrezione da parte dei fibroblasti di matrice contenute metalloproteinasi che porta alla distruzione della mucosa degradando il tessuto connettivo. Allo stesso modo la stimolazione della risposta Th2 porta alla formazione di autoanticorpi anti tTg. L'associazione di più patologie autoimmunitarie potrebbe essere spiegata dalla presenza delle cellule T attivate contro la gliadina e la tTg possano cross reagire con altri antigeni self presenti nel nostro organismo. Comunque non è ancora chiaro se esista una reattività crociata tra la gliadina o le tTg e la glutammato-decarbossilasi o l'insulina nel diabete o la perossidasi tiroidea nella tiroide. Potrebbe anche essere possibile che le tTg oltre che la gliadina possano interagire con altri antigeni self determinando la deamidazione e generando differenti monoantigeni. Questi antigeni o la produzione di autoanticorpi possono produrre vari fenomeni autoimmunitari extraintestinali. Anche lo stress ossidativo potrebbe portare l'attivazione di altre tTg presenti in altri tessuti. Attualmente in letteratura ci sono evidenze che mostrano come lo sviluppo di autoimmunità nel diabete derivi dalla mancanza di "protezione" intestinale. Nei pazienti con una nuova diagnosi di IDDM i linfociti reattivi contro GAD esprimono un recettore per le integrine intestinale. Quindi l'autoreattività linfocitaria potrebbe originarsi nell'intestino inducendo anche la rottura di una tolleranza verso il Self. L'aumentata permeabilità intestinale presente nei soggetti celiaci non trattati potrebbe anche predisporre ad altre patologie autoimmunitarie facilitando

l'ingresso di altri antigeni che porterebbero l'attivazione autoimmunitaria. Il principale fattore scatenante la celiachia è il glutine. Oltre questi fattori, il sierotipo 12 dell'Adenovirus sembra che abbia una sequenza aminoacidica omologa a quella del glutine. Comunque sembra che i pazienti celiaci non abbiano una maggiore incidenza dell'infezione da Adenovirus. Comunque, ad oggi, a parte il glutine, non sembrano esserci fattori addizionali nel determinismo della celiachia in soggetti geneticamente predisposti.

Di solito il diabete si sviluppa prima della celiachia, ed in alcuni pazienti la diagnosi è concomitante. La maggior parte dei casi di celiachia viene diagnosticata entro un anno dall'esordio del diabete, frequentemente tra 2 e 5 anni dall'inizio del diabete. Ma è stato anche evidenziato come i pazienti diabetici che hanno inizialmente anticorpi negativi, manifestano una positivizzazione e sviluppano la celiachia nei successivi controlli. Gli anticorpi anti endomisio, e gli anticorpi anti transglutaminasi sono i marker più sensibili e specifici per la sorveglianza sierologica della celiachia. I sintomi tipici della celiachia sono quelli gastrointestinali, da malassorbimento, diarrea, vomito, dolori addominali, arresto della crescita, anemia da carenza di acido folico o ferro ecc, i sintomi atipici sono cefalea, dermatite erpetiforme, afte etc. Oggigiorno, in pazienti con IDDM, la celiachia è generalmente diagnosticata tramite test di screening sierologici eseguiti anche in assenza dei sintomi tipici della malattia celiaca.

Nei pazienti con IDDM e CD la risposta alla dieta priva di glutine è variabile: alcuni sostengono che l'abolizione del glutine della dieta porti ad miglioramento del controllo glicemico; altri non hanno notato alcun cambiamento, ma sembrano concordare sulla riduzione degli episodi ipoglicemici. Gli ultimi studi presenti in letteratura sull'argomento sembrano non evidenziare alcuna differenza tra i valori dell'HbA1c, ipoglicemie e fabbisogno insulinico in pazienti a dieta ed in quelli con glutine. Certamente i pazienti che seguono la dieta priva di glutine hanno un miglioramento istologico della mucosa intestinale che si ripercuote anche sulle capacità assorbenti. Ma bisogna anche considerare, dall'altro lato, la natura della dieta; c'è una correlazione inversa, infatti, tra l'indice glicemico della dieta dei pazienti con IDDM e quello dei controlli. La pasta ed il pane priva di glutine hanno un indice glicemico più alto rispetto gli equivalenti prodotti con glutine. Quindi certamente ci sono differenze riguardo il tipo di carboidrati ingeriti tra il bambino con IDDM e CD a dieta e senza dieta, ma inoltre altre variabili, come il numero di controlli glicemici giornalieri, i cambiamenti della dose di insulina, il controllo del diario glicemico, sono tutte variabili che possono influenzare in un modo o nell'altro il controllo glicemico. Sicuramente la celiachia non trattata porta a complicanze anche

gravi come l'osteoporosi, linfoma ed altre patologie tumorali. All' esordio del diabete, alcuni studi dimostrano la presenza di anticorpi anti gliadina in una percentuale variabile tra il 3-4 %, che potrebbe essere spiegata con un aumentato caos immunologico presente in quel delicato momento.

Attualmente non ci sono in letteratura molti lavori sulla prevalenza degli anticorpi anti diabete in pazienti celiaci (20-21-22-23).

Per questi motivi abbiamo valutato in un ampio gruppo di pazienti pediatriche con celiachia, al fine di individuare precocemente anticorpi anti diabete (DMT1-Ab) e per capire se essi siano collegati o meno alla dieta senza glutine. Inoltre abbiamo valutato la prima fase la secrezione di insulina durante IVGTT per capire se paziente celiaci con Ab DMT1 possano sviluppare DMT1 in futuro.

PAZIENTI E METODI

150 pazienti con malattia celiaca (CD), 99 femmine (66%) e 51 maschi (34%) sono stati arruolati nel Dipartimento di Pediatria dell'Università degli Studi di Catanzaro. I pazienti sono stati arruolati se soddisfacevano i criteri (14) per la diagnosi di CD della Società Europea di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva e della nutrizione (ESPGAN) (24). L'età media era di 7,8 anni (range 2-22 anni) e nessuno dei 150 pazienti esaminati aveva una storia familiare di DMT1. Ogni paziente ha effettuato EMA, tTg IgG e IgA, dosaggio immunoglobuline, esame clinico e piccoli prelievi dell'intestino tenue per la biopsia; la storia familiare e lo stato nutrizionale è stato esaminato per ogni paziente. I campioni sierici per la determinazione degli anticorpi sono stati separati e conservati a -20 ° C fino a quando sono stati effettuati i test (25). Gli ICA sono stati determinati attraverso immunofluorescenza indiretta su sezioni di pancreas umano fresco congelato. I risultati sono stati espressi in diabete giovanile Fondazione Unita' (JFDU) (26). Valori ≥ 20 JDFU sono stati considerati positivi. GAD e IAA sono stati misurati con metodo ELISA e sono stati considerati positivi per i valori $>$ del 2,6% e 0,5% rispettivamente. L'IVGTT è stato eseguito dopo 3 giorni di dieta ad alto contenuto di carboidrati e dopo digiuno notturno; è stata infusa per via endovenosa in 3 min 0,5 g / kg di glucosio sotto forma di soluzione al 20%. Insulina e glucosio sono stati determinati dopo 1, 3, 5, 10, 30 e 60 min dall'infusione. Le concentrazioni di glucosio nel plasma sono state misurate con un analizzatore di glucosio (Beckman Instruments, IC, Fullerton, CA, Stati Uniti d'America); La first phase di

rilascio di insulina (FPIR) è stata calcolata come la somma dei valori sierici di insulina di 1 - e 3-min, e lo stimolato al rilascio di insulina (SIR) è stato calcolato come la FPIR meno il doppio del valore del livello di insulina a digiuno (27). Secondo Tanner il primo percentile corrispondeva a 53 ° microU / ml per la fase I, 53,6 microU / ml per le fasi II-III e 76,6 microU / ml per le fasi IV-V (28). Nei bambini con FPIR <1 ° PC è stato effettuato (29) anche il test di tolleranza al glucosio per via orale (OGTT).

Emoglobina glicosilata (HbA (1c))

HbA1c è stata misurata nel sangue con intero metodo spettrofotometrico . Il range normale nel nostro laboratorio è 4.3-6.0%.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata attraverso il test del chi-quadro (χ^2).

RISULTATI

Autoanticorpi anti Diabete

Autoanticorpi anti Diabete (DMT1 Ab) sono state rilevati in 43 dei 150 (28,6%) pazienti. ICA sono stati individuati in 3 bambini (2 ragazze) (2%). IAA sono stati individuati in 13/43 pazienti (30,2%). GAD sono stati rilevati in 22 pazienti (51,2%). 6 di questi 43 pazienti (14%) sono stati positivi per due autoanticorpi (IAA + GAD = 5 pazienti, ICA + IAA = 1 paziente) e 2 pazienti (4,6%) per tutti e tre gli autoanticorpi. Due dei 82 controlli sani per età e sesso hanno mostrato DMT1 Ab-positivi (χ^2 , 4.43, $p < 0,05$).

HbA1c

I livelli di HbA1c variavano dal 4,6 al 6,6% (nv <6%) e due ragazze sono hanno mostrato valori elevati.

IVGTT

L'IVGTT è stato proposto a tutti i 43 pazienti con DMT1-Ab positivi, ma è stato effettuato solo in 27 pazienti (62,8%). La first phase (FPIR) 1 più di 3 minuti è risultato entro i limiti normali in 18 pazienti (66,7%), e 5 di essi non seguivano un dieta senza glutine; 9 pazienti (33,3%) avevano un IVGTT patologico e due di loro non seguivano dieta priva di glutine. Tutti i 9

pazienti con alterazioni della FPIR aveva OGTT normale, anche nelle due ragazze con un elevato HbA1c.

DMT1-Ab e dieta senza glutine

DMT1-Ab sono stati positivi in 43 pazienti (26,8%). 125 pazienti dicevano di seguire una dieta senza glutine, e solo 104 pazienti hanno EMA e anti-transglutaminasi negativi. 25 (16,7%) dei 150 pazienti non seguiva una dieta senza glutine. Oltre a loro, 12 pazienti hanno mostrato transglutaminasi o EMA IgA positivi; 9 di 12 (36%) hanno anche DMT1 Ab positivi (GAD erano presenti in 7 / 9). Tra questi 125 pazienti che seguivano la dieta senza glutine, gli DMT1-Ab erano positivi in 21 pazienti (16,8%). Tra questi 125 pazienti che seguivano la dieta senza glutine 30 pazienti (24%) hanno mostrato almeno un anticorpo. Quindi non vi è correlazione tra il rispetto alla dieta e DMT1-Ab (χ^2 , 7.99, $p < 0,005$). Tab 1

Tabella 1

Pazienti con anticorpi anti diabete che seguono o no dieta priva di glutine in relazione alla presenza di IVGTT patologico

IVGTT PATOLOGICO	IAA	ICA	GAD	FREE GLUTEN DIET
I PZ	+	+	+	YES
II PZ	+	NV	NV	YES
III PZ	+	NV	NV	NO
IV PZ	+	NV	NV	YES
V PZ	NV	NV	+	YES
VI PZ	+	NV	NV	YES
VII PZ	+	NV	NV	NO
VIII PZ	NV	NV	+	YES
IX PZ	+	+	+	YES

NV: VALORE NELLA NORMA

Dieta senza glutine e anticorpi DMT1

In questo studio 25 pazienti (16,7%) non seguivano dieta senza glutine, ma solo 12 pazienti hanno mostrato EMA e / o transglutaminasi positivi e 9 pazienti (36%) hanno mostrato DMT1-AB positivi. 13 pazienti hanno mostrato EMA e / o transglutaminasi negativi e 4 pazienti hanno mostrato DMT1-Ab positivi. Vi è correlazione tra la presenza di anticorpi della celiaca e la presenza di anticorpi anti-diabete nei pazienti celiaci che non hanno dieta senza glutine (χ^2 , 4.89, $p < 0,0270$, probabilità: 5%) (Tab 2)

Tabella 2

Presenza di anticorpi anti diabete e EMA e/o Transglutaminasi in pazienti che seguono o no dieta priva di glutine

FREE GLUTEN DIET	EMA e/o tTGlgA		TOT	ICA/IAA/GAD		TOT
	POSITIVE	NEGATIVE		POSITIVE	NEGATIVE	
YES	21	104	125	30	95	125
NO	12	13	25	12	13	25

Dieta senza glutine e anticorpi DMT1

In questo studio 125 pazienti seguivano dieta priva di glutine, ma solo 21 pazienti (16,8%) avevano anticorpi positivi e 30 pazienti (24%) avevano anticorpi anti-diabete. Non vi è correlazione tra la presenza di anticorpi per la celiaca e la presenza di anticorpi anti diabete nei pazienti con dieta senza glutine (χ^2 , 4.92, $p < 0,0265$, probabilità: 5%) (Tab 3)

Tabella 3

Relazione tra la presenza o assenza di anticorpi anti diabete, EMA e/o transglutaminasi.

	PZ CON IAA/ICA/GAD POSITIVI	PZ CON IAA/ICA/GAD NEGATIVI	TOT
PZ CON EMA e/o tTgIgA POSITIVI	18	15	33
PZ CON EMA e/o TtIgA POSITIVI	25	92	117
TOT	43	107	150

DISCUSSIONE

Celiachia e DMT1 sono due disordini autoimmuni spesso associati. La Malattia celiaca, o enteropatia glutine-sensibile, è caratterizzata da infiammazione, atrofia dei villi, iperplasia della mucosa intestinale. DMT1 è determinata da una lunga fase preclinica in cui c'è una distruzione autoimmunitaria da parte delle cellule beta che producono insulina e quando la malattia diventa palese, la maggior parte di queste cellule sono irreversibilmente distrutte. Attuale previsione sullo sviluppo di DMT1 si basa sulla presenza di anticorpi autoimmuni, come IAA e ICA, combinati con un basso valore di FPIR durante IVGTT. A causa del basso valore predittivo di questi test nella popolazione generale, il loro uso è limitato per lo screening di gruppi ad alto rischio per DMT1, come parenti di primo grado di pazienti con DMT1 (31). La prevalenza di CD in pazienti con DMT1 è del 2.10% paragonabile alla prevalenza della malattia in parenti di pazienti di primo grado ad alto rischio DMT1. Tuttavia, la presenza autoanticorpi per il diabete in pazienti pediatrici con CD è stata esaminata solo in pochi studi, con risultati discordanti e in tutti questi lavori il numero dei pazienti testati è basso (30-44). Nel nostro studio abbiamo trovato, in una popolazione numerosa (150 bambini) una netta prevalenza di DMT1-Ab (28,6%). I nostri risultati sono supportati dal lavoro di Di Mario (20) che ha segnalato un aumento della prevalenza di tali autoanticorpi in un gruppo di 30 pazienti italiani con CD (IAA erano presenti nel 27% dei 15 bambini con malattia celiaca al momento della diagnosi, e in 20 15% dei bambini con malattia celiaca a seguito di dieta senza glutine). Anche in un lavoro di

