

Il MODY. Guida pratica alla diagnosi clinica e alla identificazione molecolare

Fabrizio Barbetti

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Chirurgia, Università Tor Vergata Roma e Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

IL MODY: CENNI STORICI E CONCETTI GENERALI

Sono passati quarant'anni dall'articolo pubblicato nel 1975 da Robert Tattersall e Steve Fajans su Diabetes dal titolo: "A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset diabetes of young people" (1). In quel lavoro erano già perfettamente delineati i concetti che guidano ad una diagnosi clinica di quello che è stato chiamato per alcune decadi M(aturity) O(nset) D(iabetes) (of the) Y(oung) (MODY). In quel lavoro il confronto tra 26 famiglie "MODY" e 35 con "JOD" (juvenile-onset diabetes, ovvero il diabete tipo 1a della classificazione correntemente in uso) risultava evidente che: 1) nell'85% dei casi il probando MODY aveva un genitore con diabete, 2) che nel 46% dei casi vi era una trasmissione "verticale" del diabete attraverso 3 generazioni e 3) la maggior parte dei soggetti affetti non richiedeva trattamento insulinico. Al contrario nei pazienti "JOD" la familiarità era rara e solo nel 6% dei casi vi erano tre generazioni consecutive con diabete. I dati raccolti autorizzavano alla conclusione che vi fosse una trasmissione autosomica dominante del diabete nelle famiglie MODY (1) (Tab. 1).

La descrizione da parte di Bottazzo, Florin-Christensen e Doniach della occorrenza di autoanticorpi contro l'isola pancreatica in soggetti con poliendocrinopatia autoimmune (2) era avvenuta solamente l'anno precedente. Non ci si stupisce dunque se la negatività agli autoanticorpi

tipici del diabete tipo 1a sia divenuto solo in tempi successivi un parametro fondamentale per sospettare il MODY in un paziente con iperglicemia con insorgenza prima dei 25 anni di età (Tab. 1).

Tra le altre caratteristiche rilevanti dei pazienti clinicamente (e geneticamente) classificati come MODY è quella di essere magri (non è un criterio assoluto), non insulino-resistenti e con deficit di vario grado a carico della beta-cellula pancreatica (vedi classificazione eziologica dell'American Diabetes Association).

FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID (www.fad.siditalia.it).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

Per ulteriori informazioni: www.fad.siditalia.it

Tabella 1 ♦ **Principali caratteristiche clinico-metaboliche dei sottotipi MODY più comuni. Mod. da (1) e successive modificazioni**

Trasmissione verticale del diabete (3 generazioni) vale a dire autosomica dominante (mutazioni eterozigoti).

- Insorgenza (o prima osservazione) < 25 aa di età (nel probando e in un altro membro della famiglia)
- Terapia insulinica non necessaria per 2 aa.*
- Soggetti magri†
- Bassa secrezione insulinica

* Più modernamente negatività agli autoanticorpi DM1

† Esistono frequenti eccezioni

Il primo locus MODY è stato mappato sul cromosoma 20q nel 1991 (3), ma l'identificazione delle mutazioni nel gene *HNFH4A* (precedentemente denominato MODY1) è avvenuta 5 anni dopo (4) assieme a quella riguardante lo *HNF1A/MODY3* (5), ma preceduta dalla scoperta delle mutazioni nel gene codificante la glucochinasi (GCK, a lungo denominato MODY2) (6). Nuovi geni MODY rispondenti ai criteri clinici di Tattersall si sono aggiunti nel tempo ed assommano a tutt'oggi a 13. Attualmente si preferisce far precedere il nome del gene alla parola MODY (ad esempio GCK/MODY) sia al fine di evitare confusioni determinate da un uso errato della numerazione attribuita consecutivamente in ordine temporale e la cui lista è soggetta ad allungarsi ulteriormente, sia per evidenziare come uno stesso gene possa determinare anche fenotipi differenti

qualora cambi la tipologia delle mutazioni. Un esempio concreto - e ne faremo altri nel corso di questa rassegna - è rappresentato appunto dalle mutazioni nel gene della glucochinasi. Il fenotipo GCK/MODY (iperglicemia in 3 generazioni consecutive di una stessa famiglia; Fig. 1) (7-8) è determinato da mutazioni eterozigoti a perdita di funzione, ma mutazioni eterozigoti attivanti danno luogo a forme famigliari di ipoglicemia (9-10) e mutazioni bialleliche a perdita di funzione a diabete neonatale (11).

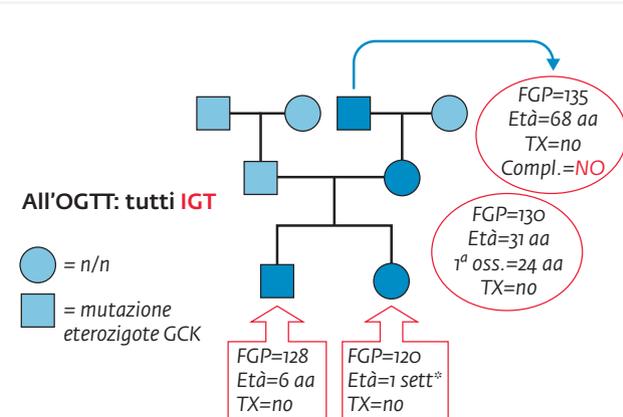
I QUATTRO PRINCIPALI GENI MODY

Se vogliamo mantenere un taglio clinico/pratico è importante distinguere tra le forme MODY frequenti (migliaia di casi) e le forme MODY particolarmente rare (poche unità nelle risultanze della letteratura internazionale). Le forme frequenti infatti si annidano in un qualsiasi ambulatorio diabetologico che abbia un bacino d'utenza di media entità ed il saperle riconoscere sul piano clinico consente di poterle avviare ad una diagnosi genetica. Il raggiungimento della diagnosi molecolare ha un impatto significativo su più fronti: 1) impostazione della terapia, 2) prognosi sulle complicanze croniche e 3) counseling genetico.

Quali sono dunque le forme frequenti e quale rilevanza può avere sul piano clinico la loro identificazione?

