

il Diabete

Vol. 36, N. 4, dicembre 2024



– RASSEGNE

Sistemi Fai Da Te (“Do It Yourself”). Position Statement AMD SID SIEDP elaborato dal gruppo di lavoro DIY

Impatto degli agonisti del recettore del GLP-1 sulla funzionalità tiroidea: una revisione della letteratura degli effetti sul volume tiroideo, sul rischio di neoplasie e sui livelli di TSH

– EDITORIALI

Diabete e cancro: un binomio pericoloso. Il ruolo del “diabeto-oncologo”

– AGGIORNAMENTI IN TEMA DI OBESITÀ

Il diabete dopo chirurgia bariatrica: non un vero fallimento

– AGGIORNAMENTO DALLA LETTERATURA

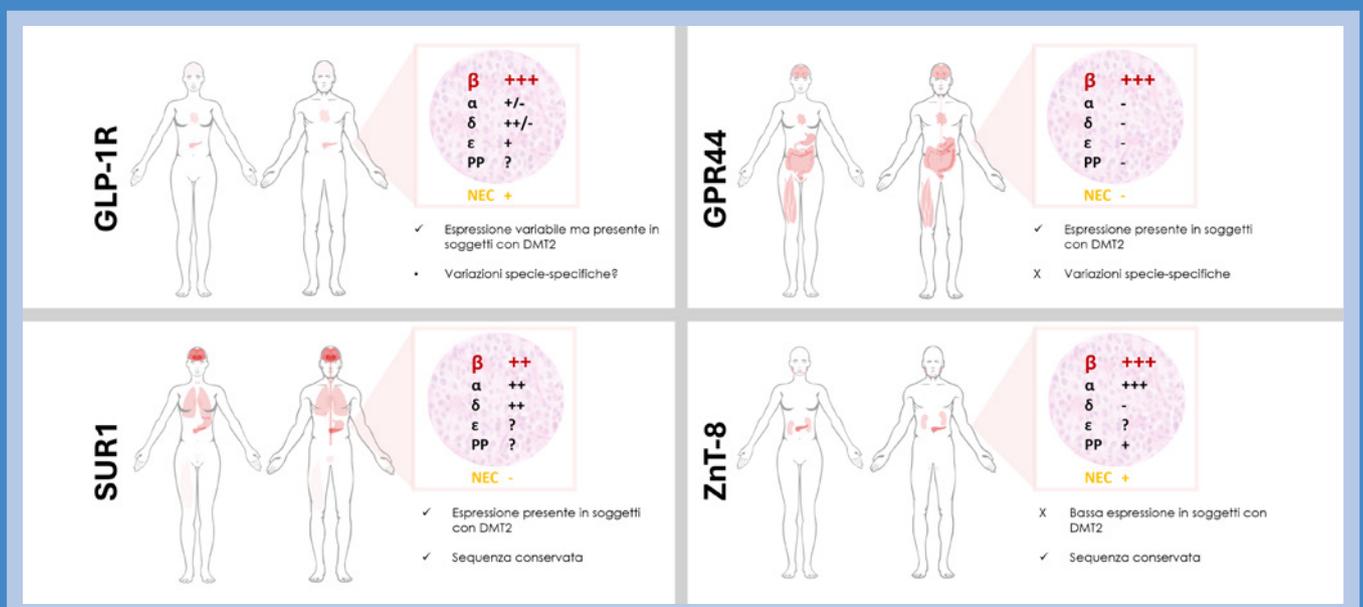
Gli SGLT2 inibitori sono efficaci anche nel ridurre il rischio di cardiotoxicità delle terapie oncologiche

– JOURNAL CLUB

– MEDICINA TRASLAZIONALE

Strategie di targeting farmacologico delle betacellule pancreatiche per la terapia del diabete mellito di tipo 2

– LA VITA DELLA SID



il Diabete

Organo ufficiale della
Società Italiana di Diabetologia

Direttore Scientifico

Sebastiano Squatrito (Catania)

Co-direttori

Luca D'Onofrio (Roma, YoSID)

Carla Greco (Modena, YoSID)

Gloria Formoso (Chieti)

Lucia Frittitta (Catania)

Marta Letizia Hribal (Catanzaro)

Comitato di Redazione

Benedetta Bonora (Padova)

Fabio Broglio (Torino)

Stefano Ciardullo (Milano)

Francesca Cinti (Roma-Cattolica)

Giuseppe Daniele (Pisa)

Angela Dardano (Pisa)

