

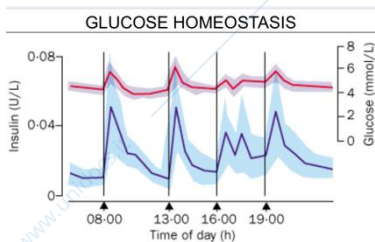
## TERAPIA DEL DIABETE MELLITO

Il diabete mellito costituisce uno dei fattori di rischio per le malattie CV modificabili; i pazienti diabetici hanno un più alto rischio di infarti, eventi coronarici, arteropatia periferica e ictus rispetto ai soggetti sani.

Per diabete mellito si indica un gruppo di malattie metaboliche tutte *caratterizzate da iperglicemia*, aumento della concentrazione ematica di glucosio.

L'iperglicemia è il risultato della carenza di insulina o di un difetto nell'azione dell'ormone o dalla combinazione di entrambe.

### Andamento concentrazioni plasmatiche di insulina e glucosio



Il glucosio (linea in alto) non ha una concentrazione ematica costante in tutta la giornata; si hanno dei picchi corrispondenti ai pasti. La glicemia in Italia si misura in mg\dl e durante la giornata varia tra i 70 e i 120 mg\dl in condizioni di normoglicemia.

L'insulina (curva sotto) anch'essa non ha concentrazione costante durante la giornata; ha dei picchi in corrispondenza dei picchi di glucosio e la concentrazione dell'insulina si misura in U\l

A livello metabolico si va a distinguere ciò che avviene a digiuno e ciò che avviene in fase post-prandiale

Nella fase post-prandiale ha un ruolo molto importante l'insulina, ormone secreto dalle cellule  $\beta$ -pancreatiche che aumenta la sua concentrazione in questa fase e stimola tessuti insulina-dipendenti (tessuto adiposo e muscolare) ad assorbire glucosio; stimola poi anche il fegato

L'insulina circolante è un ormone peptidico composto da una catena A e una B legati da 2 ponti disolfuro; la porzione C, connective peptide, viene idrolizzata durante la maturazione dell'insulina, viene mantenuto nei granuli e secreto con l'insulina.

Anche in condizioni di digiuno la concentrazione di insulina non si azzerava, aumenta poi in maniera significativa in fase post-prandiale.

L'insulina generalmente dimerizza ed eventualmente, in determinate condizioni come la presenza di ioni zinco, esameri. Questa proprietà dell'insulina viene sfruttata anche nella produzione delle insuline terapeutiche

### Secrezione dell'insulina

L'insulina viene prodotta e accumulata in granuli a livello delle cellule  $\beta$  del pancreas; il rilascio di insulina è promosso soprattutto dal glucosio. Questo entra nella cellula attraverso GLUT-2 e entra nella glicolisi con conseguente produzione di ATP.

ATP va a chiudere il canale del  $K^+$  ATP-dipendente con conseguente depolarizzazione di membrana che permette l'influsso di  $Ca^{2+}$  dal canale voltaggio-dipendente.

Il  $Ca^{2+}$  permette la fusione dei granuli con la membrana e il rilascio di insulina nel circolo ematico.

L'ormone andrà a reagire sui tessuti periferici grazie a un recettore proprio promuovendo una serie di azioni tra cui

1. Traslocazione GLUT-4 in membrana nei tessuti insulina-dipendenti (muscolo e adiposo)  $\rightarrow$  rende le cellule in grado di captare glucosio
2. Aumento della sintesi di glicogeno e inibizione della glicogenolisi nel fegato
3. Aumento della sintesi di TG nel fegato e nell'adiposo
4. Aumento della sintesi proteica nel muscolo

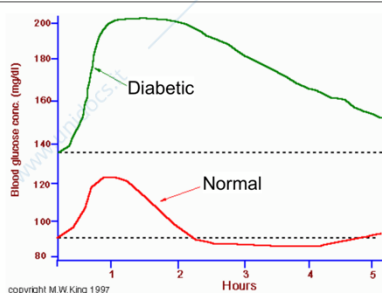
La porzione di insulina che interagisce con il recettore è la catena A, mentre la porzione B promuove l'aggregazione; si ha appaiamento delle estremità C-terminali delle catene B per la dimerizzazione

### Diagnosi del diabete mellito

Essendo questa malattia caratterizzata da iperglicemia, la diagnosi si fa sulla glicemia. Questa può essere misurata in due condizioni

1. A digiuno, astensione da ingresso calorico per almeno 8 ore. Una glicemia a digiuno (FPG) maggiore o uguale a 126 mg/dl (7 mmol/l) indica una condizione di diabete
2. Misurazione della glicemia in fase post-prandiale, poco standardizzabile in quanto dipende dal carico glicemico del pasto. Per ovviare a questa problematica si utilizza un test, OGTT (oral glucose tolerance test) in cui viene somministrato al soggetto 75 g di glucosio disciolto in acqua e poi si misura la glicemia a distanza di due ore; un valore maggiore o uguale a 200 mg/dl (11,1 mmol/l) indica una condizione di diabete
3. Misura casuale nell'arco della giornata di glicemia maggiore o uguale a 200 mg/dl

OGTT in a DIABETIC PATIENT



Nel soggetto diabetico il valore basale è più alto del normale, il picco è molto alto e la discesa è molto lenta → intolleranza al glucosio

Nel soggetto sano il picco non raggiunge mai i 150-140 mg/dl e in poche ore la glicemia torna ai valori di partenza

### Complicanze del diabete mellito

I soggetti diabetici rispetto ai soggetti non diabetici hanno un rischio di malattia coronarica, morte vascolare e di ictus che è circa il doppio rispetto al soggetto sano.

Altre complicanze sono la retinopatia e la nefropatia, problematiche legate ai vasi, non al macrocircolo ma la **microcircolo**; le problematiche relative ai vasi sono causate dal glucosio, il quale esercita tossicità sulle cellule endoteliali, tra cui la riduzione nella produzione di NO, potente vasodilatante prodotto dalla cellula endoteliale.

NO va ad agire sulle cellule endoteliali lisce promuovendo la vasodilatazione.