Se vogliamo rimanere alla nostra penisola, è ormai evidente che le mutazioni che vengono identificate più frequentemente sul piano clinico e confermate sul piano genetico-molecolare sono quelle del gene della glucochinasi (GCK). La ragione di questo risiede sicuramente nella dicotomia esistente tra ambulatori di diabetologia pediatrica e ambulatori di diabetologia dell'adulto, tipica del nostro paese. Il fenotipo GCK/MODY è caratterizzato dal fatto di essere totalmente asintomatico e conseguentemente i pazienti essere identificati nella maggior parte dei casi in modo accidentale. Le mutazioni eterozigoti GCK a perdita di funzione determinano infatti una variazione verso l'alto della soglia glicemica alla quale la cellula beta del pancreas inizia a secernere insulina. Per questo motivo il soggetto portatore della mutazione ha una glicemia costante nel tempo, che si mantiene su valori tra 110 e 130 mg/dl fin dalla nascita (12) (Fig. 1, Tab. 2) per aumentare modestissimamente con l'invecchiamento. Queste stesse glicemie aumentano in proporzione dopo un carico orale di glucosio per attestarsi a 120' su valori tipici della "im-

Figura 1 ♦ **Albero familiare GCK/MODY**



GCK=glucocinasi; FPG=glicemia a digiuno; TX=terapia. La penetranza delle mutazioni GCK è pressoché completa alla nascita. Questo può ingenerare confusioni con il diabete neonatale

paired glucose tolerance” (13). L'emoglobina glicata raramente eccede il valore di 6,5% ed eccezionalmente supera il valore del 7%. Per quanto sin qui esposto, è di tutta evidenza come il sospetto di mutazione GCK avvenga prevalentemente in ambiente pediatrico, dove un'iperglicemia “fortuita” di 115-120 mg/dl solitamente induce ad un controllo degli autoanticorpi del diabete tipo 1, che una volta risultati negativi ed accompagnati dalla conferma di una iperglicemia modesta e stabile, porterà al sospetto clinico di GCK/MODY. A completamento del quadro potrà intervenire anche la storia familiare con un dato anamnestico di “diabete gravidico” (che non è tale) se la madre è portatrice della mutazione o di una iperglicemia modesta e per questo motivo assolutamente negletta se il portatore è il padre. Di qui la necessità, nel caso di un solido sospetto di una mutazione GCK in un determinato paziente, di accertare il dato metabolico dei genitori (o dei figli) in caso di sua mancanza. Un algoritmo basato su 7 punti a cui dare risposta SI/NO è stato recentemente pubblicato da diabetologi pediatri italiani per facilitare la selezione di pazienti da sottoporre ad indagine genetica per mutazione GCK (14). È altresì evidente - per i motivi su esposti - che i pazienti con mutazione GCK a perdita di funzione difficilmente “frequenteranno” l'ambulatorio diabetologico dell'adulto in quanto del tutto asintomatici. Studi recenti condotti in Italia tuttavia, fanno rilevare come uno screening sistematico di soggetti clinicamente inquadrabili come MODY con parametri rigorosi, le mutazioni GCK siano rintracciabili anche nell'ambulatorio diabetologico dell'adulto (15) nella misura del 13% dei casi MODY esaminati. Questa percentuale è di gran lunga inferiore a quella registrata - per le mutazioni GCK - negli ambulatori di diabetologia pediatrica, dove ci si attesta costantemente al di sopra del 60% (8, 15-16). Il fenotipo clinico del portatore di mutazione GCK è così caratteristico che è spesso facile individuare anche i pazienti con mutazioni spontanee (8), vale a dire casi sporadici che non hanno familiarità verticale. Sul piano del “meccanismo di malattia” che porta alla iperglicemia nei soggetti portatori di una mutazione eterozigote a perdita di funzione della GCK, è interessante notare come non vi sia una “graduatoria” di gravità delle mutazioni, come può avvenire in altre condizioni genetiche, ma come una mutazione con perdita totale di funzione da parte di un allele (ad esempio una mutazione che porti ad una proteina profondamente alterata nella sua struttura) sia

in pratica del tutto equivalente ad una mutazione che comporti una moderata alterazione della funzione (17). Le mutazioni eterozigoti GCK a perdita di funzione hanno dunque un modesto impatto sul controllo metabolico dei portatori, che mostrano metaboliti ematici normali, ivi compresi i lipidi (18). La conseguenza di ciò è che gli individui portatori non vanno incontro alle complicanze croniche tipiche del diabete (7, 19) e si sconsiglia pertanto qualsiasi terapia, sia nei bambini sia negli adulti. In buona sostanza questa è una delle poche situazioni in cui la diagnosi genetica può “difendere” da inopportune medicalizzazioni. Questo rimane valido anche nei periodi dei “sick days”, così familiari ai diabetologi pediatri. I soggetti portatori andranno incontro ad un leggero e temporaneo aumento della glicemia che non richiede alcuna terapia. Lo stesso dicasi nel caso di una ospedalizzazione determinata da una esigenza di tipo chirurgico per un traumatismo o una patologia acuta, dove risulterà sufficiente monitorare la glicemia. Rimane oggetto di dibattito cosa si debba fare nelle portatrici di mutazioni GCK in età fertile che abbiano una gravidanza. È noto infatti che il genotipo madre-prodotto del concepimento condiziona il peso alla nascita (20), cosa che peraltro non influisce sui parametri fisiologici complessivi nelle successive fasi di crescita (21). Nel caso la madre sia portatrice della mutazione, ma il figlio abbia un genotipo normale, è prevedibile che il neonato nasca in sovrappeso di circa 500 g (20). In una situazione come quella prospettata le beta cellule fetali con genotipo normale “leggono” l'iperglicemia materna e secernono una maggior quantità di insulina determinando un aumento del tessuto adiposo e del peso alla nascita (l'esatto contrario avviene se il feto abbia ereditato la mutazione dal padre e la madre abbia genotipo normale: il peso alla nascita del feto sarà mediamente inferiore di 500 g; 20). Ci si chiede dunque se nella situazione sopra descritta la madre debba essere sottoposta a qualche forma di terapia. La questione è aperta, ma deve essere sottolineato che allo stato non vi è alcuna evidenza epidemiologica che i neonati di madre portatrice di mutazione GCK che siano di genotipo normale e nascano a termine abbiano più complicanze degli altri neonati (22), a parte la possibilità aumentata di una distocia di spalla (22). Nulla invece è stato riportato - a quanto risulta allo scrivente - per quel che riguarda la possibilità di ipoglicemia o ipocalcemia neonatale. Tuttavia uno studio recentemente pubblicato ha evidenziato come gli aborti

