

Beyond Glycemia

Trimestrale a carattere scientifico

www.beyondglycemia.com

Anno I - N. 3, 2012
ISSN 2279-9729

EDITORIALE

3

a cura del Board Scientifico

LEADING ARTICLE

La cellula Beta pancreatica: il ruolo centrale nel Diabete Mellito di Tipo 2

Davide Lauro

AGGIORNAMENTI DALLA LETTERATURA

5

Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study
Marcello Tonelli, Paul Muntner, Anita Lloyd, Braden J Manns, Scott Klarenbach, Neesh Pannu, Matthew T James, Brenda R Hemmelgarn, for the Alberta Kidney Disease Network

Alessio Filippi

7

Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes
Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG; BEAM Study Investigators

Angelo Cignarelli

9

Basal Insulin and Cardiovascular and other Outcomes in Dysglycemia
The ORIGIN Trial Investigators

Riccardo Candido

11

The use of pioglitazone and the risk of bladder cancer in people with type 2 diabetes: nested case-control study
Azoulay L, Yin H, Fillion KB, Assayag J, Majdan A, Pollak MN, Suissa S

Ilaria Dicembrini

13

Reversal of autoimmune diabetes by restoration of antigen-specific tolerance using genetically modified *Lactococcus lactis* in mice
Tatiana Takiishi, Hannelie Korf, Tom L. Van Belle, Sofie Robert, Fabio A. Grieco, Silvia Caluwaerts, Letizia Galleri, Isabella Spagnuolo, Lothar Steidler, Karolien Van Huynegem, Pieter Demetter, Clive Wasserfall, Mark A. Atkinson, Francesco Dotta, Pieter Rottiers, Conny Gysemans, and Chantal Mathieu

Marta Letizia Hribal

Beyond Glycemia

Anno I - N. 3, 2012
Periodico trimestrale a carattere scientifico
Registrazione Tribunale di Milano n. 383 del 13/07/2011

www.beyondglycemia.com

Editore SINERGIE Edizioni Scientifiche S.r.l.
Via la Spezia, 1 - 20143 Milano
Tel. 02 58118054 - Fax 02 8322004
E-mail: redazione@edizionisinergie.com
www.edizionisinergie.com

Direttore Responsabile Mauro Rissa

Board Scientifico Agostino Consoli
Paola Fioretto
Davide Lauro
Edoardo Mannucci
Giorgio Sesti
Roberto Trevisan

Board Specialisti Giuseppe Paolisso
Roberto Pontremoli
Paolo Verdecchia

Redazione Scientifica Riccardo Candido
Angelo Cignarelli
Ilaria Dicembrini
Patrizia Di Fulvio
Alessio Filippi
Angelica Galli
Marta Letizia Hribal
Cecilia Morgantini
Eleonora Russo

Redazione Sinergie Edizioni Scientifiche S.r.l.

Impaginazione Sinergie Edizioni Scientifiche S.r.l.

Stampa Galli Thierry Stampa S.r.l.
Via Caviglia, 3 - 20139 Milano

Tiratura 4.000 copie

Copyright ©2012 SINERGIE Edizioni Scientifiche S.r.l.
Tutti i diritti sono riservati.
Nessuna parte di questa pubblicazione può essere fotocopiata
o riprodotta senza l'autorizzazione dell'Editore.

EDITORIALE

Beyond Glycemia torna sulle Vostre scrivanie dopo la pausa estiva con il terzo numero della Rivista cartacea. Ci auguriamo che in questi mesi abbiate avuto occasione di visitare il sito web www.beyondglycemia.com e di consultare i due Leading Articles presenti nel Vostro raccoglitore, ai quali con questo numero andrà ad aggiungersi un interessante approfondimento sul ruolo centrale che le beta-cellule pancreatiche ricoprono nella patogenesi del diabete. Oltre ad illustrare le principali novità prodotte negli ultimi anni dalla ricerca in questo campo, il Leading Article apre affascinanti prospettive sulla possibilità di "curare" o indurre una remissione di lunga durata della patologia diabetica, sfruttando le recenti conoscenze sulla regolazione della funzionalità beta-cellulare. In questo terzo numero di Beyond Glycemia sono inoltre ancora una volta contenuti degli essenziali riassunti di cinque articoli, selezionati dalla Redazione Scientifica per la loro innovatività e per gli interessanti spunti terapeutici che offrono. In particolare il riassunto presente a pg. 13, tratto da un articolo pubblicato su una delle principali riviste dell'area biomedica, il *Journal of Clinical Investigation*, si inserisce nel medesimo ambito del Leading Article suggerendo un nuovo approccio per trattare la disfunzione beta-cellulare nella forma autoimmune di diabete, il diabete di tipo 1. Il riassunto a pg. 7 tratto anch'esso da una delle principali riviste di medicina, il *New England Journal of Medicine*, riporta invece i risultati di uno studio clinico che dimostra come il rallentamento dei processi infiammatori e dei fenomeni di stress ossidativo

ottenuto grazie alla somministrazione di un derivato naturale dell'acido oleanolico, una molecola presente in natura nelle foglie di ulivo, si accompagni ad un miglioramento della funzionalità renale nei pazienti con insufficienza renale cronica. Nel riassunto presente a pg. 11 sono invece riportati i risultati di un ampio studio retrospettivo volto a valutare se il trattamento con pioglitazone sia associato ad un'aumentata incidenza di tumore vescicale. I risultati dello studio confermano l'esistenza di tale associazione e suggeriscono che il trattamento dei pazienti diabetici debba essere personalizzato sulla base delle caratteristiche individuali e di una attenta valutazione del profilo di sicurezza, non solo a livello cardiovascolare, delle diverse opzioni terapeutiche. Gli altri due riassunti affrontano importanti aspetti delle complesse interazioni tra diabete mellito di tipo 2, rischio cardiovascolare (pg. 9) e malattia renale cronica (pg. 5). In conclusione, speriamo di essere riusciti anche questa volta a selezionare articoli che suscitino il Vostro interesse e che possano non solo essere utili nella Vostra pratica clinica, ma anche mantenere sempre viva la Vostra attenzione per le piccole e grandi novità della letteratura scientifica. Vi invitiamo quindi a continuare, attraverso il website, il costruttivo dialogo cominciato nello scorso mese di Aprile e ribadiamo il nostro impegno ad accogliere i Vostri suggerimenti e consigli per costruire insieme un progetto editoriale che risponda al meglio alle Vostre esigenze.

Buona Lettura.

Il Board Scientifico

Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study

Marcello Tonelli, Paul Muntner, Anita Lloyd, Braden J Manns, Scott Klarenbach, Neesh Pannu, Matthew T James, Brenda R Hemmelgarn, for the Alberta Kidney Disease Network
The Lancet. 2012; doi:10.1016/S0140-6736(12)60572-8

Alessio Filippi

Il diabete di tipo 2 è riconosciuto da tempo quale *equivalente di rischio cardiovascolare*, dove con il termine *equivalente di rischio cardiovascolare* si fa riferimento ad una condizione che conferisce un rischio di un evento cardiovascolare nell'arco dei 10 anni equivalente a quello associato ad un pregresso infarto del miocardio (ovvero a un rischio generalmente >20%). In questo studio gli Autori hanno valutato l'ipotesi che la presenza di insufficienza renale cronica (IRC) possa conferire un rischio cardiovascolare paragonabile a quello associato al diabete.

Lo studio è stato condotto su una popolazione canadese di quasi 1.300.000 soggetti adulti nei quali fosse stata determinata la velocità filtrazione glomerulare (eGFR) almeno una volta tra il 2002 ed il 2009. I soggetti con insufficienza renale terminale sono stati esclusi dall'analisi. L'outcome primario dello studio era rappresentato dal rischio di ospedalizzazione per infarto del miocardio (IMA), calcolato attraverso degli algoritmi convalidati sulla base dei precedenti ricoveri ospedalieri per IMA o diabete, durante una mediana di follow-up di 48 mesi. L'outcome secondario era invece rappresentato dalla mortalità per tutte le cause.

Attraverso il modello di regressione di Poisson sono stati calcolati i tassi di IMA durante il follow-up in cin-

que gruppi a rischio: soggetti con precedente IMA, soggetti con diabete e IRC, soggetti non diabetici con IRC, soggetti con diabete senza IRC e soggetti senza diabete o IRC.

Nel periodo esaminato, 11.340 soggetti della coorte sono stati ricoverati per IMA (1% della popolazione), mentre la mortalità per tutte le cause è stata del 4% (47.712 i decessi registrati): i tassi