Inoltre un aumento di glucosio causa un aumento di ROS

→ Obiettivo del paziente diabetico è mantenere la glicemia nei valori normali

I numeri di normalità della glicemia sia a digiuno che post principale sono molto più bassi; in particolare la FPG si deve mantenere al di sotto di 100 mg/ e OGTT deve essere inferiore a 140 mg/dl nei soggetti normoglicemici.

I soggetti che presentano  $100 \text{ mg/dl} < \text{FPG} < 126 \text{ mg/dl}$  e  $140 \text{ mg/dl} < \text{OGTT} < 200 \text{ mg/dl}$  sono definiti **pre-diabetici**; è una condizione di intolleranza al glucosio o di pre-diabete. Questi soggetti hanno un elevato rischio di progredire a diabete, si stima che circa 5% dei soggetti intolleranti al glucosio progredisce al diabete ogni anno → questi soggetti devono essere trattati con farmaci al fine di correggere la glicemia. In questi soggetti aumenta il rischio CV.

I risultati dello studio di Framingham evidenziano negli anni la sopravvivenza in donne e uomini in funzione della glicemia. I soggetti diabetici sono quelli con sopravvivenza più bassa, i normoglicemici la sopravvivenza più alta. I prediabetici hanno una sopravvivenza minore rispetto al normoglicemici

Oltre alla glicemia, nei pazienti diabetici è utile misurare **l'emoglobina glicata**; è quella porzione di Hb che in presenza di elevati concentrazioni di glucosio viene glicata e si esprime in percentuale.

Hb non è l'unica proteina che viene glicata in condizioni di iperglicemia, ma viene utilizzata in quanto rimane a lungo in circolo → 120 g → viene utilizzata come marcatore del **compenso glicemico**, andamento della glicemia nel tempo.

Un valore superiore a 6% di Hb-glicata indica uno scarso controllo glicemico.

La concentrazione di Hb-glicata correla con le concentrazioni ematiche di glucosio ma anche con gli eventi CV che con le complicanze microvascolare

### Target della terapia negli adulti

I pazienti diabetici trattati con farmaci devono mantenere:

1. Percentuale di Hb glicata (HbA<sub>1c</sub>) inferiore al 7%. Queste percentuali non devono essere eccessivamente basse, in quanto valori troppo bassi si associano a elevata mortalità in quanto aumenta il rischio di ipoglicemia
2. FPG compresa tra 70 e 130 mg/dl; Per la FPG esiste anche un limite inferiore, in quanto il paziente diabetico trattato che presenta una glicemia inferiore a 70 mg/dl ha il rischio di ipoglicemia.
3. Glicemia postprandiale inferiore a 180 mg/dl

### **TRATTAMENTO DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 1**

Il diabete mellito di tipo 1 è caratterizzato da **assenza di insulina**, dovuto alla *distruzione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche*; generalmente questa è causata da *reazioni autoimmuni*.

Questa patologia generalmente viene diagnosticata in giovane età; nella gran parte dei casi viene diagnosticata nella prima decade di vita. —> age of onset under 40 years old

Può essere causata da una combinazione di fattori ereditari e ambientali che portano a distruzione autoimmune delle cellule  $\beta$ -pancreatiche.

Non sono noti fattori di rischio che causano questa malattia; il rischio aumenta da una pregressa storia familiare.

I soggetti con questa patologia sono generalmente magri o normopeso.

Ha un onset molto rapido, che si manifesta con i sintomi dell'iperglicemia quali la sete e la poliuria che peggiorano nell'arco di giorni o settimane.

L'unica terapia possibile è la **somministrazione di insulina esogena** —> terapia sostitutiva, vado a somministrare un ormone peptidico che è mancante nel paziente.

Non si ha un facile controllo della glicemia.

In assenza di insulina non si ha l'assorbimento di glucosio da parte dei tessuti insulina-dipendenti e il fegato continua la glicogenolisi liberando glucosio —> la glicemia aumenta

Nel paziente di tipo 1 l'obiettivo della terapia sostitutiva è mimare l'andamento dell'insulinemia endogena.

Le prime insuline somministrate erano di origine animale, bovina e suina. Queste sono molto simile a quella umana ed erano efficienti.

Con queste insuline **estrattive** venivano prodotto insuline regular ma anche insuline a lenta e molto lenta azione, prodotte sfruttando la proprietà di aggregare dell'insulina.

Oggi non si utilizzano più le insuline estrattive ma si usano **insuline ricombinanti** —> insulina è stato primo farmaco biotecnologico, primo proteina ricombinante ad entrare in terapia approvata al commercio nel 1982.

Vantaggi della proteina ricombinante

1. Sicurezza
2. Maggior produzione di insulina —> continuo aumento di pazienti diabetici non era sostenuto da insulina estrattiva

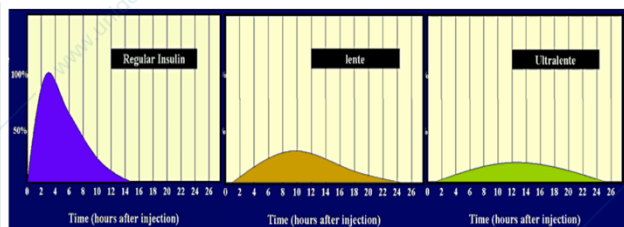
Le insuline ricombinanti sono state prodotte in diversi sistemi di espressione, sia in E. Coli che nel lievito. Con queste insuline ricombinanti si hanno diverse formulazioni;

È importante produrre diverse formulazioni di insulina in quanto se obiettivo dell'insulina come farmaco è riprodurre ciò che accade fisiologicamente, abbiamo bisogno di due tipi di insulina

1. Insulina regular, insulina monomeri a da somministrarsi al momento del pasto per avere i picchi post piramidali
2. Insuline lente e ultralente che devono essere somministrate la sera e eventualmente il mattino con l'obiettivo di mantenere il rilascio basale di insulina costante. Nelle formulazioni si può avere l'aggiunta di zinco per esamerizzare l'insulina ma anche l'aggiunta di proteine che favoriscono aggregazione dell'insulina stessa

#### Parametri cinetici

- Insulina regular ha onset tra 30 e 60 min, il picco a 2-4 ore e una durata fino a 8 ore
- Le insuline lente hanno onset tra 1-3 ore, il picco tra 4-12 ore e durata tra le 12 e le 20 ore
- Le insuline molto lente hanno onset tra 4 e 8 ore, picco tra le 10 e le 16 ore e durata tra le 24 e 36 ore



#### Problematiche insulina regular

La regular ha un picco ritardato rispetto a quello fisiologico e una durata eccessiva; questo pone dei problemi.

