

Update sul meccanismo dell'inibizione della dipeptidil peptidasi-4 (DPP-4) e sulle possibili ricadute nell'uso clinico delle gliptine



C.B. Giorda
giordaca@tin.it

SC Malattie Metaboliche e Diabetologia - ASL Torino 5, Ospedale Maggiore, Chieri (TO)

Parole chiave: Incretine, DPP-4i, Vildagliptin, Sitagliptin, MAGE

Key words: Incretins, DPP-4i, Vildagliptin, Sitagliptin, MAGE

Il Giornale di AMD, 2014;17:33-37

Riassunto

Sulla base del meccanismo d'azione, i farmaci incretinici si dividono in incretino-mimetici e inibitori della dipeptidil peptidasi-4 (DPP4i). Questi ultimi differiscono tra loro per la cinetica dell'inibizione e, di conseguenza, per l'entità e la qualità del blocco enzimatico. Gli DPP-4i possono presentare un meccanismo d'azione di tipo inibitore-substrato, con formazione di un complesso covalente reversibile (per esempio vildagliptin), oppure di tipo inibitore-competitivo senza interazioni covalenti, come sitagliptin. La diversa modalità di interazione influenza la durata dell'inibizione dell'attività catalitica della DPP-4. La comparazione diretta di vildagliptin vs sitagliptin ha dimostrato che vildagliptin determina una maggiore riduzione della mean amplitude of glycemic excursion (MAGE), oltre a permettere di ottenere livelli ematici di glucagone inferiori, livelli plasmatici di GLP-1 attivo maggiori e una riduzione del valore della glicemia media giornaliera e dell'iperglicemia totale e basale. A oggi l'efficacia ipoglicemizzante e la sicurezza d'uso sono considerate elementi comuni a tutti gli DPP-4i, tuttavia in considerazione della provata attività ossidante della variabilità glicemica è probabile che questi effetti abbiano un valore aggiunto per alcune tipologie di pazienti.

Summary

On the basis of their mechanism of action, incretin drugs are divided into incretin-mimetics and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (DPP-4i). The latter differ from one other in inhibition kinetics and consequently in the extent and quality of the enzyme block. DPP-4i may act as substrate inhibitors, with formation of a reversible covalent complex (e.g. vildagliptin), or as competitive inhibitors without covalent interactions, like sitagliptin. The different mode of interaction influences the duration of the inhibition of DPP-4 catalytic activity. Direct comparison of vildagliptin vs sitagliptin demonstrated that vildagliptin allows for a greater reduction in the mean amplitude of glycemic excursion (MAGE), as well as enabling lower serum glucagon levels and higher plasma active GLP-1 levels to be achieved and provides reduction in mean daily blood glucose level and total and basal hyperglycemia. Although glucose lowering efficacy and safety are considered common traits to all DPP-4i, considering

the oxidizing activity of glycaemic variability, it is likely that such effects have added value in specific subpopulations of patients.

Introduzione

Da alcuni decenni la comunità scientifica è venuta a conoscenza dell'esistenza di enterormoni chiamati incretine (glucagon-like peptide-1 [GLP-1] e glucose-dependent insulinotropic polypeptide [GIP]), prodotti a livello intestinale, che hanno dimostrato di essere in grado di aumentare la secrezione insulinica e ridurre l'eccessiva secrezione di glucagone in maniera glucosio-dipendente nel paziente con diabete di tipo 2 (DMT2), oltre a esercitare azioni su altri organi bersaglio, quali cervello, stomaco e miocardio. Tali caratteristiche hanno portato alla nascita di un importante filone di ricerca basato su questi ormoni, tuttavia la natura peptidica di GLP-1 e GIP, unitamente alla loro emivita plasmatica molto breve, hanno rappresentato un ostacolo all'impiego di questi ormoni nella terapia del DMT2.

Per superare gli ostacoli di cui sopra sono state sviluppate due diverse categorie di farmaci "incretinici": gli incretino-mimetici (GLP-1a) e gli inibitori della dipeptidil peptidasi-4 (DPP-4i) (o gliptine). Gli incretino-mimetici agiscono stimolando direttamente il recettore del GLP-1, mentre gli inibitori della DPP-4 hanno la capacità di aumentare i livelli ematici di GLP-1 attraverso l'inibizione della degradazione dello stesso GLP-1, attuata dalla DPP-4.