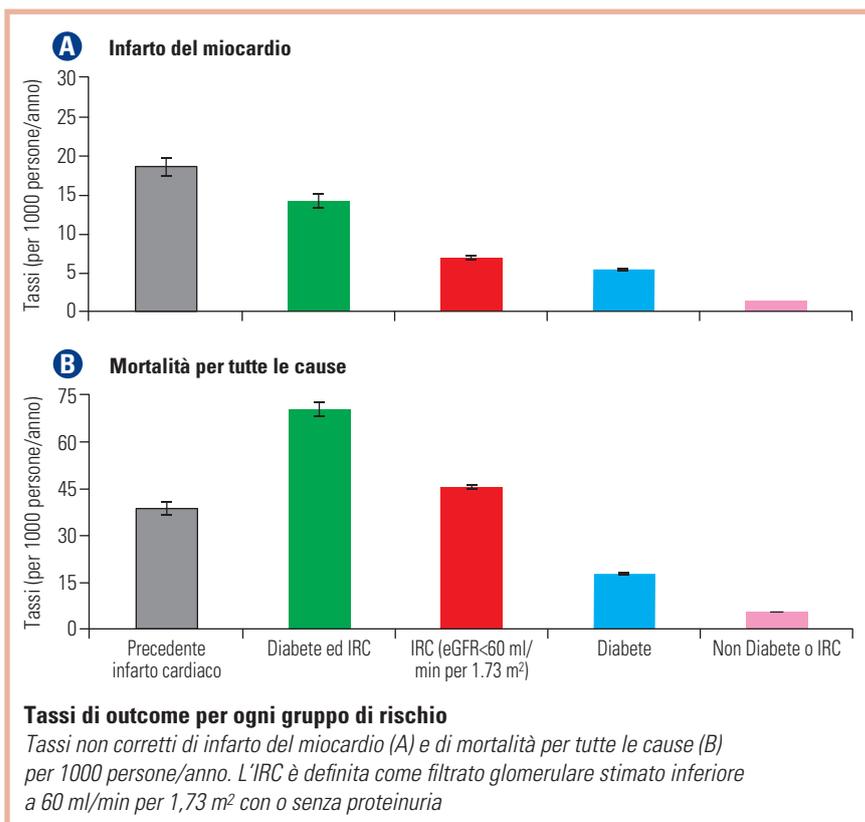


Figura 1

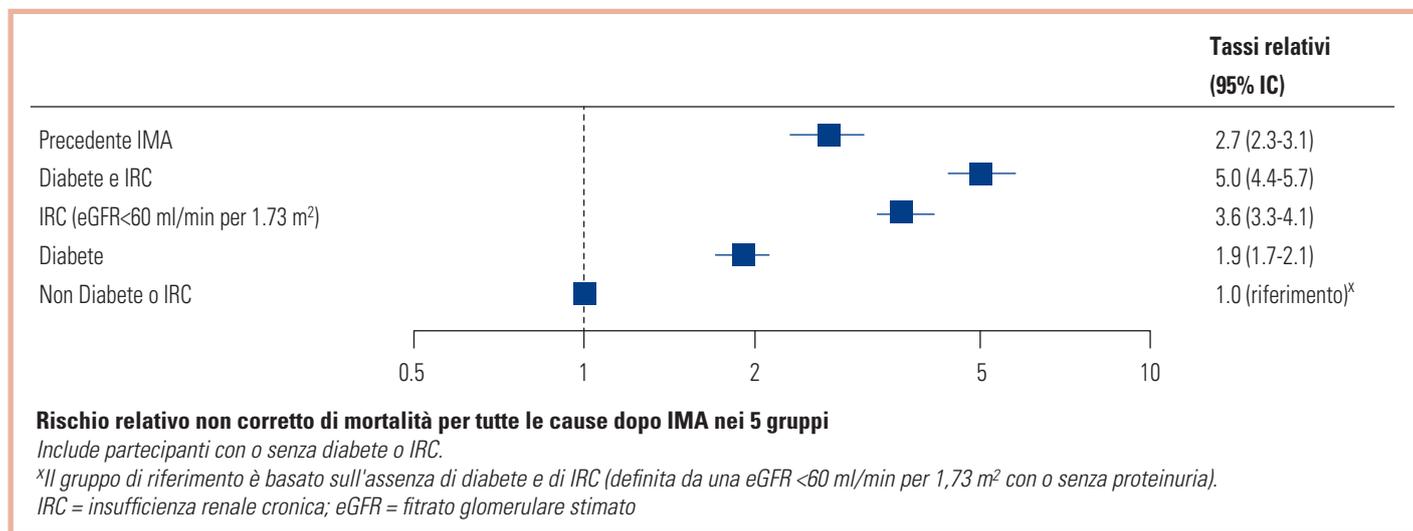


Figura 2

non corretti di IMA erano più alti tra i pazienti con pregresso infarto (18,5 per mille/anno), mentre nei soggetti senza storia di cardiopatia il tasso di ospedalizzazione per IMA era più alto nei soggetti con IRC rispetto a quelli diabetici (6,9 per mille/anno rispetto a 5,4 per mille/anno) (figura 1). Inoltre nel sottogruppo di pazienti con IRC con eGFR < 45 ml/min e proteinuria, il tasso di IMA saliva a 12,4 per mille/anno.

La correzione per età, sesso, condizione economica e 12 comorbidità aggiuntive (comprendenti: qualunque tumore solido o metastasi, vasculopatia cerebrale o periferica, BPCO, insufficienza cardiaca, demenza, emiplegia/paraplegia, AIDS, epatopatia, ulcera gastrica e malattie reumatologiche), riduceva maggiormente i tassi di IMA nel gruppo con IRC rispetto a quello con diabete (1,4% rispetto a 2%), suggerendo così che fattori demografici (ovvero l'invecchiamento della popolazione) e alcune caratteristiche cliniche abbiano un peso importante nell'aumentato rischio cardiovascolare osservato nei soggetti con IRC. Per quanto riguarda i tassi non corretti di mortalità per tutte le cause dopo un IMA, essi erano più alti nei soggetti diabete e IRC rispetto ai soggetti con IRC non diabetici (3,6 per mille/anno), ai soggetti con pregresso IMA (2,7 per mille/anno) e a quelli con diabete senza IRC (1,9 per mille/anno) (figura 2).

Analizzando in particolare i dati relativi alla mortalità a 30 giorni dal ricovero per IMA, l'IRC emergeva come il fattore di rischio più importante, essendo presente nel 14% dei soggetti in assenza di diabete o

pregresso IMA, mentre il 10% dei soggetti deceduti ad un mese dall'IMA erano cardiopatici noti ma senza storia di diabete o di IRC, e solo l'8% era diabetico con anamnesi negativa per IMA o per IRC.

È possibile che la maggior mortalità riscontrata nei pazienti con IRC possa essere dovuta alla disparità dei trattamenti, ovvero alla minor frequenza con cui questi pazienti andavano incontro a procedure di rivascularizzazione o con cui ricevevano farmaci quali beta-bloccanti, aspirina o clopidogrel per paura di peggiorarne la funzionalità renale. Recentemente lo studio SHARP ha mostrato i vantaggi della terapia ipolipidizzante anche nei pazienti con IRC moderata, pertanto gli autori sostengono che se l'insufficienza renale cronica fosse riconosciuta quale equivalente di rischio cardiovascolare, anche i pazienti con IRC dovrebbero ricevere il trattamento ipolipidizzante: è stato calcolato che solo negli USA questo significherebbe un bacino di pazienti aggiuntivi di quasi 12 milioni di persone.

Nonostante i dati di questo studio non autorizzino a considerare allo stato attuale l'IRC quale equivalente di rischio cardiovascolare, il fatto che soggetti diabetici e con IRC associata a proteinuria abbiano un tasso di IMA superiore a quello di soggetti con pregresso infarto del miocardio, va a sostegno dell'ipotesi, avanzata già a suo tempo dallo studio Steno-2, che uno stretto controllo della glicemia, dei valori pressori e dei lipidi possa ridurre la progressione di malattia e la mortalità cardiovascolare nei pazienti con nefropatia e diabete di tipo 2.

Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes

Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG; BEAM Study Investigators
N Engl J Med. 2011 Jul 28;365(4):327-36. Epub 2011 Jun 24

Angelo Cignarelli

Il diabete mellito è una delle principali cause di malattia renale cronica in tutto il mondo. Nonostante la progressione di tale patologia sia rallentata dall'uso di ACE-inibitori e antagonisti del recettore dell'angiotensina (ARB), in molti pazienti la condizione progredisce inesorabilmente ad insufficienza renale.

La malattia renale cronica nei pazienti con diabete mellito è una condizione patologica associata ad infiammazione cronica e stress ossidativo. Lo stato flogistico è noto provocare disfunzione endoteliale e contrazione delle cellule mesangiali e, con il tempo, fibrosi glomerulare ed espansione mesangiale. Questi eventi fisiopatologici sono alla base del declino della funzione renale.

Con questo trial, gli autori hanno voluto studiare se un intervento terapeutico mirato a contrastare l'infiammazione e lo stress ossidativo, potesse favorire la stabilizzazione o il miglioramento della funzione renale valutata mediante la stima della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) in pazienti diabetici con insufficienza renale cronica. Per tale obiettivo, hanno valutato l'effetto del bardoxolone metile, un derivato naturale dell'acido oleanolico (una molecola presente nelle foglie di ulivo) che, come la prostaglandina ciclopentenone, esercita effetti antinfiammatori attraverso l'inibizione della via proinfiammatoria mediata dal fattore nucleare kB (NFkB).

Lo studio è stato condotto su 227 pazienti adulti diabetici tipo 2, con insufficienza renale cronica da moderata a grave (GFR tra 20 e 45 ml/min/1.73 m²), ed un'emoglobina glicata inferiore al 10%, in trattamento con ACEi e/o ARB da almeno 8 settimane, assegnati in modo casuale in un rapporto 1:1:1:1 a ricevere placebo o bardoxolone orale alla dose di 25, 75, o 150 mg una volta al giorno

per 52 settimane. Come end point primario dello studio è stata considerata la variazione rispetto al basale del GFR in pazienti trattati con bardoxolone metile a 24 settimane; mentre come end point secondario è stata valutata la variazione del medesimo parametro a 52 settimane. Sono stati inoltre registrati ulteriori dati, tra cui la GFR 4 settimane dopo l'ultima somministrazione del farmaco, e le variazioni rispetto al basale dell'albuminuria, dei livelli di creatinina sierica, azotemia, fosforo sierico, acido urico, magnesio, potassio, bicarbonato, emoglobina glicata, e ormone paratiroideo. Già a partire dalla quarta settimana dall'inizio del trattamento, nei tre gruppi trattati con bardoxolone la GFR è risultata significativamente aumentata. A 24 settimane, è stato osservato un miglioramento significativo dell'end-point primario in tutti i gruppi trattati con bardoxolone, rispetto al gruppo placebo, con differenze medie di $8,2 \pm 1,5$ ml nel gruppo trattato con 25 mg, $11,4 \pm 1,5$ ml nel gruppo trattato con 75 mg e $10,4 \pm 1,5$ ml nel gruppo trattato con 150 mg. A 52 settimane, le differenze della GFR, rispetto al placebo (end point secondario), ha continuato a favorire significativamente i gruppi trattati con il bardoxolone, con una differenza di, rispettivamente, $5,8 \pm 1,8$ ml nel gruppo 25 mg, $10,5 \pm 1,8$ ml nel 75 mg, e $9,3 \pm 1,9$ ml nel gruppo 150 mg. Nel gruppo trattato con placebo non sono emersi cambiamenti significativi rispetto al basale della GFR né a 24 né a 52 settimane. A 24 settimane nei gruppi trattati con bardoxolone, gli autori hanno osservato una riduzione significativa rispetto al placebo dei livelli ematici di azoto ureico, fosforo sierico, acido urico e magnesio; tali diminuzioni sono risultate inversamente correlate con le variazioni della GFR; questa correlazione si è mantenuta anche a 52 settimane. Un aumento della GFR rispetto al basale, è stato osservato nei gruppi trattati con bardoxolone anche 4 settimane dopo la sospensione.

