

# Strategie per la preservazione della disfunzione $\beta$ -cellulare nel diabete mellito tipo 2

Francesco Giorgino, Anna Leonardini, Annalisa Natalicchio

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

**I**l diabete mellito tipo 2 (DMT2) è una sindrome a eziologia complessa in cui fattori genetici e ambientali, interagendo in vario modo, determinano, in ultima analisi, la comparsa di alterazioni metaboliche multiple, tra cui l'iperglicemia rappresenta il parametro classicamente utilizzato per fini diagnostici e prognostici. Alla patogenesi del DMT2 concorrono da un lato l'insulino-resistenza e, dall'altro, un'inadeguata secrezione di insulina da parte delle  $\beta$ -cellule pancreatiche. Anche se l'insulino-resistenza si riscontra in quasi tutti i pazienti affetti da DMT2, lo sviluppo dell'iperglicemia e la progressione della malattia sono ascrivibili a un difetto della secrezione insulinica. Lo studio UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*) (1) ha dimostrato che la funzione delle  $\beta$ -cellule, al momento della diagnosi di diabete, è già ridotta del 50% e, negli anni successivi, continua progressivamente a ridursi, indipendentemente dal regime terapeutico instaurato. Questa osservazione indica la presenza di un difetto della funzionalità  $\beta$ -cellulare che si sviluppa molto prima della diagnosi dell'iperglicemia e dimostra anche che la progressione caratteristica della malattia è dettata soprattutto dalla ridotta secrezione di insulina. Confrontando il tessuto pancreatico umano ottenuto da 124 autopsie di soggetti obesi diabetici, con alterata tolleranza ai carboidrati (IGT) o non diabetici e il tessuto pancreatico ottenuto da soggetti magri diabetici e non diabetici, Butler e collaboratori (2) hanno dimostrato una riduzione della massa  $\beta$ -cellulare del 40% nei pazienti IGT obesi e una riduzione ancora maggiore nei pazienti diabetici obesi rispetto ai controlli. Alla base di questi risultati è stato ipotizzato che sia presente un incremento dei livelli di apoptosi  $\beta$ -cellulare, a fronte di una normale o addirittura aumentata neoformazione di isole e di una norma-

le o aumentata replicazione  $\beta$ -cellulare (normalizzata in relazione al volume  $\beta$ -cellulare). Inoltre, nella maggior parte dei pazienti affetti da diabete tipo 2 confrontati con i rispettivi controlli, si è osservata la presenza di depositi di amilina che, tuttavia, non mostravano un incremento nei pazienti obesi con IGT (2).

Il ruolo svolto dalla riduzione della massa e della funzione  $\beta$ -cellulare nella patogenesi del DMT2 ha in qualche modo spostato l'obiettivo terapeutico sulla necessità di ricercare agenti farmacologici che siano in grado di rallentarne o bloccarne l'evoluzione. L'impiego precoce (cioè nelle prime fasi della malattia diabetica) di alcuni farmaci ipoglicemizzanti ha dimostrato di ritardare il declino della massa e della funzione  $\beta$ -cellulare. Inoltre, dato che la neogenesi delle isole non sembra essere alterata nei pazienti diabetici tipo 2, il blocco dell'apoptosi potrebbe portare al ripristino della massa  $\beta$ -cellulare.

## Declino della funzione $\beta$ -cellulare

### *Epidemiologia*

La funzione  $\beta$ -cellulare, come mostrato dall'UKPDS (3), è già ridotta al momento della diagnosi di diabete e il suo progressivo declino è associato al deterioramento del controllo glicemico, con l'aumento della durata della malattia diabetica, nonostante l'impiego di numerosi approcci farmacologici, quali l'insulina, la glibenclamide e la metformina. Inoltre, i risultati dell'UKPDS hanno chiaramente dimostrato l'importanza del mantenimento di un'adeguata funzione  $\beta$ -cellulare, in grado di ritardare l'inizio del trattamento insulinico: dopo 6 anni di monoterapia con sulfaniluree, il 62% dei pazienti che all'inizio dello studio presentava una funzionalità  $\beta$ -cellulare inferiore al 27% (in relazione al gruppo di riferi-

mento di soggetti normoglicemici di età compresa tra 18 e 25 anni) richiedeva una terapia addizionale con insulina per raggiungere un buon compenso glicometabolico. Al contrario, solo il 28% dei pazienti con funzione  $\beta$ -cellulare superiore al 55% all'inizio dello studio richiedeva successivamente l'introduzione della terapia insulinica (4).

### Fisiopatologia

Nella patogenesi del declino della funzione  $\beta$ -cellulare intervengono tre alterazioni fondamentali: il deficit insulinico, il difetto di secrezione  $\beta$ -cellulare e la riduzione della massa  $\beta$ -cellulare.

**Deficit insulinico.** Il deficit insulinico è già presente all'esordio della malattia ma diventa manifesto solo in condizioni di sovraccarico funzionale della  $\beta$ -cellula. Nel corso della storia naturale del DMT2 i livelli di insulinemia sono variabili: possono essere aumentati, normali o ridotti, ma relativamente alla concentrazione plasmatica di glucosio sono, per definizione, insufficienti a garantirne una normale omeostasi.

