

IL DIABETE INFANTILE

Ospedale di Roma: un bambino di 23 mesi viene ricoverato in uno stato di precoma diabetico, il suo quadro clinico viene scambiato per un normale stato influenzale ma, grazie alla diagnosi di diabete di tipo 1 e alla terapia insulinica somministrata in ospedale, il bambino supera la crisi e si salva.

Alcuni sintomi del diabete infantile, come la poliuria (aumentata eliminazione di urine) e la polidipsia (aumentata sete), sono tipici anche di stati febbrili; il quadro clinico nel diabete infantile, inoltre, non è sempre chiaro e può risultare di difficile interpretazione.

In Italia il diabete infantile ha un'incidenza annuale di 8-10 casi per 100.000 bambini (tra 0 e 14 anni) con una prevalenza dello 0,2‰ che aumenta di dieci volte nelle famiglie con un genitore diabetico. Certamente la patologia diabetica è in aumento durante la pubertà anche a causa della maggiore esposizione a fattori di rischio: risulta infatti che i due tipi di diabete si presentano sempre più collegati in quanto si può instaurare una condizione di diabete doppio, caratterizzata da autoimmunità (tipica del diabete di tipo 1) associata a sindrome da insulino-resistenza (tipica del diabete di tipo 2).

In Italia il 36% circa dei ragazzi, residenti prevalentemente al Centro-Sud, è sovrappeso e obeso (**figura 1**).



Figura 1 Immagine di ragazza obesa.

Come si può intervenire in merito? Il governo sta pensando a una tassa su quello che viene considerato “cibo spazzatura” ma un intervento certamente più serio ed efficace consiste nell'educazione alla salute da attuare a partire dalla scuola per l'infanzia. Forse se un ragazzo fosse a conoscenza del fatto che ha una aspettativa di vita dieci anni minore, cambierebbe le sue abitudini alimentari (evitando, per esempio, bibite dolci o merendine a rapido assorbimento che non soddisfano il senso di fame e favoriscono la deposizione di grasso) e i suoi stili di vita (praticando più sport e passando meno tempo al computer o a guardare la televisione). In questo senso sarebbe opportuno offrire maggiori proposte di attività motoria a costi ridotti per incentivare la pratica sportiva e combattere la sedentarietà.

Tecniche di laboratorio per la diagnosi del diabete

Prima di analizzare le indagini di laboratorio utilizzate per la diagnosi del diabete, ricordiamo quali sono i valori del glucosio ematico che possiamo considerare **normali** e quali quelli **patologici**.

È necessario fare una distinzione: *a digiuno*, cioè a distanza di 8 ore dall'ultima ingestione di cibo o bevande caloriche, il valore di glicemia normale rientra in un intervallo compreso tra 60 e 110 mg/dl, mentre subito *dopo un pasto* tale valore può arrivare fino a 180 mg/dl, con ritorno al valore basale entro 2-4 ore (a 2 ore deve essere < 140 mg/dl).

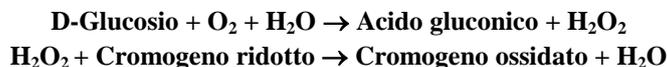
Sintomi da ipoglicemia compaiono per valori <50 mg/dl con valore critico < 46 mg/dl.

Sintomi da iperglicemia compaiono per valori > 230 mg/dl, con valore critico (al di sopra del quale vi può essere rischio per le funzioni vitali) per valori di 480 mg/dl (in questo caso il laboratorio deve tempestivamente dare comunicazione al paziente per intervenire con trattamento farmacologico).

Una condizione di iperglicemia però non sempre indica chiaramente una patologia diabetica; per una diagnosi più certa deve essere valutata la tolleranza al glucosio somministrando un carico orale di glucosio (OGTT). Con questo test si somministrano 75 g di glucosio anidro sciolti in 250-300 mL di acqua e si misura la glicemia a 2 ore dall'assunzione del glucosio. Si conferma un sospetto di diabete con valori ≥ 126 mg/dl.

Il dosaggio del glucosio

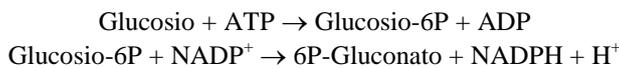
La determinazione del glucosio viene condotta prevalentemente con **metodi enzimatici colorimetrici** che hanno il vantaggio di essere altamente specifici. Uno dei primi metodi di tipo enzimatico è stato proposto nel 1948 e sfrutta l'attività dell'enzima *glucosio ossidasi*. L'enzima ossida in maniera specifica il D-glucosio con formazione di acido gluconico e acqua ossigenata. In una reazione accoppiata si valuta la quantità di acqua ossigenata che, in presenza dell'enzima *perossidasi*, trasforma un cromogeno (incolore nella forma ridotta) in un composto ossidato colorato:



L'ossidazione del cromogeno dà origine, quindi, a un composto colorato che si formerà in maniera direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio presente nel campione. Per una indagine quantitativa viene effettuata una lettura spettrofotometrica contro bianco reagente (si azzerà cioè prima lo strumento utilizzando un bianco costituito dal reagente in assenza di campione).