Tabella 2 ♦ Caratteristiche dei principali geni MODY

GENE	GCK ("MODY2")	HNFA ("MODY3")	HNFA4 ("MODY1")	HNFB ("MODY5")	INS ("MODY10")	ABCC8 ("MODY12")	KCNJ11 ("MODY13")
Glicemia a digiuno	100-130 mg dl, stabile	Nel range diabete, con deterioramento progressivo ^f	Nel range diabete, con deterioramento progressivo ^f	Nel range diabete, con deterioramento progressivo ^f	Da moderatamente elevata a molto elevata	Da moderatamente elevata a molto elevata	Da moderatamente elevata a molto elevata
HbA1c	<6 fino a 7%. Rarissimamente >7%	>7 fino a valori simili al DM1 all'esordio	>7 fino a valori simili al DM1 all'esordio	>7 fino a valori simili al DM1 all'esordio	Dati della letteratura insufficienti	Dati della letteratura insufficienti	Dati della letteratura insufficienti
Glicemia post carico	IGT*	Diabete	Diabete	Diabete	Dati della letteratura insufficienti	Dati della letteratura insufficienti	Dati della letteratura insufficienti
Altre caratteristiche clinico/metaboliche	Nessuna	Glicosuria renale, valori PCR bassi	Macrosomia ed IPO-glicemia neonatale transitoria	Cisti renali, insufficienza renale cronica non secondaria al diabete. Malformazioni del tratto genitale	Nessuna	Nessuna (7*)	Possibile presenza di ritardo dello sviluppo motorio-intellettuale (IDEND*)
Complicanze generazionali adulte	NO	SI	SI	Scarsi dati della letteratura, probabilmente rare#	Probabilmente rare ^{oo}	Probabilmente rare ^{oo}	Probabilmente rare ^{oo}
Terapia	Nessuna	Dieta, solfamiliuree, glinidi, analoghi GLP1, insulina	Dieta, solfamiliuree, insulina ^{^^}	Insulina	Insulina, ma riportati anche antidiabetici orali	Solfamiliuree	Solfamiliuree
Anamnesi familiare	A volte negativa (genitore affetto asintomatico). In questo caso consigliata verifica glicemia genitori	Tre generazioni nella maggior parte dei casi	Tre generazioni nella maggior parte dei casi	Tre generazioni, ma i casi con mutazione spontanea non sono rari	Le mutazioni spontanee (=caso sporadico) sono più frequenti, ma sono descritti alberi famigliari MODY o variabilità fenotipica nella stessa famiglia	Descritti sia casi familiari tipicamente MODY, che variabilità fenotipica nella stessa famiglia, che casi sporadici.	Descritti sia casi familiari tipicamente MODY, che variabilità fenotipica nella stessa famiglia, che casi sporadici.

*Usualmente l'OGTT non è necessario, ma nel caso venga effettuato, di regola il valore a 120 non eccede i 50 mg/dl il valore della glicemia a digiuno (14)

^fNell'ambito di una famiglia non è insolito avere un portatore della mutazione con glicemia (ancora) normale. Questo si verifica più frequentemente nei soggetti al di sotto dei 20 anni di età

^{^^}Mancano dati della letteratura riguardo a terapia con glinidi e analoghi del GLP-1, ma è molto verosimile che anche questi trattamenti siano efficaci

Nelle referenze 42 non sono riportate complicanze croniche del diabete

^{oo}Questa affermazione è basata sui risultati della presenza di retinopatia in pazienti con mutazioni INS, KCNJ11 o ABCC8 e diabete neonatale (Iafusco D, Salardi S, Chiari G, Toni S, Rabbone I, Pesavento R, Pasquino B, de Benedictis A, Maltoni G, Colombo C, Russo L, Massa O, Sudano M, Cadario F, Porta M, Barbetti F and the Early Onset Diabetes Study Group of the

Italian Society for Pediatric Endocrinology and Diabetology (ISPED). No sign of proliferative retinopathy in 15 patients with Permanent Neonatal Diabetes Mellitus with a median diabetes duration of 24 years. Diabetes Care 37:e181-e182, 2014)

*L'IDEND è una sigla conosciuta per descrivere il ritardo dello sviluppo motorio-intellettuale quasi invariabilmente presente nei pazienti con diabete neonatale causato da mutazioni KCNJ11 o ABCC8. La "i" sta per "incompleta o intermedia" in quanto non è presente l'epilessia, caratteristica delle mutazioni più gravi. Fino ad ora è stato segnalato da questo laboratorio un caso con mutazione KCNJ11 con diabete esordito a quasi 3 anni e IDEND. Non si conoscono invece casi analoghi con mutazione ABCC8

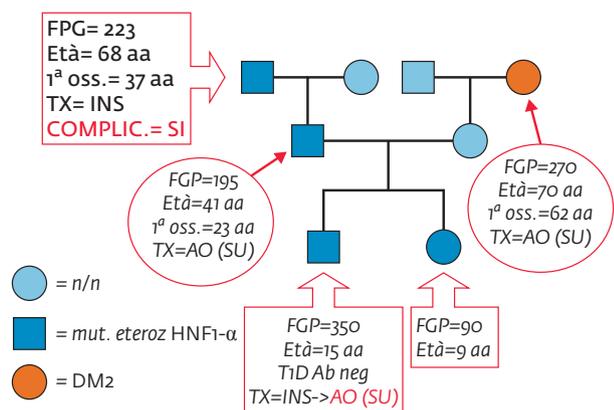
spontanei sembrano essere più frequenti tra le donne con mutazioni in GCK rispetto a quelle con mutazioni HNF1A (23), prospettando la questione di una speciale attenzione nel periodo del concepimento di queste pazienti.

La seconda causa di MODY in Italia è rappresentata dalle mutazioni nel gene che codifica il fattore di trascrizione HNF1A. Questa forma denominata in passato MODY3 (e più modernamente HNF1A/MODY) è quella che in tutte le rassegne sintetiche viene indicata come la più frequente. Questo è sicuramente vero per il nord Europa e segnatamente per il Regno Unito ed i paesi scandinavi, dove la frequenza relativa di mutazioni HNF1A è più alta rispetto alle altre comuni forme MODY, rappresentando tra il 36 ed il 52% del totale, a seconda delle casistiche (24-25). Al contrario, le mutazioni HNF1A sono relativamente poco frequenti in Italia e, sia che si selezionino i pazienti MODY nell'ambulatorio pediatrico (15-16) che in quello dell'adulto (15), la frequenza relativa non supera il 20%. Vi possono essere due spiegazioni per questo fenomeno: che le mutazioni HNF1A siano effettivamente meno frequenti in Italia o che le mutazioni GCK siano sostanzialmente sotto diagnosticate nel nord Europa. Qualsiasi sia la ragione, è un dato di fatto che le mutazioni HNF1A siano riscontrate con bassa frequenza nel nostro paese. Sul piano

clinico il fenotipo HNF1A è solitamente ben distinguibile dal fenotipo GCK (Fig. 2).