**Difetto di secrezione insulinica.** Il difetto della secrezione insulinica nel DMT2 è dovuto da una parte, al deficit assoluto di insulina, dall'altra dalla presenza di disturbi della *cinetica* di secrezione. Il difetto funzionale più precoce della  $\beta$ -cellula nel DMT2 è la progressiva riduzione, fino alla scomparsa, della prima fase della secrezione insulinica cui, nel tempo, si aggiunge un deficit anche a carico della seconda fase della liberazione dell'ormone. Di particolare rilievo è il fatto che la secrezione di insulina in risposta a stimoli diversi dal glucosio (ad esempio, arginina e sulfaniluree) è, nel DMT2, sostanzialmente conservata, sia nella quantità sia nella dinamica, anche dopo diversi anni dalla diagnosi, a dimostrazione che nelle  $\beta$ -cellule dei diabetici i granuli che contengono l'ormone ci sono e sono pronti a essere rilasciati al di fuori della cellula, ma il glucosio non rappresenta il giusto segnale (5).

**Riduzione della massa  $\beta$ -cellulare.** La riduzione della massa  $\beta$ -cellulare, alla luce di una proliferazione  $\beta$ -cellulare non alterata, è attribuibile soprattutto a un incremento dei livelli di apoptosi (6).

### Fattori responsabili della progressiva perdita della funzione e della massa $\beta$ -cellulare

I fattori responsabili della perdita progressiva della

massa e della funzione  $\beta$ -cellulare sono molteplici: glucotossicità, lipotossicità, aumento della secrezione di citochine proinfiammatorie e della leptina e aumento dei depositi di amiloide.

**Glucotossicità.** L'iperglicemia cronica sembra essere l'anello patogenetico essenziale per la genesi e il mantenimento del deterioramento  $\beta$ -cellulare. L'iperglicemia persistente svolge un'azione tossica a livello delle  $\beta$ -cellule, rendendole insensibili allo stimolo glicemico o a quello indotto dalle sulfaniluree o da altri secretagoghi. In questa condizione le  $\beta$ -cellule non saranno più in grado di rispondere con una adeguata secrezione insulinica (7). L'iperglicemia, a sua volta, può essere causa di insulino-resistenza a livello degli organi bersaglio (muscolo) aggravando ancor più il controllo metabolico. Si realizzerà, pertanto, un circolo vizioso che condurrà all'introduzione in terapia dell'insulina. Per interrompere tale circolo vizioso sarà necessario ripristinare un buon compenso glico-metabolico mediante l'introduzione di nuovi farmaci, in modo da migliorare la secrezione  $\beta$ -cellulare e ridurre l'insulino-resistenza periferica. Il danno  $\beta$ -cellulare indotto dall'iperglicemia è da ritenersi, pertanto, più funzionale che organico e, per definizione, è in larga misura reversibile.

**Lipotossicità.** Un aumento nei livelli plasmatici di acidi grassi può essere responsabile di un effetto tossico per la  $\beta$ -cellula: la prolungata esposizione ad essi aumenta il rilascio di insulina basale e inibisce la secrezione di insulina indotta dal glucosio. Non è ancora perfettamente noto se questo meccanismo sia dovuto a un aumento dell'ossidazione degli acidi grassi (con conseguente ridotta ossidazione del glucosio) o alla produzione di un segnale citoplasmatico di esterificazione degli acidi grassi. Una delle ipotesi più accreditate è che uno o più metaboliti intermedi, prodotti nella via di esterificazione degli acidi grassi, produca effetti dannosi, probabilmente in seguito a una prolungata esposizione ad essi (7).

**Citochine proinfiammatorie e leptina.** Le citochine proinfiammatorie e la leptina, sostanze prodotte dal tessuto adiposo, potrebbero agire sulle  $\beta$ -cellule alterandone la funzione. In particolare, la leptina, il *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , l'interleuchina (IL)-6 e l'antagonista del recettore dell'IL-1 rappresentano il legame esistente tra obesità e diabete (8, 9). La leptina, il TNF- $\alpha$  e l'IL-6 modulano la funzionalità della  $\beta$ -cellula inducendone l'apoptosi (10). Le cellule apoptotiche pro-

vocherebbero la mobilitazione di cellule T reattive dirette contro gli antigeni  $\beta$ -cellulari, culminando nella distruzione delle  $\beta$ -cellule simile a quella osservata negli stadi più precoci del diabete mellito tipo 1 (DMT1) (11).

**Amiloide.** Il ruolo dell'amiloide nella fisiopatologia del DMT2 è ancora dubbio: è possibile, infatti, che la formazione di amiloide sia secondaria all'inizio dell'iperglicemia e non sia di importanza fondamentale nella fisiopatologia del DMT2. Lo studio morfologico delle isole di Langerhans di pazienti diabetici ha dato risultati controversi: alcuni autori hanno riportato una marcata riduzione della massa  $\beta$ -cellulare, con spiccato aumento dei depositi di sostanza amiloide, mentre altri non hanno evidenziato particolari alterazioni. I depositi di sostanza amiloide si formano per motivi non del tutto noti quando l'amilina, proteina secreta dalla  $\beta$ -cellula insieme all'insulina, da solubile diviene insolubile, formando strutture complesse tossiche per la  $\beta$ -cellula.