Galli-Tsinopoulou anticorpi GAD e IA-2 sono stati rilevati nel 23% di 30 bambini con CD (21). Invece, in altri lavori presenti in letteratura abbiamo trovato una bassa prevalenza di DMT1-AB in pazienti con CD. Ad esempio Laadhar ha dimostrato che il 9,7% di paziente con CD al momento della diagnosi (dieta contenente glutine) aveva DMT1-Ab (22). Rapoport in un altro lavoro trova un 6,8% di DMT1-Ab (23). Tuttavia, non è noto se la presenza di ICA, IAA o GAD in pazienti con CD riflette un'attiva distruzione delle isole pancreatiche e una diminuita secrezione della capacità di secernere insulina. Inoltre, mentre nel lavoro di Rapoport e Galli-Tsinopoulou l'IVGTT dei pazienti con DMT1-Ab positivi era normale, nel nostro studio, la presenza di ICA, GAD o IAA è stato spesso associato ad una diminuzione delle β cellule, come dimostrato dalla patologica FPIR durante IVGTT. Questa constatazione può suggerire che gli anticorpi anti diabete rilevati nei nostri pazienti potrebbe riflettere non solo risposta immunitaria mirata e distruttiva, ma anche una aberrazione generale dei B-lymfociti in soggetti già geneticamente predisposti. Tuttavia, il danno per le cellule β potrebbe essere ancora nella sua fase iniziale. In aggiunta, il rischio di progressione del prediabete verso il DMT1 potrebbe essere direttamente dipendente dal titolo anticorpale e dalla simultanea presenza di IAA, ICA o GAD. L'individuazione di una di questi due marcatori autoimmuni relativi al diabete da solo e, in particolare, IAA, potrebbe indicare un rischio significativamente più alto di sviluppare in futuro la malattia (30). Nel nostro studio, 3 pazienti erano ICA positivi, con titoli relativamente bassi (20 JDFU) e solo 1 con IAA positivo. Uno di questi 3 pazienti aveva entrambi gli anticorpi. Pertanto, nei pazienti con CD la positività iniziale di tali anticorpi non prevede la progressione verso il diabete, ma può rispecchiare una semplice fluttuazione anticorpale (31). I dati relativi ai nostri 3 pazienti possono sollevare la questione se questo possa rappresentare un sottogruppo di pazienti a più alto rischio di sviluppare DMT1 in futuro (32-33). Inoltre, in questo studio sembra essere chiaro che non vi è una correlazione tra IVGTT patologico pazienti con DMT1-Ab positivi che non seguono dieta senza glutine. Abbiamo trovato una correlazione tra la presenza di anticorpi anti celiachia e la presenza di anticorpi anti-diabete nei pazienti celiaci a dieta libera. Infatti tra i pazienti con dieta senza glutine solo 30 pazienti (24%) hanno mostrato la presenza di anticorpi anti-diabete, mentre la percentuale è in aumento (36%) tra i pazienti che non seguono dieta senza glutine. Inoltre, vi è una correlazione tra adesione alla dieta e DMT1-Ab. Ventura ha anche sottolineato che la dieta senza glutine riduce il numero di pazienti con DMT1-Ab positivi (34). Alla fine segnaliamo due ragazze con HbA1c elevata, ICA o GAD positivi,

ed IVGTT patologico in una di loro, ma OGTT normale. Entrambe seguono una dieta senza glutine. Probabilmente queste due pazienti potrebbero essere in fase prediabetica. Ulteriori studi sono necessari per verificare l'eventuale comparsa di diabete in futuro.

CONCLUSIONE

Nel nostro studio la prevalenza degli autoanticorpi anti diabete è elevata (28,7%). Non vi è una correlazione positiva tra la presenza di anticorpi per la malattia celiaca e DMT1, indipendentemente dalla presenza o l'assenza di dieta con glutine. Il 33,3% dei paziente con DMT1-Ab aveva un IVGTT patologico, ma nessuno aveva alterazioni all'OGTT. Non esiste una correlazione tra IVGTT patologico nei pazienti con DMT1-Ab positivi che non seguono una dieta senza glutine. Sembra che la dieta senza glutine possa ridurre la prevalenza del DMT1-Ab. Un numero maggiore di pazienti con CD ed un ulteriore follow-up, tra cui la valutazione dell'HLA sono necessari per chiarire la questione. Il rischio di trovare DMT1-Ab sembra essere maggiore nei pazienti celiaci che in soggetti sani, quindi lo screening degli autoanticorpi associati al diabete potrebbe essere giustificato in pazienti celiaci. Infine il dosaggio dell' HbA1c potrebbe essere considerato anche nel follow-up dei pazienti celiaci, al fine di prevenire l'esordio di DMT1.

CAPITOLO 3

Diabete e malattie genetiche: la Neurofibromatosi

INTRODUZIONE

Neurofibromatosi tipo1 (NF1) è un' amartomatosi trasmessa con meccanismo autosomico dominante, con una prevalenza di 1 / 3000. E' caratterizzata da macchie caffè-latte, freckling ascellare e inguinale, piccole lesioni nodulari (neurofibromi) e da lesioni ossee. La metà dei pazienti con una nuova diagnosi non ha una storia familiare di neurofibromatosi 1, ma una mutazione ex novo (35). Le manifestazioni neurologiche vanno da un lieve ritardo dello sviluppo psicomotorio alla presenza di gliomi del nervo ottico o all' epilessia.

Le patologie endocrinologiche associate a NF1 includono la pubertà precoce e la bassa statura (36-37). In letteratura è stato segnalato un solo caso di NF1 associato a diabete mellito tipo 1 (DMT1) (38). La NF1 è stata anche associata a diversi disturbi autoimmunitari.

Caso clinico

Il nostro paziente all'età di due anni ha avuto diagnosi di NF1 per la presenza di più di 6 macchie caffè-latte, con un diametro superiore a 1,5 cm, un piccolo nodulo sul collo e un altro sulla regione parietale-occipitale, freckling ascellare e inguinale e un parente di primo grado affetto da NF1. Una risonanza magnetica effettuata all'età di 5 anni ha mostrato una lesione rotondeggiante nel cervelletto di sinistra, asintomatica, che è stata rimossa chirurgicamente. All'età di 9,7 anni, il paziente ha mostrato polidipsia, poliuria e perdita di peso di 3,2 Kg. Nei giorni successivi, ha mostrato grave iperglicemia (41.1 mmol / l), chetosi e grave acidosi metabolica (pH 6,8). E' stata fatta diagnosi di chetoacidosi diabetica. Ulteriori indagini hanno mostrato un C-peptide di 0,3 ng / ml, HbA1c 11%, fruttosamina 698 mmol / l, ICA e IA-2A sono risultati negativi; GADA 1.32 U / ml (nv 0.0-1.05). HLA era DQ7 DR11. Dopo un follow-up di 26 mesi ha ancora bisogno di insulina (0,76 UI / kg al giorno). La grave chetoacidosi e la necessità quotidiana di insulina e la debole positività dei GADA ci ha permesso di fare diagnosi di DMT1 anche se l'HLA non era tipico. E' stato escluso il diabete secondario a droghe o infezione virale.

Discussione

I pazienti affetti da neurofibromatosi di tipo 1 presentano molte complicazioni, ma la presenza di diabete tipo 1 è stata descritta in un paziente in letteratura. A tal proposito, in letteratura abbiamo trovato un'associazione di diabete ed NF1 secondaria a somatostatinoma duodenale (39), caratterizzato da diabete mellito, steatorrea e colelitiasi. La revisione della letteratura per quanto riguarda la presenza di disturbi autoimmuni associati alla neurofibromatosi mostra una rara associazione con altri disturbi autoimmuni come con l'anemia emolitica autoimmune (40), la sclerosi multipla (41), nefropatia di tipo membranosa o IgA (42) ed il lupus eritematoso (43). Tuttavia, il rapporto tra diabete e NF1 non è chiaro. Poiché la neurofibromatosi ed il diabete non sono malattie rarissime, questa associazione può essere una coincidenza, ma potrebbe anche essere un altro esempio di associazione tra malattia autoimmune e Neurofibromatosi. Inoltre, l'aplotipo HLA presente nel nostro paziente è di solito assente nel diabete, suggerendo che le due malattie potrebbero essere correlate nel nostro paziente, e si potrebbe supporre che la patogenesi del diabete nel NF1 potrebbe essere causata dal coinvolgimento delle mast cellule (44-45). In realtà le mast cellule hanno un ruolo nella patogenesi dei neurofibromi e probabilmente un ruolo nella modulazione della risposta immunitaria ad agenti infettanti. Comunque ulteriori segnalazioni sono necessarie per sapere se l'associazione di queste due malattie è estremamente rara.

CAPITOLO 4

Diabete e malattie genetiche: la sindrome di Alstrom

Introduzione

La sindrome di Alström (ALMS) è una malattia autosomica recessiva molto rara, descritta per la prima volta nel 1959 da C.H. Alström. Si caratterizza principalmente per la comparsa progressiva di degenerazione retinica, ipoacusia, obesità e diabete mellito di tipo II (46-47-48). Nel 1997 è stato per la prima volta localizzato il gene responsabile della sindrome (ALMS1) sul braccio corto del cromosoma 2 (2p13) (49). Il numero totale di pazienti con ALMS finora riconosciuti è di circa 300 (archivio di Alström Syndrome International e Jackson Laboratory). La sindrome si osserva con maggiore frequenza nelle popolazioni originarie dall'Europa centrale e settentrionale anche se sono stati descritti pazienti in tutti e cinque i continenti.

Eziopatogenesi

Le rare valutazioni autoptiche o gli esami istologici di biopsie di tessuti, principalmente fegato e cuore, hanno sistematicamente evidenziato la presenza di una marcata fibrosi interstiziale, sia focale che disseminata. Tuttavia al momento attuale non è chiaro se i processi di fibrosi costituiscano il “primum movens” della sindrome o se siano più semplicemente un epifenomeno.

Nel 2002, due differenti gruppi di ricerca hanno identificato il gene ALMS1 e hanno segnalato la presenza di mutazioni specifiche responsabili della sindrome di Alström non osservabili nella popolazione generale. Il gene ALMS1, la cui funzione non è ancora nota, codifica per un cDNA di 23 esoni. Il suo trascritto codifica a sua volta per una proteina di 4.169 aminoacidi che potrebbe svolgere un ruolo importante nella regolazione del citoscheletro. Fino ad ora sono state pubblicate 25 mutazioni del gene ALMS1, soprattutto a livello degli esoni 8, 10 e 16 (50). Il gene ALMS1 è espresso a bassi livelli in tutti i tessuti dell'organismo e non condivide omologie di sequenza significative con altri geni noti. Nell'ALMS è presente una variabilità fenotipica anche fra individui con la stessa mutazione probabilmente a causa di altri fattori genetici o ambientali che interferiscono con il gene ALMS1 (51).

Sistemi coinvolti

Sistema visivo.

La distrofia retinica compare molto precocemente, solitamente già nel primo anno di vita, e la retinopatia pigmentosa è un aspetto distintivo dell'ALMS.. Un altro aspetto tipico del coinvolgimento oculare nell'ALMS è dato dalla comparsa di cataratta sottocapsulare posteriore (52). L'esame oftalmoscopico non è solitamente utile per la diagnosi precoce dell'ALMS perché può evidenziare un quadro completamente normale, soprattutto nel primo anno di vita. Più avanti è possibile invece riscontrare la tipica riduzione del diametro dei vasi, il pallore a livello della papilla del nervo ottico e la degenerazione retinica. Tuttavia in alcuni pazienti l'esame oftalmoscopico del fondo oculare è fortemente ostacolato dalla presenza della cataratta.

Sistema uditivo.

L'ipoacusia di tipo neurosensoriale, progressiva e bilaterale, è tipicamente osservabile nei pazienti con ALMS. I primi sintomi di ipoacusia sono caratterizzati dalla comparsa di tinniti, acufeni e il paziente perde progressivamente la capacità di comprendere le parole (53). L'audiogramma mostra generalmente un peggioramento progressivo e simmetrico della percezione dei suoni sia per le alte che per le basse frequenze. L'impiego di protesi acustiche permette tuttavia di correggere il difetto dell'udito nella maggior parte dei casi.

Sistema endocrino-metabolico.

Una caratteristica comune a molti pazienti con ALMS è data dal riscontro precoce di iperinsulinemia, secondaria a resistenza periferica, che nel corso degli anni porta fino a quadri conclamati di diabete mellito di tipo 2. Nell'ALMS sono state segnalate alterazioni del metabolismo lipidico e in particolare elevati livelli di trigliceridi (fino a più di 1600 mg/dl) non sempre correlabili al grado di insulino-resistenza o diabete(54-55).

La bassa statura è una caratteristica tipica dei pazienti adulti mentre nei bambini si osserva frequentemente un'altezza normale o superiore alla media. Sempre nei bambini è riscontrabile un'età ossea avanzata. Esistono inoltre sporadiche segnalazioni che evidenziano un deficit di ormone della crescita nell'ALMS.

Nei maschi è presente un ipogonadismo ipergonadotropo, con elevati valori basali di LH-FSH e riduzione dei livelli di testosterone. Talvolta le donne presentano irregolarità mestruali e iperandrogenismo, ma non sono stati riportati casi di ipogonadismo. Fino ad oggi nessun paziente con ALMS ha avuto figli. Una certa percentuale di pazienti sembra essere inoltre affetta da ipotiroidismo non autoimmune.

L'obesità è una caratteristica peculiare e costante dell'età pediatrica, ma la sua eziologia è del tutto sconosciuta. Il peso alla nascita nei pazienti con ALMS è tuttavia normale, poi aumenta progressivamente, e a partire dalla seconda-terza decade di vita si assiste generalmente ad una progressiva normalizzazione del peso.

Sistema cardiocircolatorio.

La cardiomiopatia dilatativa è frequentemente osservabile nei pazienti con ALMS e ad essa è imputabile una percentuale non trascurabile dei decessi. Da un punto di vista istopatologico il rilievo più importante è rappresentato ancora una volta dalla marcata fibrosi del tessuto cardiaco. Malgrado la fibrosi sia una caratteristica peculiare della malattia non è stata tuttavia mai documentata un'aumentata prevalenza di aritmie (56).

Sistema urinario.

I pazienti con ALMS presentano con una certa frequenza, soprattutto dopo la seconda-terza decade di vita, un progressivo peggioramento della funzione renale. Dal punto di vista anatomopatologico è osservabile infatti un processo di grave nefroangiosclerosi. L'insufficienza renale può condizionare fortemente la prognosi a lungo termine dei pazienti.

Sistema gastrointestinale.

I pazienti affetti da ALMS presentano spesso segni clinici e laboratoristici di coinvolgimento epatico con tipico riscontro di elevazione delle transaminasi. L'insufficienza epatica costituisce una causa di decesso relativamente frequente nei pazienti con ALMS (57). L'ipertensione portale è una complicanza della cirrosi epatica e spesso si manifesta con varici esofagee, ascite ed encefalopatia. In alcuni pazienti è riscontrabile reflusso gastroesofageo. Raramente si osservano pancreatici acute, la cui causa sembra da ascrivere all'ipertrigliceridemia.

Sistema cognitivo.

La maggior parte dei pazienti affetti da ALMS presenta un'intelligenza normale, con normale sviluppo cognitivo, anche se sono stati segnalati

alcuni casi con ritardo mentale, difetti del linguaggio, difficoltà nel risolvere problemi e problematiche psichiche. Circa un terzo dei pazienti sembra avere disturbi neurologici.

Diagnosi

La diagnosi di sindrome di Alström non è agevole, per il sovrapporsi di alcuni aspetti clinici di questa patologia con altre malattie. La sindrome è molto rara, poco conosciuta e talvolta i pazienti con ALMS vengono erroneamente considerati affetti da altre patologie più note quali ad esempio la sindrome di Bardet-Biedl, l'amaurosi congenita di Leber, la cardiomiopatia dilatativa sporadica, la sindrome di Usher e alcuni disordini mitocondriali. Oltre al caratteristico fenotipo e alle manifestazioni cliniche per porre diagnosi di sindrome di Alström è necessario effettuare uno studio del gene ALMS1 per la ricerca di mutazioni.