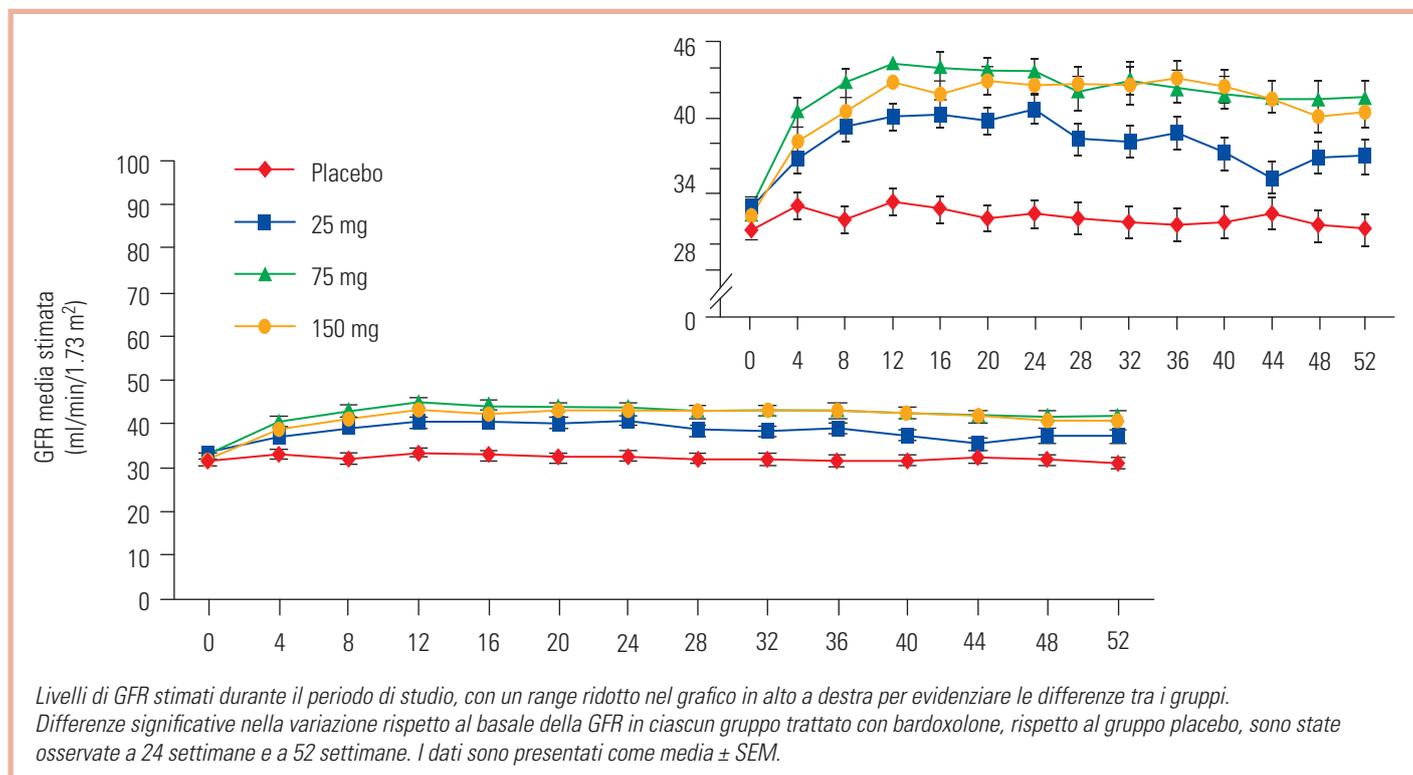


Figura 1

Gli eventi avversi sono risultati più frequenti nei gruppi trattati con bardoxolone rispetto al gruppo placebo. La maggior parte degli eventi avversi registrati sono stati da lievi a moderati. L'evento avverso più comune tra i pazienti trattati con bardoxolone è risultato il crampo muscolare, con una incidenza del 42% nel gruppo 25 mg, 61% nel gruppo 75 mg e il 59% nel gruppo 150 mg, rispetto al 18 % nel gruppo placebo. I crampi, che hanno colpito principalmente il polpaccio, sono risultati più frequenti durante le prime 12 settimane dello studio, risolvendosi senza la sospensione del farmaco.

Quindi il trattamento con bardoxolone per 52 settimane ha determinato un consistente e significativo miglioramento della velocità di filtrazione glomerulare tra i pazienti diabetici tipo 2 che ricevono terapia medica standard per la malattia renale cronica. Secondo gli autori, l'andamento nel tempo delle variazioni di GFR tra i pazienti trattati con bardoxolone suggerisce che vi sia un effetto a breve termine durante le prime 12 settimane, seguito da un effetto a lungo termine. Viene ipotizzato che l'aumento della GFR rispetto

al basale, a 4 settimane dall'interruzione del bardoxolone, possa essere spiegato proprio da una diminuzione della flogosi e dello stress ossidativo associato con la malattia renale cronica.

Infatti, il miglioramento della funzionalità renale non sembra essere dovuto a modifiche emodinamiche glomerulari non essendo stata osservata alcuna correlazione tra le variazioni di GFR e variazioni di pressione arteriosa o del peso corporeo. Sebbene non sia stata direttamente valutata la funzione tubulare, la correlazione inversa tra livelli GFR e livelli di acido urico, fosfato e magnesio (il cui trasporto è regolato nei tubuli renali) indicano che il bardoxolone possa avere anche un effetto diretto sui tubuli.

In conclusione, gli autori propongono un intervento terapeutico che ostacoli i processi infiammatori ed i fenomeni di stress ossidativo al fine di contribuire, sia a breve che a lungo termine, ad un miglioramento della GFR nei pazienti con insufficienza renale cronica e candidano il bardoxolone per ulteriori studi farmacologici in questo tipo di pazienti.

La cellula Beta pancreatica: il ruolo centrale nel Diabete Mellito di Tipo 2

Davide Lauro

Introduzione

L'International Diabetes Federation (IDF) stima che nel 2011 nel mondo i pazienti con Diabete Mellito erano circa trecentosessantasei milioni di persone e il numero di persone con DM aumenterà in maniera esponenziale nel prossimo futuro, difatti si pensa che nel 2030 circa cinquecentocinquanta milioni di persone avranno il DM (Figura 1). Il novanta per cento circa dei pazienti con DM ha il Diabete di Tipo 2 (DT2), e in questa categoria non più del dieci per cento può essere rappresentato da forme genetiche come il "maturity-onset diabetes of the young", il diabete mitocondriale, o il Diabete di Tipo 1 (DT1) ad insorgenza nell'adulto o il 'latent autoimmune diabetes in adults' (LADA). Il DM è caratterizzato da elevati livelli di glucosio come risultato di un

insufficiente produzione/secrezione d'insulina rispetto alle necessità dell'organismo. Il DT1 è una malattia autoimmune ad eziologia sconosciuta, che causa la distruzione della cellula beta pancreatica e ha come conseguenza una franca iperglicemia. Il DT1 si manifesta generalmente nell'infanzia o nell'adolescenza, ed è responsabile di circa il 5-10% di tutti i casi di diabete, usualmente sono presenti anticorpi diretti contro antigeni presenti a livello delle cellule beta pancreatiche (ICA, GAD, IA-2, IA-2 β etc.). L'eziologia della patologia potrebbe essere legata a fattori ambientali (tra i quali, sono stati chiamati in causa fattori dietetici), oppure genetici o dall'interazione dell'ambiente con il fenotipo, individuati in una predisposizione genetica nella risposta a fenomeni esterni, tra cui virus e batteri. Quest'ultima ipotesi è fondata da risultati ottenuti da alcuni studi condotti su gemelli monozigoti che hanno permesso di dimostrare che il rischio che entrambi sviluppino DT1 è del 30-40%, mentre scende al 5-10% nei fratelli non gemelli e del 2-5% nei figli. Si potrebbe, quindi, avere una "predisposizione alla malattia" attraverso la trasmissione di geni che interessano la risposta immunitaria e che, in corso di una banale risposta del sistema immunitario a comuni agenti infettivi, causano una reazione anche verso le cellule beta del pancreas, con la produzione di auto-anticorpi diretti contro queste cellule (Hyttinen *V et al*). L'attivazione del sistema immunitario con una risposta autoimmune diretta verso le cellule beta porta alla distruzione di queste cellule ed a un'insufficiente produzione d'insulina, difatti questi pazienti richiederanno una terapia insulinica sostitutiva per tutta la durata della vita.

Incidenza e Prevalenza del Diabete Mellito 2010-2030		
AT A GLANCE	2011	2030
Totala world population (bilions)	7.0	8.3
Adult population (20-79 years. bilions)	4.4	5.6
DIABETES AND IGT (20-79 YEARS)		
Diabetes		
Global prevalence (%)	8.3	9.9
Comparative prevalence (%)	8.5	8.9
Number of people with diabetes (millions)	366	552
IGT		
Global prevalence (%)	6.4	7.1
Comparative prevalence (%)	6.5	6.7
Number of people with IGT (millions)	280	398

fonte IDF (International Diabetes Federation)
<http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden>

Figura 1

Epidemiologia

Il DT2, che sarà considerato in quest'articolo, è la forma di più comune di DM nel mondo, e si stima che l'incremento della prevalenza, come sopra riportato, sarà maggiore nei paesi in via di sviluppo, rispetto ai paesi sviluppati (69% vs 20%) (Shaw JE et al). Nei paesi in via di sviluppo l'insorgenza del DT2 si ha principalmente tra i 40-60 anni, quindi in età lavorativa, mentre nei paesi sviluppati la maggiore prevalenza si ha ad un'età superiore ai 60 anni (Shaw JE et al). Nei paesi in via di sviluppo l'aumento dell'incidenza del DT2 è inestricabilmente associato a cambiamenti dello stile di vita, verso quello cosiddetto 'occidentale' (dieta ad alto contenuto energetico, specialmente acidi grassi saturi, e ridotta attività fisica), questo determina un inevitabile aumento della prevalenza del sovrappeso e dell'obesità con un aumento dell'incidenza di DT2 (Chan JC et al). L'eccesso della mortalità causata dal DM nel 2000 era di circa 2.9 milioni (5,2%) di morti, prevalentemente causata da malattie cardiovascolari o ad altre complicanze croniche associata alla patologia (Chan JC et al). Nel 2010 il numero totale dell'aumento di mortalità attribuibile al diabete nel mondo è stato stimato intorno a 3.96 milioni di morti con una percentuale di mortalità intorno al 6,8% (Roglic G et al. -a). Il diabete era responsabile di circa il 6% di tutte le cause di morte in Africa, fino ad un massimo del 15,7% nell'America del nord (Roglic G et al. -b).

La Fisiopatologia del Diabete di Tipo 2

Il DT2 può essere considerato come un difetto nell'immagazzinare un eccesso di calorie introdotte con la dieta, difatti l'aumento cronico delle calorie assunte è il principale evento patologico che porta allo sviluppo del DT2 nelle persone che hanno un'aumentata suscettibilità sia genetica che epigenetica (Prentki M et al; De Fronzo RA). Molte persone cronicamente sovra-alimentate e che sono in sovrappeso o obese, non sviluppano il

diabete, o hanno la malattia in tarda età. Questo gruppo di persone è resistente all'insorgenza del DT2 poiché ripartisce l'eccesso di calorie introdotte con la dieta, specialmente degli acidi grassi, aumentando i depositi di grasso sottocutaneo (SAT), evitando quindi l'accumulo di grasso (steatosi) a livello della massa magra come il cuore, la fibra muscolare scheletrica, il fegato e le cellule beta pancreatiche. Il compenso all'eccessivo introito calorico avviene, inoltre, anche grazie ad una normale regolazione della funzione della cellula beta pancreatica, che permette di conservare quasi normali concentrazioni ematiche di nutrienti; questo permette ai principali organi del corpo umano di evitare il danno indotto dall'eccesso di nutrienti (Stefan N et al). Gli individui suscettibili allo sviluppo del DT2 quando esposti ad una sovra-alimentazione non hanno questa risposta adattativa e, differentemente, hanno una serie di difetti che predispongono all'insorgenza della malattia. Le principali alterazioni metaboliche sono a) la ridotta secrezione insulinica glucosio-dipendente della cellula beta pancreatica, che non riesce a compensare l'eccessivo introito di nutrienti nella dieta, principalmente glucosio ed acidi grassi, e l'insulino-resistenza periferica, b) l'aumentata se-

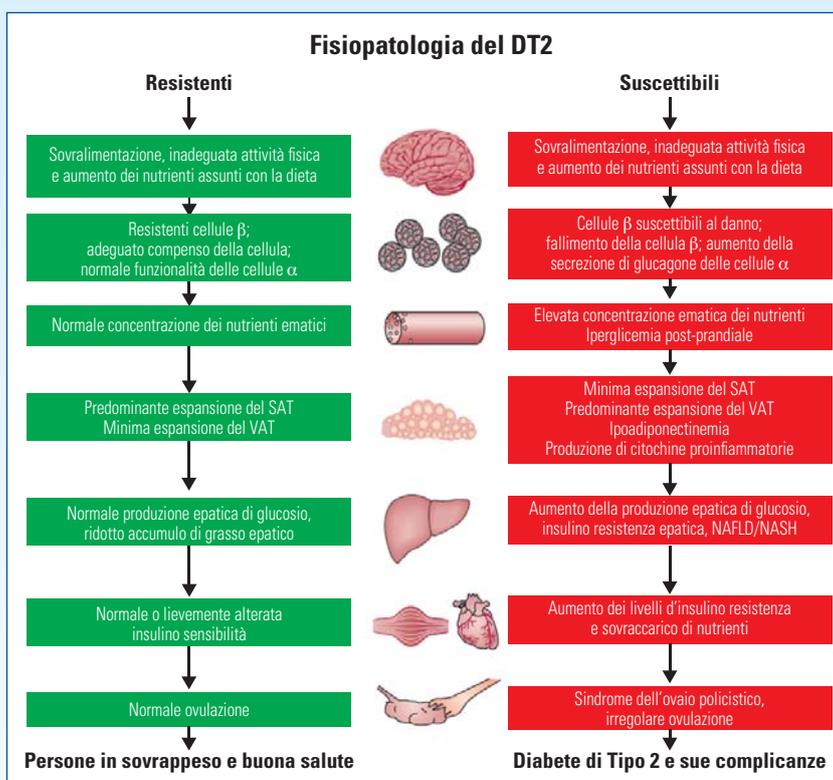


Figura 2

crezione di glucagone, c) la ridotta risposta incretinica, d) la ridotta espansione dei depositi di grasso sottocutaneo con associata ipoadiponectinemia, e infiammazione del tessuto adiposo, e) l' aumento della produzione epatica di glucosio e f) la presenza di steatosi a livello della massa magra (fegato, fibra muscolare scheletrica etc.), che porta ad un aumento dell'insulino-resistenza (Prentki M et al; Meier JJ et al) (Figura 2).