Il primo riguarda il fatto che se il picco viene ritardato di 1-2 ore, il paziente si deve somministrare l'insulina un'ora prima di pranzo—> diabetico di tipo 1 decide cosa e quando mangiare in anticipo—> influisce su qualità della vita.

Il secondo problema è la durata; se questa insulina rimane in circolo troppo a lungo rischia di essere presente quando il picco glicemico si è normalizzato. Questo può causare un importante rischio di ipoglicemia —>NB: PRINCIPALE RISCHIO DELLE INSULINE E' IPOGLICEMIA

#### Problematiche insuline lente e ultra-lente

Il problema principale è costituito dal fatto che queste insuline non danno un rilascio basale e costante ma danno un picco—> elevata concentrazione di insulina che può associarsi a un rischio di ipoglicemia.

Caratteristiche delle insuline ad impiego terapeutico somministrate per via sottocutanea—> essendo una proteina, insulina non può essere somministrata per os

1. Vengono assorbite direttamente nel flusso ematico dopo iniezione sottocutanea
2. L'assorbimento è lo step limitante nell'attività dell'insulina e questo è molto variabile; la variabilità è elevata sia tra soggetti ma anche nello stesso soggetto
3. L'insulina circolante viene distribuita in equilibrio tra insulina libera e legata agli anticorpi
4. Gli organi che eliminano l'insulina sono rene e fegato

#### Effetti collaterali

1. Ipoglicemia, effetto collaterale principale.—> NB glicemia dipende da una serie di fattori tra cui l'esercizio, l'assunzione di altri farmaci, condizioni come la gravidanza e l'allattamento. Possono essere molto gravi, anche fatali; molto pericolose sono le ipoglicemie notturne, in quanto il paziente non è conscio di essere in ipoglicemia
2. Aumento di peso
3. Iniezione al sito d'iniezione
4. Convulsioni

NB: obiettivo della terapia sostitutiva è quello di mimare l'andamento fisiologico dell'insulinemia

Le insuline ricombinanti di prima generazione avevano alcune problematiche

Regular → durata e picco → vorremmo picchi in corrispondenza dei pasti e una minor durata

Lente e ultralente → picco, noi vorremmo concentrazione plasmatica che si tiene nel tempo costante

Queste problematiche sono state risolte;

Nelle insuline **ultrarapide** (da somministrarsi al momento del pasto); si è modificata la porzione C-terminale della catena B, porzione responsabile della dimerizzazione e esamerizzazione dell'insulina stessa; questa porzione modificata rende disponibile la proteina come monomero → rapida azione, diffonde facilmente.

Sono state prodotte 3 insuline, tutte 3 paragonabili

1. Lispro insulina
2. Aspart insulina
3. Glulisine insuline

Gli aa modificati sono diversi, ma sono tutti localizzati all'estremità C-terminale della catena B

I picchi di queste 3 lisine hanno un picco rapido e un altrettanto rapida discesa, mentre la regular sale lentamente e rimane elevato per molto tempo → concentrazione elevata nel tempo.

Le onset sono di 5-15 min, il picco è tra 30-90 minuti e la durata di 4-6 ore → il paziente con il diabete di tipo 1 può somministrare l'insulina immediatamente prima di mangiare → migliora qualità della vita

La somministrazione sotto cutanea è un'autoiniezione da parte del paziente.

Essendo la durata minore, si ha minor rischio di ipoglicemia.

Nelle insuline ultra rapide si ha però riduzione modesta sia dell'affinità recettore che dell'attività metabolica.

Per misurare in vivo nell'uomo l'attività dell'insulina si utilizza un test detto clamp iperinsulinemico euglicemico. Soggetto viene mantenuto in condizione di iperglicemia, euglicemico indica che l'obiettivo è mantenere costante la glicemia.

Si somministra insulina da testare e si mantiene costante la sua concentrazione; si somministra poi glucosio in quantità tale da mantenere la glicemia costante e normale.

- Se l'insulina funziona, l'infusione di glucosio deve continuare perché il glucosio plasmatico viene correttamente captato dai tessuti periferici in iperinsulinemia
- Se l'insulina non funziona sarà sufficiente poca infusione di glucosio per raggiungere la concentrazione plasmatica

Il parametro che si misura è **GDR**, glucose disposal rate che indica la quantità di glucosio nel tempo lascia il plasma. Si misura in mg/kgmin → velocità

Se confrontiamo GDR con le due insuline (regular e lispro) notiamo che i due profili che otteniamo riproducono quelli farmacocinetici; la regular ha un picco tardivo ma più lento nella discesa, la Lispro ha un GDR che aumenta e diminuisce molto rapidamente

→ Insuline ultrarapide diminuiscono rischio di ipoglicemia → sono più sicure

Nelle insuline **lente e ultralente** di seconda generazione sono state fatte delle modifiche a livello dell'estremità C-terminale della catena B, in questo caso per avere insuline che rimangano in circolo più a lungo e manchino del picco → si deve avere un rilascio basale e costante di insulina, si deve somministrare alla sera.

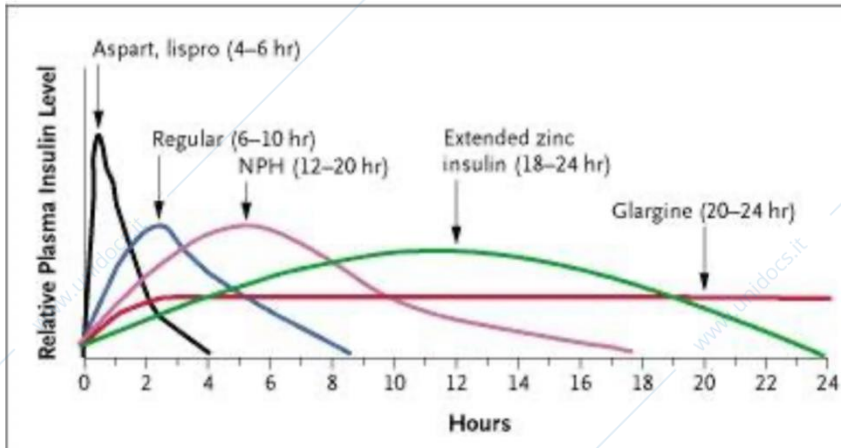
Ne sono state prodotte 2:

1. Glargina insulina, sono stati aggiunti 2 Arg in posizione 31 e 32. Ne risulta che questa insulina sia solubile a pH acido ma insolubile a pH neutro; per questo precipita quando viene iniettata e così viene rilasciata lentamente dal sito di deposito
2. Insulina detemir; è stata introdotta una Lys alla quale viene addizionato un AG, il quale in circolo lega l'albumina. In questo modo l'albumina fa da carrier e si aumenta l'emivita del farmaco.