Caso clinico

Piero giunge alla nostra osservazione all'età di 3 anni per microcefalia, nistagmo orizzontale, obesità ed acanthosis nigricans. All'età di 5 anni per la presenza di un deficit visivo importante veniva effettuata consulenza oculistica con fondo oculare in narcosi che evidenziava una degenerazione retinica. Effettuava anche un'ecografia renale che evidenziava una iperecogenicità della zona midollare bilateralmente. L'ecografia del fegato evidenziava "fegato steatosico lievemente aumentato di volume". Gli indici di funzionalità epatica e renale erano nella norma. Da segnalare : trigliceridi 1000 mg /dl. All'età di 8 anni ha effettuato esame audiometrico che ha evidenziato un lieve deficit trasmissivo bilaterale a basse frequenze tonali. Pertanto per la presenza di retinite pigmentosa (con grave riduzione del visus), obesità, ipoacusia bilaterale trasmissiva, acanthosis nigricans, assenza di ritardo mentale e nefropatia (alterazione dell'ecogenicità cortico-midollare), si ritiene giustificata la diagnosi di Sindrome di Alstrom

All'età di 9 anni presentava un iperinsulinismo (136 mU/ml), una glicemia a digiuno 104 mg /dl con curva da carico indicativa di intolleranza glucidica. Non era presente familiarità per diabete; BMI 28.6.

Nell'arco di qualche mese abbiamo assistito ad un notevole peggioramento della tolleranza glucidica con valori di glicemia a digiuno sempre > 110 mg/dl. Intanto l'intolleranza glucidica si trasformava in diabete franco. Il regime dietetico ipocalorico bilanciato (1400 Kcal/die) ha dato un buon risultato nel controllo ponderale ma non è stato risolutivo per il controllo

glicemico. Si è così effettuato un primo tentativo terapeutico farmacologico con ipoglicemizzanti orali (glibenclamide cpr 5 mg) senza alcun beneficio. Quindi siamo passati ad un protocollo terapeutico che associava 2 dosi di insulina, ad azione lenta (protaphane) alla dose di 25 U al mattino e 30 alla sera, all'ipoglicemizzante orale ottenendo un discreto miglioramento del profilo glicemico.

Ma a distanza di 3-4 mesi da questa terapia l'HbA1c rimaneva a valori elevati (9.04%). Pertanto si decise di eliminare l'ipoglicemizzante orale e di iniziare schema insulinico a 3 dosi: 10 U rapida al mattino, 15 U rapida a pranzo, 30 U miscela 30/70 alla sera (Peso 63.500 dose insulina : 0.87 unità/kg). Dopo due mesi di terapia insulinica l'HbA1c era di 8.9%, il peptide -C era di 7.2 UI. Dopo 5 mesi l'HbA1c scese a 8.06 %. Attualmente HbA1c è 8.0 % con uno schema terapeutico seguente : metformina 850 mg due volte al giorno e 20 U rapida a pranzo, 15 alla sera.

Discussione

Attualmente l'equilibrio glico-metabolico è ben controllato con insulina e metformina 850 mg due volte al giorno. Non c'è in letteratura una chiara ed univoca linea di trattamento nel diabete associato alla sindrome di Alstrom, ma sembra evidente, almeno nel nostro paziente, che la terapia insulinica da sola possa non bastare a controllare la glicemia e che benefici dell'associazione con l'ipoglicemizzante orale. La patogenesi di questo disordine non è ancora ben chiara. Ultimamente è stato mappato il gene che codifica sul cromosoma 2, ma non si sa il rapporto con il diabete. Probabilmente alterazioni del recettore per l'insulina potrebbe giocare un ruolo chiave.

In letteratura il diabete nella Sindrome di Alstrom viene definito come diabete tipo II o insulino- indipendente. Nel nostro caso il paziente presenta un diabete insulino-richiedente con un'insulino-resistenza molto elevata. Rifacendosi alla attuale classificazione del diabete quello della sindrome di Alstrom va classificato sotto altri tipi di diabete.

CAPITOLO 5

Studio epidemiologico sulla prevalenza dell'obesità e prevenzione del diabete nella provincia di Catanzaro

INTRODUZIONE

Contrariamente a quanto si riteneva in passato, l'obesità nel bambino e nell'adolescente non è da ritenersi sinonimo di benessere fisico e prosperità, bensì una condizione che può condurre ad una serie di patologie. Tra le più frequenti complicanze che si riscontrano tra i bambini obesi troviamo problemi ortopedici, respiratori, gastroenterologici e metabolici, complicanze tutte che possono in vario modo comportare alterazioni dell'accrescimento.

Inoltre sembra che non ci siano valori di body mass index (BMI) che si associano ad una maggiore possibilità di sviluppare complicazioni, ma queste possono comparire indipendentemente dal grado di obesità (58).

Molti studi scientifici hanno dimostrato la stretta relazione tra peso corporeo e mortalità, supportando l'idea di un incrementato rischio di morte associato a pesi "più alti" o "più bassi". Diversi fattori genetici ed ambientali influenzano il peso corporeo, come la menopausa, la gravidanza, modificazioni del metabolismo di base o di altre componenti del dispendio energetico totale giornaliero, o modificazioni ormonali, ma la stessa Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) riconosce come fattori assoluti di rischio per sovrappeso ed obesità lo stile di vita inattivo ed una scarsa educazione alimentare: un eccessivo introito alimentare e ridotti livelli di attività fisica sono le principali cause pre-esistenti di incrementata incidenza di sovrappeso ed obesità. L'obesità, a sua volta rappresenta un fattore di rischio molto elevato per l'insorgenza del diabete di tipo 2, malattia dismetabolica per la quale il nostro organismo non riesce più ad assumere gli zuccheri nei tessuti per un deficit dell'azione dell'ormone preposto a questa funzione, l'insulina; lo zucchero, conseguentemente, si accumula nel sangue (iperglicemia), andandosi a depositare in sedi anomale (cute, reni, retina oculare, nervi) portando a disturbi e complicanze purtroppo note, come la retinopatia diabetica, le nefropatie, le ulcere cutanee, le neuropatie, eccetera. Il diabete, insieme all'obesità, sembra sempre di più essere associato anche a disturbi dell'apparato cardiovascolare (ipertensione, ipercolesterolemia, iperuricemia) in un variegato complesso

clinico che i medici oggi definiscono come Sindrome Dismetabolica (59). Questa, nel suo insieme ha una base genetica (quindi è ereditabile) in cui l'insulino-resistenza fornisce un meccanismo comune di patogenesi per lo sviluppo delle diverse patologie (ipertensione, iperlipidemia, iperuricemia, diabete e obesità) (60).

L'OMS, nonostante l'impegno della ricerca nel campo terapeutico, riconosce l'inefficacia, a lungo termine, di qualsiasi protocollo terapeutico nel trattamento di sovrappeso ed obesità ed auspica che in tutti i paesi industrializzati ed in precoce via di sviluppo si attuino campagne preventive ed educative, volte a pubblicizzare ed imporre uno stile di vita "più attivo" ed una sana educazione alimentare, che coinvolga in particolare i bambini ed i giovani adolescenti (61). Molti studi hanno dimostrato che l'adiposità iperplastica che insorge in età prepuberale ed adolescenziale rappresenta un elemento predittivo importante per lo sviluppo, in età adulta, dell'adiposità ipertrofica. Altri studi hanno evidenziato che sovrappeso ed obesità giovanile sono in tendenziale aumento in molti paesi industrializzati, con elevati costi nell'immediato (complicanze ortopediche, cardiovascolari, metaboliche e psicosociali) ed in prospettiva per le complicanze che si accompagnano all'obesità stessa (diabete, accidenti cardiovascolari, eccetera)(62-63-64).

METODI

Lo studio è stato svolto in alcune scuole elementari , medie e superiori della provincia di Catanzaro ed ha visto coinvolti 954 studenti (47,3 % maschi). Ciascun ragazzo è stato pesato, misurato e controllata la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca con metodologia standard; sono stati anche raccolti , con questionario compilato dai genitori, il peso e la statura di padre e madre e l'eventuale presenza di ipertensione arteriosa. Per la definizione di ipertensione sono stati utilizzati i valori > del 95° centile della TASK FORCE 2004(1). Sono state valutate le relazioni tra valori elevati di pressione arteriosa nei ragazzi , oltre il 90° centile e l'ipertensione dei rispettivi genitori.

RISULTATI

Nella popolazione presa in esame la prevalenza totale dell'obesità (BMI $>97^{\circ}$ Pc secondo le carte nazionali di riferimento) è del 5,8% (grafico 1), se consideriamo anche i pazienti in sovrappeso questa percentuale sale al 18,5% (grafico 2). L'obesità nei maschi ha una prevalenza maggiore rispetto alla femmine (75% vs 25%). Nell'ambito di ciascun gruppo esistono ulteriori differenze: per i maschi la fascia d'età più colpita è quella corrispondente alla scuola media inferiore (48,8%), seguita dai ragazzi di scuola elementare (44%) e media superiore (7,3%) (grafico 3). Nel gruppo delle femmine, invece, non c'è una differenza tra le scolari di scuola elementare e media superiore (35,7%); inferiore, invece, quella delle ragazze di scuola media inferiore (28,5%) (grafico 4). Anche il sovrappeso (12,7%) colpisce più i maschi delle femmine (57,8% vs 42,2%). Per il gruppo dei maschi non ci sono sostanziali differenze nelle varie fasce d'età (scuola elementare: 31,4%; scuola media inferiore: 32,8%; scuola media superiore: 35,7%). Per la categoria delle femmine, le più colpite sono quelle frequentanti le scuole elementari (43%) poi quelle delle scuole medie superiori (29,4%) e infine leggermente più basso è il dato nelle scuole medie inferiori (27,4%).

Per quanto riguarda l'ipertensione, la percentuale di soggetti ipertesi è stata del 5,5% sul totale dei partecipanti allo studio (grafico 5). Tra questi l'86,5 % è risultato di sesso maschile e la maggior parte frequentava le scuole superiori. Il 21,8% dei pazienti obesi è risultato iperteso contro il 4,45 % dei soggetti con peso nella norma ($p < 0.001$) (grafico 6). Non sono stati riscontrati casi di ipertensione nelle scuole elementari.