La cellula Beta e la Regolazione della Secrezione Insulinica.

La regolazione fisiologica della secrezione insulinica glucosio-dipendente delle cellule beta pancreatiche è ormai quasi completamente conosciuta. L'esocitosi dei granuli d'insulina richiede un incremento dei livelli di calcio intracellulare-Ca²⁺ (almeno nei casi della secrezione insulinica glucosio dipendente), che è generato principalmente dall'aumento del trasporto di calcio attraverso i canali del calcio voltaggio dipendenti della membrana citoplasmatica. La loro apertura è indotta dai canali del potassio ATP-sensibili (K_{atp}), che hanno un ruolo importante nella modulazione della secrezione insulinica unendo il metabolismo cellulare, con i potenziali di membrana. Questi canali sono aperti a basse concentrazioni di glucosio e l'efflusso del potassio attraverso i canali di membrana permette l'iperpolarizzazione della membrana citoplasmatica, impedendo la generazione d'attività elettrica, l'apertura dei canali del calcio e l'influsso di calcio modula la secrezione insulinica. Un incremento delle concentrazioni plasmatiche di glucosio aumenta la captazione di glucosio e il suo metabolismo all'interno della cellula beta pancreatica, portando ad un aumento della sintesi dell'ATP e ad una concomitante riduzione dei livelli di MgADP. L'aumento dei livelli citoplasmatici di ATP provoca la chiusura dei canali di K_{atp} dipendente, permettendo la depolarizzazione della membrana citoplasmatica con l'inizio dell'attività elettrica, il successivo aumento del trasporto e

dei livelli di calcio cellulare e il conseguente aumento della secrezione insulinica (Braun M et al) (Figura 3). Le Sulfaniluree, come la glibenclamide, stimolano la secrezione insulinica mediante la chiusura dei canali K_{atp}, ma indipendentemente dalle concentrazioni di glucosio, quindi viene persa quella che è la regolazione metabolica della secrezione insulinica. Questa classe di farmaci è stata usata per oltre sessant'anni per il trattamento del DT2 e, più recentemente, per il trattamento di alcune forme monogeniche di DM (Proks P et al). E' stato riportato che anche altri nutrienti come gli amminoacidi e gli acidi grassi possono aumentare la secrezione insulinica glucosio dipendente, ma normalmente hanno un piccolo effetto singolarmente nell'induzione della secrezione insulinica. Alcuni ormoni e neurotrasmettitori possono stimolare la secrezione insulinica, però indipendentemente dalla quantità di calcio intracellulare. Recentemente un notevole interesse è stato rivolto al ruolo del 'glucagon-like peptide' (GLP)-1, questo ormone è rilasciato principalmente dalle cellule L dell'ileo/colon nel lume intestinale, in risposta al glucosio ed a altri nutrienti, e aumenta la secrezione insulinica glucosio-dipendente. Nella cellula beta pancreatica il GLP-1 stimola la produzione intracellulare di cAMP, che può agire mediante l'at-

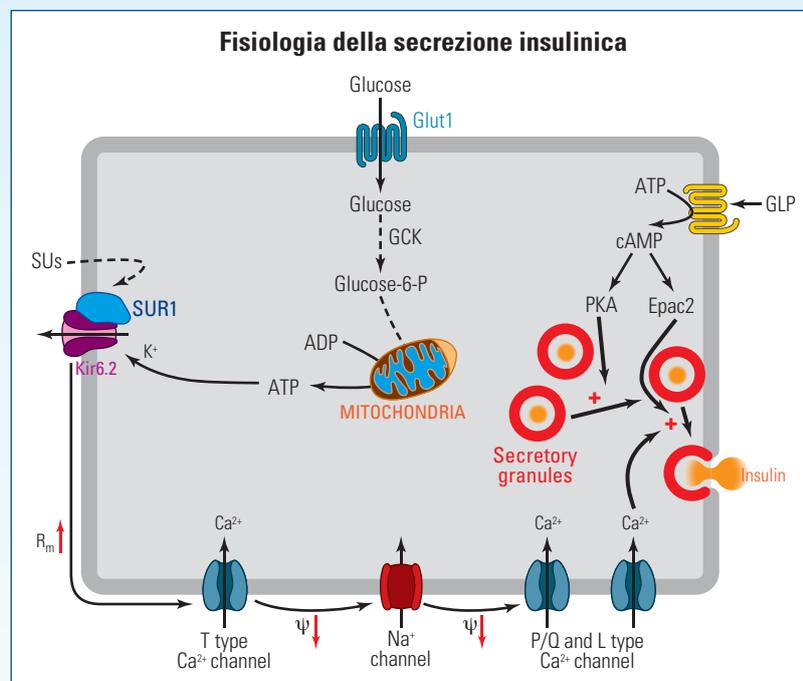


Figura 3

tivazione delle vie di trasmissione del segnale intracellulare PKA-dipendente ed indipendente per amplificare la secrezione dei granuli d'insulina, la chiusura dei canali K_{atp} , l'attività elettrica della cellula beta e il rilascio di calcio dai depositi intracellulari (Leech et al). La maggior parte di questi effetti si hanno quando le concentrazioni ematiche di glucosio sono aumentate e, quindi, il GLP-1 incrementa la secrezione insulinica dipendente dal glucosio. Un meccanismo d'azione simile a quello del GLP-1 lo ha anche il GIP (Glucose-dependent insulinotropic peptide), rilasciato dalle cellule K del duodeno. Il rilascio degli ormoni incretinici nell'intestino, come il GLP-1 e il GIP spiega il perché dopo carico orale di glucosio si ha una maggiore secrezione insulinica rispetto alla stimolazione del glucosio dopo infusione endovenosa. Gli effetti PKA-indipendenti delle incretine sono mediati dalla proteina sensibile all'AMP-c la Epac2, infine l'attivazione della PKA indotta dall AMP-c aumenta l'esocitosi Ca^{2+} dipendente senza un ulteriore aumento del calcio intracellulare (Zhang et al). In ultimo, la secrezione dei granuli d'insulina richiede le proteine SNARE synaptobrevina, sintassina e SNAP25 (Rorsman et al).

La secrezione insulinica da isole di Langerhans isolate è bifasica, caratterizzata da un rapido transitorio picco di secrezione insulinica, seguito da una tardiva seconda fase di secrezione insulinica. Nel DT2 la prima fase della secrezione insulinica è quasi abolita e la seconda fase è fortemente ridotta (Hosket et al). E' stato proposto che la natura bifasica della secrezione insulinica riflette l'esistenza di distinti pool funzionali di granuli secretori nella cellula beta pancreatica. Difatti, un sottogruppo di essi è conosciuto come il pool funzionale prontamente rilasciabile, situato vicino i canali del Ca^{2+} , ed è responsabile della primo picco di secrezione insulinica. Quando si esaurisce questo pool di granuli secretori, la secrezione insulinica procede più lenta-

mente, probabilmente riflettendo la fisiologica traslocazione dei nuovi granuli al sito di rilascio, producendo la seconda fase della secrezione insulinica (Henquin JC et al). Attualmente, è presente un acceso dibattito sull'entità della riduzione della massa pancreatica beta cellulare e su quale sia il suo ruolo nell'eziologia del DT2. Nelle ultime decadi, diversi studiosi sono stati inclini all'ipotesi che un ridotto numero di cellule beta pancreatiche, piuttosto che un'alterata funzionalità della stessa cellula beta fosse presente come un fattore principale nell'eziologia del DT2. Una riduzione fino al 60% della massa beta cellulare è stata riscontrata nel DT2 con associato parallelo deterioramento della secrezione insulinica indotta dal glucosio (Butler AE et al; Del Guerra S et al). Comunque, questo risultato non è stato confermato da altri studi che hanno riportato solamente una modesta riduzione della massa beta cellulare nei pazienti con DT2 (Rahier J et al). Inoltre, non è chiaro se individui con il DT2 hanno una ridotta massa beta cellulare o se questo difetto sia successivo all'insorgenza del diabete e, quindi, una conseguenza dell'iperglicemia, poichè non esistono studi longitudinali nell'uomo. Non è stato chiarito quanta massa beta cellulare sia necessaria per preservare un buon controllo glicemico. Tuttavia, semplici calcoli della percentuale di secrezione insulinica giornaliera, in persone non diabetiche, suggerisce che anche solo il 40% della massa