Guardando i profili farmacocinetica notiamo che le insuline lente di prima generazione hanno un picco, mentre la glargina ha una concentrazione che si mantiene nel tempo in assenza del picco.

Si hanno influenze anche sulla farmacodinamica; osservando GDR vediamo che insulina di prima generazione abbiamo picco di GDR e poi discesa mentre con glargina si ha un mantenimento costante → maggior sicurezza da ipoglicemia; si ha un minor percentuale di pazienti che va incontro a ipoglicemia. In particolar modo ipoglicemia notturna viene significativamente diminuita

## RECOMBINANT INSULINS



Una terza insulina ultra lenta è stata messa in commercio; si chiama **degludec** ed è un multiesamero, insulina super aggregata che ha un'emivita che supera le 24h → si ritrova in circolo anche dopo 96h dall'iniezione

- Paziente affetto da tipo 1 deve autosomministrarsi due tipi di insulina ogni giorno; ultra lenta alla sera prima di coricarsi ed eventualmente alla mattina e una ultrarapida prima di ogni pasto (→ 3 volte al giorno)

## TERAPIA DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2

Con diabete mellito di tipo 2 si intende un disordine metabolico causato *da un difetto nell'azione dell'insulina*; questa è presente ma non funziona correttamente → insulino-resistenza

Questa malattia generalmente compare in età adulta → diabete di tipo 1 in infanzia.

È una malattia silente, in quanto *l'iperglicemia non è sintomatica* a meno che l'aumento della glicemia non sia molto alto (come nel caso del diabete di tipo 1) dove compaiono i sintomi, sete e poliuria.

Nel diabetico di tipo 2 la glicemia sale lentamente → non si hanno sintomi. La comparsa dei sintomi è molto lenta, anche mesi ed anni

Pur non essendo una malattia genetica si ha familiarità.

Normalmente il paziente di diabete di tipo 2 è sovrappeso o obeso → associazione con obesità.

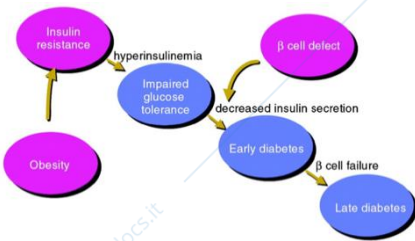
Il trattamento inizia con farmaci ipoglicemizzanti, ma è necessaria anche una modifica dello stile di vita; l'inserimento di esercizio fisico e una variazione della dieta possono migliorare l'insulino-resistenza. Solo nelle fasi tardive della malattia è necessaria la somministrazione di insulina → solo in questa fase insulina è carente

Nel diabetico di tipo 2 il controllo della glicemia è più semplice rispetto al diabetico di tipo 1.

Il diabete di tipo 2 è una malattia molto comune, in Italia ne sono affetti 4 milioni di persone

### Patogenesi

L'insulina viene prodotta correttamente dalle cellule  $\beta$ -pancreatiche ma non agisce correttamente; tessuti ed organi che rispondono all'insulina (fegato per le vie metaboliche, muscolo e adiposo per GLUT-4) non rispondono come dovrebbero. Questo fenomeno è detto insulina-resistenza; alla base di essa c'è *l'obesità*.



Nelle prime fasi del diabete di tipo 2 il soggetto è iperinsulinemico, in quanto la glicemia non si abbassa, la cellula  $\beta$  continua a essere stimolata e continua a rilasciare insulina. In questa fase si parla di intolleranza al glucosio.

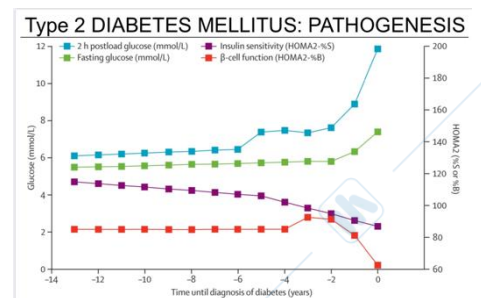
In una fase successiva la cellula  $\beta$ , anche per iperattività, può andare incontro a morte, causano una riduzione dei livelli di insulina fino ad arrivare a un diabete che diviene insulina-dipendente → paziente necessita di insulina esogena come nel diabete 1.

Se non trattata correttamente l'insulino resistenza provoca la distruzione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche e la necessità di somministrare insulina esogena.

Esperimento condotto in vitro utilizzando biopsie di un muscolo scheletrico di soggetti magri e soggetti obesi sottolinea che in condizioni basali la capacità della cellula di captare il glucosio è la stessa nel soggetto magro e nel soggetto obeso mentre in seguito a stimolo con insulina la cellula del soggetto magro capterà più glucosio, in quanto l'ormone permette la traslocazione in membrana del GLUT-4; la cellula muscolare del soggetto obeso invece non risente dell'azione dell'insulina e quindi assorbe meno glucosio rispetto al soggetto magro → insulina resistenza

Un esperimento condotto in vivo confrontando il GDR (glucose disposal rate, parametro di efficienza dell'insulina) di soggetti magri e soggetti obesi.

Il GDR degli obesi è inferiore rispetto a quello dei magri → GDR dipende dalla capacità delle cellule di captare il glucosio; se le cellule assorbono meno il glucosio il GDR è inferiore.