Grafico 1

Numero di pazienti obesi suddivisi per sesso

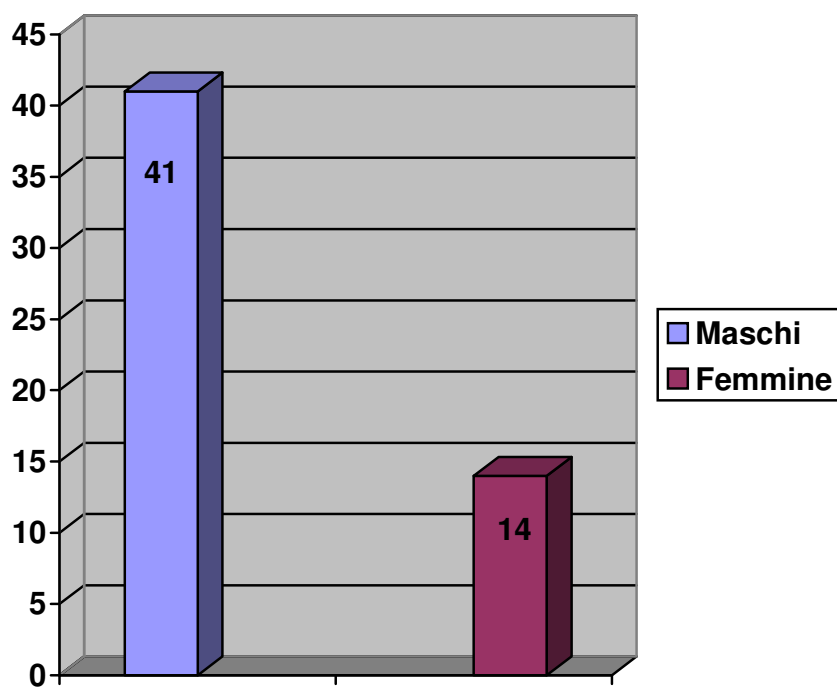


Grafico 2

Percentuale di pazienti obesi e con sovrappeso rispetto alla popolazione normale

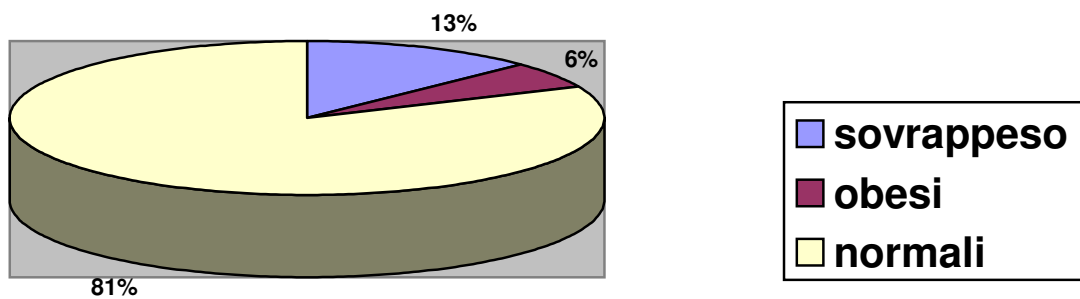


Grafico 3

Percentuale di maschi obesi divisi per scuole

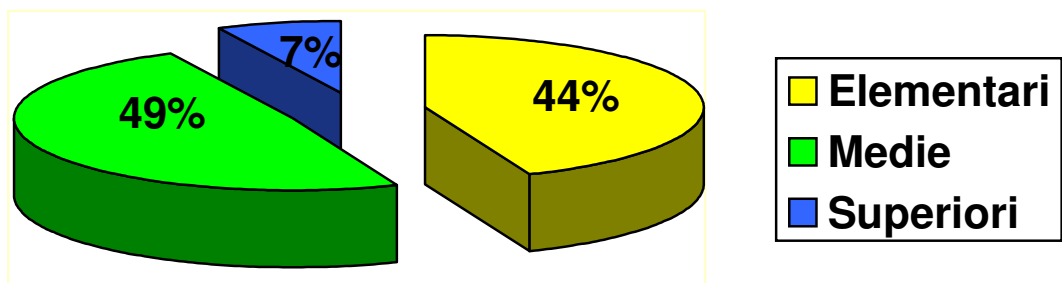


Grafico 4

Percentuale di femmine obese divise per scuole

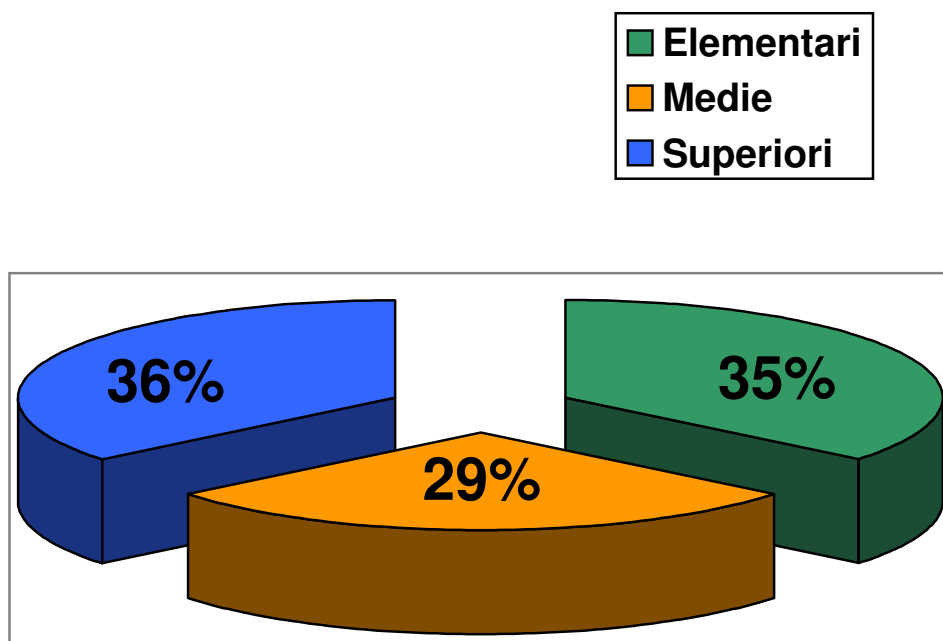


Grafico 5

Percentuale di pazienti ipertesi nello studio

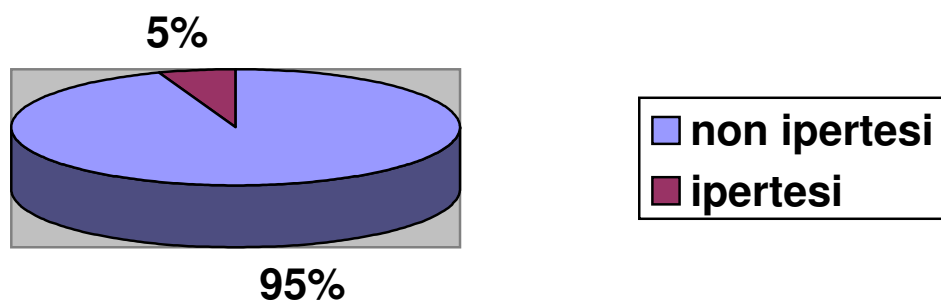
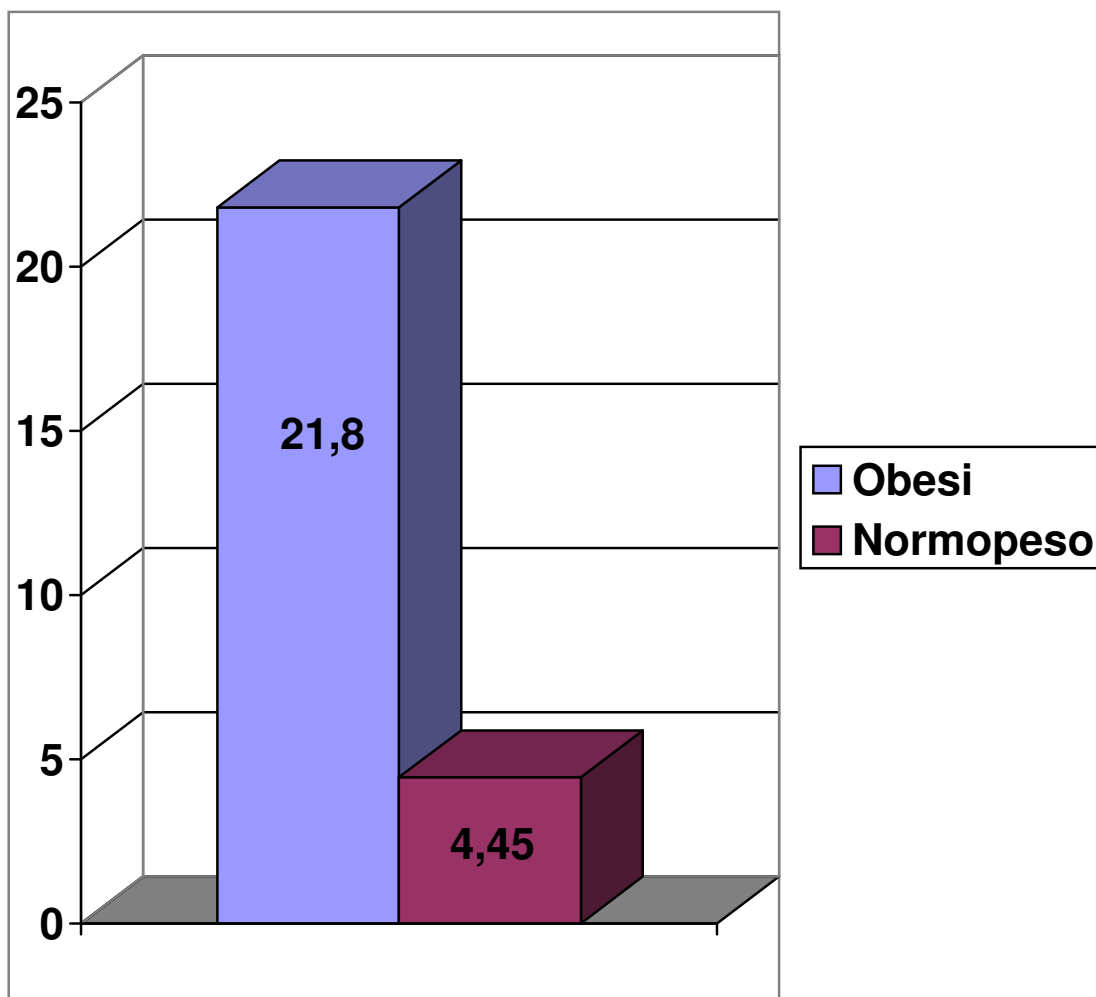


Grafico 6

Percentuale di ipertesi in funzione del peso



DISCUSSIONE

L'obesità nei bambini e negli adolescenti ha raggiunto, oggi, proporzioni allarmanti ed una preoccupante rilevanza sociale. Le ragioni di questa tendenza vengono attribuite ai cambiamenti dell'ambiente e dello stile di vita. L'obesità è un fattore di rischio riconosciuto per lo sviluppo di complicanze sia a breve che a lungo termine ed allora è facile comprendere, come sia necessaria una forte azione preventiva, da attuare nelle prime epoche di vita con tempi, luoghi e modalità precise. In base a queste premesse abbiamo pensato di avviare uno studio per valutare l'impatto di questa patologia sul nostro territorio, conoscere gli stili di vita della popolazione scolastica e prevenire attraverso programmi informativi lo sviluppo delle complicanze. Dopo uno studio pilota durante il quale sono state standardizzate e verificate sul campo le procedure in studio, il progetto è stato avviato nel marzo 2004 ed ha visto coinvolti 954 studenti (di cui 519 femmine e 435 maschi) di età compresa tra i 5 e i 18 anni reclutati tra gli iscritti a scuole elementari e medie, inferiori e superiori; provenienti da 19 istituti di Catanzaro e di Comuni limitrofi.

Dai dati ottenuti dal nostro studio è emerso che, nella popolazione presa in esame, la prevalenza totale dell'obesità è del 5,8 %, con una maggiore predominanza dei maschi rispetto alle femmine (75% vs 25%). Nell'ambito di ciascun gruppo esistono ulteriori differenze: per i maschi la fascia d'età più colpita è quella corrispondente alla scuola media inferiore (48,8%). Nel gruppo delle femmine, invece, la prevalenza tra i gruppi di scuola elementare e media superiore è uguale (35,7%).

La prevalenza totale del sovrappeso (12,9%) è maggiore rispetto all'obesità (5,8% vs 12,9%) nel nostro studio; anche in questo caso colpisce più i maschi delle femmine (57,8% vs 42,2%). Per il gruppo dei maschi non ci sono sostanziali differenze nelle varie fasce d'età. Per la categoria delle femmine il sovrappeso colpisce soprattutto le scolari delle scuole elementari (43%).

La prevalenza dell'obesità nel nostro studio (5,8%) risulta essere più bassa rispetto alla percentuale attesa. In uno studio simile condotto qualche anno prima nella stessa provincia di Catanzaro su un totale di 603 pazienti di età compresa tra 6 e 18 anni la percentuale di obesi è risultata del 11,1 % (65). Da altri studi presenti in letteratura viene riportata una prevalenza del 20 % circa in Italia. Questo valore più basso potrebbe rispecchiare fedelmente la realtà del contesto sociale in studio, ma potrebbe anche essere una sottostima del problema. Infatti l'indagine non è stata condotta a tappeto, ma su un campione di soggetti che hanno dato il consenso. Un'ulteriore

spiegazione potrebbe essere data dal limitato numero di soggetti partecipanti allo studio.

Per quanto riguarda i dati relativi all'ipertensione, la percentuale di soggetti ipertesi è stata del 5,5% sul totale dei partecipanti allo studio. Tra questi l'86,5 % è risultato di sesso maschile la maggior parte dei quali frequentavano le scuole superiori. Il 21,8% dei pazienti obesi è risultato iperteso contro il 4,45 % tra i soggetti con peso nella norma. Le nostre percentuali di ipertesi sono lievemente più alte (5,5% vs 3,5%) rispetto ai dati forniti da Pileggi et al(65). Non sono stati riscontrati casi di ipertensione nelle scuole elementari.

Un altro dato valutato è stato la presenza di familiarità per ipertensione (almeno uno dei genitori) che è stata del 34,8 %. Il rischio di sviluppare l'ipertensione, misurato con Odds Ratio, per i figli di genitori ipertesi è raddoppiato per i maschi se la madre è ipertesa e triplicato per le femmine se il padre è iperteso. L'ipertensione di almeno uno dei due genitori raddoppia il rischio di presentare valori pressori oltre il 90° percentile. Le abitudini alimentari e lo stile di vita dei partecipanti allo studio hanno mostrato delle diversità rilevanti. Ad esempio paradossalmente sembra che lo sport extrascolastico sia praticato con maggiore frequenza ($p < 0,001$) e per un numero maggiore di ore dai pazienti sovrappeso rispetto ai pazienti con peso nella norma (4,17 ore/settimana/bambino vs 3,36) ($p < 0,001$). L'aumentato rischio di obesità con i ridotti livelli di attività fisica suggeriscono che la modifica del comportamento alimentare e dello stile di vita possano avere un effetto protettivo, confermando lo sport in genere come un importante presidio terapeutico nel trattamento e nella gestione del sovrappeso e dell'obesità, capace di incrementare la spesa energetica basale e giornaliera, di proteggere l'organismo umano e di migliorare la composizione corporea, con un incremento della massa magra ed una riduzione della massa grassa, particolarmente in sede addominale, fattore di rischio per il diabete di tipo 2. Altri studi, evidenziano come il grado di familiarità al diabete (avere cioè un genitore o un parente con la malattia) possa indurre precoci ma poco eclatanti modifiche antropometriche e metaboliche, ed il ruolo protettivo di una regolare attività fisica su questi soggetti. Modificazioni dello stile di vita, incrementando i livelli di attività fisica e riducendo l'intake calorico. Nei paesi industrializzati ed in quelli in via di industrializzazione è ampiamente documentata l'aumentata incidenza dell'obesità, ed essa va di pari passo con la familiarità: avere in famiglia un genitore con il diabete di tipo 2 è un fattore di rischio per ingrassare e sviluppare la malattia. Recenti acquisizioni scientifiche stanno consentendo lo sviluppo di un test genetico che consentirà di individuare precocemente le persone che sono a rischio;

nel frattempo bisogna ammettere che se si ha un genitore con la malattia, bisogna almeno tenere sott'occhio la bilancia e cercare di fare un minimo di attività fisica. Se da soli non si riesce a ridimensionare gli introiti alimentari, soprattutto degli alimenti ad alto tasso di zuccheri (pasta, pane, patate, biscotti, dolci), diventa opportuno affidarsi ad un medico specialista ed a centri che investono i loro trattamenti sulla rieducazione alimentare e sulla gestione di regolari programmi di attività fisica. Tra le discipline sportive che sembrano maggiormente contribuire a mantenere la "linea" riducendo il rischio di insorgenza del diabete, il fondo rappresenta lo sport di élite; molti studi hanno dimostrato che non solo il fondo previene obesità e diabete, ma addirittura li cura: soggetti con diabete, che dovevano ricorrere ad insulina e ipoglicemizzanti orali, con tre ore alla settimana di corsa sono riusciti a dismettere gradualmente la terapia, con ovvii benefici.

Conclusioni

Dal nostro studio è emerso che la percentuale di obesi nella provincia di Catanzaro è molto più bassa rispetto all'atteso, mentre troviamo riscontro sulla percentuali degli ipertesi. Inoltre abbiamo potuto constatare come non sempre l'ipertensione in età pediatrica si associa al problema obesità. In relazione alla bassa prevalenza di obesità (5,5%) dunque, è possibile effettuare alcune considerazioni soprattutto se si considera un pattern alimentare globale e non il consumo in eccesso o in difetto del singolo alimento. La conoscenza del problema obesità e delle norme di base per una corretta alimentazione, da un lato, può aver influenzato positivamente il controllo del peso corporeo del bambino, ma dall'altro, avendo avuto un 10 % circa di bambini che non hanno aderito allo studio, avremmo potuto perdere in teoria gli altri obesi che conoscendo la propria situazione hanno declinato volontariamente la partecipazione allo studio. Le indicazioni che lo studio ci ha fornito possono condurci a delle riflessioni finali: probabilmente il problema obesità nella Regione Calabria e in particolare nella Provincia di Catanzaro, sia dai dati emersi dal nostro Studio, che in quello effettualo qualche anno prima, è sottostimato. Questo minor numero di pazienti obesi riscontrati rispetto agli attesi potrebbe essere attribuito sia alla tendenza degli stessi soggetti obesi a evitare le visite mediche, ma anche ad una reale bassa incidenza della patologia. Quindi questo ci porta a pensare che il problema obesità esiste, è abbastanza conosciuto, si conoscono le regole per prevenirlo, ma per la presenza di un retaggio culturale che associa al cibo il

significato di benessere, si tende a sottovalutare o addirittura a nascondere tale patologia. In conclusione, i nostri dati confermano che l'ipertensione in età pediatrica è una patologia multifattoriale non associata solo all'obesità e che la percentuale di obesi nella provincia di Catanzaro è più bassa rispetto all'atteso.

CAPITOLO 6

Valutazione endocrinologica nella Mucopolisaccaridosi IIIA: la pubertà precoce

Introduzione

la Mucopolisaccaridosi (MPS) IIIA è causata da una carenza di attività di eparan N-solfatasi, enzimi necessari per la degradazione dell'eparan solfato che causa un accumulo di glicosaminoglicani (GAG) nei lisosomi degli organi colpiti. Questa malattia è la più comune forma di MPS ed è clinicamente caratterizzata da grave ritardo mentale e lievi alterazioni viscerali e scheletriche (66). L'esordio dei segni clinici di solito si verifica tra 2 e 6 anni di età con degenerazione neurologica progressiva e grave ritardo mentale, macrocefalia, facies grossolana, visceromegalia e limitazione della mobilità articolare. Altre caratteristiche possono includere iperattività con comportamenti aggressivi, disturbi del sonno, ritardo del linguaggio e convulsioni (67). La pubertà precoce è stata più comunemente definita come l'inizio della pubertà prima degli 8 anni di età per le ragazze e prima dei 9 anni per i ragazzi. Si tratta non solo dei primi cambiamenti fisici tipici della pubertà, ma anche dell'accelerazione della crescita staturale e della maturazione ossea, che può portare ad un'altezza adulta più bassa di quella attesa(68). La pubertà precoce può essere definita come vera o GnRH-dipendente, oppure può essere periferica o GnRH-indipendente. La maggior parte delle ragazze con pubertà precoce hanno una pubertà vera idiopatica. I ragazzi più comunemente presentano una patologia di base. La pubertà precoce centrale comporta l'attivazione dell'asse ipotalamico-ipofisi-gonadi (69). Il trattamento standard della pubertà precoce comporta la soppressione di questo asse con agonisti del GnRH. Il trattamento della Pubertà precoce vera (CCP) è indicato per prevenire la progressione della pubertà, la prematura crescita staturale, lo sviluppo di problemi comportamentali e psicologici ed una penalizzazione dell'altezza finale. Si presentano in questo lavoro due bambini affetti da MPS IIIA in cui abbiamo osservato la presenza di pubertà precoce vera. L'associazione tra MPS e pubertà precoce vera è stata trovata fino ad oggi solo in 3 pazienti Polacchi con MPS III A (70). La presenza nei

nostri pazienti di PCC suggerisce che probabilmente è necessario la comparsa precoce di caratteri sessuali in pazienti affetti da MPS IIIA.