Ilaria Dicembrini (Firenze)

Antonio Di Pino (Catania)

Francesca Fiory (Napoli)

Luigi Laviola (Bari)

Anna Leonardini (Bari)

Roberta Lupoli (Napoli-Federico II)

Ernesto Maddaloni (Roma-Sapienza)

Daria Maggi (Roma-Campus)

Alessandro Mantovani (Verona)

Lorella Marselli (Pisa)

Matteo Monami (Firenze)

Mario Luca Morieri (Padova)

Antonio Nicolucci (Pescara)

Emanuela Orsi (Milano)

Pia Clara Pafundi (Napoli-Vanvitelli)

Lorenzo Piemonti (Milano)

Francesca Porcellati (Perugia)

Ivana Rabbone (Torino)

Elena Succurro (Catanzaro)

Dario Tuccinardi (Roma-Campus)

CONSIGLIO DIRETTIVO SID

Presidente

Angelo Avogaro (Padova)

Presidente Eletto

Raffaella Buzzetti (Roma)

Tesoriere

Marta Letizia Hribal (Catanzaro)

Segretario

Saula Vigili de Kreutzenberg (Padova)

Consiglieri

Gloria Formoso (Chieti)

Mariangela Ghiani (Cagliari)

Luigi Laviola (Bari)

Giuseppe Lepore (Bergamo)

Maria Ida Maiorino (Napoli)

Raffaele Napoli (Napoli)

Andrea Natali (Pisa)

Lorenzo Piemonti (Milano)

Salvatore Piro (Catania)

Sabrina Prudente (Roma)

Elena Succurro (Catanzaro)

UFFICIO DI PRESIDENZA SID 2022-2024

Angelo Avogaro (Padova)

Agostino Consoli (Chieti)

Raffaella Buzzetti (Roma)

Responsabili di Redazione

Andrea Tumminia (Catania)

Agostino Milluzzo (Catania)

Rosario Le Moli (Catania)

Sommario

– **RASSEGNE** A CURA DI LUCIA FRITTITTA E SEBASTIANO SQUATRITO

- 223 **Sistemi Fai Da Te ('Do It Yourself'). Position Statement AMD SID SIEDP elaborato dal gruppo di lavoro DIY**
Concetta Irace, Roberta Assaloni, Angelo Avogaro, Riccardo Candido, Valentino Cherubini, Sara Coluzzi, Iaria Decembrini, Paolo Di Bartolo, Elena Frattolin, Daniela Marcello, Matteo Neri, Stefano Nervo, Ivana Rabbone, Alessandro Rapellino, Davide Tinti, Andrea Scaramuzza

- 231 **Impatto degli agonisti del recettore del GLP-1 sulla funzionalità tiroidea: una revisione della letteratura degli effetti sul volume tiroideo, sul rischio di neoplasie e sui livelli di TSH**
Stefania Capuccio, Sabrina Scilletta, Francesca La Rocca, Nicoletta Miano, Maurizio Di Marco, Giosiana Bosco, Francesco Di Giacomo Barbagallo, Roberto Scicali, Salvatore Piro e Antonino Di Pino

243 – **EDITORIALI** A CURA DI SEBASTIANO SQUATRITO

- Diabete e cancro: un binomio pericoloso. Il ruolo del "diabeto-oncologo"**
Dario Giuffrida, Giuseppe Corsaro, Federica D'Anna, Paola Marino, Dorotea Sciacca, Ivana Puliafito

258 – **AGGIORNAMENTI IN TEMA DI OBESITÀ** A CURA DI LUCIA FRITTITTA

- Il diabete dopo chirurgia bariatrica: non un vero fallimento**
Federica Vinciguerra, Carla Di Stefano, Roberto Baratta, Lucia Frittitta

267 – **AGGIORNAMENTO DALLA LETTERATURA** A CURA DI MARTA LETIZIA HRIBAL

- Gli SGLT2 inibitori sono efficaci anche nel ridurre il rischio di cardiotoxicità delle terapie oncologiche**

269 – **JOURNAL CLUB** A CURA DI MARTA LETIZIA HRIBAL

273 – **MEDICINA TRASLAZIONALE: APPLICAZIONI CLINICHE DELLA RICERCA DI BASE**

A CURA DI CARLA GRECO E LUCA D'ONOFRIO PER IL GRUPPO YOSID

- Strategie di targeting farmacologico delle beta-cellule pancreatiche per la terapia del diabete mellito di tipo 2**