L'iperglicemia insorge mediamente nel giovane adulto (tra i 18 e i 22 anni) con l'età di insorgenza del diabete in parte legata al tipo e alla posizione della mutazione (26), una differenza sostanziale con le mutazioni GCK. Le glicemie all'esordio nei pazienti con mutazioni del gene HNF1A (denominato anche TCF1) hanno spesso valori importanti e che peggiorano nel corso del tempo. Il meccanismo di malattia è probabilmente complesso, con una concomitanza di fattori che vanno dalla diminuita trascrizione nella beta-cellula pancreatica di geni importanti nella secrezione insulinica (ad es. *Glut2* e *Gck*) o nella trascrizione del gene dell'insulina (*Pdx1*, *NeuroD1*) fino alla ridotta massa beta-cellulare. Tali meccanismi sono stati inferiti da modelli animali manipolati nel gene *Hnf1a* che tuttavia non ricapitolano il fenotipo umano. È probabile dunque che le nostre nozioni non siano complete, ma quello che è incontrovertibile è il difetto della beta-cellula pancreatica e la sostanziale assenza di insulino-resistenza nei portatori di mutazioni HNF1A/MODY. In effetti, alcuni casi che esordiscono in adolescenza sono indistinguibili sul piano puramente clinico dal diabete tipo 1a, con chetosi e necessità di terapia insulinica. Tuttavia, almeno nell'esperienza italiana, il dato anamnestico di tre generazioni con diabete è solitamente presente (16) e rappresenta un buon viatico alla diagnosi clinica di MODY assieme alla negatività agli autoanticorpi del diabete tipo 1a. Cionondimeno possono esservi casi sporadici con mutazione spontanea: in questo caso i criteri guida sono rappresentati di nuovo dalla negatività agli autoanticorpi ma anche dalla bassa dose insulinica (≤ 0.5 U/kg) necessaria per un adeguato controllo metabolico. L'alta frequenza di mutazioni HNF1A riscontrate in nord Europa ha fatto sì che gruppi di ricerca abbiano testato la capacità di alcuni marcatori di discriminare tra pazienti con mutazione HNF1A ed altre forme di diabete come il tipo 2 (DM2) ed il tipo 1a (DM1). Ad esempio, una delle caratteristiche cliniche dei portatori di mutazioni HNF1A è quella di poter presentare glicosuria renale, ma l'accertamento della medesima può essere sufficientemente indaginoso. Si è preferito quindi puntare sul dosaggio della proteina C reattiva ad alta sensibilità, che nei pazienti HNF1A/MODY è più bassa che in altre forme di diabete ivi comprese i più comuni sottotipi MODY. Tuttavia la PCR ad alta sensibilità

Figura 2 ♦ Albero famigliare HNF1- α /MODY



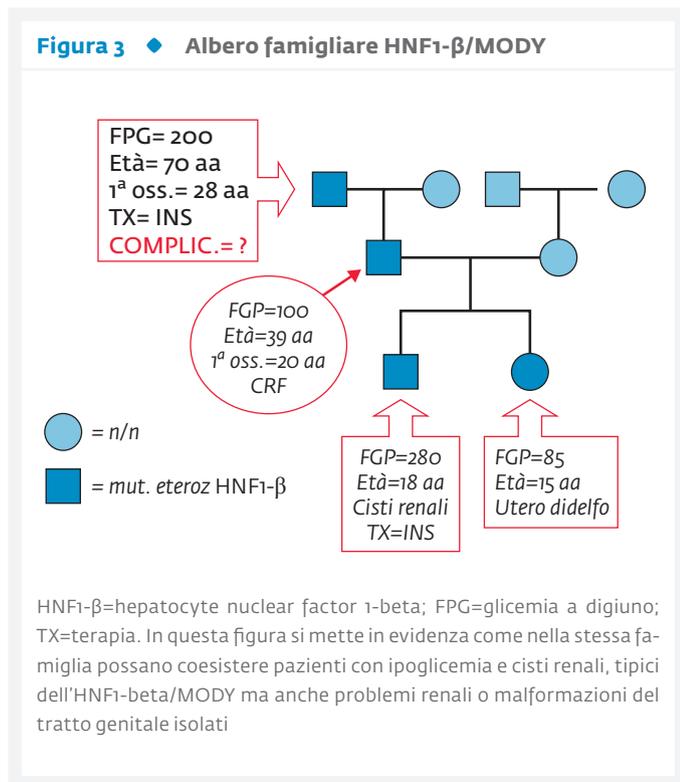
HNF1- α =hepatocyte nuclear factor 1-alfa; FPG=glicemia a digiuno; TX=terapia; AO=antidiabetici orali; SU= solfaniluree; INS=insulina. La diagnosi molecolare nel caso indice ha consentito il passaggio da insulina a solfaniluree. Si prega notare inoltre come – a causa della elevata prevalenza del DM2 – non sia raro trovare pazienti con questa diagnosi in una famiglia MODY, come in questo esempio

si è dimostrata efficace nel distinguere *HNF1A/MODY* da *DM2* (specificità= 70%), ma molto meno nel discriminarlo dalle altre forme (27). Sul piano pratico dunque il suo utilizzo sembra essere ridotto, visto che il vero vantaggio della diagnosi molecolare è fondamentalmente legato alla possibilità di tentare un passaggio alle solfaniluree nei soggetti che siano in terapia insulinica, oltre al poter effettuare un counseling genetico. A questo proposito i pazienti con mutazioni *HNF1A* rappresentano un limpido esempio di farmacogenetica: è infatti noto che questi soggetti non sono insulino-resistenti (a meno che non siano obesi, cosa rara ma possibile) e che traggano giovamento dalla terapia con farmaci secretagoghi (28-29), ma non con farmaci della classe delle biguanidi. I pazienti con mutazioni *HNF1A* possono addirittura mostrare una “ipereccitabilità” ai farmaci della classe delle solfaniluree (30-31), forse a causa di un diminuito uptake epatico (32). I dati del gruppo di studio sul diabete della Società Italiana di Endocrinologia e Diabetologia Pediatrica (SIEDP) sul passaggio alla terapia con solfaniluree in soggetti adolescenti con mutazione *HNF1A* in trattamento insulinico - non ancora pubblicati - fanno ritenere che la terapia orale sia efficace e maneggevole, sia pure con dei limiti nei rari casi in cui sia presente anche obesità. In questa eventualità è possibile prendere in considerazione l’aggiunta alla terapia in atto degli analoghi del GLP-1 (33-34), mentre per ovviare alle crisi ipoglicemiche che possono accompagnare la terapia con solfaniluree, è possibile utilizzare le glinidi (nateglinide, repaglinide), da sole o in associazione con altri farmaci, con ottimi risultati (35).