L'utilizzo dell'immunoistochimica ha mostrato che la quantità di  $\beta$ -cellule di diabetici tipo 2 normopeso era ridotta del 50%; tuttavia, l'assenza di una attenta caratterizzazione immunologica non consente di escludere una "contaminazione" del campione per la presenza di soggetti affetti da LADA (*Latent Autoimmune Diabetes of the Adult*) (12). Peraltro, uno studio successivo non ha evidenziato alcuna differenza significativa del volume complessivo di cellule  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  e PP nel pancreas di pazienti diabetici rispetto al gruppo di controllo. Più recentemente (13), un'analisi morfometrica condotta sui pancreas di 14 pazienti diabetici tipo 2 giapponesi ha mostrato una riduzione del 20-30% della quantità delle  $\beta$ -cellule e un aumento del 20% della quantità delle  $\alpha$ -cellule. È probabile che ognuno di questi studi rappresenti, in realtà, solo una piccola finestra su una ridotta popolazione confermando, quindi, la grande eterogeneità insita nella sindrome che identifichiamo con il termine "diabete mellito tipo 2".

### Interventi farmacologici in grado di preservare o "ringiovanire" la massa $\beta$ -cellulare

**Terapia insulinica intensiva a breve termine in pazienti con DMT2 di nuova diagnosi.** Un controllo metabolico ottimale, specialmente se precoce e intensivo, gioca un ruolo fondamentale nel prevenire la pro-

gressione della disfunzione  $\beta$ -cellulare e la possibile distruzione della  $\beta$ -cellula con il peggioramento della malattia. Alcuni studi hanno mostrato che il miglioramento del compenso glico-metabolico attraverso un trattamento insulinico intensivo può essere essenziale per il miglioramento della funzione  $\beta$ -cellulare e della condizione di insulino-resistenza. La durata del beneficio nel tempo non è tuttavia ben definita e, in genere, questi studi non sono controllati rispetto a un gruppo in trattamento convenzionale (14, 15). Ryan et al. (16) hanno condotto uno studio volto a valutare se l'impiego di terapia insulinica intensiva mediante infusione sottocutanea di insulina all'esordio della malattia e per un breve periodo di tempo potesse essere in grado di preservare la funzione pancreatica. In 16 pazienti, con DMT2 all'esordio e livelli medi di glicemia a digiuno di 240 mg/dL, si è valutato se la somministrazione intensiva di insulina mediante multiple somministrazioni di insulina regolare e NPH per un periodo di tempo di 2-3 settimane fosse in grado di mantenere un buon controllo glicemico a distanza di un anno. Sette pazienti sono riusciti a ottenere un buon compenso glicemico solo attuando un controllo dietetico, mentre gli altri 8 hanno richiesto un agente ipoglicemizzante orale e uno soltanto la terapia insulinica. I pazienti che avevano ottenuto un buon compenso glicemico solo con la dieta hanno richiesto una dose giornaliera di insulina inferiore ( $0,37 \pm 0,05$  vs.  $0,73 \pm 0,007$  UI/kg/die) durante il periodo di trattamento intensivo insulinico e alla fine di tale periodo presentavano livelli di glicemia medi più bassi ( $106 \pm 5$  vs.  $139 \pm 7$  mg/dL). In un altro studio simile 138 pazienti con DMT2 all'esordio e con glicemia a digiuno  $>200$  mg/dL sono stati ospedalizzati e trattati con somministrazione continua endovenosa di insulina per 2 settimane; dopo tale periodo, i pazienti sono stati seguiti con la sola dieta. Un buon compenso glico-metabolico è stato raggiunto in  $6,3 \pm 3,9$  giorni in 126 pazienti. Le percentuali dei pazienti in remissione (cioè soggetti che presentavano valori vicini alla normoglicemia) al terzo, sesto, dodicesimo e ventiquattresimo mese sono state rispettivamente il 72,6%, 67%, 47,1% e 42,3%. I pazienti che hanno mantenuto un buon controllo glicemico per più di 12 mesi (gruppo in remissione) hanno presentato un recupero maggiore della funzione  $\beta$ -cellulare rispetto a quelli che non avevano raggiunto un miglioramento glicemico subito dopo le 2 settimane di trattamento intensivo. Gli Autori hanno concluso che il miglioramento della funzione  $\beta$ -cellulare e specialmente il ripristino della prima fase di secrezione insulinica, può esse-

re importante per produrre la remissione (17).

**Farmaci che modulano i canali del K<sup>+</sup> ATP-dipendenti (KATP) delle β-cellule.** È noto che la secrezione di insulina da parte delle β-cellule inizia con un incremento della concentrazione del Ca<sup>++</sup> intracellulare mediante l'apertura dei canali del Ca<sup>++</sup> voltaggio-dipendenti localizzati sulla membrana plasmatica. L'apertura e la chiusura di questi canali è determinata da variazioni del potenziale di membrana regolato dai canali del KATP. Nelle cellule non stimolate i KATP sono aperti e l'afflusso di ioni K<sup>+</sup> mantiene una iperpolarizzazione di membrana in presenza della quale i canali del Ca<sup>++</sup> sono chiusi. Quando le concentrazioni plasmatiche di glucosio aumentano si realizza la chiusura dei canali del KATP. Questo conduce a una depolarizzazione di membrana, alla apertura dei canali del Ca<sup>++</sup> e a un aumento della concentrazione intracellulare del Ca<sup>++</sup> che induce l'esocitosi delle vescicole che contengono l'insulina. Farmaci come le sulfaniluree, che agiscono bloccando direttamente i canali del KATP, aprono i canali del Ca<sup>++</sup> e stimolano così la secrezione di insulina.