→ Conferma relazione tra obesità e insulina-resistenza

Il tessuto adiposo è in grado di produrre molte sostanze, citochine infiammatorie (TNF $\alpha$ ), adipochine, AG, che interferiscono con il corretto signaling dell'insulina → in soggetto obeso si ha insulina-resistenza

Se l'obesità viene corretta, l'insulina-resistenza diminuisce; ciò è stato provato in uno studio sull'Orlistat, farmaco che riduce il peso corporeo e riduce la FPG e HbA<sub>1c</sub>. → NB orlistat non agisce su metabolismo glucidico

La chirurgia bariatrica, che si utilizza nei gravi obesi (legatura dello stomaco), diminuisce BMI e contemporaneamente si osserva riduzione HbA<sub>1c</sub> → se correggo obesità correggo il diabete.

Questo sottolinea come dieta ed esercizio fisico siano importanti nel miglioramento dell'insulina resistenza

### Farmaci

I farmaci per la terapia del diabete di tipo 2 sono numerosi; i primi sono entrati in commercio negli '50 e sono ancora disponibili e utilizzabili, i più recenti negli ultimi 3-4 anni

Come nel diabete di tipo 1 i pazienti diabetici trattati con farmaci devono mantenere: → da ricordare numeri

1. Percentuale di Hb glicata (HbA<sub>1c</sub>) inferiore al 7%.
2. FPG compresa tra 70 e 130 mg/dl
3. Glicemia postprandiale inferiore a 180 mg/dl

### Classificazione farmaci

I farmaci per il diabete di tipo 2 si classificano in categorie in funzione dell'azione de farmaci.

Distinguiamo.

1. Farmaci che riducono l'assorbimento post-pra dia le di glucosio
2. Farmaci insulina-sensibilizzati → farmaci d'elezione. Di questi fa parte la Metformina, farmaco di prima scelta per il trattamento del diabete di tipo 2
3. Farmaci stimolatori del rilascio di insulina
4. Insulina, farmaco utilizzato solo nella fase tardiva, sono le stesse insuline viste per il diabete di tipo 1 → cellula  $\beta$  distrutta

Oggi i farmaci per il diabete di tipo 2 si classificano in funzione dell'organo target. Gli organi target dei farmaci anti diabetici sono

- A. Pancreas
- B. Tessuti che rispondono all'insulina → fegato e tessuti periferici
- C. Tratto GI
- D. Rene, target degli ultimi farmaci entrati in commercio

#### **1. Farmaci che agiscono sul pancreas**

In questa categoria di farmaci ci sono i farmaci più antichi, le sulfonyluree in commercio dagli anni 50. Per tanti anni erano i farmaci d'elezione nella terapia, surclassati oggi da farmaci migliori ma vengono comunque usate.

La più antica è la tolbutamide solfonylurea di prima generazione.

Le sulfonyluree di seconda generazione vedono la glibenclamide come capostipite. Tra queste due farmaci la differenza sta nel dosaggio, in quanto nel secondo caso per avere l'effetto sono sufficienti mg, nel primo caso sono necessari g.

Altre sulfonyluree sono clorpropanamide e glipizide.

### Meccanismo d'azione

Il target molecolare di questi farmaci è il canale del potassio ATP-dipendente, in quanto questi portano alla chiusura del canale con conseguente depolarizzazione della membrana e ingresso di calcio tramite un canale voltaggio dipendente.

L'influsso di calcio media la contrazione dei granuli e la secrezione dell'insulina da parte delle cellule  $\beta$ -pancreatiche

→ Le sulfoniluree sono farmaci **secretagoghi**, in quanto promuovono il rilascio di insulina

Il canale dei K ha due siti di legame ad alta affinità per questi farmaci; tolbutamide e glibenclamide agiscono entrambe sullo stesso canale con una differenza; la tolbutamide lega solo uno dei due siti di legami in modo altamente reversibile, mentre la glibenclamide lega entrambi i siti con un legame lentamente reversibile. Per questo motivo per ottenere lo stesso rilascio di insulina nel primo caso sono necessari 10 mg, nel secondo 1 mg.

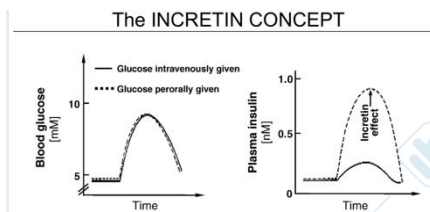
Le sulfoniluree sono somministrate per os e hanno alcuni effetti collaterali:

1. Ipoglicemia
2. Effetti GI
3. Vasodilatazione se assunti con alcol
4. Interazioni con altri farmaci

## 2. Farmaci che hanno come target terapeutico il GLP-1 → analoghi di GLP-1 e inibitori DPP4

Somministrazione di glucosio per os e per IV portano a picco di glucosio paragonabile, ma a un rilascio di insulina significativamente diverso; questo è **maggiore** quando il glucosio è somministrato **per os**.

Questa osservazione ha portato alla conclusione che l'assunzione di glucosio attiva il rilascio di un componente in grado di promuovere il rilascio di insulina; la differenza tra il rilascio di insulina per os e per IV è stato denominato **effetto incretinico**.



Questo è causato da **GLP-1** un peptide che viene rilasciato dall'enterocita in seguito al pasto e promuove il rilascio di insulina da parte della cellula  $\beta$ -pancreatica. → GLP-1 è definito *incretina*, è misurabile in circolo.

GLP-1 deriva dallo stesso gene che codifica per il glucagone pur avendo azione opposta a questo. Ha un'emivita molto breve in circolo, in quanto viene rapidamente degradato da **DPP4**, una peptidasi che taglia i primi due aa del peptide e lo inattiva.

La cellula pancreatica possiede GLP1-recettore, un recettore accoppiato a proteine G che promuove un signaling intracellulare che promuove un aumento del calcio interno alla cellula → rilascio di insulina dai granuli in cui insulina si accumula.

GLP-1 ha anche altri target; agisce anche sul SNC, precisamente nell'ipotalamo. Qui questo peptide ha azione anoressizzante

GLP-1 è dosabile in circolo in fase post-pandriale. La concentrazione ematica è ridotta notevolmente in soggetti affetti da diabete mellito rispetto a soggetti normoglicemici

### Farmaci

Si sono sviluppati farmaci in grado di mimare l'azione di GLP-1; sono stati prodotti farmaci definiti come *incretino-mimetici* (mimano sistema incretinico), detti anche agonisti per il recettore di GLP-1.

Essendo analoghi di GLP-1 questi farmaci sono peptidici e sono iniettivi; la loro azione è quella di potenziare l'azione di GLP-1 endogeno.

