

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

(D.M. 270/04)

TESI DI LAUREA

UNA NUOVA CLASSE TEREPEUTICA PER IL DIABETE DI TIPO 2: TIRZEPATIDE UN NUOVO DOPPIO AGONISTA DEI RECETTORI GIP E GLP-1

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Adriana Chilin

Laureando: Matteo Franchini

Matricola: 1152135

ANNO ACCADEMICO: 2021/2022

INDICE DEI CAPITOLI

1. INTRODUZIONE	1
2. BIOCHIMICA DELL'INSULINA	3
3. RECETTORI GPCR	5
4. GLP-1	7
4.1. NOZIONI GENERALI	7
4.2. RECETTORI GLP-1	7
4.3. FISIOLOGIA DEL GLP-1	8
4.4. SEGNALAZIONE GLP-1 NELLA CELLULA BETA UMANA	10
5. GIP	12
5.1. NOZIONI GENERALI	12
5.2. RECETTORI GIP	14
5.3. SEGNALAZIONE DEL RECETTORE GIP NELLE CELLULE BETA UMANE	16
5.4. FISIOLOGIA DEL GIP	17
6. TIRZEPATIDE	23
7. CARATTERIZZAZIONE PRECLINICA	29
8. STUDI CLINICI	32
8.1 STUDIO DI FASE 1 NCT02759107	32
8.2. STUDIO CLINICO DI FASE 2	35
8.2.1 STUDIO NCT03131687	35
8.2.2. STUDIO NCT03311724	41
8.3. STUDIO CLINICO DI FASE 3	42
8.3.1 SURPASS 1	42
8.3.2 SURPASS 2	43
8.3.3 SURPASS 3	47
8.3.4 SURPASS 4	48
8.3.5 SURPASS 5	49
8.4. STUDIO SURMOUNT-1	50
9. BIBLIOGRAFIA	53

1. INTRODUZIONE

Nei primi anni del 1900 si era osservato che c'erano degli ormoni peptidici, prodotti dalla mucosa intestinale, che andavano, in seguito alla digestione, a rilasciare sostanze dal pancreas endocrino. In seguito queste sostanze sono state chiamate incretine. Si è dimostrata una comunicazione tra pancreas ed intestino, quando andando a somministrare glucosio oralmente, si notava un aumento elevato di insulina a livello plasmatico a differenza della stessa quantità di glucosio che veniva somministrato per via endovenosa. Questo venne chiamato "effetto incretina" e rappresenta circa il 50-70% di insulina che viene secreta dopo la somministrazione orale di glucosio.¹ In risposta alla digestione di nutrimenti nel tratto gastrointestinale vengono rilasciate le incretine che sono ormoni che migliorano la secrezione di insulina stimolata dal glucosio.

Il GIP era stato chiamato polipeptide inibitorio gastrico (GIP), perché era stato osservato che nei cani andava a inibire la secrezione di acido gastrico. Questo effetto inibitorio era stato osservato solo a dosaggi farmacologici. Si era osservato che poteva stimolare la secrezione di insulina nell'uomo e negli animali a concentrazioni fisiologiche, per tale motivo è stato rinominato polipeptide insulino-tropico glucosio-dipendente. Il GIP viene liberato dalle cellule K dell'intestino tenue, in seguito ad un pasto costituito da glucosio e grasso. La sua funzione è quella di essere un ormone incretico che a contatto con il glucosio introdotto durante il pasto, va a potenziare la secrezione di insulina.¹

Successivamente si scoprì un ulteriore ormone incretinico perché il GIP non riusciva a spiegare completamente l'effetto dell' incretina in vivo. Il gene del proglucagone andava a codificare oltre che per il glucagone, anche per altri due ormoni peptidici. Questi due peptidi venivano chiamati peptide-1 simile al glucagone e peptide-2 simile al glucagone dato che risultavano circa il 50% omologhi al glucagone. In seguito alle prove effettuate solo il GLP-1 era in grado di andare a stimolare la secrezione di insulina. Il GLP-1 veniva rilasciato dalle cellule L intestinali in risposta all'ingestione di nutrimenti e anche questo ormone peptidico andava a migliorare la secrezione di insulina.¹

Negli ultimi anni è stato validato un trattamento per il diabete mellito di tipo 2 con gli agonisti del recettore del peptide-1 simile al glucagone (GLP-1R) che ha dimostrato significativi miglioramenti per quanto riguarda il controllo glicemico e la riduzione del peso. Questo trattamento è andato a ridurre gli esiti micro e macrovascolari. Molti pazienti che vengono trattati con questa classe terapeutica nonostante gli ampi benefici non riescono a raggiungere i target glicemici e la perdita di peso che si possono ottenere con la chirurgia bariatrica. Questo intervento risulta il più potente nei pazienti con diabete di tipo 2 obesi. Per tale motivo questa classe terapeutica dev'essere migliorata.

Questi agonisti del recettore GLP-1 hanno elevati benefici e questa classe terapeutica rientra nel trattamento per i pazienti con diabete di tipo 2. Ci sono diverse classi terapeutiche per la gestione del diabete di tipo 2: agonisti del recettore GLP-1 (il primo exenatide), inibitori della dipeptidil peptidasi 4 (DPP4) (sitagliptin) e inibitori del co-trasportatore sodio-glucosio (SGLT2) (canaglifozin). Vi è una percentuale molto elevata di persone con il diabete di tipo 2 che non raggiungono però un controllo glicemico ottimale.

Infatti secondo i dati del National Diabetes Audit solo il 65,9% delle persone con diabete di tipo 2 in Inghilterra e Galles hanno raggiunto la dose raccomandata HbA1c di 58 mmol/mol (7,5%). I dati NDA mostrano che l'85% dei pazienti erano obese o in sovrappeso. C'è una spinta nello sviluppo di nuovi farmaci ipoglicemizzanti che non soltanto riducono l'emoglobina glicata ma anche che promuovono una perdita di peso evidente.²

LY3298176 (tirzepatide) doppio agonista del recettore GIP e GLP-1, è stato sviluppato per vedere se l'azione metabolica del GIP poteva aggiungere benefici clinici ulteriori rispetto agli agonisti selettivi del recettore GLP-1 nel diabete mellito di tipo 2.³ La tirzepatide viene somministrata a livello sottocutaneo una volta alla settimana. Questo farmaco risulta essere un doppio agonista dei recettori insulintropici glucosio-dipendente (GIP) e del peptide-1 (GLP-1) simile al glucagone. Questi due ormoni peptidici vengono rilasciati nell'intestino in risposta all'assunzione di cibo. Entrambi vanno a stimolare la secrezione di insulina e ridurre la secrezione di glucagone ma hanno anche delle proprietà ulteriori. Il GIP svolge un ruolo nel metabolismo dei nutrienti e dell'energia mentre il GLP-1 ritarda lo svuotamento gastrico, sopprime l'appetito e migliora la sazietà. Andando ad attivare contemporaneamente entrambi i recettori questo può contribuire ad un effetto sinergico con maggiori miglioramenti nel controllo glicemico e nella perdita del peso corporeo.⁴

Le implicazioni terapeutiche del co-agonismo GLP-1R e GIPR non si basano solo sull'impatto dell'attivazione individuale ma anche sull'interazione tra i due recettori e le loro vie di segnalazione. Alcune cellule possono esprimere entrambi i recettori e si influenzano l'uno con l'altro. In questo caso se bisogna parlare di farmacodinamica il classico agonismo e antagonismo diventa limitato per descrivere questi farmaci. Quindi bisogna considerare diversi fattori che influenzano il co-agonismo. Con questo nuovo farmaco bisogna capire il rapporto di attivazione dei recettori ad esempio il rapporto tra GLP-1 e GIP o le proprietà farmacodinamiche di un co-agonista su ciascun recettore. Una volta considerate le proprietà farmacodinamiche di ciascun recettore-ligando bisogna studiare la farmacocinetica dei ligandi e i fattori di espressione dei recettori e le vie di segnalazione condivise questi aspetti devono ancora però trovare risposte.⁵

Il 13 maggio 2022 la tirzepatide un doppio agonista ha ricevuto la sua prima approvazione negli Stati Uniti. Essa è stata approvata per il controllo glicemico negli adulti con DM2 in aggiunta alla dieta ed all'esercizio fisico.⁶

La dose consigliata iniziale è di 2,5 mg una volta alla settimana. Dopo 4 settimane, il dosaggio viene aumentato a 5 mg sempre una volta alla settimana. Successivamente il dosaggio viene aumentato a incrementi di 2,5 mg dopo almeno 4 settimane con la dose attuale. Viene evidenziata l'importanza basata su studi scientifici di andare ad incrementare la dose in maniera graduale nelle diverse settimane per ridurre gli effetti collaterali. Il farmaco può essere somministrato in qualsiasi momento della giornata prima o dopo i pasti. La tirzepatide non è indicata per pazienti con diabete di tipo 1.⁷

2. BIOCHIMICA DELL'INSULINA

L'insulina e il glucagone sono degli ormoni endocrini che vengono secreti nel flusso sanguigno e trasportati alle cellule di tutto il corpo. Sono ormoni peptidici formati da uno specifico numero e tipo di amminoacidi.

L'insulina è formata da due catene polipeptidiche chiamate A e B unite da due ponti disolfuro. L'insulina viene sintetizzata nel pancreas sotto forma di precursore inattivo la preproinsulina. Viene rimossa la sequenza segnale e si forma la proinsulina che viene conservata nei granuli di secrezione delle cellule BETA del pancreas. Quando il glucosio aumenta la sua concentrazione all'interno del sangue, c'è la stimolazione della secrezione di insulina. La proinsulina viene convertita tramite proteasi specifiche in insulina matura e il peptide C. Entrambi questi frammenti vengono rilasciati per esocitosi nel sangue, l'insulina stimola l'assunzione di glucosio mentre il peptide C si lega a proteine G (GPCR) e va a mitigare gli effetti della ridotta sintesi di insulina. Figura 1.

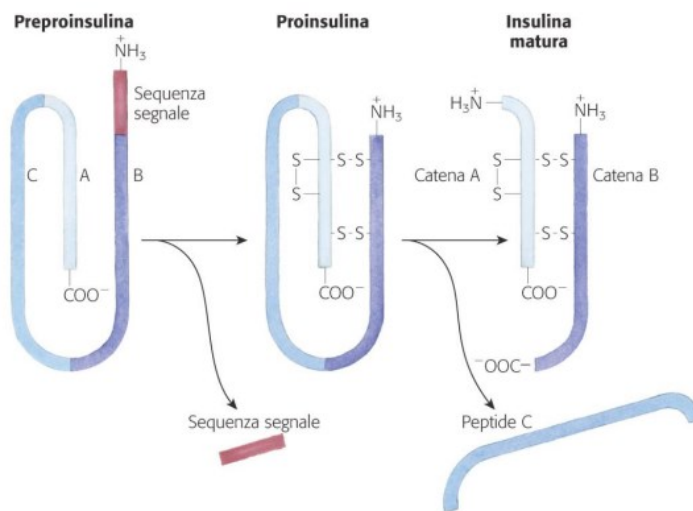


Figura 1: La preproinsulina attraverso delle modificazioni proteolitiche va a trasformarsi in insulina matura.⁸

L'insulina viene liberata quando il glucosio nel sangue aumenta rispetto al basale, l'eccesso del glucosio viene assorbito e convertito in composti di riserva. L'insulina agisce su recettori della membrana plasmatica e stimola l'assunzione del glucosio da parte del tessuto muscolare e fegato (depositato sotto forma di glicogeno) e del tessuto adiposo (depositato sotto forma di triacilgliceroli).

Quando la glicemia si alza il pancreas si occupa di rilasciare l'insulina e rallenta il rilascio di glucagone. A livello del pancreas troviamo delle cellule specializzate chiamate isole di Langerhans che sono formate da 3 tipi di cellule. Queste isole costituiscono il tessuto endocrino che si occupa di liberare ormoni peptidici. Troviamo le cellule alpha che

producono il glucagone, le cellule beta che producono l'insulina e le cellule delta che producono somatostatina.

Quando la concentrazione di glucosio aumenta nel sangue, il glucosio viene convogliato nelle cellule beta del pancreas attraverso il trasportatore GLUT2. Qui avviene un processo catabolico che causa un aumento dell'ATP che porta alla chiusura dei canali del K⁺ ATP-dipendenti sulla membrana plasmatica (i canali sono formati da quattro subunità Kir6.2 che formano il canale e quattro subunità esterne SUR1). Si verifica la depolarizzazione della membrana plasmatica causando l'apertura dei canali del Ca²⁺. L'aumento del calcio intracellulare porta al rilascio per esocitosi dell'insulina.⁸

3. RECETTORI GPCR

I recettori GIPR e GLP-1 sono dei recettori GPCR ossia recettori accoppiati a proteine G di classe B. I recettori GIPR e GLP-1R si trovano nella famiglia delle secretine.

Questi recettori si legano con un peptide attraverso un legame peptidico. Il legame peptidico si lega attraverso un modello a “due domini”. In questo meccanismo, la regione del ligando C-terminale si lega al dominio N-terminale extracellulare del recettore. Questa interazione agisce come una trappola di affinità, promuovendo l'interazione della regione del ligando N-terminale con il dominio iuxta-membrana del recettore. Quando il peptide si lega al dominio intra-membrana attiva il recettore e stimola la segnalazione intracellulare. Figura. Questi recettori di solito vengono attivati da peptidi con dimensioni intermedie (30-40 residui di amminoacidi). Figura 2.

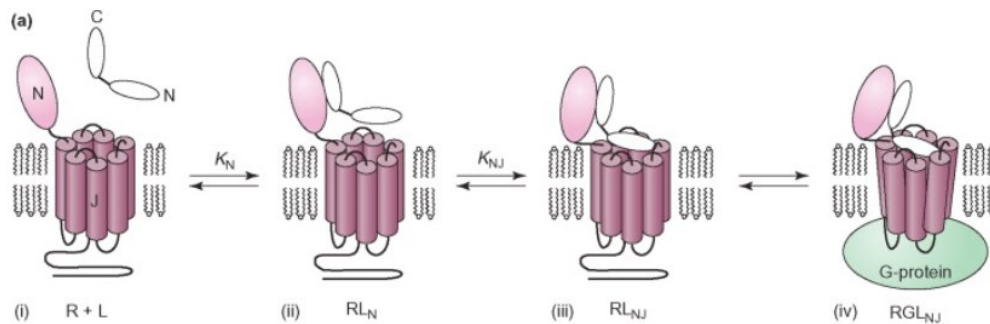


Figura 2: modello a bassa risoluzione che fa capire come avviene l'interazione tra un peptide e il recettore GPCR.⁹

Nello studio si è osservato che frammenti di GIP (1-14) riescono a dare una segnalazione intracellulare simile al peptide intero. Questo può far riflettere su quale dominio del recettore incide di più nella segnalazione e quindi che poi risulti indispensabile. Perché in questo caso sembra che il legame dell'N-terminale con il dominio J sia sufficiente per attivare interamente il segnale. Quindi sono state avanzate ipotesi sul poter sviluppare peptidi che presentano solo la sequenza N-terminale.

La struttura di questi recettori è composta da un dominio N-terminale extracellulare (più o meno 100-160 residui di amminoacidi) e un dominio iuxtamembrana J di sette alpha-eliche che attraversano la membrana. I sette segmenti o anse sono separate da anse intra ed extracellulare e poi c'è la presenza di una coda C-terminale. Le anse intracellulari interagiscono con le proteine G per stimolare la segnalazione intracellulare.⁹ figura 3.

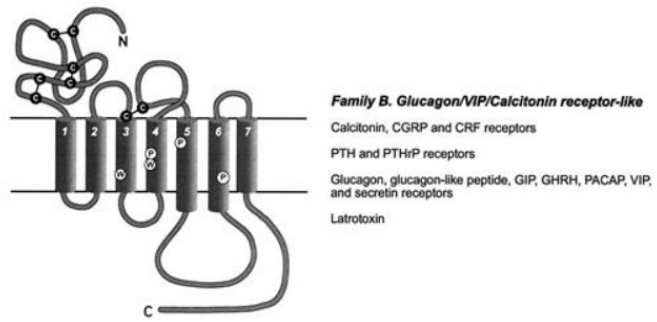


Figura 3: La caratteristica più importante dei recettori della famiglia B è un ampio (~ 100 residui) amino-terminale extracellulare contenente diverse cisteine, presumibilmente che formano una rete di ponti disolfuro.¹⁰

4. GLP-1

4.1. NOZIONI GENERALI

Il GLP-1 viene secreto dalle cellule L endocrine intestinali che si trovano prevalentemente nell'ileo distale e nel colon. La cellula L è una cellula endocrina epiteliale dell'intestino che è a contatto diretto con i nutrimenti. L'ingestione dei pasti in particolare quelli ricchi di carboidrati e grassi stimolano la secrezione di GLP-1, in realtà la stimolazione di GLP-1 avviene per pasti misti o anche solo per singoli nutrimenti. Bisogna sottolineare che il glucosio orale e non endovenoso va a stimolare GLP-1.

L'insulina è un ormone che va ad inibire la secrezione di GLP-1 dalle cellule L intestinali in vitro e in vivo.

Le forme biologicamente attive sono GLP-1 (7-37) e GLP-1 (7-36), essi risultano equipotenti nella loro capacità di stimolare la secrezione di insulina. L'aggiunta di un gruppo amminico va ad aumentare la sopravvivenza del GLP-1 nel plasma GLP-1 (7-37)NH₂ e GLP-1 (7-36)NH₂. Negli esseri umani la maggior parte di GLP-1 in circolazione è GLP-1 (7-36)NH₂.

L'emivita di GLP-1 risulta di 2 minuti a causa dell'intervento della dipeptidil peptidasi-4 (DPP-4). Questo enzima è una serina proteasi che va a scindere in maniera specifica proteine che contengono un residuo di alanina o prolina in posizione 2, la scissione comporta l'annullamento dell'attività. Il GPL-1 inattivo sono nella forma GLP-1 (9-37)NH₂ e GLP-1 (9-36)NH₂. Il DPP-4 si trova in maniera molto diffusa in diversi tessuti ma anche sulla superficie delle cellule endoteliali, in particolare nei vasi sanguigni che sono adiacenti ai siti di secrezione di GLP-1.

La principale via di eliminazione del GLP-1 è attraverso il rene. L'emivita del GLP-1 è molto breve e anche l'emivita del suo metabolita è molto breve (circa 5 minuti) a causa della clearance renale.

Nei pazienti sani il GLP-1 attivo tende ad aumentare di 2-3 volte in seguito ad un pasto, mentre nei soggetti obesi e nei pazienti con diabete di tipo 2 i livelli postprandiali di GLP-1 risultano ridotti. Nel diabete di tipo 2 non si conosce la causa di questa diminuzione. ¹

4.2. RECETTORI GLP-1

Il recettore GLP-1 appartiene alla famiglia dei recettori GPCR classe B ed include anche i recettori GIP e del glucagone. Questi recettori hanno un'identità di sequenza del 90%. Hanno una lunghezza di 463 amminoacidi, e nell'uomo è stato identificato un unico recettore uguale in diversi tessuti tra cui cellule alpha, beta e delta delle isole pancreatiche, stomaco, intestino e in diverse regioni del SNC tra cui ipotalamo e tronco cerebrale. ¹

Il GLP-1R è un recettore accoppiato a proteine di classe B (GPCR) che viene espresso uguale per tutti, sulle isole pancreatiche e su altri organi. La sua struttura è formata da un multidominio costituito da un grande dominio extracellulare (ECD) amminotermine, che serve per legare la porzione C-terminale del peptide GLP-1. Poi c'è la presenza di un dominio transmembrana (TMD) che lega la porzione N-terminale del peptide.

ECD si estende lontano dal piano del doppio strato lipidico e si lega con la prima elica TMD. Il TMD presenta sette eliche transmembrana canoniche (TM1-TM7).

Le anse extracellulari che collegano i domini TM sono chiamate ECL (1,2 e 3) mentre le anse intracellulari vengono chiamate ICL (1,2 e 3).

Tutti gli anelli mancano di una struttura secondaria regolare tranne ECL1 che forma un breve giro d'elica. TM2 ed ECL1 si estendono ben al di fuori del piano della membrana e contattano ECD. ECL2 è ancorato con TM3 tramite un legame disolfuro conservato.¹¹ Figura 4.

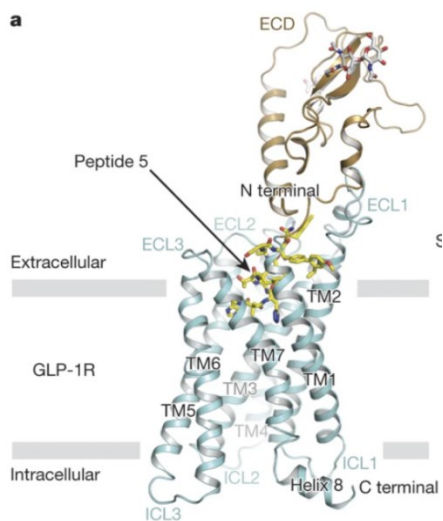


Figura 4: Rappresentazione del recettore di GLP-1R (TMD colorato ciano; ECD colorato marrone), visto parallelamente alla membrana che è indicata dai riquadri grigi.¹¹

4.3. FISILOGIA DEL GLP-1

Nel pancreas il GLP-1 va ad aumentare l'insulina ed inibire la secrezione di glucagone in modo glucosio-dipendente. Il GLP-1 è un ormone peptidico che permette di aumentare la sensibilità del glucosio alle cellule beta resistenti al glucosio, aumenta la sintesi di insulina, stimola la proliferazione e la neogenesi delle cellule beta e inibisce l'apoptosi delle cellule beta. I meccanismi con i quali GLP-1 va ad inibire la secrezione di glucagone sono controversi, perché a livello delle cellule alpha sarebbero espressi i recettori per GLP-1 però l'inibizione potrebbe essere mediata anche da un'azione indiretta.