Farmaci in grado di aprire i canali del K<sup>+</sup> agiscono prevenendo la liberazione di insulina anche in presenza di glucosio. Il farmaco più potente di questa categoria è rappresentato dal diazossido. Esso è stato utilizzato per inibire la secrezione insulinica e indurre così il "riposo" delle β-cellule in pazienti diabetici in trattamento insulinico, portando al ripristino della risposta insulinica dopo stimolo con glucagone e tolbutamide, non osservata invece in pazienti diabetici di controllo che ricevevano placebo e insulina (18). Il diazossido è stato utilizzato con successo per migliorare la funzione β-cellulare *in vivo* in modelli animali in cui questo composto si è dimostrato in grado di indurre un recupero della responsività delle β-cellule nel 90% dei ratti diabetici sottoposti a pancreasectomia (19) e prevenire il progressivo peggioramento della funzione β-cellulare in ratti con diabete indotto dalla streptozotocina (20). Il riposo β-cellulare indotto dalla attivazione selettiva dei canali del K<sup>+</sup>, risparmiando i depositi di insulina, potrebbe rappresentare una strategia terapeutica che evita la stimolazione cronica delle β-cellule e ne migliora la funzione. Oltre a indurre riposo β-cellulare, il diazossido potrebbe anche svolgere un'azione anti-apoptotica: è stato infatti dimostrato che il glucosio induce apoptosi delle isole pancreatiche e di β-cellule murine attraverso un processo Ca<sup>++</sup>-dipendente, mentre l'aggiunta nel mezzo di coltura di diazossido, in grado di bloccare l'incremento del

Ca<sup>++</sup> intracellulare, è in grado di inibire l'apoptosi (21). Una molecola selettiva per l'apertura dei canali KATP (NN414, KCO) è stata in grado di indurre il riposo β-cellulare preservando gli accumuli intracellulari e la secrezione pulsatile dell'insulina, proteggendo così le β-cellule dalla cronica iperstimolazione con riduzione del rapporto proinsulina/insulina (22).

Alcune evidenze sperimentali (21, 23, 24) sostengono l'ipotesi che anche le sulfaniluree (tolbutamide e glibenclamide) possano indurre apoptosi attraverso un processo Ca<sup>++</sup>-dipendente. In linea con quanto detto precedentemente sulla terapia insulinica precoce e intensiva, uno studio clinico condotto da Alvarsson et al., che ha confrontato il trattamento insulinico rispetto al trattamento con sulfaniluree (glibenclamide) in pazienti con DMT2 di recente insorgenza (meno di 2 anni), ha dimostrato che il trattamento insulinico per 2 anni (2 somministrazioni giornaliere di insulina premiscelata 30% solubile e 70% NPH) ha preservato la funzione β-cellulare più efficacemente rispetto al trattamento con glibenclamide (25). Le glinidi (meglitinide, repaglinide e nateglinide), che agiscono in maniera simile alle sulfaniluree con inizio di azione più rapido e durata di azione più breve, hanno mostrato *in vitro* (in colture di isole umane) un effetto pro-apoptotico molto ridotto rispetto alle sulfaniluree (26). Così, questi farmaci sarebbero da preferire a quelli che hanno una emivita più lunga - come la glibenclamide - per il fatto che in questo modo i pazienti saranno esposti per un periodo di tempo inferiore allo stimolo pro-apoptotico del farmaco. Tuttavia, queste osservazioni andrebbero confermate *in vivo* poiché diversi fattori addizionali in atto nell'organismo vivente, tra cui la proliferazione e la rigenerazione β-cellulare, potrebbero compensare l'apoptosi indotta dalla glibenclamide (26).

### **Farmaci anti-apoptotici**

**Leptina.** Contrastanti sono le informazioni che derivano da studi *in vitro* e *in vivo* sulla leptina in modelli sia animali sia umani. In isole di ratti ZDF la leptina ha dimostrato un ruolo protettivo sull'apoptosi indotta degli acidi grassi liberi (27). In contrasto con questi risultati, la esposizione cronica di β-cellule umane alla leptina ha indotto apoptosi β-cellulare attraverso un aumento del rilascio di IL-1 e una riduzione del recettore dell'IL-1 (10).

**Tiazolidinedioni.** I tiazolidinedioni (TZD) sono agonisti del *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) $\gamma$ , un recettore nucleare che regola la trascrizione di geni