Il numero degli DPP-4i e dei GLP-1a sul mercato e in via di commercializzazione è in aumento e potenziali differenze tra i vari membri della classe potrebbero divenire fattori da considerare per individuare il farmaco che rappresenta la scelta migliore per ogni paziente.

Scopo di questa revisione della letteratura è quello di fornire un aggiornamento, in termini comparativi, sui meccanismi d'azione dei vari DPP-4i così da comprendere se eventuali differenze possono risultare di potenziale interesse e sostenere l'utilizzo di questi farmaci nella terapia del DMT2.

Meccanismi d'azione delle gliptine a confronto

Per quanto concerne le gliptine, sebbene condividano l'inibizione selettiva dell'enzima DPP-4, tali farmaci si differenziano tra loro per cinetica e dinamica di tale inibizione, caratteristica che si potrebbe tradurre in diverse entità e qualità del blocco enzimatico. Ne potrebbe derivare quindi una differente ricaduta clinica in conseguenza delle diverse modalità di inibizione.

È noto inoltre che alcune gliptine sono disponibili alla stessa dose giornaliera raccomandata (di 100 mg per vildagliptin [50 mg BID] e sitagliptin [100 mg QD], mentre 5 mg per saxagliptin e linagliptin [entrambe 5 mg QD]) e che tutti tali agenti sono risultati efficaci nel ridurre l'emoglobina glicata (HbA_{1c}). Tuttavia l'azione inibitoria esercitata dalle suddette molecole nei confronti della DPP-4 non è identica.

Tutti i composti appartenenti alla classe degli DPP-4i utilizzati nel trattamento del DMT2 sono inibitori reversibili ad alta affinità per l'enzima DPP-4, con costanti di inibizione (K_i) dell'ordine di alcune nanomoli⁽¹⁾. Vi sono, tuttavia, differenze nella modalità in cui tale interazione avviene: ad esempio vi sono molecole che legano in modo covalente la DPP-4 (definite inibitore-substrato) e altre che, invece, si caratterizzano per interazioni di tipo non covalente (definite inibitore competitivo)⁽²⁾.

Più nel dettaglio, nel caso di un substrato naturale il GLP-1 si associa e si dissocia dal sito catalitico della DPP-4 secondo delle costanti di associazione (k_1) e di dissociazione (k_{-1}). L'interazione tra GLP-1 e DPP-4 causa il

blocco del GLP-1 nel sito catalitico e il simultaneo indebolimento del legame peptidico tra gli amminoacidi N-terminali 2 e 3 del GLP-1. In tempi molto brevi questo porta alla rottura del legame indebolito e alla conseguente dissociazione del GLP-1 inattivo dal sito catalitico. La dissociazione complessiva è quindi determinata da $k_{-1} + k_2$.

Ogni molecola di un inibitore competitivo della DPP-4, invece, compete con il substrato naturale (GLP-1) per il legame con l'enzima. Tale legame blocca il sito catalitico dell'enzima per un certo tempo, tuttavia la dissociazione è piuttosto rapida a causa della tipologia di legame (non covalente) che si forma tra l'enzima e l'inibitore competitivo.

Anche un inibitore-substrato compete con il substrato naturale (GLP-1) per ciascuna associazione. Il legame covalente dell'inibitore-substrato con la DPP-4 determina il blocco del sito catalitico fino alla rottura del legame stesso, che avviene dopo un tempo sufficientemente lungo e porta alla dissociazione dell'inibitore-substrato inattivo dal sito catalitico. Tale dissociazione è essenzialmente determinata da $k_{-1} + k_2$, con una k_2 molto lenta (Figura 1).