Discussione

I nostri pazienti hanno presentato una pubertà precoce all'età di 7,6 e 7,7 anni rispettivamente, senza un' accelerazione della velocità di crescita o di maturazione ossea (tabella 1), analogamente ai pazienti descritti da Tytki-Szymariska (70). Abbiamo confrontato i nostri casi con quelli precedentemente segnalati e non è stata trovata alcuna differenza di età esordio, segni clinici, valutazioni endocrinologiche e risposta alla terapia. La pubertà precoce è più frequente nelle femmine rispetto ai maschi con un rapporto femmina/maschio di 23/1 (71). A differenza delle ragazze, nella maggior parte dei quali la CPP è idiopatica, i ragazzi con pubertà precoce di solito hanno gravi disturbi organici. In uno studio presente in letteratura è emerso che tra i ragazzi con CPP (72), il 94% aveva una lesione identificabile del sistema nervoso centrale. Le lesioni organici possono causare CPP sbloccando l'inibizione ipotalamica sul rilascio pulsatile del GnRH oppure agendo a livello ipotalamico attraverso un aumento della pressione intracranica (73). L'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi è un sistema complesso regolato sia da fattori stimolanti che inibitori. Durante l'infanzia, l'asse in una fase di riposo perché il GnRH ipotalamico è represso. Durante l'adolescenza, la pubertà inizia la soppressione e permette il rilascio pulsatile di GnRH. Il principale meccanismo di temporizzazione che dà l'imput all'attivazione della secrezione di GnRH e quindi fa scattare la pubertà non è noto(74). S66W è una delle 13 mutazioni missense dell' esone 2, descritto da Di Natale et al (75)in cui la mutazione dovrebbe alterare la struttura dell'enzima. Tuttavia non c'è un correlazione tra tipo di mutazione e fenotipo, infatti la presenza di S66W in omozigosi può essere associato con un fenotipo lieve o grave, suggerendo che fattori genetici o epigenetici potrebbero modulare il fenotipo. Noi proponiamo due ipotesi per spiegare una possibile correlazione tra la MPS III A e pubertà precoce. In primo luogo, il meccanismo temporale potrebbe risiedere all'interno del sistema nervoso centrale. L'accumulo di glicosaminoglicani può far scattare la stimolazione di neurotrasmettitori che regolano la secrezione di GnRH. I pazienti affetti da MPS tipo III, possono presentare un progressivo allargamento ventricolare con conseguente aumento della pressione intracranica. Si potrebbe ipotizzare che la pubertà precoce in questo modo possa essere causata da compressione dell' ipotalamo. Una grave

degenerazione neurologica si verifica nella maggior parte dei pazienti da 6 a 10 anni di età, accompagnata da un rapido deterioramento del comportamento e delle capacità adattative. RM del cervello eseguita durante la comparsa dei sintomi di deterioramento mentale dimostra una moderata atrofia corticale nella maggior parte dei pazienti. La progressione verso una grave atrofia corticale si verifica nelle fasi finali della malattia. I disturbi del sonno e l'insonnia sono comuni, insieme a gravi problemi di comportamento come scarsa attenzione, iperattività incontrollabile, comportamento distruttivo e aggressioni fisiche. Il follow-up dei nostri due pazienti dimostra anche un effetto benefico del trattamento con agonisti GnRH sull'altezza finale. Sorprendentemente, un altro importante effetto della terapia con GnRHa in questi pazienti è stato il miglioramento dei problemi comportamentali; in realtà durante il follow-up, i nostri due pazienti ha presentato una notevole diminuzione della iperattività, del carattere distruttivo, aggressività fisica e dei disturbi del sonno (76). In conclusione riteniamo che nei nostri pazienti, la CPP è secondaria alla MPS III A e non rappresenta un'associazione casuale, anche in assenza di un coinvolgimento dell'asse ipotalamico-ipofisario e per questo motivo è importante valutare la comparsa precoce dei caratteri sessuali nei pazienti affetti da MPS tipo IIIA.

Table 1. Auxological and laboratory findings of two boys with MPS III A and precocious puberty at diagnosis

<u>Patients initials</u>	<u>Age at diagnosis (years)</u>	<u>Height age (years)</u>	<u>Bone age (years)</u>	<u>Puberal staging (G)</u>	<u>Growth velocity (cm/years)</u>	<u>Testicular size (ml)</u>	<u>FSH basal (mUI/ml)</u>	<u>FSH after GnRH stim. (mUI/ml)</u>	<u>LH basal (mUI/ml)</u>	<u>LH after GnRH stim. (mUI/ml)</u>
<u>G. G.</u>	<u>7.5</u>	<u>8.3</u>	<u>8.10</u>	<u>2</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>1.5</u>	<u>3.8</u>	<u>0.6</u>	<u>18</u>
<u>S.S.</u>	<u>7.7</u>	<u>8.7</u>	<u>7.6</u>	<u>2</u>	<u>8</u>	<u>6</u>	<u>3.71</u>	<u>8.18</u>	<u>2.29</u>	<u>24.34</u>

CAPITOLO 7

Fenilchetonuria da deficit di DHPR: utilizzo della prolattina come indice indiretto di una corretta terapia sostitutiva

INTRODUZIONE

La Diidropteridina reduttasi (DHPR) è un enzima chiave necessario per l'idrossilazione aromatica dell' aminoacido fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) e triptofano (TRP). Il suo ruolo è quello di rigenerare tetraidrobiopterina (BH4), il cofattore che dona gli elettroni necessari per attivare l'ossigeno molecolare prima dell'idrossilazione degli aminoacidi. Le alterazioni metaboliche principali causate dal deficit di DHPR sono la iperfenilalaninaemia (HPA) e la ridotta produzione di neurotrasmettitori monoaminossidasi derivati dalla Tirosina e dopamina, serotonina e noradrenalina. Il deficit di DHPR è la seconda causa più comune di deficit di BH4. I pazienti mai trattati sviluppano un grave e progressivo danno neurologico compresa ipotonia assiale, ipertonia tronculare e microcefalia (77). La presentazione clinica di questi pazienti poco dopo la nascita, assomiglia molto a quelli osservati in altre forme di deficit di BH4, con l'eccezione del deficit di pterin-4a-carbinolamina deidratasi (PCD), che è una forma benigna e transitoria di iperfenilalaninemia, senza segni neurologici. Per migliorare la prognosi di questa patologia è necessario il controllo della phe con una dieta ristretta di proteine e una supplementazione di amminoacidi ed acido folinico. Il gene della DHPR è lungo 1,2 Kb ed è stato mappato sul cromosoma 4p15.3 (77-78). Questo codifica per una proteina di 244 aminoacidi, attiva sotto forma di omodimero. Finora, sono state identificate in pazienti con deficit di DHPR circa 32 mutazioni (79-80-81-82-83). I dati clinici, molecolari e biochimici relativi a pazienti con deficit di BH4, tra cui il deficit di DHPR, vengono memorizzati sul database della BIOMDB / BIODDEF (84). Questa forma di HPA è molto rara e di difficile gestione a causa del coinvolgimento dei neurotrasmettitori. In questo lavoro quindi abbiamo seguito l'evoluzione dei dati clinici e biochimici, durante il trattamento, di tre pazienti con diagnosi di deficit di DHPR in Calabria una regione con circa 2 milioni di abitanti. Tutti i nostri pazienti mostrano la stessa mutazione (L14p), che è stata già descritta in altri pazienti Siciliani. Abbiamo voluto verificare l'utilità della prolattina come ormone

sentinella per valutare in modo non invasivo la correttezza della gestione terapeutica (fig 1a,1b,1c).

DISCUSSIONE

Il programma di screening neonatale per la PKU è stato introdotto nella regione Calabria nel 1991. Tra i pazienti con diagnosi hPa dal 1991 al 2006, 4 pazienti sono stati diagnosticati con difetto di pterine, in particolare 3 dei quali hanno un deficit di DHPR, per una incidenza approssimativa del 6% di tutti i hPa. L'analisi molecolare ha evidenziato la stessa mutazione L14P in omozigosi in tutti i pazienti, anche se provenienti da diverse province della regione e non vi era storia di parentela tra le famiglie. In precedenza sono stati riportati in letteratura 32 mutazioni nel gene DQPR (85). In particolare, la mutazione L14P è stata descritta in omozigosi in tre altri pazienti e solo in un paziente in eterozigosi. La mutazione ha sempre determinato un fenotipo grave (86). La mutazione L14P non pregiudica la maturazione del mRNA, ma comporta un'instabilità della proteina che probabilmente ne determina una rapida degradazione, come osservato in altri mutazioni (87). Questa mutazione è stata riscontrata nelle popolazioni del Mediterraneo e pertanto è stato ipotizzato un effetto fondatore (87). Due dei quattro pazienti precedentemente citati sono italiani (Siciliani), una regione molto vicino alla Calabria, quindi il nostro dato molecolare sembra confermare questa ipotesi e l'effetto fondatore potrebbe spiegare l'alta incidenza del deficit di DHPR in Calabria. Come nei pazienti precedentemente descritti in letteratura, i nostri hanno un fenotipo grave, che mostra una correlazione tra la mutazione e fenotipo clinico.

La prognosi del deficit di BH4 è strettamente legato al grado di HPA e dalla ridotta produzione di ammine biogeniche. Le catecolamine sono i principali neurotrasmettitori coinvolti nella trasmissione dei segnali intracerebrali che condizionano sia il comportamento che il movimento. L'analisi del neurotrasmettitore rappresenta un punto cruciale, ed è l'unico modo per controllare l'efficacia della terapia (88). Il controllo del trattamento può essere valutato sia clinicamente, attraverso la valutazione della dose minima efficace nell'evitare la comparsa dei sintomi, o biochimica attraverso la misurazione della concentrazione di QCS HVA e 5-HIAA. Un utile approccio alternativo è il monitoraggio della prolattina ematica. Questa possibilità indiretta, del controllo del trattamento misurando la secrezione di PRL nel deficit di BH4 è stato precedentemente valutato in sette pazienti con deficit di BH4 (89). Poiché la dopamina è un inibitore fisiologico della secrezione di prolattina, la concentrazione sierica di prolattina sembra

inversamente correlata alla concentrazione QCS dei principali cataboliti della dopamina e serotonina, quali l'acido omovanillico (HVA). I nostri dati mostrano una correlazione tra la normalizzazione dei livelli sierici di prolattina dopo un aumento dei dosaggi di L-dopa(90). Quando nel nostro paziente i valori di prolattina erano elevati (> 70 ng / ml) abbiamo osservato sonnolenza, mancanza di appetito e ipersalivazione, mentre quando avevamo una modesta iperprolattinemia (> 30 ng/ml < 70 ng / ml) alcuni pazienti hanno mostrato mancanza di appetito e sonnolenza. Pertanto la prolattina sierica potrebbe essere utilizzata per monitorare l'efficacia della terapia a lungo termine in pazienti con deficit di DHPR e rappresentare quindi un'efficace alternativa alla misurazione dei metaboliti dei neurotrasmettitori encefalici(90).

Fig. 1: correlation between serum prolactin and L-Dopa different therapeutic regimes a) case1 b) case 2 c) case 3

1a

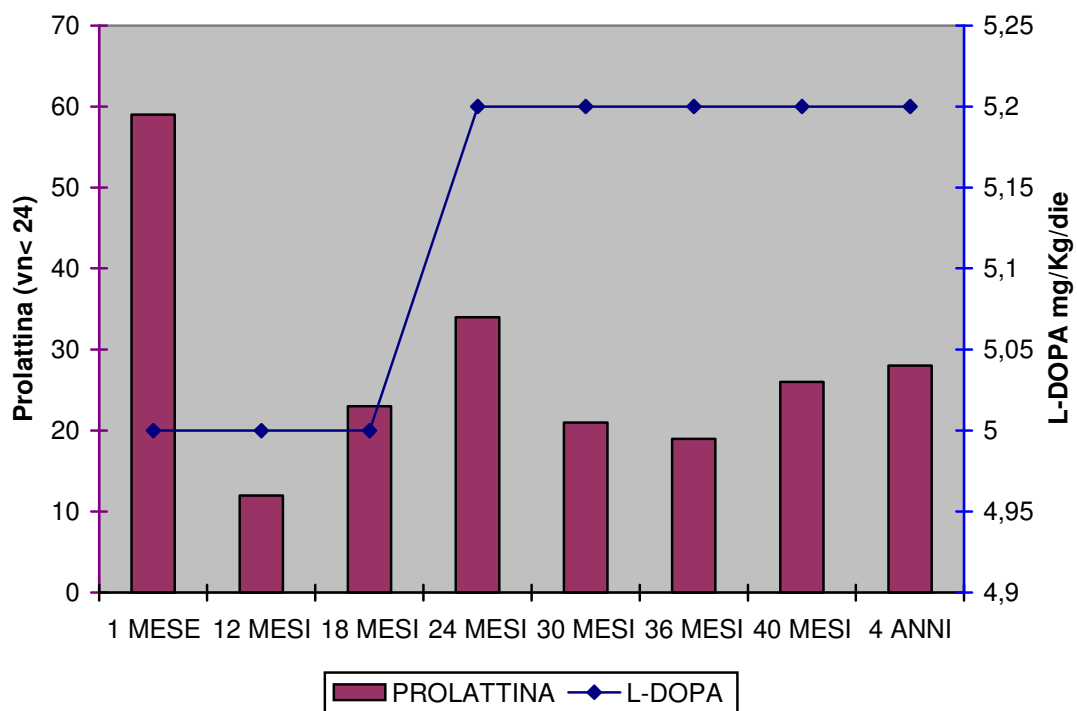


Fig 1b

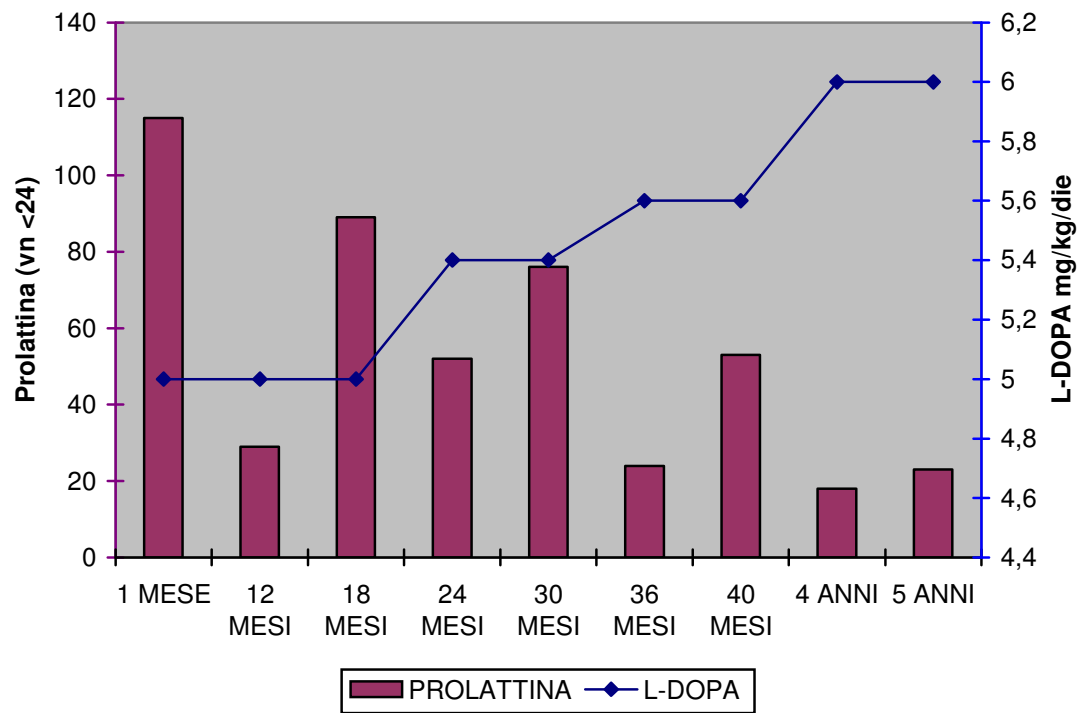
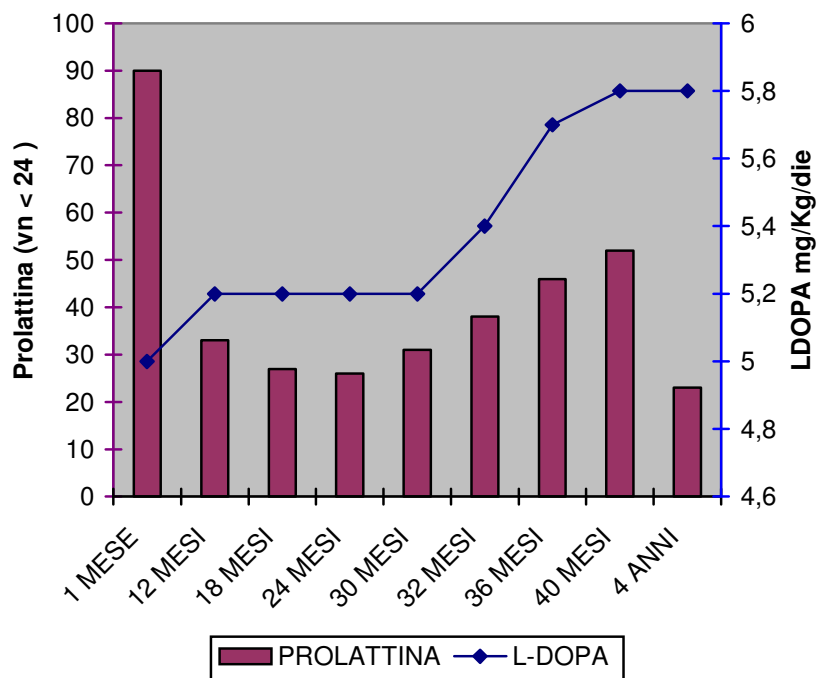


