



XI Edizione PARMA DIABETE
19-21 OTTOBRE 2017

Aspetti Molecolari della Fisiopatologia del diabete mellito di tipo 2: ruolo del fattore architetturale HMGA1

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

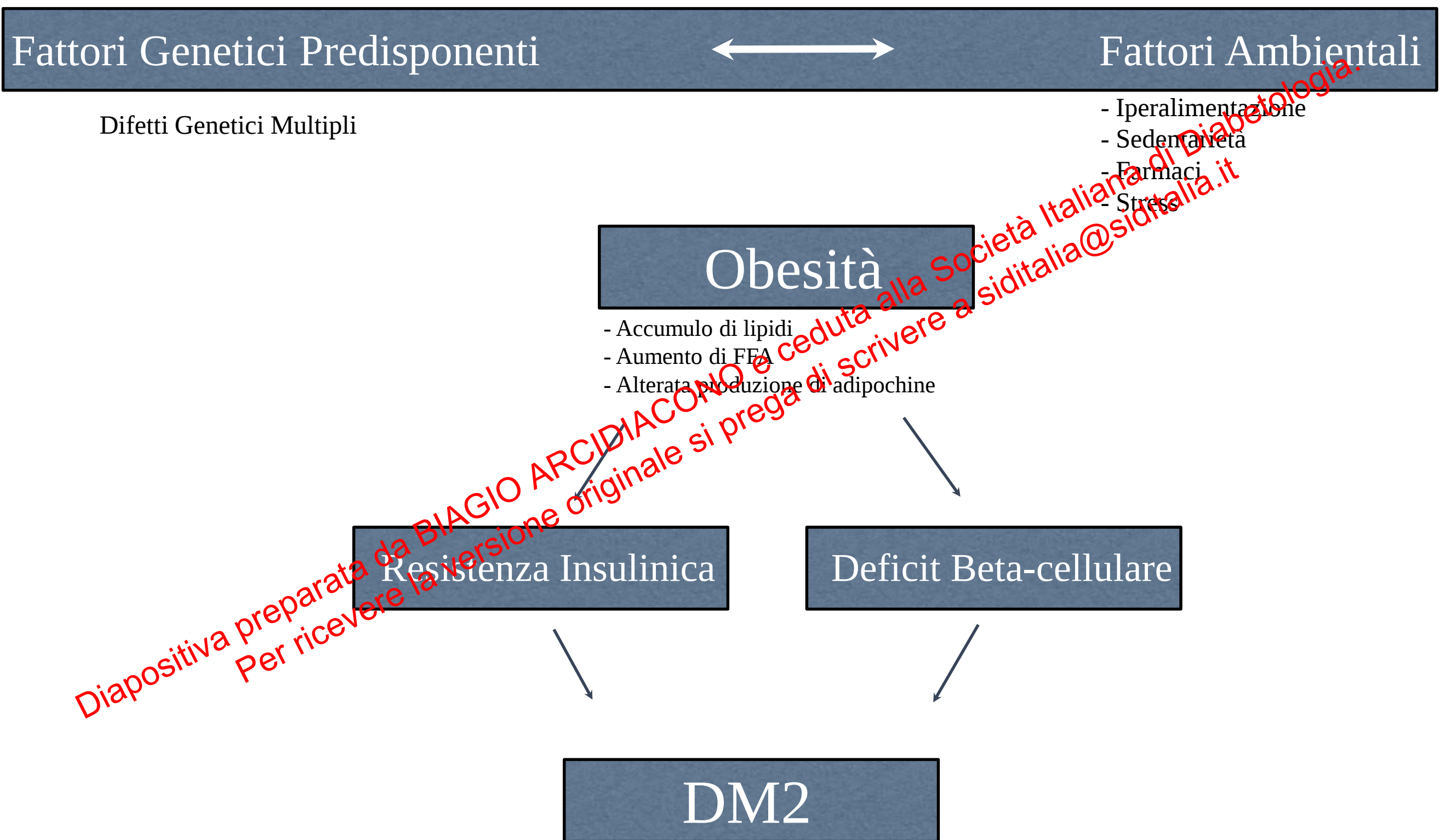
Biagio Arcidiacono

Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Catanzaro “Magna Græcia”



19-21 Ottobre 2017 - Hotel NH Parma

La Patogenesi del Diabete Mellito di Tipo 2



Obiettivo

Individuare nuovi fattori molecolari implicati
nella patogenesi del diabete, utili come marker
predittivi precoci di malattia

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

In Principio...

A Primary Defect in Insulin Receptor in a Young Male Patient With Insulin Resistance

Yasumitsu Takata, Masashi Kobayashi, Hiroshi Maegawa, Nobuaki Watanabe, Osamu Ishibashi,
Yukio Shigeta, and Akira Fujinami

We studied insulin binding to cells from an insulin-resistant patient, a 5-year-old boy with clinical Rabson-Mendenhall syndrome. Decreased insulin binding was observed in three different cells: erythrocytes (37.4% of normal), cultured fibroblasts (53.3% of normal), and transformed lymphocytes (9.8% of normal). Decreased insulin binding in the cultured cells suggested that the patient had a primary defect in insulin receptors. In addition, insulin binding to the transformed lymphocytes from the patient was relatively high at lower pH compared with those in normal subjects. The cultured fibroblasts from the patient showed decreased glucose incorporation at the low insulin concentration with normal maximal stimulation, and the insulin dose response curve was shifted to the right. These results suggested that the defect resided in the receptor binding but not in the postreceptor steps. This was one of the rare cases showing decreased insulin binding clearly demonstrated in three different cells from a young male patient with extreme insulin resistance.

© 1986 by Grune & Stratton, Inc.

Metabolism, Vol 35, No 10 (October), 1986: pp 950-955

Two Patients With Insulin Resistance Due to Decreased Levels of Insulin-Receptor mRNA

EIICHI IMANO, HIROKO KADOWAKI, TAKASHI KADOWAKI, NORIMICHI IWAMA, TAKAO WATARAI,
RYUZO KAWAMORI, TAKENOBU KAMADA, AND SIMEON I. TAYLOR

DIABETES, VOL. 40, MAY 1991

Lo studio del promotore di INSR e le prime evidenze sperimentali...



Promotore di
INSR

-1818

+1

ATG

A

B

C

D

E

E1

E2

E3

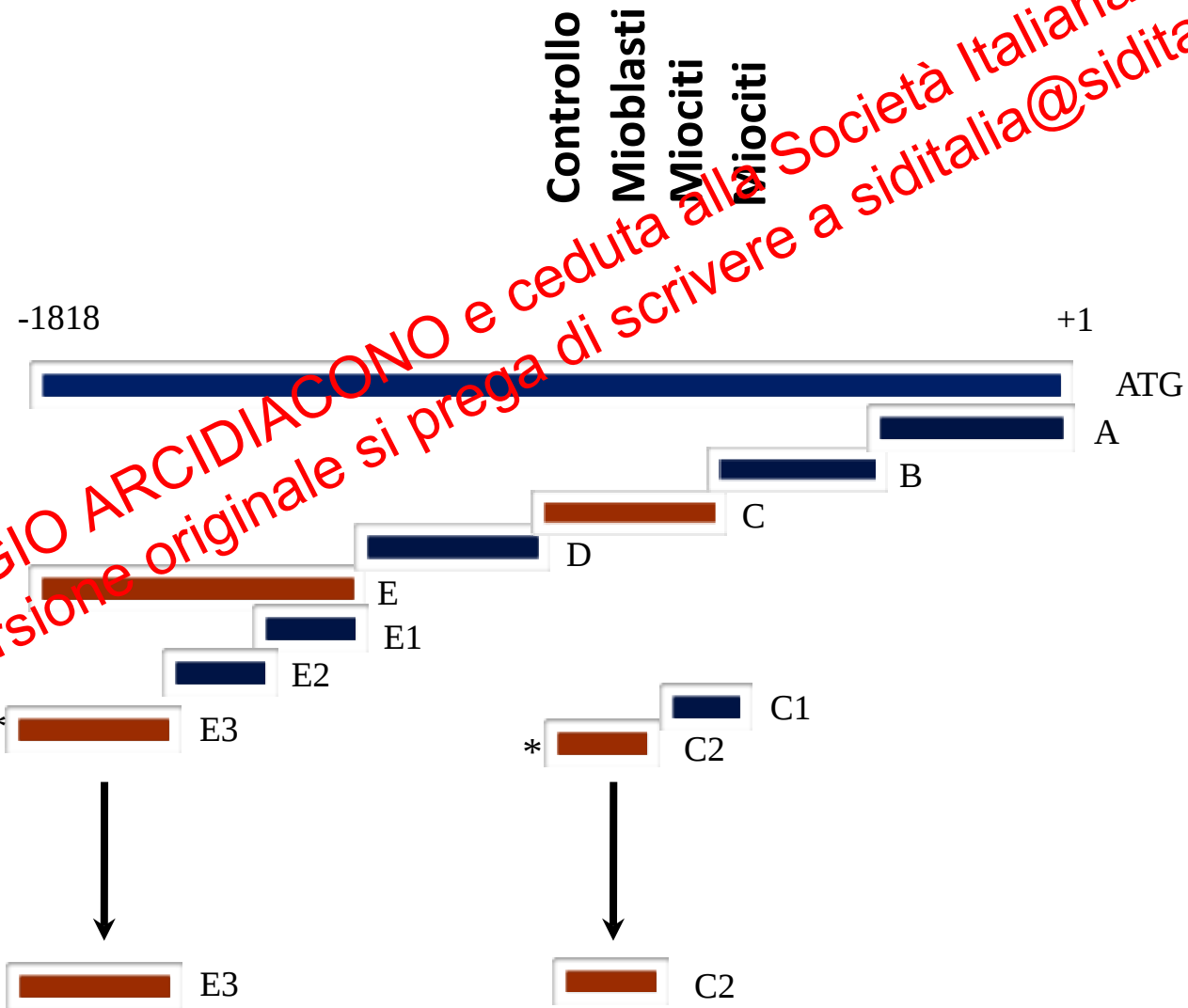
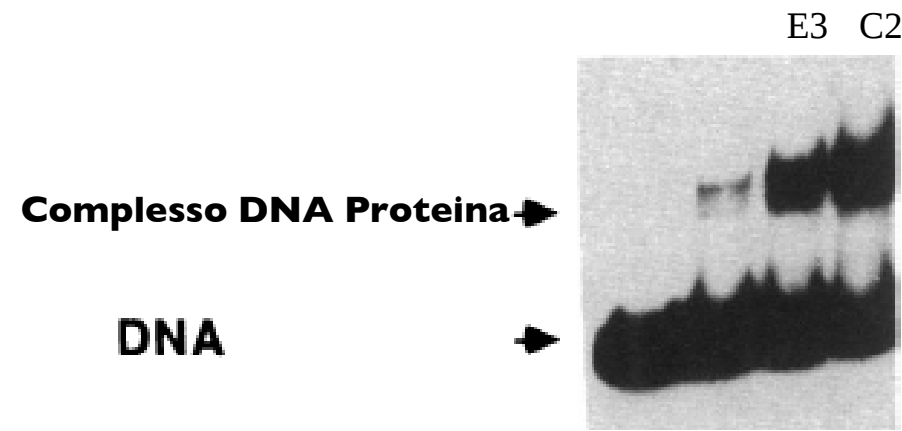
*

C1

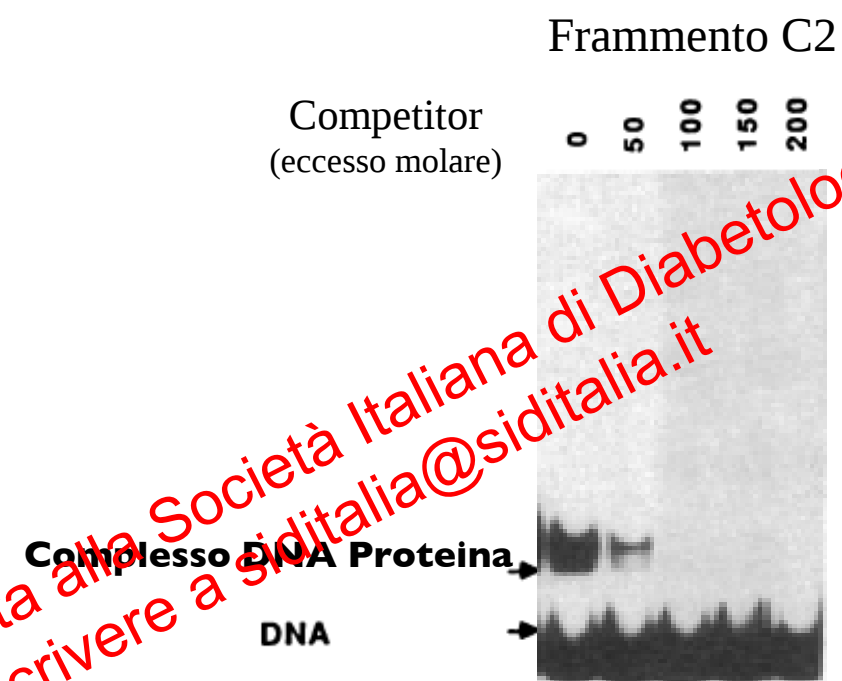
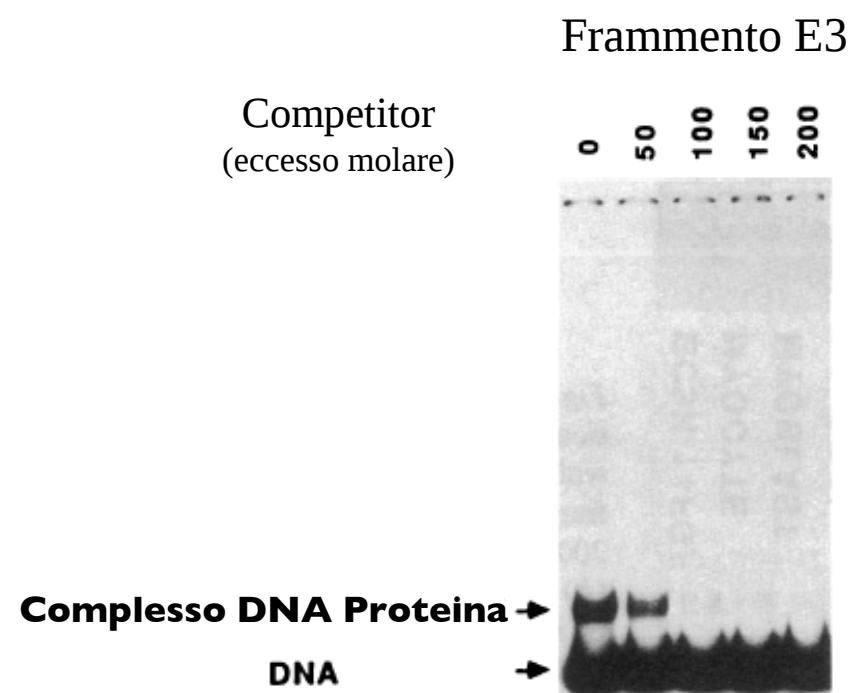
C2

*

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



SubFrammento E3

AGATCTGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGAGAAAACTCCATCTAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAACAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAAGGAAACGGAACCTGGGGGGGAG
 CATTTCAAAAATATGGTTAGGGATGGCACTTCAG

SubFrammento C2

TCGAGTCACCAAATAAACATTTTAATGCAGTATTTTTTAAAAAATCAACAGGAATCCTCCA
 AAGCCCAGTATGAACAAATAGCAAAATGGTAGAGAAAGGATCTGTGCCGCTGCGTCGGGC
 CTGTGGGGCGCCTCCGGGGGTCTGAACTGGAGGAGACTCGGGGCTGTAGGGCGCGCGGAT
 CTGGGGCGCGCCCTCG

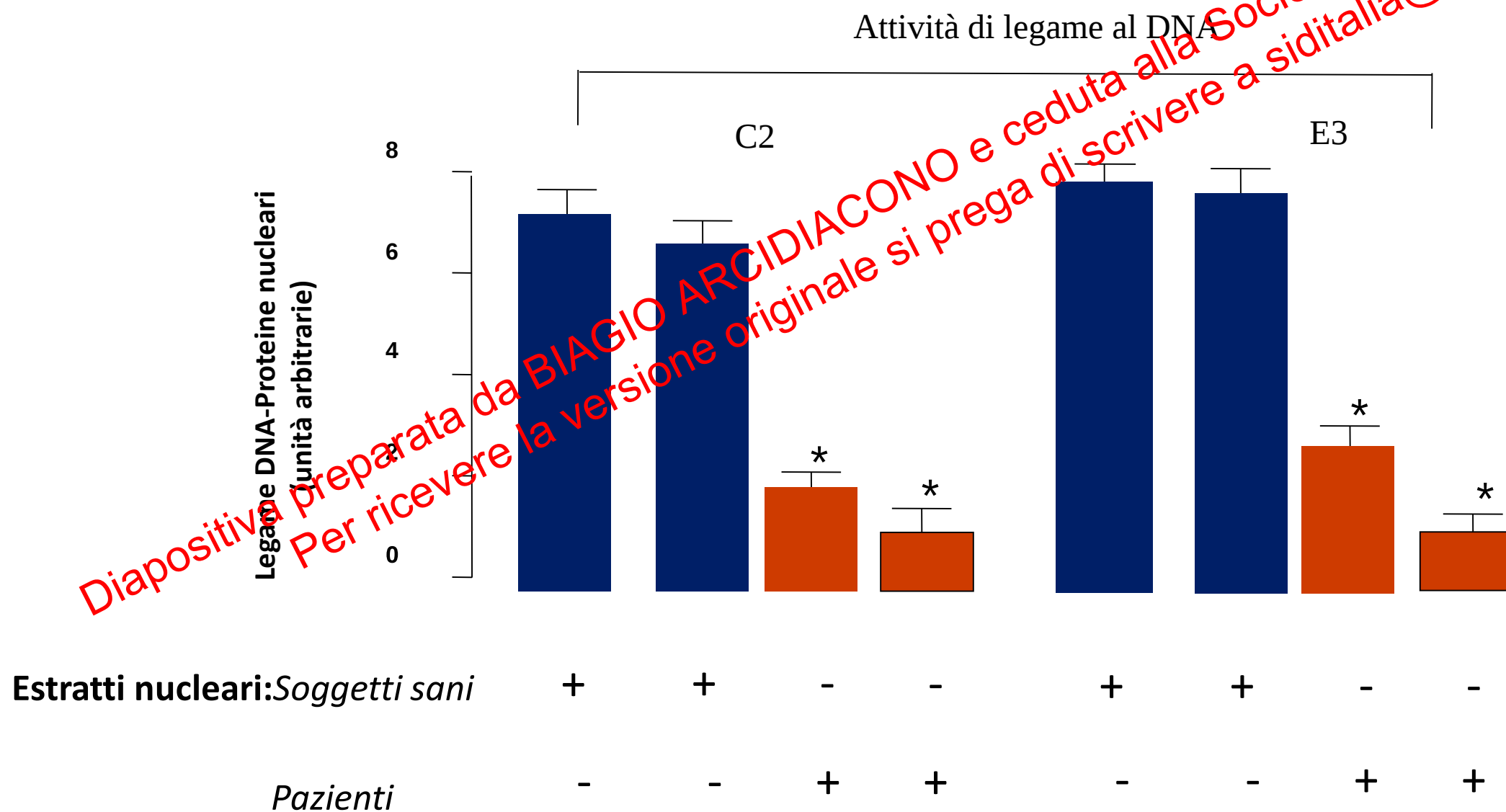
Queste prime evidenze sperimentali dimostrano la presenza di due (?) proteine nucleari (?) in grado di legare specifiche regioni del promotore di INSR ricche in AT e di regolarne l'espressione.