Sitagliptin, alogliptin e linagliptin formano interazioni non covalenti con i residui del sito catalitico della DPP-4, mentre l'inibizione operata da vildagliptin e saxagliptin è stata descritta come un processo in due fasi che implica la formazione di un complesso covalente reversibile inibitore-enzima. Poiché la velocità di legame inibitore-enzima è bassa e la dissociazione lenta, l'enzima riesce a raggiungere un equilibrio tra la forma attiva

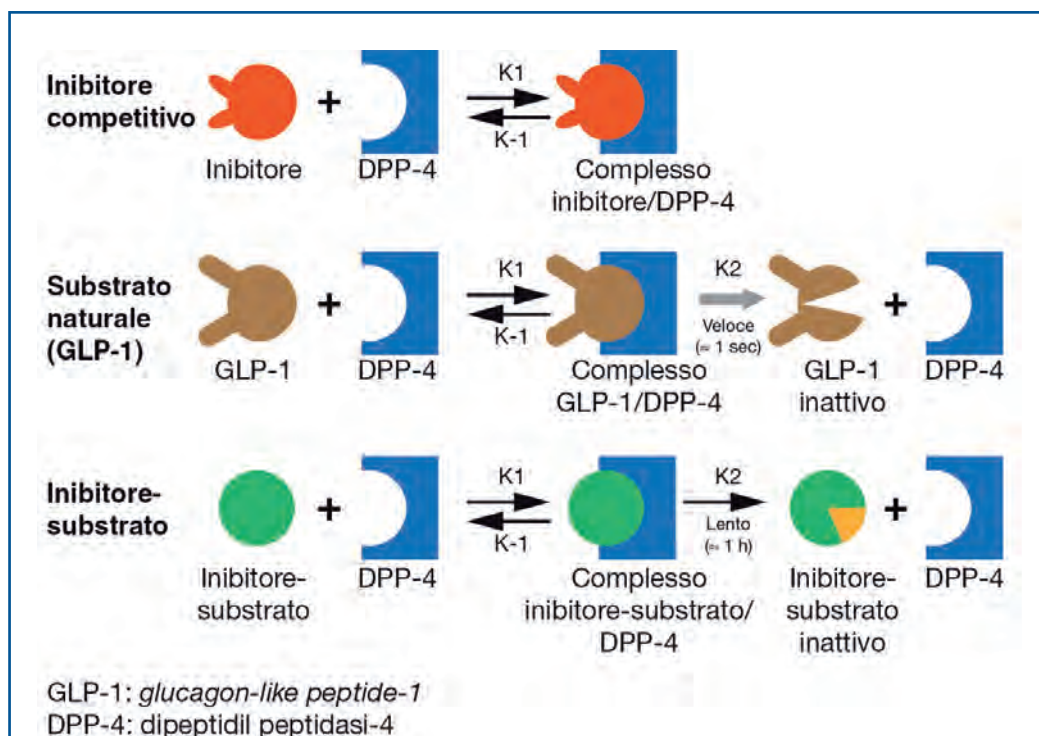


Figura 1. Rappresentazione schematica dell'interazione dell'enzima (DPP-4) con un inibitore competitivo, il substrato naturale (es. GLP-1) o un inibitore-substrato (modificatore covalente dell'attività enzimatica). Adattata da ref. 2.

e quella inattiva, condizione che fa sì che l'attività catalitica venga inibita anche dopo la completa eliminazione dal circolo del farmaco libero. Tale riscontro può contribuire a spiegare il motivo per cui vildagliptin e saxagliptin sono in grado di inibire la DPP-4 per un periodo più lungo di quel che la loro emivita plasmatica suggerirebbe⁽¹⁾. In particolare vildagliptin si dissocia lentamente dal sito catalitico della DPP-4 con una k_2 di circa 1 ora.

Fino a che un inibitore-substrato è legato in modo covalente al sito catalitico della DPP-4, l'enzima non può agire su alcun altro substrato. Una volta che l'inibitore-substrato si è dissociato dal sito catalitico dell'enzima, in un tempo dell'ordine di qualche frazione di secondo, un'altra molecola di inibitore andrà a interagire con tale sito catalitico. Da ciò deriva il blocco completo dell'attività della DPP-4 per tutto il tempo in cui i livelli di vildagliptin sono appropriati a consentire un'associazione efficace con il sito catalitico enzimatico. È stato riportato che l'inibizione della DPP-4 è praticamente pari al 100% fino a quando vi è una concentrazione di vildagliptin sufficiente (superiore a ~50 nM, come osservato ~10 ore dopo la somministrazione di una dose da 50 mg) a competere con il GLP-1 (Figura 2).