La possibile alterazione di GLP-1 nei pazienti con diabete di tipo 2 rimane molto dibattuto, quello che si può affermare è che il GLP-1 mantiene comunque proprietà insulinotropiche nei pazienti con diabete di tipo 2 però con una potenza minore rispetto agli individui sani. La ridotta potenza a fronte della stessa quantità di GLP-1 può essere spiegata dalla ridotta sensibilità delle cellule beta al GLP-1. Andando a somministrare GLP-1 a dosi elevate in pazienti con T2DM con un clamp iperglicemico (ossia un innalzamento della glicemia) si osservano risposte insuliniche in fase tardiva uguali a quelle nei controlli sani sottoposti a clamp iperglicemico simile (senza somministrazione di GLP1-1).¹²

Gli agonisti del GLP-1R mostrano effetti potenti per quanto riguarda lo svuotamento gastrico. Questo ridotto svuotamento gastrico attenua gli aumenti di glucosio nel sangue associati ai pasti, perché va a rallentare il transito dei nutrienti dallo stomaco all'intestino tenue. Si va a contribuire così alla normalizzazione dei livelli di glucosio nel sangue nei pazienti con diabete di tipo 2. Questi agonisti del GLP-1R vanno a inibire lo svuotamento gastrico attraverso meccanismi complessi. Si può ipotizzare meccanismi diretti poiché i recettori sono espressi nello stomaco e nelle cellule parietali gastriche. Il GLP-1 o un agonista simile può attivare i neuroni nel SNC che sono accoppiati alla motilità gastrointestinale e all'inibizione dello svuotamento gastrico sottolineando l'importanza delle vie neuronali ascendenti. I dati sperimentali indicano che questo effetto inibitorio è mediato dal nervo vago e coinvolge recettori GLP-1 che sono situati nel SNC e/o sulle fibre afferenti vagali che trasmettono poi le informazioni sensoriali al tronco cerebrale.

A livello del sistema nervoso sono presenti recettori GLP-1 che regolano una vasta gamma di funzioni omeostatiche. Questi recettori si possono trovare nelle fibre nervose afferenti vagali addominali dove poi i rami centrali terminano a livello del tronco cerebrale. Poi dal tronco cerebrale le informazioni vengono mandate all'ipotalamo. La somministrazione periferica di agonisti GLP-1 va a ridurre l'assunzione di cibo e il peso corporeo negli esseri umani sani, obesi e diabetici. Il GLP-1 è una molecola piccola che può diffondere nella barriera ematoencefalica in modo da accedere direttamente nel SNC. In generale sui roditori che sia una somministrazione centrale o periferica di questi agonisti porta alla sazietà e alla perdita di peso corporeo.¹

GLP-1 agisce anche su altri tessuti per esempio sul muscolo. L'azione di GLP-1 sono diverse tra muscolo scheletrico, liscio e cardiaco.

Per quanto riguarda gli agonisti GLP-1 sul muscolo scheletrico hanno permesso di migliorare la sintesi del glicogeno, l'attività della glicogeno sintasi, il metabolismo del glucosio e ridotto l'attività della glicogeno fosforilasi nel tessuto umano. I recettori su cui agiscono GLP-1 o agonisti sono diversi dal recettore presente sulle cellule beta, infatti la segnalazione non seguiva il cAMP ma un'altra tipologia di secondo messaggero. Alcune linee di evidenza sostengono che l'attivazione del GLP-1R promuove il trasporto di glucosio nel muscolo scheletrico indipendentemente dall'insulina con la traslocazione di GLUT4 sulla membrana plasmatica. Per concludere il catabolismo del glucosio e la sintesi di glicogeno esercitato da GLP-1 è riconosciuto che servono ulteriori studi per chiarire il ruolo degli ormoni incretinici su questo tessuto.

La somministrazione cronica di analoghi GLP-1 sulla muscolatura liscia vascolare ha portato alla riduzione della pressione sanguigna. Le azioni a breve e lungo termine del

GLP-1 o suoi analoghi sulla muscolatura liscia vascolare non sono completamente compresi.

Nel fegato gli effetti di GLP-1 o suoi analoghi regolano diversi processi tra cui la gluconeogenesi epatica, la sintesi del glicogeno e la glicolisi. Le terapie a base di agonisti del GLP-1 aumentano sia il glicogeno che la glicogeno sintasi e inibiscono come l'insulina la glicogenolisi indotta dal glucagone negli epatociti. La presenza dei recettori GLP-1 nel fegato è controversa e indipendentemente da questo fatto alcune ricerche propongono che le funzioni di GLP-1 sul fegato siano il risultato di eventi indipendenti dal recettore. La liraglutide ha fornito prove del potenziale miglioramento dell'iperlipidemia, fibrosi e infiammazione epatica, inoltre ha ridotto il grasso epatico nei pazienti con DMT2.

La terapia con analoghi di GLP-1 promuovono la perdita di peso attraverso la sazietà. Ci sono degli studi in cui si ipotizza che questi agonisti siano dei regolatori dell'adipogenesi. Queste terapie con GLP-1 possono influenzare lo sviluppo degli adipociti (regolando l'apoptosi o proliferazione dei preadipociti attraverso varie cascate di segnalazione cellulare), l'accelerazione della clearance plasmatica del glucosio e degli acidi grassi e possono stimolare la termogenesi nel tessuto adiposo bruno. Saranno comunque necessari studi più approfonditi per approfondire le azioni dirette degli agonisti GLP-1 nel metabolismo dei lipidi.¹³

4.4. SEGNALAZIONE GLP-1 NELLA CELLULA BETA UMANA

Quando il glucosio aumenta nel sangue per stimolare la secrezione di insulina viene attivato GLP-1R nelle cellule pancreatiche. Questo recettore permette il reclutamento e l'attivazione della proteina Gas che attraverso l'adenilato ciclasi porta alla produzione di cAMP, ci sarà innalzamento di Ca²⁺ e fosforilazione di ERK1/2. L'aumento di cAMP porta all'attivazione della proteina chinasi A (PKA) e allo scambio di proteine attivate direttamente da cAMP (EPAC). Ed è direttamente coinvolta nell'aumento della trascrizione del gene della proinsulina e poi nella sua secrezione.

PKA ed EPAC2 vanno a fosforilare le subunità del canale K atp-dipendente sulla subunità SUR1 che chiude questi canali nella membrana. Questo porta a una reazione a catena perché la depolarizzazione fa aprire i canali Ca²⁺ che permettono la secrezione di insulina. In aggiunta PKA porta all'attivazione di CREB (fattore di trascrizione cellulare) che porta tramite l'espressione di IRS2 alla proliferazione delle cellule beta. Sempre CREB porta ad una inibizione del bax pro-apoptotico e promuove le funzioni delle cellule beta.

Sempre GLP-1 aumenta l'espressione del trasportatore GLUT 2 portando ad un aumento dell'ingresso del glucosio intracellulare.

L'attivazione del recettore GLP-1R tramite vie differenti dalla proteina G porta all'attivazione del recettore tirosin-chinasico EGFR. Questo provoca attivazione di PI3K che va ad attivare AKT/PK, esso tramite fosforilazione attiva un fattore di trascrizione nucleare FoXO1 che permette effetti anti-apoptotici.

Una volta che il recettore GLP-1R si è attivato grazie a GLP-1, c'è una fosforilazione di una delle eliche transmembrana che va a reclutare beta arrestina 1.⁵ L'attivazione del recettore comporta l'associazione beta-arrestina 1 con ERK1/2 che viene fosforilato e permette la proliferazione delle cellule beta e l'inattivazione di BAD un promotore di morte.¹⁴ Però la beta-arrestina quando si lega al recettore contribuisce alla desensibilizzazione e all'internalizzazione del recettore.⁵ Figura 5.

GLP-1 receptor activation in the beta cell

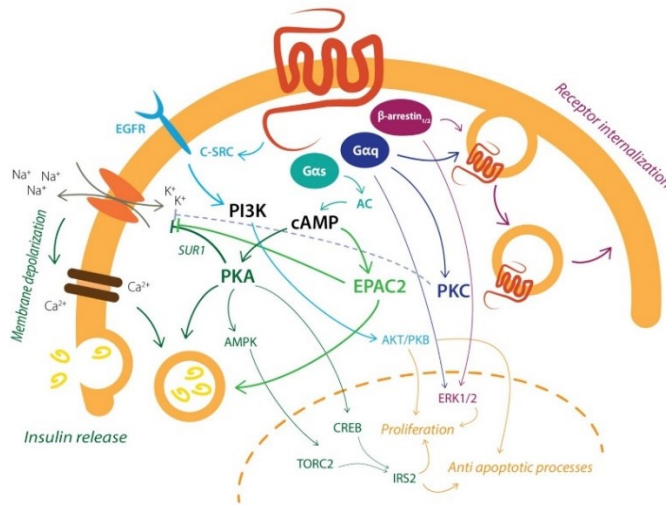


Figura 5: panoramica dell'attivazione del recettore del peptide simile al glucagone (GLP-1) nelle cellule beta Mayendraraj et al, 2022.⁵

5. GIP

5.1. NOZIONI GENERALI

In seguito all'ingestione di cibo in particolare di grasso alimentare viene prodotto il GIP nelle cellule K intestinali dell'intestino tenue prossimale (duodeno e digiuno). Nel sistema nervoso centrale (SNC) dei roditori, nella cellula alpha del pancreas nei roditori e nell'uomo sono stati ritrovati trascrizioni di GIP. La forma attiva di GIP nelle maggior parte delle cellule K è un peptide di 42 amminoacidi (GIP1-42). Questo peptide di 42 amminoacidi deriva da un precursore del propro-ormone chiamato (pro-GIP) formato da 153 amminoacidi. Nelle cellule enteroendocrine si trovano preferenzialmente le convertasi pro-ormone 1/3 (PC1/3), che formano il peptide GIP maturo di 42 amminoacidi (GIP1-42). In alcune cellule K e cellula alpha pancreatiche interviene il pro-ormone convertasi 2 (PC2) che elabora il proGIP andando a troncare la regione C terminale in 30, con la formazione del GIP 1-30. Il GIP 1-30 nei topi esercita un effetto insulinotropico uguale a quello della GIP a lunghezza intera nei topi. ¹⁵ Figura 6.

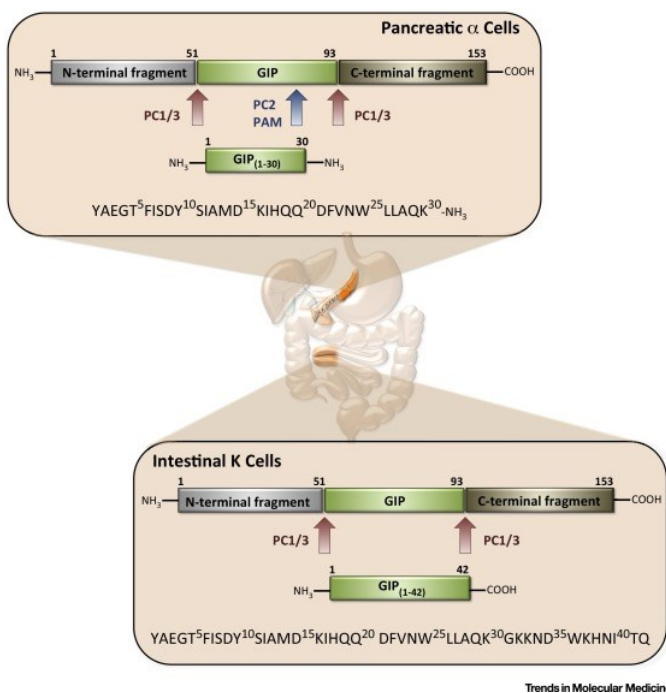


Figura 6: Elaborazione tissutale differenziale di proGIP. Nelle cellule K intestinali, GIP è secreto come GIP. I 51 residui N-terminali e i 60 residui C-terminali del proGIP da 153 amminoacidi vengono scissi da PC1/3 per formare il peptide GIP maturo da 42. Nelle cellule α del pancreas, l'elaborazione iniziale di proGIP è simile a quella delle cellule enteroendocrine; tuttavia, l'elaborazione aggiuntiva da parte di PC2 e la successiva amidazione del terminale C da parte di PAM si traduce in un GIP troncato dal terminale C (1-30). Abbreviazioni: GIP, polipeptide insulinotropico glucosio-dipendente o peptide

inibitorio gastrico; PC1/3, pro-ormone convertasi 1/3; PAM, monoossigenasi peptidil-glicina α -ammidante; proGIP.¹⁵

La sequenza GIP che si va a trovare nel topo, ratto, suino, bovino e uomo è ben conservata si parla di una identità di sequenza di amminoacidi superiore al 90%.

Bisogna evidenziare che il GIP viene prodotto non tanto per la semplice presenza di nutrienti nell'intestino ma piuttosto per il tasso di assorbimento dei nutrienti stessi. Si ricordano che nel maiale e nel roditore i carboidrati sono il nutrimento più efficace affinché venga rilasciato GIP, mentre il grasso stimola maggiormente la produzione di GIP nell'uomo.

Il GIP attivo risulta essere di circa 5 e 7 minuti rispettivamente nei pazienti con diabete di tipo 2 e nei soggetti sani. Il DPP-4 è il principale enzima responsabile dell'inattivazione della GIP in vivo sia nei roditori che nell'uomo. L'enzima DPP-4 scinde il GIP (1-42) nel metabolita non attivo GIP (3-42).

Nell'uomo i livelli basali di GIP circolanti dopo un pasto aumentano di 0,2-0,5 nmol/L rispetto ai livelli basali circolanti che sono in un range tra 0,06 e 0,1 nmol/L. Ricordando che i livelli di GIP sono normali o leggermente aumentati nei pazienti con T2DM.

Un'infusione endovenosa di ormoni incretici rileva un 40% di GIP che rimane intatto e bioattivo rispetto ad un 20% del GLP-1, questo indica che GIP potrebbe essere meno suscettibile all'enzima DPP-4 in vivo e riflette in un'emivita più lunga.

La via principale di eliminazione del GIP è il rene. I livelli di GIP risultano essere aumentati nei pazienti uremici o negli individui con insufficienza renale cronica. Sia nei pazienti obesi che con il diabete di tipo 2 che negli individui sani i tassi di eliminazione della GIP e del suo metabolita sono simili.¹

Il recettore GIPR è espresso su diversi organi: pancreas, nello stomaco, nell'intestino tenue, nel tessuto adiposo, nella corteccia surrenalica, nell'ipofisi, nel cuore, nel testicolo, nelle cellule endoteliali, nelle ossa, nella trachea, nella milza, nel timo, nei polmoni, nei reni, nella tiroide e in diverse regioni del SNC. Il recettore GIPR è un membro della famiglia dei recettori accoppiati alle proteine G eterotrimeriche a 7 eliche transmembrana.

Negli animali diabetici e negli esseri umani vi è un'azione difettosa di GIP, infatti i livelli di mRNA e proteine GIPR sono ridotte nelle isole dei ratti diabetici. L'attivazione dei recettori GIPR è associata all'aumento dei livelli di cAMP e Ca²⁺ intracellulare. Per ottenere un legame GIP ad alta affinità il dominio N-terminale e il primo anello extracellulare del GIPR sono essenziali, questi sono stati rilevati tramite studi in vitro struttura/funzione. È necessaria una lunghezza minima del recettore di circa 405 amminoacidi per un trasporto efficiente e l'inserimento nella membrana plasmatica anche se la coda C-terminale sembrerebbe essere superflua per la segnalazione cellulare.¹

La produzione di insulina e di GLP-1 aumentano in seguito alla stimolazione della interleuchina-6, che aumenta in seguito all'attivazione di GIPR nel topo nella cellula ALPHA del pancreas. A basse concentrazioni di glucosio è stato ipotizzato un'attivazione

GIPR nelle cellule ALPHA che aumenta la secrezione di glucagone. Per tale motivo infatti c'è la possibilità di prevenire forme di ipoglicemia pericolose per la vita, poiché sull'uomo è stato dimostrato gli effetti glucagonotropici di GIP che sono più evidenti però soltanto durante l'ipoglicemia. Il GIP viene definito come "gluco-stat" bifunzionale dove in base alla contrazione glicemica ci saranno effetti glucagonotropici in caso di ipoglicemia oppure ci saranno azioni insulinotropiche in caso di iperglicemia; ossia supportano i principali ormoni pancreatici coinvolti nella regolazione del glucosio nel ridurre gli attacchi di concentrazioni estreme di glucosio.¹⁵

Le cellule α e β del pancreas di ratto dipendono in modo critico dai segnali ormonali che generano AMP ciclico (cAMP) come messaggero sinergico per il rilascio di ormoni indotto dai nutrienti. È stato confermato che i recettori GLP-I erano espressi nelle cellule β e non nelle cellule α . Nelle cellule α purificate, 1 nmol/l GLP-I non è riuscito ad aumentare i livelli di cAMP, mentre da 10 pmol/l a 10 nmol/l GIP hanno esercitato effetti stimolatori simili a quelli delle cellule β . In conclusione, questi dati mostrano che la stimolazione dei recettori del glucagone, GLP-I e GIP nelle cellule β di ratto provoca la produzione di cAMP necessaria per il rilascio di insulina, mentre l'adenilato ciclasi nelle cellule α è regolata positivamente dalla GIP.¹⁶

5.2. RECETTORI GIP

Il GIPR appartiene alla superfamiglia dei recettori accoppiati a proteine G (GPCR) e, più specificamente, alla famiglia dei recettori di classe B1. Ciò significa che, in termini di struttura, il recettore ha un dominio transmembrana (TMD) costituito da sette α -eliche transmembrana (elica I-VII), una singola α -elica intracellulare (elica VIII) e una grande e ben strutturata extra -dominio N-terminale cellulare (ECD). Questa famiglia di recettori riconosce una serie di ligandi notevolmente omogenei, cioè peptidi di > 27 residui amminoacidici e di natura prevalentemente α -elicoidale. L'esatto meccanismo di attivazione dei GPCR di classe B1, incluso il GIPR, è in gran parte sconosciuto. Vi è un modello che suggerisce che il ligando peptidico si diffonde attraverso il fluido interstiziale, l'ECD (dominio extracellulare) del recettore riconosce e cattura la parte centrale o C-terminale del ligando. Una volta che succede questo la parte N-terminale del peptide si aggancia al TMD (dominio transebrana) come risultato c'è una destabilizzazione dell'elica VI con cambio di conformazione in modo da creare uno spazio intercellulare del recettore per il legame con i complessi proteici (ossia avviene una attivazione del recettore attraverso una segnalazione dalla proteina G). Però mancano ancora prove dell'esatta trasformazione da attivo a inattivo. Figura 7.

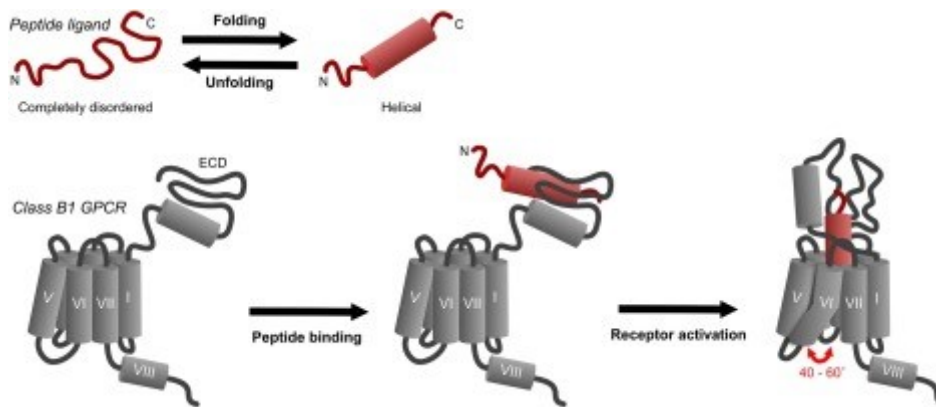


Figura 7: Il modello generale di legame e attivazione in due fasi dei GPCR di classe B1. Il ligando peptidico è in equilibrio tra essere disordinato e α -elicoidale. Il legame del ligando al recettore viene avviato quando l'ECD del recettore lega la parte C-terminale del ligando peptidico dopo di che l'N-terminale del ligando viene agganciato al TMD. Questo attiva il recettore e media la segnalazione dipendente dalla proteina G. GPCR: recettore accoppiato a proteine G, ECD: dominio extracellulare, TMD: dominio transmembrana.¹⁷

È da ricordare che GIP e GLP-1 segnalano attraverso recettori che sono strutturalmente e funzionalmente correlati, l'azione delle cellule GIPR e GLP1R BETA hanno divergenti vie di segnalazione. Si ricorda che le azioni insulinotropiche del recettore GIPR sono dipendenti dal glucosio. Attraverso un sinergismo tra secondi messaggeri innescati dalla stimolazione GIPR diretta, modulazione sensibile al glucosio dei canali K⁺ (K_{atp}) sensibili all'ATP e Ca²⁺ voltaggio-dipendenti portano ad una attivazione del GIPR che induce una risposta insulinotropica.