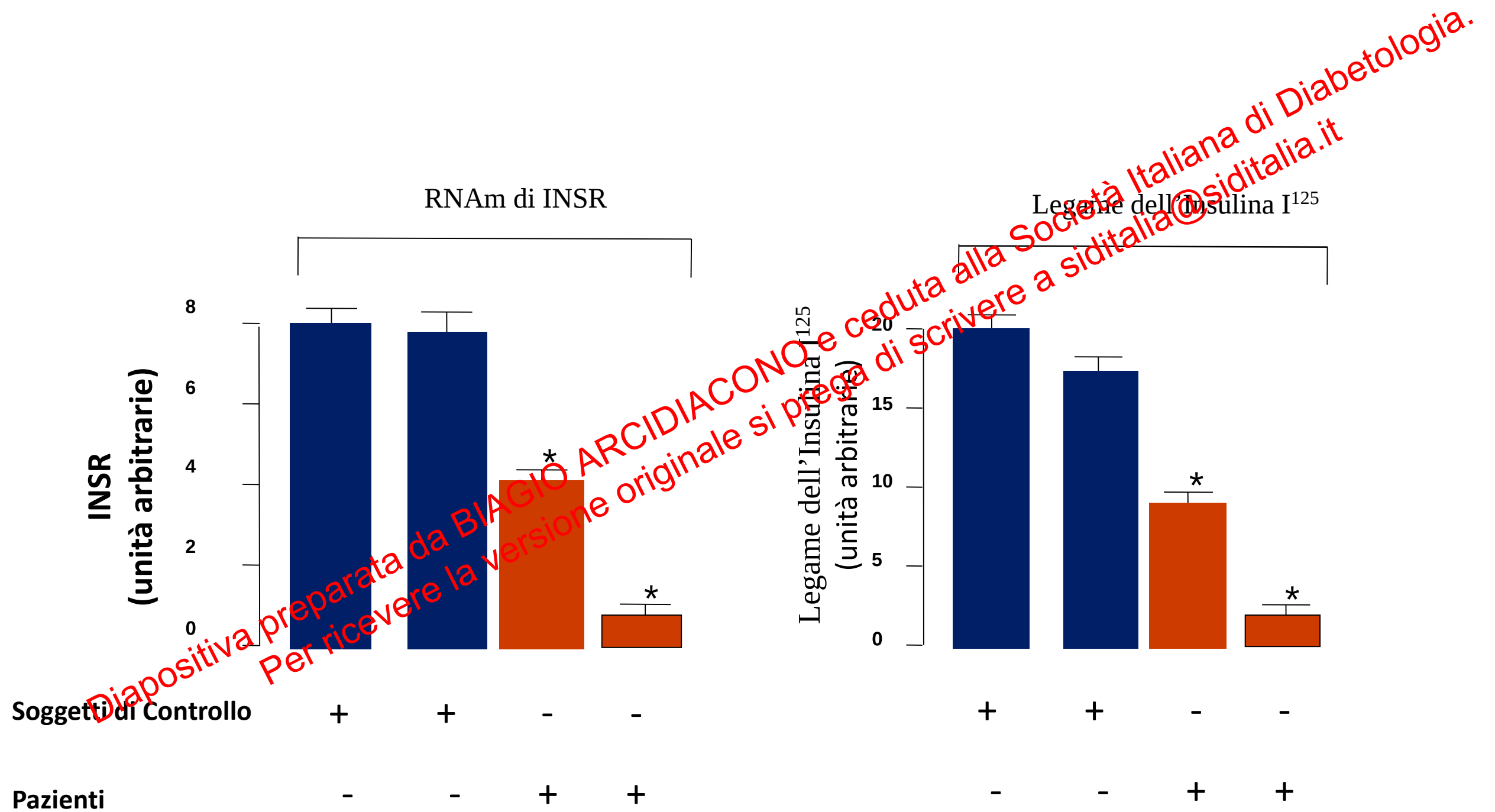
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

I primi riscontri nell'uomo...



EMSA



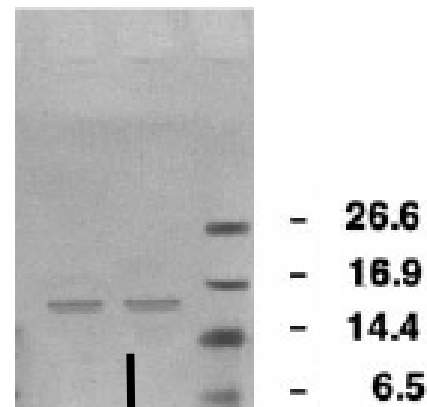
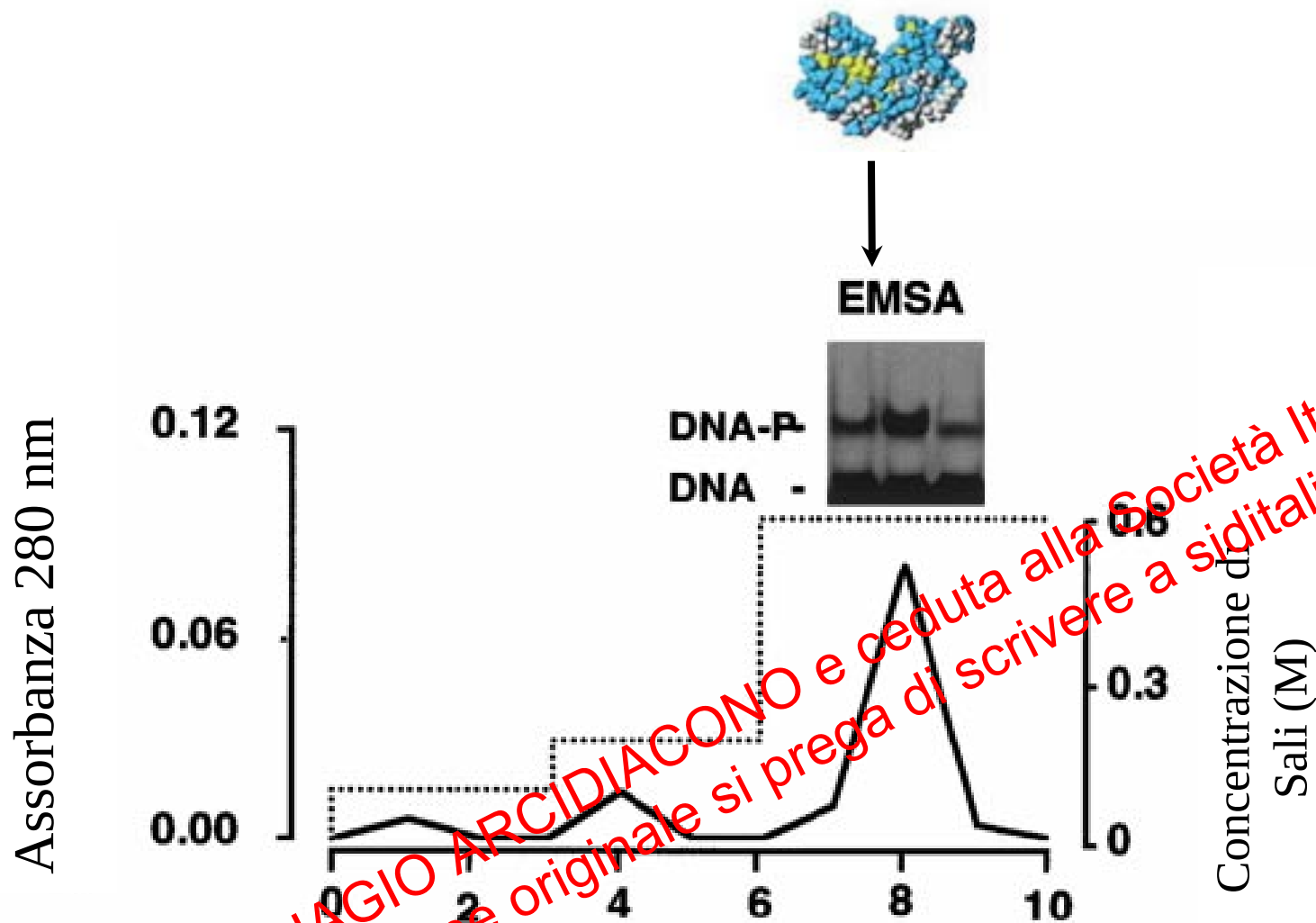


Queste prime evidenze sperimentali dimostrano la presenza di due (?) proteine nucleari (?) in grado di legare specifiche regioni del promotore di INSR ricche in AT e di regolarne l'espressione.

Difetti genetici riscontrati in due pazienti con IR e diabete, correlano con bassi livelli di proteine nucleari coinvolte nell'attivazione trascrizionale del gene di INSR. Di fatto, la minore attività funzionale causa una significativa riduzione del recettore sulla membrana plasmatica delle cellule target con conseguente sviluppo di IR e DM2.

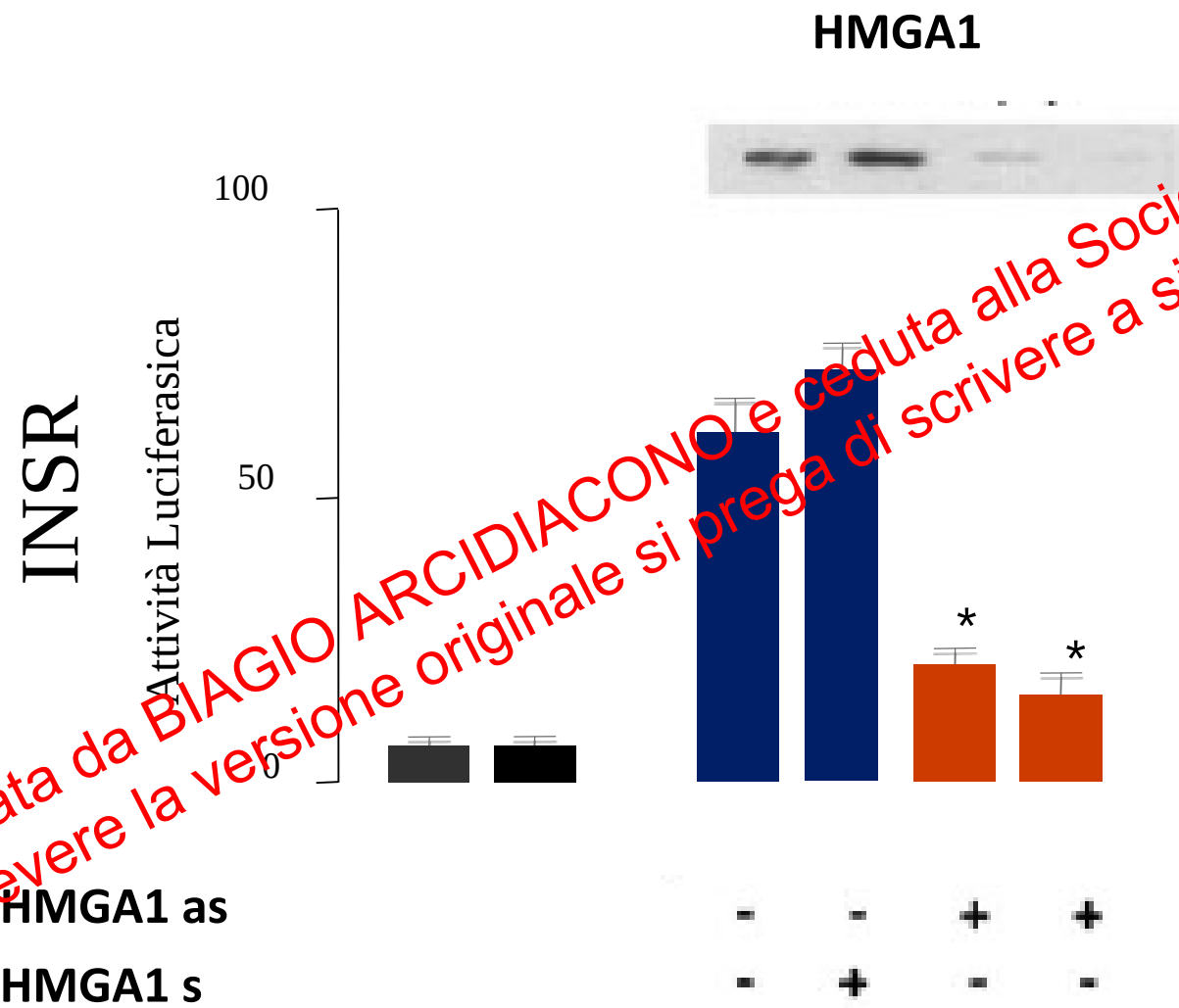
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Il Fattore Architeturale HMGA1



High Mobility Group I - Y o HMGA1

Il Ruolo Funzionale di HMGA1 sulla regolazione Genica di INSR

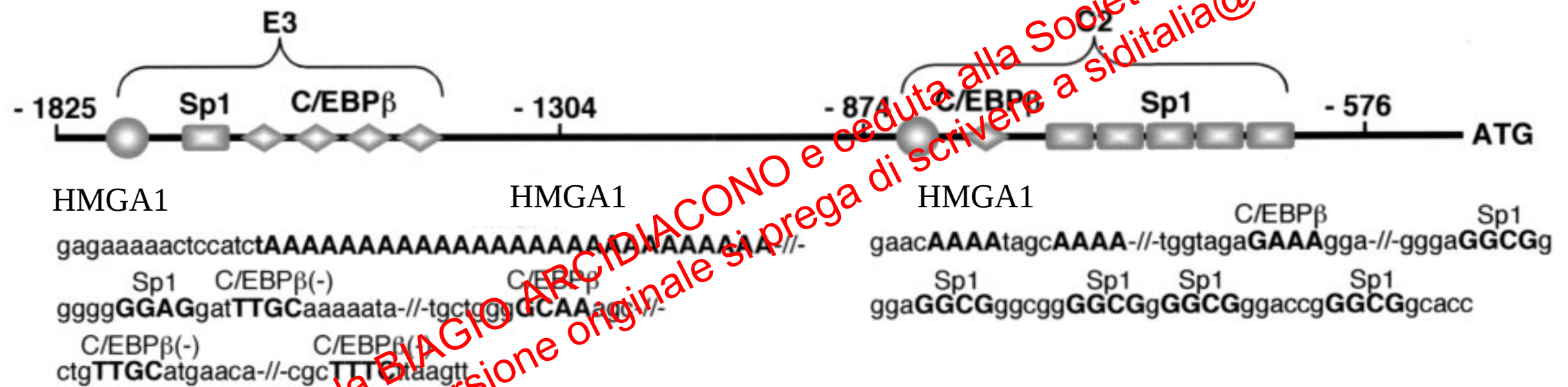


Diapositiva preparata da **BIAGIO ARCIDIACONO** e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

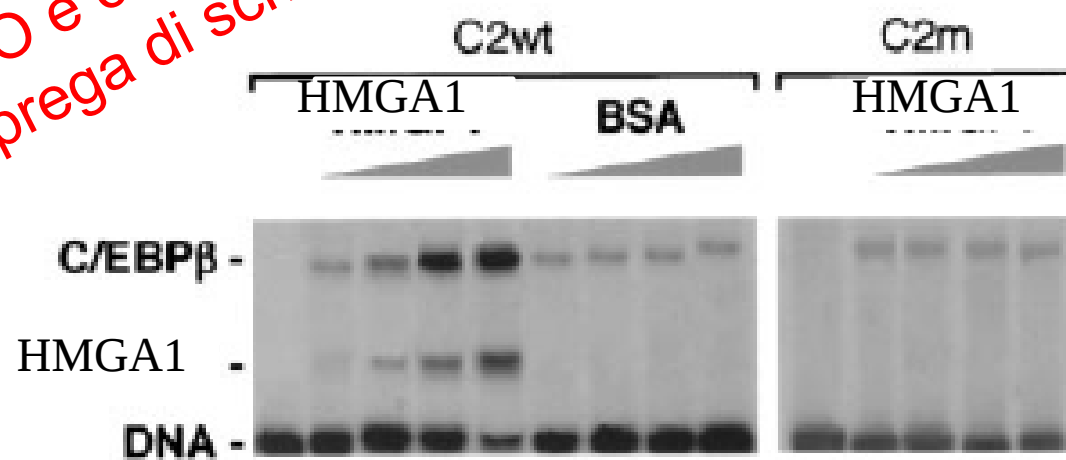
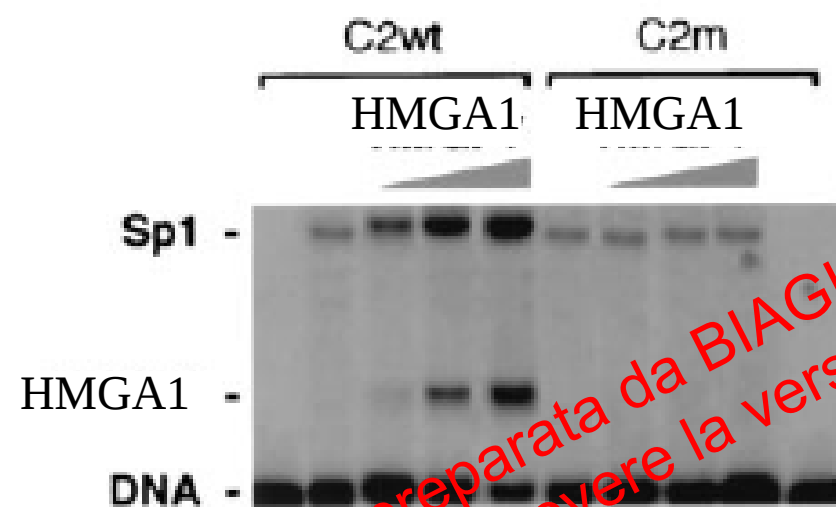
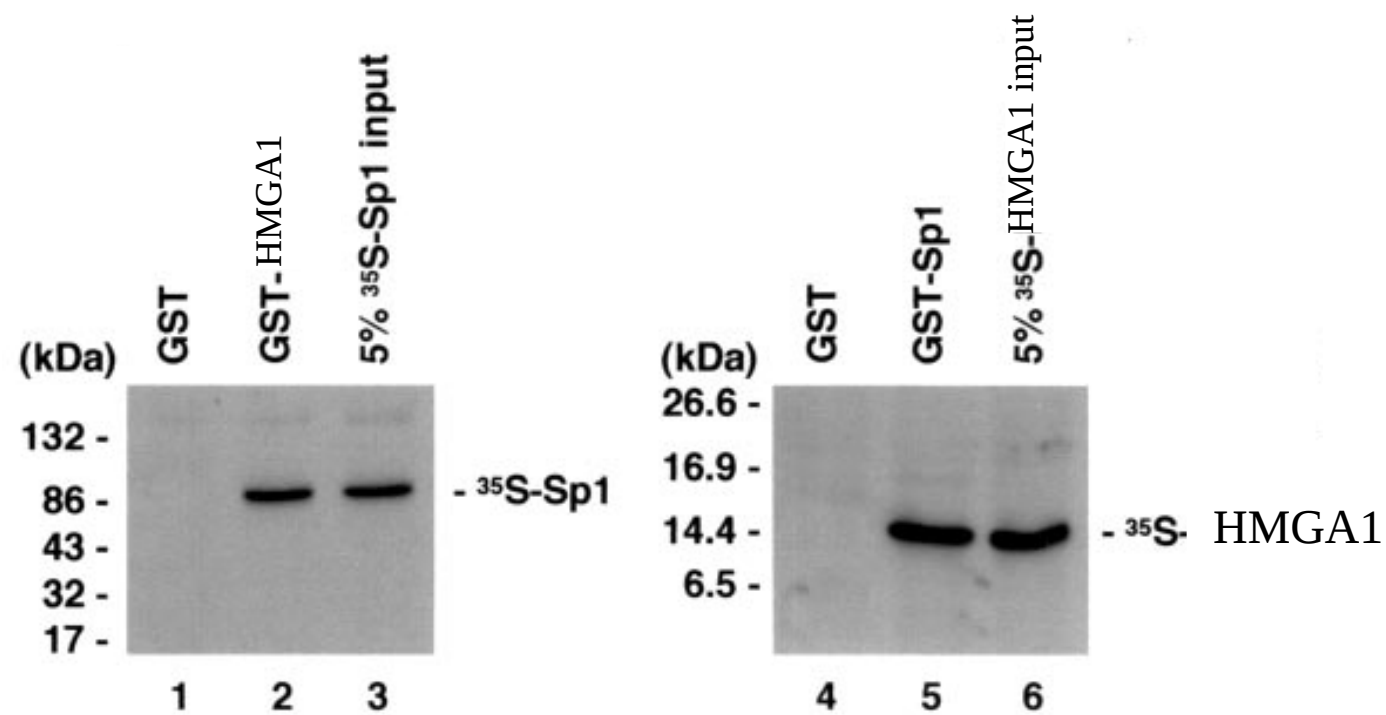
- Queste prime evidenze sperimentali dimostrano la presenza di due (?) proteine nucleari (?) in grado di legare specifiche regioni del promotore di INSR ricche in AT e di regolarne l'espressione.
- Difetti genetici riscontrati in due pazienti con IR e diabete, correlano con bassi livelli di proteine nucleari coinvolte nell'attivazione trascrizionale del gene di INSR. Di fatto, la minore attività funzionale causa una significativa riduzione del recettore sulla membrana plasmatica delle cellule target con conseguente sviluppo di IR e DM2.
- HMGA1 è la proteina nucleare in grado di legare le regioni regolatrici del promotore di INSR ricche in AT. Forniamo evidenze, inoltre, che questo legame è funzionale alla regolazione dell'espressione di INSR.