Fig 1c



CAPITOLO 8

Deficit di IGF1: follow up a lungo termine in un paziente con terapia sostitutiva

Introduzione

Insulina-like growth factor 1 (IGF-I), precedentemente noto come somatomedina-C, è un importante mediatore fisiologico endocrino, paracrino e autocrino della promozione della crescita e della proliferazione, sopravvivenza e differenziazione cellulare (91). Anche se il fegato è la principale fonte di IGF circolante, fisiologicamente un'importante produzione di IGF-I si verifica anche in altri tessuti. Nella maggior parte degli organi, la sintesi di IGF-I è regolata dall'ormone della crescita (GH), in particolare, la maggior parte di IGF-I circolante deriva dal fegato sotto controllo del GH. I livelli circolanti di IGF-I fluttuano durante tutta la vita, essendo relativamente bassi durante l'infanzia, con un incremento massimo durante la pubertà e poi lentamente decrescono in età adulta. Altri fattori importanti per la produzione di IGF-I includono lo stato nutrizionale, gli ormoni sessuali e l'insulina (92). Livelli circolanti di IGF-I bassi possono essere conseguenza di condizioni di malattia cronica, quali il diabete scarsamente controllato, la malnutrizione, la cirrosi e l'ipotiroidismo (93-94). Il deficit di IGF-I, causato da resistenza al GH è presente anche nel deficit del recettore del GH (GHRD)(95-96). Tuttavia, poiché tale condizione è secondaria a mutazioni inattivanti del gene del recettore del GH, gli individui affetti mostrano la mancanza di effetti biologici sia del GH che dell'IGF-I. Il gene dell' IGF1 mappa su 12q22-q24.1 e contiene 6 esoni (97-98). L' IGF I ricombinante(RhIGF-I), è stato approvato dalla FDA nel 2005 e dall' EMEA nel 2007 per l'uso in condizioni di grave deficit di IGF-I o per resistenza e insensibilità dell'ormone della crescita (GHI), o per deficit di ormone della crescita (GHD), o per la presenza di anticorpi neutralizzanti il GH. Un certo numero di studi hanno riportato un miglioramento della crescita nei pazienti trattati (99-100). Negli ultimi anni abbiamo descritto un ragazzo con ritardo di crescita intrauterino e mancata crescita postnatale, sordità neurosensoriale secondaria a deficit di IGFI. Il paziente mostrava una mutazione in omozigosi nell'esone 6 del gene dell' IGF1 (101). I genitori del paziente, che erano parenti, erano eterozigoti per la stessa mutazione. In letteratura sono descritti altre 2 famiglie con deficit di IGFI (102-103), ma solo un paziente ha effettuato 1 anno di trattamento con rhIGF-I (104).

Abbiamo descritto inoltre gli effetti a lungo termine sulla crescita e l'eventuale presenza di effetti collaterali.

Paziente e metodi

F.A. nato alla 39 settimana di gestazione da parto cesareo. Peso alla nascita 1.480 Kg(-4 DS), lunghezza 41 cm (5 DS) e circonferenza cranica 26,5 cm (- 5° ds). Nel corso del primo anno di vita venne notato un ritardo dello sviluppo psicomotorio e sordità neurosensoriale con una scarsissima crescita staturo ponderale. All'età di 14 mesi effettuò test da stimolo per GH (10 ng/ml basale) con arginina e clonidina che mostrava un picco di 18 e 19 ng/ml rispettivamente. I valori di IGF1 basali erano di 1 ng/ml (vn 3,7-152) e non cambiarono dopo test di generazione con GH 0,6 UI/die per 7 giorni. L'analisi molecolare del gene dell'IGF1 mostrava una sostituzione T-A nell'esone (101).

A 5 anni il paziente presentava un peso di 8 kg (- 4,8 SDS), un'altezza di 79,8 cm (- 6,1 SDS), circonferenza cranica di 41,5 centimetri (-7,48 SDS), una velocità di crescita del 2,4 cm / anno e un'età ossa di 2 anni; in questo periodo ha iniziato terapia sostitutiva con IGF1 ricombinante alla dose di 40 mg/kg/die. Dopo 6 mesi di terapia, abbiamo riscontrato una velocità di crescita bassa (4,4 cm / anno) e pertanto la dose è stata aumentata a 80 mg/kg/die (figura 1). Dopo 18 mesi di terapia a questo dosaggio, il paziente ha presentato una velocità di crescita normale per l'età (7,9 cm / anno) e un'età ossa di 4 anni; durante i seguenti nove mesi senza terapia con IGF1 ha mostrato un velocità di crescita di 1,6 cm/anno. All'età di 7,5 anni, i parametri auxologici erano i seguenti: altezza 91,8 cm (-5.5 SDS), peso 11,5 kg (-4,1 SDS), circonferenza cranica 44 centimetri (- 6,11 SDS); indice di massa corporea (BMI) 13,64 kg/m² (-1.9 SDS); rapporto segmento superiore/inferiore 1.07 (in media, 0,98 a 5 anni); A 7,5 anni, il paziente ha ripreso terapia ricombinante con IGF1, ma dopo sei mesi ha interrotto il trattamento per mancanza del farmaco. All'età di 8,4 anni, quando ha ripreso la terapia con IGF1-R, presentava un'altezza di 96 cm (- 5,6 SDS), un peso di 13.500 kg (- 3,8 SDS) e una circonferenza cranica di 46,5 cm (- 4,6 SDS) con una velocità di crescita di 2,7 cm/anno. All'età di 11 anni, durante terapia al dosaggio di 80 mg/kg/die, ha presentato i primi caratteri sessuali che indicavano un inizio puberale (P2 G2, secondo Tanner)(volume testicolare (Tvol) 8 / 10 ml). All'età di 11,5 anni presentava un peso di 28 Kg (-1.4 SDS), altezza di 114,2 cm (-4.3 SDS), circonferenza cranica di 48 centimetri (-4,3 SDS) e rapporto segmento superiore/inferiore di 0,79 (-8,05 SDS). La variazione della crescita staturo-ponderale, l'età ossea, l'indice di

massa corporea e la velocità di crescita durante terapia con rhIGF I sono riportati nella tabella 1. Il paziente non ha mai presentato rilevanti effetti collaterali relativi alla terapia con rhIGF I. In particolare, non ha presentato gravi episodi ipoglicemizzanti dopo rhIGF-I iniezione, come osservato in pazienti con GHRD in terapia con rhIGF I. Gli esami non hanno rivelato alcuna presenza di papilledema o ipertrofia adenotonsillare.

DISCUSSIONE

Il presente lavoro descrive gli effetti di 7,5 anni di terapia con rhIGF I sulla crescita, la mineralizzazione ossea, circonferenza cranica e BMI in un paziente con grave deficit di IGF-I. In letteratura sono descritti 3 pazienti con deficit di IGF-I (101-102-103), ma solo un paziente ha effettuato 1 anno di trattamento con rhIGF-I (104). oggi giorno c'è disponibilità in commercio di rhIGF-I per il trattamento dei bambini con bassa statura. L'rhIGF-I è stato approvato per l'uso in condizioni di grave deficit genetico di IGF-I o per resistenza o insensibilità dell'ormone della crescita (GHI), o per il deficit di ormone della crescita (GHD), o per la presenza di anticorpi neutralizzanti il GH (105). Il trattamento nel nostro paziente ha mostrato una buona risposta di crescita alla terapia, con un raddoppio dei centimetri guadagnati durante terapia alla dose più elevata (80 µg/kg al giorno). Questo studio conferma le precedenti relazioni che dimostrano di avere degli effetti evidenti sulla crescita nei bambini con grave deficit di IGF1. Anche nel nostro paziente nel primo anno di trattamento la crescita è importante (7,9 cm/anno) con un valore triplicato rispetto a quello antecedente al trattamento. E' evidente che la crescita, in questa popolazione di pazienti affetti da deficit di IGF1, dipende dalla somministrazione di IGF1 ed è dose-dipendente. Infatti nei mesi in cui non è stato possibile effettuare la terapia, la velocità di crescita è rimasta al di sotto dei valori normali per l'età. In realtà, quando a causa della mancanza del farmaco, abbiamo interrotto il trattamento, la velocità di crescita è stata chiaramente patologica (1,6 cm/anno nel corso della prima sospensione ($p < 0.00$) e 2.7 cm/anno durante la seconda sospensione). Mentre alla dose di 40 mg/kg/die la velocità di crescita non è stata ottimale (4,4 cm/anno). Inoltre sembra che nel nostro paziente, come nel paziente descritto da Wood la dose ottimale per raggiungere una velocità di crescita nella norma per età

è di 80 µg/kg/die. Va notato anche come la terapia con rhIGF1 migliora anche il BMI, che in realtà è passato da un valore di 0,3 SDS prima del trattamento ad un valore di 0,7 SDS all'ultimo controllo. La velocità di crescita pre-trattamento era di 2,4 cm/anno. L' rhIGF-I alla dose di 40 mg/kg per 6 mesi, ha migliorato leggermente la velocità di crescita con un modesto aumento a 4 cm/anno. Dopo l'aumento della dose di rhIGF-I a 80 mg/kg, vi è stato un aumento più pronunciato della velocità di crescita a 7,9 cm / anno. Nel nostro paziente come anche in quello descritto da Wood (102) vi è una ipoacusia neurosensoriale, assenza di episodi di ipoglicemia grave, ma non è presente ritardo mentale. Inoltre il nostro paziente ha un grave ritardo dell'età ossea prima del trattamento, che ha parzialmente recuperato solo dopo rhIGF1. Il nostro paziente non mostra evidenti effetti collaterali, ma solo modesti esiti di lipoipertrofia nel sito di iniezione dell'rhIGF1; sembra che non si siano registrati gravi episodi di ipoglicemia con rhIGF1 anche perché le iniezioni sono state effettuate sempre in prossimità dei pasti. L'impatto della terapia con rhIGF1 è stata evidente anche sulla crescita della circonferenza cranica; infatti si è passati da -7,48 SDS ad inizio terapia fino a -4,3 SDS all'ultimo controllo. In conclusione, questo lavoro mette in primo piano i risultati ottenuti a lungo termine con terapia con I-rhIGF nel secondo paziente con deficit del gene di IGF-I. I principali benefici della terapia sono stati un miglioramento della composizione corporea, dell'altezza, del peso e della circonferenza cranica. Alla dose di 80 mg/kg/die abbiamo avuto una crescita ottimale e l'assenza di evidenti effetti collaterali al farmaco. Nessun miglioramento, invece abbiamo registrato sull' ipoacusia neurosensoriale. Vogliamo infine sottolineare l'importanza di una corretta diagnosi al fine di iniziare la terapia sostitutiva al più presto per limitare il grave rallentamento sulla crescita.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'insieme delle ricerche presentate in questa Tesi di Dottorato delinea un approccio combinato ed integrato alla problematica riguardante vari disordini endocrino-gastroenterologici spesso di difficile gestione in età pediatrica. Utilizzando modelli diversi, di ricerca clinica e di revisione della letteratura corrente, è stato possibile giungere ad un miglioramento delle conoscenze in questo campo, con importanti ricadute per la gestione di bambini con disordini endocrino e gastrointestinali. Di seguito viene riportata una sintesi dei principali risultati ottenuti e delle altre linee di ricerca con i relativi risultati raggiunti dal candidato sempre nell'ambito del Dottorato di ricerca.

1. Diabete neonatale transitorio classico: la disfunzione Beta cellulare è caratterizzata da un'alterazione della risposta insulinica al glucosio e normale risposta al glucagone

Il TND potrebbe essere dovuta ad un difetto nella maturazione delle cellule β e quindi della capacità secretoria dell'insulina. Nei nostri pazienti, la risposta di insulina sia per l'OGTT che per l'IVGTT è stata subnormale in due, mentre il C-peptide basale era a livelli normali. L'età media della ricaduta del diabete è stata intorno ai 13-16 anni. Ciò implica che la pubertà esercita un ruolo fondamentale, a causa della maggiore richiesta di insulina in una cellula beta che non funziona bene. Il trattamento del diabete dopo la ricaduta è stato recentemente rivisto. L'insulina è usata più spesso della sola dieta o dei farmaci ipoglicemizzanti orali, e la sua posologia sembra essere inferiore a quella descritta nel diabete di tipo 1. In conclusione, i nostri dati preliminari suggeriscono che nel TND, a causa di anomalie 6q24, la β cellula è conservata e in grado di secernere insulina attraverso la G protein, mentre presenta uno difetto di secrezione di insulina dopo stimolazione di glucosio. Questa forma di diabete può essere gestita con insulina o dieta, anche se nuovi agenti terapeutici, come analoghi sintetici glucagone-simile potrebbero rivelarsi utili per il futuro. I medici ed i pazienti devono essere consapevoli che il fallimento del trattamento o scarsi risultati, anche senza il rischio di chetoacidosi, sono associati al rischio di complicanze microangiopatiche.

2. Prevalenza di anticorpi anti diabete nella malattia celiaca

Nel nostro studio la prevalenza degli autoanticorpi anti diabete è elevata (28,7%). Non vi è una correlazione positiva tra la presenza di anticorpi per la malattia celiaca e DMT1, indipendentemente dalla presenza o l'assenza di dieta con glutine. Il 33,3% dei paziente con DMT1-Ab aveva un IVGTT patologico, ma nessuno aveva alterazioni all'OGTT. Non esiste una correlazione tra IVGTT patologico nei pazienti con DMT1-Ab positivi che non seguono una dieta senza glutine. Sembra che la dieta senza glutine possa ridurre la prevalenza del DMT1-AB. Un numero maggiore di pazienti con CD ed un ulteriore follow-up, tra cui la valutazione dell'HLA sono necessari per chiarire la questione. Il rischio di trovare DMT1-Ab sembra essere maggiore nei pazienti celiaci che in soggetti sani, quindi lo screening del autoanticorpi associati al diabete potrebbe essere giustificato in pazienti celiaci. Infine il dosaggio dell' HbA1c potrebbe essere considerato anche nel follow-up dei pazienti celiaci, al fine di prevenire l'esordio di DMT1.

