

# IL NUOVO ANALOGO DELL'INSULINA AD AZIONE RITARDATA GLARGINE: CARATTERISTICHE E USO TERAPEUTICO NEL DIABETE MELLITO

P. ROSSETTI, G.B. BOLLI

Dipartimento di Medicina Interna, Endocrinologia e Metabolismo, Università degli Studi di Perugia, Perugia

Il nuovo analogo dell'insulina ad azione ritardo, glargine (Lantus, Aventis Pharma), è stato approvato per l'uso in pazienti con diabete mellito di tipo 1 (T1 DM) e tipo 2 (T2 DM) dall'ente statunitense Food and Drug Administration (FDA) nell'aprile 2000, e dalla European Agency for the evaluation of Medicinal Products (EMEA) nel successivo mese di giugno. Da allora, Lantus è in vendita in Germania. La disponibilità di un preparato insulinico che potesse provvedere al fabbisogno d'insulina basale è stata attesa a lungo (1). Alcune domande riguardo a glargine sono legittime. Di quale tipo d'insulina ad azione ritardo si tratta? È un analogo dell'insulina sicuro? Se sì, qual è il miglior modo di utilizzarlo?

Glargine (21A-Gly-30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg-human insulin) è prodotta attraverso la tecnica del DNA ricombinante. Essa risulta da due modificazioni della molecola dell'insulina umana. La prima consiste nell'aggiunta di due cariche positive (due molecole di arginina) alla porzione C-terminale della catena B. Ciò si risolve in uno spostamento del punto isoelettrico da un pH di 5,4 a  $6,7 \pm 0,2$ , che rende la molecola più solubile a un pH leggermente acido e meno solubile al pH fisiologico del tessuto sottocutaneo. Dato che l'insulina glargine è formulata a un pH acido (il che significa che non può essere miscelato ad altre insuline formulate a pH neutro, come l'insulina umana), è necessaria una seconda modificazione per evitare la deamidazione e la dimerizzazione causata dal residuo di asparagina in posizione 21 della catena A. La sostituzione della asparagina in A21 con una glicina conferisce carica neutra al risultante analogo dell'insulina umana, e si associa a una buona stabilità (1). Iniettata come soluzione a pH 4, l'insulina glargine, che è una soluzione limpida, forma dei microprecipitati al pH fisiologico (neutro) del tessuto sottocutaneo. A causa della sua stabilità, glargine presenta un assorbimento ritardato e prolungato dal sito sottocutaneo di iniezione, provvedendo a un riforni-

mento di insulina basale abbastanza costante nel tempo. Ciò ben simula la secrezione basale di insulina nella popolazione non diabetica durante lo stato di digiuno interprandiale.

## Glargine è un analogo dell'insulina sicuro?

Il potenziale mitogenico di ogni nuovo preparato insulinico è di interesse considerevole dato che è probabile che esso verrà utilizzato per lungo tempo, e data la precedente osservazione di sviluppo di tumori mammari in un ceppo di topi cui era stato somministrato l'analogo dell'insulina ad azione rapida B10-Asp. Modificazioni nella struttura della molecola di insulina possono alterare l'interazione dell'ormone con i recettori per l'insulina e con quelli per il fattore di crescita insulino-simile tipo 1 (IGF-I). Glargine ha un'affinità per il recettore dell'insulina che è minore di quella dell'insulina umana, e di conseguenza una potenza *in vitro* (basata sulla lipogenesi) del 60%, ma un'equivalente potenza *in vivo* dato che le concentrazioni plasmatiche raggiunte sono superiori rispetto a quelle dell'insulina umana (1). Glargine si dissocia dall'isoforma A dei recettori insulinici una volta e mezzo più rapidamente rispetto all'insulina umana. Al contrario, l'analogo a durata d'azione rapida Asp-B10 si dissocia a una velocità che è solo il 10-20% di quella dell'insulina umana. Come l'analogo Asp-B10, glargine ha un'affinità per il recettore di IGF-I fino a sei volte maggiore rispetto all'insulina umana (2). In linee cellulari con elevata e predominante espressione di recettori per IGF-I, come la linea cellulare Saos/B10 (2) dell'osteosarcoma umano e le cellule dell'epitelio mammario umano HMEC, è stata descritta una stretta relazione tra affinità al recettore IGF-1 e potenziale mitogenico