Diapositiva preparata da **PIAGIO ARCIDIACONO** e ceduta alla **Società Italiana di Diabetologia**.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

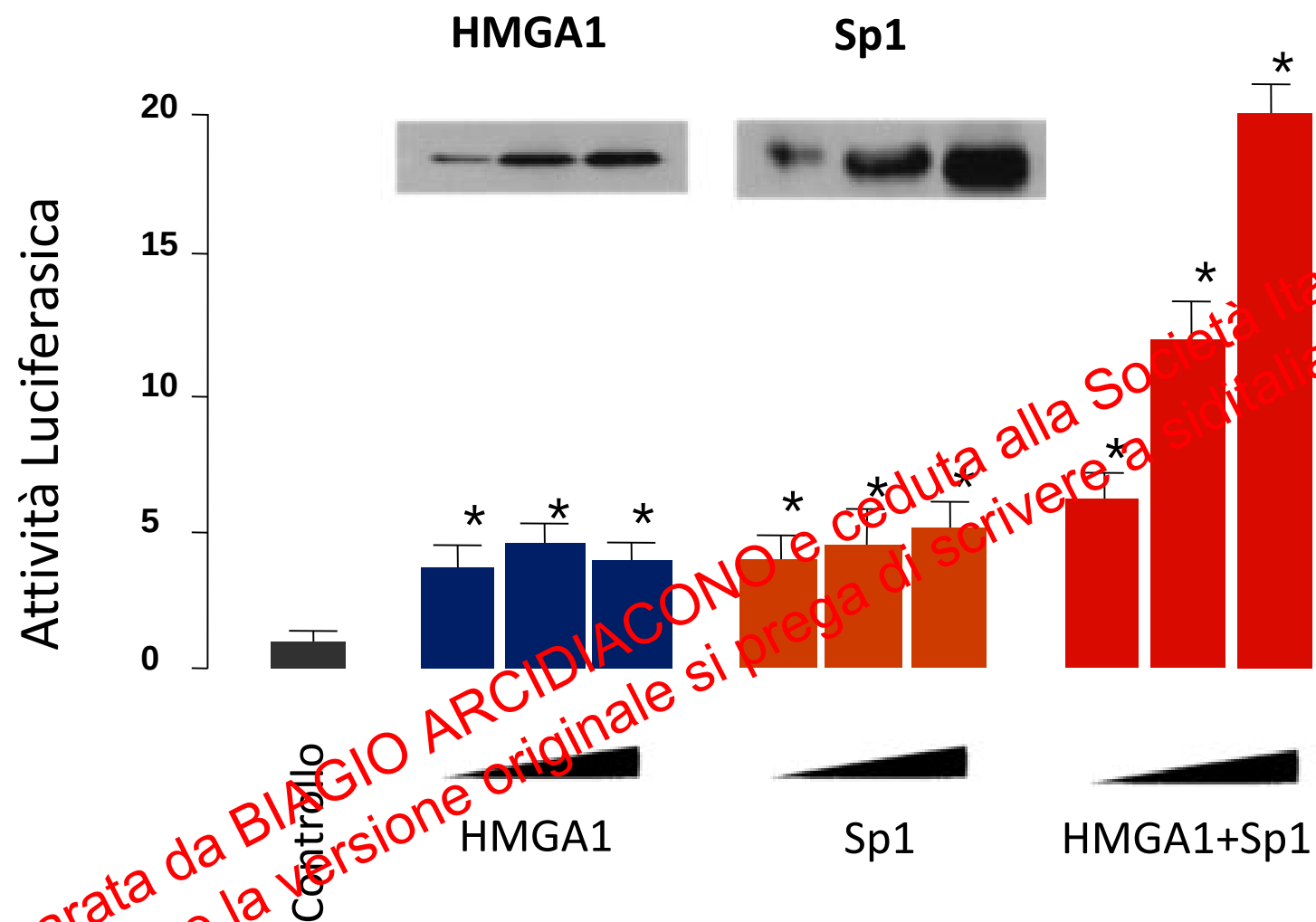
HMGA1: “l’Architetto” del DNA



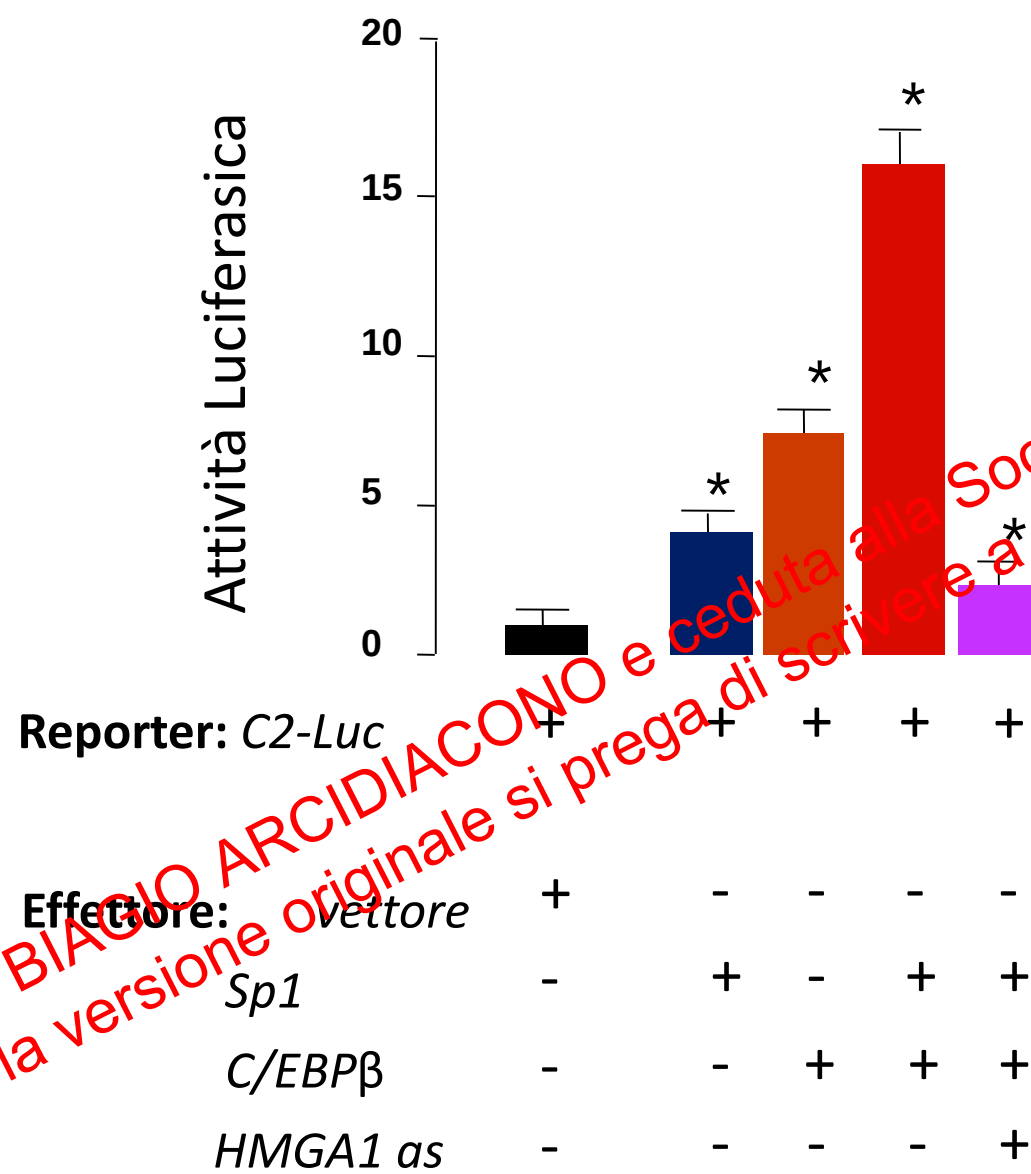
Diapositiva preparata da BLAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



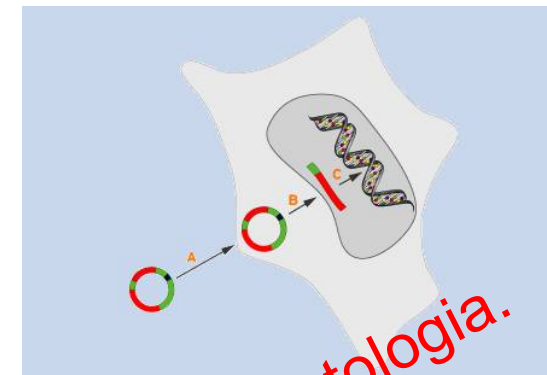
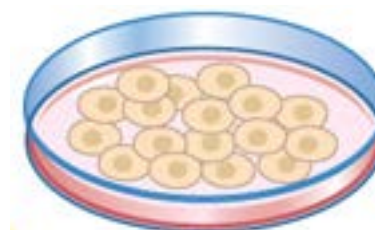
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



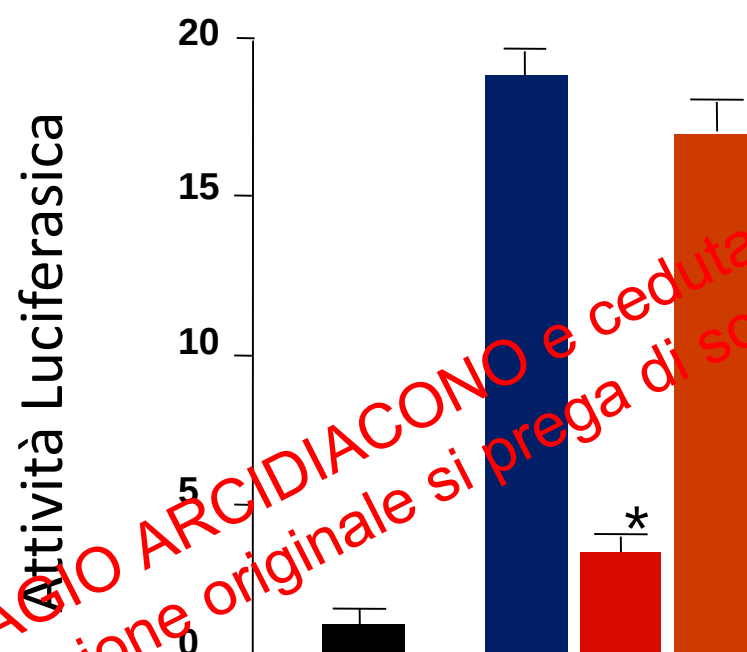
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Diapositiva preparata da **BIAGIO ARCIDIACONO** e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
 Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Studi funzionali
sul promotore di INSR



Reporter: Basale

+ - - -

C2-Luc

- + + +

HMGA1s

- - - +

Diapositiva preparata da BIA GIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

- L'interazione fisica e funzionale tra HMGA1, Sp1 e CEBP β svolge un ruolo cruciale nella regolazione della trascrizione genica di *INSR*.



HMGA1: “l’Architetto” del DNA

HMGA1, Resistenza Insulinica e T2D nell'uomo e nel topo



	Paziente 1	Paziente 2	Paziente 3	Paziente 4
Caratteristiche Cliniche				
Sesso	Maschio	Maschio	Femmina	Femmina
Età	45	11	11	35
BMI	22	ND	30.2	34.4
Età alla Diagnosi	42	6	10	34
Acanthosis nigricans	No	Si	Si	Si
Caratteristiche Biochimiche				
Glicemia (mg/dl)				
Glicemia a digiuno	250	100	80	102
OGTT	ND	310	202	206
Insulina (µU/ml)				
Insulina a digiuno	34	300	224.5	62
Insulina dopo OGTT	ND	1,845	510	102

pazienti
1-2

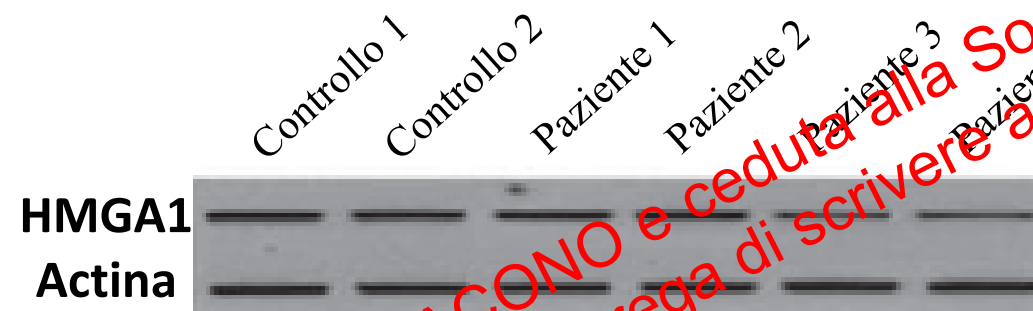


Mutazione confinata al 3'UTR

pazienti
3-4

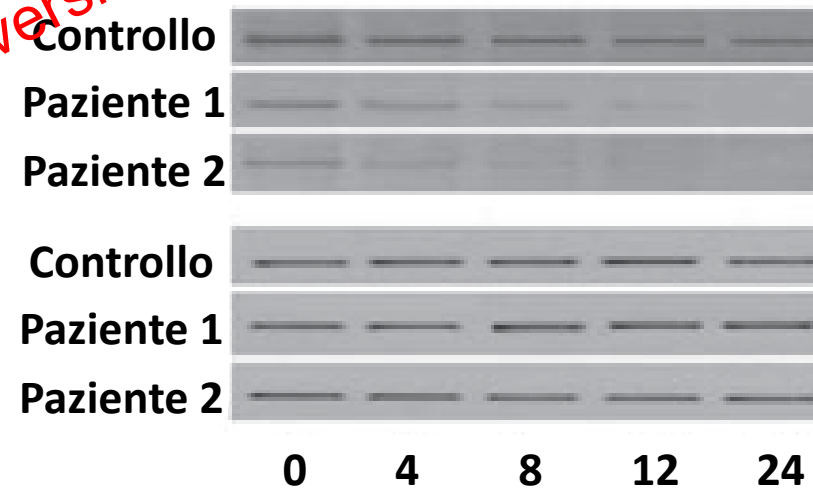


Delezione allelica



PCR

PCR



HMGA1

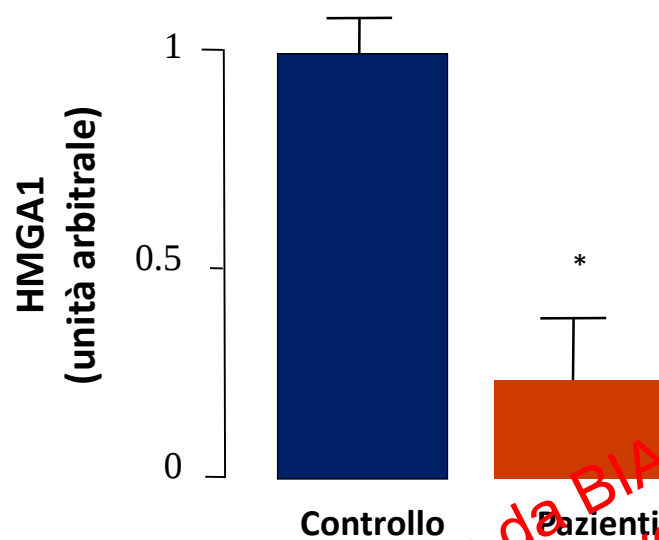
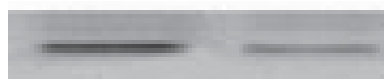
Actina

Tempo (Ore)

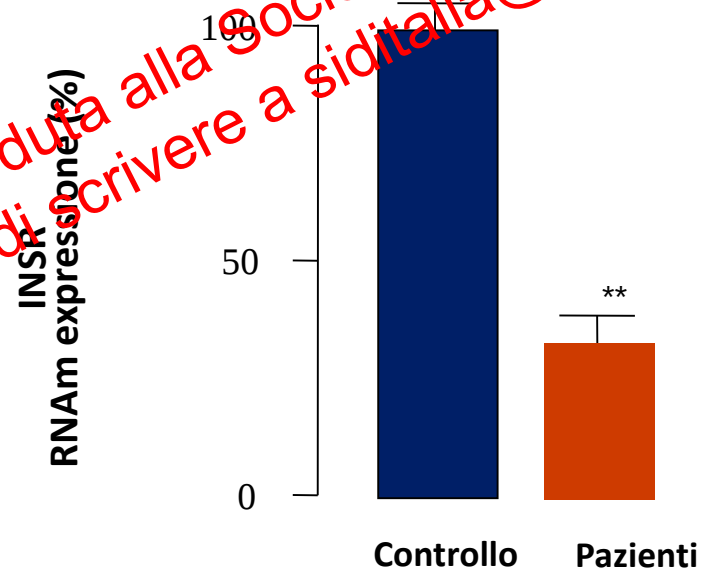
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



HMGA1



INSR

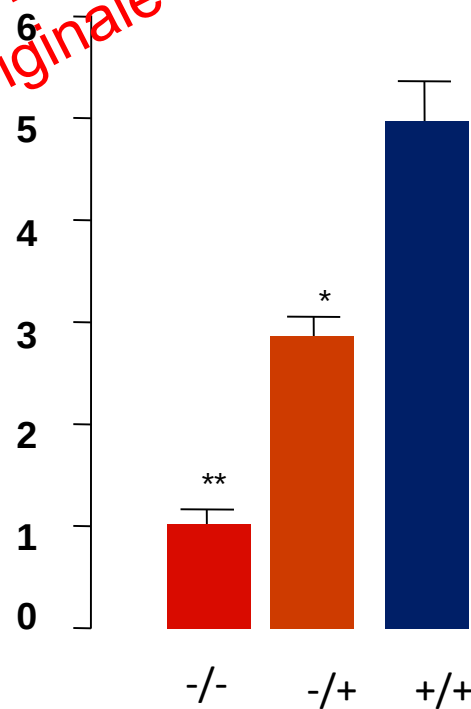


Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

-/- -/+ +/+



INSR



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

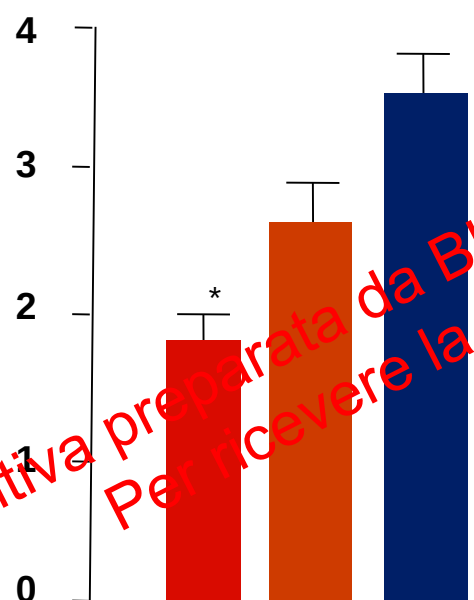
-/-

-/+

+/+

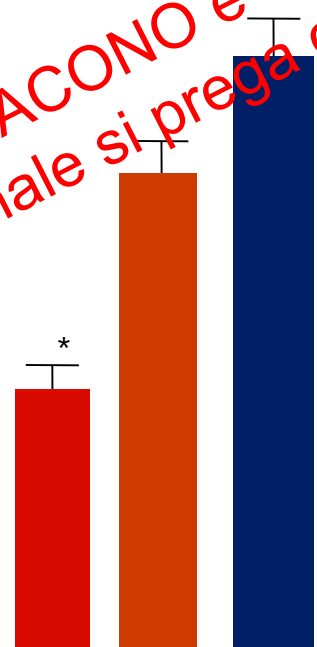


Densitometria
(unità arbitrarie)