coinvolti nel metabolismo glucidico e lipidico. Sebbene sia espresso principalmente nel tessuto adiposo, PPAR $\gamma$  è presente in altri tessuti insulino-sensibili, tra cui le isole pancreatiche. Nel tessuto adiposo la stimolazione di PPAR $\gamma$  promuove la differenziazione degli adipociti aumentando il numero di adipociti di piccole dimensioni insulino-sensibili. Lo sviluppo di queste cellule insulino-sensibili stimola l'uptake del glucosio, migliorando il controllo glicemico. Inoltre, i TZD promuovono l'uptake e l'accumulo dei trigliceridi, riducendo così i livelli circolanti degli acidi grassi liberi, e/o alleviando la lipotossicità. La riduzione degli FFA potrebbe essere mediata anche dalla soppressione dell'espressione del TNF- $\alpha$ , come dimostrato nei preadipociti umani (28). Sulle  $\beta$ -cellule i TZD potrebbero avere effetti indiretti e diretti. Gli effetti indiretti sono correlati alla loro azione sulla sensibilità insulinica e alla riduzione della gluco-tossicità e della lipotossicità. Inoltre, i TZD potrebbero anche normalizzare l'asincrona secrezione insulinica che caratterizza la disfunzione  $\beta$ -cellulare. Gli effetti diretti si potrebbero realizzare attraverso l'attivazione di PPAR $\gamma$  nelle isole pancreatiche, con miglioramento della funzione basale  $\beta$ -cellulare e ripristino della prima fase di secrezione insulinica dopo stimolo con glucosio. Studi *in vivo* condotti in modelli sperimentali murini hanno dimostrato che i TZD sono capaci di prevenire l'inibizione indotta dal TNF- $\alpha$  sul segnale insulinico nelle isole pancreatiche e di stimolare la proliferazione  $\beta$ -cellulare riducendo di 5 volte l'apoptosi  $\beta$ -cellulare (29-31). Mentre il rosiglitazone è un agonista puro di PPAR $\gamma$ , il pioglitazone sembra agire anche come parziale agonista di PPAR $\alpha$ . In generale, PPAR $\alpha$  regola i geni coinvolti nell'uptake degli acidi grassi e nella loro ossidazione (fegato, rene, cuore e muscolo scheletrico), oltre che lo stato di infiammazione e la funzione vascolare. Il pioglitazone, somministrato in modelli murini di DMT2, ha migliorato la capacità secretoria e prevenuto la perdita cellulare indotta dallo stress ossidativo (32). La riduzione dell'espressione del TNF- $\alpha$  da parte del pioglitazone nel tessuto adiposo di topi *db/db* (33) potrebbe essere associata a un miglioramento della disfunzione e della sopravvivenza  $\beta$ -cellulare. In conclusione, la maggior parte dei risultati ottenuti in roditori indica che i TZD riducono l'apoptosi  $\beta$ -cellulare, mantenendo la neogenesi e prevenendo l'amiloidosi delle isole. Esperimenti condotti in  $\beta$ -cellule umane hanno ottenuto risultati simili: la presenza di elevate concentrazioni di glucosio e di acidi grassi liberi induce apoptosi  $\beta$ -cellulare, mentre l'incubazione con rosiglitazone è in grado

di prevenire questo processo e di migliorare la secrezione insulinica (34). Zeender et al. (35), utilizzando il pioglitazone, sono stati in grado di proteggere isole umane in coltura dall'apoptosi indotta da IL-1 e da elevate concentrazioni di glucosio attraverso il blocco del fattore nucleare  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B).

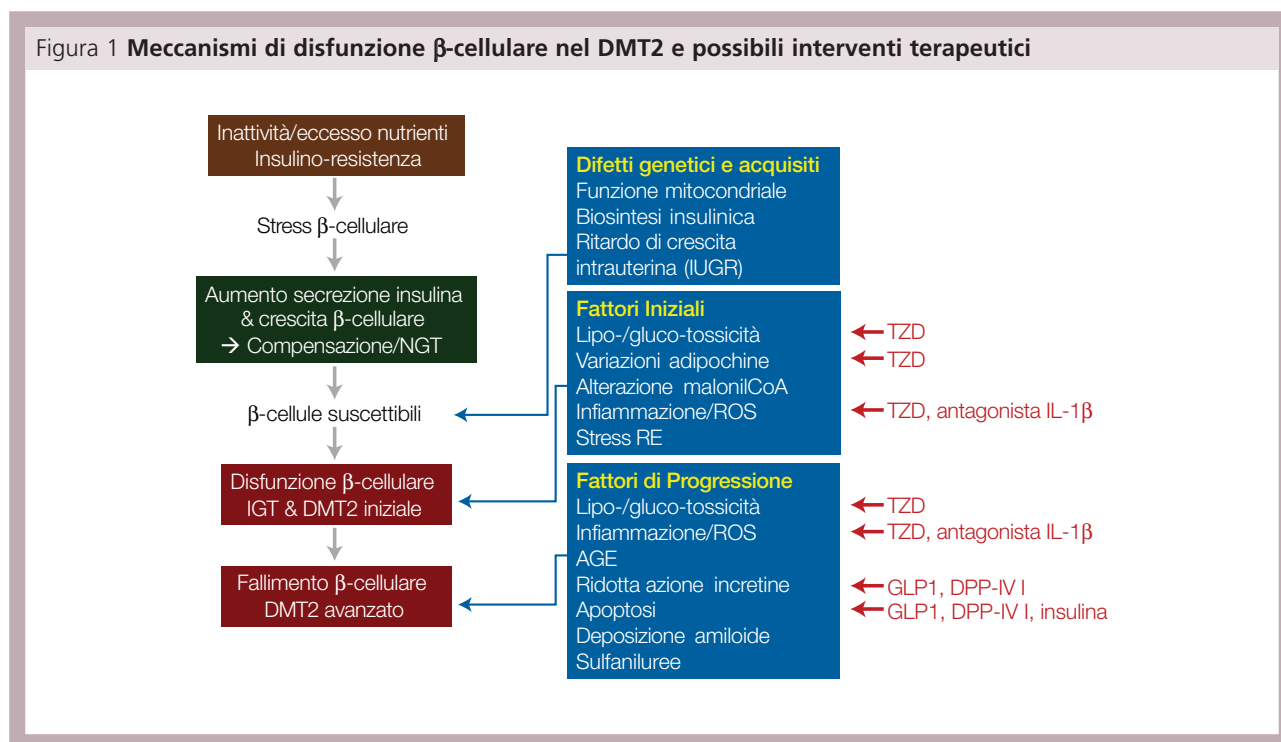
Alla luce del complesso meccanismo di azione dei TZD, che i dati sperimentali suggeriscono realizzarsi attraverso la riduzione della insulino-resistenza (ma probabilmente anche in parte attraverso il miglioramento della funzione e della sopravvivenza delle  $\beta$ -cellule), tre grandi trials clinici hanno valutato l'effetto dei TZD nella prevenzione del diabete: il *Troglitazone and Pioglitazone on Prevention of Diabetes* (TRIPOD e PIPOD) (36), il DPP (che includeva anche un braccio con troglitazone (37)) e infine lo studio DREAM (*Diabetes REduction Assessment with ramipril and rosiglitazone Medication*). Sia il DPP (braccio con troglitazone) sia il TRIPOD sono stati terminati precocemente dopo la nota segnalazione di casi di tossicità epatica fatale da troglitazone; il TRIPOD è continuato in aperto sostituendo il troglitazone con il pioglitazone. Tuttavia, l'analisi prospettica dei soggetti trattati prima della chiusura degli studi suggerisce una elevata efficacia del farmaco nel prevenire la progressione verso il diabete. Infine, lo studio DREAM ha valutato in soggetti a rischio la capacità del rosiglitazone di ridurre dopo tre anni la comparsa di diabete. In questo studio sono stati arruolati 5.269 soggetti (età >30 anni) senza malattia cardiovascolare, ma con ridotta tolleranza al glucosio (IGT) oppure con alterata glicemia a digiuno (IFG). I soggetti sono stati assegnati al gruppo placebo o al gruppo rosiglitazone (4 mg/die per i primi 4 mesi e in seguito 8 mg/die). Il rosiglitazone ha ridotto il rischio di sviluppare il diabete del 60%, in maniera statisticamente significativa rispetto al placebo. Non si è invece evidenziata alcuna riduzione dei decessi né degli eventi cardiovascolari totali, mentre è stato rilevato un aumento del rischio di scompenso cardiaco che passava dallo 0,1% nel gruppo placebo allo 0,5% nel gruppo rosiglitazone (38). Non sono ben conosciuti gli effetti a lungo termine dopo la sospensione del rosiglitazone.