Il GIPR fa parte della famiglia dei recettori GPCR però differisce da questi per quanto riguarda il meccanismo di desensibilizzazione del recettore che viene indotta da agonisti. Il GIPR (nella versione murinica) non si comporta tipicamente come un GPCR, di solito i GPCR si trovano sulla superficie cellulare e vengono interiorizzati solo dopo che sono stati attivati dal ligando. Il GIPR viene interiorizzato indipendentemente dall'attivazione del ligando, il GIP fa attivare il recettore e rallenta il riciclo di GIPR sulla superficie cellulare. Si ottiene maggiore espressione dei GIPR sulla superficie cellulare da un serbatoio recettoriale intracellulare rimuovendo lo stimolo di GIP. Da ricordare che i livelli di glucosio prevalenti e altri ormoni come l'insulina possono rientrare nella regolazione e svolgere un ruolo nella reattività del GIP, nonostante i meccanismi responsabili di tale dinamica dei recettori non si conoscono. Il comportamento del recettore potrebbe risentire anche di altri recettori (tipo GLP-1R) per regolare l'attività del rispettivo recettore.¹⁵

5.3. SEGNALAZIONE DEL RECETTORE GIP NELLE CELLULE BETA UMANE

In seguito all'ingestione di nutrienti vi è la stimolazione di insulina, GIP si va a legare con GIPR sulle cellule beta. Viene stimolata l'adenilato ciclasi che stimola la produzione di cAMP che attiva la PKA ed EPAC2. PKA e cAMP attivano una serie di proteine tra cui le cascate della protein chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) e i fosforilati ERK1/2 che vanno a regolare i geni coinvolti nei processi proliferativi e antiapoptotici. L'attivazione GIPR di PKA porta alla secrezione di insulina con gli stessi meccanismi descritti per il GLP-1.⁵

L'attivazione della PKA provoca la fosforilazione della subunità SUR1, chiudendo così i canali dell'Katp e facilitando la depolarizzazione della membrana. Il prolungamento del potenziale d'azione è indotto anche dall'inibizione del canale K⁺ (Kv) attraverso sempre la PKA insieme alla fosfoinositide 3-chinasi (PI-3K). I canali del Ca²⁺ (voltage dipendente VDCC) vengono aperti in seguito alla depolarizzazione con ingresso di Ca²⁺. L'aumento di Ca²⁺ alla fine porta alla secrezione di insulina dalle cellule beta. Il calcio che si trova nei depositi intracellulari porta anche alla sintesi dell'ATP nei mitocondri con ulteriore depolarizzazione delle membrana mediante chiusura del canale Katp. Invece EPAC2 quando viene attivato aumenta la densità dei granuli che contengono insulina in prossimità della membrana plasmatica. Questo permette una migliore secrezione di insulina dalle cellule.¹⁸ Figura 8.

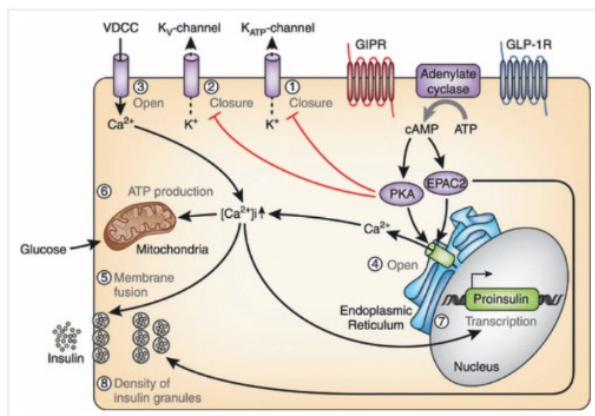


Figura 8: meccanismi molecolari alla base degli effetti insulinotropici del polipeptide insulinotropico glucosio dipendente (GIP) e del peptide simile al glucagone (GLP-1).¹⁸

La PKA inibisce AMPK che si traduce in un'importazione nucleare di TORC2. CREB e TORC2 formano un complesso che promuove la trascrizione del gene anti-apoptotico bcl2. L'attivazione di Akt/PKB/PI3K promuovono la fosforilazione del fattore di trascrizione nucleare Foxo1 che inattiva bax e altri fattori correlati all'apoptosi. Questi meccanismi aumentano la sopravvivenza della cellula beta. Una differenza di GIPR con GLP-1R è che GLP-1R attiva EGFR portando a proliferazione e anti-apoptosi, cosa che non succede nel GIPR.

Quando GIP si lega al recettore, avvengono dei cambiamenti nel recettore che porta al reclutamento di beta arrestine 1 e 2. Le beta arrestine sono responsabili della

desensibilizzazione e internalizzazione del recettore. Nel GLP-1R un'altra differenza è l'internalizzazione che è sia dipendente dalla beta arrestina che indipendente. Figura 9 ⁵

GIP receptor activation in the beta cell

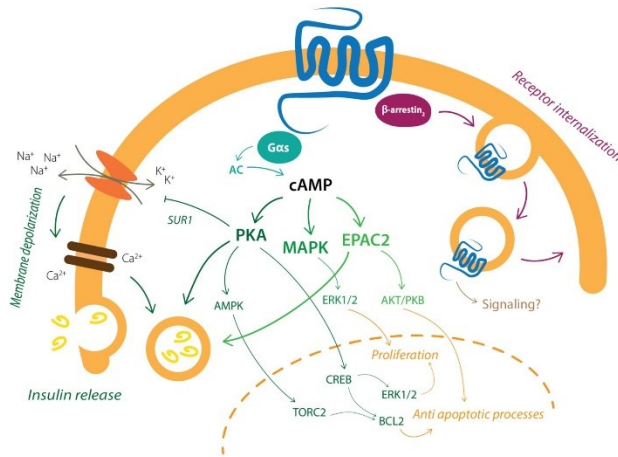


Figura 9: attivazione del recettore del polipeptide insulinotropico (GIP) dipendente dal glucosio nella cellula beta.⁵

5.4. FISILOGIA DEL GIP

Nelle cellule BETA del pancreas le azioni di GIP sono analoghe a quelle della GLP-1, però a livello dei tessuti extrapancreatici il GIP mostra azioni fisiologiche uniche.

Nel pancreas il GIP svolge la funzione di un ormone incretinico, va a legarsi sulle cellule BETA del pancreas in seguito all'assunzione di alimenti e migliora la secrezione di insulina dipendente dal glucosio. Attraverso aumenti di cAMP, inibizione dei canali K(atp) e aumenti di Ca²⁺ intracellulari c'è la stimolazione dell'esocitosi di insulina che sono meccanismi simili a quelli di GLP-1. Il ruolo fondamentale che esercita GIP è stato verificato attraverso l'interruzione dell'azione di GIP in vivo, attraverso l'utilizzo di antagonisti del peptide GIPR che è stata associata nei roditori a una ridotta tolleranza al glucosio orale e una difettosa secrezione di insulina stimolata dal glucosio.

L'infusione di GIP in ratti diabetici per 2 settimane riducono significativamente l'apoptosi delle cellule BETA mediante l'attivazione di PI-3K/Akt-PKB e la successiva fosforilazione ed esclusione nucleare di FoxO1, in questo modo porta ad un up-regulation del gene anti-apoptotico bcl-2 e una diminuzione dell'espressione del gene pro apoptotico bax.

Nel tessuto adiposo i GIPR funzionali sono espressi su adipociti di ratto isolati e GIP è implicato nello sviluppo dell'obesità e nel controllo del metabolismo lipidico. I livelli plasmatici di GIP sono aumentati in alcuni individui obesi, e l'ingestione di grasso è un potente stimolatore della secrezione di GIP. La stimolazione della sintesi e riesterificazione degli acidi grassi, il miglioramento dell'incorporazione degli acidi grassi stimolata dall'insulina nei trigliceridi, la sovraregolazione della sintesi della lipoproteina

lipasi e la riduzione della lipolisi stimolata dal glucagone sono tutti effetti anabolici della GIP nel grasso. Il GIPR è associato sempre a miglior tolleranza al glucosio e ad una maggiore secrezione di insulina nei modelli animali di diabete.¹

Gli ultimi studi hanno suggerito che il GIP può promuovere la perdita di peso attraverso un'azione che è benefica per la fisiologia del tessuto adiposo. Andando a promuovere l'inibizione dell'enzima DDP-4 aumentano i livelli circolanti di GIP, e la somministrazione cronica di questi inibitori dell'enzima DDP-4 migliorano il controllo glicemico e la sensibilità all'insulina, in particolare non è associato all'aumento di peso tra le specie e nell'uomo. La sovraespressione di GIP migliora la sensibilità all'insulina, la tolleranza al glucosio e la funzione delle cellule beta nei topi. Nello studio è stata dimostrata una protezione dall'obesità indotta da una dieta ricca di grassi, c'è stata una ridotta assunzione di cibo che ha permesso una perdita di peso collegato ad una maggiore espressione del gene GIP nel nucleo ventromediale dell'ipotalamo (VMH). Questo dimostra che l'esposizione prolungata di GIP è positiva perché va a migliorare l'iperglicemia senza impartire resistenza alla GIP. Quindi può essere utile per il controllo dell'adiposità la promozione farmacologica del sistema GIP del SNC.¹⁵

Il potenziale di GIP a livello dell'azione centrale rimane in sospeso. L'azione di GIP a livello del SNC può fornire ulteriori benefici metabolici poiché riduce il consumo di energia in particolare in combinazione con GLP-1. Il GIPR si trova molto espresso a livello del SNC, nelle aree coinvolte nella regolazione del bilancio energetico. Infatti il GIPR si trova molto espresso nell'ipotalamo nell'uomo e nei topi adulti.

La gestione dell'omeostasi energetica viene regolata dai nuclei discreti che compongono l'ipotalamo, infatti l'ipotalamo viene chiamato il "centro di comando" per la regolazione del bilancio energetico. Nei nuclei discreti ritroviamo nucleo arcuato ARC, il nucleo paraventricolare, il nucleo dorsomediale, il nucleo ventromediale e l'ipotalamo laterale. Il ARC consente il rilevamento diretto di segnali energetici a breve termine (es glucosio) e a lungo termine (es insulina). Nell'ARC c'è il controllo della spesa energetica e nell'assunzione, perché risiedono neuropeptidi anoressizzanti. Un altro importante elemento per regolare il controllo dell'assunzione del cibo dove risiedono i segnali di sazietà a breve termine si ritrovano nel tronco cerebrale. Nel tronco vengono monitorate le quantità alimentari e ormonali (rilevano peptidi intestinali) e queste informazioni vengono mandate all'ipotalamo ossia nei centri cerebrali superiori per ridurre l'assunzione di cibo.

Riprendendo i recettori GIPR, gli agonisti di tale recettore possono portare ad una perdita di peso. Grazie alla somministrazione di GIP a concentrazioni elevate, ci sarà una riduzione dell'obesità nei topi (obesità indotta dalla dieta) transgenici. L'effetto di ridotto apporto calorico avviene attraverso una migliore sensibilità dell'insulina. GIPR si trova espresso da cellule prive di GLP-1R ma in cellule anche dove si trova GLP1-R all'interno dell'ippocampo, questa scoperta ha fatto ipotizzare il ruolo del sinergismo GIP/GLP-1. Invece nell'inibizione dell'assunzione di cibo altri studi affermano che i neuroni incretinici GIP e GLP-1 vanno ad attivare neuroni distinti, però sempre nell'ottica che GIP possa

migliorare la funzione di GLP-1 nell'ipotalamo mediobasale ossia che possa accedere alle popolazioni neuronali anoressizzanti.

Importante da evidenziare è l'attenuazione delle risposte emetiche attraverso l'agonismo GIPR, infatti si registrano casi di nausea in seguito a terapie a base di agonisti GLP-1. Quindi l'utilizzo di GIP o suoi agonisti induce un aumento dell'indice terapeutico nel trattamento di agonisti GLP-1. Quindi GIP dalle prove attuali aumenta l'efficacia delle terapie degli agonisti GLP-1 migliorando l'azione anoressica e riducendo la nausea, inoltre esso stesso ha un potenziale per guidare la perdita di peso puntando al recettore sul SNC.¹⁹

I recettori GIPR si ritrovano espressi anche sugli adipociti. L'ingestione di grasso permette la stimolazione della produzione di GIP dalle cellule K intestinali. L'obesità umana è associata all'ipersecrezione di GIP, perché il ruolo fisiologico della GIP è quello di potenziare la secrezione di insulina che a sua volta può aumentare la deposizione di grasso.¹⁵

Gli effetti anabolici della GIP nel grasso includono: stimolazione della sintesi e riesterificazione degli acidi grassi, il miglioramento dell'incorporazione degli acidi grassi stimolata dall'insulina nei trigliceridi, una sovraregolazione della sintesi della lipoproteina lipasi e la riduzione della lipolisi stimolata da glucagone.¹

Una volta che arrivano i grassi dalla dieta vengono emulsionati dai sali biliari, essi permettono di trasformare i triacilgliceroli da particelle insolubili a micelle finemente disperse. La formazione di queste micelle aumentano la suscettibilità all'azione di lipasi solubili che degradano i triacilgliceroli. I prodotti dell'azione delle lipasi diffondono nella mucosa intestinale (ossia attraversano le cellule epiteliali che rivestono la superficie dell'intestino). I prodotti della degradazione dei triacilgliceroli a questo punto vengono trasformati in chilomicroni, ossia aggregati lipoproteici, perché i prodotti vengono riconvertiti in triacilgliceroli che si uniscono a colesterolo che deriva dalla dieta insieme a specifiche proteine. I chilomicroni sono formati per un 80% di triacilgliceroli che si trovano all'interno della massa. All'esterno vi è la presenza di alcune proteine fondamentali chiamate apolipoproteine (ex C-II) che permettono la captazione di questi chilomicroni. Le apoproteine servono per il trasporto nei diversi organi e il termine apo indica la presenza di sole proteine senza la presenza di lipidi. Successivamente le apoproteine si combinano con dei lipidi per formare le lipoproteine. Le lipoproteine sono aggregati sferici dove in profondità nel nucleo ci saranno i lipidi idrofobici e all'esterno sulla superficie ci saranno le teste polari dei lipidi e le catene laterali idrofiliche delle proteine. In base alla combinazione di proteine e lipidi porteranno alla produzione di particelle a diverse densità, a elevata densità (VHDL) o bassa densità (VLDL). I chilomicroni si spostano dalla mucosa intestinale al sistema linfatico, in seguito entrano nel sangue però devono avere come apoproteina superficiale C-II. Nei capillari infatti di questi tessuti è presente l'enzima lipoproteina lipasi che viene attivata dalla apoproteina C-II. I chilomicroni vengono idrolizzati da questo enzima in acidi grassi e glicerolo ed entrano nelle cellule del tessuto bersaglio. Nel tessuto adiposo gli acidi grassi saranno riesterificati a triacilgliceroli e verranno conservati. Il resto delle apoproteine con i prodotti di scarto (ex colesterolo) si sposta nel fegato che attraverso un fenomeno di endocitosi internalizza questi prodotti e ne ricava energia tramite l'ossidazione. Nel caso si aumenti nella dieta la percentuale di

acidi grassi che si va ad introdurre, il fegato trasforma questi acidi grassi in triacilgliceroli e vengono associati a delle apoproteine di cui i prodotti si chiameranno VLDL. Vengono trasportate attraverso il sangue fino al tessuto adiposo e vengono conservate sotto forma di gocce lipidiche.⁸

Il tessuto adiposo bianco (WAT) è caratterizzato da una popolazione eterogenea di cellule: adipociti, preadipociti, cellule immunitarie, cellule endoteliali, e fibroblasti che insieme funzionano per permettere una sana espansione del tessuto in seguito ad un eccesso calorico introdotto. Gli adipociti svolgono un ruolo chiave nel mantenimento dell'equilibrio energetico e della sensibilità all'insulina, essi sono il tipo cellulare primario nel WAT. Essi svolgono l'azione di accumulo e scomposizione dei lipidi e della secrezione ormonale. I più grandi siti di WAT negli esseri umani adulti sono i depositi "malsani" di WAT viscerali e depositi di WAT sottocutanei "sani".

Il WAT "sano" sottocutaneo si trova sotto la pelle e rappresenta la maggior parte dell'accumulo di trigliceridi. Il WAT "malsano" viscerale è un fattore di rischio per lo sviluppo di malattie metaboliche e si trova all'interno della parete addominale. Il ruolo principale del WAT è quello di fare da tampone per i lipidi circolanti. Durante lo stato di digiuno i trigliceridi che sono stati immagazzinati vengono scomposti dalle lipasi e vengono rilasciati nella circolazione come acidi grassi liberi e vengono utilizzati come fonte di energia. Invece durante il periodo postprandiale il WAT assorbe e immagazzina i lipidi alimentari attraverso la lipoproteina lipasi attivata dall'insulina (LPL). Questa lipasi che si trova sull'endotelio del WAT nei capillari.

Il WAT riesce ad accogliere l'energia in eccesso mantenendo la funzionalità attraverso la sua capacità di rimodellare ed espandere il tessuto. L'ipertrofia (aumento delle dimensioni delle cellule) e l'iperplasia (aumento del numero di cellule) degli adipociti permettono l'espansione del WAT.

L'indicazione sullo stato di salute metabolica del WAT è la sua flessibilità, ossia la capacità di passare dalla consegna dell'energia all'immagazzinamento.

La capacità di espansione del WAT diventa limitante quando il bilancio energetico resta positivo per un tempo prolungato e nell'obesità. Gli adipociti stressati diventano ipossici e le cellule immunitarie pro-infiammatorie di infiltrano nel tessuto provocando infiammazione con la morte degli adipociti, questo contesto si ottiene quando la capacità del WAT viene superata. Se il WAT non può più internalizzare lipidi alimentari essi si sposteranno e verranno assorbiti da fegato, muscoli scheletrici e pancreas. Nel caso in cui non venisse corretto questo porta allo sviluppo di T2DM perché causerebbe una lipotossicità e promuoverebbe l'insulinoresistenza.¹⁹

Un ruolo fondamentale che può rivestire GIP è quello di promuovere la conservazione dei lipidi, poiché il GIP si trova espresso sul WAT a differenza del GLP-1R. Il miglioramento della conservazione a lungo termine dei lipidi insieme alla capacità degli adipociti di eliminare in maniera acuta i trigliceridi alimentari (TAG), è stata ipotizzata dall'agonismo GIPR. L'accumulo di grasso ectopico in tessuti come fegato, muscolo scheletrico, cuore e pancreas e l'immagazzinamento di calorie è indotto dall'espansione del WAT.

Il WAT come ruolo fisiologico primario ha quello di fungere da tampone quotidiano dei lipidi circolanti, nel caso del T2DM la capacità di tamponamento dei lipidi del WAT diventa disregolata (ridotto rilascio di FFA (acidi grassi liberi), ridotta perfusione del tessuto adiposo e ridotto reclutamento della proteina lipasi).