GLP-1 endogeno (30 aa) ha emivita inferiore a 5 min; sono stati prodotti peptidi modificati rispetto a GLP-1 con l'obiettivo di aumentarne l'emivita.

Il primo farmaco ad entrare in commercio è stato exenatide (39 aa) che ha un' emivita di 60-90 min in quanto è stata modificata la porzione di aa che viene riconosciuta da DPP4 al fine di rendere il farmaco meno sensibile all'azione della peptidasi.

Questo porta alla necessità della somministrazione del farmaco per via sottocutanea 2 volte al giorno.

Exenatide è disponibile in due formulazione; una per la somministrazione classica 2 volte al giorno e l'altra per la somministrazione una volta alla settimana.

Entrambe le formulazioni portano ad un importante riduzione dell'emoglobina glicata (primo parametro che si utilizza per valutare efficacia ipoglicemizzanti).

Nei pazienti trattati con exenatide si ha anche una riduzione del peso corporeo, vantaggio addizionale in quanto sovrappeso e obesità sono alla base dell'insulina-resistenza—> spiegata da azione centrale di GLP-1 che ha azione anoressizzante—> condivisa da analoghi.

Infine questi farmaci hanno la capacità di proteggere la cellula  $\beta$ -pancreatica da morte; exenatide promuove la proliferazione delle cellule  $\beta$ -pancreatiche.

Il secondo farmaco di questa classe ad entrare in commercio è liraglutide (31 aa), peptide analogo a GLP-1 in cui è stata introdotta una modifica; viene infatti aggiunto un AG che consente al farmaco di legare l'albumina. Il legame con l'albumina mantiene il farmaco in circolo più a lungo, tanto che l'emivita si allunga molto, 11-15 ore.

Questo permette la somministrazione per via sottocutanea una volta al giorno —> dosaggi d'impiego: 1,2-1,8 mg/due

Liraglutide riduce l'emoglobina glicata in quantità paragonabile a exenatide e come quest'ultima riduce il peso corporeo.

#### Exenatide

- Iniezione sottocutanea due volte al giorno
- Riduzione peso corporeo
- Riduzione emoglobina glicata
- Riduce FPG
- Maggiore immunogenicità rispetto a liraglutide—> immunogenicità è un problema per proteine ricombinanti ad uso terapeutico; presenza AG in liraglutide maschera siti antigenici e quindi riduce il rischio di sviluppare anticorpi antifarmaco
- Reazione al sito di iniezione

#### Liraglutide

- Iniezione per via sottocutanea una volta al giorno—> emivita maggiore
- Riduzione peso corporeo
- Efficace nel ridurre emoglobina glicata
- Non sviluppa anticorpi
- Reazione al sito di iniezione minore di exenatide perchè viene somministrato una volta al giorno, l'altro 2

Recentemente è stato messo in commercio un terzo agonista di GLP-1 detto semaglutide; è disponibile nella formulazione per via sottocutanea (in Italia solo questo)ma **anche per via orale** (approvato per via orale da FDA negli USA non in Europa alla fine del 2019—> primo peptide che si può somministrare per os, tutti gli altri per via parenterale).

Il dosaggio del farmaco per os è maggiore di quello previsto per via sottocutanea

Sono stati sviluppati anche farmaci che fungono da inibitori di DPP-4.

Sono farmaci di sintesi, somministra bili per os che hanno come scopo quello di aumentare l'emivita delle incretine endogene, in particolare di GLP-1.

Tra questi farmaci troviamo sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin → gliptine. Sono inibitori selettivi di DPP-4. Si trovano al dosaggio di 100 mg/die

Dopo somministrazione del farmaco si osserva inattivazione quasi completa dell'attività della peptidasi. Questo porta ad un aumento significativo della concentrazione post-prandiale di GLP-1 → picco glicemico post-prandiale diminuisce.

Confronto tra una gliptina e liraglutide evidenza che gli analoghi di GLP-1 sono più efficaci rispetto alle gliptine nel ridurre l'emoglobina glicata.

Gli inibitori di DPP-4 sono ben tollerati; rispetto agli agonisti di GLP-1 non hanno però beneficio sul peso corporeo → non migliorano insulina resistenza

## GLP-1 TARGETED THERAPIES

Effect	Short-Acting GLP-1Ra	Long-Acting GLP-1Ra	DPP4-i
	Exenatide Short-Acting, Lixisenatide	Exenatide Long-Acting, Liraglutide, Dulaglutide, Taspoglutide, Albiglutide	Sitagliptin, Saxagliptin, Linagliptin, Vildagliptin, Alogliptin
HbA <sub>1c</sub>	↓↓	↓↓↓	↓
Plasma GLP-1 levels	Intermittently elevated	Continuously elevated	Not consistently elevated
Fasting glucose	↓↓↓	↓↓↓	↓↓
Postprandial glucose	↓↓↓	↓↓↓	↓↓
Gastric emptying ↓	↓↓	↓	No effects
Body weight	↓↓	↓↓	No change
Heart rate	↑	↑*	No change
Blood pressure	↓	↓	No change
Post-prandial Apo48, free fatty acids and VLDL remnants	↓		↓

Tutti questi farmaci sono efficaci nel ridurre la glicemia, tuttavia gli analoghi di GLP-1 sono più efficienti.

Gli analoghi di GLP-1

- Rallentano lo svuotamento gastrico, che si riflette con un rallentamento del glucosio a livello intestinale.
- Hanno effetto sul peso corporeo → Molto importante, non si osserva con inibitori DPP-4
- Hanno effetto sulla pressione arteriosa → abbassano la pressione arteriosa, ma questa proprietà non è condivisa con gli inibitori di DPP-4

### 3. Farmaci insulino sensibilizzanti

RICORDA! Esercizio fisico e stile di vita possono migliorare insulino-resistenza

Il primo farmaco di questa categoria è la **metformina**, un biguanide che viene utilizzato come **farmaco di prima scelta nella terapia del diabete di tipo 2**.

