

Dalla letteratura

Francesco Giorgino, Anna Leonardini

Medicina Interna, Endocrinologia e Malattie Metaboliche, Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Università degli Studi, Bari

Articolo n. 1/il Diabete n. 3/Settembre 2006

TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program

Polimorfismi del gene TCF7L2 e progressione a diabete nel Diabetes Prevention Program

Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, Pollin TI, de Bakker PIW, Shuldiner AR, Knowler WC, Nathan DM, Altshuler D; the Diabetes Prevention Program Research Group. *N Engl J Med* 355: 241-250, 2006

Riassunto

Background. Polimorfismi comuni del gene TCF7L2 sono stati recentemente associati all'insorgenza di diabete mellito tipo 2. È stato valutato se le due varianti più strettamente associate (rs12255372 e rs7903146) fossero predittive di progressione a diabete in soggetti con ridotta tolleranza ai carboidrati reclutati nel Diabetes Prevention Program (DPP), in cui gli interventi sullo stile di vita o il trattamento con metformina sono stati confrontati rispetto al placebo.

Metodi. È stato caratterizzato il genotipo per queste varianti in 3548 partecipanti ed è stata eseguita un'analisi di regressione di Cox usando come fattori predittivi il genotipo, il tipo di intervento e le loro interazioni. È stato valutato l'effetto del genotipo sull'entità della secrezione insulinica e sulla sensibilità insulinica al basale e dopo un anno.

Risultati. In un periodo medio di tre anni, i partecipanti che avevano a livello di rs7903146 il genotipo TT, associato a rischio di diabete tipo 2, avevano una maggiore probabilità di progredire dalla condizione di ridotta tolleranza ai carboidrati al diabete rispetto agli omozigoti CC (hazard ratio, 1,55; intervallo di confidenza 95%, 1,20-2,01; $p < 0,001$). L'effetto del genotipo era più forte nel gruppo trattato con placebo (hazard ratio: 1,81; intervallo di confidenza 95%, 1,21-2,70; $p = 0,004$) rispetto ai gruppi che ricevevano metformina o l'intervento sullo stile di vita (rispettivi hazard ratio: 1,62 e 1,15; p non significativa per l'interazione tra genotipo e intervento). Il genotipo TT era associato a una riduzione della secrezione insulinica ma l'entità dell'insulino-resistenza non si modificava rispetto allo stato basale. Analoghi risultati sono stati ottenuti per il genotipo rs12255372.

Conclusioni. Varianti comuni presenti a livello del gene TCF7L2 sembrano essere associate a un aumentato rischio di diabete nei soggetti con alterata tolleranza al glucosio. I genotipi di TCF7L2 che conferiscono il rischio sono associati a una compromissione della funzione delle cellule beta ma non all'insulino-resistenza.

Commento

Il rischio di sviluppare il diabete mellito tipo 2 è fortemente influenzato da fattori genetici. Tuttavia, l'identificazione definitiva dei geni che aumentano il rischio di diabete è ancora molto lontana.

Recentemente, Grant e colleghi hanno identificato l'associazione di un microsatellite (DG10S478) localizzato nell'introne 3 del gene del fattore di trascrizione 7-like 2 (TCF7L2) con il diabete tipo 2. Il gene TCF7L2 è localizzato sul cromosoma 10 e il microsatellite DG10S478 è stato riscontrato in un gruppo di pazienti di razza caucasica; gli

stessi ricercatori hanno riconfermato il dato in altre 2 popolazioni differenti. I polimorfismi di singoli nucleotidi di sequenze non codificanti rs12255372 e rs7903146 sono risultati strettamente associati con alterazioni del microsatellite DG10S478 (rispettivamente $r^2 = 0,95$ e $r^2 = 0,78$) e hanno mostrato associazioni con il diabete mellito tipo 2 ($p < 10^{-15}$). Non è chiaro se il microsatellite stesso influenzi la funzione di TCF7L2 attraverso, per esempio, alterazioni dell'espressione genica. Il rischio di sviluppare il diabete nei portatori di una singola copia dell'allele di rischio è incrementato di 1,45 mentre nei portatori di due copie di alleli il rischio è incrementato di 2,41. Questo è il più elevato valore di *odds ratio* riportato per un gene associato alla suscettibilità per il diabete tipo 2.