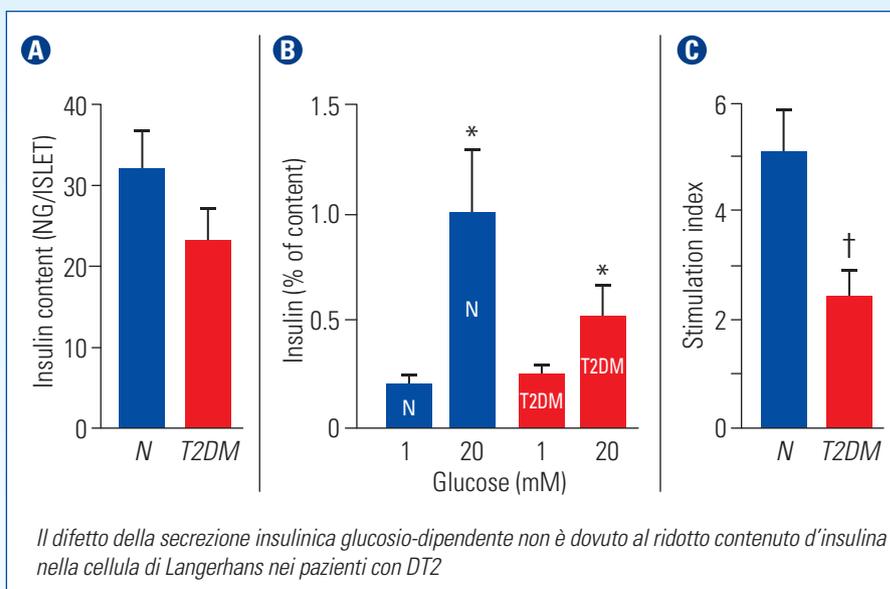


Figura 4

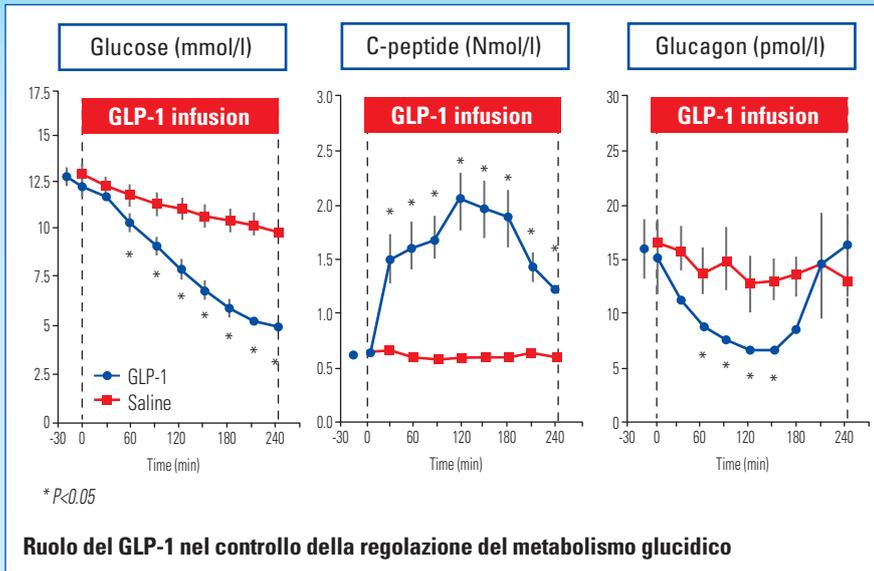


Figura 5

beta cellulare sia sufficiente per ottenere un adeguato controllo della glicemia (*Maedler K*). Questo dato è anche confermato dal fatto che l'asportazione di metà del pancreas ha soltanto un piccolo effetto sulla tolleranza al glucosio (*Menge BA et al*). Complessivamente, queste scoperte suggeriscono che sebbene la massa beta cellulare abbia un ruolo nell'eziologia del DT2, questo difetto non è il solo, e, probabilmente, neanche il più importante fattore che porta all'insufficiente secrezione insulinica. Inoltre, è stato scoperto che la secrezione insulinica di persone con DT2 è ridotta anche quando si misura la lieve riduzione del contenuto assoluto d'insulina (Figura 4), questo suggerisce che la funzione della cellula beta, piuttosto che la riduzione del numero delle stesse cellule sia importante nell'eziologia del DT2 (*Walker JN et al*). Infatti, la rapida correzione dell'iperglicemia nel diabete e l'aumento della secrezione insulinica indotta dal trattamento con il GLP-1 dimostra che perfino nel DT2 conclamato, è presente una sufficiente, anche se latente, capacità beta cellulare (*Nauck MA et al*) (Figura 5). Recenti osservazioni suggeriscono che nell'uomo, differenzialmente rispetto ai roditori, le persone adulte hanno una gran quantità di cellule beta adulte senescenti, e generalmente in una fase del ciclo post-mitotica e con un lungo ciclo cellulare (*Knopp M et al*), così è improbabile che un difetto del ricambio cellulare contribuisca all'in-

sorgenza del DT2. Comunque, il processo dell'invecchiamento (ridotta ossidazione mitocondriale) nelle cellule endocrine con un lungo ciclo cellulare potrebbe alterare la funzione secretoria. La formazione di amiloide nelle isole pancreatiche, generata dal 'islet amyloid polipeptide (IAPP)' è una caratteristica del DT2, ma poiché i depositi d'amiloide e l'amiloidosi sono modeste in molti pazienti, è probabile che questa sia una conseguenza piuttosto che una causa della malattia (*Zraika S et al*).

L'obesità e la Regolazione della Secrezione Insulinica

L'obesità è un importante fattore di rischio per l'insorgenza del DT2, poiché in questa condizione si ha una riduzione dei livelli d'insulino sensibilità nei tessuti bersaglio dell'azione insulinica come il fegato, la fibra muscolare scheletrica, il tessuto adiposo etc. Normalmente, le cellule beta compensano questo difetto, aumentando i livelli di secrezione insulinica e l'entità con cui sono in grado di farlo determina se o meno i soggetti obesi svilupperanno il diabete (*Bergman RN*). L'influenza genetica nell'insorgenza del DT2 è notevole, difatti la maggior parte delle persone obese non sviluppa il DT2 poiché sono in grado di compensare, con l'aumento della secrezione insulinica l'incremento dei livelli d'insulino-resistenza periferica, mentre solamente un terzo circa delle persone obese svilupperà il DT2. Le correlazioni tra genetica e obesità con il DT2 si evincono anche dai risultati di studi su parenti di primo grado di pazienti con DT2 (PPGDT2), difatti è stato dimostrato che in persone sane con PPGDT2 l'infusione di un'emulsione di trigliceridi porta ad una riduzione della secrezione insulinica, differenzialmente questo non avviene nelle persone sane senza PPGDT2 (*Kashyap S et al*). L'influenza ambientale è comunque importante, difatti la maggior parte delle persone non hanno il DT2 in assenza di elevati livelli plasmatici di acidi grassi liberi (FFA) e/o trigliceridi, en-

fatizzando che principalmente, in presenza di aumentate concentrazioni di FFA e/o trigliceridi si manifestano le differenze legate alla genetica, che diventano ovvie.

I FFA hanno un complesso effetto sulla funzione della cellula beta pancreatica; è stato riportato che generalmente dopo una breve esposizione ad elevate concentrazioni di FFA si ha un potenziamento della secrezione insulinica glucosio-dipendente. Questo meccanismo contribuisce all'aumento della secrezione insulinica in risposta ad un pasto misto e consente l'immagazzinamento dell'eccesso di calorie assunte con la dieta. Differentemente, l'esposizione cronica ad elevate concentrazioni di FFA riduce la secrezione insulinica glucosio-dipendente, ma ancora non è stato chiarito quale sia il meccanismo con cui questo avviene e, difatti, il tema è molto dibattuto. E' stato suggerito che possa coinvolgere un alterato metabolismo del glucosio, una ridotta biosintesi d'insulina, e una perdita della cellula beta pancreatica (Stefanovski D et al). Recentemente, inoltre, è stato proposto che in presenza di aumentati livelli di FFA vi sia una ridotta densità dei canali del calcio nella membrana citoplasmatica. I canali del calcio normalmente colocalizzano con i granuli secretori dell'insulina, assicurando che, qualora i canali del calcio si aprano per un breve periodo di tempo (come durante il potenziale d'azione), il Ca^{2+} , che entra nella cellula beta pancreatica sia sufficiente per indurre la secrezione d'insulina. La perdita della colocalizzazione porta ad un di-

fetto del meccanismo d'entrata del calcio che entra nel 'posto sbagliato' non stimola la secrezione insulinica (Hoppa MB et al) (Figura 6).

Le Nuove Prospettive della Terapia nel Diabete di Tipo 2

Negli ultimi anni è stata introdotta la terapia basata sulle incretine per il trattamento del DT2. Il GLP-1 ha un'emivita di circa 1 minuto nella circolazione e è rapidamente degradato da un enzima la dipeptidil peptidasi 4 (DPP-4), per questo motivo non può essere usato come farmaco nella sua forma nativa (Deacon CF et al). Ciononostante, l'utilizzo d'inibitori del DPP-4 (DPP-4i) o di analoghi stabili del GLP-1 porta a un efficace aumento della secrezione d'insulina glucosio-dipendente. La loro efficacia, che è stata riscontrata anche in persone con il DT2 di lunga durata, dimostra la presenza di una sufficiente capacità di ripristinare una normale fisiologia della secrezione insulinica nella cellula beta pancreatica, con la possibilità di ottenere una normale regolazione della glicemia (Phillips LK et al). Questa avvalorà l'ipotesi che un 'alterata funzione della cellula beta pancreatica' sia la causa principale che porta all'insorgenza del DT2 ed intervenire su questo meccanismo può ripristinare un regolare controllo della glicemia. I livelli plasmatici del GLP-1 sono ridotti nel DT2, ma non è noto quanto e se sia presente una riduzione dell'effetto incretinico indi-

pendentemente dalle concentrazioni ematiche del GLP-1. Recentemente, è stata riportata la possibilità che agonisti diretti verso nuovi recettori accoppiati alle proteine G, che includono il GPR119, il GPR40, il GPR120 e il GPR43 (Kebede MA et al), hanno la potenziale capacità di stimolare non solo le cellule beta pancreatiche aumentando la secrezione insulinica glucosio-dipendente, ma anche le cellule intestinali che rilasciano l'incretine. Nel prossimo futuro queste molecole potrebbero essere utilizzate per il trattamento del DT2 con una potenziale maggiore efficacia nel correggere l'iper-

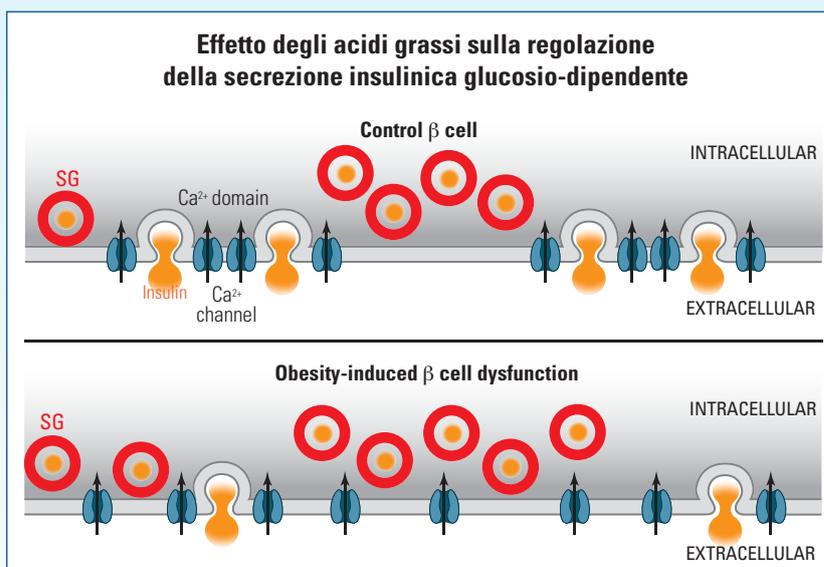


Figura 6

glicemia e la dislipidemia nel DT2. In aggiunta, agenti anti-infiammatori, come gli antagonisti del recettore dell'IL-1beta, che possono migliorare il controllo glicemico e migliorare la funzione della cellula beta pancreatica, sono entrati nei programmi di ricerca clinica per confermare il loro potenziale utilizzo nel trattamento del DT2 (Mandrup-Poulsen T et al).

In conclusione, si può affermare che ancora oggi il DT2 è considerato una malattia cronica con una progressiva riduzione della massa beta cellulare, con un'irreversibile insufficienza della secrezione insulinica glucosio dipendente, che non può essere guarita, e che richiede una terapia cronica per tutta la vita. Differentemente, negli ultimi dieci anni, due indipendenti gruppi di studio hanno sfidato questo concetto. Il primo dimostrando che un importante e severa restrizione calorica può curare il DT2 conclamato entro una settimana (Lim EL et al). La seconda è che in pazienti con DT2 che subiscono un trattamento di chirurgia bariatrica spesso mostrano una remissione prolungata del DT2, prima che si ottenga una significativa riduzione del peso corporeo (Karra E et al). Queste nuove scoperte nella fisiopatologia del DT2 e nella regolazione della funzione della cellula beta pancreatica aprono una nuova luce nel trattamento del DT2, con la potenzialità di poter ottenere una remissione di lunga durata della patologia.