**Antagonisti dell'IL-1 $\beta$ .** L'IL-1 è una citochina proinfiammatoria in grado di inibire la funzione e la proliferazione  $\beta$ -cellulare e di promuovere l'apoptosi. Nel pancreas di pazienti diabetici tipo 2 è stato dimostrato che le  $\beta$ -cellule sono capaci di produrre IL-1 $\beta$ . La presenza di elevate concentrazioni di glucosio nel mezzo di

coltura incrementa la produzione e la liberazione di IL-1, da parte delle cellule  $\beta$ -pancreatiche, cui seguono danno funzionale e apoptosi. La produzione di mediatori infiammatori da parte delle isole pancreatiche può quindi svolgere un ruolo importante nella patogenesi del DMT2. Uno studio recente (39) ha valutato gli effetti di un antagonista ricombinante umano del recettore dell'IL-1 (anakinra, 100 mg/die) sul compenso glicometabolico e sulla secrezione di insulina. I risultati ottenuti indicano che l'antagonismo del recettore dell'IL-1 con l'anakinra migliora il controllo glicemico nei pazienti e che questo si realizza mediante un aumento della funzione secretoria della  $\beta$ -cellula.

**Incretino-mimetici.** Le incretine sono ormoni peptidici, rilasciati dal tratto gastrointestinale in risposta all'ingestione di pasti, che stimolano la secrezione insulinica e aiutano il mantenimento dell'omeostasi glucidica (40). Le due principali incretine sono il GLP-1 (*glucagon like peptide-1*) e il GIP (*gastric inhibitory polipeptide*). Entrambi gli ormoni potenziano la secrezione insulinica stimolata dal glucosio sia attraverso

l'inibizione dei KATP (con conseguente depolarizzazione della membrana cellulare, incremento del  $Ca^{++}$  intracellulare e dismissione dei granuli secretori di insulina), sia attraverso un'interazione diretta con i geni deputati alla sintesi di insulina. Inoltre, entrambi gli ormoni up-regolano i "sensori" per il glucosio della  $\beta$ -cellula, quali il GLUT2 e la glucochinasi. Il GLP-1, ma non il GIP, inibisce, a livelli fisiologici, la secrezione di glucagone, la secrezione acida e lo svuotamento dello stomaco indotti dal pasto e, passando attraverso la barriera emato-encefalica, induce la sensazione di sazietà mediante un'interazione diretta con i centri ipotalamici. Entrambi gli ormoni promuovono la proliferazione e inibiscono l'apoptosi della  $\beta$ -cellula determinando un incremento delle  $\beta$ -cellule e una normalizzazione del rapporto tra  $\alpha$  e  $\beta$ -cellule pancreatiche (40). È stata da poco introdotta in Italia l'exenatide, un agonista del recettore del GLP-1 (GLP-1R) di sintesi. La formulazione del GLP-1 coniugato a un acido grasso (liraglutide) non è ancora in commercio. Il GLP-1 e gli agonisti del GLP-1R svolgono azioni acute, subacute e cro-



Mod. da Prentki M et al., J. Clin. Invest., 2006.