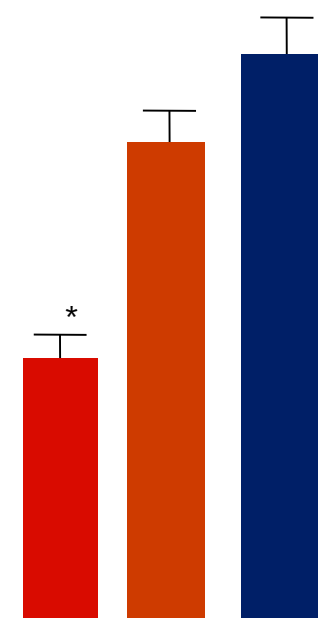
-/- -/+ +/+

pIRb



-/- -/+ +/+

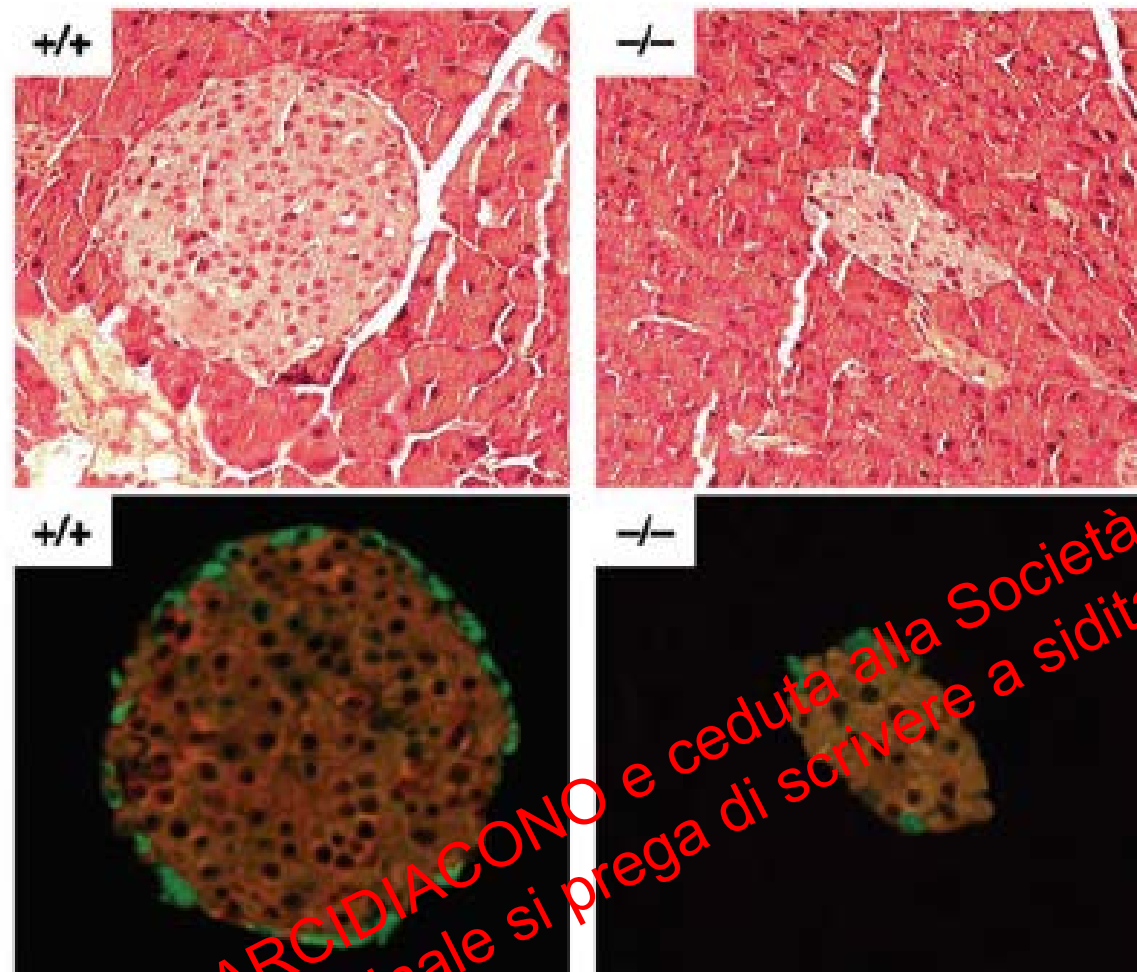
pIRS1



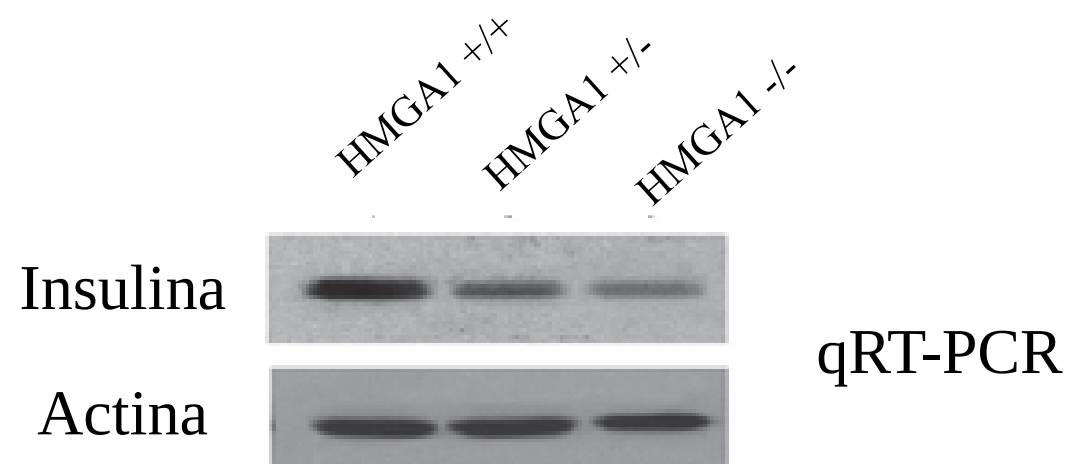
-/- -/+ +/+

pAKT

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



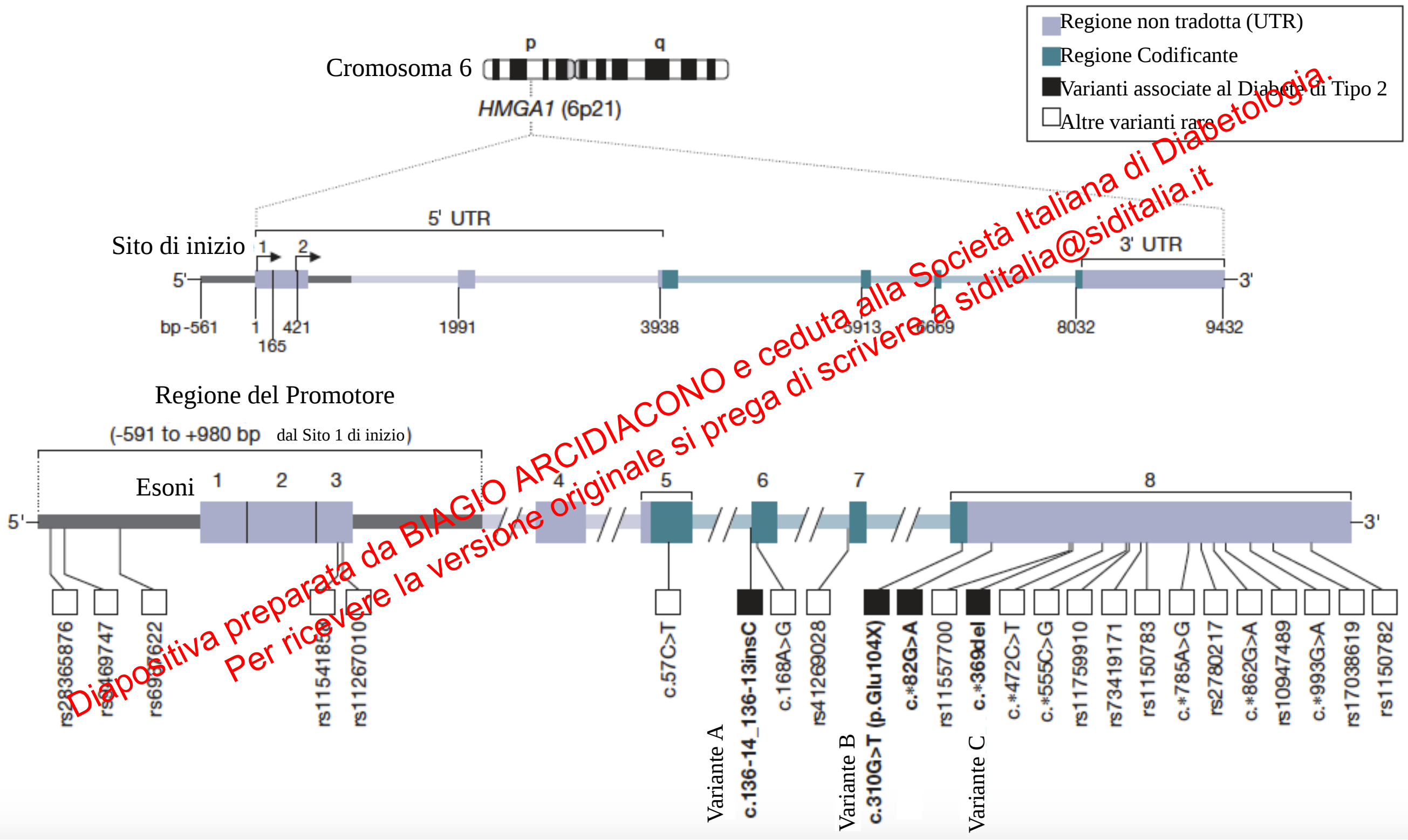
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
 Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



- Un deficit genetico di HMGA1 causa resistenza insulinica e DM2 nell'uomo e nel topo

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Lo Studio Caso-Controllo



Popolazione Italiana

Popolazione Americana

Popolazione Francese

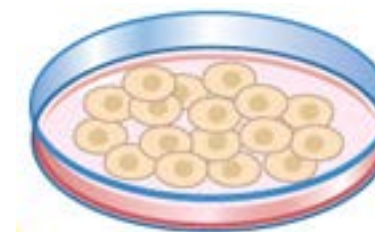
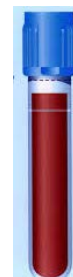
	Pazienti con Diabete Mellitio di Tipo 2	Soggetti di Controllo 1	Valore della P	Soggetti di Controllo2	Valore della P	Pazienti con Diabete Mellitio di Tipo 2	Soggetti di Controllo	Valore della P	Pazienti con Diabete Mellitio di Tipo 2	Soggetti di Controllo	Valore della P
Soggetti	3278	2544		784		970	958		354	50	
Femmine	1808	1293	<.001	461	0.46	387	497	<.001	150	26	.22
Età media (DS)	66.4 (10.1)	66.3 (9.7)	.70	60.2 (9.5)	<.001	65.3 (11.3)	64.8 (9.1)	.29	61.4 (9.4)	28.2 (11.3)	<.001
BMI	27.7 (4.5)	24.6 (4.3)	<.001	25.2 (4.4)	<.001	30.4 (6.0)	25.3 (3.6)	<.001	29.1 (5.4)	21.8 (2.1)	<.001

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it.

Popolazione
ItalianaPopolazione
AmericanaPopolazione
Francese

	N. (%) di Pazienti affetti da Diabete Mellito di Tipo 2	N. (%) di Soggetti portatori della variante IVS5-13INSC	Frequenza dell'allele Minore(%)	Odd Ratio 95% IC	Valore della P
Popolazione Italiana con DM2	3041 (92.8)	237 (7.2)	3.60		
Gruppo di Controllo 1	2533 (99.6)	11 (0.4)	0.22	15.77 (8.57-28.03)	<.001
Gruppo di Controllo 2	758 (96.7)	28 (3.3)	1.66	2.03 (1.51-3.43)	<.001
Popolazione Americana con DM2	895 (92.3)	75 (7.7)	3.90		
Gruppo di Controllo	913 (95.3)	45 (4.7)	2.30	1,64 (1.05-2.57)	.03
Popolazione Francese con DM2	327 (92.4)	27 (7.6)	3.80		
Gruppo di Controllo	50 (100)	0	0.22	N/A	.04

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Soggetti di Controllo

Pazienti con DM2 senza variante

Pazienti con DM2 portatori della variante

HMGA1

INSR

C/EBP β
(control)

β -Actin
(control)

Soggetti di Controllo

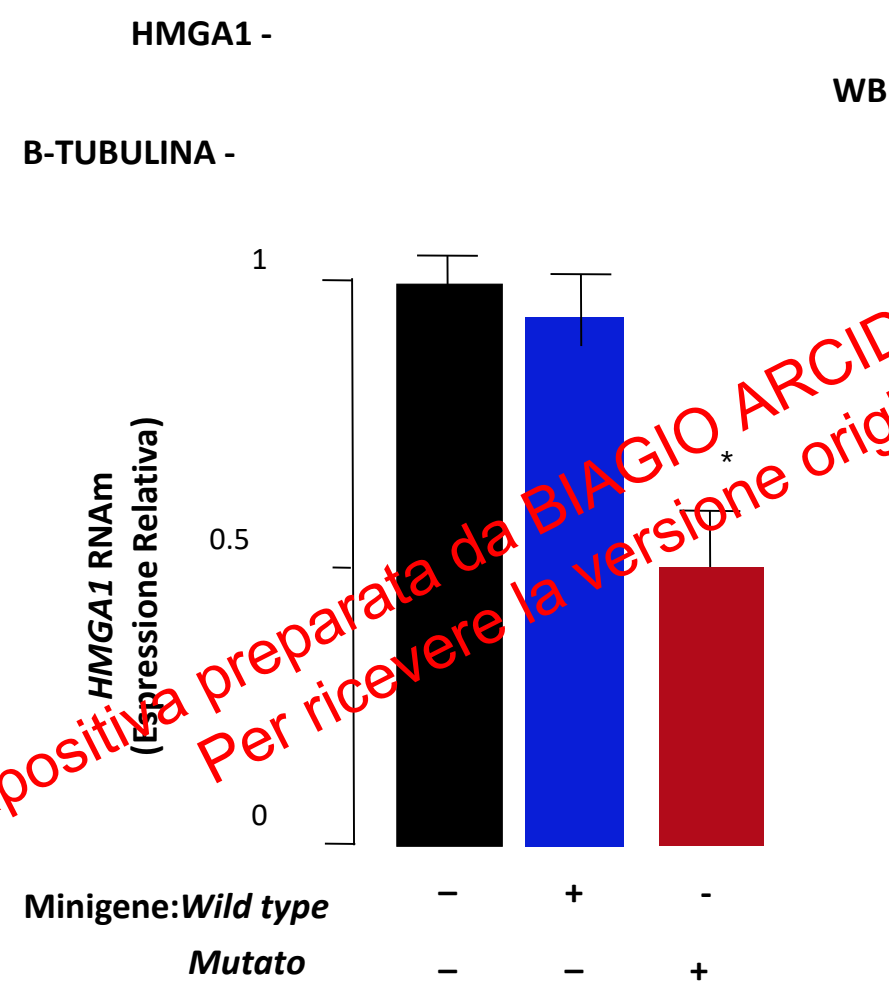
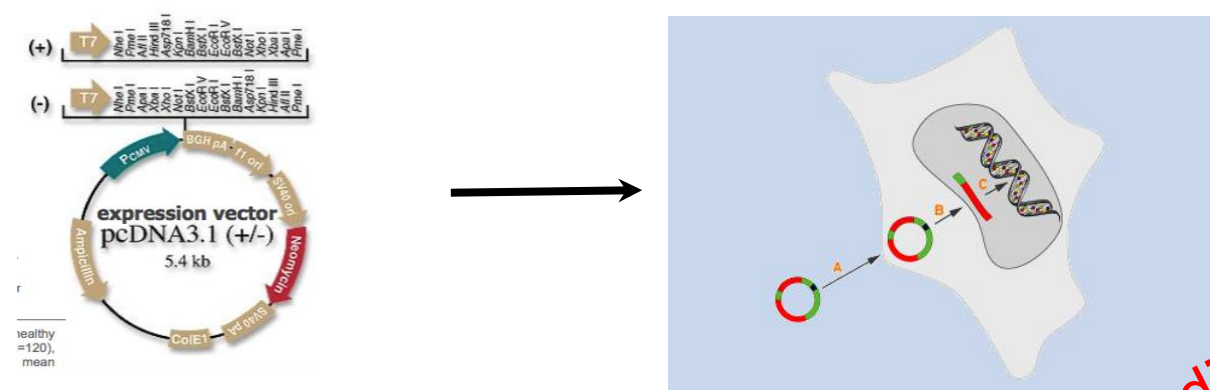
Pazienti con DM2 senza variante

Pazienti con DM2 portatori della variante

Pazienti con DM2 portatori della variante

↑
L'espressione di
HMGA1
è ripristinata

Il Minigene

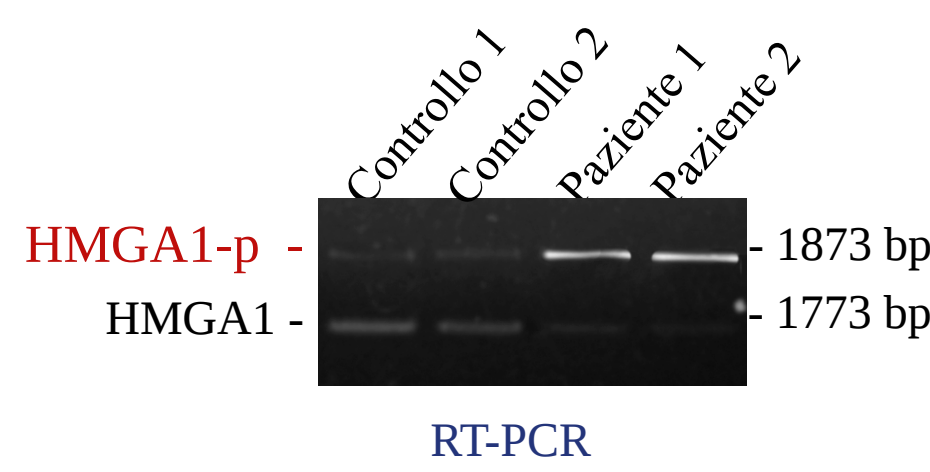
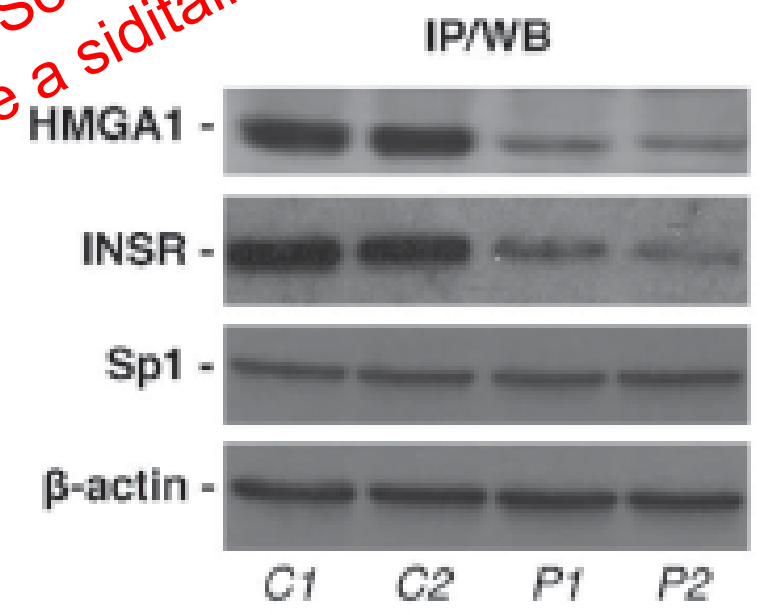
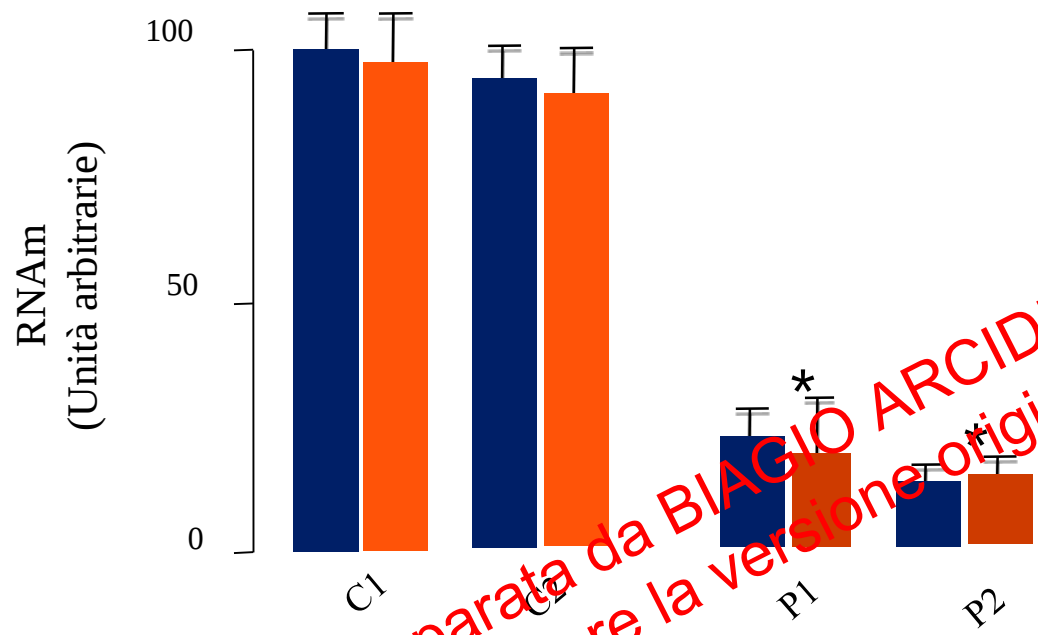
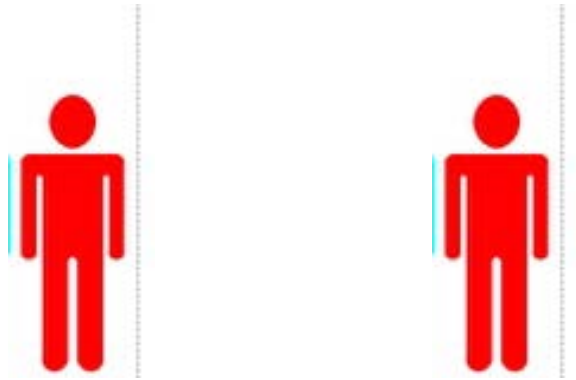


Il minigene, recante la variante rs146052672, è in grado di ridurre l'espressione e la funzione di HMGA1