(3). Comunque, dato che solo l'analogo insulinico Asp-B10 ha causato tumori mammari nel ratto quando somministrato ad alte dosi (12,5-200 U/kg), mentre l'insulina glargine somministrata a ratti e topi a dosi inferiori (2,0-12,5 U/kg), ma più a lungo (due anni), non lo ha fatto, l'affinità per il recettore IGF-I e il potenziale mitogeno dell'analogo dell'insulina osservato *in vitro*, non ha valore predittivo per l'effetto carcinogenetico. Ciò suggerisce che un lungo tempo di permanenza dell'analogo di insulina sul recettore insulinico, e non su quello dell'IGF-I, potrebbe essere una componente importante dell'incrementata mitogenicità dell'analogo Asp-B10. Glargine e l'insulina umana hanno una simile durata di legame al recettore per l'insulina e dei segnali intracellulari, mentre l'azione dell'analogo Asp-B10 è più persistente. Esperimenti con glargine utilizzando linee cellulari che esprimono prevalentemente recettori insulinici (fibroblasti di ratto) (4) e linee cellulari di epitelio mammario umano MCF10 (H.U. Häring, comunicazione personale), non hanno mostrato incremento della mitogenicità, misurata dalla capacità a incorporare timidina marcata.

La rilevanza clinica della recente osservazione di Kurtzhals e coll. (2) di un'aumentata mitogenicità di glargine rispetto all'insulina umana in una linea di cellule maligne (osteosarcoma umano, Saos/B10), rimane pertanto al momento attuale incerta. È auspicabile che in futuro i vari ricercatori si accordino nell'utilizzare modelli sperimentali omogenei di linee cellulari, dal momento che i risultati ottenuti sono variabili in funzione delle diverse caratteristiche di tessuti e cellule utilizzate.

L'osservazione di una progressione al terzo grado di retinopatia (in accordo con la scala utilizzata nell'Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) in alcuni pazienti con diabete di tipo 2 trattato con insulina glargine in studi della durata uguale o minore a un anno, ha sollevato preoccupazioni poiché i segnali dell'IGF-I sono stati implicati nella regolazione della neovascolarizzazione retinica mediata da fattori di crescita dell'endotelio vascolare (5). Comunque, una revisione dei dati sulla retinopatia e l'assenza di edema del disco ottico durante gli studi (il più comune effetto collaterale del trattamento con IGF-I), hanno condotto un panel indipendente di esperti a concludere che tali risultati fossero "casuali" e non correlati alla terapia con glargine. Ciononostante, l'FDA ha imposto alla ditta produttrice uno studio prospettico per fugare ogni remoto dubbio su un possibile rapporto fra uso di glargine e progressione della retinopatia. Tale studio che coin-

volgerà circa 800 pazienti e durerà 5 anni, è iniziato nel febbraio 2001.

### **I pazienti diabetici che richiedono terapia insulinica necessitano realmente di una nuova insulina a lunga durata d'azione?**

Ovviamente sì. Le esistenti formulazioni insuliniche ad azione intermedia (neutral protamin Hagedorn [NPH], lenta) e quelle ad azione lenta (ultralenta), non riproducono l'effetto atteso da un'insulina basale. Tutti i preparati insulinici esistenti ad azione ritardata hanno un profilo d'azione con un picco, una durata d'azione breve, e una grande variabilità intra- e inter-soggetto dell'assorbimento sottocutaneo. L'omeostasi fisiologica della glicemia dei soggetti normali non-diabetici nei periodi interprandiale e notturno, è finemente regolata grazie a una lenta e continua secrezione d'insulina. Dato che la concentrazione d'insulina rimane stabile durante la notte, i soggetti normali non-diabetici non rischiano l'ipoglicemia notturna o l'iperglicemia all'alba.