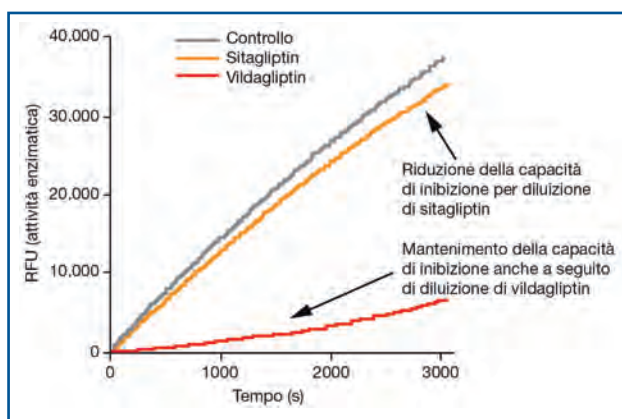


Figura 2. La DPP-4 umana ricombinante (10 ng) preincubata senza inibitore (controllo) o con sitagliptin (500 nM) o vildagliptin (50 nM) è stata diluita più di 100 volte in 0,5 mM H-Gly-Pro-AMC, poi ne è stata misurata l'attività.

DPP-4: dipeptidil peptidasi-4; RFU: unità di fluorescenza relativa (proporzionale all'attività enzimatica). Adattata da ref. 2.

Contrariamente all'inibitore-substrato, l'inibitore competitivo della DPP-4 segue la cinetica di Michaelis-Menten, pertanto inibisce l'enzima in modo dose-dipendente e solo fino a quando le sue concentrazioni sono sufficienti a competere con il substrato naturale (GLP-1). Pertanto se una data dose di inibitore determina un'inibizione del 90%, sarà necessaria una dose 10 volte superiore per ottenere un'inibizione del 99%.

È generalmente accettato che le varie gliptine presentino percentuali di inibizione molto simili tra loro, ma è altrettanto vero che l'entità dell'inibizione della DPP-4 è stata generalmente valutata *ex vivo* (cioè in campioni di plasma prelevati dopo assunzione *in vivo*

delle dosi) e non corretta per la reale diluizione del campione. L'effettiva percentuale di inibizione *in vivo* pertanto potrebbe essere diversa⁽¹⁾.

Un esperimento ha confermato quanto il tipo di legame tra DPP-4 e gliptina e la concentrazione dell'inibitore possano influenzare l'attività enzimatica della DPP-4. Dopo aver inibito l'attività enzimatica della DPP-4 *in vitro* con vildagliptin (50 nM) o sitagliptin (500 nM), le gliptine sono state diluite (sostanzialmente mimando una riduzione della concentrazione): con sitagliptin si è osservata un'immediata perdita di inibizione, mentre con vildagliptin non si è registrata perdita di inibizione neppure dopo 500 secondi. L'inibizione è andata poi lentamente scemando nel corso di diverse ore coerentemente con la sua emivita di dissociazione di ~55 min⁽²⁾.

Il tema del differente impatto sull'inibizione della DPP-4 da parte delle diverse gliptine nei pazienti con DMT2 è stato trattato anche da una recente meta-analisi condotta su studi clinici randomizzati controllati (RCTs) disponibili per i diversi DPP-4i. Il lavoro ha evidenziato come proprio gli DPP-4i differiscano tra di loro per alcuni parametri di inibizione della DPP-4, tra i quali la *weighted average inhibition* (WAI). Vildagliptin ha presentato il più alto valore di WAI, dato che contribuisce ad avvalorare ulteriormente l'ipotesi dell'esistenza di differenze tra le diverse gliptine nella cinetica di legame con la DPP-4 e, in termini ultimi, nell'entità dell'inibizione enzimatica (Tabella 1)⁽³⁾.

Tabella 1. Confronto tra diversi inibitori della DPP-4 relativamente ai parametri ritenuti correlati all'inibizione dell'enzima. Adattata da ref. 3.