In questo lavoro, si è valutato se, in un periodo di tre anni, polimorfismi del TCF7L2 siano in grado di influenzare il rischio di sviluppare diabete in pazienti con ridotta tolleranza ai carboidrati. I pazienti sono stati reclutati nel DPP che, per la grande dimensione del campione, ha consentito di esaminare il significato di alcune varianti genetiche in differenti razze e gruppi etnici. È emerso che i partecipanti omozigoti per l'allele ad alto rischio avevano il 55% di possibilità di progredire dalla condizione di ridotta tolleranza ai carboidrati allo stato di diabete in un periodo di tre anni rispetto ai soggetti omozigoti per gli alleli a basso rischio. È stato anche valutato l'effetto di queste varianti nel gruppo di intervento trattato con modifiche dello stile di vita e in quello trattato con metformina, ed esplorato il loro effetto sulla secrezione insulinica, sulla sensibilità insulinica, o su entrambe queste componenti.

I pazienti omozigoti per gli alleli ad alto rischio presentavano livelli di secrezione insulinica più bassi al basale rispetto al gruppo di pazienti non portatori del polimorfismo. Tuttavia, ad oggi, il meccanismo attraverso il quale le variazioni del TCF7L2 sono in grado di influenzare il metabolismo glucidico non è stato chiarito. Il TCF7L2 svolge un ruolo importante nello sviluppo dell'intestino ed è stato ipotizzato un suo ruolo nello sviluppo di alterazioni della funzione delle cellule neuroendocrine che producono ormoni insulinotropi localizzate nell'intestino. In aggiunta a questo effetto indiretto sulla funzione endocrina pancreatica, il TCF7L2 potrebbe svolgere anche un ruolo diretto nello sviluppo e nella rigenerazione delle cellule delle isole pancreatiche.

TCF7L2, quindi, si aggiunge alla lista di geni in grado di modulare il rischio di sviluppare il diabete tipo 2; la maggior parte di questi geni sembra possa incrementare il rischio attraverso un'alterazione della secrezione insulinica.

Il diabete tipo 2 è una malattia a etiologia multifattoriale, in cui le abitudini comportamentali giocano un ruolo importante nella patogenesi. A questo punto, ci si chiede come queste possano interagire con i fattori genetici conosciuti. Nel DPP, la possibilità di sviluppare il diabete nei pazienti che avevano gli alleli ad alto rischio è risultata più bassa nel gruppo trattato con dieta e attività fisica e nel gruppo trattato con metformina rispetto al gruppo placebo, ma non è stata riscontrata alcuna significativa interazione secondo il gruppo di intervento. L'assenza di un effetto potrebbe non sorprendere, poiché questi interventi erano verosimilmente in grado di migliorare lo stato di insulino-resistenza senza interferire sulla secrezione insulinica.

Trial farmacologici mirati saranno necessari per valutare se la risposta ai farmaci che migliorano la secrezione insulinica (per esempio sulfaniluree, glinidi, incretine) è influenzata da queste varianti geniche.

Articolo n. 2/il Diabete n. 3/Settembre 2006

Improving function and survival of pancreatic islets by endogenous production of glucagon-like peptide 1 (GLP-1)

Miglioramento della funzione e della sopravvivenza di isole pancreatiche attraverso la produzione endogena di glucagon-like peptide 1 (GLP-1)

Wideman RD, Yu ILY, Webber TD, Verchere CB, Johnson JD, Cheung AT, Kieffer TJ. PNAS, 103: 13468-13473, 2006

Riassunto

Il glucagon-like peptide 1 (GLP-1) è un ormone di grande interesse per la terapia del diabete per la sua capacità di stimolare la sintesi e il rilascio di insulina e promuovere la crescita e la sopravvivenza delle cellule β -pancreatiche. Mentre il GLP-1 è prodotto dal proglucagone a opera della convertasi del pro-ormone (PC)-1/3 nelle cellule