Pertanto, mimando la natura, l'uso di un'insulina con un profilo d'azione privo di picco dovrebbe migliorare il controllo glicemico nei pazienti con T1 DM, specialmente in quelli con deficit assoluto di cellule  $\beta$ -pancreatiche. Questa idea fu testata da Pickup e coll. circa 25 anni fa nel loro pionieristico lavoro con infusione sottocutanea continua d'insulina (CSII) (6). La CSII rimane a tutt'oggi lo standard di riferimento contro il quale ogni nuovo candidato di insulina basale, come glargine, deve essere testato. Nel T1 DM, l'azione di una dose di glargine, così come determinato con la tecnica del clamp isoglicemico, inizia circa 90 min dopo l'iniezione s.c. nella parte mediale della coscia (50 min con NPH), e dura 24 ore (14 ore con NPH) (7). Inoltre, il profilo d'attività di glargine mima fedelmente quello della CSII, mentre l'NPH mostra un picco tra la 3<sup>a</sup> e la 6<sup>a</sup> ora dall'iniezione s.c., seguito da un rapido decremento dell'azione. Anche nei soggetti non diabetici, l'iniezione s.c. di glargine esibisce un profilo d'attività privo di picco (8, 9). Esiste poi solo una piccola o addirittura nulla differenza nella cinetica di assorbimento di glargine in dipendenza del sito di iniezione, nei soggetti non-diabetici (8).

In teoria, il profilo d'azione lungo e privo di picco di glargine dovrebbe ridurre la probabilità di ipoglicemia notturna e dovrebbe migliorare il controllo glicemico. Dati preliminari di studi di registrazione sia a

breve (4 settimane) che a lungo termine (16-52 settimane), supportano tali aspettative (10, 11). La stessa cosa si è osservata in uno studio più recente, nel quale si sono riscontrati meno episodi di ipoglicemia con glargine che con NPH, specialmente durante la notte (65,1 vs 101 episodi per 1000 pazienti/anno,  $p < 0,05$ ) (12). Comunque, erano state registrate come ipoglicemie solo quegli episodi con glicemia inferiore a 2,0 mmol/L. Nessun cambiamento nel controllo glicemico complessivo (o nell'emoglobina glicosilata) è stato finora osservato con la sostituzione di NPH con glargine (10, 12). Comunque, negli studi nel diabete di tipo 1 (7, 8), glargine era somministrata con insulina umana regolare ai pasti. Il suo impiego potrebbe verosimilmente essere ottimizzato con un regime che preveda la somministrazione unica giornaliera di glargine con analoghi a breve durata d'azione ai pasti, nel diabete di tipo 1. Questo è stato fatto nel recente lavoro di Raskin e coll. (13). Uno schema del genere dovrebbe essere comparato, nei pazienti con diabete di tipo 1, con la CSII o con NPH (somministrata fino a quattro volte al giorno) (14). Trial sono inoltre necessari per paragonare la capacità di glargine rispetto a NPH, somministrate al momento di coricarsi, di ristabilire la normalità della glicemia a digiuno in pazienti con diabete di tipo 2 (12).

Un vantaggio dell'insulina glargine sia sull'NPH che sull'insulina lenta, è che glargine può essere iniettata senza bisogno di essere preventivamente risospesa nelle fiale o cartucce, fatto, questo, che è tra le cause più importanti della variabilità nell'assorbimento delle insuline ad azione intermedia. La scarsa attenzione dei pazienti a una risospensione accurata dell'NPH nelle cartucce prima dell'iniezione con la penna, può causare una variazione del contenuto di NPH in un intervallo compreso tra il 5 e il 214% (15). In una serie di studi di clamp effettuati in soggetti non-diabetici dopo l'iniezione sottocutanea di 0,3 U/kg di NPH, si è riscontrata fino a un 50% di differenza nel tempo di raggiungimento del picco di concentrazione plasmatica, nella durata d'azione, e soprattutto nel profilo d'azione dell'NPH adeguatamente risospesa rispetto a quella non-miscelata (osservazione personale).