Bibliografia

1. Bergman RN. "Minimal model: perspective from 2005" *Horm. Res.* 2005; 64 (Suppl 3): 8–15.
2. Braun M, Ramracheya R, Bengtsson M, Zhang Q, Karanaukaite J, Partridge C, Johnson PR, and Rorsman P. "Voltage-gated ion channels in human pancreatic beta-cells: electrophysiological characterization and role in insulin secretion" *Diabetes.* 2008; 57(6):1618–1628.
3. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. "Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes" *Diabetes.* 2003; 52(1): 102-10.
4. Chan JC, Malik V, Jia W, Kadowaki T, Yajnik CS, Yoon KH, Hu FB. "Diabetes in Asia: epidemiology, risk factors, and pathophysiology" *JAMA.* 2009; 301(20): 2129–40.
5. Cnop M, Hughes SJ, Igoillo-Esteve M, Hoppa MB, Sayyed F, van de Laar L, Gunter JH, de Koning EJ, Walls GV, Gray DW, Johnson PR, Hansen BC, Morris JF, Pipeleers-Marchal M, Cnop I, Clark A. "The long lifespan and low turnover of human islet beta cells estimated by mathematical modelling of lipofuscin accumulation" *Diabetologia.* 2010; 53(2): 321-30.
6. Deacon CF, Carr RD, Holst JJ. "DPP-4 inhibitor therapy: new directions in the treatment of type 2 diabetes" *Front Biosci.* 2008 Jan 1;13:1780-94.
7. DeFronzo RA. Banting Lecture. "From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus" *Diabetes.* 2009; 58(4): 773–95.
8. Del Guerra S, Lupi R, Marselli L, Masini M, Bugliani M, Sbrana S, Torri S, Pollera M, Boggi U, Mosca F, Del Prato S, Marchetti P. "Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2 diabetes" *Diabetes.* 2005; 54(3):727-35.
9. Henquin JC, Ishiyama N, Nenquin M, Ravier MA, Jonas JC. "Signals and pools underlying biphasic insulin secretion" *Diabetes.* 2002 ;51 (Suppl 1): S60-7.
10. Hoppa MB, Collins S, Ramracheya R, Hodson L, Amisten S, Zhang Q, Johnson P, Ashcroft FM, Rorsman P. "Chronic palmitate exposure inhibits insulin secretion by dissociation of Ca(2+) channels from secretory granules" *Cell Metab.* 2009;10(6):455-65.
11. Hosker JP, Rudenski AS, Burnett MA, Matthews DR, and Turner RC. "Similar reduction of first- and second-phase B-cell responses at three different glucose levels in type II diabetes and the effect of gliclazide therapy" *Metabolism* 1989; 38(8): 767–772.
12. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomi-lehto J. "Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study" *Diabetes.* 2003; 52(4): 1052-5.
13. Karra E, Yousseif A, Batterham RL "Mechanisms facilitating weight loss and resolution of type 2 diabetes following bariatric surgery" *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Jun;21(6):337-44.
14. Kashyap S, Belfort R, Gastaldelli A, Pratipanawatr T, Berria R, Pratipanawatr W, Bajaj M, Mandarino L, DeFronzo R, Cusi K. "A sustained increase in plasma free fatty acids

- impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes" *Diabetes*. 2003; 52(10):2461-74.
15. Kebede MA, Alquier T, Latour MG, and Poutout V. "Lipid receptors and islet function: therapeutic implications?" *Diabetes Obes. Metab.* 2009; 11(Suppl 4):10–20.
16. Leech CA, Dzhura I, Chepurny OG, Kang G, Schwede F, Genieser HG, and Holz GG "Molecular physiology of glucagon-like peptide-1 insulin secretagogue action in pancreatic b cells" *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2008; 107(2): 236–247.
17. Lim EL, Hollingsworth KG, Aribisala BS, Chen MJ, Mathers JC, Taylor R. "Reversal of type 2 diabetes: normalisation of beta cell function in association with decreased pancreas and liver triacylglycerol" *Diabetologia*. 2011; 54(10): 2506-14.
18. Lim EL, Hollingsworth KG, Aribisala BS, Chen MJ, Mathers JC, Taylor R. "Reversal of type 2 diabetes: normalisation of beta cell function in association with decreased pancreas and liver triacylglycerol" *Diabetologia*. 2011 Oct;54(10):2506-14.
19. Maedler K. "Beta cells in type 2 diabetes - a crucial contribution to pathogenesis" *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(5):408-20.
20. Mandrup-Poulsen T, Pickersgill L, and Donath MY. "Blockade of interleukin 1 in type 1 diabetes mellitus" *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010; 6(3), 158–166
21. Meier JJ, Nauck MA. "Is the diminished incretin effect in type 2 diabetes just an epi-phenomenon of impaired β -cell function?" *Diabetes*. 2010; 59(5): 1117–25.
22. Menge BA, Tannapfel A, Belyaev O, Drescher R, Müller C, Uhl W, Schmidt WE, Meier JJ. "Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke beta-cell regeneration" *Diabetes*. 2008; 57(1):142-9.
23. Nauck MA, Kleine N, Orskov C, Holst JJ, Willms B, Creutzfeldt W. "Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients" *Diabetologia*. 1993; 36(8):741-4.
24. Phillips LK, Prins JB. "Update on incretin hormones" *Ann N Y Acad Sci.* 2011; 1243:E55-74.
25. Prentki M, Nolan CJ. "Islet β cell failure in type 2 diabetes" *J Clin Invest.* 2006; 116(7): 1802–12.
26. Proks P, Reimann F, Green N, Gribble F, Ashcroft F. "Sulfonylurea stimulation of insulin secretion" *Diabetes*. 2002; 51(Suppl 3): S368-76.
27. Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C, Henquin JC. "Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes" *Diabetes Obes Metab.* 2008;10 (Suppl 4): 32-42.
28. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, Connolly V, King H. "The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000" *Diabetes Care.* 2005; 28(9): 2130–35 (a).
29. Roglic G, Unwin N. "Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010" *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 87(1):15-9 (b).
30. Rorsman P, and Renstrom E. "Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells" *Diabetologia* 2003; 46(8): 1029–1045.
31. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. "Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030" *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 87(1): 4–14.
32. Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, Balletshofer B, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. "Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans" *Arch Intern Med.* 2008; 168(15): 1609-16.
33. Stefanovski D, Richey JM, Woolcott O, Lottati M, Zheng D, Harrison LN, Ionut V, Kim SP, Hsu I, Bergman RN. "Consistency of the disposition index in the face of diet induced insulin resistance: potential role of FFA" *PLoS One.* 2011; 6(3): e18134.
34. Zhang CL, Katoh M, Shibasaki T, Minami K, Sunaga Y, Takahashi H, Yokoi N, Iwasaki M, Miki T, and Seino S "The cAMP sensor Epac2 is a direct target of antidiabetic sulfonylurea drugs" *Science* 2009; 325(5940): 607–610.
35. Walker JN, Ramracheya R, Zhang Q, Johnson PR, Braun M, Rorsman P. "Regulation of glucagon secretion by glucose: paracrine, intrinsic or both?" *Diabetes Obes Metab.* 2011; 13 (Suppl 1):95-105.
36. Zraika S, Hull RL, Verchere CB, Clark A, Potter KJ, Fraser PE, Raleigh DP, Kahn SE. "Toxic oligomers and islet beta cell death: guilty by association or convicted by circumstantial evidence?" *Diabetologia*. 2010; 53(6):1046-56.

Basal Insulin and Cardiovascular and other Outcomes in Dysglycemia

The ORIGIN Trial Investigators
New England Journal of Medicine 2012; 55(3):566-78

Riccardo Candido

Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato come l'iperglicemia a digiuno sia un fattore di rischio cardiovascolare indipendente, suggerendo che il suo trattamento possa prevenire gli eventi cardiovascolari e ridurre la mortalità. La secrezione insulinica basale contribuisce a mantenere l'euglicemia a digiuno e l'aumento della glicemia al risveglio è generalmente espressione di una secrezione basale di insulina insufficiente a compensare la resistenza insulinica. Nonostante lo United Kingdom Prospective Study (UKPDS) abbia

evidenziato come il trattamento insulinico possa, nel lungo termine, avere potenziali effetti cardioprotettivi manca una chiara evidenza degli effetti della basalizzazione sulla mortalità e gli eventi cardiovascolari e su altri end-point quali le complicanze microvascolari e la prevenzione del diabete nei pazienti a rischio. Sulla base di queste premesse gli autori dello Studio ORIGIN hanno voluto valutare gli effetti del trattamento con una insulina basale, glargine, sugli eventi e la mortalità cardiovascolare, sullo sviluppo di complicanze microvascolari del diabete, sull'incidenza di diabete e sul rischio carcinogenico in pazienti con alterata glicemia a digiuno o ridotta tolleranza al glucosio o