Il terzo gene *MODY* in ordine di frequenza è strettamente imparentato con il precedente, al punto di differire solamente per un numero nella denominazione, vale a dire il gene *HNF4A*, quello risultato poi mutato nella famiglia con 5 generazioni con diabete studiata originariamente da Fajans, il famoso (per gli addetti ai lavori) “RW pedigree” (3). Il fenotipo *HNF4A/MODY* è sostanzialmente sovrapponibile a quello *HNF1A/MODY*, con qualche piccola differenza. I pazienti con mutazioni *HNF4A* presentano ridotti livelli di Apo AII, ApoCIII, Lp-a e dei trigliceridi (36), ma soprattutto in un 50% dei casi presentano macrosomia alla nascita ed ipoglicemia transitoria rispondente al diazossido (37). Questa caratteristica - se presente - li rende facilmente identificabili (38), anche se la macrosomia e l’ipoglicemia può manifestar-

si - più raramente - nei portatori di mutazioni *HNF1A* (39). Le mutazioni in questi tre geni che rappresentano i tre sottotipi *MODY* più frequenti sono per la maggior parte puntiformi o piccole delezioni/duplicazioni/inserzioni, tutte rintracciabili mediante sequenziamento diretto del DNA del gene di interesse. È infatti ancora frequente, a distanza di 20 anni dalla scoperta di questi tre geni, il rintracciare mutazioni di nuova descrizione. In questo caso specifico è bene che la dimostrazione che la mutazione è causativa e non un polimorfismo raro sia suffragata da molteplici criteri come la co-segregazione del fenotipo diabete con i soggetti portatori della mutazione nella famiglia e l’eventuale analisi mediante software appositi da parte di chi ha effettuato l’analisi genetica, questo al fine di evitare diagnosi molecolari inesatte.

Lo *HNF1B/MODY* (precedentemente “*MODY5*”) è caratterizzato dalla combinazione di lesioni del tratto uro-genitale e diabete (40) Fig. 3). Per sua natura le malformazioni uro-genitali (che possono spaziare da cisti renali asintomatiche fino a malformazioni importanti, come il rene a ferro di cavallo, la vagina a fondo cieco e l’utero bicorni) (41-44) sono di solito identificate precocemente in un ambulatorio di nefrologia, visto che il diabete si presenta all’adolescenza o non si presenta affatto. È ormai assodato infatti che le mutazioni nel gene *HNF1B* rappresentano una larga fetta delle malformazioni renali su base genetica (45) e che i portatori di mutazioni *HNF1B* possono presentare insufficienza renale. Fanno parte del quadro anche alterazioni del metabolismo epatico (46). Sul piano clinico la gravità del diabete è alquanto variabile. Nel sospetto di una mutazione *HNF1B* si deve tener conto del fatto che circa un 30% dei difetti in questo gene è rappresentato dalle delezioni, anche di un intero allele, una alterazione che sfugge alla diagnosi molecolare classica basata sul sequenziamento diretto e che viene svelata da una tecnica denominata MLPA. Questi difetti sono sufficientemente frequenti e nel laboratorio presso l’Università Tor Vergata è stata riscontrata la delezione totale spontanea di un singolo allele del gene *HNF1B* in un soggetto adulto senza diabete e con malformazioni genitali tipo Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser, sindrome in cui sono state riportate in passato larghe delezioni nel braccio lungo del cromosoma 17 (17q12), comprendenti il locus *HNF1B* (*TCF2*) (47-48).



GENI MODY "EMERGENTI": INS (INSULINA; "MODY10"), KCNJ11 (KIR6.2; "MODY13"), ABCC8 (SUR1; "MODY12")

Dei vari fenotipi clinici legati alle mutazioni in glucocinasi (iperinsulinismo/ipoglicemia e diabete neonatale, oltre al MODY) si è parlato all'inizio di questa rassegna. Per quel che attiene i due geni che codificano rispettivamente la sub-unità formante il poro (*KCNJ11*) e la sub-unità regolatoria (*ABCC8*) del canale del potassio ATP-sensibile è noto da tempo che mutazioni bialleliche inattivanti danno luogo ad iperinsulinismo/ipoglicemia (nell'acronimo in lingua inglese HH, o anche Congenital HyperInsulinism, CHI). Circa dieci anni fa è stato scoperto che mutazioni attivanti, eterozigoti di *KCNJ11* o *ABCC8* sono la causa più frequente di diabete neonatale, sia permanente che transitorio (PNDM e TNDM), che insorge nei primi sei mesi di vita. Da studi successivi è risultato evidente come alcune mutazioni *ABCC8* o *KCNJ11* fossero identificabili in pazienti nella fascia di età MODY, vale a dire bambini, adolescenti o giovani adulti. Tali riscontri sono stati effettuati sia in casi sporadici con anticorpi DM1 negativi o in casi familiari in cui vi poteva essere o meno una variabilità di manifestazione clinica in portatori della medesima mutazione (vale a dire ad esempio caso indice con diabete neonatale transitorio e genitore portatore

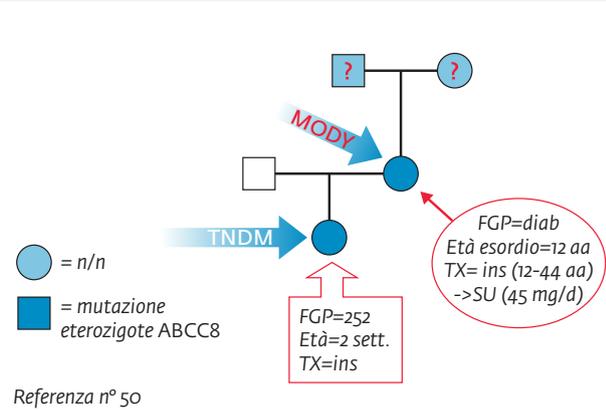
della mutazione con esordio del diabete nell'adolescenza; Fig. 4) (49-53). Questa scoperta è stata particolarmente rilevante perché la maggior parte (>95%) dei pazienti portatori di mutazioni eterozigoti attivanti di *KCNJ11* o *ABCC8* possono essere trasferiti con successo dalla terapia insulinica alla terapia con solfaniluree in analogia con quanto viene effettuato con i portatori di mutazioni in questi geni che conducano a diabete neonatale (54-55) (Fig. 4). Pochi anni orsono si è altresì scoperto che mutazioni del gene dell'insulina che comportassero un alterato ripiegamento della molecola (mutazioni proteotossiche) portavano ad apoptosi delle beta-cellula pancreatiche e a diabete neonatale (56). Nel lavoro originale erano descritti due casi familiari in cui i genitori portatori della mutazione (incidentalmente la stessa) avevano esordito non nel periodo neonatale, ma da bambini (1 e 4 anni). Successivamente sempre il nostro gruppo aveva descritto una mutazione spontanea del gene *INS* in un paziente negativo a 5 autoanticorpi DM1 ed esordio a quasi 3 anni di età (57) e collaboratori danesi una famiglia con mutazione nel peptide segnale con un albero familiare tipicamente MODY (58). Sfortunatamente i portatori di mutazioni ad effetto proteotossico del gene *INS* non hanno - al momento - alternative alla terapia insulinica. Vi sono poi mutazioni eterozigoti del gene *INS* che portano ad iperinsulinemia o iper(pro)insulinemia familiare (59), ma visto che raramente a questa tipologia di mutazioni si associa diabete, né l'iperinsulinemia né l'iperproinsulinemia rientrano nella categoria "MODY".