3. Diabete e malattie genetiche: la Neurofibromatosi

Il diabete tipo I si associa a tanti malattie di tipo autoimmunitarie, ma l'associazione con la NF1 era avvenuta in un solo paziente fino alla descrizione del nostro caso. Le caratteristiche del diabete del nostro paziente sono quelle tipiche di un diabete tipo I (chetoacidosi, insulino dipendenza, anticorpi GAD positivi) ad eccezione dell'HLA che non era tipico del diabete. Il compenso metabolico nei primi anni è stato pressappoco accettabile. Abbiamo supposto che le due patologie potessero essere correlate tra di loro e che le mast cell potessero essere l'elemento chiave responsabile dei due processi.

4. Diabete e malattie genetiche: la sindrome di Alstrom.

Non c'è in letteratura una chiara ed univoca linea di trattamento nel diabete associato con sindrome di Alstrom, ma sembra evidente, almeno nel nostro paziente, che la terapia insulinica da sola possa non bastare a controllare la glicemia e ne beneficia se associata alla sulfamilurea. La patogenesi di questo disordine non è ancora ben chiara. Ultimamente è stato mappato il gene che codifica sul cromosoma 2, ma non si sa il rapporto con il diabete. Probabilmente

alterazioni del recettore per l'insulina potrebbe giocare un ruolo chiave.

5. Studio epidemiologico sulla prevalenza dell'obesità e prevenzione del diabete nella provincia di Catanzaro

Le indicazioni che lo studio ci ha fornito sono interessanti; probabilmente il problema obesità nella Regione Calabria e in particolare nella Provincia di Catanzaro dai dati emersi dal nostro studio è sottostimato in quanto abbiamo trovato una percentuale di obesi del 5,8%, valore nettamente inferiore rispetto all'atteso (circa 25% la media nazionale). Questo minor numero di pazienti obesi riscontrati rispetto agli attesi potrebbe essere attribuito sia alla tendenza degli stessi soggetti obesi a evitare le visite mediche, ma anche ad una reale bassa incidenza della patologia. Pertanto il problema obesità esiste, è abbastanza conosciuto, si conoscono le regole per prevenirlo, ma per la presenza di un retaggio culturale che associa al cibo il significato di benessere, si tende a sottovalutare o addirittura a nascondere tale patologia, almeno nella provincia di Catanzaro. Infine, i nostri dati confermano che l'ipertensione in età pediatrica è una patologia con un'importante prevalenza anche nella provincia di Catanzaro (5,5%) e con una patogenesi multifattoriale.

6. Valutazione endocrinologica nella Mucopolisaccaridosi IIIA: la pubertà precoce

nella nostra casistica abbiamo osservato tra i problemi endocrinologici della mucopolisaccaridosi III A la presenza di pubertà precoce vera. Riteniamo inoltre che nei nostri pazienti la pubertà precoce è secondaria alla MPS III A e non rappresenta un'associazione casuale, anche in assenza di un coinvolgimento dell'asse ipotalamico-ipofisario. Per questo motivo è importante valutare la comparsa precoce dei caratteri sessuali nei pazienti affetti da MPS tipo IIIA ed iniziare il trattamento farmacologico.

7. Fenilchetonuria da deficit di DHPR: utilizzo della prolattina come indice indiretto di una corretta terapia sostitutiva

nei pazienti con fenilchetonuria da deficit di DHPR il trattamento terapeutico è fondamentale sia per monitorare i livelli di PHE ematici

e sia per il controllo dei neurotrasmettitori encefalici. Per evitare di effettuare rachicentesi per dosare i neurotrasmettitori encefalici, abbiamo valutato in modo indiretto la sofferenza encefalica da cattivo controllo neurotrasmettitoriale attraverso la prolattina. Sembra che l'associazione di tale ormone con la valutazione clinica offra un valido contributo nel monitoraggio della terapia farmacologica.

8. Deficit di IGF1: follow up a lungo termine in un paziente con terapia sostitutiva

Questo lavoro mette in primo piano i risultati ottenuti a lungo termine con terapia con I-rhIGF nel secondo paziente con deficit del gene di IGF-I. I principali benefici della terapia sono stati un miglioramento della composizione corporea, dell'altezza, del peso e della circonferenza cranica. Alla dose di 80 mg/kg/die abbiamo avuto una crescita ottimale e l'assenza di evidenti effetti collaterali al farmaco. Nessun miglioramento, invece abbiamo registrato sull'ipoacusia neurosensoriale. Vogliamo infine sottolineare l'importanza di una corretta diagnosi al fine di iniziare la terapia sostitutiva al più presto per limitare il grave rallentamento sulla crescita.

APPENDICE

Pubblicazioni scientifiche prodotte durante il corso di Dottorato di Ricerca

- 1) G. Valerio, A. Francese, M. Salerno, **G. Muzzi**, G. Cecere, KL Temple, J.P. Shield. Beta-cell dysfunction in classic transient neonatal diabetes is characterized by impaired insulin response to glucose but normal response to glucagon.
Diabetes Care, 27(10): 2405-08, 2004
- 2) **G. Muzzi**, G.R Vega, M.T.Moricca, D.Concolino, P. Strisciuglio . Sindrome di Alstrom e diabete mellito: come programmare la terapia?
XV Congresso Nazionale SIEDP 2005
- 3) **G. Muzzi**., S. Errichiello, G. Nigro, D. Concolino, P. Strisciuglio. Effetti della terapia insulinica con microinfusore in u ragazzo con malattia celiaca e IDDM.
XV Congresso Nazionale SIEDP 2005.
- 4) D. Concolino, Bonapace, **G. Muzzi**, L. Pisaturo, P. Strisciuglio. Efficacia del trattamento sostitutivo in un paziente con deficit di IGF1.
XV Congresso Nazionale SIEDP 2005
- 5) **G Muzzi**, R Paciotti, R Anfosso, N Aragione, G Leone, P Musacchio, C Pedicelli, R Rocchi, A Rosano, A Spagnolo, P Strisciuglio, L Tawill, E Menghetti. Attuale situazione dell'ipertensione arteriosa infantile rapportata soprattutto con obesità e sedentarietà in due città dell'Italia centro-meridionale.
Riv. Ital. Pediatr 32: (Suppl al n°1):274, 2006
- 6) **G. Muzzi**, D. Concolino, G. Bonapace, S. Sestito, A. Piccirillo, P. Strisciuglio. Deficit di IGF1 in terapia ormonale sostitutiva: follow- up a 3 anni.
Minerva Pediatrica Vol. 59 N°5 613, 2007
- 7) D. Concolino, **G. Muzzi**, F. Ceravolo, M.G. Pascale, M. Rapsomaniki, M.T. Moricca, P. Strisciuglio. Valutazione dei parametri di crescita nei pazienti calabresi affetti da iperfenilalaninemia.
Minerva Pediatrica Vol. 59 N°5 632, 2007
- 8) **Muzzi G**, Concolino D, Anfosso R, Montesani M, Aragione N, Strisciuglio P. Valutazione dello stato nutrizionale e delle abitudini di vita nella provincia di Catanzaro.
XVI Congresso Nazionale SIEDP 2007
- 9) **Muzzi G**, Concolino D, Anfosso R, Montesani M, Aragione N, Strisciuglio P. Prevalenza dell'ipertensione arteriosa nella provincia di Catanzaro .
XVI Congresso Nazionale SIEDP 2007.
- 10) D. Concolino, G. Muzzi, L. Pisaturo, A. Piccirillo, P. Di Natale, P. Strisciuglio. Precocious puberty in Sanfilippo IIIA disease: Diagnosis and follow-up of two new cases.
Eur J Med Genet. 2008 Sep-Oct;51(5):466-71

- 11) D. Concolino, **G. Muzzi**, M. Rapsomaniki, MT Moricca, MG PAscale, P. Strisciuglio. Serum prolactin as a tool for the follow-up of treated DHPR-deficient patients.
J Inherit Metab Dis. 2008 Apr 15
- 12) Prevalence of Diabetes-Related Autoantibodies in children with coeliac disease
(sottomesso a Clinical of Gastroenterology and hepatology)
- 13) Long-Term Treatment with Recombinant Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I in a child with IGF-I deficiency
(sottomesso a Journal of Pediatrics)

Libri

- “Vivere con il diabete” : A. Franzese, P. Buono, G. Valerio, **G. Muzzi**, F. Lombardi, L. Di Cosmo, E. Mozzillo, R. Calmieri. Manuale di istruzione per il pazienti diabetici pubblicata da Roche
Diagnostic nel 2002
- **CAPITOLI DI LIBRI:**
D. Concolino, **G. Muzzi**, P. Strisciuglio. Sovrappeso ed obesità nell'età evolutiva: vera epidemia sociale del terzo millennio di Amedeo Spagnolo e Ettore Menghetti: **Le complicanze dell'obesità.**

BIBLIOGRAFIA

1. Shield JP: Neonatal diabetes: new insights into aetiology and implications. *Horm Res* 2000; 53(Suppl. 1):7–11.
2. Temple IK, Gardner RJ, Mackay DJ, Barber JC, Robinson DO, Shield JP: Transient neonatal diabetes: widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes, *Diabetes* 2000;49:1359–1366.
3. Hermann R, Laine A-P, Johansson C, Niederland T, Tokarska L, Dziatkowiak H, Ilonen J, Soltész G: Transient but not permanent neonatal diabetes mellitus is associated with paternal uniparental isodisomy of chromosome 6. *Pediatrics* 2000;105:49–52.
4. Metz C, Cavé H, Bertrand AM, Deffert C, Gueguen-Giroux B, Czernichow P, Polak M, NDM French Study Group: Neonatal diabetes mellitus: chromosomal analysis in transient and permanent cases. *J Pediatr* 2002;141:483–489.
5. Marquis E, Robert JJ, Bouvattier C, Bellanné-Chantelot C, Junien C, Diatloff-Zito C: Major difference in aetiology and phenotypic abnormalities between transient and permanent neonatal diabetes. *J Med Genet* 2000;39:370–374.
6. Gardner RJ, Robinson DO, Lamont L, Shield JP, Temple IK: Paternal uniparental disomy of chromosome 6 and transient neonatal diabetes mellitus. *Clin Genet* 1998;54:522–525.
7. Gardner RJ, Mungall AJ, Dunham I, Barber JC, Shield JP, Temple IK, Robinson DO: Localisation of a gene for transient neonatal diabetes mellitus to an 18.72 cR(3000) (~ 5.4 Mb) interval on chromosome. *J Med Genet* 1999; 36(3):192-6.
8. Gardner RJ, Mackay DJG, Mungall AJ, Polychronakos C, Siebert R, Shield JPH, Temple IK, Robinson DO: An imprinted locus associated with transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Mol Genet* 2000; 9:589–596.

9. Temple IK, Shield JP: Transient neonatal diabetes, a disorder of imprinting. *J Med Genet* 2002; 39:872–875.
10. G. Valerio, A. Francese, M. Salerno, G. Muzzi, G. Cecere, KL Temple, J.P. Shield. Beta-cell dysfunction in classic transient neonatal diabetes is characterized by impaired insulin response to glucose but normal response to glucagon. *Diabetes Care* 2004; 27(10): 2405-08.
11. Castano L, Eisenbarth G. Type I diabetes: a chronic autoimmune disease of human, mouse and rat. *Annu Rev Immunol* 1990;8:647-79.
12. Boitard C, Timsit J, Sempe P, et al. Experimental immunoprevention of type I diabetes. *Diabetes Metab Rev* 1991;7:15-33.
13. Palmer JP, McCulloch DK. Prediction and prevention of DMT1-1991. *Diabetes* 1991;40:943-7.
14. Bruno G, Pinach S, Martini S, et al. Prevalence of Type 1 Diabetes-Related Autoantibodies in adults with celiac disease. *Diabetes Care* 2003; 26 :1644-45.
15. Hansen D, Brock-Jacobsen B, Lund E, et al. Clinical Benefit of a Gluten-free diet in Type 1 Diabetic Children With Screening- Detected celiac disease. *Diabetes Care* 2003; 29: 2452-56.
16. Maki M, Hallstrom O, Hunnponem T et al. Increased prevalence of celiac disease in diabetes. *Arch Dis Child* 1984; 59:739-42.
17. Sigurs N, Johansson C; Elfstrand PO, et al. Prevalence of celiac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. *Acta Paediatr* 1993; 82: 748-51.
18. Collin P, Kaukinen K, Välimäki M, et al. Endocrinological Disorders and Celiac Disease. *Endocrine Reviews* 2002; 23 (4): 464-483.
19. Barker J, Yu J, Yu L, et al. Autoantibody "subspecificity" in type 1 diabetes: risk for organ-specific autoimmunity clusters in distinct groups. *Diabetes Care* 2005; 28:850-855.
20. Di Mario U, Anastasi E, Mariani P, et al. Diabetes-related autoantibodies do appear in children with coeliac disease. *Acta Paediatr* 1992;81:593-7.

21. Galli-Tsinopoulou A, Nousia-Arvanitakis S, Dracoulacos D, et al. Autoantibodies predicting Diabetes mellitus Type I in celiac disease. *Horm Res* 1999; 52:119-124.
22. Laadhar L, Ben Hariz M, Zitouni M, et al. Prevalence of diabetes-related autoantibodies in celiac disease. *Ann Endocrinol* 2006 ; 67(6):588-90.
23. Rapoport MJ, Bistritzer T, Vardi O, et al. Increased prevalence of diabetes: related autoantibodies in celiac diseases. *JPGN* 1996; 23(5): 524-527.
24. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. Report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology. *Arch Dis Child* 1990;65:909-11.
25. Vardi P, Shehade N, Etzioni A, et al. Stress hyperglycemia in childhood: a very high risk group for the development of type I diabetes. *J Pediatr* 1990;117:75-7.
26. Boitard C, Bonifacio E, Bottazzo GF, et al. Immunology and diabetes workshop: report on the Third International (stage 3) Workshop on the standardization of cytoplasmic islet cell antibodies. *Diabetologia* 1988;31:451-2.
27. Soeldner JS, Slone D. Critical variables in the radioimmunoassay of serum insulin using the double antibody technique. *Diabetes* 1965;14:771-9.
28. Lorini R, Vanelli M. Normal values of first-phase insulin response to intravenous glucose in healthy Italian children and adolescents. The Prediabetes Study Group of the Italian Society for Pediatric. Endocrinology and Diabetology (SIEDP). *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1996;9(2):163-7.
29. Allen DB. Correlation of glycosylated hemoglobin measured by affinity vs ion exchange in pediatric DMT1 patients. *Diabetes Res Clin Pract* 1991;14:75-81.
30. Bingley P-J, Gale EA. The European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Group. Progression to type 1 diabetes in islet cell antibody-positive relatives in the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial: the role of additional immune, genetic and metabolic markers of risk. *Diabetologia* 2006;49(5):881-90.
31. Spencer KM, Dean BM, Tarn A, et al. Fluctuating islet cell autoimmunity in unaffected relatives or patients with insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1982;1:764-66.
32. Millward PA, Aluigi L, Hoskins PJ, et al. Immune changes associated with insulin dependent diabetes may remit without causing the disease: a study in identical twins. *Br Med J* 1988;292:793-6.

