

Articolo n. 2/il Diabete n. 1/Marzo 2007

A nonpeptidic agonist of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors with efficacy in diabetic db/db mice.

Un agonista non peptidico del recettore per il GLP-1 mostra di essere efficace nel topo diabetico db/db.

Proc Natl Acad Sci U S A 104(3): 943-8, 2007.

Chen D, Liao J, Li N, Zhou C, Liu Q, Wang G, Zhang R, Zhang S, Lin L, Chen K, Xie X, Nan F, Young AA, Wang MW.

Riassunto

Sostanze "incretino-mimetiche", rappresentate dall'exenatide, sono state proposte nella terapia del diabete mellito tipo 2. Gli incretino-mimetici regolano le concentrazioni del glucosio nel plasma e possono ripristinare la secrezione dell'insulina stimolata dal glucosio senza indurre ipoglicemia. La somministrazione di questi farmaci mediante iniezione sottocutanea può rappresentare un limite per il loro utilizzo nella pratica clinica. Il fallimento dell'identificazione di agonisti orali del recettore per il GLP-1 ha infatti promosso l'approccio indiretto mediante l'inibizione dell'enzima che degrada il GLP-1, la dipeptidil peptidasi-4. I ricercatori, allora, sono andati in cerca di una soluzione alternativa vagliando più di 48 mila composti chimici che riproducessero l'azione del GLP-1 in colture cellulari e in vivo nel topo. In questo lavoro, gli Autori mostrano un nuovo agonista non peptidico del recettore per il GLP-1, in grado di evocare effetti metabolici in animali e, in particolare, di mostrare un effetto ipoglicemizzante nel topo db/db, un modello sperimentale di diabete tipo 2. Nello specifico sono stati individuati due sostituti del ciclobutano (S4P e Boc5). Ciascuno si legava al recettore del GLP-1 e incrementava i livelli intracellulari di AMP ciclico, che rappresenta il secondo messaggero di questa incretina. Gli effetti di Boc5 sul recettore del GLP-1 venivano bloccati dall'antagonista exendin (9-39). In particolare, Boc5 era in grado di aumentare la secrezione di insulina stimolata dal glucosio in cellule insulari di ratto. Inoltre, Boc5 si è dimostrato in grado di ridurre l'introito calorico sia quando somministrato oralmente sia quando iniettato. La somministrazione quotidiana di Boc5 è stata inoltre in grado di prevenire l'incremento ponderale e ridurre i livelli di emoglobina glicata (HbA_{1c}). Quindi, Boc5 si è comportato come un GLP-1 mimetico sia in vitro sia in vivo. I risultati ottenuti suggeriscono che Boc5 può essere il rappresentante di una classe di piccole molecole potenzialmente utili a trattare obesità, diabete e altri disordini metabolici senza ricorrere alla somministrazione sottocutanea.

Commento

Gli effetti ipoglicemizzanti degli agonisti del recettore del GLP-1, che stimolano la secrezione insulinica in maniera glucosio-dipendente, hanno aperto la strada al loro sviluppo come agenti terapeutici per il diabete tipo 2. Sebbene lo stesso GLP-1 sia in grado in acuto e in cronico di normalizzare la glicemia in pazienti diabetici, è caratterizzato tuttavia da una breve emivita che ne ha determinato l'abbandono come approccio farmacologico in favore di peptidi con un'emivita più lunga, come l'exenatide e la liraglutide. Tuttavia, l'impiego di farmaci incretino-mimetici (come l'exenatide) che sono in grado di determinare una riduzione del peso corporeo e dei livelli di HbA_{1c}, potrebbe essere limitato a causa dalla modalità di somministrazione mediante iniezione sottocutanea. L'inibitore dell'enzima responsabile della degradazione del GLP-1 endogeno, la dipeptidil peptidasi-4, rappresenta un'alternativa a queste molecole. Diversi studi sono stati effettuati nel tentativo di individuare un agonista del recettore del GLP-1 non peptidico e quindi somministrabile per via orale. Sebbene alcune piccole molecole individuate originariamente sembravano attivare parzialmente il segnale del GLP-1 *in vitro*, per questi composti non sono stati prodotti dati significativi *in vivo*. In questo lavoro, gli Autori hanno studiato un agonista del recettore del GLP-1 (GLP-1R) non peptidico, assumibile oralmente, con potenziali effetti positivi sull'introito alimentare, sul peso corporeo, sulla tolleranza glucidica e sulla HbA_{1c} in topi db/db, un modello murino di diabete mellito tipo 2. Gli effetti appa-