È bene sapere che alcune varianti di geni MODY (ad es. *KCNJ11*, *ABCC8*, *GCK* e *PDX1*) sono associate al DM2. Queste varianti tuttavia non sono da sole sufficienti a causare iperglicemia, ma possono solo "concorrere" a determinarla, esse vengono riscontrate infatti anche in soggetti normoglicemici.

GENI MODY RARI

Le mutazioni nei geni *PDX1* ("MODY4"), *NEUROD1* ("MODY6"), *KLF11* ("MODY7"), *CEL* ("MODY8"), *PAX4* ("MODY9") e *BLK* ("MODY11") sono rarissime e ricoprotono un interesse prevalentemente scientifico, ma per la scarsa rilevanza sul piano clinico-pratico non verranno trattate in questa rassegna. È probabile tuttavia che con la diffusione delle metodiche di next generation sequencing (NGS) a fini diagnostici, tali rare forme vengano più

Figura 4 ♦ **Esordio ad età variabile per alcune mutazioni ABCC8**



FPG=glicemia a digiuno; TX=terapia; SU=solfaniluree; Ins=insulina. In questo caso concreto il caso indice è il paziente con diabete neonatale transitorio (TNDM), la cui madre portatrice della stessa mutazione ABCC8, ha avuto l'esordio in adolescenza (MODY). In questo specifico caso la madre, dopo 32 anni di insulina, è passata a solfaniluree. Casi simili sono stati riportati per mutazioni INS (56).

spesso identificate. In un recente articolo su 11 mutazioni MODY identificate in una casistica indiana costituita da 56 pazienti classificati clinicamente come MODY, 2 erano varianti nel gene *NEUROD1*, 1 nel gene *PDX1* ed 1 nel gene *PAX4* (60). È bene tuttavia sottolineare che nel caso di mutazioni di nuova descrizione la conferma della patogenicità con studi in vitro dovrebbe essere la regola.

CONCLUSIONI

Basandosi sui criteri standard, la diagnosi clinica di MODY non è particolarmente difficoltosa: 2 o meglio 3 generazioni in verticale con diabete, caso indice negativo agli autoanticorpi DM1 e con diagnosi di diabete prima dei 25 anni sono un buon viatico per inviare la famiglia ad un laboratorio per la genetica molecolare del diabete, mentre per i casi dubbi sarebbe logico chiedere un parere esperto. Criteri "best practice" sono stati formulati per le tre forme MODY più comuni, vale a dire GCK, HNF1A e HNF4A (61); tali criteri coincidono con quelli descritti in questa rassegna, che cerca di suggerire anche i criteri per lo HNF1B ed invita a pensare anche ai geni *KCNJ11*, *ABCC8* e *INS* come concreta possibilità, soprattutto per casi sporadici con diagnosi precoce e negatività agli autoanticorpi DM1.

Quali altri strumenti possono venirci in aiuto per individuare un paziente MODY? Allo stato attuale neppure metodiche avanzate hanno identificato nuovi marcatori metabolici del MODY (8) e -reciprocamente - piattaforme "-omics" di varia natura non hanno prodotto sino ad ora marcatori validi - oltre agli autoanticorpi e all'HLA - che aiutino ad identificare i soggetti con DM1 o a rischio di svilupparlo (62).

Pertanto i criteri clinici ben collaudati rimangono la miglior risorsa per fare diagnosi di MODY ed individuare i candidati allo screening genetico.

BIBLIOGRAFIA

1. Tattersall RB, Fajans SS. A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset diabetes of young people. *Diabetes* 24: 45-54, 1975.
2. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 7892: 1279-1283, 1974.
3. Bell GI, Xiang KS, Newman MV, et al. Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (maturity-onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 1484-1488, 1991.
4. Yamagata K, Furuta H, Oda N, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity onset diabetes of the young. *Nature* 384: 458-460, 1995.
5. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity onset diabetes of the young. *Nature* 384: 455-458, 1995.
6. Vionnet N, Stoffel M, Takeda J, et al. Nonsense mutation of the glucokinase gene causes early-onset non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nature* 356: 721-722, 1992.
7. Froguel P, Zouali H, Vionnet N, et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. Definition of subtype of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 328: 697-702, 1993.
8. Massa O, Meschi F, Cuesta-Munoz A, Caumo A, Cerutti F, Toni S, Cherubini V, Guazzarotti L, Sulli N, Matschinsky FM, Lorini R, Iafusco D, Barbetti F. High prevalence of glucokinase mutations in Italian children with MODY. Influence on glucose tolerance, first-phase insulin response, insulin sensitivity and BMI. *Diabetologia* 44: 898-905, 2001.