Si somministra per os a dosaggi compresi tra 500 mg/die e 2 g/die

Modalità d'azione:

È a metformina è presente sul commercio dagli anni '50 ma il suo meccanismo d'azione è stato rivelato solo in epoca più recente

Agisce **attivando una chinasi AMP-dipendente**;

- A livello delle cellule periferiche (cellula muscolare e adipocita) si promuove la traslocazione del GLUT-4 in membrana, traslocazione necessaria affinché il glucosio sia captato dalla cellula.
- A livello epatico si ha un ridotto accumulo di AG, il cui accumulo è responsabile dell'insulina-resistenza. Si ha il ripristino della sensibilità all'insulina e di conseguenza una ridotta gluconeogenesi.

Nel paziente diabetico in risposta all'insulina la produzione di glucosio diminuisce e il GDR (la capacità dei tessuti periferici di captare glucosio) aumenta.

La metformina può essere utilizzata anche nei pazienti che sono intolleranti al glucosio o in condizioni di pre-diabet, soggetti con iperglicemia (FPG compresa tra 100 e 126, OGTT tra 140 e 200). Questi hanno un aumento del rischio CV e di sviluppare il diabete.

In questi pazienti la metformina riduce la glicemia e l'emoglobina glicata.

I pazienti con intolleranza al glucosio trattati con metformina hanno *meno incidenza del diabete* → farmaco importante perché previene lo sviluppo della malattia diabetica.

La metformina porta poi ulteriori benefici;

- Ha effetti positivi sul metabolismo lipidico, in quanto in seguito a terapia con questo farmaco LDL-Co diminuisce notevolmente, diminuiscono TG (spesso elevati nel diabetico di tipo 2), HDL-Co aumenta (generalmente bassi nel diabete di tipo 2)
- Riduce il peso corporeo

Ha però effetti collaterali

- Diarrea e dolore addominale → effetto collaterale più comune. Può essere mitigato dall'assunzione del farmaco durante il pasto; il consiglio al paziente è quello di iniziare la terapia a bassi dosaggi e poi aumentare lentamente la dose per prevenire l'effetto collaterale
- Acidosi lattica, estremamente rara

Abbiamo una seconda classe di farmaci, le **tiazolidinedioni** (o glitazoni); questi farmaci agiscono a livello di recettori nucleari PPAR, in particolare sull'isoforma  $\gamma$ , che si trova nel *tessuto adiposo*.

In commercio per ora si ha un solo farmaco di questa classe, il pioglitazone. I glitazoni sono agonisti selettivi per PPAR $\gamma$ ; non hanno effetto su PPAR $\alpha$  (su cui agiscono i fibrati).

L'interazione del ligando con il recettore nucleare fa sì che questo, dopo reclutamento di coattivatori, questo recettore vada ad interagire con sequenze target (su specifici geni) su cui si può osservare sia attivazione che repressione.

In particolare in risposta ai glitazoni si osserva una ridotta produzione da parte dell'adipocita di quelle sostanze che interferiscono con il signaling dell'insulina, ovvero adipochine e citochine infiammatorie.

L'effetto dei glitazoni si nota anche a livello epatico, nel quale ci sarà una riduzione del grasso epatico e quindi un aumento della sensibilità dell'insulina. Quest'ultimo si riscontra anche a livello muscolare, dove ci sarà un aumento dell'assorbimento di glucosio.

Se si misura la produzione di glucosio da parte del fegato notiamo che questa diminuisce in risposta al farmaco.

GDR aumenta con il trattamento con il farmaco

I glitazoni portano a una riduzione di FPG con un effetto dose-dipendente senza nessuna modifica nel rilascio di insulina, misurato come rilascio di C peptide → parametro che consente di valutare il rilascio di insulina endogena in quanto viene accumulato in granuli durante la maturazione dell'insulina, peptide di connessione tra le catene A e B nella forma immatura.

Può essere utilizzato anche nei pazienti che assumono insulina esogena.

Può essere somministrato in pazienti con intolleranza al glucosio o pre-diabete, come la metformina, e come questa riduce l'incidenza di diabete in questi soggetti.

Pioglitazone ha però diversi effetti collaterali

1. Aumento del grasso sottocutaneo

2. Aumento del peso corporeo—> non auspicabile in pazienti con diabete di tipo 2
3. Osteoporosi e fratture, particolarmente in donne in menopausa—> per queste non è farmaco ideale
4. Anemia
5. Edema periferico
6. Scompenso cardiaco —> paziente anziano scompensato non può essere trattato con questo farmaco
7. Aumento del rischio cardiovascolare? —> gli eventi cardiocerebrovascolari risultano aumentati con rosigitazione, il quale è stato ritirato dal commercio proprio per questa ragione

#### 4. Farmaci che agiscono a livello GI

Non sono farmaci di larghissimo impiego ma possono contribuire a ridurre la glicemia

I primi sono gli **inibitori della  $\alpha$ -glucosidasi**, l'enzima responsabile della scissione degli oligosaccaridi e il loro successivo assorbimento a livello dell'enterocita.

In questa classe è disponibile in Italia il farmaco acarbosio e il suo analogo; in pazienti con intolleranza al glucosio si dimostra in grado di ridurre la glicemia nell'arco della giornata senza aumentare il rilascio di insulina.

Questi farmaci nei pazienti con intolleranza al glucosio riducono l'incidenza del diabete

In seguito troviamo **gli analoghi dell'amilina**; l'amilina è un peptide secreto dalle cellule  $\beta$ -pancreatiche insieme all'insulina in piccole quantità (1% insulina).

Questo ha azioni nel metabolismo glucidico

1. Inibisce il rilascio di glucagone da parte delle cellule  $\alpha$  del pancreas, ormone iperglicemizzante—> riduzione del glucagone riduce l'emissione di glucosio da parte del fegato
2. Rallenta lo svuotamento gastrico che porta a una riduzione dell'assorbimento di glucosio come conseguenza

L'amilina tuttavia ha alcuni difetti, emivita breve e tendenza ad aggregare

È stato prodotto un farmaco che è un analogo dell'amilina, peptide che si differenzia da questa nella sequenza amminoacidica, modificata al fine di evitare l'aggregazione e aumentare l'emivita. Questo farmaco prende il nome di pramlintide.

Pramlintide viene somministrato per via sottocutanea e si è dimostrato in grado di aumentare il tempo dello svuotamento gastrico in modo significativo sia in pazienti sani che diabetici (sia 2 che 2); questo effetto è dose dipendente.