Nei roditori GIP può stimolare l'insulina e favorire insieme all'insulina la sintesi di acidi grassi in WAT. Nei cani GIP stimola la lipoproteina lipasi del tessuto adiposo e quindi accelera la rimozione dei trigliceridi chilomicronici dalla circolazione.¹⁹

Il GIP, nell'uomo in uno stato postprandiale indotto sperimentalmente, aumenta il flusso sanguigno di WAT, riduce gli FFA e stimola la conservazione dei TAG in WAT e l'assorbimento di glucosio. La scoperta fondamentale nello studio è stata che quindi nelle condizioni di iperinsulinemia e iperglicemia c'è stato un aumento nel tessuto adiposo sottocutaneo anteriore di TAG. Invece in condizioni di digiuno, il metabolismo lipidico del tessuto adiposo non è stato influenzato. L'aumento del flusso ematico nel tessuto adiposo sottocutaneo è molto importante. L'aumento di flusso nel tessuto adiposo in una situazione che mima lo stato postprandiale è fondamentale nella regolazione del metabolismo lipidico facilitando il trasporto e la deposizione dei lipidi nel tessuto adiposo. L'insulina sembra non influenzare questo aumento di flusso ematico direttamente, però l'insulina può stimolare indirettamente l'aumento ematico nel tessuto adiposo. Infatti si era notato che in seguito all'assunzione di glucosio orale questo flusso ematico era notevolmente aumentato rispetto alle infusioni venose.²⁰

La conservazione dei TAG in WAT e la riduzione degli FFA circolanti nei pazienti T2DM possono essere indotte dall'infusione di GIP. Anche se l'effetto lipogenico della GIP (sul flusso sanguigno WAT e sulla deposizione di TAG) è più moderato nel T2DM, questo può essere motivato dalla ridotta espressione di GIPR sul WAT. La perdita di peso, va a salvare la conservazione dei TAG e l'aumento della perfusione di WAT indotta da GIP.¹⁹

Nei soggetti obesi il polipeptide insulinotropico glucosio-dipendente (GIP) sembra avere un effetto alterato sul metabolismo del tessuto addominale sottocutaneo. Nello studio si è cercato di esaminare la perdita di peso potesse invertire l'effetto alterato della GIP sul tessuto adiposo addominale sottocutaneo nei soggetti obesi. I pazienti erano stati trattati con un programma che prevedeva la perdita di peso per 12 settimane e successivamente era seguita da una dieta di mantenimento del peso di 4 settimane. In seguito alla perdita di peso la tolleranza al glucosio e la sensibilità dell'insulina erano migliorate significativamente. Si era osservato una tendenza nell'aumento del flusso sanguigno del tessuto adiposo in seguito alla perdita di peso. C'è stato un ridotto rapporto FFA/glicerolo e un aumentato assorbimento di glucosio in seguito alla perdita di peso. Il risultato è stato un miglioramento nell'effetto attenuato del GIP sul metabolismo del tessuto adiposo addominale sottocutaneo nei soggetti obesi in seguito ad una restrizione calorica che ha portato ad una perdita di peso. La concentrazione di insulina dopo la perdita di peso era significativamente inferiore rispetto a prima della perdita di peso. Ciò dimostra che la perdita di peso ha reso il tessuto adiposo addominale sottocutaneo più insulino-sensibile rispetto al metabolismo dei carboidrati e dei lipidi, il che è in accordo con l'aumento della riesterificazione degli FFA. Esiste un legame tra GIP e sensibilità all'insulina nel tessuto adiposo sottocutaneo in linea con i risultati di diversi studi recenti. Un altro studio ha indicato che l'espressione di GIPR nel tessuto adiposo sottocutaneo è inversamente

associato al BMI (indice di massa corporea). Uno studio recente ha dimostrato un asse di segnalazione GIP/GIPR difettoso nel tessuto adiposo in soggetti obesi. Questo difetto era caratterizzato da una ridotta espressione di GIPR nel tessuto adiposo sottocutaneo, mostrando una relazione inversa con la resistenza all'insulina. Questi dati suggeriscono che i bassi livelli di GIPR rilevati nei soggetti obesi potrebbero essere direttamente associati alla perdita di sensibilità all'insulina associata all'aumento di peso.²¹

Il GIP rilasciato dall'assunzione di cibo favorisce la conservazione dei TAG, andando ad attivare direttamente il GIPR sugli adipociti e attraverso l'azione dell'insulina indirettamente. Il GIPR si trova espresso sia nella zone viscerali che sottocutanee del WAT. Vi è un aumento dell'attività LPL attraverso l'azione del GIP in assenza di insulina, inoltre il GIP è un sensibilizzatore dell'insulina sugli adipociti. Il GIP andando a sensibilizzare l'insulina negli adipociti, permette tramite la traslocazione del trasportatore del glucosio di tipo 4 (GLUT4) e l'idrolisi dei chilomicroni TAG attraverso l'attività LPL di aumentare l'assorbimento del glucosio. GIP migliora l'accumulo di energia e la differenziazione degli adipociti. Alla fine per garantire la capacità di tamponamento dei lipidi del WAT tutte le osservazioni riportate supportano un potenziale agonismo per GIPR.

Il miglioramento della sensibilità dell'insulina in tutto il corpo e la riduzione della dell'accumulo dei lipidi epatici sono indotti dall'impegno continuativo di GIP in modelli di insulino-resistenza. Questi effetti sono associati a una migliore salute del WAT, indicata da una ridotta infiltrazione di cellule immunitarie proinfiammatorie/secrezione di citochine, dal rilascio di adipochine insulino-sensibilizzanti e da una maggiore capacità di stoccaggio dei lipidi degli adipociti. L'azione farmacologica GIP sugli adipociti induce i benefici sulla funzione WAT e sulla sensibilità dell'insulina.¹⁹

6. TIRZEPATIDE

La tirzepatide è un doppio agonista del recettore del peptide-1 simile al glucagone (GLP-1R) e del recettore polipeptidico insulinotropico glucosio-dipendente (GIPR), essi regolano il metabolismo dei carboidrati perché sono recettori delle incretine.

La tirzepatide è un peptide unimolecolare e bifunzionale inventato da Eli Lilly and Company che attiva contemporaneamente GLP-1R e GIPR. La tirzepatide è composta da 39 amminoacidi, è amidata al C-terminale, coniuga una porzione di diacido grasso C20 tramite uno spaziatore collegato a Lys20 e ha un'emivita di 116,7 h.

La tirzepatide ha un'attività cAMP sul recettore GIPR simile al suo agonista GIP, mentre sul recettore GLP-1R ha un'attività di cAMP molto minore.

I residui di tirzepatide derivano principalmente da GIP, GLP-1, semaglutide e alcuni residui sono unici. Figura 10.

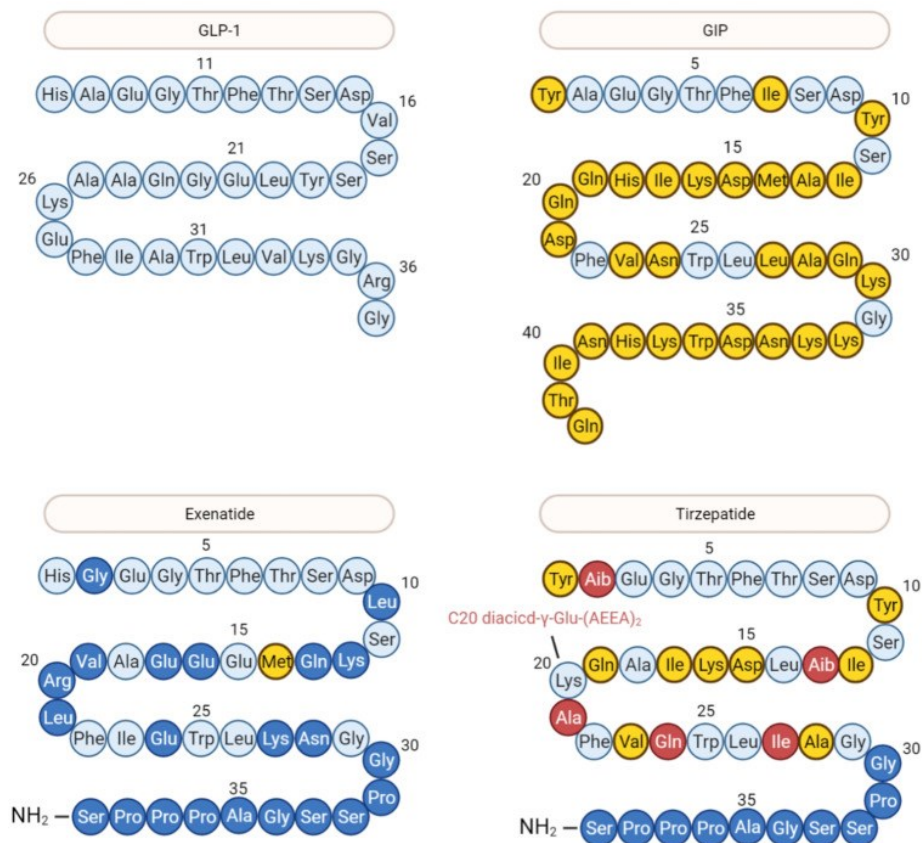


Figura 10: Le strutture di incretine e analoghi. Un colore diverso indica la derivazione di ogni residuo. Azzurro: GLP-1; Giallo: GIP; blu scuro : exenatide; Rosso: tirzepatide.²²

Tirosina 1 è fondamentale dall'N terminale di GIP per la sua attività. L'adozione di tirzepatide di Tyr1 supporta l'attività GIP mentre può compromettere l'attività di GLP-1.

In assenza di Tyr1 dall'N-terminale di GIP diminuisce in maniera elevata la sua attività. Perché alcuni residui del GIPR vanno a interagire con Tyr1 del GIP.²²

Gli ormoni incretinici in seguito alla scissione enzimatica tendono a modulare se non terminare l'azione. Gli ormoni incretinici GIP (1-42) o un'altra forma attiva GIP (1-30) vengono troncati da enzimi (ex DPP-4) a livello dell'N-terminale con una grave perdita di attività. L'N terminale risulta fondamentale e il troncamento dovuto agli enzimi porta alla perdita dell'attività intrinseca.

Come accennato in precedenza, gli esseri umani hanno (almeno) due varianti GIP circolanti attive: GIP (1-42) e la versione troncata C-terminale, GIP (1-30) NH₂. GIP (1-30) NH₂ è presente a concentrazioni molto basse a livello plasmatico e il suo ruolo fisiologico è minimo. Da un punto di vista farmacologico i due peptidi si legano al GIPR con affinità simile; infatti, hanno la stessa potenza ed efficacia a livello di segnalazione Gas. Questo vuol dire che l'N-terminale è fondamentale per l'attivazione del recettore. La Tyr 1 N-terminale di GIP interagisce con tre diversi residui di tre diverse eliche transmembrana del GIPR ossia Gln224 (elica III), Arg300 (elica V) e Phe357 (elica VI). Il GIP si ricorda che assomiglia ai sistemi GLP-1 e questo contribuisce ad evidenziare l'importanza dell'N-terminale anche per questo recettore che dovrà essere intatto.

Quindi l'N-terminale è essenziale mentre il C-terminale non ha grande interazione con GIPR potrebbe risultare importante per la stabilità o accessibilità tissutale. Ricordando che modifiche del C-terminale influiscono molto poco sull'attivazione del recettore.¹⁷

I residui GLP-1 (7-37) Ala8 e GIP Ala2 sono siti di scissione per DPP-4 quindi si è cercato di indurre una sostituzione per evitare la degradazione. La sostituzione con Aib (acido alpha-amminobutirrico) va a prevenire completamente la degradazione causata dall'enzima. Inoltre tramite questo residuo Aib influenza poco l'attività dell'cAMP. Questa modificazione potrebbe essere evitata l'incetina viene ad essere fusa con l'albumina in modo da creare un ostacolo sterico ed in questo modo l'enzima non riesce ad avvicinarsi.

Tyr 1 e Ile7 sono due residui importanti per l'attivazione attraverso GIP di GIPR. Nel caso della tirzepatide in cui nel residuo 7 troviamo Thr va a ridurre leggermente l'attività di GIP.

Tyr 10 e Ile 12 vengono utilizzati nella tirzepatide perché hanno un ruolo chiave nell'attivazione per il GIPR. Nel caso di mutazione del residuo in particolare in posizione 12 può contribuire ad un effetto negativo sull'attività insulinotropica di GIP. Invece le posizioni 10, 12, 13 e 14 per gli agonisti del GLP-1 sono diverse da quelle GLP-1 suggerendo che non sono importanti.

Per quanto riguarda il residuo Aib in posizione 13, ha reso l'agonista inattivo verso il recettore del glucagone mentre l'attività di GIP e GLP-1 erano leggermente alterate. Ricordando che i vari recettori per il glucagone, gip e glp-1 condividono una somiglianza elevata, tirzepatide presenta Aib in 13 che distrugge l'attività per il recettore del glucagone, abbassa l'attività del GLP-1 e non influenza l'attività del GIP. Mancano prove di sostegno per queste ipotesi.

In posizione 15 la tirzepatide presenta Asp, a livello di GLP-1 in posizione 21 è presente il Glu che se muta ad ex in Ala perde l'attività. Glu tende ad assomigliare ad Asp per questo non ci dovrebbero essere problemi nell'attività GLP-1.

Lys 16 sulla tirzepatide va a migliorare l'attività GIP e diminuisce leggermente l'attività GLP-1.

Ala18 al posto dell'His in GIP ha rafforzato l'effetto insuinotropico, migliorando sia l'attività di GLP-1 che GIP.

Gln 19 può formare legami a idrogeno con il recettore GIPR e nella tirzepatide sembra importante per l'attività GIP e in parte può influenzare anche l'attività di GLP-1.

Lys 20 con associato una catena di acidi grassi. La semaglutide avendo attaccata una catena di acidi grassi nel sito Lys26 si era visto che l'affinità e l'attività erano aumentate. Nella tirzepatide la catena di acidi grassi va ad aumentare l'attività del GLP-1 mentre GIP rimane inalterata.

Ala 21 che è una modifica unica che risiede solo sulla tirzepatide. Per quanto riguarda il GLP-1 la mutazione di GLP-1 Glu27 in Ala mantiene la stessa affinità e aumenta leggermente l'attività, invece per il GIP ci sono state lievi diminuzione di attività. Oltre all'enzima DPP-4 anche la endopeptidasi neutra 24.11(NEP 24.11) può danneggiare il GLP-1 su alcuni siti catalici tra cui il Glu27. Quindi l'inserimento di Ala21 potrebbe evitare il degrado indotto da (NEP 24.11).

La sostituzione al GLP-1 Ala30 con Gln va ad incrementare l'attività. Sostituendo Asn24 con Gln su GIP in realtà sono due residui simili. Quindi il Gln24 adottato in tirzepatide può aumentare l'attività di GLP-1 e supportare l'attività di GIP.

Per tirzepatide Ile 27 risulta simile a GLP-1 Val27 e GIP Leu 27, quindi questa sostituzione non va a cambiare l'attività.

Exenatide (29-39) a livello di un'attività insulinotropica ha un' influenza minima. Quindi la coda finale non sembra indispensabile.

Per GIP, exenatide e GLP-1 (7-36)-NH₂ hanno due residui polari in posizione 27 e 28 quindi hanno dei modelli simili per legarsi al recettore. Nella fase iniziale del legame ligando-recettore, sul terminale polare amorfo del recettore si aggrappa il ligando. Però dato che le posizioni dei due residui polari sono distinte, anche i siti del recettore sono diversi. Non è stato ancora determinato se questa varianza del legame di tirzepatide per GLP-1R e GIPR influisca sull'attività.²²

La degradazione di GIP e GLP-1 è effettuata dall'enzima DPP-4 e un'altra via è l'eliminazione renale. L'eliminazione renale viene superata andando ad aumentare il volume del farmaco per prolungare l'emivita. Non si conosce ancora se sono le dimensioni aumentate o il legame con l'albumina sierica che possono estendere l'emivita. Affinché si possano fare legami tra HSA a GIP/GLP-1 risultano di elevata importanza la lunghezza della catena degli acidi grassi e la posizione di lipidazione. Per tirzepatide la catena di acido grasso ha 20 atomi di carbonio. A livello di lunghezza l'intervallo appropriato risulta essere

tra C16 e C20, mentre per la posizione di lipidazione vi è un intervallo di posizioni che vanno tra 10-16-20-21, 28 e C-terminale.²²

Quindi una componente chiave della tirzepatide è il diacido grasso C20 attaccato all'azoto della catena laterale di Lys20 tramite un link di un acido L-gamma-gluttammico e due acidi 8-ammino-3,6-diossaottanici. Figura 11.

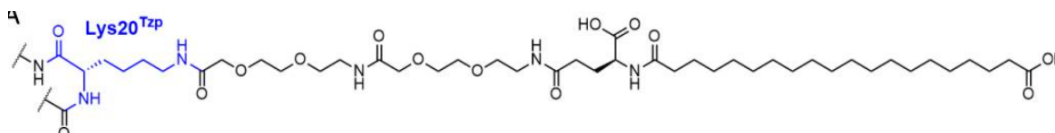


Figura 11: struttura chimica della modificazione lipidica e un suo attaccamento a Lys20 di TZP.²³

A livello di legami idrogeno della frazione lipidica con il recettore è più distribuito e prevalente nel GIPR rispetto al GLP-R. Da questi risultati la catena diacidica nel complesso GIPR/tirzepatide è risultata molto più compatta rispetto al complesso GLP-1R.

È stato osservato che se alla tirzepatide venisse tolta la catena lipidica laterale, il ligando avrebbe un'affinità con il recettore GIPR circa quattro volte maggiore rispetto alla tirzepatide con diacido grasso. In pratica in questo caso senza la frazione lipidica avrebbe un'affinità uguale a quella di GIP. Però risulta necessario la catena lipidica laterale per avere una farmacocinetica prolungata nella molecola. L'utilizzo degli acidi grassi viene sfruttata per migliorare l'emivita dei peptidi, appunto perché in questo modo possono essere protetti dalla proteolisi o dall'escrezione. Da evidenziare che il profilo farmacologico è influenzato sia dalla sequenza peptidica che dalla presenza della frazione lipidica. Gli effetti dell'acilazione sono differenziali in quanto la porzione non peptidica della molecola va a ridurre l'affinità GIPR ma diminuisce l'efficacia del GLP-1R.

La tirzepatide possiede un'attività al GIPR simile comunque al GIP, poiché la sequenza amminoacidica della tirzepatide contiene molti residui che si trovano sul GIP, in particolare quelli situati sull'N-terminale del ligando che effettuano interazioni critiche con la tasca del legame GIPR. Quindi c'è una potenziale importanza della tirosina N-terminale di GIP e tirzepatide nell'interazione profonda vicino al nucleo del recettore.

La catena N-terminale di tirzepatide si sovrappone ampiamente al segmento equivalente di GIP. Una differenza fondamentale è la treonina in posizione 7 (Thr7 tzp) di tirzepatide contro l'isoleucina in GIP, questa fornisce un legame idrogeno con Arg190 2.67GIPR. Inoltre la catena laterale Arg190 2.67GIPR così si avvicina a Tyr1 quindi la conformazione diventa leggermente diversa rispetto a GIP-bound. L'immagine va ad evidenziare che ci sono delle interazioni polari tra i residui, ossia che il gruppo ossidrilico della tirosina punta verso Arg190 2.67GIPR e Gln220 3.33GIPR. Questo diverso residuo può indicare una maggiore affinità della sequenza del tirzepatide per GIPR. Figura 12.

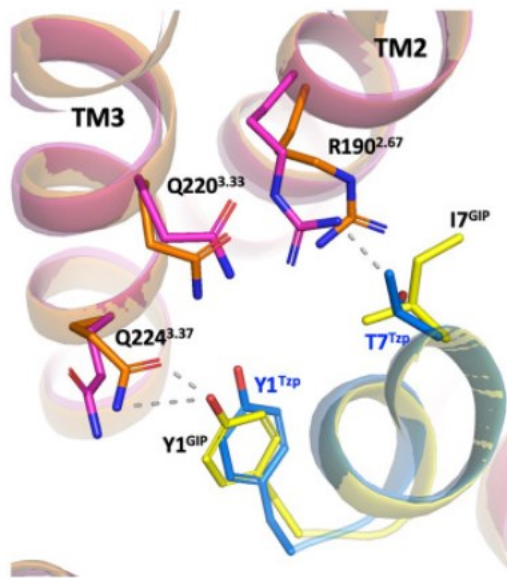


Figura 12: differenze del residuo sulla posizione 7 di GIP e tirzepatide.²³

Il terminale C di GIP (parliamo dei residui da 15 a 32) va ad interagire con il dominio extracellulare (ECD) e ECL1. L'ECL1 del GIPR contribuisce anche all'interazione con la regione C-terminale di GIP. Per tirzepatide si osserva una conformazione ECL1 simile a quella nella struttura legata a GIP, ma c'è un allontanamento da ECL1 del segmento C-terminale della tirzepatide per circa 3 Angostrom rispetto alla GIP. Bisogna evidenziare che con la tirzepatide non si verifica il legame a idrogeno con Tyr36 ECD (GIPR) perché contiene Ala18 tzp, mentre il residuo His18 GIP fa un legame a idrogeno con Tyr36. Figura 13.

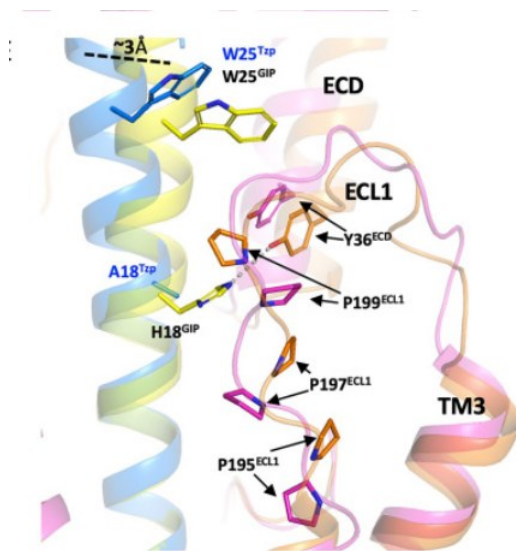


Figura 13: Interazione di GIP (giallo) e tirzepatide (blu) con l'ECD e ECL1 del GIPR.²³

Le eliche di GIP e tirzepatide sono posizionate più lontane da ECL2 e più vicine a TM1 nel GIPR al contrario di GLP-1 legato al GLP-1R. Si formeranno dei legami a idrogeno tra un residuo Try10 GIP o Tyr10 TRZ con Gln138 1.40GIPR, cosa che non avviene nel caso di GLP-1 con GLP-1R. Figura 14.