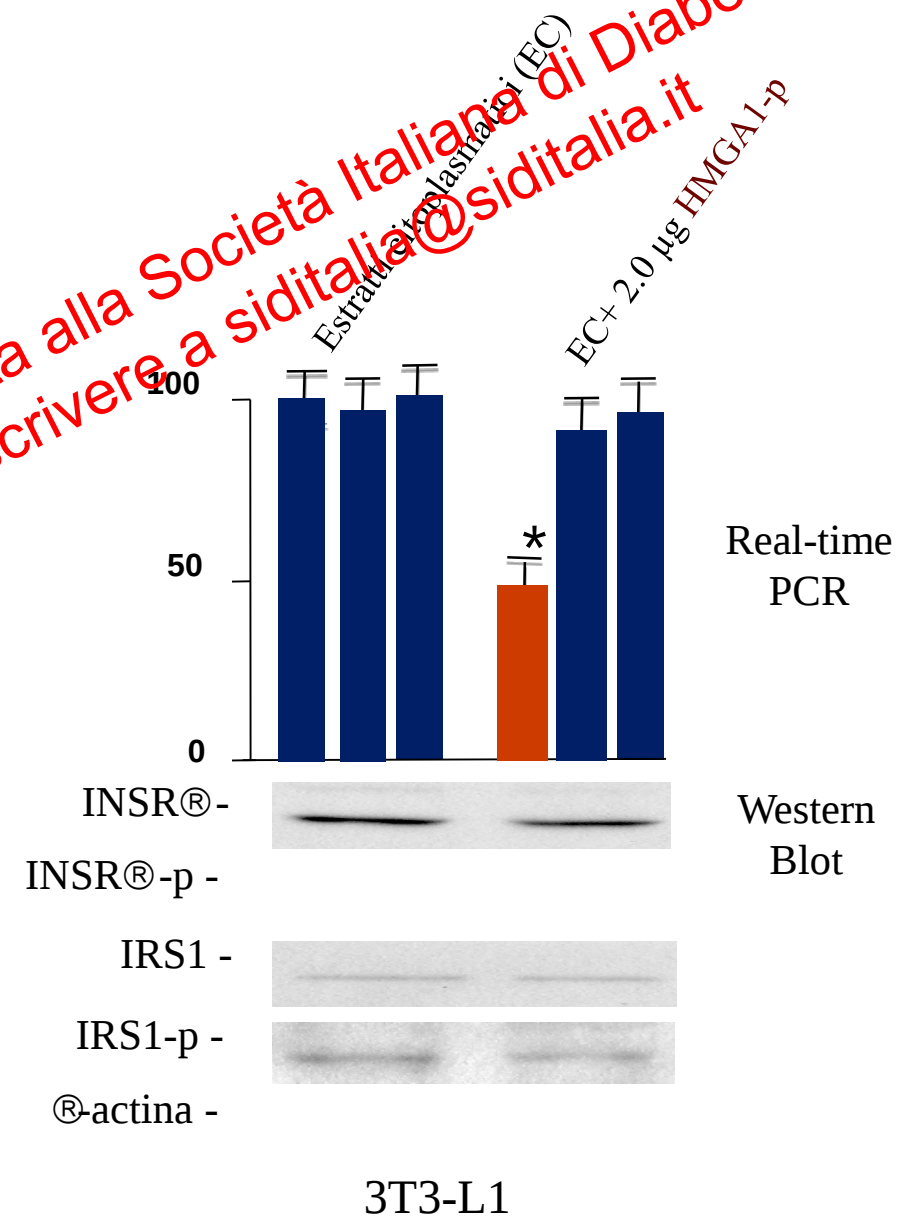
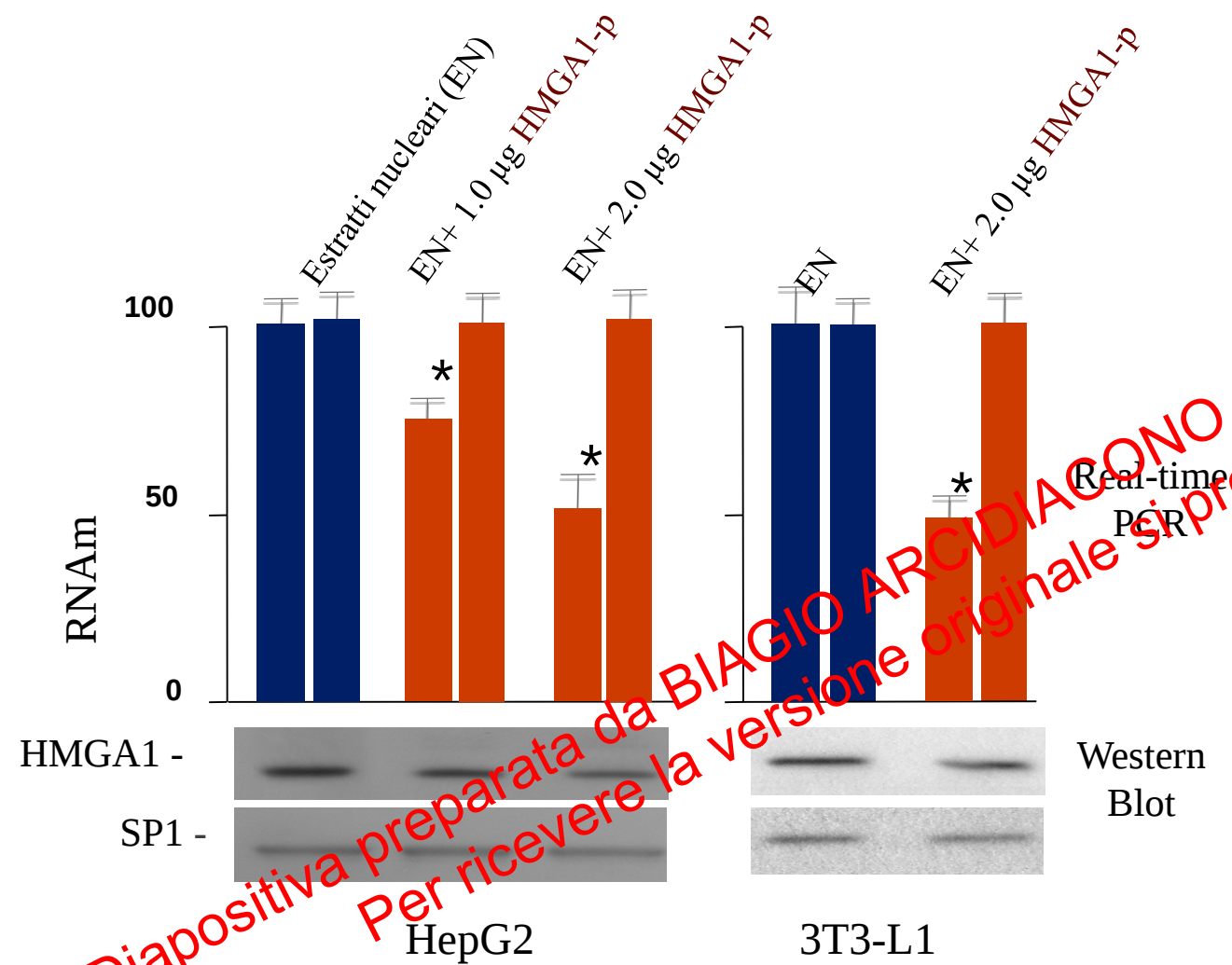
- Un deficit genetico di HMGA1 causa resistenza insulinica e DM2 nell'uomo e nel topo.
- La variante rs146052672 è presente nel 7% della popolazione diabetica, conferisce un alto rischio di malattia e ha un significato funzionale.

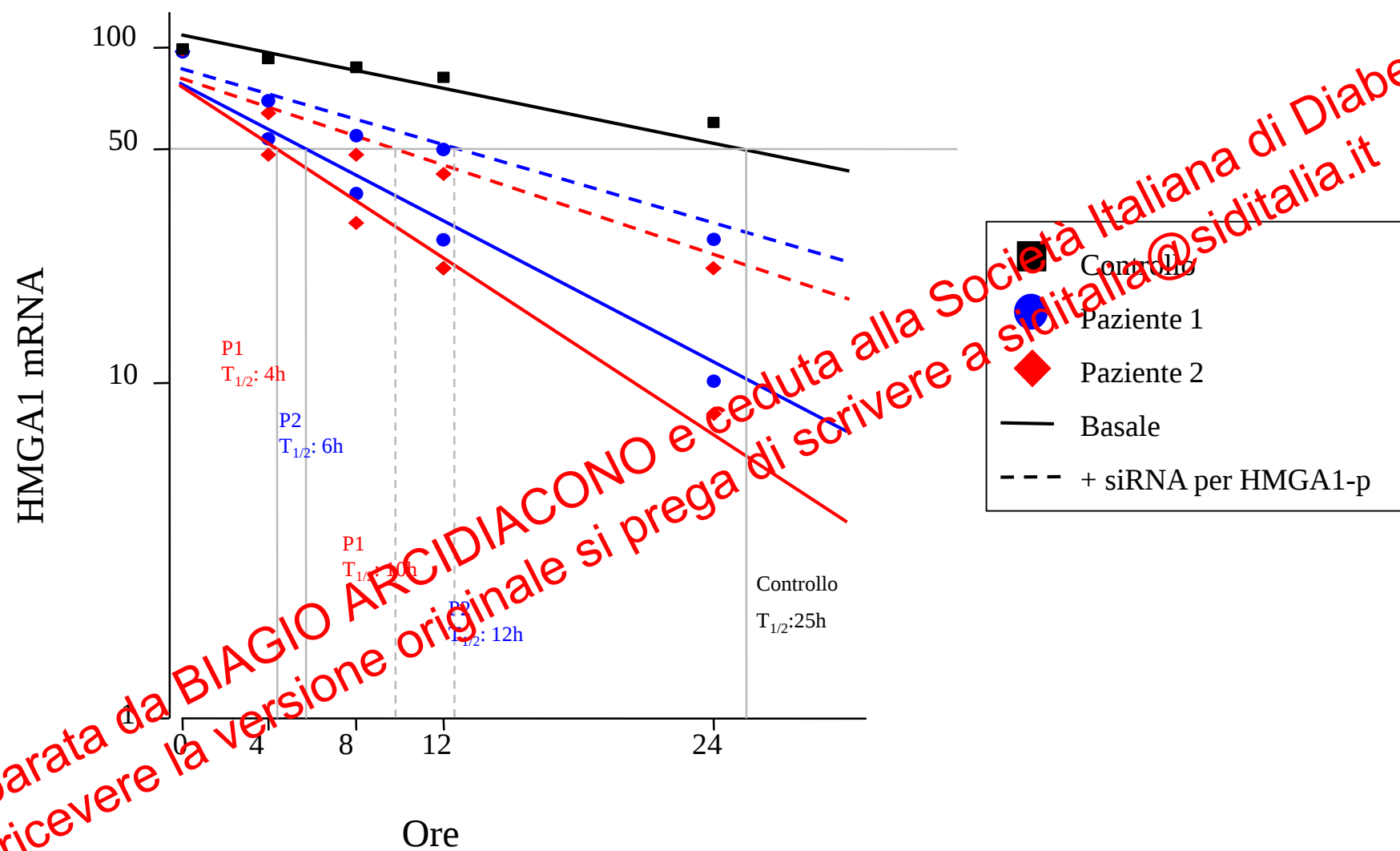
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Il genoma, a volte, riserva delle sorprese...

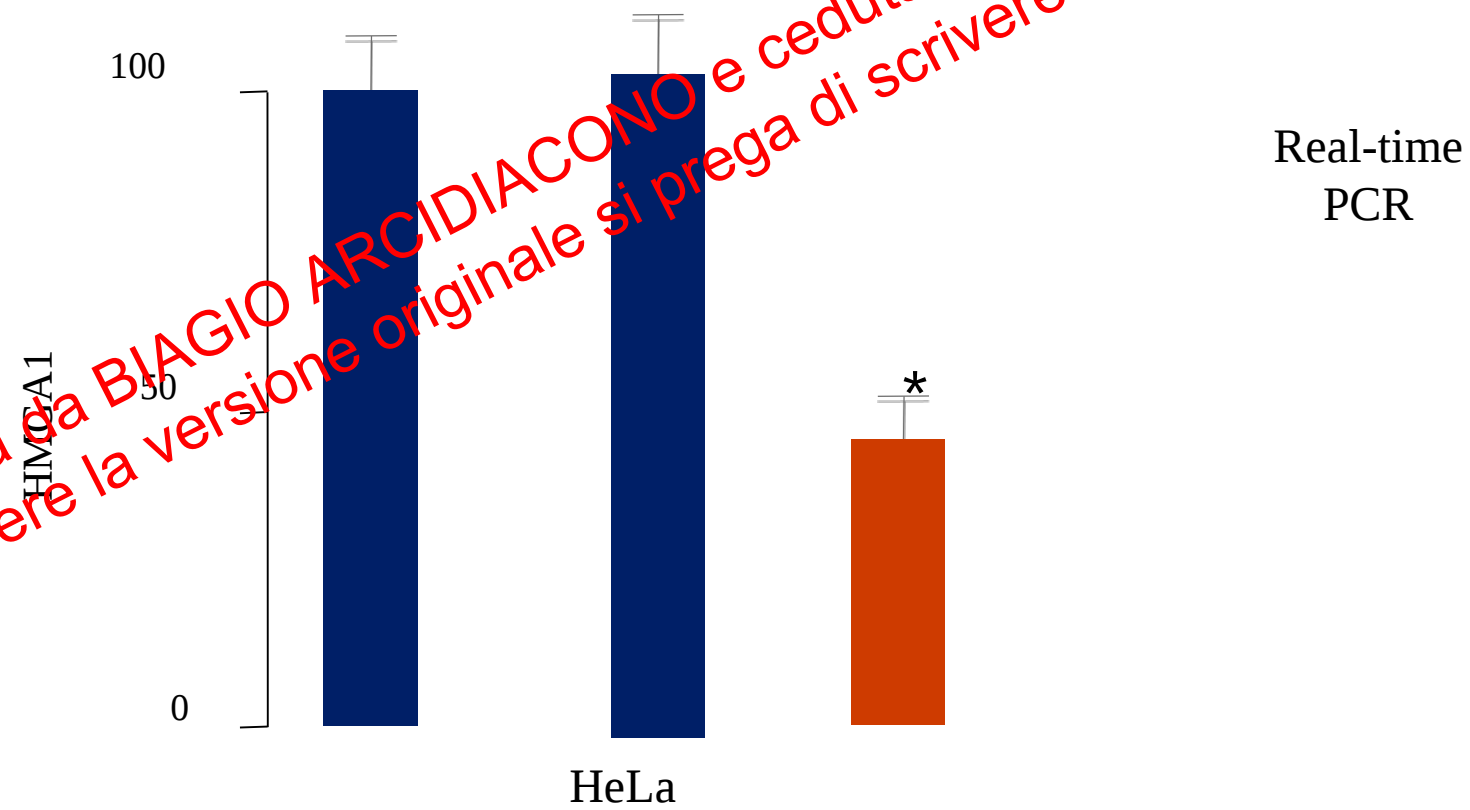


Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it





Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



3'UTR HMGA1

Frammenti
di HMGA1-p



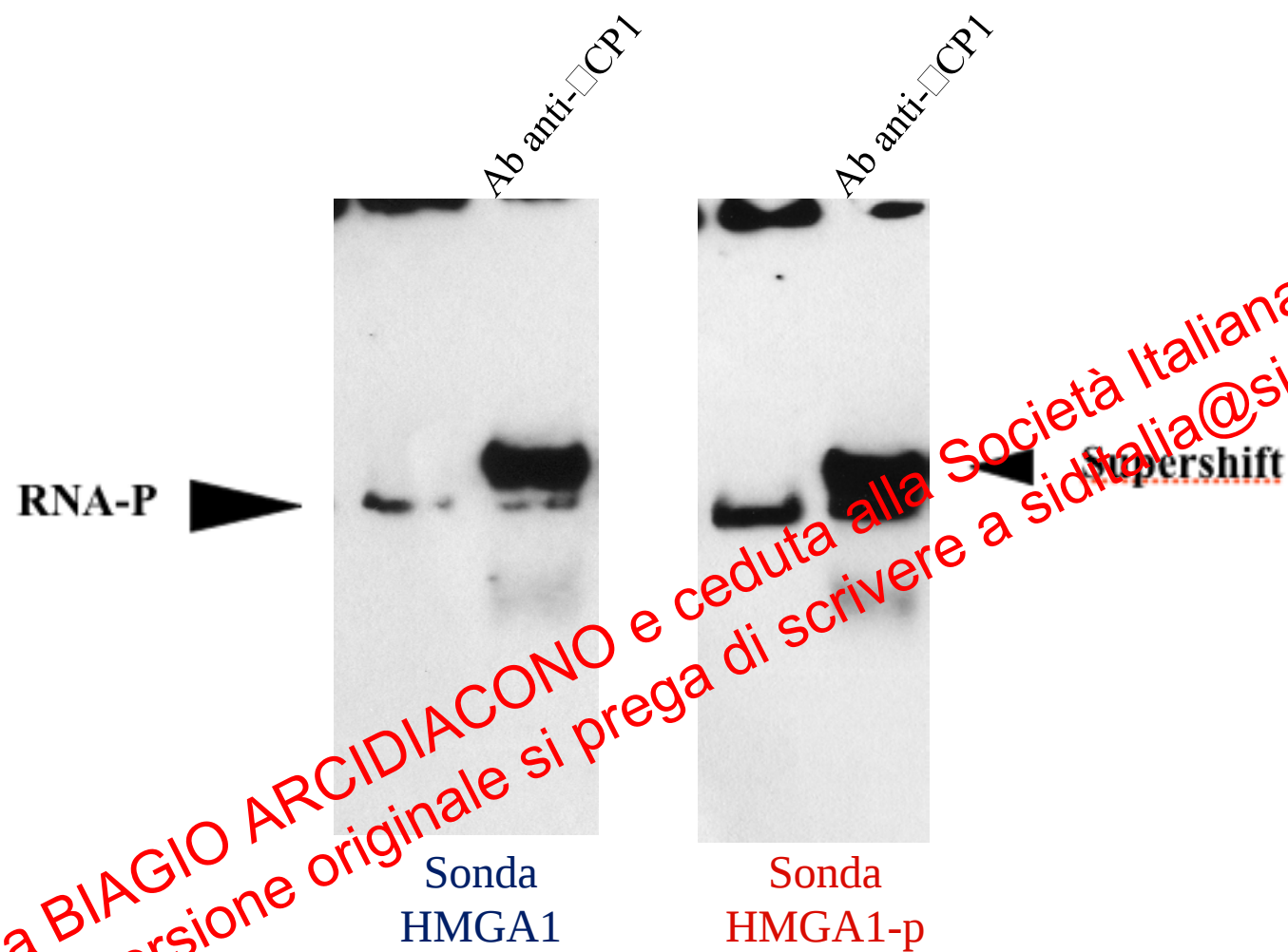
Effetto sull'espressione
di HMGA1

38 ± 4.2
-46 ± 4.8
-2 ± 3.1
$+3 \pm 2.8$
$+8 \pm 3.7$
$+15 \pm 3.7$
$+11 \pm 3.5$
$+12 \pm 3.6$

Sonda per EMSA RNA
(H7-p)

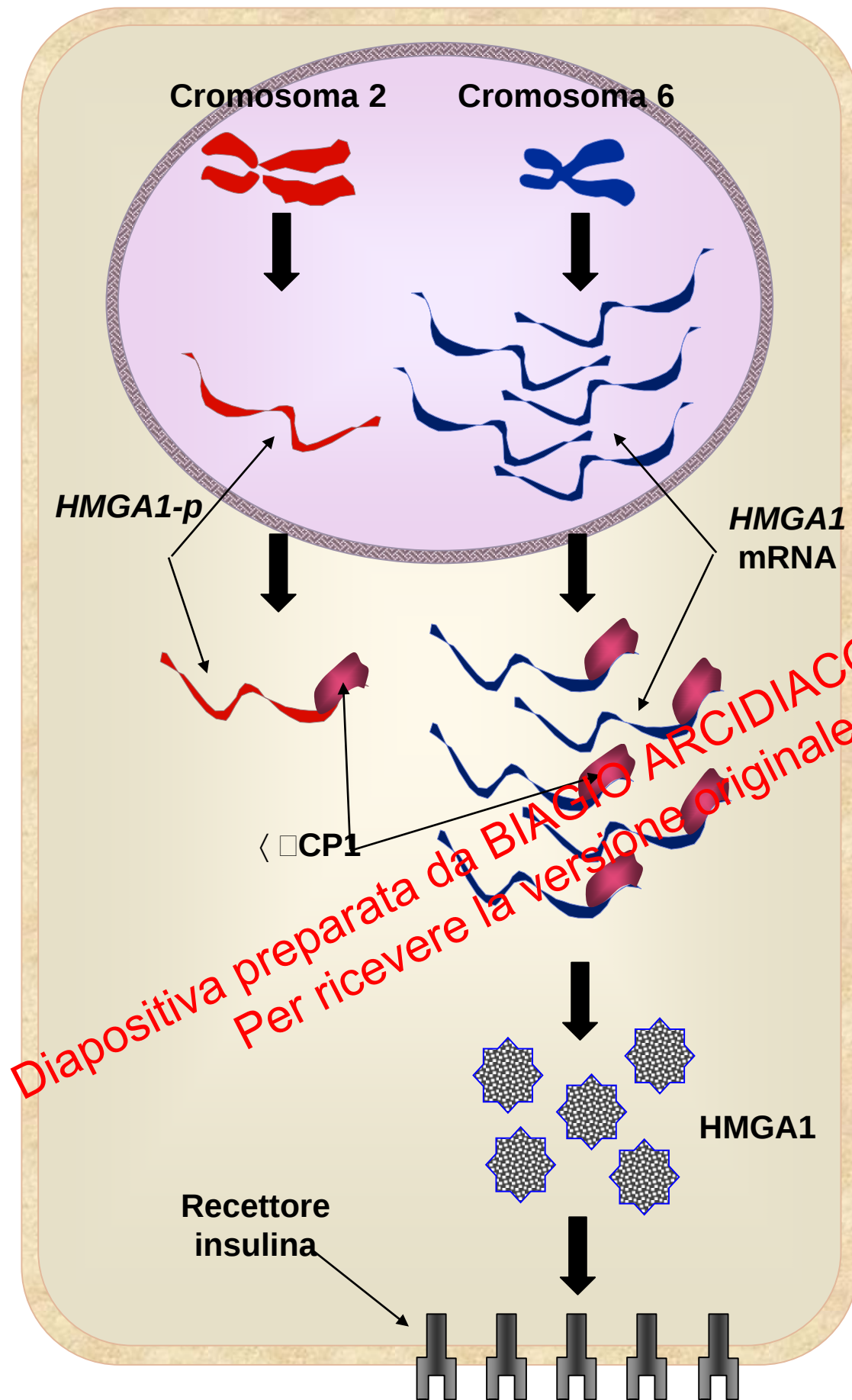
Sonda per EMSA RNA
(H7)