In presenza di  $\beta$ -cellule suscettibili di andare incontro a danno e disfunzione, si realizza la perdita della normale tolleranza al glucosio (NGT) e la comparsa di IGT e quindi di DMT2. Molteplici fattori di suscettibilità, sia genetici sia acquisiti, insieme a fattori che causano inizio e/o progressione del danno  $\beta$ -cellulare, favoriscono la transizione dalla condizione di NGT al DMT2. Sono indicati gli interventi farmacologici potenzialmente in grado di arrestare il processo di progressiva perdita di massa e di funzione secretoria  $\beta$ -cellulare e il rispettivo meccanismo di azione.

ROS: specie reattive dell'ossigeno; RE: reticolo endoplasmico

niche. L'effetto acuto del GLP-1 e degli agonisti del GLP-1R sulle  $\beta$ -cellule in modelli murini di diabete *in vivo* e in coltura è rappresentato dalla stimolazione del rilascio di insulina in maniera glucosio-dipendente, mentre l'effetto subacuto è rappresentato dallo stimolo della biosintesi insulinica e dalla stimolazione della trascrizione del gene dell'insulina. L'azione cronica è rappresentata dalla stimolazione della proliferazione  $\beta$ -cellulare, dall'induzione della neogenesi delle isole a partire da precursori cellulari duttali e dalla inibizione dell'apoptosi  $\beta$ -cellulare (41). Saranno i farmaci incretino-mimetici in grado di rallentare o di prevenire l'inevitabile progressione del DMT2 in considerazione dei loro effetti trofici sulle  $\beta$ -cellule (42), dal momento che potrebbero stimolarne la proliferazione e la differenziazione (43) e inibirne l'apoptosi? Ad oggi, la risposta a questa complessa domanda non è nota. Dato che il normale numero delle  $\beta$ -cellule è mantenuto da un equilibrio tra apoptosi e proliferazione, gli effetti protettivi degli incretino-mimetici potrebbero essere rilevanti in condizioni in cui l'apoptosi  $\beta$ -cellulare è incrementata, come nel DMT2. Poiché, per ovvie ragioni, è difficile stimare l'entità della proliferazione  $\beta$ -cellulare nell'uomo sano o affetto da DMT2, gli effetti protettivi degli incretino-mimetici sulle  $\beta$ -cellule *in vivo* nell'uomo non sono conosciuti.

## Conclusioni

Il DMT2 insorge esclusivamente se e quando si manifesta un danno funzionale a livello della  $\beta$ -cellula dell'isola di Langerhans. Tale danno consiste nella riduzione quantitativa della secrezione di insulina e nell'alterazione qualitativa della dinamica del rilascio di questo ormone (in particolare con perdita della prima fase). Il danno funzionale è soprattutto presente in risposta al glucosio e questo fa presupporre che in qualche tappa del suo metabolismo vi siano alterazioni di particolare rilevanza verosimilmente determinate su base genetica e soggette all'influenza di fattori ambientali (tra cui, in particolare, l'iperglicemia stessa e l'elevata concentrazione di acidi grassi liberi). Diversi approcci farmacologici possono proteggere le  $\beta$ -cellule dall'apoptosi e/o stimolare la proliferazione  $\beta$ -cellulare rallentando o bloccando l'evoluzione del DMT2. La rilevanza clinica di queste osservazioni andrà però dimostrata da adeguati studi di intervento in soggetti affetti da DMT2 o a rischio di sviluppare la malattia.

## Bibliografia

- Holman RR. Assessing the potential for  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in prediabetic states. *Diabetes Res Clin Pract* 40 (Suppl): S21–25, 1998.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S et al.  $\beta$ -cell deficit and increased  $\beta$ -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 102–110, 2003.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352: 837–853, 1998.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Overview of 6 years therapy of type II diabetes: a progressive disease (UKPDS 16). *Diabetes* 44: 1249–1258, 1995.
- Donath MY, Halban PA. Decreased beta-cell mass in diabetes: Significance, mechanisms and therapeutic implications. *Diabetologia* 47: 581–589, 2004.
- Donath MY, Ehses JA, Maedler K et al. Mechanisms of  $\beta$ -cell death in type 2 diabetes. *Diabetes* 54 (Suppl 2): S108–S113, 2005.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO et al. Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 53 (Suppl 1): S119–S124, 2004.
- Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 21: 697–738, 2000.
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: An update. *Clin Endocrinol* 64: 355–365, 2006.
- Maedler K, Sergeev P, Ehses JA et al. Leptin modulates beta-cell expression of IL-1 receptor antagonist and release of IL-1 beta in human islets. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 8138–8143, 2004.
- Donath MY, Storling J, Maedler K et al. Inflammatory mediators and islet  $\beta$ -cell failure: A link between type 1 and type 2 diabetes. *J Mol Med* 81: 455–470, 2003.
- Sempoux C, Guiot Y, Dubois D. Human type 2 diabetes: Morphological evidence for abnormal beta-cell function. *Diabetes* 50 (Suppl 1): 172–177, 2001.
- Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi N et al. Reduced beta-cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islets of Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 45: 85–96, 2002.
- Yki-Järvinen H, Esko N, Eero H et al. Clinical benefits and mechanisms of a sustained response to intermittent insulin therapy in type 2 diabetic patients with secondary drug failure. *Am J Med* 84: 185–192, 1988.
- Gormley MJ, Hadden DR, Woods DR et al. One month's insulin treatment of type II diabetes: The early and medium-term effects following insulin withdrawal. *Metabolism* 35: 1029–1036, 1986.
- Ryan EA, Imes S, Wallace C. Short-term intensive insulin therapy in newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27: 1028–1032, 2004.
- Li Y, Xu W, Liao Z, Yao B et al. Induction of longterm glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients is associated with improvement of  $\beta$ -cell function. *Diabetes Care* 27: 2597–2602, 2004.
- Greenwood RH, Mahler RF, Hales CN. Improvement in insulin