Farmaco	Dose (mg)	Caratteristiche degli inibitori della DPP-4			
		Regime	Percentuale del tempo >80%	Valle	WAI
Sitagliptin	100	QD	100	80	91
Vildagliptin	50	BID	96	74	95
Saxagliptin	5	QD	40	66	77
Alogliptin	25	QD	99	80	88

DPP-4: dipeptidil peptidasi-4; Percentuale del tempo >80%: percentuale del tempo in cui si è osservata una inibizione della DPP-4 >80% nelle 24 ore; Valle: percentuale di inibizione della DPP-4 osservata a valle; WAI (*weighted average inhibition*): area sotto la curva tempo-effetto divisa per le 24 ore.

Riflessioni cliniche sulle differenze tra alcuni inibitori della DPP-4

Come noto, gli DPP-4i sono in grado di esercitare azioni sull'alfa e sulla beta cellula pancreatica in modo fisiologico e glucosio-dipendente attraverso un aumento dei livelli di GLP-1 e di GIP attivo: tali caratteristiche farmacologiche fanno sì che queste molecole rappresentino degli ottimi candidati per contenere le escursioni glicemiche nei pazienti con DMT2 e permettano un controllo fine della variabilità glicemica.

La prima evidenza in ordine di tempo in tale ambito è stata fornita da uno studio, della durata di 12 settimane, che ha valutato, attraverso il monitoraggio in continuo della glicemia (CGM), l'impatto sulle fluttuazioni glicemiche giornaliere (misurate attraverso il parametro *mean amplitude of glycemic excursion* [MAGE]), dell'aggiunta (*add-on*) di vildagliptin 50 mg BID o sitagliptin 100 mg QD a un trattamento di background costituito da metformina in monoterapia in 38 pazienti con DMT2 non adeguatamente controllati⁽⁴⁾.

Da questo primo studio è emerso come, all'endpoint alla 12^a settimana, la riduzione del MAGE sia stata significativamente maggiore nel gruppo in trattamento con vildagliptin rispetto a quello che assumeva sitagliptin e che i pazienti trattati con vildagliptin presentavano anche livelli ematici di glucagone inferiori e livelli circolanti di GLP-1 attivo nelle fasi interprandiali maggiori (Figura 3)⁽⁴⁾.

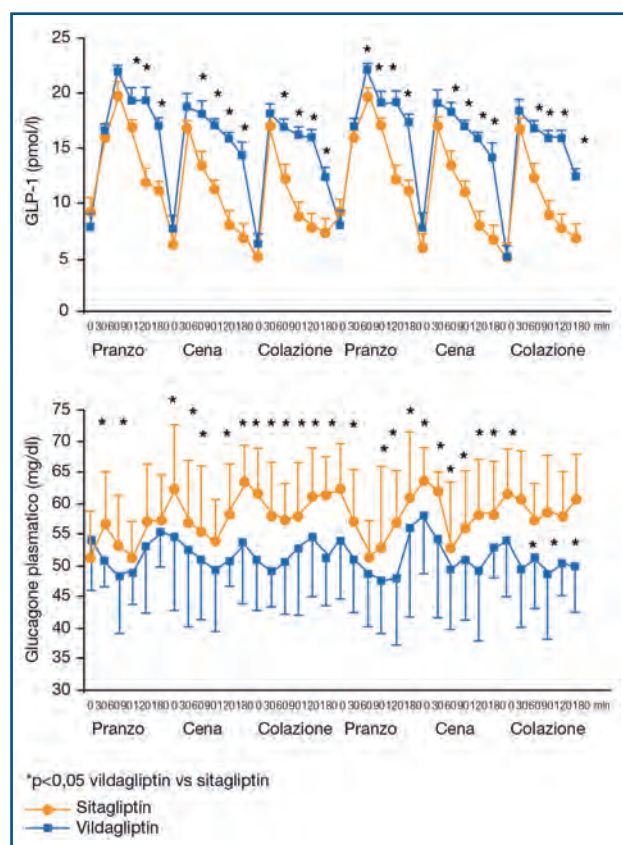


Figura 3. Livelli circolanti di GLP-1 attivo e glucagone dopo 12 settimane di trattamento con vildagliptin (50 mg BID) o sitagliptin (100 mg QD), entrambe in *add-on* a metformina, in pazienti con DMT2 non adeguatamente controllati. GLP-1: glucagon-like peptide-1. Adattata da ref. 4.