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

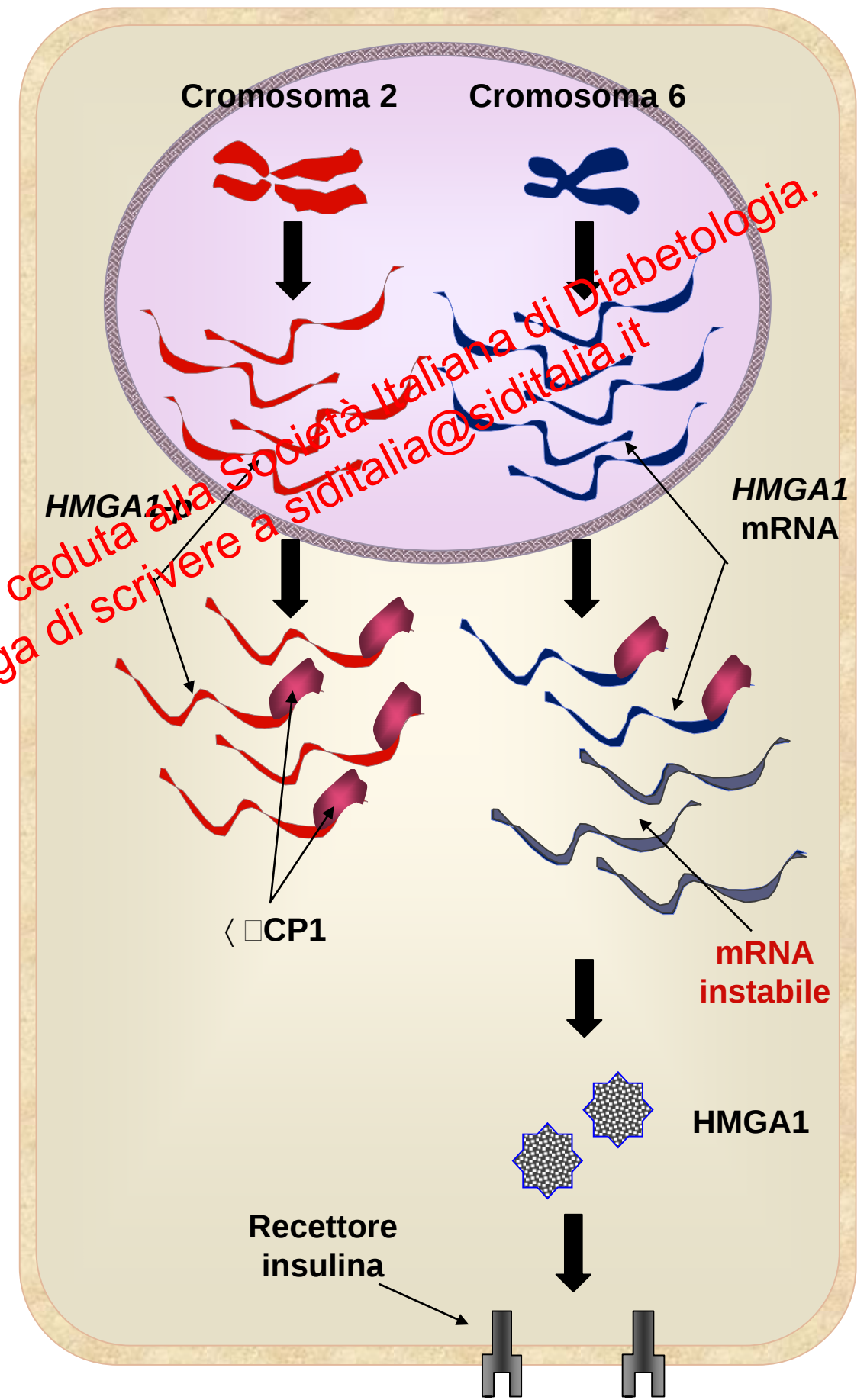


Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Condizione fisiologica



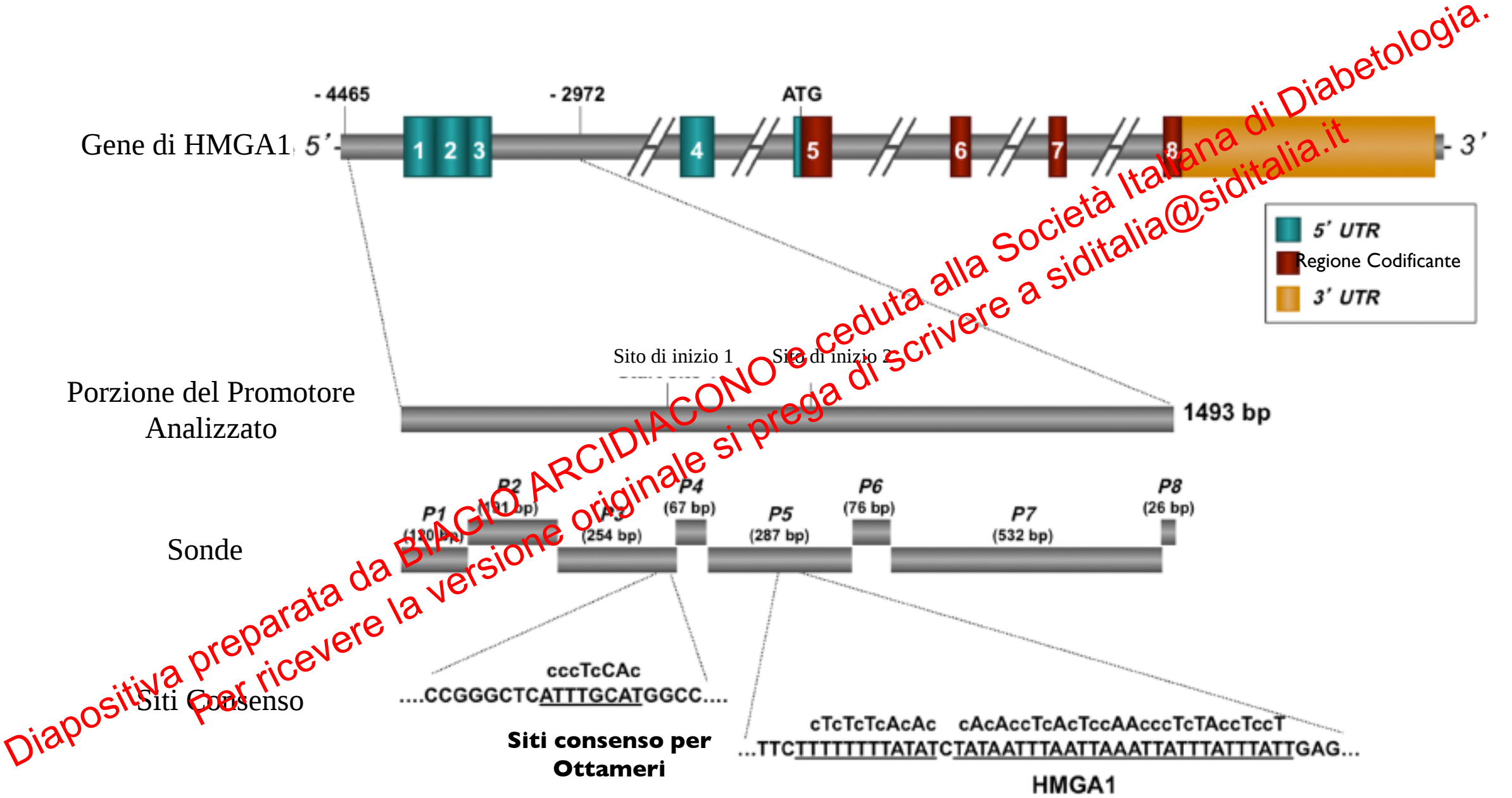
Iperespressione di *HMGA1-p*

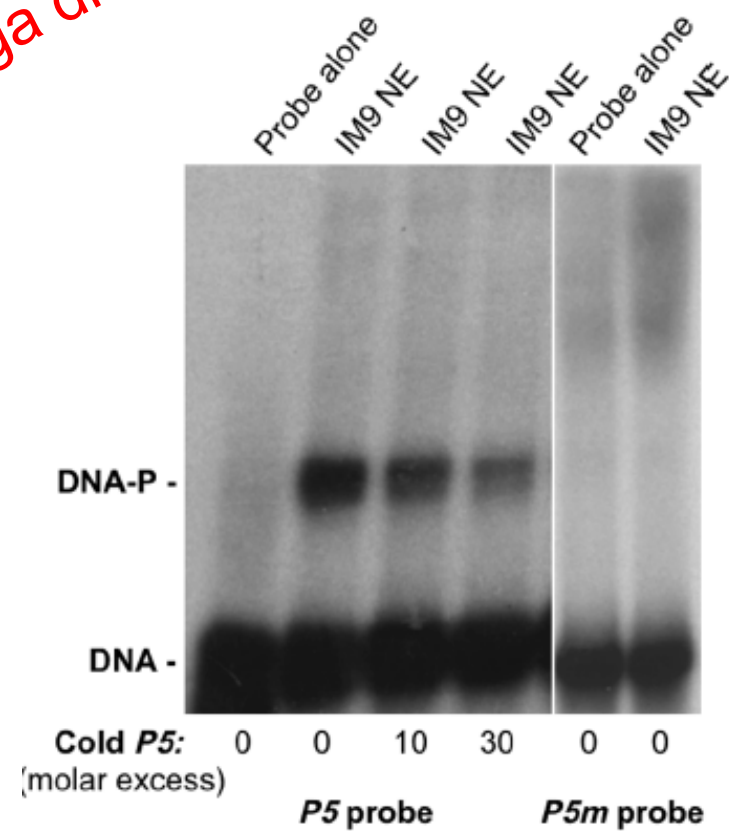
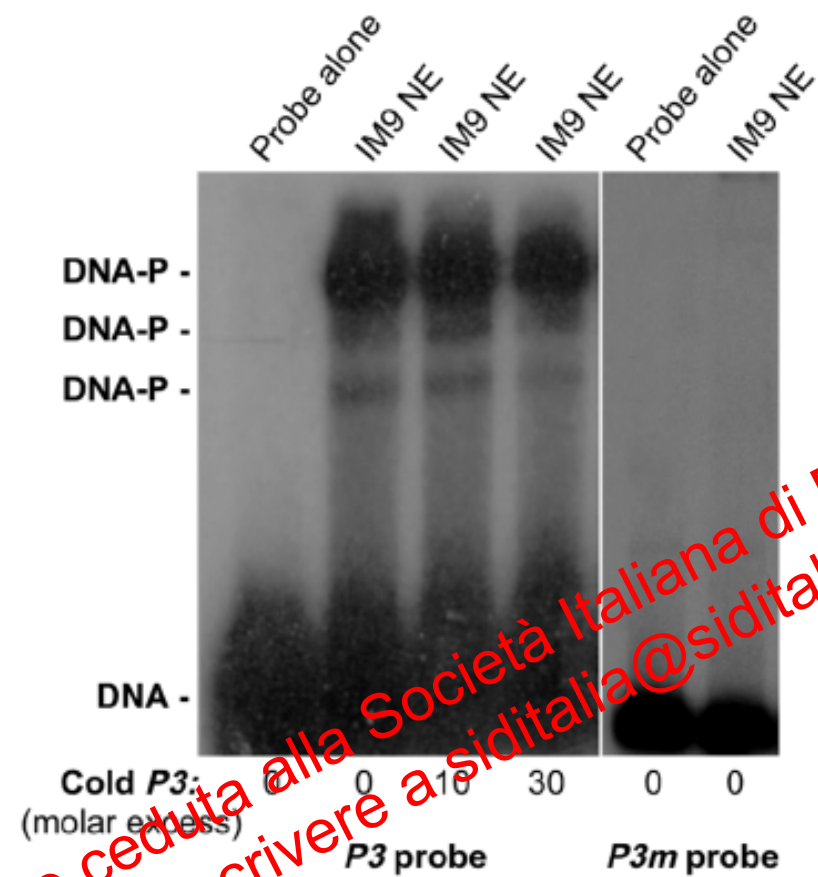
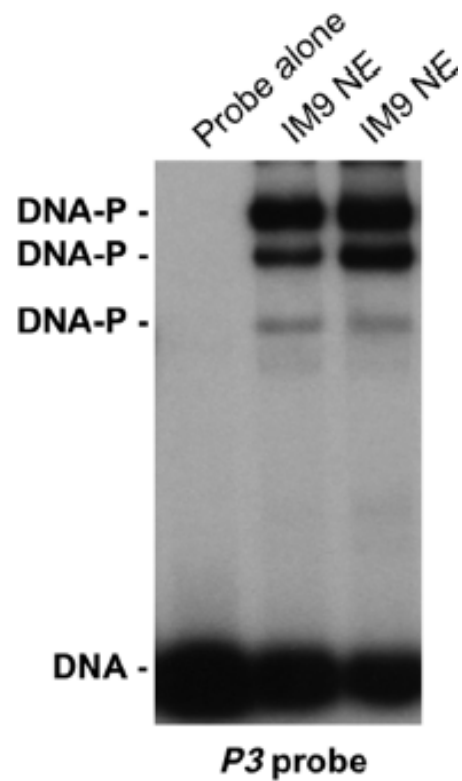


- Un deficit genetico di HMGA1 causa resistenza insulinica e DM2 nell'uomo e nel topo.
- Polimorfismi di HMGA1 sono presenti nel 7-10% della popolazione e con DM2 e sono fortemente associati alla malattia. In particolare, la variante rs146052672 è frequente nella popolazione diabetica, conferisce un alto rischio di malattia e ha un significato funzionale.
- L'iperespressione dello pseudogene di HMGA1 ha un effetto negativo sull'espressione del corrispettivo gene wild type. Di conseguenza, gli individui che esprimono lo pseudogene hanno ridotti livelli di HMGA1 e di INSR, risultando, perciò, suscettibili al diabete.

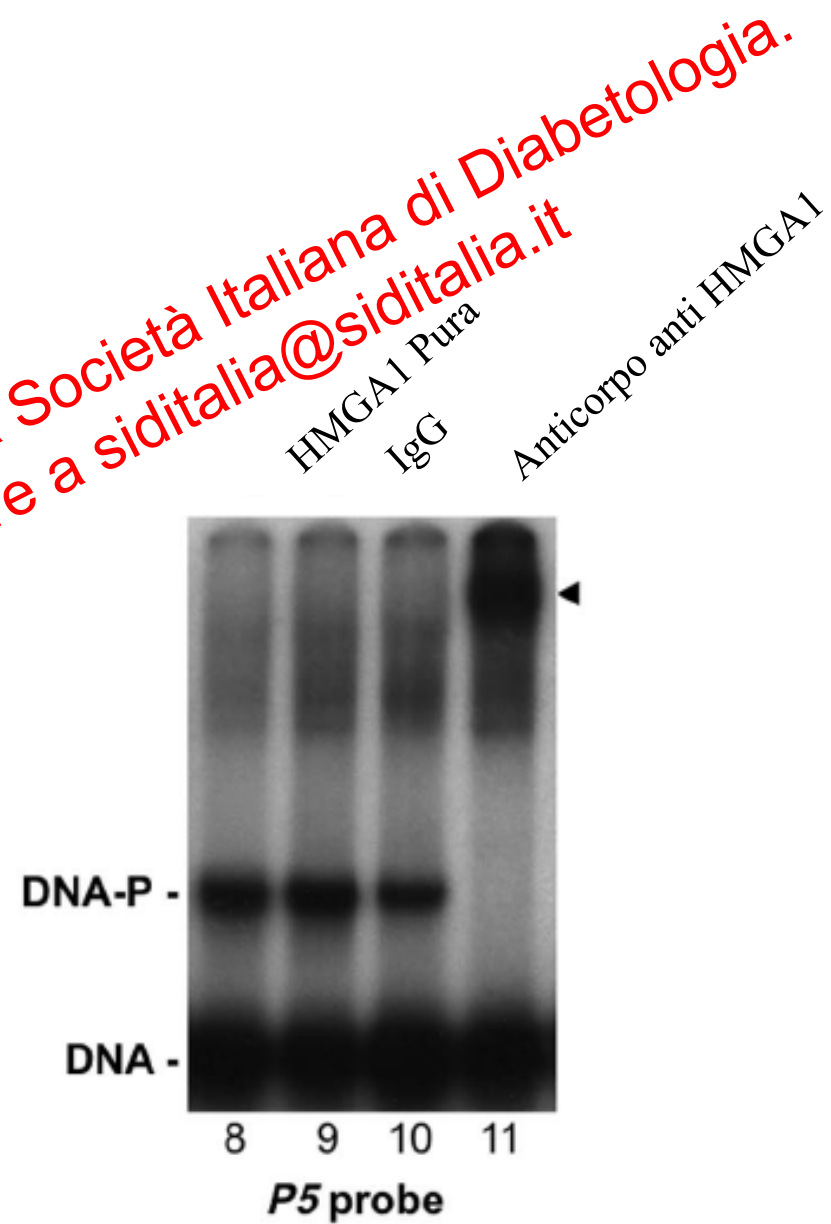
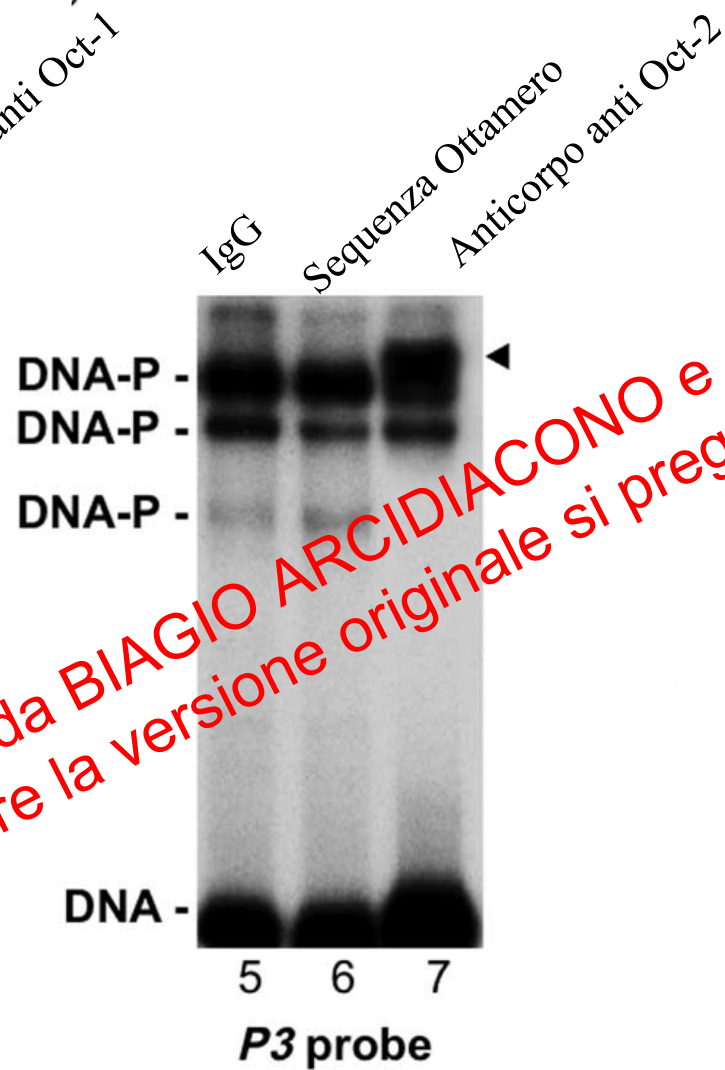
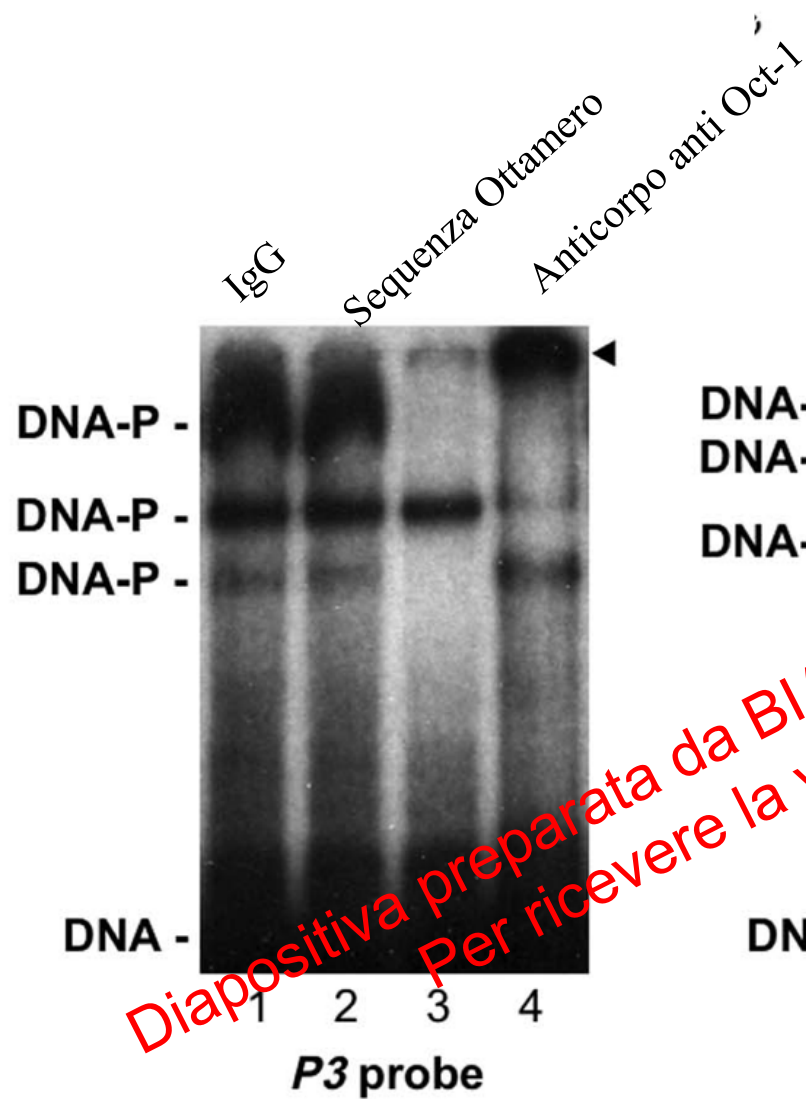
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Chi Controlla il Controllore?