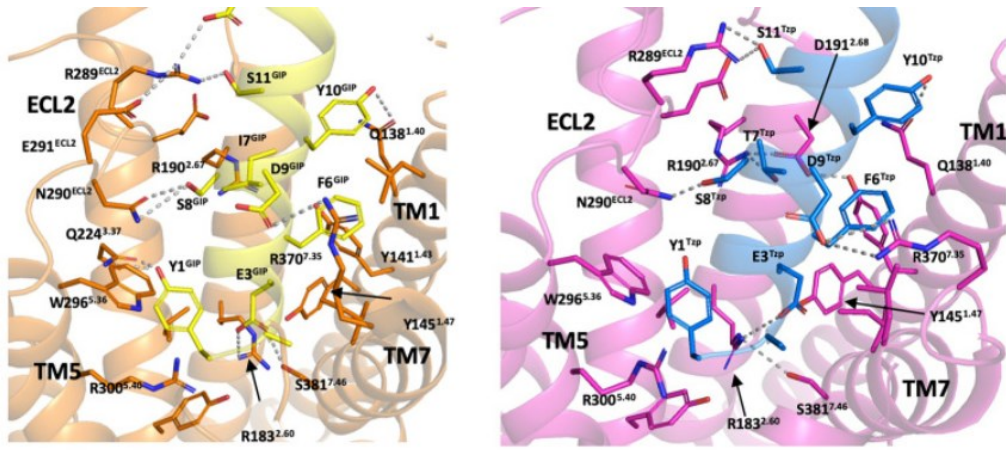


Figura 14: interazione di GIP giallo nella prima immagine o di tirzepatide (blu) seconda immagine e il dominio TM di GIPR. I residui che sono coinvolti nelle interazioni sono mostrati come bastoncini e i residui che contribuiscono alle interazioni più significative sono etichettati. I legami a idrogeno sono rappresentati come trattini.²³

Andando a modificare la tirosina in istidina, in modo che corrisponda alla prima posizione del GLP-1, ha indebolito l'affinità del legame di 20 volte. Questo dimostra che per mantenere il pieno agonismo e la piena affinità per GIPR, la tirosina dev'essere presente. In realtà tralasciando la tirosina in posizione 1 fondamentale, c'è una somiglianza generale tra tirzepatide e GLP-1. Gli atomi da 2-9 di tirzepatide si allineano bene con gli amminoacidi equivalenti di GLP-1 (residui da 8 a 15). Le differenze iniziano dalla Tyr10 tzp in poi perché la distanza tra i loro atomi incomincia ad aumentare. Lo spostamento della posizione della tirzepatide provoca interazioni più deboli con ECL2 del GLP-1R.

La tirzepatide è in grado di legare il GLP-1R circa 5 volte più debolmente rispetto a GLP-1, questo si manifesta in una potenza più debole.²³

7. CARATTERIZZAZIONE PRECLINICA

La tirzepatide chiamata anche LY3298176 è stato progettato con l'intento di essere il bersaglio per entrambi i recettori GIPR e GLP1-R. LY3298176 esso si lega con un'alta affinità con GIPR poiché è paragonabile con l'affinità che ha GIP, mentre circa 5 volte più debole del GLP-1 nativo per GLP-1R. La potenza di LY3298176 è simile al GIP nativo e circa 13 volte più debole per GLP-1. Figura 15.

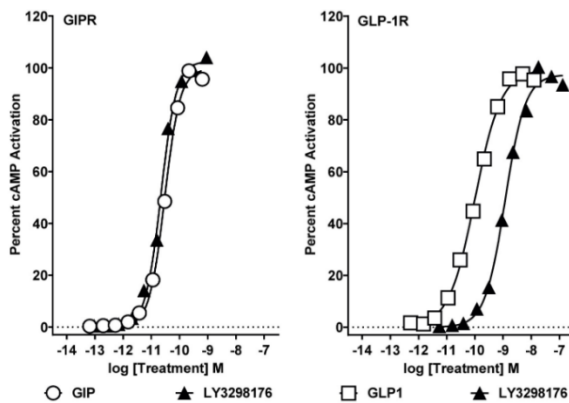


Figura 15: Curve di risposta di contrazione rappresentative per la stimolazione dell'accumulo di cAMP da parte di GIP, GLP-1, LY3298176 in cellule HENK che esprimono GIPR o GLP-1R umano.³

Si sono utilizzate cellule beta pancreatiche umane (ECN90) che esprimono sia GIPR che GLP1-R, questo per valutare la segnalazione in cellule che esprimono livelli endogeni di questi recettori. LY3298176 ha suscitato una risposta cAMP nelle cellule ECN90 che era significativamente superiore rispetto a quella osservata per GLP-1 o GIP indotti da soli. Figura 16.

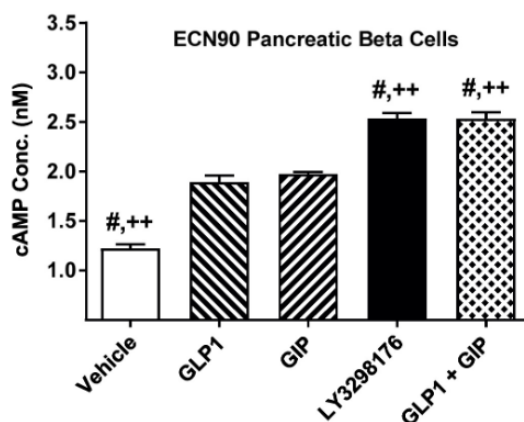


Figura 16: accumulo di cAMP nelle cellule beta pancreatiche umane ECN90 in risposta al trattamento con GLP-1, GIP, combinazione con GIP e GLP-1 o LY3298176.³

Invece tirzepatide a livello del tessuto adiposo ha registrato un incremento di cAMP simile al solo GIP.

Sono stati studiati attraverso dei topi wilde-type (WT) che esprimono i recettori delle incretine, topi transgenici privi del GIPR (GIPR $-/-$) o del GLP-1R (GLP-1R $-/-$). La tirzepatide ha stimolato in tutti e tre le tipologie di topi, la secrezione di insulina glucosio-dipendente dimostrando che la tirzepatide agisce su entrambi i recettori dell' incretina. Figura 17.

Se nelle isole dove è stato soppresso uno dei due recettori si somministrano anche degli antagonisti per l'altro recettore che rimane (ex uso antagonista GIP (3-30) NH2 negli isolotti di topi GLP-1R $-/-$) si blocca la secrezione di insulina.

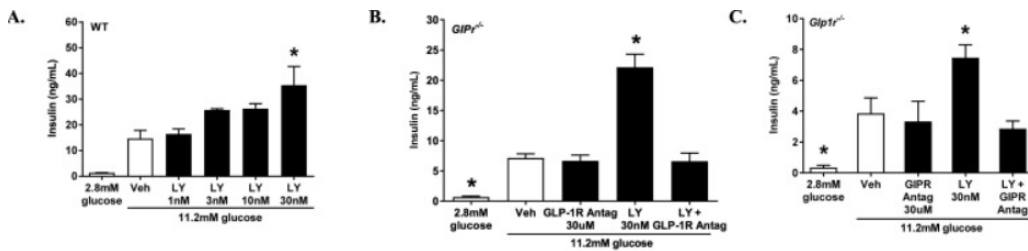


Figura 17: secrezione di insulina stimolata dal glucosio da parte della tirzepatide in isole isolate di topo (WT) A, GIPR null B e GLP-1R null C.³

In vivo è stato usato il test di tolleranza al glucosio intraperitoneale (OGTT) in topi normali e con deficit di recettori. La tirzepatide ha migliorato le escursioni di glucosio in tutti e tre i genotipi. Nella figura si può notare che la risposta è stata simile a quella della semaglutide in E dove c'erano topi GIPR $-/-$; e con l'analogo GIP resistente a DDP-4 (d-Ala2) GIP in F dove c'erano topi GLP-1R $-/-$. Figura 18.

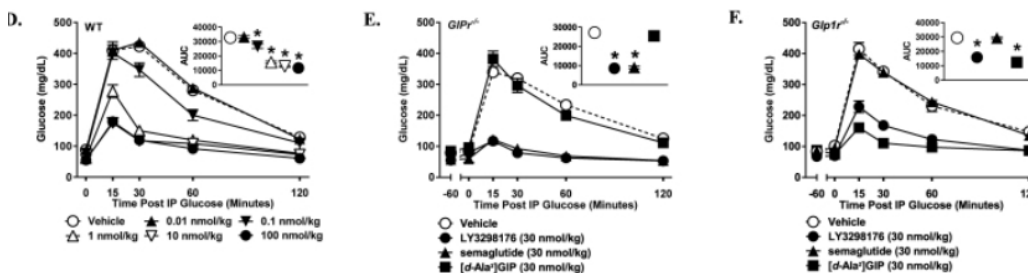


Figura 18: escursione del glucosio dai test di tolleranza al glucosio intraperitoneale in topi (WT) in D, GIPR null (E), e GLP-1R null (F) ai quali è stato somministrata la tirzepatide (LY3298176) o agonisti selettivi semaglutide o (d-Ala2)GIP (GIP resistente a DDP-4). Sopra in alto a destra si vede la contrazione AUC del glucosio. Per la tirzepatide il glucosio è stato somministrato 18 ore dopo la prima dose di tirzepatide o semaglutide, mentre un'1 ora dopo la somministrazione di (d-Ala2)GIP.³

Dai risultati ottenuti da questi studi è stato dimostrato che la tirzepatide può indurre sia in vivo che in vitro la secrezione di insulina glucosio-dipendente tramite GLP1-R o GIPR.

Si è notata una riduzione della massa grassa che ha portato una perdita di peso corporeo andando a somministrare semaglutide in modo cronico a topi DIO (obesità indotta dalla dieta). La riduzione della massa grassa dipendeva dalla concentrazione della semaglutide somministrata.

Utilizzando la tirzepatide in cronico c'è stata una significativa diminuzione del peso corporeo, l'effetto dipendeva dalla quantità di tirzepatide utilizzata (grafico C e D). Rispetto alla semaglutide la diminuzione è stata molto più marcata, ed era statisticamente significativa e andava a rimuovere principalmente la massa grassa. C'è stata una ridotta assunzione di cibo durante i primi 7-10 giorni di somministrazione della tirzepatide (grafico E). Si è osservato un leggero aumento significativo del dispendio energetico che si è notato dopo 7 giorni dal trattamento (grafico F). Figura 19.

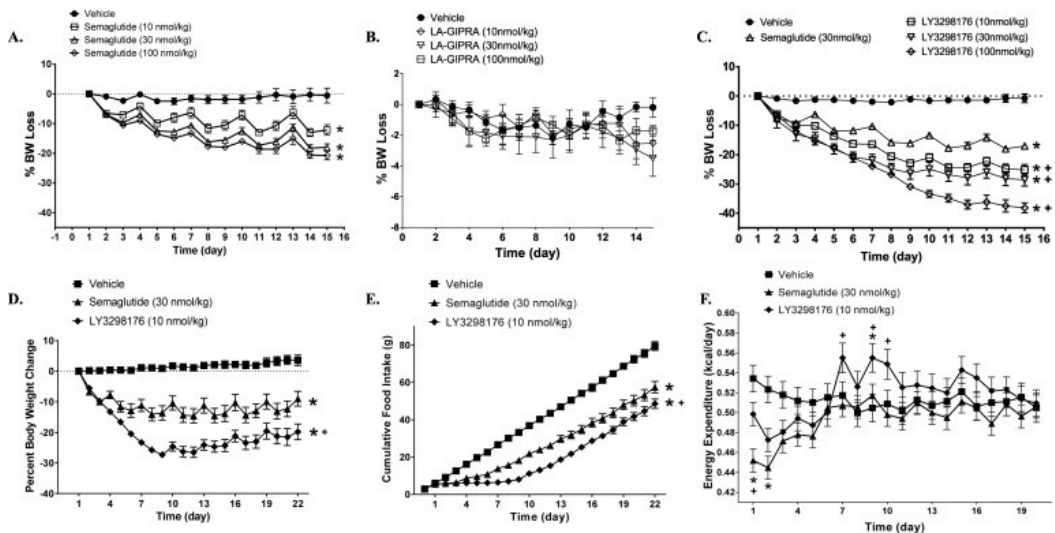


Figura 19: (C) perdita di peso corporeo nei topi DIO dove vado a somministrare in cronico LY3298176. Effetti metabolici di LY3298176 (rombo) o semaglutide (triangolo) rispetto a trattamento con veicolo (quadrato) su peso corporeo (D), sull'assunzione cumulativa di cibo (E) e sul dispendio energetico (F) sempre sui topi DIO.³

Tutti questi studi dimostrano che LY3298176 è un potente agonista di entrambi i recettori per le incretine e che attiva i recettori sia in vitro che in vivo. Dagli studi viene dimostrata una migliore perdita di peso rispetto alle terapie con agonisti selettivi per il recettore GLP-1 nei topi. Da questi risultati si è potuto testare la tirzepatide a livello clinico.

8. STUDI CLINICI

8.1 STUDIO DI FASE 1 NCT02759107

Uno studio di fase 1 randomizzato, controllato con placebo e in doppio cieco era composto da 3 parti: una dose singola ascendente (SAD; dosi 0,25–8 mg) e una dose multipla ascendente di 4 settimane (MAD; dosi 0,5–10 mg) studi su soggetti sani (HS), seguiti da un proof-of-concept di Fase 1 b a dosi multiple di 4 settimane (POC; dosi 0,5–15 mg) in pazienti con T2DM.

I soggetti sono stati assegnati in modo casuale a ricevere LY3298176 (LY), placebo (PL) o dulaglutide (DU) in rapporti prespecificati (SAD, 3LY:1 PL; MAD, 6LY:1 PL:1DU; POC, 4LY:1 PL). La parte SAD dello studio ha valutato dosi di LY3298176 comprese tra 0,25 e 8 mg in 6 coorti di soggetti sani. La parte MAD utilizzava 4 dosi una volta alla settimana somministrate a soggetti sani nei giorni 1, 8, 15 e 22. Il test MAD consisteva in 3 bracci non titolati, che esaminavano livelli di dose da 0,5 a 4,5 mg e un braccio in cui le dosi erano titolate fino a 10 mg (5/5/8/10 mg); Dulaglutide è stato somministrato a un gruppo di soggetti alla dose di 1,5 mg/settimana come controllo.

Nello studio 142 soggetti hanno ricevuto almeno 1 dose di LY3298176, placebo o dulaglutide (parte SAD, N = 56; parte MAD, N = 33, parte POC, N = 53)

La concentrazione massima di tirzepatide si è verificata entro 24-48 ore dopo la somministrazione. È stata dimostrata un'emivita di circa 5 giorni (116 ore), andando a supportare il dosaggio di una volta alla settimana. La variabilità intersoggettiva per C_{max} e AUC è stata sotto il 30%.

Nei soggetti sani trattati nello studio MAD dal grafico si può osservare che il giorno 29 non ci sono state riduzioni significative della glicemia a digiuno con LY3298176 rispetto al placebo. Figura B (su ordinate modifiche della glicemia a digiuno). Attraverso la misurazione OGTT (oral glucose tolerance test) AUC (0-2h), si è osservata una significativa diminuzione della risposta glicemica con la somministrazione di tutte le dosi di tirzepatide e dulaglutide 1,5 mg rispetto al placebo il giorno 23. Figura C.

Per quanto riguarda la perdita di peso nel grafico A si è notata una diminuzione rispetto al basale. Tutti i trattamenti hanno dimostrato una riduzione significativa del peso corporeo rispetto al placebo tranne per il gruppo con 0,5 mg di tirzepatide. C'erano differenze significative al giorno 29 tra la dulaglutide 1,5 mg rispetto alla tirzepatide (4,5 mg e 5/5/8/10 mg). Per i soggetti nel gruppo 5/5/8/10 mg avevano ricevuto 5 mg di tirzepatide il giorno 1, 8,8 mg il giorno 15 e 10 mg il giorno 22. Figura 20.

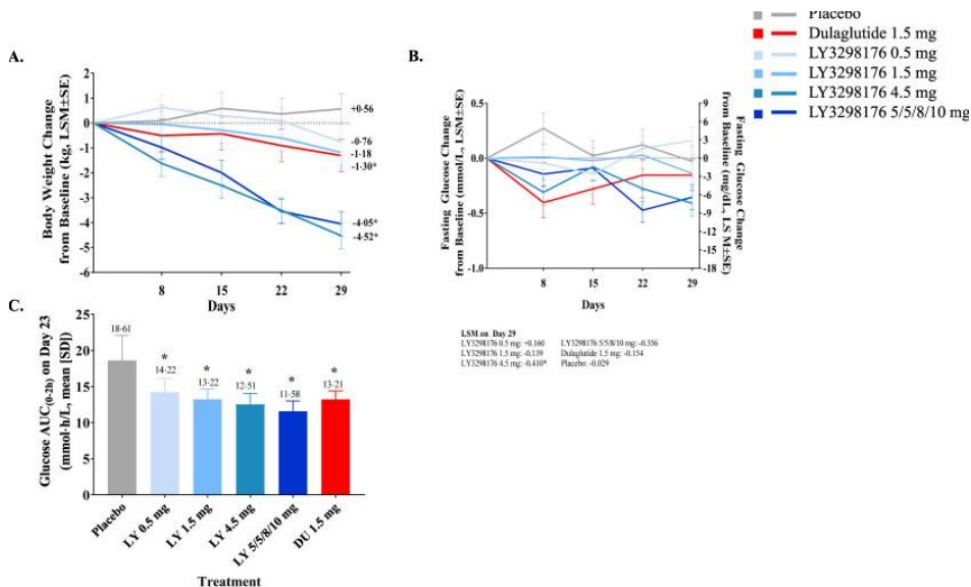


Figura 20: A. differenza di trattamento nel peso corporeo al giorno 29; B. riduzioni della glicemia a digiuno con tirzepatide o placebo o dulaglutide; Figura C: quantità di glucosio AUC (0-2h) al giorno 23. ³

Viene illustrato in seguito agli studi SAD e MAD lo studio di fase 1b POC in cui pazienti con diabete di tipo 2 vengono trattati con tirzepatide a dosi multiple per 4 settimane. Questo studio POC di fase 1b ha testato due dosi fisse (0,5 e 5 mg) e due titolazionischemi che aumentavano i livelli di dose a 10 mg (5/5/10/10 mg) e 15 mg (5/5/10/15 mg). In questo studio l'emoglobina glicata (HbA1) era diminuita significativamente rispetto al basale al placebo in modo dose dipendente con differenze significative di trattamento tra LY3289176 5/5/10/10 mg e LY3289176 5/5/10/15 mg. La glicemia a digiuno era diminuita significativamente nei soggetti trattati con LY3289176 5/5/10/10 mg e LY3289176 5/5/10/15 mg rispetto al placebo figura B e F (glicemia a digiuno al giorno 29). La glicemia durante l'OGTT si era ridotta con tutte le dosi di tirzepatide tranne per quella a 0,5 mg rispetto al placebo figura C. La risposta insulinica (come AUC 0-2h) durante l'OGTT è aumentata significativamente con LY3298176 a dosaggio 5/5/10/15 rispetto al placebo figura D. Per quanto riguarda la perdita di peso nei pazienti con T2DM al giorno 29 è stata osservata una diminuzione dose e tempo-dipendente del peso corporeo figura A. Se si paragona con i soggetti sani nello studio MAD sempre al giorno 29 qui c'è stata una riduzione inferiore del peso corporeo. Figura 21.

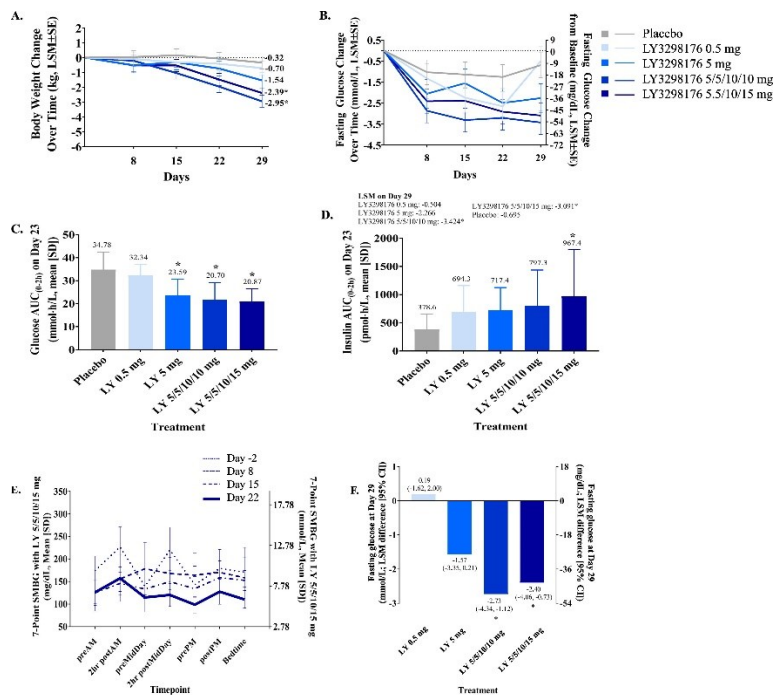


Figura 21: A: variazione di peso nel tempo; B modifiche della glicemia a digiuno per fino a 29 giorni; C Glucosio AUC (0-2h) al giorno 23; D Insulina AUC (0-2h) al giorno 23; F differenze di trattamento nella glicemia a digiuno al giorno 29. ³

Vengono riportati i dati sui profili di sicurezza durante il trattamento per i pazienti con diabete mellito di tipo 2. Per prima cosa non si sono verificati decessi. C'è stata l'interruzione della terapia per cinque soggetti causa eventi avversi.

In entrambi gli studi sia per i soggetti sani che per i soggetti con T2DM gli eventi avversi più comuni e frequenti sono stati quelli gastrointestinali (vomito, diarrea, tachicardia sopraventricolare, diminuzione dell'appetito e aumento degli enzimi pancreatici). Però i pazienti con diabete di tipo 2 presentavano meno eventi gastrointestinali e tolleravano una dose maggiore di tirzepatide rispetto ai soggetti sani. L'incidenza di eventi ipoglicemici è stata bassa in tutti i gruppi di trattamento. Non si sono mai verificati casi di ipoglicemia grave. I soggetti sani e quelli con T2DM con il trattamento con tirzepatide hanno registrato un aumento della frequenza del polso, mentre per la dulaglutide solo nei soggetti sani è stato registrato questo fenomeno. Riguardo la pressione sistolica e diastolica non si sono mai registrate variazioni clinicamente rilevanti. Non si sono registrate mai pancreatiti acute. Ci sono stati alcuni soggetti che hanno riportato dei valori nei parametri epatici al di fuori degli intervalli.