I risultati riportati hanno trovato conferma in un altro trial, che ha coinvolto un numero maggiore di pazienti (complessivamente 90) con DMT2 non controllati con metformina in monoterapia, ai quali sono state

aggiunte vildagliptin (50 mg BID) o sitagliptin (100 mg QD). Dopo 12 settimane di trattamento, benché i due agenti abbiano ridotto l'HbA_{1c} a livelli comparabili, nel gruppo trattato con vildagliptin è stata osservata anche una riduzione statisticamente significativa e superiore a quanto registrato nel gruppo sitagliptin delle escursioni glicemiche giornaliere (valutate attraverso il CGM e misurate mediante il MAGE)⁽⁵⁾.

È interessante notare inoltre come nei pazienti trattati con vildagliptin siano stati osservati livelli plasmatici di GLP-1 attivo significativamente più elevati in fase sia interprandiale sia postprandiale rispetto ai soggetti trattati con sitagliptin e come, sempre nel gruppo vildagliptin, siano stati riportati livelli di glucagone plasmatico significativamente inferiori in fase pre- e postprandiale⁽⁴⁾.

Tali riscontri sarebbero da attribuire a un più prolungato effetto inibitorio di vildagliptin nei confronti della DDP-4 conseguente a una differente cinetica di legame con l'enzima esistente tra le due gliptine⁽⁵⁾.

Sempre da questo studio è emerso che la riduzione del MAGE era associata positivamente sia alla riduzione dello stress ossidativo (valutato attraverso i livelli di nitro tirosina plasmatica), sia a quella dei *marker* di *low grade inflammation* che caratterizza il paziente con DMT2, quali interleuchina (IL)-6 e IL-18⁽⁵⁾. A ulteriore conferma i *marker* dello stress ossidativo e dell'infiammazione sistematica si erano ridotti in misura maggiore nei pazienti trattati con vildagliptin rispetto a coloro che avevano ricevuto sitagliptin⁽⁵⁾.

Sempre nell'ambito delle differenze in termini di impatto sulle oscillazioni glicemiche giornaliere tra vildagliptin e sitagliptin in soggetti con DMT2, è stato recentemente pubblicato lo studio giapponese J-VICTORIA che, in 20 pazienti con DMT2 non a target, ha documentato, attraverso il CGM, come, al termine delle due fasi di trattamento in cross-over (ciascuna della durata di 1 mese), la terapia con vildagliptin (50 mg BID) sia risultata superiore rispetto al trattamento con sitagliptin (50 mg QD; dose del farmaco comunemente impiegata in Giappone) nel ridurre la variabilità glicemica giornaliera (valutata attraverso il MAGE) e la glicemia media delle 24 ore⁽⁶⁾.

Ulteriori dati di confronto tra vildagliptin e sitagliptin derivano dallo studio OPTIMA, condotto in Francia su 30 pazienti con DMT2 non adeguatamente controllati con metformina in monoterapia, alla quale sono state aggiunte, per un periodo di 8 settimane, vildagliptin (50 mg BID) o sitagliptin (100 mg QD). Anche in questo caso è stato effettuato il CGM, che ha evidenziato come l'aggiunta di vildagliptin abbia indotto un miglior controllo glicemico giornaliero rispetto all'*add-on* di sitagliptin, con una riduzione significativa (dal basale all'endpoint all'8^a settimana) da parte di vildagliptin di parametri quali la glicemia media delle 24 ore, il tempo (min/die) trascorso in euglicemia (70-140 mg/dl), l'iperglicemia totale e quella basale (ridotta del 41%). Secondo gli stessi Autori quest'ultimo effetto potrebbe

essere correlato alla prolungata inibizione della DPP-4 da parte di vildagliptin e ai conseguenti livelli elevati di GLP-1 presenti anche durante la notte, che garantirebbero un'efficace soppressione del rilascio pancreatico di glucagone e la riduzione della produzione epatica notturna di glucosio (Figura 4)⁽⁷⁾.