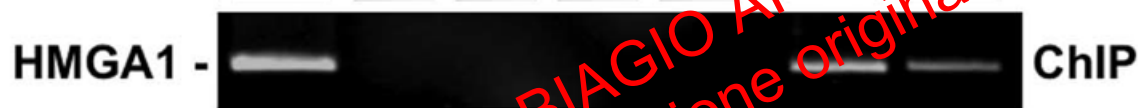
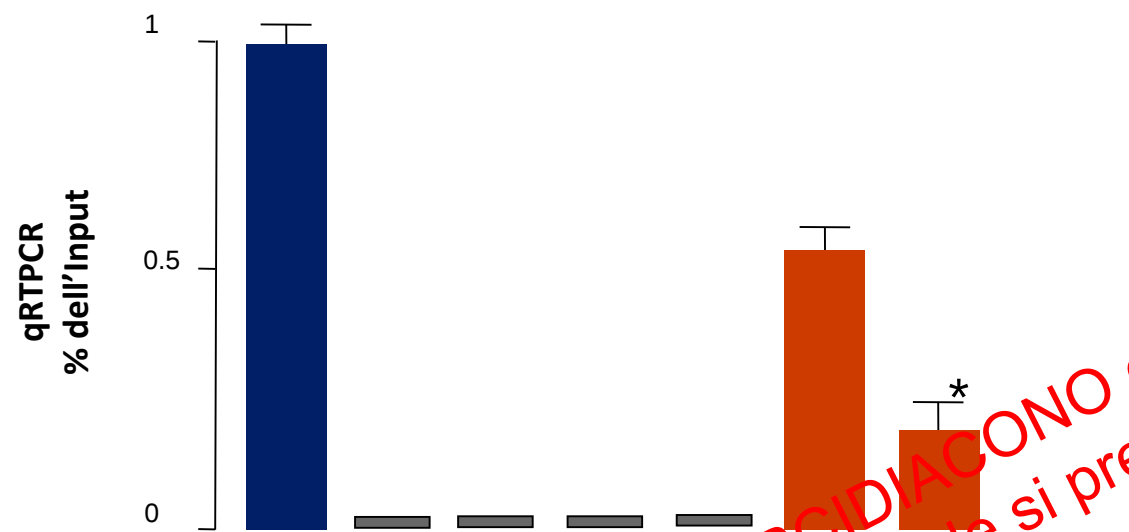




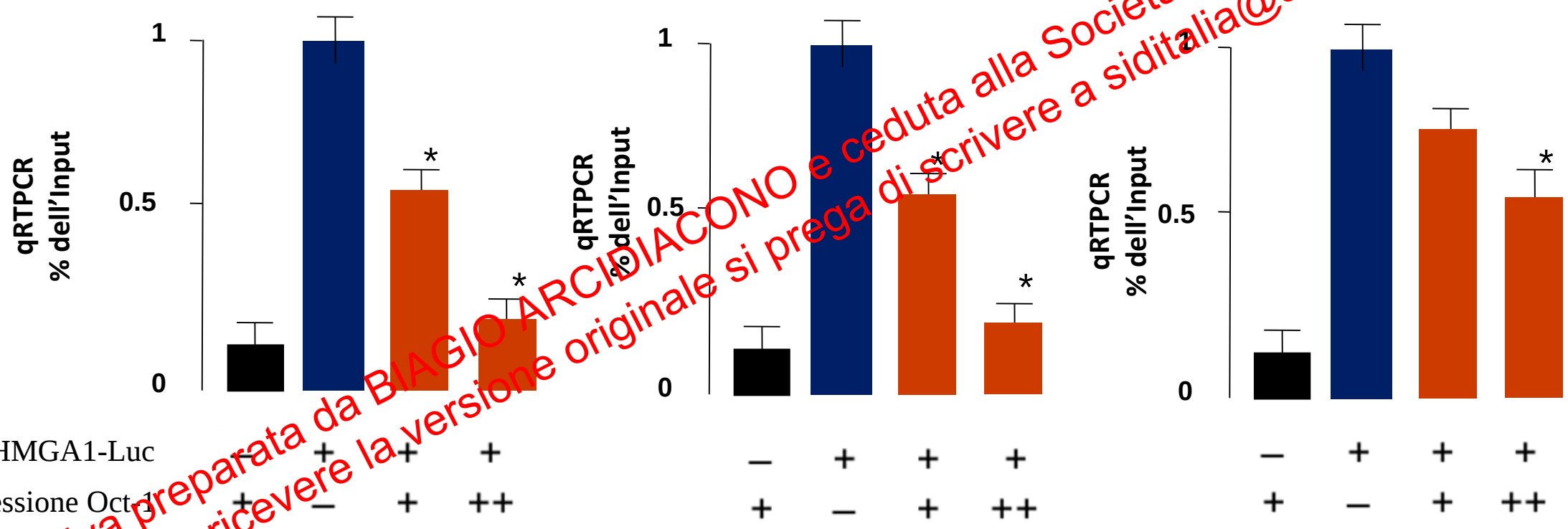
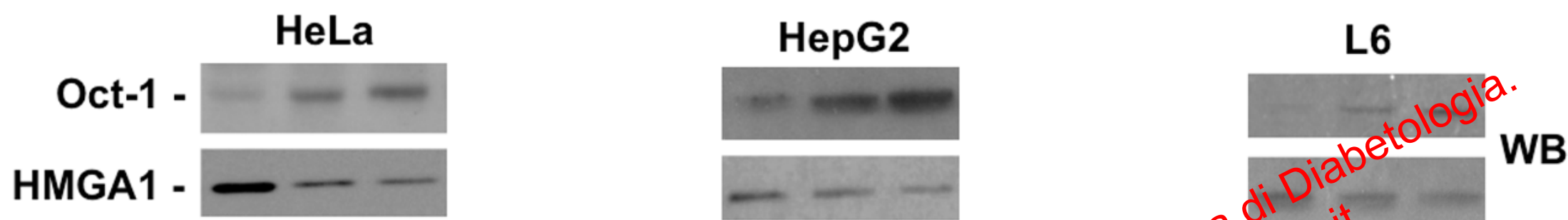
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

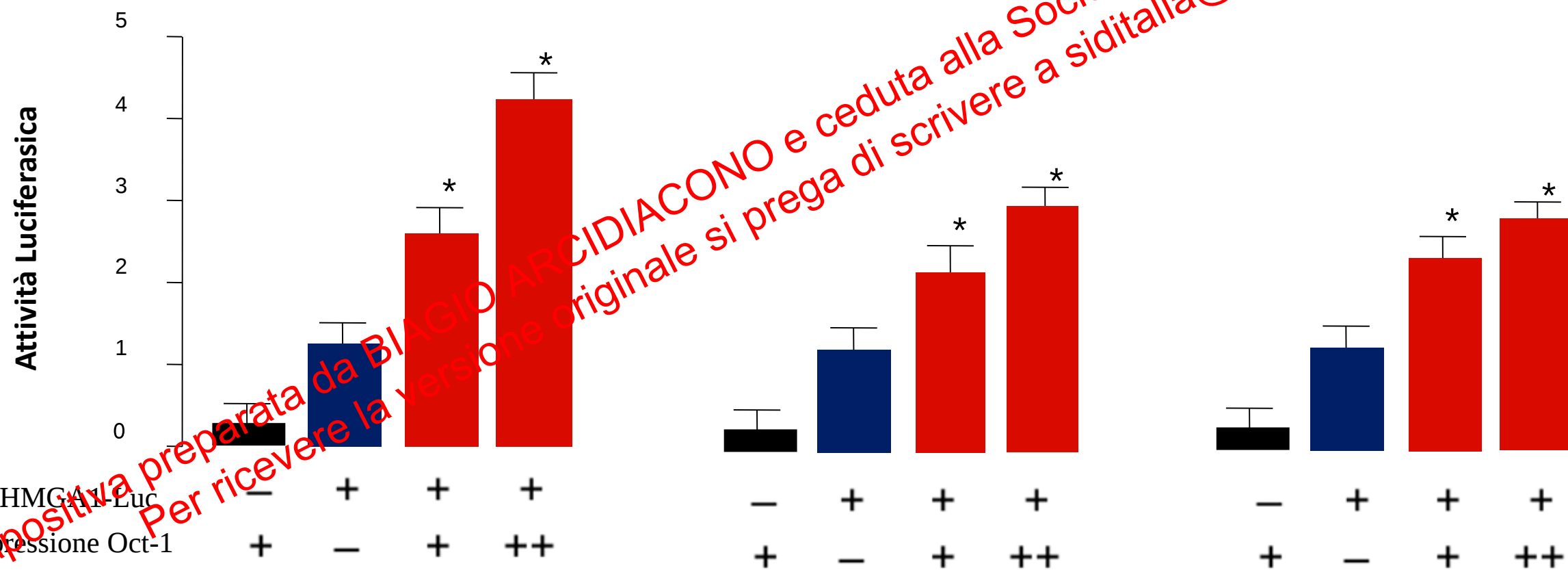
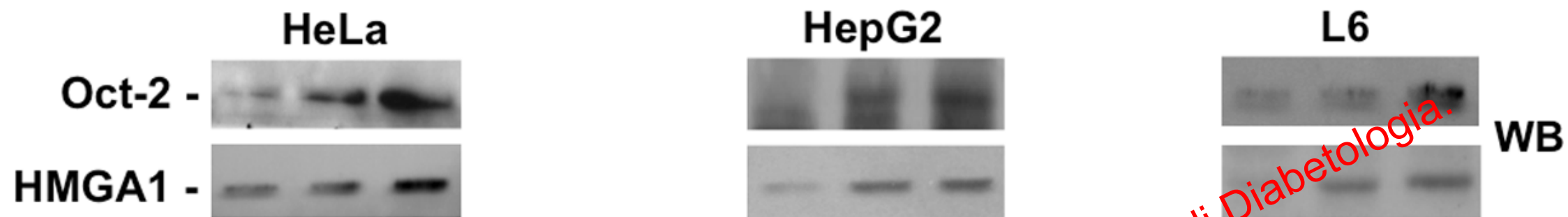


Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

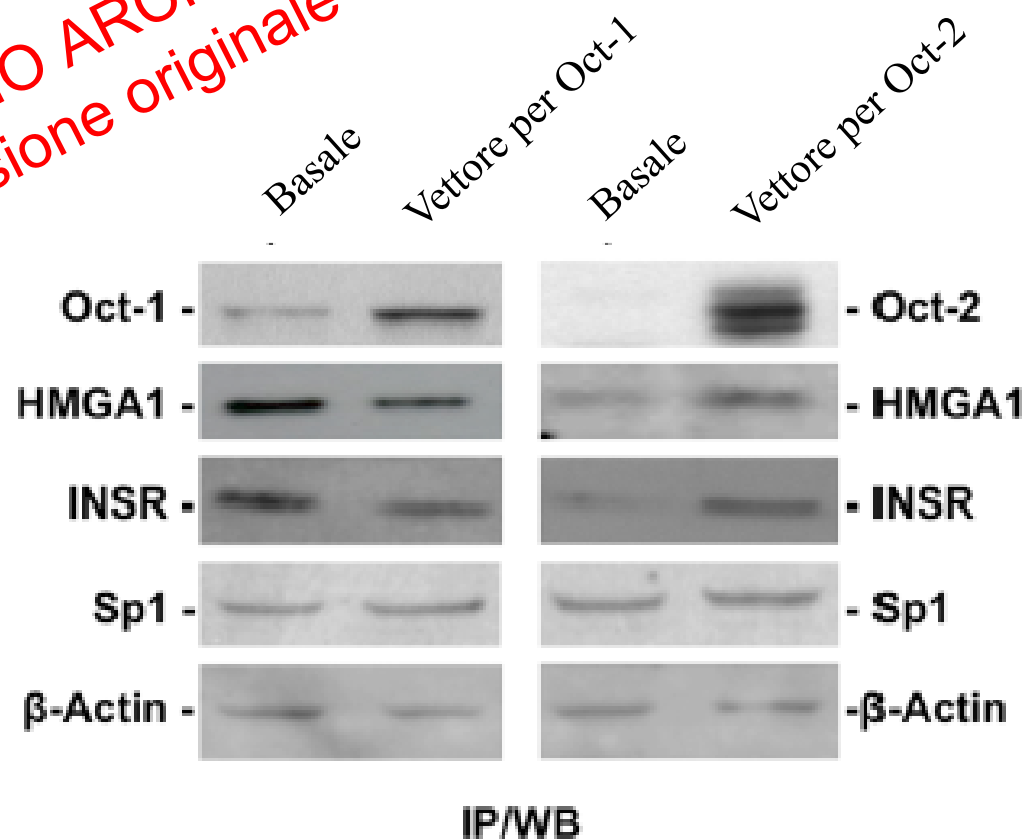
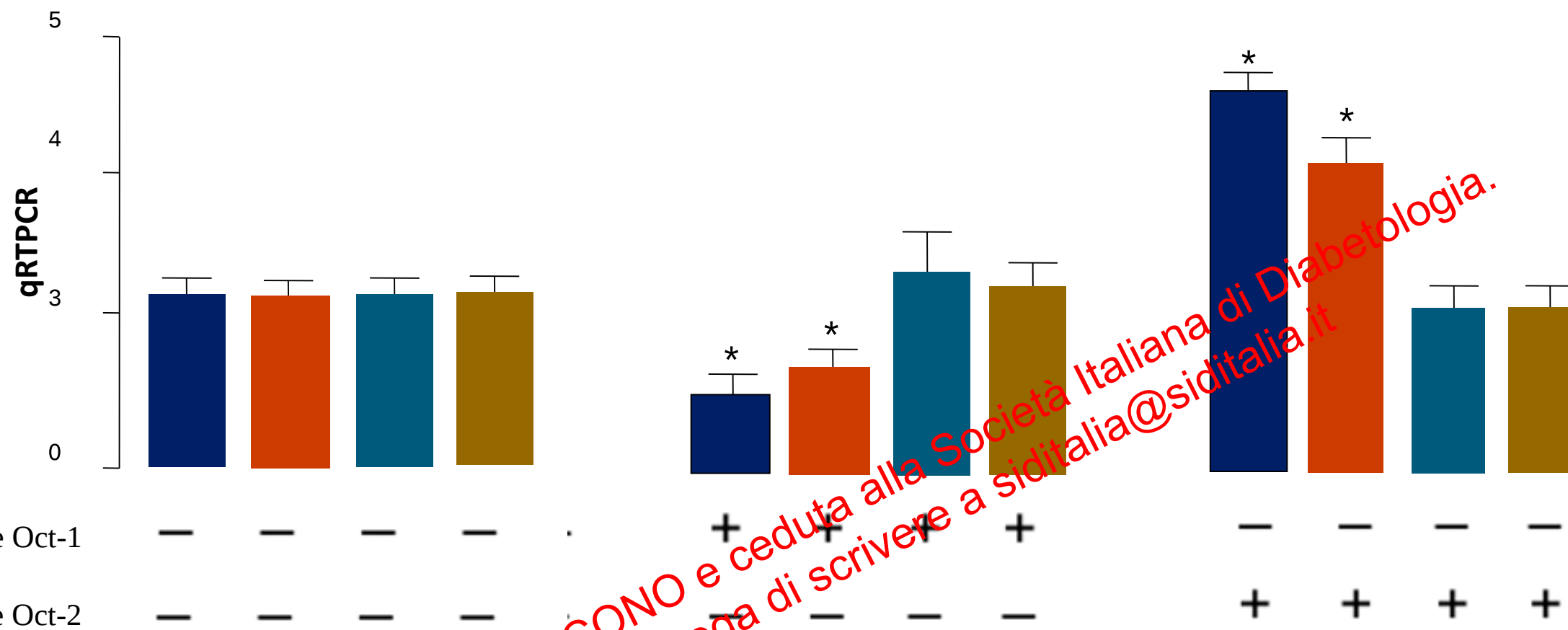
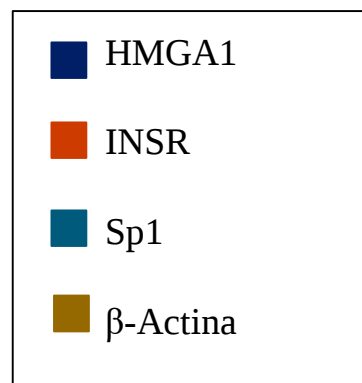


HMGA1-Luc
Vettore di espressione Oct-1

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Diapositiva preparata da BIANCO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



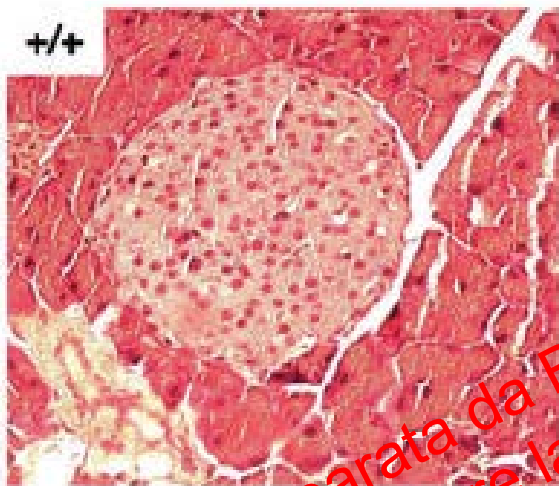
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

- Un deficit genetico di HMGA1 causa resistenza insulinica e DM2 nell'uomo e nel topo.
- Polimorfismi di HMGA1 sono presenti nel 7-10% della popolazione con DM2 e sono fortemente associati alla malattia. In particolare, la variante rs146052672 è frequente nella popolazione diabetica, conferisce un alto rischio di malattia e ha un significato funzionale.
- L'iperespressione dello pseudogene di HMGA1 ha un effetto negativo sull'espressione del corrispettivo gene wild type. Di conseguenza, gli individui che esprimono lo pseudogene hanno ridotti livelli di HMGA1 e di INSR, risultando, perciò, suscettibili al diabete.
- Le proteine Oct-1 e Oct-2 sono cruciali per modulare l'espressione genica di HMGA1

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Ruolo di HMGA1 nelle cellule beta del Pancreas