Giuseppina Biondi, Nicola Marrano, Anna Borrelli, Martina Rella, Annalisa Natalicchio, Francesco Giorgino

- LA VITA DELLA SID

288 **Congresso Regionale SID-AMD Abruzzo/Molise, Città Sant'Angelo (PE), 16 novembre 2024**

291 **30° Congresso Regionale SID-AMD Lombardia, Bergamo 22-23 novembre 2024**
La Diabetologia lombarda guarda al futuro - ricerca e (ri)organizzazione

303 **Congresso Regionale SID-AMD Lazio, Roma, 29-30 novembre 2024**
Diabetologia 2024: nuovi scenari clinici e prospettive terapeutiche

il Diabete

Vol. 36, N. 4, dicembre 2024

Direzione Scientifica

Sebastiano Squatrito, Catania

Direttore Responsabile

Mattia Righi

Associato all'Unione Stampa Periodica Italiana



Copyright © 2024 SID

Società Italiana di Diabetologia

CC BY 4.0 License

ISBN online 979-12-5477-552-3

ISSN online 1720-8335

DOI 10.30682/ildia2404

Nessuna parte può essere duplicata o riprodotta senza l'autorizzazione scritta dell'Editore.

Fondazione Bologna University Press

Via Saragozza 10, 40123 Bologna

tel. (+39) 051 232 882

e-mail: info@buponline.com

www.buponline.com

Periodico riconosciuto "di elevato valore culturale" dal Ministero per i Beni e le Attività Culturali

Autorizzazione Tribunale di Milano

n. 706 del 2/11/1988

Avvertenza ai lettori

L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni in merito a dosaggio e impiego di prodotti eventualmente citati negli articoli, e invita il lettore a controllarne personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

a cura di Carla Greco¹ e Luca D'Onofrio² per il gruppo YoSID

¹Unità di Endocrinologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia; ²Unità di Diabetologia, AOU Policlinico Umberto I di Roma e Sapienza Università di Roma

Strategie di *targeting* farmacologico delle beta-cellule pancreatiche per la terapia del diabete mellito di tipo 2 ♦

Pharmacological targeting strategies to pancreatic beta-cells for the therapy of type 2 diabetes mellitus

Giuseppina Biondi, Nicola Marrano, Anna Borrelli, Martina Rella, Annalisa Natalicchio, Francesco Giorgino

Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa e Area Jonica - Università degli Studi di Bari Aldo Moro

DOI: <https://doi.org/10.30682//ildia2403f>

ABSTRACT

Targeted drug delivery to pancreatic beta-cells could represent a promising therapeutic option for the treatment of type 2 diabetes (T2D), as it can improve the efficacy of a drug and reduce the required doses and side effects. We will discuss strategies to target pancreatic beta-cells for the treatment of T2D, describing the possibility of inducing drug expression specifically in beta-cells, the available drug carriers, the peptides that can be used for active targeting, and the most suitable routes of administration to direct a drug to beta-cells.

KEYWORDS

Type 2 diabetes mellitus, pancreatic beta-cells, pharmacological targeting.

INTRODUZIONE

Il deficit di massa funzionale delle beta-cellule pancreatiche secernenti insulina è una condizione necessaria e precoce per lo sviluppo del diabete di tipo 2 (DMT2) (1-3).

Esso è influenzato sia da fattori genetici che da fattori ambientali: livelli aumentati di glucosio e/o acidi grassi, introdotti nella dieta o dovuti a condizioni dismetaboliche (come obesità e stile di vita sedentario), infatti, aumentano il carico metabolico provocando infiammazione cronica sistemica, resistenza all'insulina e aumento dei livelli di glucosio nel sangue; le beta-cellule pancreatiche compensano inizialmente l'aumento della glicemia producendo e secernendo maggiori quantità di insulina; tuttavia, nel tempo (a seconda delle diverse suscettibilità genetiche individuali), l'elevato carico metabolico promuove la morte e la disfunzione delle beta-cellule pancreatiche. L'iperglicemia cronica e l'iperlipidemia, in particolare, svolgono un ruolo cruciale nell'indurre disfunzione delle beta-cellule in questa fase, agendo attraverso meccanismi generalmente definiti di "gluco-/lipotossicità". Di conseguenza, la secrezione di insulina non è più sufficiente per compensare gli elevati livelli di glucosio nel sangue, determinando alterata tolleranza al glucosio (IGT), iperglicemia conclamata e DMT2 (1, 3).