In passato i cromogeni usati per questa determinazione erano l'orto-dianisidina (si colora di giallo nella forma ossidata) e l'orto-toluidina (si colora di verde azzurro), oggi questi non si utilizzano quasi più e il reattivo è stato sostituito con quello proposto da **Trinder**. La reazione, che da lui prende il nome, utilizza come cromoforo fenolo accoppiato con 4-aminofenazone che si colora di rosso nella forma ossidata. Questo metodo è meno influenzato dei precedenti da sostanze presenti nel sangue pertanto si presta alla determinazione su plasma o siero, presenta però lo svantaggio di risentire di interferenza da parte di sostanze riducenti, in quanto mentre la prima reazione è specifica, la seconda non lo è altrettanto.

Un metodo sicuramente più specifico utilizza due reazioni accoppiate. Nella prima l'enzima *esochinasi* trasforma il glucosio in glucosio-6-fosfato utilizzando ATP, nella seconda l'enzima *glucosio-6-fosfato deidrogenasi*, trasforma il glucosio-6-fosfato in 6-fosfogluconato con riduzione di una molecola di NADP^+ in NADPH:



In questa reazione si valuta quindi la variazione delle concentrazioni NADPH con una lettura spettrofotometrica; l'aumento di assorbanza a 340 nanometri è infatti dovuto esclusivamente alla presenza di NADPH nella forma ridotta ed è direttamente proporzionale alla quantità di glucosio presente nel campione biologico.

Dosaggio della emoglobina glicosilata

Il dosaggio della emoglobina glicosilata (anche detta glicata e indicata con la sigla HbA_{1c}) è un test utile per il monitoraggio del soggetto diabetico durante la terapia e per la valutazione del metabolismo glicidico nei due mesi precedenti il prelievo.

Il glucosio presente nel sangue penetra infatti nei globuli rossi e si lega al gruppo N-terminale delle catene beta dell'HbA, che si carica così di zucchero (**figura 2**). La percentuale di emoglobina glicata è proporzionale quindi alla concentrazione di glucosio nel sangue, pertanto la sua presenza fotografa la condizione glicemica anche pregressa essendo l'emoglobina glicata un composto stabile che perdura per tutta la vita del globulo rosso.

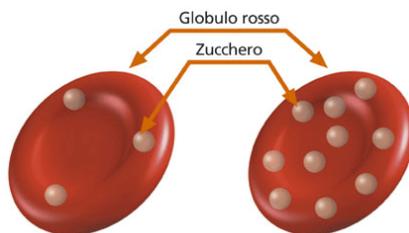


Figura 2 Legame tra globulo rosso ed emoglobina.

Nei soggetti normali, non diabetici, l'HbA_{1c} si mantiene su un valore di circa il 5%. Nei diabetici, valori di HbA_{1c} che si mantengono inferiori o uguali al 7 % vengono considerati indice di un buon controllo della glicemia nel tempo, mentre valori superiori a 8-9 % rappresentano un segnale di rischio elevato. Studi recenti hanno documentato che i soggetti diabetici che riescono a mantenere i loro livelli di HbA_{1c} entro il 7% hanno molte possibilità in più di ritardare o prevenire le complicanze diabetiche rispetto ai soggetti con un valore pari o superiore all'8%. Le metodiche usate di routine per il dosaggio della HbA_{1c} sono:

- cromatografia di affinità;
- HPLC (*cromatografia liquida ad alta pressione*);
- metodi immunochimici.

Dosaggio dei corpi chetonici

In condizioni normali durante il nostro metabolismo vengono prodotti pochi corpi chetonici. Durante il digiuno prolungato, in un soggetto diabetico o se si segue una dieta povera di carboidrati, il fegato produce corpi chetonici utilizzando l'acetil-CoA derivato dall'ossidazione degli acidi grassi. A seguito del processo di beta ossidazione, infatti, possono formarsi quantità di acetil-CoA in eccesso rispetto alle capacità di smaltimento del ciclo di Krebs; in queste condizioni l'acetil-CoA viene utilizzato nel mitocondrio per la sintesi dei **corpi chetonici (acetoacetato, β-idrossibutirato e acetone)**.