$+/+$



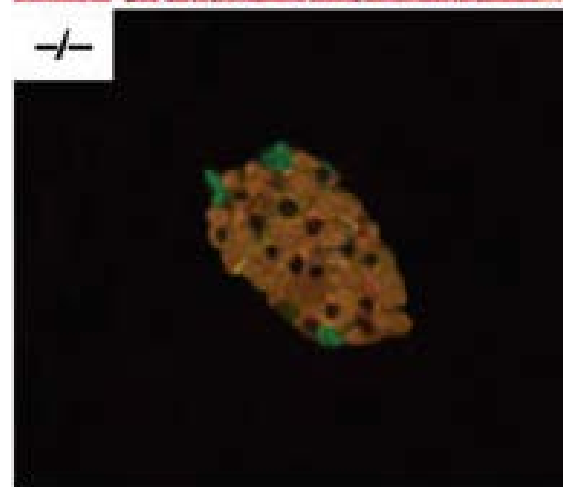
$+/+$



$-/-$

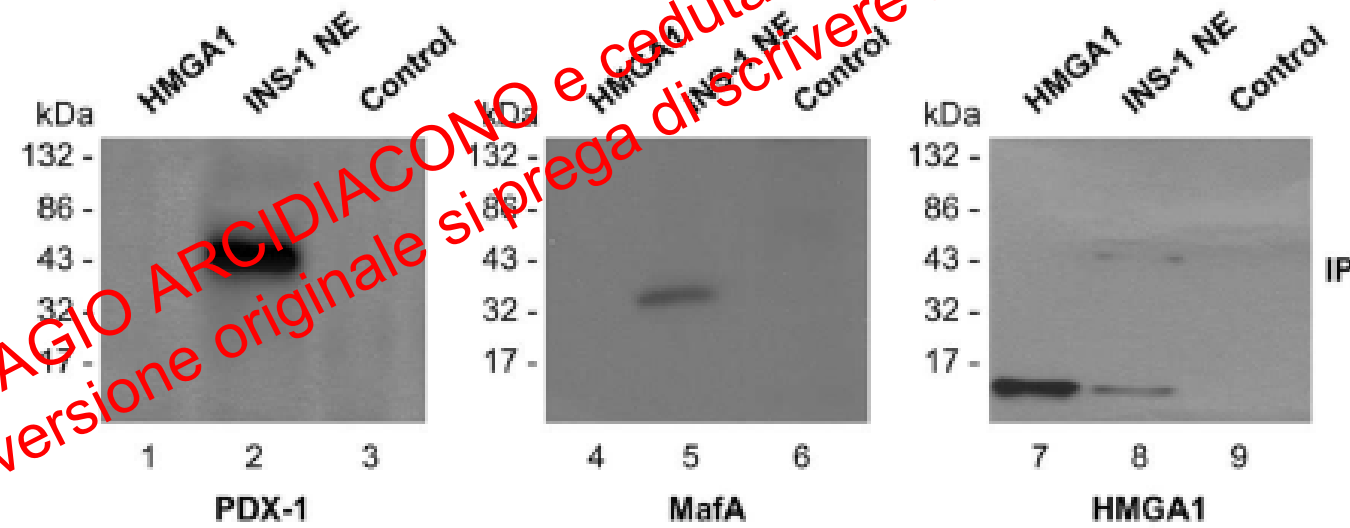
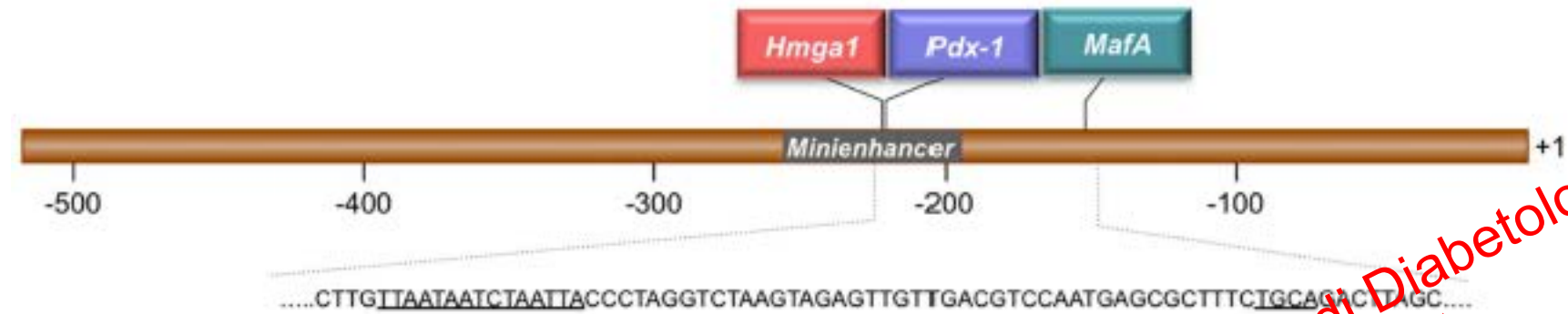


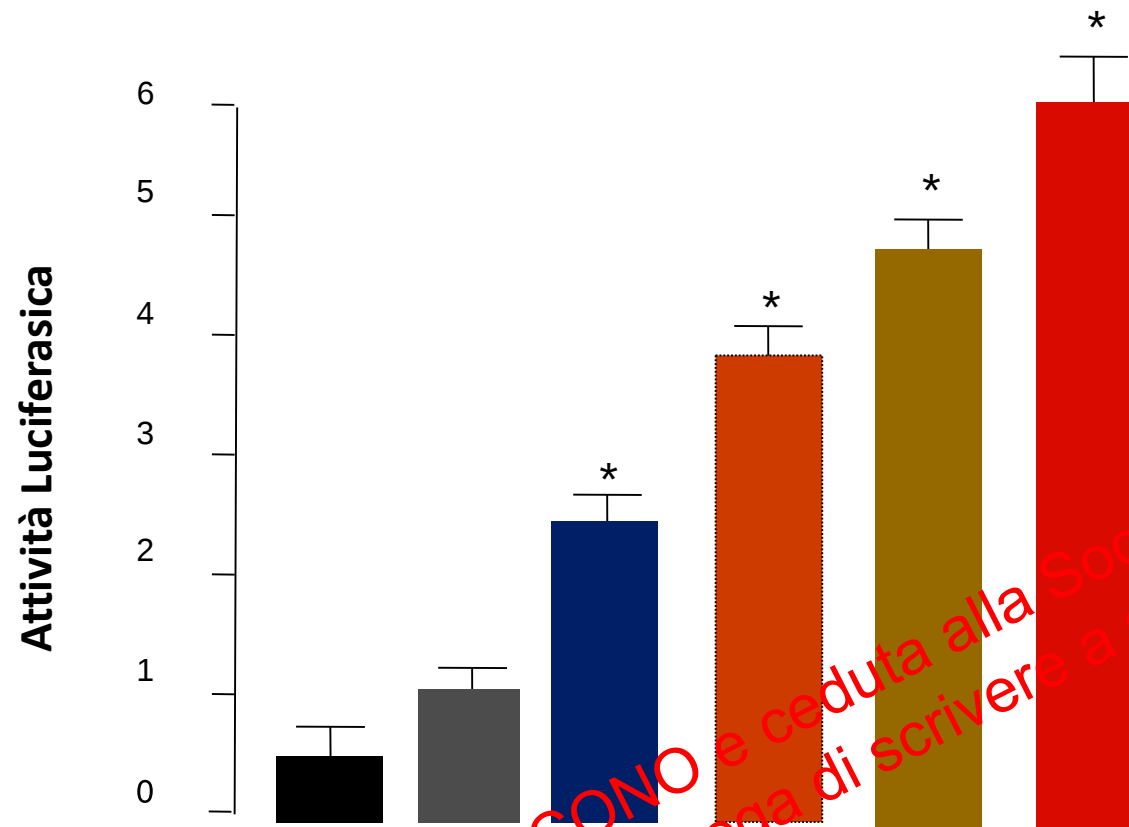
$-/-$



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Promotore del gene di
INS





Reporter: *phINS-Luc*

Effettori: *HMGA1*

PDX-1

MoJA

+

+

+

-

-

-

+

+

+

+

-

-

+

-

+

-

-

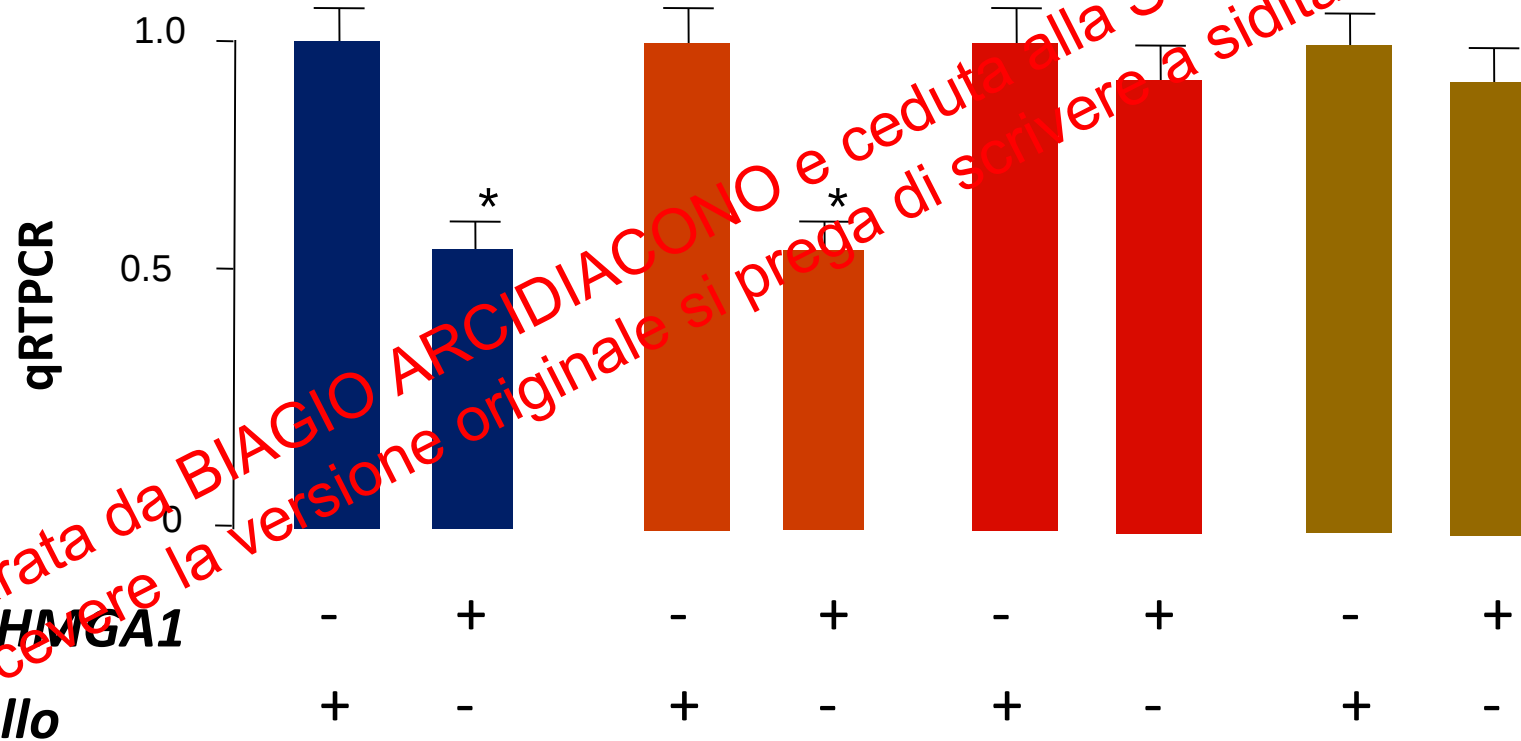
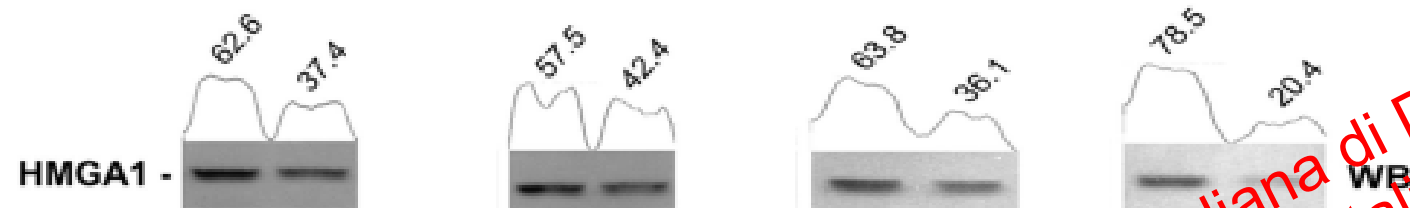
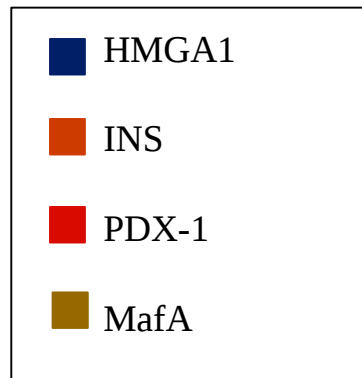
-

+

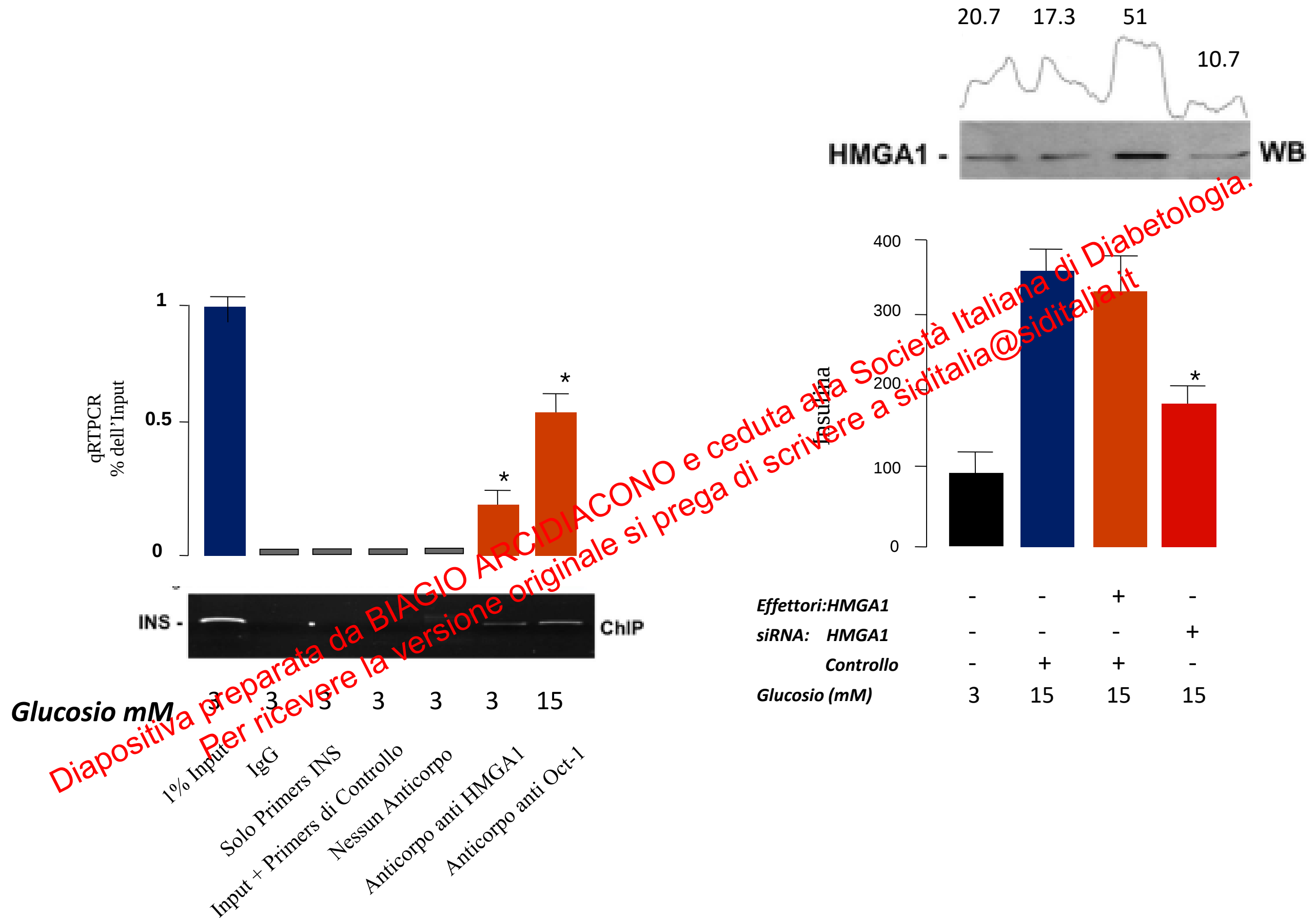
+

Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Societa' Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

INS-1



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
 per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



Un deficit genetico di HMGA1 causa resistenza insulinica e DM2 nell'uomo e nel topo.

Polimorfismi di HMGA1 sono presenti nel 7-10% della popolazione con DM2 e sono fortemente associati alla malattia. In particolare, la variante rs146032672 è frequente nella popolazione diabetica, conferisce un alto rischio di malattia e ha un significato funzionale.

L'iperespressione dello pseudogene di HMGA1 ha un effetto negativo sull'espressione del corrispettivo gene wild type. Di conseguenza, gli individui che esprimono lo pseudogene hanno ridotti livelli di HMGA1 e di INSR, risultando, perciò suscettibili al diabete.

Le proteine Oct-1 e Oct-2 sono cruciali per modulare l'espressione genica di HMGA1

A livello pancreatico, HMGA1 coopera con PDX-1 e MafA per garantire una normale produzione di insulina e una corretta funzionalità della cellula β

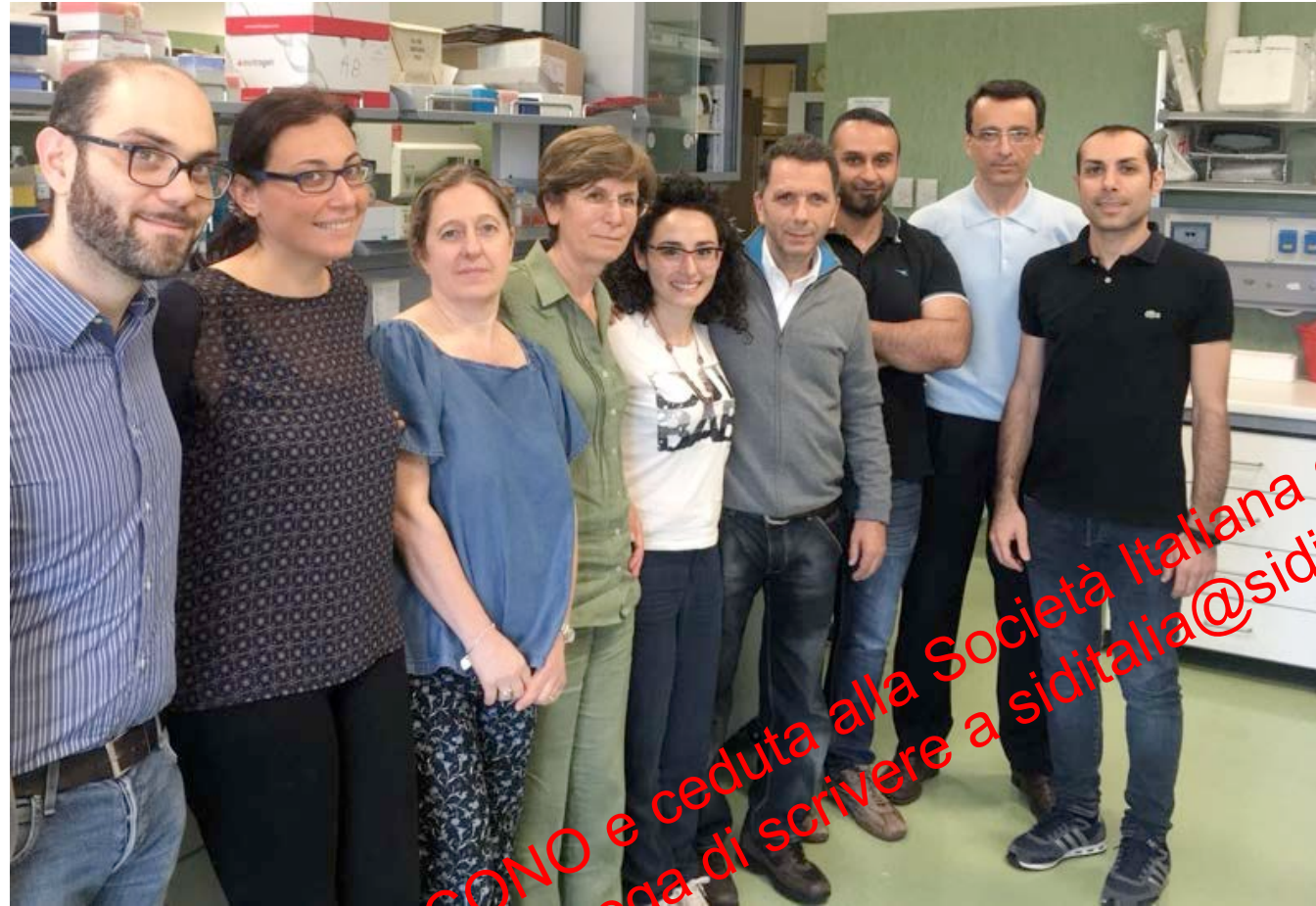
Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Conclusioni

➤ Le evidenze sperimentali dimostrano che le anomalie funzionali di HMGA1 sono implicate nella IR e DM2. Questi risultati individuano nel fattore architetturale HMGA1 un possibile nuovo target terapeutico

➤ Nuove strategie curative potrebbero essere allestite per aumentare l'espressione di HMGA1 nei pazienti con questo difetto. Nello specifico, studi di farmacogenetica potrebbero selezionare sottogruppi di pazienti affetti da “HMGA1patia” che rispondano meglio a specifici farmaci piuttosto che altri.

➤ Infine, dal punto di vista diagnostico, HMGA1 potrebbe rappresentare un nuovo marker predittivo precoce di DM2 specialmente negli individui con storia familiare di malattia o altre condizioni cliniche correlate.



Prof. Antonio Brunetti

Prof.ssa Daniela Foti

Prof. Eusebio Chieffari

Momenti di vita quotidiana...



Diapositiva preparata da BIAGIO ARCIDIACONO e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it