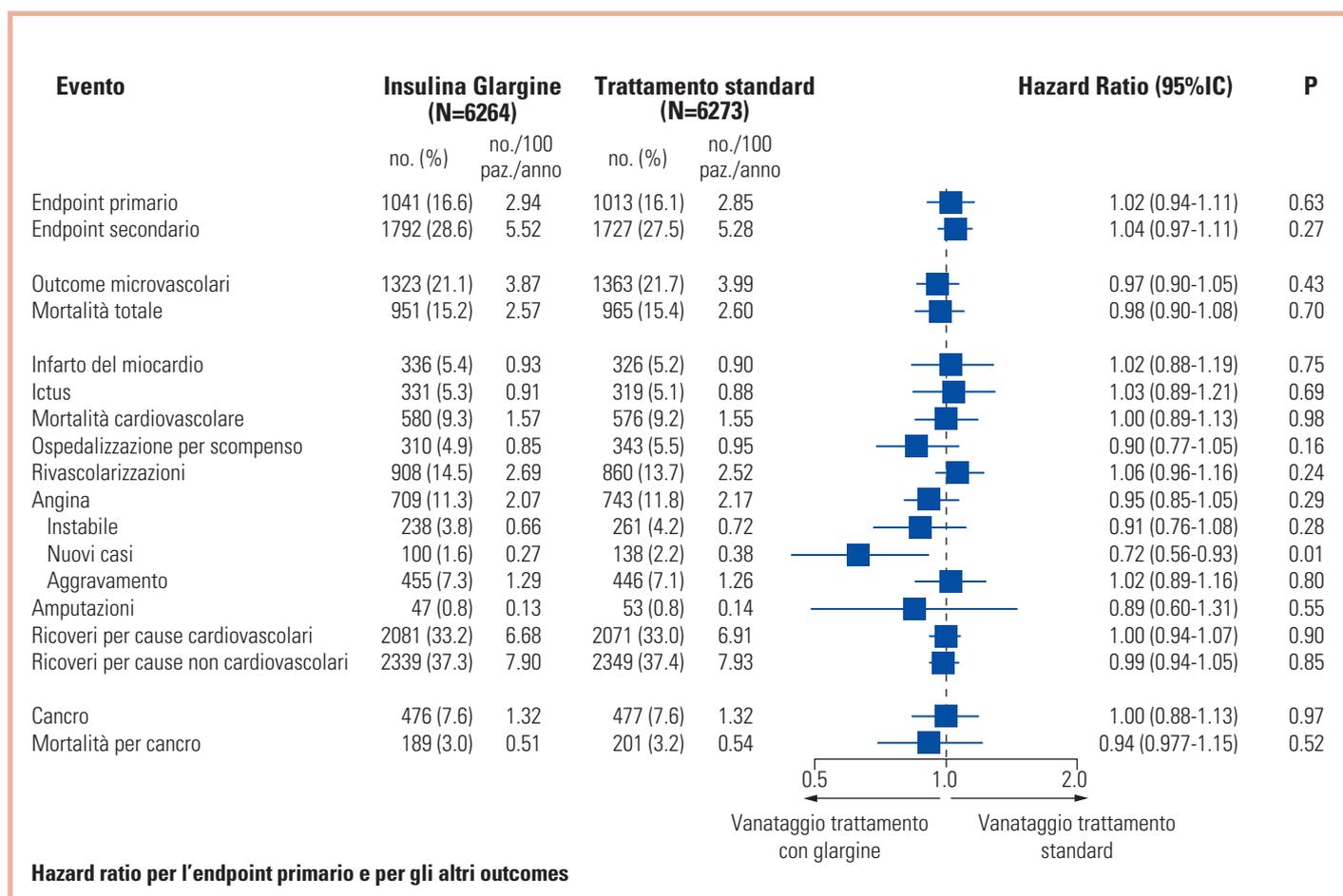


Figura 1

diabete conclamato in fase iniziale. Lo studio ha valutato 12537 pazienti con un'età media di 63,5 anni, che presentavano fattori di rischio cardiovascolare ed alterata glicemia a digiuno o ridotta tolleranza al glucosio o diabete di tipo 2 in fase iniziale e che sono stati randomizzati a ricevere insulina glargine, con l'obiettivo di portare la glicemia a digiuno a valori ≤ 95 mg/dl, o ad un trattamento standard. Lo studio aveva due endpoint primari costituiti dalla combinazione di eventi cardiovascolari: mortalità cardiovascolare, infarto del miocardio o stroke non fatali (primo endpoint), qualunque procedure di rivascolarizzazione (cardiaca, carotidea o periferica) o ospedalizzazione per scompenso cardiaco (secondo endpoint). Altri endpoint dello studio erano rappresentati dalle complicanze microvascolari, dallo sviluppo di nuovi casi di diabete, dalla mortalità per tutte le cause e dall'insorgenza o recidiva di cancro. I risultati dello studio, che ha avuto una durata media di 6,2 anni, hanno dimostrato una incidenza simile nei due gruppi degli endpoint cardiovascolari primari (2,94/100 persone/anno nel gruppo glargine e 2,85/100 persone/anno nel gruppo a trattamento standard con un hazard ratio di 1,02 ed una $P=0,63$) e secondari (5,52/100 persone/anno nel gruppo glargine e 5,28/100 persone/anno nel gruppo a trattamento standard, con un hazard ratio di 1,04 ed una $P=0,27$) (Fig. 1). Non vi era inoltre alcuna differenza tra i 2 gruppi per quanto riguarda gli eventi microvascolari e la mortalità per tutte le cause (Fig. 1). Il trattamento con glargine determinava una riduzione dei nuovi casi di diabete (30% vs 35%; odds ratio 0,8 e $P=0,05$), mentre era associato ad un au-

mento significativo degli episodi di ipoglicemia severa (1,0 versus 0,31/100 persone/anno) (Fig. 2) e ad un aumento di peso quantificato in circa 1,6 kg. Nessuna differenza in termini di incidenza di cancro era poi osservata tra i due gruppi (hazard ratio 1,0 e $P=0,97$) (Fig. 1).

I risultati di questo lavoro indicano, quindi, come l'uso precoce di un trattamento insulinico basale con l'obiettivo di ottimizzare le glicemie a digiuno non abbia alcun effetto sugli eventi e sulla mortalità né cardiovascolare né generale. Pur determinando la somministrazione di glargine una riduzione nella comparsa di nuovi casi di diabete, essa era associata ad un significativo aumento degli episodi ipoglicemici severi e ad un modesto aumento ponderale. Inoltre, non si è osservata un'associazione tra l'assunzione di insulina glargine e aumento dell'incidenza di cancro come suggerito in passato da alcuni studi epidemiologici. Rimane ancora da stabilire se il miglior controllo glicemico possa determinare una riduzione delle complicanze microvascolari o altri outcomes.

I dati dello studio sembrano smentire alcuni dubbi legati al possibile effetto negativo della terapia insulinica sugli eventi cardiovascolari ed al possibile rischio carcinogenico in particolare dell'insulina glargine. Tuttavia devono essere interpretati con cautela in considerazione del fatto che il 47 % dei pazienti in trattamento con glargine assumevano anche metformina, che esercita effetti protettivi cardiovascolari e potenzialmente anche di prevenzione del rischio neoplastico. Sulla base dei risultati dello studio non si ritiene allo stato attuale che in questi pazienti debba essere modificato l'attuale approccio terapeutico.

Variabile	Insulina Glargine (N=6264)	Trattamento standard (N=6273)	P
Ipo-glicemia severa*			
Pazienti con ≥ 1 episodio - no. (no./100 paz./anno)	359 (1.00)	113 (0.31)	<0.001
Episodi totali nel follow-up - no.	457	134	
Ipo-glicemia non severa sintomatica confermata†			
Pazienti con ≥ 1 episodio - no. (no./100 paz./anno)	2614 (9.83)	904 (2.68)	<0.001
Episodi/anno in paz. con ≥ 1 episodio totali - mediana (intervallo interquartile)	0.5 (0.2-1.4)	0.3 (0.2-0.8)	<0.001
Pazienti con episodi non confermati durante il follow-up - no. (%)	3650 (58.3)	5369 (85.6)	<0.001
Qualsiasi episodio di ipo-glicemia non severo sintomatico			
Pazienti con ≥ 1 episodio - no. (no./100 paz./anno)	3575 (16.72)	1580 (5.16)	<0.001
Episodi/anno in paz. con ≥ 1 episodio totali - mediana (intervallo interquartile)	1.1 (0.4-3.1)	0.5 (0.2-1.3)	<0.001
Pazienti senza episodi durante il follow-up - no. (%)	2689 (42.9)	4693 (74.8)	<0.001

* Questa categoria include qualsiasi episodio di ipoglicemia per il quale il paziente richieda assistenza e che sia confermato da una glicemia automisurata o di laboratorio con valori di 36 mg/dl o inferiori o per il quale si riprende prontamente dopo somministrazione orale di carboidrati o infusione endovena di glucosio o somministrazione di glucagone.

† Questa categoria include qualsiasi episodio di ipoglicemia non severa sintomatica che sia confermato da una glicemia automisurata con valori di 54 mg/dl o inferiori

Incidenza degli episodi ipoglicemici durante lo studio

Figura 2

The use of pioglitazone and the risk of bladder cancer in people with type 2 diabetes: nested case-control study

Azoulay L, Yin H, Filion KB, Assayag J, Majdan A, Pollak MN, Suissa S
BMJ. 2012 May 30;344:e3645

Ilaria Dicembrini

Nel corso degli ultimi anni le evidenze scientifiche relative agli effetti a lungo termine del trattamento con farmaci antidiabetici hanno avuto importanti ripercussioni sulle decisioni delle autorità regolatorie (Food and Drug Administration, FDA e Agenzia europea per il farmaco, EMA) relative al profilo di sicurezza dei farmaci di più recente introduzione, in particolare a livello cardiovascolare, ma non solo. Questo è il caso di pioglitazone. Questo farmaco, immesso in commercio nel 2000 in Europa, è stato oggetto di una segnalazione da parte della FDA soltanto nel settembre del 2010. Nel 2005 lo studio PROactive aveva descritto una incidenza maggiore, ma non significativamente tale ($p=0.069$), di tumore vescicale (14 versus 6 casi) nei pazienti in trattamento con pioglitazone. Il successivo riscontro di benignità nel referto istologico di un caso nel gruppo placebo, aveva consentito all'associazione di raggiungere la significatività statistica. A distanza di diversi anni due studi osservazionali, di cui uno promosso dalla stessa FDA, avevano fornito indicazioni circa una possibile associazione tra pioglitazone e neoplasia vescicale. In particolare l'analisi ad interim dello studio US Kaiser Permanente Northern California aveva evidenziato un 40% di aumento del rischio di tumore alla vescica esclusivamente nei pazienti in terapia con questo farmaco da almeno 24 mesi. Queste osservazioni non sono state confermate da due successivi studi retrospettivi condotti a Taiwan.

L'analisi retrospettiva di coorte eseguita nel giugno del 2011 sul database sanitario francese, ha determinato la immediata so-

spensione dal commercio del farmaco in quel paese. A dicembre 2011, la scheda tecnica del farmaco è stata modificata per riflettere i risultati di una meta-analisi condotta su tutti gli studi clinici randomizzati disponibili, che evidenzia una maggiore incidenza di casi di neoplasia vescicale nei pazienti trattati con pioglitazone (19 casi su 12506;0.15%) rispetto ai soggetti di controllo (7 casi su 10212;0.07%).

I limiti metodologici degli studi realizzati, la bassa incidenza del tumore alla vescica e di conseguenza l'esiguità dei casi registrati nel periodo di osservazione hanno portato le autorità regolatorie a mantenere un atteggiamento precauzionale al riguardo. Di conseguenza l'EMA ha stabilito quale controindicazione al trattamento con pioglitazone la presenza di neoplasia vescicale, ematuria macroscopica non ulteriormente indagata e/o familiarità per tumore vescicale, sottolineando l'importanza di una adeguata valutazione del profilo di rischio del singolo soggetto prima di iniziare il trattamento con questo antidiabetico orale.

Sul numero di maggio del British Medical Journal, è stato pubblicato uno studio retrospettivo di coorte basato sull'analisi del più ampio database sanitario dei medici di medicina generale esistente al mondo quale quello inglese. Sono stati analizzati soltanto i pazienti affetti da diabete mellito tipo 2 con età superiore a 40 anni, cui è stato per la prima volta prescritto un trattamento antidiabetico orale. Questo ha consentito di escludere la possibile interferenza legata alla combinazione di più trattamenti antidiabetici. L'analisi è stata condotta su 376 casi di tumori vescicali accoppiati con 6699 controlli, considerando numerosi potenziali fattori confondenti (abuso alcolico, obesità, fumo, precedente dia-

Tiazolidinedioni e rischio di neoplasia vescicale

	Casi n (%) n= 376	Controlli* n (%) n=6699	Tasso di incidenza grezzo (95% IC)	Tasso di incidenza corretto° (95% IC)
Mai trattati con tiazolidinedioni	319 (84.8)	5856 (87.4)	1.00 (riferimento)	1.00 (riferimento)
Trattati esclusivamente con Pioglitazone	19 (5.1)	191 (2.9)	1.87 (1.13-3.09)	1.83 (1.10-3.05)
Trattati esclusivamente con Rosiglitazone	36 (9.6)	596 (8.9)	1.16 (0.79-1.69)	1.14 (0.78-1.68)

IC = intervallo di confidenza.

* Accoppiati per anno di nascita, età all'ingresso nell'analisi di coorte, sesso e durata del periodo di osservazione.

° Corretto per abuso di alcol, obesità, fumo, precedenti patologie vescicale, pregressa diagnosi di tumore, punteggio di Charlson per comorbidità e assenza di trattamento con altri antidiabetici (inclusa terapia insulinica).

Tabella 1

gnosi di tumore, il punteggio di Charlson per le comorbidità e il mancato trattamento con altri antidiabetici), accoppiando casi e controlli sulla base della durata del periodo di osservazione ed analizzando anche i pazienti esposti al trattamento con rosiglitazone. Il trattamento con pioglitazone si associa ad un aumento pari a circa il doppio del rischio di neoplasia vescicale (Tabella 1). L'incidenza di tumore alla vescica nella popolazione generale inglese con età superiore a 65 anni è pari a 73 casi ogni 100.000 anni-persona. I pazienti diabetici presentano di per sé un aumento del rischio, confermato anche da questo studio (89.4 per 100.000 anni-persona). La differenza assoluta in termini di incidenza di tumore vescicale in corso di trattamento con pioglitazone rispetto ai controlli è stata pari a 74 casi per 100.000 anni-persona. I risultati confermano l'esistenza di un'associazione tra tumore alla vescica e trattamento con pioglitazone ed una chiara relazione sia con la dose del farmaco sia con la durata del trattamento.