Non c'è stata nessuna reazione di ipersensibilità. In MAD due soggetti hanno riportato reazioni sul sito di iniezione di gravità da lieve a moderata. Per i pazienti con T2DM non si è verificata nessuna reazione al sito di iniezione.

Questo studio di fase 1 ha dei forti limiti perché è uno studio di 4 settimane, e quindi breve e con un campione piccolo di persone (per MAD erano state arruolate 33 persone sane, mentre per lo studio di fase 1b POC 53 persone con T2DM). Anche se l'efficacia risulta essere significativa per quanto riguarda peso e glicemia c'è ancora dell'incertezza. La tirzepatide permette un forte effetto incretinico con il miglioramento della secrezione di insulina, però in questo studio non si riesce a capire il contributo distinto di GIP e GLP-1.

8.2. STUDIO CLINICO DI FASE 2

8.2.1 STUDIO NCT03131687

Questo studio di 26 settimane, di fase 2b, randomizzato, in doppio cieco è stato condotto in 47 siti (centri di ricerca medica e clinica). I partecipanti idonei (di età compresa tra 18 e 75 anni) avevano il diabete di tipo 2 da almeno 6 mesi (emoglobina glicata A_{1c} [HbA_{1c}] 7,0–10,5% inclusa) che non era adeguatamente controllato con dieta ed esercizio da soli o con metformina stabile da almeno 3 mesi prima dello screening e un indice di massa corporea (BMI) di 23–50 kg/m² (da una situazione regolare/sovrappeso a 50 kg/m² che rappresenta il massimo grado di obesità).

I partecipanti che soddisfacevano i criteri di arruolamento sono stati assegnati in modo casuale (1:1:1:1:1:1) a uno dei sei gruppi di trattamento. I partecipanti trattati con metformina o altri farmaci pre-studio hanno continuato ad assumere questi farmaci durante lo studio.

Per migliorare la tollerabilità gastrointestinale, i pazienti assegnati al gruppo LY3298176 da 10 mg hanno ricevuto 5 mg per le prime 2 settimane e poi 10 mg per il resto dello studio. I pazienti assegnati a 15 mg LY3298176 hanno ricevuto 5 mg per le prime 2 settimane, 10 mg per le successive 4 settimane e 15 mg per il resto dello studio.

L'outcome primario di efficacia era il cambiamento dell'HbA_{1c} dal basale a 26 settimane nella popolazione modificata intention-to-treat (mITT), definita come tutti i partecipanti che avevano assunto almeno una dose del farmaco in studio e avevano almeno una misurazione post-basale di qualsiasi esito. Gli endpoint secondari erano la variazione dell'HbA_{1c} dal basale a 12 settimane, la variazione del peso corporeo medio, la glicemia a digiuno e la circonferenza della vita alle settimane 12 e 26, proporzione di pazienti con almeno il 5% e il 10% di perdita di peso corporeo dal basale a 26 settimane, percentuale di pazienti che raggiungono l'HbA_{1c}target ($\leq 6,5\%$ e $< 7,0\%$) e variazione dei dati di laboratorio sui lipidi dal basale a 26 settimane.

Gli esiti esplorativi terziari erano il cambiamento rispetto al basale nella valutazione del modello omeostatico della funzione delle cellule β (HOMA2-B) e di resistenza all'insulina (HOMA2-IR), insulina a digiuno e glucagone alle settimane 12 e 26.

Lo studio comprendeva 316 partecipanti. 258 (82%) partecipanti hanno completato 26 settimane di trattamento e 283 (90%) hanno completato lo studio. Il gruppo LY3298176 da 15 mg, che ha avuto il numero più basso di pazienti (66%) che hanno completato la terapia mentre la percentuale dei partecipanti che hanno terminato il trattamento tra gli altri gruppi era compreso in un intervallo tra 82-86%. Per la durata dell'esposizione al farmaco tra i vari gruppi è stata simile tranne per il gruppo dove veniva somministrata la tirzepatide a 15 mg.

La riduzione di HbA_{1c} dal basale a 26 settimane è stata maggiore con tirzepatide, in tutte le dosi, in modo dose-dipendente. Le variazioni medie con LY3298176 erano -1,06% per 1 mg, -1,73% per 5 mg, -1,89% per 10 mg e -1,94% per 15 mg, rispetto a -0,06% per placebo.

Per 5 mg, 10 mg e 15 mg LY3298176 c'è un maggior abbassamento di HbA_{1c} per le dosi citate rispetto a dulaglutide. Per le dosi di tirzepatide 10 mg e 15 mg hanno avuto il maggior effetto glicemico in tutte le analisi. Figura 22.

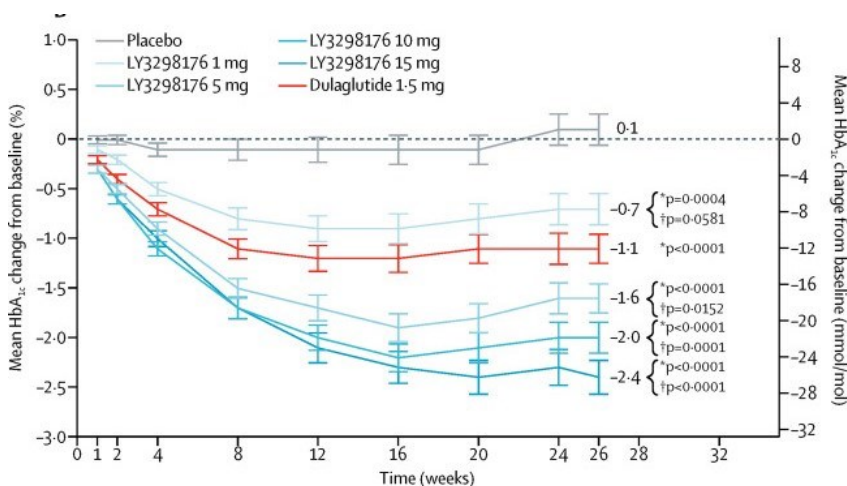


Figura 22: cambiamento della HbA_{1c} media rispetto al basale mostrata sulle ordinate rispetto alle settimane di trattamento con i diversi dosaggi di tirzepatide e dulaglutide.²⁴

A 26 settimane, il 33–90% dei pazienti trattati con LY3298176 ha raggiunto l'obiettivo di HbA_{1c} inferiore al 7,0% (vs 52% con dulaglutide, 12% con placebo) e il 15–82% ha raggiunto l'obiettivo di HbA_{1c} di almeno 6,5% (vs 39% con dulaglutide, 2% con placebo). Una percentuale maggiore di partecipanti trattati con 5 mg, 10 mg o 15 mg LY3298176 ha raggiunto questi due target di HbA_{1c} (HbA_{1c} <7,0% e HbA_{1c} ≤6,5%) rispetto a quelli trattati con dulaglutide. Nove (18%) su 51 partecipanti trattati con 10 mg LY3298176 e 16 (30%) su 53 trattati con 15 mg LY3298176 hanno raggiunto la normoglicemia (HbA_{1c} target <5,7%), rispetto a uno (2%) su 54 partecipanti trattati con dulaglutide. Figura 23.

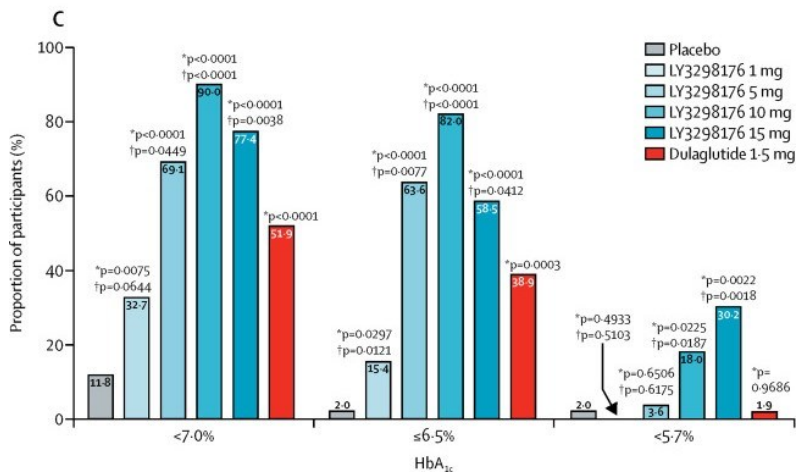


Figura 23 : nelle ordinate troviamo la % di pazienti e nelle ascisse troviamo le % di HbA_{1c} minore di 7%, minore o uguale al 6,5% e al di sotto del 5,7%.²⁴

Tutte le dosi di LY3298176 hanno ridotto la concentrazione della glicemia a digiuno dal basale alla settimana 26 rispetto al placebo, in modo dose-dipendente. Il trattamento con 5 mg, 10 mg e 15 mg LY3298176 ha ridotto la glicemia a digiuno più di dulaglutide. Alla settimana 26, i valori medi di tutte le concentrazioni di glucosio nel sangue autocontrollate, comprese le concentrazioni pre-prandiali e 2 ore dopo il pranzo, sono state ridotte rispetto al basale per tutte le dosi LY3298176 e per dulaglutide rispetto al placebo. Il trattamento con 10 mg e 15 mg LY3298176 ha portato a maggiori riduzioni significative di queste variabili glicemiche rispetto alla dulaglutide. Per quanto riguarda la funzione delle cellule BETA è aumentato con tutti i dosaggi della tirzepatide e con la dulaglutide, in particolare con i dosaggi 10 mg e 15 mg di tirzepatide hanno aumentato maggiormente la funzionalità della cellula BETA rispetto alla dulaglutide.

Per quanto riguarda l'insulina resistenza si è ridotta con 10 mg e 15 mg di tirzepatide rispetto alla dulaglutide. Questo discorso vale anche per l'insulina sierica a digiuno.

Le variazioni del peso corporeo medio dal basale alla settimana 26 variavano da -0,9 kg a -11,3 kg per i gruppi LY3298176 mentre di -0,4 kg per il placebo, -2,7 kg per dulaglutide; Tutte le dosi di LY3298176 hanno ridotto il peso corporeo rispetto al placebo in modo dose-dipendente. La riduzione del peso corporeo è stata maggiore per 5 mg, 10 mg e 15 mg LY3298176 rispetto a dulaglutide. Figura 24.

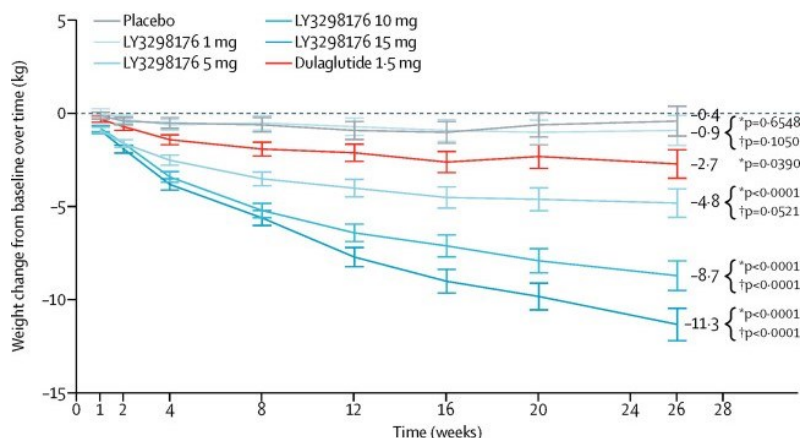


Figura 24: nelle ascisse sono presenti il numero delle settimane, mentre nelle ordinate il peso al basale che cambia.²⁴

Più pazienti trattati con 5 mg, 10 mg e 15 mg LY3298176 hanno raggiunto target di peso corporeo ($\geq 5\%$, $\geq 10\%$ e $\geq 15\%$ di perdita di peso dal basale) rispetto a quelli trattati con placebo e dulaglutide.

Per quanto riguarda le concentrazioni di colesterolo HDL o LDL i gruppi trattati con tirzepatide e placebo non differivano. Per quanto riguarda i trigliceridi alla 26 settimana sono diminuite per tirzepatide 5 mg, 10 mg e 15 mg e dulaglutide (tirzepatide a 10 mg e 15 mg hanno portato una riduzione maggiore rispetto a dulaglutide).

Per quanto riguarda le reazioni avverse si è registrato un decesso nel gruppo placebo ma per un evento che non è correlato al trattamento in studio. Gli eventi avversi si sono registrati sempre più spesso all'aumento della dose di tirzepatide. Gli eventi avversi con il trattamento di 5 mg e 10 mg di tirzepatide e dulaglutide erano simili, per quanto riguarda il trattamento con 15 mg di tirzepatide gli eventi avversi erano più numerosi. Tredici (4%) dei 316 partecipanti nei sei gruppi di trattamento hanno avuto 23 eventi avversi gravi in totale. L'interruzione del trattamento in studio a causa di un evento avverso è stata più comune nei gruppi 5 mg, 10 mg e 15 mg LY3298176 e nel gruppo dulaglutide rispetto alla dose 1 mg LY3298176 e al placebo, con il tasso più alto nel gruppo 15 mg LY3298176.

Gli eventi più comuni avversi registrati sono eventi gastrointestinali (nausea, vomito e diarrea) e diminuzione dell'appetito. Si sono registrati spesso all'inizio della terapia ed erano di intensità da lieve a moderata e transitori.

Non sono stati segnalati casi di grave ipoglicemia, e l'incidenza di eventi ipoglicemici è stata simile in tutti i gruppi di trattamento.

Si sono registrati due partecipanti trattati con 5 mg di tirzepatide che hanno registrato pancreatite, e due casi di elevati enzimi pancreatici.

L'incidenza di eventi avversi cardiovascolari non differiva tra i due gruppi, pressione arteriosa sistolica media e diastolica e frequenza cardiaca non variavano tra i vari gruppi.

L'incidenza di reazioni di ipersensibilità possibili o probabili non differiva tra i gruppi di trattamento, con dermatite, ipersensibilità (non specificata) ed eruzioni cutanee come le più comunemente riportate.

Questo studio di fase 2b in doppio ceco randomizzato e controllato ha dimostrato che tirzepatide ha ridotto in maniera dose-dipendente HbA1c e il peso corporeo dopo le 26 settimane in misura maggiore rispetto al trattamento con un agonista selettivo del recettore GLP-1. La tirzepatide è stata somministrata una volta alla settimana e per i dosaggi che vanno tra i 5 mg-15 mg è risultata efficace in modo significativo per quanto riguarda il controllo della glicemia. La quasi normalizzazione della glicemia è fondamentale per ridurre il rischio di complicanze microvascolari.

C'è stata una perdita di peso significativa in maniera dose dipendente con tirzepatide e questa si associa a molti benefici clinici. C'è stata una riduzione della concentrazione dei trigliceridi che si era rispecchiata anche negli studi pre-clinici, questa riduzione è stata una riduzione rilevante per il doppio agonista tirzepatide rispetto a quella che provocava l'agonista del recettore selettivo a GLP-1 che non risultava significativa. L'ipotesi avanzate erano che GIP essendo molto espresso nel tessuto adiposo umano potrebbe avere un ruolo nella regolazione della lipolisi e lipogenesi.

La tirzepatide potrebbe aver avuto un effetto insulino-sensibilizzante e aver migliorato la sensibilità delle cellule BETA questi dati devono essere valutati con cautela.

Tirzepatide ha ridotto la concentrazione di glucagone in maniera maggiore rispetto alla dulaglutide, l'effetto glucagonostatico del doppio agonista potrebbe influenzare la risposta all'ipoglicemia. L'incidenza di ipoglicemia non è stata registrata in maniera rilevante; questo può suggerire che la risposta contro regolatoria sia preservata nei pazienti con il doppio agonista.

La perdita di peso in parte è stata associata alla riduzione dell'appetito che si è registrata maggiore con tirzepatide rispetto a dulaglutide, cosa che era stata osservata anche negli studi pre-clinici.

Gli eventi avversi gastrointestinali con il trattamento con LY3298176 rispetto a dulaglutide sono stati simili, fatta eccezione per un'aumentata frequenza con LY3298176 15 mg. I risultati sulla sicurezza di LY3298176 erano coerenti con il profilo di sicurezza degli agonisti del recettore del GLP-1.

Uno dei limiti dello studio è stato quello di paragonare la tirzepatide con dulaglutide, poiché era stato provato che 1 mg di semaglutide (sempre agonista GLP-1) aveva un effetto maggiore rispetto a 1,5 mg di dulaglutide. Ciò era impossibile da essere eseguito perché semaglutide doveva ancora entrare in commercio durante lo studio.

Altro limite è stato che per la tirzepatide ad un dosaggio di 15 mg si sono registrati i più alti numeri di eventi avversi a livello gastrointestinale e una maggiore frequenza di pazienti che interrompevano il trattamento. Se la dose fosse stata aumentata in maniera graduale la tollerabilità potrebbe essere stata migliore.

Ulteriori limiti di questo studio sono le dimensioni ridotte e la popolazione di pazienti omogenea, tale che i risultati potrebbero non essere generalizzabili ad altre popolazioni

con diabete di tipo 2 più avanzato. L'esposizione è stata limitata a 26 settimane, il che non consente una valutazione completa del potenziale glicemico e di perdita di peso di LY3298176.

Con questo studio si è potuto capire l'intervallo di dosi che possono essere utilizzate per tirzepatide. Si passerà ad uno studio di fase 3 per approfondire l'efficacia e la sicurezza per questa nuova classe di farmaci.²⁴

Ci sono state delle analisi ulteriori post hoc sullo studio di fase 2b precedentemente illustrato, per capire ulteriormente perché tirzepatide potesse ridurre maggiormente la glicemia rispetto all'agonista del recettore GLP-1. Le analisi esplorative sono andate a rilevare biomarcatori associati alla funzione delle cellule beta pancreatiche e alla sensibilità dell'insulina.

I pazienti che sono stati trattati con la tirzepatide hanno registrato un miglioramento delle cellule BETA e i livelli di glucagone che sono stati registrati a digiuno si sono abbassati rispetto ai trattamenti con dulaglutide. La tirzepatide ha migliorato diversi marcatori della funzione delle cellule beta, ha aumentato gli indici HOMA2-B, ha diminuito i livelli di proinsulina, proinsulina/peptide C e proinsulina/insulina. La disfunzione della cellula BETA nel T2DM è rappresentata dalla ridotta conversione della proinsulina a insulina. Il peggioramento della glicemia viene previsto quando la proinsulina incomincia ad aumentare. Tirzepatide va a ridurre i livelli di proinsulina e quindi è indicativa di un miglioramento per la salute delle cellule BETA.

La tirzepatide ha evidenziato una riduzione dei livelli di glucagone a digiuno che contribuisce a ridurre HbA1c. Il glucagone elevato a digiuno è frequente nei soggetti con T2DM.

La tirzepatide ha ridotto i livelli di insulina a digiuno, gli indici HOMA-2 di insulino-resistenza e migliora la sensibilità all'insulina.

Si sono registrati aumenti dei livelli di adiponectina un ormone peptidico prodotto prevalentemente nel tessuto adiposo in seguito al trattamento con tirzepatide. Questo ormone va a sensibilizzare altri organi all'azione dell'insulina. Qui propone un'azione insulino-sensibilizzante di GIP sugli adipociti umani. I livelli di adiponectina sono inversamente correlati con la resistenza dell'insulina nei modelli con roditori e coorti umane di obesità. Le potenziali funzioni insulino-sensibilizzanti sono riduzione dei depositi di grasso viscerale e accumulo dei lipidi epatici, mentre viene aumentato l'assorbimento di glucosio negli adipociti tramite GLUT4.

Le proteine IGFB-1 e IGFB-2 sono proteine associate positivamente ai miglioramenti della sensibilità all'insulina. Il trattamento con la tirzepatide ha registrato un aumento di queste proteine rispetto alla dulaglutide.

I limiti di queste analisi sono diversi. I risultati sono stati ottenuti da una ricerca post hoc su campioni di studi clinici di fase 2b. Per quanto riguarda la funzione delle cellule beta pancreatiche e sensibilità dell'insulina sono state limitate dalla raccolta del campione a digiuno. In questo studio l'80% dei soggetti era in terapia contemporaneamente con metformina quindi il range di effetti insulino-sensibilizzanti della tirzepatide potrebbero essere risultati sottostimati. I miglioramenti nella resistenza all'insulina con dosi di

tirzepatide da 10 mg e 15 mg erano solo parzialmente attribuibili alla perdita di peso, suggerendo che tirzepatide conferisce meccanismi distinti per il miglioramento della sensibilità all'insulina al fine di ottenere sostanziali riduzioni di HbA1c.²⁵

8.2.2. STUDIO NCT03311724

Questo studio di fase 2, in doppio cieco, controllato con placebo della durata di 12 settimane è stato progettato per valutare l'efficacia e la tollerabilità di dosi più elevate di tirzepatide (12 mg e 15 mg) utilizzando tre diversi regimi di aumento della dose. 111 pazienti sono stati randomizzati (1:1:1) a ricevere tirzepatide sottocutaneo o placebo una volta alla settimana. I gruppi di dosaggio di tirzepatide e i regimi di aumento della dose erano: 12 mg (4 mg settimane 0–3; 8 mg settimane 4–7; 12 mg settimane 8–11), 15 mg-1 (2,5 mg settimane 0–1; 5 mg settimane 2–3; 10 mg settimane 4–7; 15 mg settimane 8–11) e 15 mg-2 (2,5 mg settimane 0–3; 7,5 mg settimane 4–7; 15 mg settimane 8–11). L'outcome primario era confrontare tirzepatide con placebo nella variazione di HbA1c rispetto al basale a 12 settimane.