33. McCulloch DK, Klaff LJ, Kahn SE, et al. Non progression of subclinical β -cell dysfunction among first degree relatives of DMT1 patients: 5 yr follow up of the Seattle Family Study. *Diabetes* 1990;39:547-56.
34. Ventura A, Neri E, Ughi C, et al. Gluten-dependent diabetes related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr* 2000; 137 (2): 263-265.
35. Tomson SAM, L. Fishbein, M. R. Wallace. NF1 mutations and molecular testing. *Journal of Child Neurology* 2002; 17: 551-561.
36. R. Habibi, B. Silvermaen, R. Listernick, J. Charrow. Precocious puberty in children with neurofibromatosis type I. *J Pediatr* 1995; 126: 63-66.
37. D. Carmi, M. Shohat, A. Metzker, Z. Dickerman. Growth, puberty, and endocrine functions in patient with sporadic or familial neurofibromatosis type I: a longitudinal study. *Pediatrics* 1999; 103: 1257-1262.
38. Zeeba Zaka R, Chopra K. Diabetes Mellitus in Neurofibromatosis I: An Unusual Presentation. *Indian Pediatrics* 2005; 42(17):185- 186
39. B.T. Green, D.C. Rockey. Duodenal somatostatinoma presenting with complete somatostatinoma syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33: 415-7.
40. J.W. Scadding. Fibrosing alveolitis with autoimmune haemolytic anaemia: two case reports. *Thorax* 1977; 32: 134-139.
41. E. Pal, E. Gomori , I. Gati. Neurofibromatosis and glioblastoma in a case of multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2001; 8: 717-8.
42. T. Toth, C. Trinn, L. Simon, J. Nagy. A case of membranous glomerulonephritis associated with Recklinghausen's neurofibromatosis. *Clin Nephrol* 1996; 45: 271-2.
43. V.M. Riccardi. Neurofibromatosis in a patient with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1983; 26: 574 .
44. Hessner MJ, Wang X, Meyer L, Geoffrey R, Jia S J, Fuller, Lernmark A, Ghosh S. Involvement of eotaxin, eosinophils, and pancreatic predisposition in development of type 1 diabetes mellitus in the BioBreeding rat. *J Immunol* 2004; Dec 1;173(11):6993-7002
45. Yang FC, Chen S, Clegg T, Li X, Morgan T, Estwick SA, Yuan J, Khalaf W, Burgin S, Travers J, Parada LF, Ingram DA, Clapp DW. Nf1+/- mast cells induce

neurofibroma like phenotypes through secreted TGF-beta signaling. *Hum Mol Genet* 2006; Aug 15;15(16):2421-37.

46. Alstrom CH, Hallgren B, Nilsson LB, Asander H: Retinal degeneration combined with obesity, diabetes mellitus and neurogenous deafness: a specific syndrome (not hitherto described) distinct from the Laurence-Moon-Bardet-Biedl syndrome: a clinical, endocrinological and genetic examination based on a large pedigree. *Acta psychiatrica et neurologica Scandinavica* 1959; 129
47. Marshall JD, Bronson RT, Collin GB, Nordstrom AD, Maffei P, Paisey RB, Carey C, Macdermott S, Russell-Eggitt I, Shea SE, Davis J, Beck S, Shatirishvili G, Mihai CM, Hoeltzenbein M, Pozzan GB, Hopkinson I, Siculo N, Naggert JK, Nishina PM: New Alstrom syndrome phenotypes based on the evaluation of 182 cases. *Archives of internal medicine* 2005; 165(6):675-683.
48. Marshall JD, Ludman MD, Shea SE, Salisbury SR, Willi SM, LaRoche RG, Nishina PM: Genealogy, natural history, and phenotype of Alstrom syndrome in a large Acadian kindred and three additional families. *American journal of medical genetics* 1997; 73(2):150-161.
49. Hearn T, Renforth GL, Spalluto C, Hanley NA, Piper K, Brickwood S, White C, Connolly V, Taylor JF, Russell-Eggitt I, Bonneau D, Walker M, Wilson DI: Mutation of ALMS1, a large gene with a tandem repeat encoding 47 amino acids, causes Alstrom syndrome. *Nature genetics* 2002; 31(1):79-83.
50. Collin GB, Marshall JD, Ikeda A, So WV, Russell-Eggitt I, Maffei P, Beck S, Boerkoel CF, Siculo N, Martin M, Nishina PM, Naggert JK: Mutations in ALMS1 cause obesity, type 2 diabetes and neurosensory degeneration in Alstrom syndrome. *Nature genetics* 2002; 31(1):74-78.
51. Marshall JD, Hinman EG, Collin GB, Beck S, Cerqueira R, Maffei P, Milan G, Zhang W, Wilson DI, Hearn T, Tavares P, Vettor R, Veronese C, Martin M, So WV, Nishina PM, Naggert JK: Spectrum of ALMS1 variants and evaluation of genotype-phenotype correlations in Alstrom syndrome. *Hum Mutat* 2007;28(11):1114-23
52. Gogi D, Bond J, Long V, Sheridan E, Woods CG: Exudative retinopathy in a girl with Alstrom syndrome due to a novel mutation. *The British journal of ophthalmology* 2007; 91(7):983-984.

53. Welsh LW: Alstrom syndrome: progressive deafness and blindness. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology* 2007; 116(4):281-285.
54. Koc E, Bayrak G, Suher M, Ensari C, Aktas D, Ensari A: Rare case of Alstrom syndrome without obesity and with short stature, diagnosed in adulthood. *Nephrology (Carlton, Vic)* 2006; 11(2):81-84.
55. Holder M, Hecker W, Gilli G: Impaired glucose tolerance leads to delayed diagnosis of Alstrom syndrome. *Diabetes care* 1995; 18(5):698-700.
56. Hoffman JD, Jacobson Z, Young TL, Marshall JD, Kaplan P: Familial variable expression of dilated cardiomyopathy in Alstrom syndrome: a report of four sibs. *Am J Med Genet A* 2005; 135(1):96-98.
57. Chang KW, Hou JW, Lin SJ, Kong MS: Alstrom syndrome with hepatic dysfunction: report of one case. *Acta paediatrica Taiwanica* 2000; 41(5):270-272
58. Bell LM, Byrne S, Thompson A, Ratnam N, Blair E, Bulsara M, Jones TW, Davis EA. Increasing body mass index z-score is continuously associated with complications of overweight in children, even in the healthy weight range. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):517-22.
59. Riley MR, Bass NM, Rosenthal P et al. Underdiagnosis of pediatric obesity and underscreening for fatty liver disease and metabolic syndrome by pediatricians and pediatric subspecialists. *J Pediatr* 2005 Dec;147(6):839-42
60. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14(3):173-94.
61. Baet C.,Van Winchel M.,Van Leeuwen K.: Follow-up results of different treatment programs for obese children. *Acta Paediatr.*1997;86:397-402
62. Wang Y.,Monteiro C.,Popkin B.M.: Trends of Obesity and under weight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China,and Russia. *Am.J.Clin.Nutr.*2002;75:981-977
63. Willms J.D.,Tremblay M.S.,Katzmarzyk P.T.: Geographical and demographic variation in the prevalence of overweight in Canadian children. *Obes.Res.*2003;11:668-673

64. Booth M.L., Wake M., Armstrong T., Chey T., Hesketh K., Mathur S.: The epidemiology of overweight and obesity among Australian children and adolescents. 1995-97. *Aust. NZJ Public Health* 2001; 25: 162-169
65. Pileggi C, Carbone V, Nobile CG, Pavia M Blood pressure and related cardiovascular disease risk factors in 6-18 year-old students in Italy. *J Paediatr Child Health* 2005 Jul; 41(7): 347-52
66. Neufeld EF, Muenzer J. The Mucopolysaccharidoses. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D: *The Metabolic Bases of Inherited Disease*, 8th ed, Vol II. New York, McGraw-Hill 2001; p 3421-3441.
67. Cleary MA, Wraith JE. Management of mucopolysaccharidosis type III. *Arch Dis Child* 1993; 69: 403.
68. Kaplan SL, Grumbach MM. Pathophysiology and treatment of sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71: 785-789.
69. Klein OK. Precocious puberty: Who has it? Who should be treated? (Editorial). *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 411-414.
70. Tylki-Szymariska A Precocious puberty in three boys with Sanfilippo A (Mucopolysaccharidosis III A). *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1995; 8: 291-293.
71. Brook CGD. Precocious puberty. *Clin Endocrinol.* 1995; 42: 647-650.
72. Brown DC, Stirling HF, Kelnar CIH. Precocious puberty. *Curr Pediatr.* 1994; 4: 184-188.
73. Pescovitz OH, Comite F, Hench K et al. The NIH experience with precocious puberty: diagnostic subgroups and response to short-term luteinizing hormone releasing hormone analogue therapy. *J Pediatr.* 1986; 108: 47-54.
74. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res.* 2002; 57 (Suppl 2): 2-14.
75. Di Natale P, Balzano N, Esposito S, Villani G. Identification of molecular defects in Italian Sanfilippo. A patients including 13 novel mutations *Hum Mutat.* 1998; 11(4): 313-20.
76. D. Concolino, G. Muzzi, L. Pisaturo, A. Piccirillo, P. Di Natale, P. Strisciuglio. Precocious puberty in Sanfilippo IIIA disease: Diagnosis and follow-up of two new cases. *Eur J Med Genet.* 2008 Sep-Oct; 51(5): 466-71

77. Lockier J, Cok RG, Milstein S, Kaufman S, Woo SL, Ledley FD. Structure and expression of human dihydropteridine reductase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:3329-3333.
78. Dahl HHM, Hutchinson W, McAdam W, Wake S, Morgan FJ, Cotton RGH. Human dihydropteridine reductase: Characterization of a cDNA clone and its use in analysis of patients with dihydropteridine reductase deficiency. *Nucleic Acid Res* 1987;15:1921-1932
79. Blau N, Heizmann CW, Sperl W, Korenke GC, Hoffman GF, Smooker PM, Cotton RGH. Atypical (mild) form of dihydropteridine reductase deficiency: neurochemical evaluation and mutation detection. *Pediatr Res* 1992;32:726-730
80. Howells DW, Forrest SM, Dahl HHM, Cotton RGH. Insertion of an extra codon for threonine is a cause of dihydropteridine reductase deficiency. *Am J Hum Genet* 1990; 47:279-285
81. Smooker PM, Howells DW, Cotton RGH. Identification and in vitro expression of mutation causing dihydropteridine reductase deficiency. *Biochemistry* 1993; 32:6443-6449
82. Smooker PM, Cotton RGH. Molecular basis of dihydropteridine reductase deficiency. *Hum Mut* 1995; 5:279-284
83. Dianzani I, Howells DW, Ponzone A, Saleeba JA, Smooker PM, Cotton RGH. Two new mutations in the dihydropteridine reductase gene in patients with tetrahydrobiopterin deficiency. *J Med Genet* 1993; 30:465-469
84. Blau N, Thony B, Dianzani I. International database of tetrahydrobiopterin deficiencies BIOMBD/BIODEF. <http://www.unizh.ch/blau/biomdb1.html> 1997
85. Ponzone A, Spada , Ferraris S, Dianzani I, De Sanctis L. Dihydropteridine reductase deficiency in man: from biology to treatment. *Med Res Rev* 2004;24(2):127-50
86. De Sanctis L, Alliaudi C, Spada M, Farrugia R, Cerone R, Biasucci G, Meli C, Zammarchi E, Coskun T, Blau N, Ponzone A, Dianzani I. Genotype-phenotype correlation in dihydropteridine reductase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2000; 23(4):333-7

87. Smooker PM, Gough TJ, Cotton RG, Alliaudi C, De Sanctis L, Dianzani I. A series of mutations in the dihydropteridine reductase gene resulting in either abnormal RNA splicing or DHPR protein defects. *Hum Mutat* 1999; 13(6):503-4
88. Spada M, Ferraris S, Ferrero GB, Sartore M, Lanza C, Perfetto F, de Sanctis L, Dompe C, Blau N, Ponzzone A. Monitoring treatment in tetrahydrobiopterin deficiency by serum prolactin. *J Inherit Metab Dis*. 1996;19(2):231-3.
89. Danks DM, Schlesinger P, Firgaira F, Cotton RG, Watson BM, Rembold H, Hennings G. Malignant hyperphenylalaninemia-clinical features, biochemical findings, and experience with administration of biopterins. *Pediatr Res* 1979; 13:1150-5
90. D. Concolino, G. Muzzi, M. Rapsomaniki, MT Moricca, MG PAscale, P. Strisciuglio. Serum prolactin as a tool for the follow-up of treated DHPR-deficient patients. *J Inherit Metab Dis*. 2008; 15-23.
91. Bach L A. The Insulin-like Growth Factor System: Towards Clinical Applications. *Clin Biochem Rev* 2004; 3: 25
92. Bajpai A, Menon P S.N. Insulin like growth factors axis and growth disorders. *Indian Journal of Pediatrics* 2006; 73: 67-71
93. Arlan L, Guevara-aguirre R, Guevara-aguirre J. Reclassification of Insulin-Like Growth Factor I Production and action disorders. *JCEM* 2006; 91(11): 4232-4234
94. Le Roith D, Bondy C, Yakar S et al . The somatomedin hypothesis: *Endocr Rev* 2001; 22: 53-74.
95. Savage MO, Blum WF, Ranke MB, et al. Clinical features and endocrine status in patients with growth hormone insensitivity (Laron syndrome). *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:1465–1471.
96. Rosenfeld RG, Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J. Growth hormone (GH) insensitivity due to primary GH receptor deficiency. *Endocr Rev* 1994; 15:369–390.
97. Smith PJ, Spurrell EL, Coakley J, Hinds C. J, Ross RJ, Krainer AR, Chew SL. An exonic splicing enhancer in human IGF-I pre-mRNA mediates recognition of alternative exon 5 by the serine-arginine protein splicing factor-2/alternative splicing factor. *Endocrinology* 2002; 143: 146-154.

98. Yang-Feng TL, Brissenden JE, Ullrich A, Francke U. Sub-regional localization of human genes for insulin-like growth factors I (IGF1) and II (IGF2) by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 1985; 40: 782.
99. Backeljauw PF, Underwood LE. Prolonged treatment with recombinant insulin-like growth factor-I in children with growth hormone insensitivity syndrome—a clinical research center study. GHIS Collaborative Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81:3312–3317.
100. Steven D. Chernausek, Philippe F. Backeljauw, James Frane, Joyce Kuntze, Louis E. Underwood for the GH Insensitivity Syndrome Collaborative Group. Long-term treatment with recombinant insulin-like growth factor (IGF)-I in children with severe IGF-I deficiency due to growth hormone insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 ;92(3):902-10.
101. Bonapace G, Concolino D, Formicola S, Strisciuglio P. A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor 1 (IGF1) deficiency. *J. Med. Genet* 2003; 40: 913-917.
102. Woods KA, Camacho-Hübner C, Savage MO, Clark AJL. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N Engl J Med* 1996; 335:1363–1367.
103. Walenkamp MJE, Karperien M, Pereira AM, Hilhorst-Hofstee Y, van Doorn J, Chen JW, Mohan S, Denley A, Forbes B, van Duyvenvoorde HA, van Thiel SW, Sluimers CA, Bax JJ, de Laat JAPM, Breuning MB, Romijn J. A, Wit JM. Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(5):2855-64
104. Woods KA, Camacho-Hübner C, Bergman RN, Barter D, Clark AJL, Savage M O. Effects of Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I) Therapy on Body Composition and Insulin Resistance in IGF-I Gene Deletion. *Jclin Endocrinol Metab* 2000; 85(4) 1407-1411
105. Collett-Solberg PF, Misra M; The role of recombinant human insulin-like growth factor-I in treating children with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(1):10-8