Può essere utilizzato in associazione con l'insulina e la co-somministrazione porta a

- Una riduzione dell'emoglobina glicata
- Riduzione del peso corporeo—> importante perché insulina somministrato singolarmente porta ad un aumento del peso corporeo; ciò ha minor impatto nel diabetico di tipo 1 ma è molto importante in quello di tipo 2 in quanto generalmente è sovrappeso

#### 5. Farmaci che agiscono a livello renale

Il rene rappresenta il target degli ultimi farmaci entrati in commercio; questo è coinvolto nel metabolismo del glucosio, in quanto questo viene riassorbito a livello del tubulo prossimale.

Il 90% del riassorbimento avviene tramite un trasportatore detto SGLT-2 e per il restante 10% da SGLT-1.

Fino a concentrazioni ematiche di **200 mg/dl** il glucosio viene *completamente riassorbito a livello renale*, quindi non si ha escrezione di glucosio nelle urine.

I farmaci per la terapia del diabete che agiscono a livello renale sono inibitori di SGLT-2; bloccano il riassorbimento del glucosio a livello del tubulo prossimale inibendo il trasportatore—> questi farmaci sono **glucosurici**, promuovono l'eliminazione del G nelle urine in maniera dose dipendente

Il primo farmaco ad entrare in commercio è stato empaglifozin, poi sono entrati anche dopaglifozin, canaglifozin etc... (hanno tutti desinenza glifozin).

Sono farmaci molto efficaci; Si ha una riduzione dose dipendente dell'emoglobina glicata molto significativa. Il meccanismo d'azione non è ancora completamente noto. Questi farmaci portano anche a una riduzione del peso corporeo in maniera dose-dipendente.

Questi farmaci sono stati testati recentemente anche nel diabete di tipo 1 in quanto il loro meccanismo d'azione è totalmente indipendente dall'insulina e si sono dimostrati in grado di ridurre l'emoglobina glicata anche nei pazienti di tipo 1, ma non sono ancora stati approvati per questa malattia.

NB:

Obiettivo farmacologico per un paziente con diabete di tipo 2 è ridurre la glicemia—> iperglicemia è causa delle complicanze macro vascolari (ictus, infarti) sia microvascolari (nefropatia, retinopatia).

I farmaci sono più o meno efficaci

Drugs	$\Delta \uparrow$ HbA1c, % Mean (s.d.)*	HbA1c <7% Pooled prevalence (% and 95% CI)
GLP-1 agonists	-1.12 (0.23)	45.7 (42.2–49.2)
Exenatide LAR	-1.61 (0.16)	63.2 (54.1–71.5)
DPP-4 inhibitors	-0.74 (0.30)	39.0 (35.7–42.3)
AGI	-0.72 (0.41)	25.9 (18.5–34.9)
Thiazolidinediones	-0.96 (0.32)	33.2 (28.5–38.2)
Sulphonylureas	-0.77 (0.29)	48.2 (43.0–53.5)
Glinides	-0.64 (0.20)	39.1 (29.3–49.9)
Metformin	-1.21 (0.48)	42.0 (35.5–48.9)

Riduzione dell'emoglobina glicata con i vari farmaci; mancano le glifozine perché sono molto recenti.

Tra tutti i farmaci la metformina risulta il farmaco più efficace, seguita dagli agonisti di GLP-1 (in particolare exenatide a lungo rilascio porta a una riduzione media di emoglobina glicata superiore alla metformina).

Per gli altri farmaci notiamo che tutti sono efficaci, ma meno

efficaci in confronto alla metformina.

## **EFFETTI DEI FARMACI SULLE COMPLICANZE MACRO E MICRO VASCOLARI**

### Metformina

La metformina si è dimostrata in grado di ridurre gli eventi CCV e le complicanze del micro circolo in pazienti con diabetici di tipo 2—> si somma a tutti i benefici sopracitati

### Rosiglitazone

Questo farmaco è stato ritirato dal commercio in quanto si è dimostrato che è in grado di aumentare gli infarti e la morte vascolare nei pazienti trattati

### Pioglitazone

Si è dimostrato in grado di ridurre gli eventi CV; pazienti trattati con questo farmaco per 36 mesi hanno meno eventi—> morte vascolare, infarto e stroke

È meno pericoloso del rosiglitazone; ragione di questa differenza tra farmaci che appartengono alla stessa classe (—> condividono lo stesso meccanismo d'azione) potrebbe stare nell'effetto dei due farmaci sul metabolismo lipidico.

Pioglitazone aumenta lievemente i livelli di LDL-Co mentre rosiglitazone li aumenta in maniera significativa—> non auspicabile.

Inoltre pioglitazone porta ad un aumento di HDL-Co mentre il rosiglitazone non ha effetto di HDL-Co

- ➔ Pioglitazone aumenta lievemente LDL ma aumenta molto HDL, rosiglitazone aumenta molto LDL ma non ha effetto su HDL—> differenza tra farmaci per prevenzione eventi CV

Liraglutide

In pazienti diabetici di tipo 2 si è dimostrato molto efficace nel ridurre gli eventi CCV così come la mortalità per tutte le cause

Gliptine

Hanno un effetto neutro sugli eventi—> hanno effetto inferiore su emoglobina glicata rispetto agli analoghi di GLP-1 e effetto neutro sugli eventi

Empagliflozin

Questo farmaco ha dimostrato di ridurre gli eventi CV sia fatali che non e di ridurre in maniera significativa la morte per tutte le cause

➔ Agonisti GLP-1 e inibitori SGLT-2 inibiscono la mortalità totale—> fattore molto importante

Queste due classi di farmaci hanno proprietà benefiche sia sul metabolismo glucidico ma anche su altri organi come il cuore.

Empagliflozin riduce inoltre la nefropatia, ovvero la progressione della nefropatia nel paziente diabetico.

C'è distinzione sulla base dell'emoglobina glicata

- Se questa è inferiore al 9% si utilizza solo metformina—> monoterapia. Se l'emoglobina glicata torna inferiore al 7% (target biologico) si continua con monoterapia; se rimane superiore al 7% va considerata la doppia terapia.
- Se questa è superiore o uguale al 9% si utilizza una terapia doppia—> 2 farmaci, metformina + secondo farmaco, gliptine e analoghi del GLP-1 sono da preferire.

È anche importante tenere in considerazione la presenza di eventi CV nel paziente

**ANTIDIABETIC THERAPY in TYPE 2 DM**