L'intestinali, lo stesso precursore viene differenzialmente processato dalla PC-2 nelle cellule α -pancreatiche, lasciando il GLP-1 in un frammento più grande del quale non si conosce la funzione. È stato ipotizzato che si potrebbe indurre la produzione del GLP-1 direttamente nelle cellule delle isole pancreatiche mediante l'azione di PC-1/3, migliorando così la sopravvivenza e la funzione delle isole pancreatiche. In questo lavoro si dimostra che l'espressione di PC-1/3 nelle cellule α -pancreatiche attraverso l'infezione con adenovirus aumenta la secrezione di GLP-1 da parte di queste cellule, e questo comporta un miglioramento della secrezione di insulina stimolata dal glucosio e una migliore sopravvivenza dopo stimoli con citochine che inducono morte cellulare. L'espressione di PC-1/3 nelle cellule α -pancreatiche, inoltre, è stata in grado di migliorare l'esito del trapianto di isole in modelli murini di diabete mellito tipo 1, probabilmente attraverso la stimolazione del fattore nucleare Pdx1 e del contenuto insulinico delle stesse cellule β -pancreatiche. Questi risultati aprono la strada a una nuova strategia per produrre GLP-1 direttamente nel pancreas e concentrano la loro attenzione sulla potenziale up-regulation del GLP-1 come strumento per il trattamento del diabete.

Commento

La cura definitiva per il diabete mellito tipo 1 richiederebbe il ripristino della funzione delle cellule β -pancreatiche mediante il trapianto di isole o cellule "surrogate" in grado di produrre insulina o mediante induzione della rigenerazione delle cellule β -pancreatiche endogene, in modo da ristabilire una idonea massa β -cellulare normalmente funzionante. Sebbene il trapianto delle isole pancreatiche possa essere efficace in pazienti con diabete tipo 1, il più ampio utilizzo di questa terapia è limitato dalla grande necessità di tessuto richiesto per ogni singolo trapianto e dalla scarsa sopravvivenza delle isole nei primissimi giorni dopo il trapianto, probabilmente a causa di stimoli glucotossici, ipossici e/o infiammatori. Il GLP-1 è un ormone peptidico prodotto nell'intestino, che stimola la secrezione di insulina e che protegge le cellule β -pancreatiche; inibisce la secrezione di glucagone e lo svuotamento gastrico, riduce l'appetito e l'assunzione di cibo. La somministrazione di GLP-1 è risultata efficace nel trattamento del diabete tipo 2, producendo significativi miglioramenti nel profilo glicemico e nella performance delle cellule β -pancreatiche, così come la riduzione del peso corporeo. Il GLP-1 potrebbe essere utilizzato anche nei diabetici tipo 1 per stimolare la sopravvivenza e migliorare la funzione delle isole trapiantate o facilitare la rigenerazione delle cellule β -pancreatiche endogene? Lavori precedenti condotti in ratti resi diabetici mediante l'iniezione della streptozotocina (sostanza tossica per le cellule beta) o nei topi NOD (un modello sperimentale di diabete autoimmune), nei quali il GLP-1 era somministrato in associazione alla terapia immunosoppressiva, hanno dimostrato che l'utilizzo del GLP-1 è in grado di produrre la correzione dell'iperglicemia in molti animali. I limiti nella somministrazione del GLP-1 riguardano la sua rapida degradazione e clearance. È da sottolineare, però, che la dose in grado di promuovere la crescita β -cellulare nei roditori è risultata più alta di quella che è tollerata negli uomini ed eccede grandemente quella dell'analogo del GLP-1, l'exenatide, che viene prescritto negli Stati Uniti per il trattamento dei pazienti con diabete mellito tipo 2. Inoltre, l'azione di crescita e proliferazione sulle cellule β -pancreatiche potrebbe essere meno evidente quando gli analoghi del GLP-1 vengono somministrati in periferia, lontani cioè dal pancreas.