I pazienti randomizzati sono stati divisi come segue: placebo, 26; tirzepatide 12 mg, 29; tirzepatide 15 mg-1, 28; tirzepatide 15 mg-2, 28. L'età media era di 57,4 anni, HbA1c 8,4% e indice di massa corporea 31,9 kg/m². Alla settimana 12, la variazione assoluta dell'HbA1c rispetto al basale era maggiore nei gruppi di trattamento con tirzepatide rispetto al placebo (placebo, +0,2%; 12 mg, -1,7%; 15 mg-1, -2,0%; 15 mg-2, -1,8%). L'incidenza della nausea è stata: placebo, 7,7%; gruppo 12 mg, 24,1%; 15 mg-1 gruppo, 39,3%; gruppo 15 mg-2, 35,7%. Tre pazienti hanno interrotto il trattamento a causa di eventi avversi, uno per ciascuno dei gruppi placebo, 12 mg e 15 mg-1.

Gli effetti collaterali emergenti sono stati più numerosi nei gruppi con tirzepatide rispetto al placebo.

Il numero di pazienti con gli eventi avversi combinati di nausea, vomito e/o diarrea era numericamente maggiore nel gruppo di trattamento con tirzepatide 15 mg-1 (57,1%) rispetto al gruppo 12 mg (48,3%) e al gruppo 15 mg-2 (46,4%); tutti i gruppi di trattamento con tirzepatide hanno riportato più nausea, vomito e/o diarrea rispetto al placebo (11,5%). La gravità degli eventi di nausea, vomito e/o diarrea era di intensità da lieve a moderata. Nessuno degli eventi di nausea, vomito e/o diarrea è stato grave. Non sono stati segnalati casi di ipoglicemia grave.

Il fine dei due studi di fase 2 citati era andare a raccogliere dati per quanto riguarda andare a definire le dosi terapeutiche e quanto aumentare gradualmente le dosi durante le settimane durante gli studi. Da questi dati poi sono incominciati gli studi di fase 3 sulla tirzepatide.

Per concludere i risultati di questo studio erano paragonabili con lo studio di fase 2b fatto in precedenza per quanto riguarda l'emoglobina glicata e la perdita di peso dopo 12

settimane. Questo studio evidenzia rispetto al precedente studio di fase 2b che gli effetti collaterali gastro-intestinali con la tirzepatide al 15 mg erano minori andando a somministrare dosi basse iniziali e poi prolungando il periodo di aumento a 8 settimane. Il profilo di tollerabilità gastro-intestinale comunque può essere migliorato ulteriormente con aumenti più gradualmente della dose e una durata più lunga di esposizione alle diverse dosi. Infatti uno dei limiti di questo studio era la durata relativamente breve.²⁶

8.3. STUDIO CLINICO DI FASE 3

8.3.1 SURPASS 1

È stato eseguito uno studio di 40 settimane di fase 3 (SURPASS 1), in doppio cieco, randomizzato, controllato con placebo. I partecipanti adulti (≥18 anni) sono stati inclusi se avevano il diabete di tipo 2 non adeguatamente controllato dalla sola dieta ed esercizio fisico e se non erano in terapia con cure iniettabili per il diabete. I partecipanti sono stati assegnati in modo casuale (1:1:1:1) alla tirzepatide una volta alla settimana (5, 10 o 15 mg) o placebo.

L'endpoint primario era la variazione media dell'emoglobina glicata (HbA1c) rispetto al basale a 40 settimane.

I partecipanti sono stati 478 con HbA1c media basale 7,9%, durata del diabete 4,7 anni, 231 donne, indice di massa corporea 31,9 kg/m². Il 14% hanno interrotto il trattamento. A 40 settimane, tutte le dosi di tirzepatide erano superiori al placebo per le variazioni rispetto al basale di HbA1c (endpoint primario), glicemia a digiuno (endpoint secondario), peso corporeo (endpoint secondario) e proporzione di partecipanti con valori target di HbA1c inferiori a 7% (< 53 mmol/mol) e inferiore al 5,7% (<39 mmol/mol) (endpoint secondario). Media HbA1c è diminuita rispetto al basale dell'1,87% con tirzepatide 5 mg, 1,89% con tirzepatide 10 mg e 2,07% con tirzepatide 15 mg rispetto a +0,04% con placebo.

La tirzepatide ha indotto una perdita di peso corporeo dose-dipendente compresa tra 7,0 e 9,5 kg.

Gli eventi avversi più frequenti con tirzepatide sono stati eventi gastrointestinali da lievi a moderati e transitori, tra cui nausea (12–18% vs 6%), diarrea (12–14% vs 8%) e vomito (2–6% vs 2%). Con tirzepatide non sono state riportate ipoglicemie clinicamente significative o gravi. Gli effetti avversi erano simili a quelli degli agonisti selettivi del recettore GLP-1. Un decesso si è verificato nel gruppo placebo.

Non ha aumentato il rischio di ipoglicemia e il profilo di sicurezza era uguale a quello degli agonisti del GLP-1.

SURPASS-1 ha mostrato miglioramento significativo nel controllo glicemico e una riduzione del peso corporeo con tutte e 3 le dosi di tirzepatide rispetto al placebo. È

importante sottolineare che l'87-92% dei partecipanti trattati con tirzepatide ha raggiunto l'obiettivo di HbA1c raccomandato dall'American Diabetes Association (ADA) inferiore al 7,0% (<53 mmol/mol). Si sono registrati miglioramenti significativi nella glicemia a digiuno. Si è verificato un netto miglioramento dell'iperglicemia postprandiale questo indica che la tirzepatide va a migliorare la secrezione di insulina glucosio dipendente senza alcun collegamento con il discorso dello svuotamento gastrico.

Si sono registrate riduzioni significative del peso dose-dipendente a 40 settimane, con il 68-78% di partecipanti che hanno raggiunto con il trattamento con tirzepatide una perdita del 5% o superiori nei pazienti trattati che avevano T2DM e obesità.

Da evidenziare che la riduzione dell'emoglobina glicata si è stabilizzata a circa 20 settimane mentre la perdita di peso ha subito riduzioni progressive durante tutto lo studio. Questo evidenzia che l'emoglobina glicata è migliorata in parte dalla riduzione del peso ma anche grazie ad altri meccanismi.

L'importanza nella riduzione dell'emoglobina glicata senza aumentare il rischio ipoglicemico riduce il rischio di complicanze del diabete. Cercare di portare a valori normali l'HbA1c (<6%) è fondamentale perché c'è un'associazione con complicanze micro e macro vascolari con valori elevati di HbA1c. Questo è stato provato in uno studio prospettico del Regno Unito in cui hanno verificato l'importanza del miglioramento della glicemia. Qui hanno definito il limite critico entro il quale bisogna restare per evitare le complicanze del diabete.²⁷

Sono stati osservati anche cambiamenti favorevoli per quanto riguarda i lipidi a digiuno, nella sensibilità dell'insulina e nella pressione sistolica con tirzepatide.

Alcuni dubbi sono stati esposti per quanto riguarda la popolazione selezionata. I partecipanti avevano diabete di tipo 2 che era stato diagnosticato di recente; quindi, potrebbe essere che a causa di una maggiore conservazione delle cellule beta si registravano elevate riduzioni di emoglobina glicata già con tirzepatide 5 mg.

Un limite certo è la durata breve dello studio. Mentre un punto di forza era lo studio randomizzato con un controllo attraverso il placebo che non si distingueva dalle penne caricate con tirzepatide al momento della somministrazione.

Alla fine i risultati sono stati molto incoraggianti, l'utilizzo di tirzepatide in monoterapia ha mostrato un elevato potenziale.²⁸

8.3.2 SURPASS 2

Lo studio di fase 3 in aperto è stato testato per verificare l'efficacia e la sicurezza di tirzepatide una volta alla settimana rispetto a semaglutide. Sono stati arruolati in modo casuale 1879 pazienti, i criteri di inclusione erano un'età di 18 anni o più e il diabete di tipo 2 non adeguatamente controllato con metformina a una dose di almeno 1500 mg al giorno. I pazienti eleggibili avevano un livello di emoglobina glicata dal 7,0 al 10,5% e un indice di massa corporea (BMI) di almeno 25 e avevano un peso stabile ($\pm 5\%$) nei 3 mesi

precedenti. I pazienti sono stati assegnati in maniera casuale in un rapporto 1:1:1:1 a ricevere un'iniezione sottocutanea una volta alla settimana di tirzepatide alla dose di 5 mg, 10 mg o 15 mg o semaglutide a una dose di 1 mg con un successivo periodo di follow up di 4 settimane. Le caratteristiche erano per i soggetti presi nello studio, durata media del diabete di 8,6 anni, 8,28% come livello medio di emoglobina glicata, età media di 56,6 anni e un peso medio di 93,7 kg.

L'end point primario era il cambiamento dell'emoglobina glicata dal basale dopo le 40 settimane. Gli end point secondari erano la perdita di peso corporeo, variazione media del glucosio sierico a digiuno, indice di massa corporeo (BMI), circonferenza vita, livelli lipidici, valutazione del HOMA2-IR e livello di glucagone a digiuno.

La tirzepatide è stata iniziata con una dose di 2,5 mg una volta alla settimana e le dosi sono state aumentate di 2,5 mg ogni 4 settimane fino al raggiungimento della dose assegnata in modo casuale. Semaglutide è stato iniziato con una dose di 0,25 mg una volta alla settimana e la dose è stata raddoppiata ogni 4 settimane fino al raggiungimento di 1 mg. Una volta che si era raggiunta la dose finale, questa è rimasta costante fino alla fine dello studio (non ne era consentita la riduzione).

A 40 settimane, le riduzioni del livello medio di emoglobina glicata con tirzepatide alla dose di 5 mg, 10 mg e 15 mg sono state rispettivamente di -2,01 punti percentuali, -2,24 punti percentuali e -2,30 punti percentuali, rispetto a -1,86 punti percentuali con semaglutide Figura 25 A. Tutte le dosi di tirzepatide sono risultate superiori a semaglutide. 25 Figura B. Nella Figura 25 C vengono illustrati le percentuali di pazienti che hanno raggiunto gli obiettivi dell'emoglobina glicata con i vari dosaggi di tirzepatide e semaglutide. Sono state osservate maggiori riduzioni del livello di glucosio sierico a digiuno con tutte le dosi di tirzepatide rispetto a semaglutide 25 Figura D.

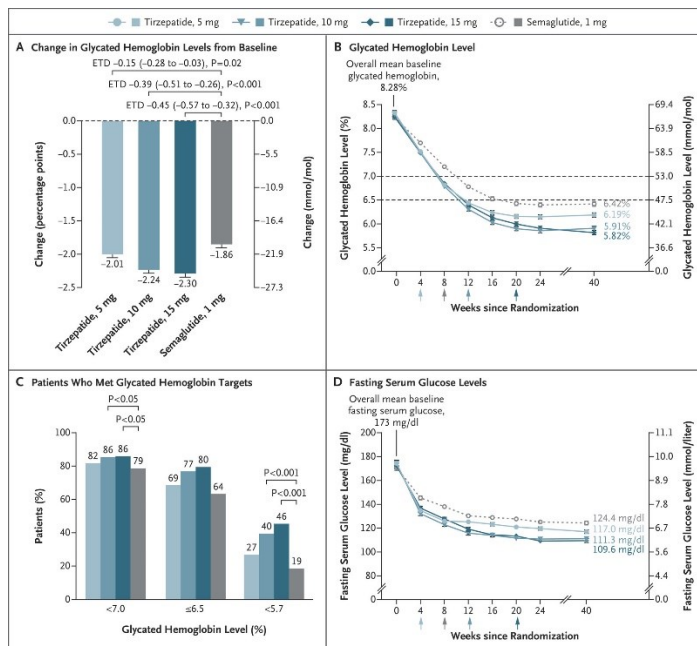


Figura 25 A: modifica dei livelli di emoglobina glicata rispetto al basale.

Figura 25 B: nell'asse delle ascisse sono indicate le settimane dall'inizio dello studio, mentre in quella delle ordinate viene indicato il livello di emoglobina glicata.

Nella Figura 25 C: I livelli di emoglobina glicata sono indicati sulle ascisse e le percentuali di pazienti sulle ordinate.

Figura 25 D: sulle ascisse sono indicate le settimane dall'inizio dello studio mentre sulle ordinate i livelli di glucosio sierico a digiuno.²⁹

Le riduzioni del peso corporeo con tirzepatide erano dose-dipendenti figura 26 A e B. A 40 settimane, le riduzioni medie del peso corporeo con tirzepatide alla dose di 5 mg, 10 mg e 15 mg sono state rispettivamente di -7,6 kg, -9,3 kg e -11,2 kg, rispetto a -5,7 kg con semaglutide. A tutte le dosi, tirzepatide era superiore a semaglutide. In figura 26 C sono mostrate le percentuali dei pazienti nei vari studi che hanno perso peso corporeo. A 40 settimane, i livelli sierici di trigliceridi e lipoproteine a densità molto bassa (LDL) erano più bassi e i livelli di colesterolo lipoproteico ad alta densità (HDL) erano più alti nei pazienti che hanno ricevuto tirzepatide rispetto a quelli che hanno ricevuto semaglutide. Figura 26 D.

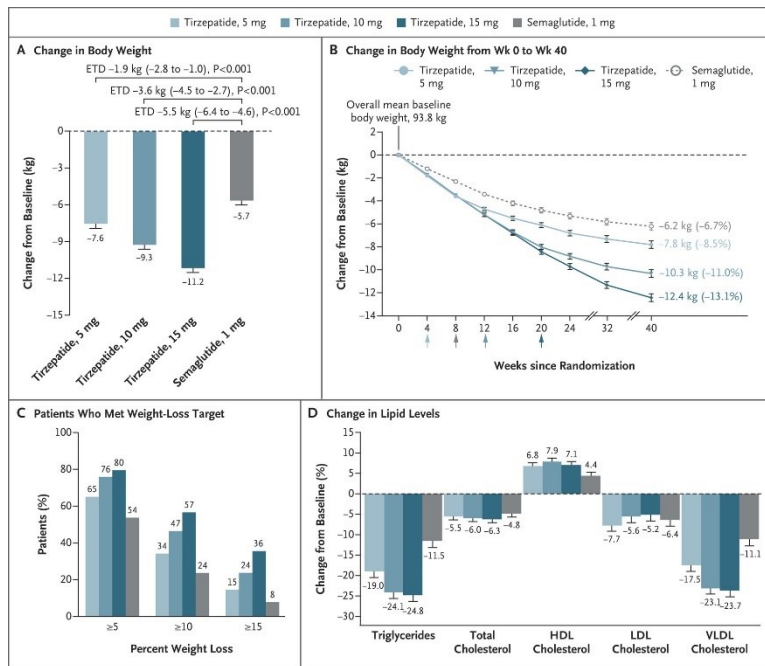


Figura 26 A: modifica del peso corporeo, ascisse vari dosaggi dei farmaci, ordinate cambiamento di peso dal basale (kg).

Figura 26 B: modifica del peso corporeo nelle varie settimane di trattamento, ascisse settimane del trattamento e ordinate cambiamento del peso dal basale (kg).

Figura 26 C: ascisse percentuali di perdita di peso, ordinate percentuali di pazienti.

Figura 26 D: ascisse indicazioni dei diversi livelli di lipidi, ordinate modificazioni dai livelli basali²⁹.

C'è stato un numero maggiore di eventi avversi gravi tra i pazienti che hanno ricevuto tirzepatide rispetto a quelli che hanno ricevuto semaglutide. L'evento avverso grave più frequente sono stati le polmoniti correlate al coronavirus.

Gli eventi avversi erano simili tra i quattro gruppi di trattamento, dove gli eventi più frequenti sono stati eventi gastrointestinali. Gli eventi sono stati di gravità da lieve a moderata e si sono verificati durante l'aumento della dose in tutti i gruppi.

Si sono verificati 13 decessi (0,7%) durante lo studio nella popolazione (4 pazienti in ciascuno dei tre gruppi tirzepatide e 1 paziente nel gruppo semaglutide). I decessi non sono stati collegati alla tirzepatide o alla semaglutide.

Ipoglicemia clinicamente significativa (livello di glucosio nel sangue, <54 mg per decilitro) è stata segnalata in 3 pazienti (0,6%), 1 paziente (0,2%) e 8 pazienti (1,7%) che hanno ricevuto tirzepatide alle dosi di 5 mg, 10 mg, e 15 mg, rispettivamente, rispetto a 2 pazienti (0,4%) che hanno ricevuto semaglutide. Due eventi di grave ipoglicemia sono stati segnalati uno nel gruppo tirzepatide 5mg e uno nel gruppo con tirzepatide 15 mg.

Casi di pancreatite confermati dall'aggiudicazione sono stati riportati in pazienti che hanno ricevuto tirzepatide (2 casi ciascuno nei gruppi da 10 mg e 15 mg) e in 3 pazienti che hanno ricevuto semaglutide. Nessun caso è stato grave.

Reazioni di ipersensibilità si sono verificate nell'1,7-2,8% dei pazienti che hanno ricevuto tirzepatide e nel 2,3% di quelli che hanno ricevuto semaglutide. Reazioni al sito di iniezione si sono verificate nell'1,9-4,5% dei pazienti che hanno ricevuto tirzepatide e nello 0,2% di quelli che hanno ricevuto semaglutide; queste reazioni erano di gravità da lieve a moderata.

In questo studio chiamato anche SURPASS 2, la tirzepatide alle diverse dosi (5 mg, 10 mg e 15 mg) hanno dimostrato la superiorità alla semaglutide 1 mg per quanto riguarda la riduzione dell'emoglobina glicata (end point primario) e la riduzione del peso (end point secondario). Un totale dall'82 all'86% dei pazienti che hanno ricevuto tirzepatide e il 79% di quelli che hanno ricevuto semaglutide ha raggiunto l'obiettivo del livello di emoglobina glicata inferiore al 7,0% raccomandato dall'American Diabetes Association e dall'European Association for the Study of Diabetes.

Per quanto riguarda gli effetti collaterali gastrointestinali sono risultati a quelli riportati con gli agonisti del recettore GLP-1. Vari end point secondari illustrati come profilo lipidico, pressione sanguigna e biomarcatori della sensibilità dell'insulina sono risultati migliorati.

L'aumento graduale e più lento della dose era associato a effetti collaterali gastrointestinali minori rispetto agli studi eseguiti nella fase 2.

Nello studio viene suggerito che uno dei limiti è stata l'impossibilità di fare il trattamento in cieco a causa della differenza nei dispositivi (per tirzepatide le varie dosi erano in cieco). Un limite ulteriore è stata la durata breve dello studio, in particolare la durata dello stato stazionario di 16 settimane per la dose più alta di tirzepatide. Da annotare che il numero

di pazienti neri era basso. Un limite molto importante è stato quello che non si è potuto confrontare tirzepatide con dosaggi più elevati di semaglutide (2,4 mg) poiché in quel momento non erano disponibili. I parametri che rendono questo studio affidabile è andare a comparare la tirzepatide con un comparatore attivo e il gran numero di pazienti arruolati per lo studio.²⁹

8.3.3 SURPASS 3

In questo studio si va a valutare l'efficacia e la sicurezza di tirzepatide rispetto all'insulina degludec titolata in persone con diabete di tipo 2 non adeguatamente controllato da metformina con o senza inibitori del co-trasportatore del glucosio di sodio 2 (SGLT2). Questo studio di fase 3 era in aperto, a gruppi paralleli, multicentrico e multinazionale. 1444 pazienti sono stati assegnati in modo casuale (1:1:1:1) a ricevere tirzepatide (5, 10 o 15 mg) una volta alla settimana o all'iniezione sottocutanea una volta al giorno di insulina degludec titolata una volta al giorno prima di coricarsi (titolata a una glicemia target a digiuno di <5,0 mmol/L) per 52 settimane. L'endpoint primario di efficacia era la non inferiorità di tirzepatide 10 mg o 15 mg, o entrambi, rispetto all'insulina degludec nella variazione media rispetto al basale dell'HbA1c alla settimana 52.

Le riduzioni di HbA1c alla settimana 52 erano 1,93% per tirzepatide 5 mg, 2,20% per tirzepatide 10 mg e 2,37% per tirzepatide 15 mg e 1,34% per insulina degludec.

Alla settimana 52 tutte e tre le dosi di tirzepatide hanno ridotto il peso corporeo (da -7,5 kg a -12,9 kg), mentre l'insulina degludec ha aumentato il peso corporeo di 2,3 kg.

Gli eventi avversi più comuni erano eventi gastrointestinali da lievi a moderati che sono diminuiti nel tempo con un'incidenza maggiore nella tirzepatide rispetto all'insulina degludec. Mentre altri effetti collaterali registrati sono stati casi di ipoglicemia in questo caso più numerosi nell'insulina degludec (7%) rispetto alla tirzepatide (1%) da 5 mg, (1%) da 10 mg e (2%) da 15 mg.