In condizioni normali l'acetone è quasi assente, l'acetoacetato e l'idrossibutirato sono in rapporto 1:1, mentre nella chetoacidosi questo rapporto aumenta fino a 3-6:1.

Come si effettua il dosaggio dei corpi chetonici? Generalmente l'acido acetoacetico è dosato nelle urine mediante strisce reattive a base di nitroprussiato a pH 9 (metodo di Legal). Aggiungendo glicina si dosa anche l'acetone. In caso di positività le strisce si colorano in viola con un'intensità che varia a seconda della concentrazione dei corpi chetonici. Il limite di questa metodica è che permette un dosaggio semiquantitativo, che non comprende anche il β-idrossibutirato, inoltre possono esserci falsi positivi in presenza di farmaci contenenti gruppi sulfidrilici o falsi negativi se le strisce sono esposte all'aria o se l'urina è molto acida.

Dosaggio della insulina

Un utile strumento diagnostico può risultare il dosaggio della insulina in circolo. Il metodo per la **determinazione della insulina** è di tipo immunologico in particolare si utilizza il RIA (*Radio Immuno Assay*) o l'ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Il metodo più usato è il RIA, un dosaggio di tipo radioimmunologico; questo test utilizza un anticorpo legato a una fase solida, cui si aggiunge l'ormone marcato con radioisotopo (**figura 3a**). Se è presente, oltre all'ormone marcato, anche quello non marcato presente nel campione da analizzare, le due molecole competono con i siti di legame dell'anticorpo e l'ormone non marcato sposta dai siti di legame quello radioattivo. Il grado di legame tra il reagente marcato e il suo recettore dipenderà quindi da quanto ormone non marcato è presente nel campione (**figura 3b**).

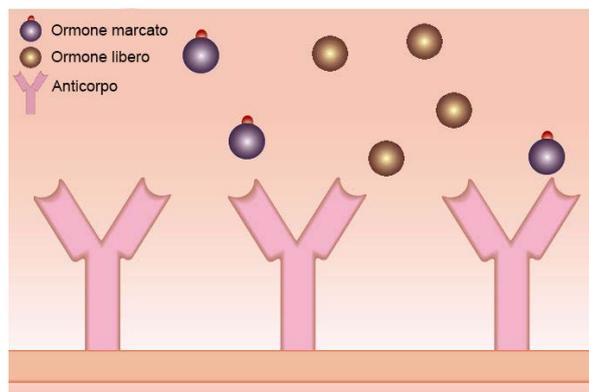


Figura 3a Dosaggio dell'insulina. Si utilizza una fase solida a cui sono legati specifici anticorpi diretti contro l'ormone insulina. Si aggiunge il siero contenente l'ormone (libero) e lo stesso ormone marcato (in figura l'ormone radioattivo ha un pallino rosso).

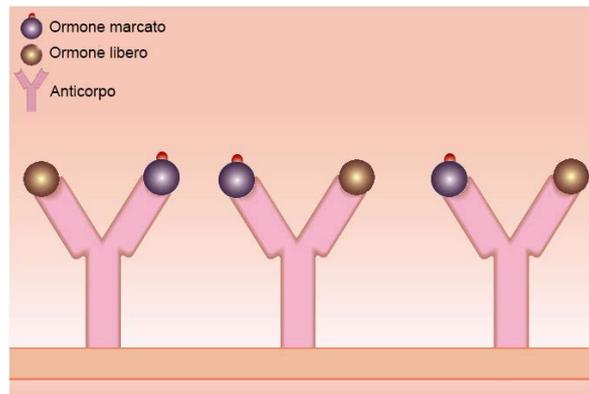


Figura 3b Le molecole di ormone (marcato e libero) competono con gli stessi siti di legame dell'anticorpo. Maggiore è la concentrazione dell'ormone libero più debole sarà il segnale radioattivo; la presenza di un segnale più forte indicherà pertanto una minore presenza di insulina endogena.

Si potrebbe dosare anche la quantità di peptide C che è equimolecolare con quella di insulina pertanto la sua quantità ci permette di monitorare quanta insulina viene ancora prodotta e quindi è un utile strumento per decidere la terapia.

Dosaggio di auto-anticorpi

Per valutare un danno alle cellule beta del pancreas, l'unico marcatore sierologico disponibile consiste nel dosaggio degli **autoanticorpi anti-insulina** con metodo RIA in cui viene effettuata la ricerca di anticorpi diretti contro le cellule β del pancreas e si utilizza uno specifico antigene legato a una fase solida. Nel diabete di tipo 1 questi anticorpi compaiono in circolo già in fase pre-diabetica.