Dopo 50 anni dall'invenzione dell'insulina NPH da parte di Hagedorn, e dell'insulina lenta da parte di Hallas-Møller, non erano mai state introdotte formulazioni insuliniche ad azione intermedia o prolungata migliorativa. I dati di farmacocinetica e farmacodinamica dell'insulina glargine, unitamente a i risultati dei primi studi clinici, suggeriscono che questa insulina basale potrebbe migliorare il controllo glicemico

a lungo termine dei pazienti diabetici insulino-dipendenti. Glargine, somministrata in un regime con gli analoghi insulinici a breve durata d'azione, dovrebbe ridurre la glicemia nello stato post-assorbitivo (digiuno), e dovrebbe anche ridurre il rischio di ipoglicemia (primariamente notturna). Se queste aspettative saranno realizzate, l'introduzione dell'insulina glargine rappresenterà un'importante pietra miliare nella storia evolutiva della terapia insulinica.

## Bibliografia

1. Bolli GB, Di Marchi RD, Park GD, Pramming S, Koivisto VA: Insulin analogues and their potential in the management of diabetes mellitus. *Diabetologia* **42**, 1151-1167, 1999
2. Kurtzhals P, Schaeffer L, Sorensen A et al: Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. *Diabetes* **49**, 999-1005, 2000
3. Sliker LJ, Brooke GS, Di Marchi RD et al: Modifications in the B10 and B26-30 of the B chain of human insulin alter affinity for the human IGF-I receptor more than for the insulin receptor. *Diabetologia* **40** (suppl 2), S54-61, 1997
4. Berti L, Keller M, Bossenmaier B et al: The long acting insulin analog HOE 901: characteristics of insulin signaling in comparison to Asp(B10) and regular insulin. *Horm Metab Res* **30**, 123-129, 1998
5. Smith LEH, Shen W, Peruzzi C et al: Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-I receptor. *Nat Med* **5**, 1390-1395, 1999
6. Pickup JC, Keen H, Parsons JA, Alberti KGMM: Continuous subcutaneous insulin infusion: an approach to achieving normoglycaemia. *Br Med J* **1**, 204-207, 1978
7. Lepore M, Pampanelli S, Fanelli C et al: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous injection of the long-acting human insulin analog glargine, NPH insulin, and ultralente human insulin and continuous subcutaneous infusion of insulin lispro. *Diabetes* **49**, 2142-2148, 2000
8. Owens DR, Barnett A: Designer insulins. Have they revolutionized insulin therapy? In: Betteridge JD (Ed): *Diabetes-current perspectives*. Martin Dunitz, London, 1999
9. Heinemann L, Linkeschova R, Rave K, Hompesch B, Sedlak M, Heise T: Time action profile of the long acting insulin analog insulin glargine (HOE901) in comparison of those of NPH insulin and placebo. *Diabetes Care* **23**, 6440-6449, 2000
10. Pieber T, Eugene-Jolkine I, Derobert E: Efficacy and safety of HOE 901 in patients with type 1 diabetes: a four week randomised, NPH insulin controlled trial. *Diabetes Care* **23**, 157-162, 2000
11. Ratner RE, Hirsch IB, Neifing JL, Garg SK, Mecca TE,

- Wilson CA: Less hypoglycemia with insulin glargine in intensive insulin therapy for type 1 diabetes. *Diabetes Care* **23**, 639-643, 2000
12. Yki-Jarvinen H, Dressler A, Ziemer M, Study Group HOE 901/3002: Less nocturnal hypoglycemia and better post-dinner glucose control with bedtime insulin glargine compared with bedtime NPH insulin during insulin combination therapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* **23**, 1130-1136, 2000
13. Raskin P, Klaff L, Bergenstal R et al: A 16-week comparison of the novel insulin analog insulin glargine (HOE 901) and NPH human insulin used with insulin lispro in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* **23**, 1666-2671, 2000
14. Bolli GB: Rationale for using combinations of short acting insulin analogue and NPH insulins at mealtime in the treatment of type 1 diabetes mellitus. *J Ped Endocrinol Metab* **12** (suppl 3), 737-744, 1999
15. Jehle PM, Micheler C, Jehle DR, Breiting D, Bohem BO: Inadequate suspension of neutral protamine Hagedorn (NPH) insulin in pens. *Lancet* **354**, 1604-1607, 1999

---

*Corrispondenza a: Dott. Geremia B. Bolli, Di.M.I., Università degli Studi di Perugia, Via E. Dal Pozzo, 06126 Perugia e-mail:gerbolli@tin.it*

*Pervenuto in Redazione il 27/11/2000 - Accettato per la pubblicazione il 19/3/2001*