La tirzepatide (5, 10 e 15 mg) era superiore all'insulina degludec titolata, con maggiori riduzioni di HbA1c e peso corporeo alla settimana 52 e un minor rischio di ipoglicemia.³⁰

In un sotto studio di SURPASS 3 un sottogruppo di pazienti che provenivano dallo studio SURPASS 3 a cui i valori glicemici sono stati raccolti mediante il monitoraggio continuo del glucosio (CGM) per circa 7 gironi al basale, 24 settimane e 52 settimane. L'endpoint primario era valutare per quanto tempo i valori CGM rimanevano nell'intervallo target (71-140mg/dL) a 52 settimane confrontando i partecipanti che erano stati trattati con la tirzepatide rispetto all'insulina deglutece. I pazienti trattati con tirzepatide una volta alla settimana (gruppi di 10 mg e 15 mg aggregati) hanno avuto una percentuale di tempo maggiore in un intervallo target ristretto rispetto ai pazienti a cui è stata somministrata insulina degludec. I partecipanti assegnati a tirzepatide (10 e 15 mg) hanno trascorso molto più tempo in un range target ristretto a 52 settimane rispetto a quelli assegnati a insulina degludec.

Lo studio evidenzia che il trattamento con la tirzepatide mostra un controllo glicemico superiore rispetto all'insulina degludec in pazienti in trattamento con metformina, con e senza inibitori SGLT2. Questo studio evidenzia le potenzialità della tirzepatide per quanto riguarda gli obiettivi glicemici.³¹

8.3.4 SURPASS 4

In questo studio si è andati a valutare l'efficacia e la sicurezza della tirzepatide con un'attenzione alla sicurezza cardiovascolare rispetto all'insulina glargine negli adulti con diabete di tipo 2 ad alto rischio cardiovascolare.

Lo studio era in fase 3 in aperto, a gruppi paralleli e condotto in 14 paesi nei cinque continenti. I partecipanti idonei, di età pari o superiore a 18 anni, avevano il diabete di tipo 2 trattato con qualsiasi combinazione di metformina, sulfonilurea o inibitore del co-transportatore di sodio-glucosio, un'emoglobina glicata (HbA1c) basale del 7,5-10,5% (58–91 mmol/mol), indice di massa corporea pari o superiore a 25 kg/m² e malattia cardiovascolare accertata o ad alto rischio di eventi cardiovascolari. I partecipanti sono stati assegnati in modo casuale (1:1:1:3) all'iniezione sottocutanea di tirzepatide una volta alla settimana (5 mg, 10 mg o 15 mg) o glargine (100 U/mL) per raggiungere una glicemia a digiuno inferiore a 100 mg/dL. L'endpoint primario era verificare che l'emoglobina glicata fosse ridotta alla settimana 52 maggiormente rispetto all'insulina glargine. Lo studio è durato almeno 52 settimane fino ad un massimo di 104 settimane. Sono stati assegnati 2002 partecipanti in modo casuale a tirzepatide o insulina glargine. A 52 settimane, le variazioni medie di HbA1c con tirzepatide erano -2,43% con 10 mg e -2,58% con 15 mg, contro -1,44% con glargine.

Tirzepatide ha ridotto il peso corporeo in modo dose-dipendente. A 52 settimane, le variazioni medie del peso corporeo con tirzepatide erano -7,1 kg, -8,1% a 5 mg; -9,5 kg, -10,7% a 10 mg; e -11,7 kg, -13,0% a 15 mg contro un aumento di 1,9 kg, 2,2% con glargine.

Gli effetti collaterali gastrointestinali sono stati più frequenti nella tirzepatide, in particolare durante l'aumento del dosaggio. Gli effetti collaterali sono stati lievi o moderati. L'ipoglicemia era inferiore per tirzepatide rispetto a glargine, però sono necessarie ulteriori ricerche per valutare il potenziale ruolo dell'effetto glucagonotropico della tirzepatide correlato alla GIP nella prevenzione dell'ipoglicemia. Gli eventi cardiovascolari non sono aumentati con tirzepatide.

Le variazioni della glicemia e del peso dopo 52 settimane di trattamento con tirzepatide sono di entità simile a quelle osservate in altri studi che hanno confrontato tirzepatide con placebo, semaglutide iniettabile, e insulina degludec ad azione prolungata. Però in questi studi vi era una percentuale inferiore di persone con una storia di malattie cardiovascolari e le sulfoniluree sono state escluse come farmaco concomitante negli studi appena citati.

Sono stati osservati cambiamenti favorevoli nella pressione sanguigna, i risultati non sono stati influenzati dall'ampio uso dei classici farmaci per abbassare la pressione sanguigna nella popolazione studiata. Questo può contribuire alla migliore sicurezza cardiovascolare.

Inoltre c'è stato un miglioramento del profilo lipoproteico con una riduzione dei trigliceridi, colesterolo non HDL e LDL. Questi cambiamenti favorevoli erano maggiori di quelli osservati con gli agonisti del recettore GLP-1. I risultati erano stati riportati nello studio SURPASS-2.

Però per quanto riguarda l'impatto definitivo della tirzepatide sulle malattie cardiovascolari e bisognerà aspettare lo studio SURPASS-CVOT attualmente in corso che paragona la tirzepatide con dulaglutide che aveva dimostrato di essere cardioprotettivo nelle persone con diabete di tipo 2. Infatti per adesso la tirzepatide è risultata sicura dal punto di vista cardiovascolare ma sono necessari ulteriori studi per valutare la sicurezza e la potenziale protezione cardiovascolare.

Il confronto con l'insulina glargine è stato un punto di forza perché quest'insulina viene usata con una comprovata sicurezza cardiovascolare.³²

8.3.5 SURPASS 5

Questo clinico randomizzato di fase 3 è stato condotto su 475 adulti con diabete di tipo 2 e un controllo inadeguato glicemico con trattamento di insulina glargine una volta al giorno con o senza metformina. Questo studio va a valutare l'efficacia e la sicurezza della tirzepatide in aggiunta al trattamento con l'insulina glargine.

I pazienti sono stati randomizzati 1:1:1 a ricevere iniezioni sottocutanee una volta alla settimana di 5 mg, 10 mg o 15 mg di tirzepatide o placebo in 40 settimane. La tirzepatide è stata iniziata in maniera graduale a 2,5 mg a settimana per poi aumentare di 2,5 mg ogni 4 settimane fino al raggiungimento della dose definita.

L'end point primario era la variazione media rispetto al basale dell'emoglobina glicata alla settimana 40. Un endpoint secondario chiave era la variazione della perdita di peso.

Alla settimana 40, la variazione media di HbA1c rispetto al basale era -2,11% con 5 mg di tirzepatide, -2,40% con 10 mg di tirzepatide e -2,34% con 15 mg di tirzepatide rispetto a -0,86% con placebo. La variazione media del peso corporeo rispetto al basale era di -5,4 kg con 5 mg di tirzepatide, -7,5 kg con 10 mg di tirzepatide, -8,8 kg con 15 mg di tirzepatide e 1,6 kg con placebo.

Quando i farmaci ipoglicemizzanti orali (metformina) non riescono a controllare la glicemia nei pazienti con diabete di tipo 2 si va ad aggiungere un trattamento con le insuline. Questo trattamento in aggiunta riesce a migliorare il controllo glicemico con il problema però di aumentare il rischio di ipoglicemia ed aumentare il peso corporeo.

Questo risulta il primo studio in cui viene associata insulina basale con un doppio agonista GIP/GLP-1. Le linee guida consigliano di associare la terapia con gli agonisti GLP-1 prima dell'insulina basale, però nella pratica clinica è tuttora comune associare come prima terapia iniettabile l'insulina a causa dei costi e delle abitudini di prescrizione.

Alcune criticità nello studio sono ad esempio una percentuale bassa di partecipanti. Inoltre i pazienti erano in trattamento con insulina glargine con o senza metformina quindi per altri antiperglicemici orali si dovranno fare ulteriori studi.

Nei pazienti con diabete di tipo 2 l'aggiunta di tirzepatide all'insulina glargine ha comportato miglioramenti significativi nel controllo glicemico e nella riduzione del peso rispetto al placebo dopo le 40 settimane.³³

8.4. STUDIO SURMOUNT-1

Viene presentato uno studio in fase 3 multicentrico, in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo. I partecipanti sono stati selezionati e avevano questi criteri: età sopra i 18 anni, indice di massa corporea di 27 o più, delle complicanze associate all'obesità. I criteri di esclusione erano il diabete, variazioni di peso repentine di più di 5 kg nei 90 giorni prima, interventi o trattamenti che promuovevano la perdita di peso 90 giorni prima dell'inizio dello studio.

I partecipanti sono stati assegnati in modo casuale in un rapporto 1:1:1:1 a ricevere tirzepatide alla dose di 5 mg, 10 mg o 15 mg o placebo, somministrato per via sottocutanea una volta alla settimana per 72 settimane come trattamento in aggiunta all'intervento sullo stile di vita.

Nello studio era prevista una somministrazione di tirzepatide di 2,5 mg una volta alla settimana e veniva aumentato di 2,5 mg ogni 4 settimane. Nel gruppo dove veniva somministrata tirzepatide 15 mg bisognava raggiungere l'intera dose entro le 20 settimane. Dopo le 72 settimane c'è stato un periodo di follow up di 4 settimane.

Lo studio era composto da 2539 partecipanti, l'età media era di 44,9 anni, il peso corporeo medio 104,8 kg, il BMI medio era 38,0. Il 94,5% dei partecipanti aveva un BMI di 30 o superiore.

La variazione media di peso alla settimana 72 era -15,0% con una dose settimanale di 5 mg di tirzepatide, -19,5% con una dose di 10 mg, e -20,9% con una dose di 15 mg e -3,1% con placebo. Figura 27 A. rispetto al placebo tutte le dosi con tirzepatide sono risultate significative nella perdita di peso. Figura 27 A

La variazione media di peso alla settimana 72 con tirzepatide è stata di - 16,1 kg, con la dose di 5 mg; una riduzione di 22,2 kg, con la dose di 10 mg; e una riduzione di 23,6 kg con la dose da 15 mg e la variazione media con il placebo è stata una riduzione di 2,4 kg. Figura 27 B

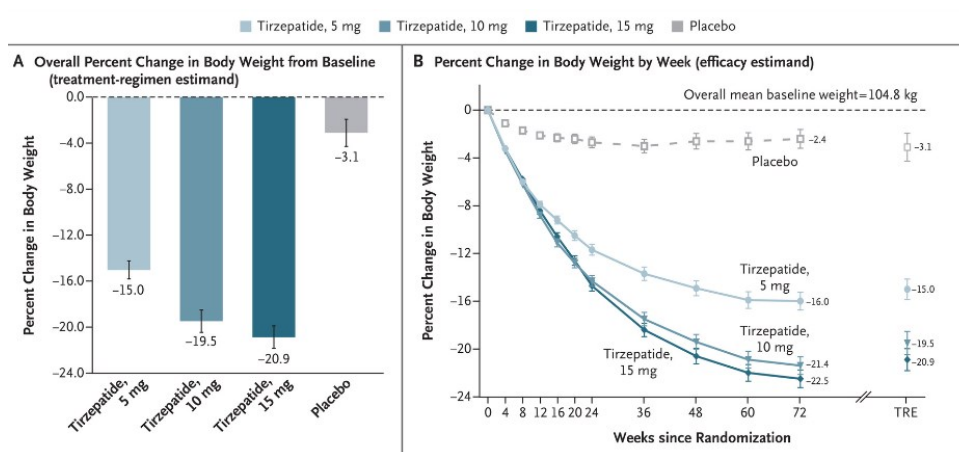


Figura A: ascisse posologia di tirzepatide o placebo usato; ordinate: variazione percentuale del peso corporeo rispetto al basale.

Figura B: ascisse settimane del trattamento; ordinate: variazione percentuale del peso corporeo rispetto al basale.³⁴

La riduzione media della massa grassa corporea totale è stata del 33,9% con tirzepatide, rispetto all'8,2% con placebo. Il rapporto tra massa grassa totale e massa magra totale è diminuito maggiormente con tirzepatide (da 0,93 al basale a 0,70 alla settimana 72) rispetto al placebo (da 0,95 a 0,88)

I livelli di insulina a digiuno, livelli lipidici, pressione sanguigna sistolica e diastolica e circonferenza della vita hanno avuto un miglioramento con tirzepatide. Nello studio erano presenti partecipanti nello stato prediabatico si è notata un ripristino della normoglicemia per il 95,3% di questi soggetti, rispetto al 62% dei partecipanti avevano ricevuto il placebo.

Il profilo di sicurezza della tirzepatide rispecchiava i risultati negli studi clinici SURPASS con pazienti diabetici di tipo 2 e altre terapie a base di incretina per trattare l'obesità. Gli eventi avversi che si sono presentati maggiormente sono problemi gastrointestinali. Per il gruppo trattato con tirzepatide l'intervallo di eventi avversi è stato tra il 78,9-81,8%, mentre per il placebo gli eventi avversi sono stati del 72,0%. Quindi si sono verificati molto di più nei partecipanti tratti con tirzepatide e si sono verificati spesso durante l'aumento della dose.

Gli eventi avversi segnalati sono stati il 6,3% (160 partecipanti) però il 21% degli eventi avversi era dovuto al coronavirus poiché lo studio è stato condotto da dicembre 2019 ad aprile 2022. I decessi sono stati 11; 4 2 1 per tirzepatide rispettivamente al 5 mg, 10 mg e 15 mg mentre 4 con placebo. Un terzo dei decessi è stato associato al Coronavirus.

Dallo studio si può osservare un'ampia dimensione del campione e un alto tasso di completamento. L'86% dei partecipanti ha completato lo studio. Le 72 settimane hanno permesso ai partecipanti di raggiungere i livelli di peso.

Un punto contestabile sono stati i miglioramenti dei lipidi e della pressione sanguigna perché tra i partecipanti risultavano già abbastanza normali, anche se ci sono stati

miglioramenti significativi. Il coronavirus è stato un elemento che ha inquinato poi i risultati delle reazioni avverse. Un altro importante punto critico è stato un arruolamento elevato di partecipanti obesi con BMI sopra i 30 che non rispecchiano la popolazione generale con obesità ma si tratterebbe di un sottogruppo. Nello studio sono stati arruolati solo il 5,5% di partecipanti sovrappeso (BMI da 27 - <30).

Una riduzione del peso corporeo del 5% è stata considerata come un valore significativo per quanto riguarda la salute metabolica e in questo studio la maggior parte (89% - 91%) dei partecipanti che hanno ricevuto dosi di 10 mg o 15 mg di tirzepatide ha raggiunto questo target.

La semaglutide è stata usata per un studio su persone obese non diabetiche per la riduzione del peso ma non si può confrontare con questo studio perché le popolazioni e i disegni degli studi differiscono.³⁴

9. BIBLIOGRAFIA

1. Baggio, L. L. & Drucker, D. J. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* **132**, 2131–2157 (2007).
2. Min, T. & Bain, S. C. The Role of Tirzepatide, Dual GIP and GLP-1 Receptor Agonist, in the Management of Type 2 Diabetes: The SURPASS Clinical Trials. *Diabetes Ther.* **12**, 143–157 (2021).
3. Coskun, T. *et al.* LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist for the treatment of type 2 diabetes mellitus: From discovery to clinical proof of concept. *Mol. Metab.* **18**, 3 (2018).
4. Syed, Y. Y. Tirzepatide: First Approval. *Drugs* **82**, 1213–1220 (2022).
5. Mayendraraj, A., Rosenkilde, M. M. & Gasbjerg, L. S. GLP-1 and GIP receptor signaling in beta cells – A review of receptor interactions and co-stimulation. *Peptides* **151**, 170749 (2022).
6. La FDA approva un nuovo trattamento a doppio target per il diabete di tipo 2 | FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-dual-targeted-treatment-type-2-diabetes>.
7. fda & cder. HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION.
8. Nelson, D. L. & Cox, M. M. Principi di Biochimica di Lehninger. *Lehninger Princ. Biochem.* **7. ed. ita**, XXVI, 1254 p. (2006).
9. Hoare, S. R. J. Mechanisms of peptide and nonpeptide ligand binding to Class B G-protein-coupled receptors. *Drug Discov. Today* **10**, 417–427 (2005).
10. Gether, U. Uncovering Molecular Mechanisms Involved in Activation of G Protein-Coupled Receptors. *Endocr. Rev.* **21**, 90–113 (2000).
11. Jazayeri, A. *et al.* Crystal structure of the GLP-1 receptor bound to a peptide agonist. *Nat.* **2017 5467657** **546**, 254–258 (2017).
12. Andersen, A., Lund, A., Knop, F. K. & Vilsbøll, T. Glucagon-like peptide 1 in health and disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2018 147** **14**, 390–403 (2018).
13. Smith, N. K., Hackett, T. A., Galli, A. & Flynn, C. R. GLP-1: Molecular mechanisms and outcomes of a complex signaling system. *Neurochem. Int.* **128**, 94–105 (2019).
14. Campbell, J. E. & Drucker, D. J. Pharmacology, Physiology, and Mechanisms of Incretin Hormone Action. *Cell Metab.* **17**, 819–837 (2013).
15. Finan, B. *et al.* Reappraisal of GIP Pharmacology for Metabolic Diseases. *Trends Mol. Med.* **22**, 359–376 (2016).
16. Moens, K. *et al.* Expression and Functional Activity of Glucagon, Glucagon-Like Peptide I, and Glucose-Dependent Insulinotropic Peptide Receptors in Rat Pancreatic Islet Cells. *Diabetes* **45**, 257–261 (1996).

17. Gabe, M. B. N., van der Velden, W. J. C., Smit, F. X., Gasbjerg, L. S. & Rosenkilde, M. M. Molecular interactions of full-length and truncated GIP peptides with the GIP receptor - A comprehensive review. *Peptides* **125**, (2020).
18. Seino, Y., Fukushima, M. & Yabe, D. GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. *J. Diabetes Investig.* **1**, 8–23 (2010).
19. Samms, R. J., Coghlan, M. P. & Sloop, K. W. How May GIP Enhance the Therapeutic Efficacy of GLP-1? *Trends Endocrinol. Metab.* **31**, 410–421 (2020).
20. Asmar, M. *et al.* Glucose-dependent insulinotropic polypeptide may enhance fatty acid re-esterification in subcutaneous abdominal adipose tissue in lean humans. *Diabetes* **59**, 2160–2163 (2010).
21. Asmar, M. *et al.* The blunted effect of glucose-dependent insulinotropic polypeptide in subcutaneous abdominal adipose tissue in obese subjects is partly reversed by weight loss. *Nutr. Diabetes* **6**, (2016).
22. Wang, L. Designing a Dual GLP-1R/GIPR Agonist from Tirzepatide: Comparing Residues Between Tirzepatide, GLP-1, and GIP. *Drug Des. Devel. Ther.* **16**, 1547–1559 (2022).
23. Sun, B. *et al.* Structural determinants of dual incretin receptor agonism by tirzepatide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **119**, (2022).
24. Frias, J. P. *et al.* Efficacy and safety of LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in patients with type 2 diabetes: a randomised, placebo-controlled and active comparator-controlled phase 2 trial. *Lancet* **392**, 2180–2193 (2018).
25. Thomas, M. K. *et al.* Dual GIP and GLP-1 Receptor Agonist Tirzepatide Improves Beta-cell Function and Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **106**, 388 (2021).
26. Frias, J. P. *et al.* Efficacy and tolerability of tirzepatide, a dual glucose-dependent insulinotropic peptide and glucagon-like peptide-1 receptor agonist in patients with type 2 diabetes: A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate different dose-escalation regimens. *Diabetes, Obes. Metab.* **22**, 938–946 (2020).
27. Stratton, I. M. *et al.* Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* **321**, 405–412 (2000).
28. Rosenstock, J. *et al.* Efficacy and safety of a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist tirzepatide in patients with type 2 diabetes (SURPASS-1): a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet* **398**, 143–155 (2021).
29. Frías, J. P. *et al.* Tirzepatide versus Semaglutide Once Weekly in Patients with Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* **385**, 503–515 (2021).
30. Ludvik, B. *et al.* Once-weekly tirzepatide versus once-daily insulin degludec as add-on to metformin with or without SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes (SURPASS-3): a randomised, open-label, parallel-group, phase 3 trial. *Lancet* **398**, 583–598 (2021).

31. Battelino, T. *et al.* Efficacy of once-weekly tirzepatide versus once-daily insulin degludec on glycaemic control measured by continuous glucose monitoring in adults with type 2 diabetes (SURPASS-3 CGM): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **10**, 407–417 (2022).
32. Del Prato, S. *et al.* Tirzepatide versus insulin glargine in type 2 diabetes and increased cardiovascular risk (SURPASS-4): a randomised, open-label, parallel-group, multicentre, phase 3 trial. *Lancet (London, England)* **398**, 1811–1824 (2021).
33. Dahl, D. *et al.* Effect of Subcutaneous Tirzepatide vs Placebo Added to Titrated Insulin Glargine on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes: The SURPASS-5 Randomized Clinical Trial. *JAMA* **327**, 534–545 (2022).
34. Jastreboff, A. M. *et al.* Tirzepatide Once Weekly for the Treatment of Obesity. *N. Engl. J. Med.* (2022)
doi:10.1056/NEJMOA2206038/SUPPL_FILE/NEJMOA2206038_DATA-SHARING.PDF.