La PC è un enzima presente in diverse isoforme. La PC-1/3 è maggiormente presente nelle cellule L intestinali ed è in grado a questo livello di produrre il GLP-1; a livello delle cellule α -pancreatiche è presente in maggior misura la PC-2 che invece è in grado di sintetizzare glucagone e lascia il GLP-1 in un frammento più lungo di cui non si conosce la funzione. Quindi, nel normale pancreas adulto, le α -cellule producono poco GLP-1 a causa della maggiore espressione della PC-2 rispetto alla PC-1/3. Comunque, è stato dimostrato che la PC-1/3 può essere attivata nelle α -cellule in particolari condizioni, rendendo queste cellule in grado di produrre il GLP-1. Inoltre nei topi, durante gli stadi più precoci di embriogenesi, le cellule progenitrici pancreatiche esprimono sia il proglucagone che la PC-1/3, e questo suggerisce che la produzione di GLP-1 da parte di queste cellule per un periodo transitorio può giocare un ruolo fondamentale nello sviluppo dello stesso pancreas. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di cercare di indurre l'espressione della PC-1/3 nelle cellule α -pancreatiche in modo da utilizzare questa nuova strategia terapeutica per migliorare la funzione delle isole pancreatiche, ipotizzando che la produzione locale di GLP-1 direttamente nelle isole potrebbe consentire le azioni benefiche del GLP-1 e ridurre al minimo gli effetti sistemici collaterali indesiderati. L'up-regulation di PC-1/3 nelle cellule a stimola la sopravvivenza e la funzione delle isole.

I ricercatori sono stati in grado di incrementare la produzione del GLP-1 dalle cellule α inserendo in queste cellule l'enzima mediante infezione adenovirale. Come conseguenza, si otteneva una maggiore secrezione di insulina stimolata dal glucosio e la protezione dalla morte cellulare indotta dall'interleuchina-1 β . Inoltre, dopo il trapianto di una uguale massa di isole pancreatiche, la capacità delle isole trattate con l'adenovirus di produrre un buon controllo glicemico era superiore rispetto alle normali isole, con livelli di glicemia a digiuno e tolleranza ai carboidrati simili a quelli osservati nei topi normali. Quindi, l'aggiunta della PC-1/3 alle cellule α determina un maggiore successo nel trapianto di isole in topi diabetici grazie alla interazione del GLP-1, prodotto dalle α -cellule, con il suo recettore presente sulle β -cellule mediante diffusione attraverso gli spazi interstiziali o attraverso connessioni vascolari dirette. È stato dimostrato che il GLP-1 ha effetti sulla crescita e sulla sopravvivenza β -cellulare mediante l'aumento della trascrizione di fattori nucleari, quali Pdx1 e Foxa2. In questo lavoro, sulla linea di quelli precedenti, è stato dimostrato che i livelli di Pdx1 nelle cellule transfettate con l'adenovirus erano superiori, suggerendo che l'espressione di Pdx è aumentata in queste isole e potrebbe contribuire al marcato miglioramento dei risultati del trapianto.

In conclusione, il trapianto di isole migliora la vita di diabetici tipo 1, ma, sfortunatamente, questa terapia necessita di un elevato numero di isole di partenza da trapiantare; spesso si verifica che la terapia sottocutanea con insulina esogena che il paziente attuava prima del trapianto non può essere abbandonata. Prevenire il fallimento del trapianto è importante non solo per migliorarne i risultati ma anche per ridurre il numero di isole richieste per ogni singolo paziente. L'induzione del GLP-1 nelle isole pancreatiche potrebbe rappresentare un approccio interessante per migliorare i risultati dei trapianti delle isole anche nell'uomo. Con questa strategia si potrebbe anche prevenire la perdita della massa β -cellulare che caratterizza la storia naturale del diabete tipo 2. Questa ipotesi potrebbe essere ora verificata, grazie alle tecniche che sono state sviluppate per il trasferimento genico *in vivo*.