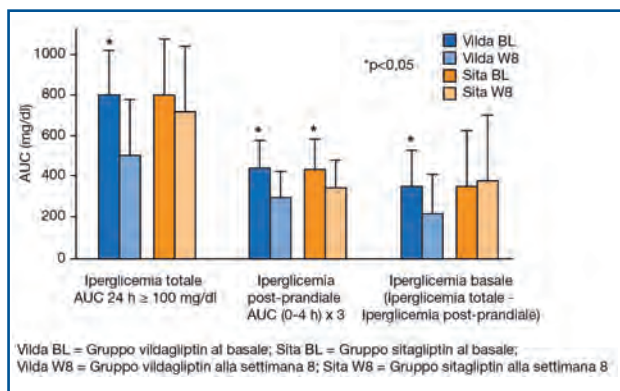


Figura 4. AUC al basale e dopo 8 settimane di trattamento con vildagliptin (50 mg BID) o sitagliptin (100 mg QD), entrambe in add-on a metformina, relativamente a iperglicemia totale, iperglicemia post-prandiale e iperglicemia basale. Adattata da ref. 7.

I dati riportati tendono nel loro complesso a evidenziare una maggiore capacità di vildagliptin di ridurre le escursioni glicemiche giornaliere, molecola che si configura quindi come un interessante strumento terapeutico per la gestione dei pazienti con DMT2.

Da un miglior controllo della variabilità glicemica giornaliera potranno trarre particolare beneficio sia i pazienti con DMT2 più instabile, soprattutto i più giovani, per la lunga aspettativa di vita che rende più probabile lo sviluppo di complicanze croniche vascolari, sia i pazienti più fragili, come gli anziani o coloro che presentano un rischio cardiovascolare più elevato, in quanto più esposti al rischio di ipoglicemie e delle relative conseguenze negative.

Conclusioni

Allo stato attuale sono evidenti alcune differenze pratiche tra i diversi DPP-4i in termini di dosaggio, fre-

quenza e possibilità di impiego in sottopopolazioni particolari di pazienti, tuttavia l'efficacia ipoglicemizzante e la sicurezza d'uso sembrano essere elementi comuni a tutte le molecole.

Solo studi a lungo termine potranno evidenziare se esistono differenze in termini di riduzione del rischio di complicanze micro- e macrovascolari; l'esperienza clinica accumulata sino a oggi ci può indicare comunque quale molecola possieda le caratteristiche più adatte per ogni paziente con DMT2, caratteristiche a cui possono seguire differenze da considerare sul piano clinico.

Conflitto di interessi: nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Deacon CF. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes: a comparative review. *Diabetes Obes Metab.* 13(1):7-18, 2011.
2. Ahrén B, Schweizer A, Dejager S, Villhauer EB, Dunning BE, Foley JE. Mechanisms of action of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin in humans. *Diabetes Obes Metab.* 13(9):775-783, 2011.
3. Gibbs JP, Fredrickson J, Barbee T, Correa I, Smith B, Lin SL, et al. Quantitative model of the relationship between dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibition and response: meta-analysis of alogliptin, saxagliptin, sitagliptin, and vildagliptin efficacy results. *J Clin Pharmacol.* 52(10):1494-1505, 2012.
4. Marfella R, Barbieri M, Grella R, Rizzo MR, Nicoletti GF, Paolisso G. Effects of vildagliptin twice daily vs. sitagliptin once daily on 24-hour acute glucose fluctuations. *J Diabetes Complications.* 24(2):79-83, 2010.
5. Rizzo MR, Barbieri M, Marfella R, Paolisso G. Reduction of oxidative stress and inflammation by blunting daily acute glucose fluctuations in patients with type 2 diabetes: role of dipeptidyl peptidase-IV inhibition. *Diabetes Care.* 35(10):2076-2082, 2012.
6. Sakamoto M, Nishimura R, Irako T, Tsujino D, Ando K, Utsunomiya K. Comparison of vildagliptin twice daily vs. sitagliptin once daily using continuous glucose monitoring (CGM): crossover pilot study (J-VICTORIA study). *Cardiovasc Diabetol.* 11:92, 2012.
7. Guerci B, Monnier L, Serusclat P, Petit C, Valensi P, Huet D, et al. Continuous glucose profiles with vildagliptin versus sitagliptin in add-on to metformin: results from the randomized Optima study. *Diabetes Metab.* 38(4):359-366, 2012.