9. Glaser B, Kesavan P, Heyman M, et al. Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *N Engl J Med* 338: 226-230, 1998.
10. Christesen HB, Jacobsen BB, Odili S, Buettger C, Cuesta-Munoz A, Hansen T, Brusgaard K, Massa O, Magnuson MA, Shiota C, Matschinsky FM, Barbetti F. The second activating glucokinase mutation (A456V): implications for glucose homeostasis and diabetes therapy. *Diabetes* 51: 1240-1246, 2002.
11. Njolstad PR, Sovik O, Cuesta-Munoz A, Bjorkhaug L, Massa O, Barbetti F, Undlien D, Shiota C, Magnuson MA, Molven A, Matschinsky FM, Bell GI. Neonatal diabetes mellitus due to complete glucokinase deficiency. *N Engl J Med* 344: 1588-1592, 2001.
12. Prisco F, Iafusco D, Franzese A, Sulli N, Barbetti F. MODY 2 presenting as neonatal hyperglycemia: a need to re-shape the definition of "neonatal diabetes"? *Diabetologia* 43: 1331-1332, 2000.
13. Stride A, Vaxillaire M, Tuomi T, Barbetti F, Njolstad PR, Hansen T, Costa A, Conget I, Pedersen O, Sovik O, Lorini R, Groop L, Froguel P, Hattersley AT and The MODY GIFT Consortium. The genetic abnormality in the beta-cell determines the response to an oral glucose load. *Diabetologia* 45: 427-435, 2002.
14. Pinelli M, Acquaviva F, Barbetti F, Caredda E, Coccozza S, Delvecchio M, Mozzillo E, Pirozzi D, Prisco F, Rabbone I, Sacchetti L, Tinto N, Toni S, Zucchini S, Iafusco D. Identification of candidate children for maturity-onset diabetes of the young type 2 (MODY2) gene testing: a seven-item clinical flow-chart (7-iF). *PLoS ONE* 8: e79933, 2013.
15. Delvecchio M, Ludovico O, Menzaghi C, Di Paola R, Zelante L, Marucci A, Grasso V, Trischitta V, Carella M, Barbetti F. Low prevalence of HNF1A mutations after molecular screening of multiple MODY genes in 58 Italian families recruited in the pediatric or adult diabetes clinic from a single Italian hospital. *Diabetes Care* 37: e258-e260, 2014.
16. Lorini R, Klersy C, d'Annunzio G, Massa O, Minuto N, Iafusco D, Bellané-Chatelot C, Frongia AP, Toni S, Meschi F, Cerutti F, Barbetti F and the Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology (ISPED). Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) in children with incidental hyperglycemia. A multicenter Italian study on 172 families. *Diabetes Care* 32: 1864-1866, 2009.
17. Sturis J, Kurland IJ, Byrne MM, et al. Compensation in pancreatic β -cell function in subjects with glucokinase mutation. *Diabetes* 43: 718-723, 1994.
18. Spegel P, Ekholm E, Tuomi T, et al. Metabolite profiling reveals normal metabolic control in carriers of mutations in the glucokinase gene. *Diabetes* 62: 653-661, 2013.
19. Steele AM, Shields BM, Wensley KJ, et al. Prevalence of vascular complications among patients with glucokinase mutations and prolonged, mild hyperglycemia. *JAMA* 311: 279-286, 2014.
20. Hattersley AT, Beards F, Ballantyne E, et al. Mutations of the glucokinase gene of the fetus result in reduced birth weight. *Nat Genet* 19: 268-270, 1998.
21. Singh R, Pearson ER, Clark PM, Hattersley AT. The long-term impact on offspring of exposure to hyperglycaemia in utero due to maternal glucokinase gene mutations. *Diabetologia* 50: 620-624, 2007.
22. Spyer G, McLeod KM, Shepherd M, Ellard S, Hattersley AT. Pregnancy outcome in patients with raised blood glucose due to a heterozygous glucokinase gene mutation. *Diab Med* 26: 14-18, 2009.
23. Bacon S, Schmid J, McCarthy A, et al. The clinical management of hyperglycemia in pregnancy complicated by maturity onset diabetes of the young. *Am J Obstet Gynecol*, 2015 doi: 10.1016/j.ajog.2015.04.037.
24. Johansen A, Ek J, Mortensen HB, et al. Half of clinically defined maturity onset diabetes of the young patients in Denmark do not have mutations in HNF4A, GCK, and TCF1. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 4607-4614, 2005.
25. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, et al. Maturity-onset diabetes of the young: how many cases are we missing? *Diabetologia* 53: 2504-2508, 2010.
26. Bellané-Chatelot C, Carette C, Rivelin J-P, et al. The type and position of HNF1A mutation modulate age at diagnosis of diabetes in patients with maturity onset diabetes of the young (MODY)-3. *Diabetes* 57: 503-508, 2008.
27. McDonald TJ, Shields BM, Lawry J, et al. High-sensitivity CPR discriminates HNF1A-MODY from other subtypes of diabetes. *Diabetes Care* 34: 1860-1862, 2011.
28. Pearson ER, Liddel WC, Sheperd M, et al. Sensitivity to sulphonylureas in patients with hepatocyte nuclear factor 1 alpha gene mutations: evidence for pharmacogenetics in diabetes. *Diabet Med* 17: 543-545, 2000.

29. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, et al. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. *Lancet* 362: 1275-1281, 2003.
30. Hansen T, Eiberg H, Rouard M, et al. Novel MODY3 mutations in the hepatic nuclear factor -1 α gene: evidence for a hypexcitability of pancreatic B-cells to intravenous secretagogues in a glucose-tolerant carrier of a P447L mutation. *Diabetes* 46: 726-730, 1997.
31. Sovik O, Njolstad P, Folling I, et al. Hypexcitability to sulphonylurea in MODY 3. *Diabetologia* 41: 607-608, 1998.
32. Boileau P, Wolfrum C, Shih DQ, et al. Decreased glibenclamide uptake in hepatocytes of hepatocyte nuclear factor 1-a deficient mice. *Diabetes* 51 (Suppl 3): S343-S348, 2002.
33. Ahlawalia R, Perkins K, Ewins D, Goenka N. Exenatide-a potential role in treatment of HNF1-alpha MODY in obese patients ? *Diab Med* 26: 834-835, 2009.
34. Docena MK, Fairman C, Stanley CM, Pantaleone KM. Mody-3: novel HNF1A mutation and the utility of glucagon-like peptide (GLP)-1 receptor agonist therapy. *Endocr Pract* 20: 107-111, 2014.
35. Becker M, Galler A, Raile K. Meglitinide analogues in adolescent patients with HNF1A-MODY (MODY3). *Pediatrics* 133: e775-e777, 2014.
36. Shih DQ, Dansky HM, Fleisher M, et al. Genotype/phenotype relationships in HNF-4a MODY. *Diabetes* 49: 832-837, 2000.
37. Pearson EW, Boj SF, Steele AM, et al. Macrosomia and hyperinsulinemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Medicine* 4: e118, 2007.
38. Colombo C, Geraci C, Suprani T, Pocecco M, Barbetti F. Macrosomia, transient neonatal hypoglycemia and monogenic diabetes in a family with heterozygous mutation R154X of HNF4A gene. *J Endocrinol Invest* 34: 252-253, 2011.
39. Dusatkova P, Pruhova S, Sumnik Z, et al. HNF1A mutation presenting with fetal macrosomia and hypoglycemia in childhood prior to onset of overt diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 24: 187-189, 2011.
40. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nat Genet* 17: 384-385, 1997.
41. Lindner TH, Njolstad PR, Horikawa Y, et al. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1beta. *Hum Molec Genet* 8: 2001-2008, 1999.
42. Bellané-Chantelot C, Chauveau D, Gautier J-F, et al. Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1 β mutations. *Ann Intern Med* 140: 510-517, 2004.
43. Raile K, Klopocki E, Holder M, et al. Expanded clinical spectrum in hepatocyte nuclear factor 1b-maturity-onset diabetes of the young. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 2658-2664, 2009.
44. Carbone I, Cotellessa M, Barella C, et al. A novel hepatocyte nuclear factor-1b (MODY-5) gene mutation in an Italian family with renal dysfunctions and early-onset diabetes. *Diabetologia* 45: 153-154, 2002.
45. Heidet L, Decramer S, Pawtowsky A, et al. Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 5: 1079-1090, 2010.
46. Montoli A, Colussi G, Massa O, Caccia R, Rizzoni GF, Civati G, Barbetti F. Familial diabetes-renal disease syndrome linked to mutations of the hepatocyte nuclear factor-1 β gene: description of a new family with associated liver involvement. *Am J Kidney Dis* 40: 397-402, 2002.
47. Bernardini L, Gimelli S, Gervasini C. et al. Recurrent microdeletion at 17q12 as a cause of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) syndrome: two case reports. *Orphanet J Rare Dis* 4: 25, 2009.
48. Ledig S, Schppert C, Strick R, et al. Recurrent aberrations identified by array-CGH in patients with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 95: 1589-1594, 2011.
49. Bowman P, Flanagan SE, Edghill EL, et al. Heterozygous ABCC8 mutations are a cause of MODY. *Diabetologia* 55: 123-127, 2012.
50. Iafusco D, Massa O, Pasquino B, Colombo C, Iughetti L, Bizzarri C, Mammi C, Lo Presti D, Suprani T, Schiaffini R, Nichols CG, Russo L, Grasso V, Meschi F, Bonfanti R, Brescianini S, Barbetti F and the Early Diabetes Study Group of ISPED. Minimal Incidence of Neonatal/Infancy Onset Diabetes in Italy is 1:90,000 live births. *Acta Diabetol* 49: 405-408, 2012.
51. Bonnefond A, Philippe J, Durand E, et al. Whole exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene. *PLoS One* 7: e37423, 2012.

52. Battaglia D, Lin Y-W, Brogna C, Crinò A, Grasso V, Mozzi AF, Russo L, Spera S, Colombo C, Ricci S, Nichols CG, Mercuri E, Barbetti F. Glyburide ameliorates motor coordination and glucose homeostasis in a child with diabetes associated with the *KCNJ11/S225T*, del226-232 mutation. *Pediatr Diabetes* 13: 656-660, 2012.
53. Lin Y-W, Li A, Grasso V, Battaglia D, Crinò A, Colombo C, Barbetti F, Nichols CG. Functional characterization of a novel *KCNJ11* in frame mutation-deletion associated with early onset diabetes and a mild form of intermediate DEND: a battle between K_{ATP} gain of channel activity and loss of channel expression. *PLoS ONE* 8: e63758, 2013.
54. Tonini G, Bizzarri C, Bonfanti R, Vanelli M, Cerutti F, Faleschini E, Meschi F, Prisco F, Ciacco E, Cappa M, Torelli C, Cauvin V, Tumini S, Iafusco D, Barbetti F and the Early Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Paediatric Endocrinology and Diabetology. Sulphonylurea treatment outweighs insulin therapy in short-term metabolic control of patients with permanent neonatal diabetes mellitus due to activating mutations of the *KCNJ11* gene. *Diabetologia* 49: 2210-2213, 2006.
55. Iafusco D, Bizzarri C, Cadario F, Pesavento R, Tonini G, Tumini S, Cauvin V, Colombo C, Bonfanti R, Barbetti F. No beta cell desensitisation after a median of 68 months on glibenclamide therapy in patients with *KCNJ11*-associated permanent neonatal diabetes. *Diabetologia* 54: 2736-2738, 2011.
56. Colombo C, Porzio O, Liu M, Massa O, Vasta M, Salardi S, Beccaria L, Monciotti C, Toni S, Pedersen O, Hansen T, Federici L, Pesavento R, Cadario F, Federici G, Ghirri P, Arvan P, Iafusco D, Barbetti F and the Early onset diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes (SIEDP). Seven mutations in the human insulin gene linked to permanent neonatal/infancy-onset diabetes mellitus. *J Clin Invest* 118: 2148-2156, 2008.
57. Bonfanti R, Colombo C, Nocerino V, Massa O, Iafusco D, Viscardi M, Chiumello G, Meschi F, Barbetti F. Insulin gene mutations as cause of diabetes in children negative for five type 1 diabetes autoantibodies. *Diabetes Care* 32: 123-125, 2009.
58. Boesgaard TW, Pruhova S, Andersson EA, Cinek O, Obermannova B, Lauenborg J, Damm P, Bergholdt R, Pociot F, Pisinger C, Barbetti F, Lebl J, Pedersen O, Hansen T. Further evidence that mutations in *INS* can be a rare cause of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY). *BMC Med Genet* 11: 42, 2010.
59. Barbetti F, Raben N, Kadowaki T, Cama A, Accili D, Merenich JH, Gabbay KH, Taylor SI, Roth J. Two unrelated patients with familial hyperproinsulinemia due to a mutation substituting histidine for arginine at position 65 in the proinsulin molecule: identification of the mutation by direct sequencing of genomic DNA amplified by polymerase chain reaction. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 164-169, 1990.
60. Chapla A, Doddabelavangala M, Asha HS, et al. Maturity Onset Diabetes of the Young in India - a distinctive mutation pattern identified through targeted next-generation sequencing. *Clon Endocrinol* 82: 533-542, 2015.
61. Ellard S, Bellané-Chantelot C, Hattersley AT. Best practice guidelines for molecular genetics diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* 51: 546-553, 2008.
62. Bonifacio E. Predicting type 1 diabetes using biomarkers. *Diabetes Care* 38: 989-996, 2015.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano tutti i componenti del Gruppo di Studio sul diabete della Società Italiana di Endocrinologia e Diabetologia Pediatrica, di cui mi onoro di far parte, preziosi collaboratori da oltre vent'anni. Un ringraziamento particolare al Prof. Giuseppe Chiumello che mi ha introdotto al Gruppo, al Dr. Dario Iafusco, che ha condiviso con me molte "avventure" di ricerca e ai giovani emergenti, che ancora mi chiedono consigli.