- secretion in diabetes after diazoxide. *Lancet* i: 444–447, 1976.
19. Leahy JL, Bumbalo LM, Chen C. Diazoxide causes recovery of beta-cell glucose responsiveness in 90% pancreatectomized diabetic rats. *Diabetes* 43: 173–179, 1994.
  20. Matsuda M, Kawasaki F, Mikami Y et al. Rescue of beta exhaustion by diazoxide after the development of diabetes mellitus in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol* 453: 141–148, 2002.
  21. Bjork E, Berne C, Kampe O et al. Diazoxide treatment at onset preserved residual insulin secretion in adults with autoimmune diabetes. *Diabetes* 45: 1427–1430, 1996.
  22. Ritzel RA, Hansen JB, Veldhuis JD et al. Induction of  $\beta$ -cell rest by a Kir 6.2/SUR 1 selective K ATP-channel opener preserves  $\beta$ -cell insulin stores and insulin secretion in human islets cultured in high (11 mM) glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 795–805, 2004.
  23. Iwakura T, Fujimoto S, Kagimoto S et al. Sustained enhancement of Ca(2+) influx by glibenclamide induces apoptosis in RINm5F cells. *Biochem Res Commun* 27: 422–428, 2000.
  24. Del Guerra S, Marselli L, Lupi R et al. Effects on prolonged in vitro exposure to sulphonylureas on the function and survival of human islets. *J Diabetes Complications* 19: 60–64, 2003.
  25. Alvarsson M, Sundkvist G, Lager I et al. Beneficial effects of insulin versus sulphonylurea on insulin secretion and metabolic control in recently diagnosed type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 26: 2231–2237, 2003.
  26. Maedler K, Carr RD, Bosco D et al. Sulphonylurea induced beta-cell apoptosis in cultured human islets. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 501–506, 2005.
  27. Unger RH. How obesity causes diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Trends Endocrinol Metab* 8: 276–282, 1997.
  28. Arner P. Free fatty acids – do they play a central role in type 2 diabetes? *Diabetes Obes Metab* 3: S11–S19, 2001.
  29. Shimabukuro M, Ohneda M, Lee Y et al. Role of nitric oxide in obesity induced beta-cell disease. *J Clin Invest* 100: 290–295, 1997.
  30. Shimabukuro M, Zhou YT, Lee Y, Unger RH. Troglitazone lowers islet fat and restore beta cell function of Zucker diabetic fat rats. *J Biol Chem* 273: 3547–3550, 1998.
  31. Finegod DT, Dawn McArthur M, Kojwang D et al. Beta-cell mass dynamics in Zucker Diabetic Fatty Rats. Rosiglitazone prevents the rise in net cell death. *Diabetes* 50: 1021–1029, 2001.
  32. Diani AR, Sawada G, Wyse B et al. Pioglitazone preserved pancreatic islet structure and insulin secretory function in three murine models of type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286: E116–E122, 2004.
  33. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T et al. PPAR $\gamma$  ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 50: 2094–2099, 2001.
  34. Lupi R, Del Guerra S, Marselli L et al. Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPAR $\gamma$ 2 in the modulation of insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286: E560–E567, 2004.
  35. Zeender E, Maedler K, Bosco D et al. Pioglitazone and sodium salicylate protect human  $\beta$ -cells against apoptosis and impaired function induced by glucose and interleukin-1 $\beta$ . *Diabetes* 89: 5059–5066, 2004.
  36. Buchanan TA, Xiang AH, Peters RK et al. Preservation of pancreatic  $\beta$ -cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in high-risk Hispanic women. *Diabetes* 51: 2796–2803, 2002.
  37. The Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New Engl J Med* 346: 393–403, 2002.
  38. The DREAM trial investigators. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: A randomized controlled trial. *Lancet* 368: 1096–1105, 2006.
  39. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, et al. Interleukin-1 receptor antagonist in type 2 diabetes. *New Engl J Med* 356: 1517–1526, 2007.
  40. Drucker DJ. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26: 2928–2940, 2003.
  41. Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: Augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology* 144: 5145–5148, 2003.
  42. Egan JM, Bulotta A, Hui H, et al. GLP-1 receptor agonists are growth and differentiation factors for pancreatic islet beta cells. *Diabetes Metab Res Rev* 19: 115–123, 2003.
  43. Zhou J, Wang S, Pineyro MA, Egan JM. Glucagon-like peptide 1 and exendin-4 convert pancreatic AR42J cells into glucagon- and insulin-producing cells. *Diabetes* 48: 2358–2366, 1999.