iono essere mediati dal recettore del GLP-1 e sono bloccati dalla contemporanea assunzione dell'antagonista del recettore del GLP-1, exendin (9-39). La molecola, che è stata denominata Boc5, deriva da uno screening ad alta sensibilità volto a identificare agonisti del recettore del GLP-1, che ha valutato più di 48 mila composti. In questa maniera sono state individuate due molecole, Boc5 e S4P. Mentre Boc5 si comporta come agonista completo, una molecola simile, l'S4P, agisce come agonista parziale. Come per il GLP-1, gli effetti cellulari di S4P e Boc5 venivano bloccati dall'exendin (9-39). Effetti insulinotropi dose-dipendente sono stati osservati in isole pancreatiche di ratto, un sistema sperimentale in cui è ben nota la sensibilità del GLP-1 endogeno.

Una riduzione dell'introito calorico in topi a digiuno potrebbe essere usata come una misura dell'attività *in vivo*. Si è ipotizzato che la riduzione dell'appetito potrebbe realizzarsi sia per l'agonismo di queste sostanze verso recettori ad attività anoressizzante, sia per un loro eventuale effetto tossico generale. La somministrazione di exendin (9-39) annulla questi effetti anoressizzanti che, pertanto, non possono essere spiegati dalle ipotesi precedentemente menzionate. Pertanto, è facilmente deducibile che l'effetto anoressizzante di Boc5 è determinato dalla sua capacità di legarsi *in vivo* al GLP-1R a livello ipotalamico. Come ulteriore prova dell'attività *in vivo* e del suo potenziale effetto terapeutico, gli effetti della somministrazione di Boc5 sono stati testati in topi *db/db*. Questi animali, caratterizzati da iperfagia causata da un difetto del segnale della leptina, insulino-resistenza e alterata secrezione β -cellulare, sono stati utilizzati per lungo tempo per individuare potenziali agenti farmacologici ipoglicemizzanti. È stato scelto il modello murino per la limitata disponibilità di Boc5 e la somministrazione è stata per via intraperitoneale a causa della incerta biodisponibilità di questo composto se somministrato oralmente. Dato che il turnover dei globuli rossi è più elevato nei topi che negli uomini, l'HbA_{1c} rappresenta un marker utile del metabolismo glicidico. La normalizzazione dei livelli di HbA_{1c} sia con 1 mg sia con 2 mg di Boc5 suggerisce che gli effetti sono vicini a quelli massimali e che probabilmente l'efficacia potrebbe essere osservata a dosi inferiori. Si sono osservate le stesse variazioni dei livelli di HbA_{1c} in topi *db/db* trattati per 13 settimane con iniezioni giornaliere di exenatide.

Altri aspetti del miglioramento metabolico osservato in questo lavoro sono stati precedentemente riportati con agonisti peptidici del recettore del GLP-1. La perdita di peso è una caratteristica del trattamento cronico con un agonista del recettore del GLP-1, come anche la riduzione dei livelli di colesterolo, trigliceridi e di altri lipidi. La riduzione del colesterolo era principalmente accompagnata da una piccola riduzione nel livello delle lipoproteine ad alta densità.

Sebbene la sensibilità insulinica non sia stata misurata direttamente in questo studio, i cambiamenti indotti da Boc5 dei livelli post-prandiali di insulinemia suggerivano un miglioramento della sensibilità insulinica. Il miglioramento della sensibilità insulinica è una caratteristica dell'esposizione cronica (ma non acuta) ad agonisti del recettore del GLP-1. La tolleranza ai carboidrati, dopo un test di tolleranza al glucosio, si normalizzava in animali trattati con Boc5 e ricompariva alla sospensione del trattamento. Questo risultato è in linea con una precedente osservazione in cui la somministrazione cronica di exenatide migliorava significativamente la tolleranza ai carboidrati in topi *db/db*. Durante la somministrazione di Boc5 si è anche osservato un aumento della massa β -cellulare, in accordo con il miglioramento della sensibilità insulinica. Gli agonisti del recettore del GLP-1, infatti, promuovono la neogenesi e la differenziazione delle cellule β -pancreatiche nell'animale sperimentale. I dati presentati in questo lavoro sostengono il concetto che Boc5 possa agire da agonista del recettore del GLP-1. Questa molecola è un agente non peptidico con attività sul recettore del GLP-1, in grado di evocare effetti metabolici favorevoli nell'animale sperimentale. Anche se si tratta di una ricerca molto interessante, siamo tuttavia ancora lontani dalla produzione di un farmaco utilizzabile nella pratica clinica.