La finalità principale del trattamento antidiabetico è il miglioramento del compenso glicemico e di conseguenza la riduzione della mortalità. Dobbiamo ricordare che la principale causa di decesso nei pazienti affetti da diabete è di origine cardiovascolare e non tumorale. Nella popolazione diabetica, un aumento pari all'1% dei valori di emoglobina glicata si associa ad un incremento pari al 30% della mortalità per tutte le cause

e pari al 40% della mortalità per eventi cardiovascolari o cardiopatia ischemica. Il tumore della vescica colpisce più frequentemente la popolazione maschile arrivando a rappresentare in Europa meno del 10% di tutti i tumori. Nel diabete tipo 2 è riportata una maggiore incidenza di tumori ed anche di neoplasie vescicali. Il trattamento con pioglitazone per almeno 24 mesi o ad una dose cumulativa di 28000 mg sembra determinare un ulteriore aumento del rischio di neoplasia vescicale nei pazienti affetti da diabete tipo 2. L'eterogeneità istologica della neoplasia vescicale, in gran parte rappresentata da forme di carcinoma uroteliale ed in minor percentuale da forme di carcinoma a cellule squamose e adenocarcinoma, assieme al possibile coinvolgimento di numerosi fattori genetici ed ambientali, suggeriscono comunque un atteggiamento cauto nel trarre conclusioni definitive.

Anche se gli algoritmi terapeutici proposti dalle principali Società scientifiche e le decisioni delle autorità regolatorie relative al profilo di sicurezza dei farmaci ci forniscono un valido sostegno nella nostra pratica clinica, il trattamento antidiabetico orale in aggiunta a metformina o nei pazienti con controindicazioni a tale trattamento, deve essere personalizzato sulla base delle caratteristiche individuali del paziente e del profilo di sicurezza delle diverse opzioni terapeutiche in particolare a livello cardiovascolare, ma non solo.

Reversal of autoimmune diabetes by restoration of antigen-specific tolerance using genetically modified *Lactococcus lactis* in mice

Tatiana Takiishi, Hannelie Korf, Tom L. Van Belle, Sofie Robert, Fabio A. Grieco, Silvia Caluwaerts, Letizia Galleri, Isabella Spagnuolo, Lothar Steidler, Karolien Van Huynegem, Pieter Demetter, Clive Wasserfall, Mark A. Atkinson, Francesco Dotta, Pieter Rottiers, Conny Gysemans, and Chantal Mathieu
J Clin Invest. 2012;122(5):1717-1725

Marta Letizia Hribal

Il diabete di tipo 1 (T1D) è una patologia autoimmune, caratterizzata dalla distruzione delle beta-cellule pancreatiche, responsabili della produzione dell'ormone insulina. Una delle maggiori sfide nella terapia del T1D è quella di riuscire a bloccare in modo specifico la risposta immunitaria che culmina nella distruzione delle beta-cellule. Studi recenti, tra cui il trial Protégé, recentemente conclusosi, hanno dimostrato infatti che la somministrazione di anticorpi in grado di modulare in modo non specifico la risposta immunitaria, quali gli anti CD-3, rallenta la progressione del T1D; affinché tali anticorpi siano efficaci è però necessario utilizzarli a dosi elevati, andando incontro a tutte le complicanze associate ad una immunosoppressione generalizzata. In questo studio, frutto di una collaborazione internazionale che vede coinvolti ricercatori dell'università di Siena, in Italia, dell'Università di Lovanio e Brussels in Belgio e dell'Università di Gainesville in Florida, Stati Uniti, al trattamento con anticorpi anti CD-3 è stata associata l'assunzione di batteri *Lactococcus lactis* geneticamente modificati per rilasciare, a livello della mucosa gastrica, pro-insulina umana e/o la citochina anti-infiammatoria IL-10. Il batterio *Lactococcus lactis* (LL) è comunemente utilizzato nell'industria alimentare, offre perciò garanzie di sicurezza per l'assenza di patogenicità e di capacità di colonizzazione; inoltre, una volta raggiunto il tratto gastrointestinale, i microrganismi LL restano vitali per 8-48 ore e durante questo lasso di tempo rilasciano in

modo continuativo piccole quantità di molecole bioattive; è interessante sottolineare che tale profilo di rilascio, a differenza di quello osservato nei trattamenti farmacologici convenzionali nei quali elevate quantità di sostanze attive vengono somministrate acutamente, è simile a quello con il quale vengono fisiologicamente secrete le molecole prodotte dall'organismo ospite. È importante anche ricordare che utilizzi terapeutici di batteri LL sono in corso di studio nell'ambito di diverse patologie, tra cui la mucosite, e non sono stati finora dimostrati effetti collaterali. Nello studio qui discusso, Takiishi e colleghi dimostrano che la somministrazione combinata (SC) di anticorpi anti CD-3 e batteri LL geneticamente modificati è in grado di ripristinare condizioni di normoglicemia in topi NOD, un modello animale che presenta una patologia assimilabile al diabete di tipo 1 umano. In questo studio, la SC era significativamente più efficace della terapia con soli anticorpi anti CD-3; infatti mentre solo il 25% degli animali tornava ad una condizione di normoglicemia in seguito al trattamento con anticorpi anti CD-3, tale percentuale saliva al 40% se alla somministrazione di anticorpi si associava l'assunzione di LL modificati per rilasciare IL-10, al 49% se venivano somministrati batteri modificati per rilasciare insulina umana, per arrivare addirittura al 59% quando i due ceppi di batteri mutanti erano utilizzati insieme, sempre in associazione con la somministrazione di anti CD-3 (Figura 1). Quando gli animali trattati venivano suddivisi in gruppi sulla base ai livelli di glicemia riscontrati all'inizio del trattamento, si osservava che solo il 33% dei topi che parti-

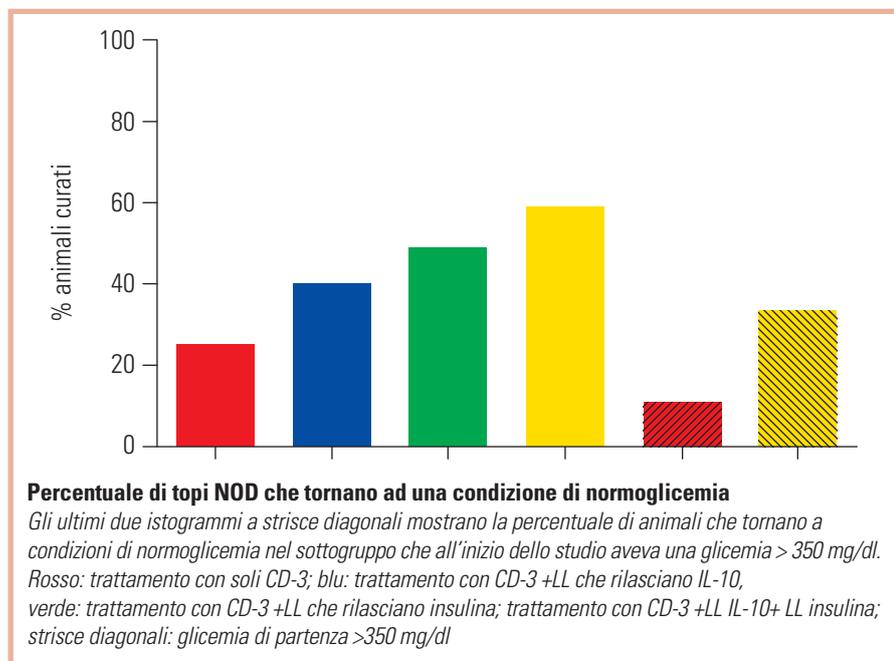


Figura 1

vano da valori superiori a 350 mg/dl tornava a condizioni di normoglicemia in seguito a SC; tale percentuale era comunque significativamente superiore a quella che si osservava in questo sottogruppo in risposta al trattamento con soli anti CD-3; quest'ultimo infatti era in grado di curare solo l'11% degli animali con glicemia >350 mg/dl (Figura 1). Inoltre la SC aveva tempi di azione più rapidi della terapia con soli anticorpi, infatti erano sufficienti $11,7 \pm 1,2$ giorni per ripristinare condizioni di normoglicemia negli animali trattati con SC contro i $17,6 \pm 3,6$ giorni necessari per vedere un effetto del trattamento con i soli anti CD-3. Altro vantaggio della SC osservato dagli autori era rappresentato dal fatto che durante tale trattamento i livelli di glicemia si mantenevano costanti, mentre il trattamento con soli anti CD-3 causava frequenti, e rischiose, oscillazioni dei livelli plasmatici di glucosio. È importante anche sottolineare che gli effetti della SC venivano mantenuti nel tempo, i topi NOD tornati ad una condizione di normoglicemia sono stati infatti seguiti per altre 14 settimane e in nessun animale si sono ripresentate alterazioni dei livelli plasmatici di glucosio. Per chiarire il meccanismo d'azione della SC, gli autori hanno anche esaminato la morfologia pancreatica degli animali NOD trattati ed hanno riscontrato un contenuto totale di

insulina paragonabile a quello di animali non diabetici e significativamente superiore sia a quello dei topi NOD non trattati che a quello di topi NOD trattati con soli anti CD-3, sia al termine del trattamento che al termine del periodo di osservazione successivo (14 settimane). L'analisi morfometrica rivelava inoltre la presenza di un maggior numero di beta-cellule e di isole pancreatiche negli animali sottoposti a SC; quando però le sezioni istologiche venivano colorate con un anticorpo contro KI-67, un marcatore di proliferazione, non si osservava alcun segnale a livello beta-cellulare; tale osservazione suggerisce che la SC agisca soprattutto promuovendo la conservazioni della massa beta-cellulare residua piuttosto che favorendo la formazione di nuove beta-cellule e che quindi sia importante

un intervento precoce, ad uno stadio in cui è ancora presente una sufficiente massa beta-cellulare, per garantire l'efficacia della terapia. L'analisi immunostochimica rivelava inoltre come la SC fosse in grado di curare l'infiammazione a livello beta cellulare; si osservava infatti una significativa regressione dell'insulite nei topi NOD sottoposti a SC. La SC si rifletteva infine in un aumento del numero di linfociti T, appartenenti alla sottoclasse Tregs $CD4+CD25+Foxp3+CTLA4+$, abitualmente carenti negli stati autoimmuni. Le cellule $CD4+CD25+Foxp3+CTLA4+$ purificate dagli animali sottoposti a SC sopprimevano in modo efficace, in studi ex-vivo, la risposta autoimmune mediata dalle cellule $CD4+$ T e mostravano inoltre una risposta specifica all'antigene insulina, mentre non venivano attivate da anticorpi generici.

In conclusione questo studio dimostra che l'uso combinato di anticorpi anti CD-3 e di *Lactococcus lactis* geneticamente modificati rappresenta una terapia estremamente promettente per il diabete di tipo 1; il fatto che terapie basate sull'utilizzo di batteri *Lactococcus lactis* ingegnerizzati siano state già approvate per altre patologie lascia sperare che sarà presto possibile applicare la terapia testata da questo studio nel modello sperimentale dei topi NOD in studi clinici su soggetti con diabete di tipo 1.