A conferma, la funzione beta-cellulare è già ridotta nei pazienti con IGT e ancora di più nei soggetti con DMT2 (4). Secondo lo U.K. Prospective Diabetes Study, essa è ridotta del 50% alla diagnosi e subisce un declino del 5% ogni anno, suggerendo che l'inizio del deterioramento possa avvenire diversi anni prima dell'insorgenza della malattia (5). Oltre alla funzione, anche la massa beta-cellulare è ridotta nei soggetti con DMT2 (6-7).

Pertanto, ripristinare la funzionalità ed il numero delle beta-cellule pancreatiche rappresenta un obiettivo cruciale per la prevenzione e la terapia del diabete. Oggigiorno, diversi farmaci utilizzati nella terapia del DMT2 sono in grado di esercitare effetti benefici sulla vitalità e funzionalità delle beta-cellule pancreatiche, così contribuendo al controllo dell'omeostasi glicemica (2).

Tuttavia, generalmente solo una piccola frazione dell'agente terapeutico somministrato per via sistemica raggiunge le isole, sparse nel pancreas, così come le beta-cellule che le compongono. Pertanto, la somministrazione mirata alle isole pancreatiche (e ancor più alle beta-cellule) potrebbe migliorare notevolmente l'effetto terapeutico, ridurre la dose richiesta e quindi anche gli effetti collaterali del farmaco. Inoltre, il *targeting* beta-cellulare potrebbe limitare gli effetti indesiderati dovuti non solo all'alta dose ma anche all'azione sistemica e *off-targets* di farmaci agenti principalmente sulle beta-cellule pancreatiche (8).

Il *targeting* beta-cellulare potrebbe potenziare e migliorare gli effetti di molecole ancora sperimentali per la terapia del DMT2. È il caso, ad esempio, dei farmaci a RNA, che oggi (in seguito allo sviluppo del vaccino anti-COVID) stanno vedendo il crescente interesse della comunità scientifica: essi sono costituiti da molecole labili e cariche negativamente, che possono facilmente subire degradazione quando immesse in circolo e che difficilmente attraversano le membrane che le separano dal target (9-10). In questi casi, la possibilità di mirare in maniera specifica alle beta-cellule pancreatiche potrebbe risultare estremamente vantaggiosa.

In questa rassegna, saranno descritte le strategie per la somministrazione di farmaci mirata alle beta-cellule pancreatiche e finalizzata alla terapia del DMT2.

ESPRESSIONE BETA-CELLULA SPECIFICA DI UN FARMACO MEDIATA DAL PROMOTORE DEL GENE DELL'INSULINA

Quando si parla di *targeting* farmacologico delle beta-cellule pancreatiche, inevitabilmente si ritiene di poter sfruttare innanzitutto la peculiare capacità di tali cellule di esprimere abbondanti livelli di insulina.

Il promotore del gene dell'insulina può, infatti, essere complessato ad una molecola codificante per un farmaco, al fine di farlo esprimere unicamente in beta-cellule.

Lee M. e colleghi, ad esempio, hanno progettato un plasmide codificante la citochina antinfiammatoria IL-4, controllato dal promotore del gene per l'insulina di ratto, per la prevenzione del diabete autoimmune (Tab. 1). Il plasmide, veicolato alle cellule tramite un nanocarrier lipopolimerico, determinava un'elevata espressione di IL-4, più in beta-cellule che in altre linee cellulari, in vitro; l'espressione di IL-4, inoltre, rispondeva ai livelli di glucosio ed il costrutto non provocava citotossicità (11).

Similmente, in un altro lavoro, un plasmide esprimente RNA antisense per l'autoantigene decarbossilasi dell'acido glutammico (GAD) è stato posto sotto il controllo del promotore dell'insulina. La somministrazione in vivo del plasmide, tramite un carrier polimerico, ha determinato la repressione dell'espressione di GAD specificamente nelle beta-cellule, senza alcun effetto sui livelli di GAD in altri organi né effetti collaterali sulla normale funzione del pancreas (12). Sebbene efficace, questa strategia di espressione specifica del farmaco nelle beta-cellule non è sempre attuabile, in quanto limitata dalla tipologia e complessità della molecola farmacologica da produrre, dalla capacità di un veicolo di contenere un costrutto adeguato allo scopo, ecc. (8).

Oltretutto, seppure generalmente ritenuta unicamente espressa a livello beta-pancreatico, l'insulina è anche espressa a livello cerebrale, dove svolge interessanti e non ancora del tutto chiarite funzioni (13-14). Pertanto, per uno specifico *targeting* beta-cellulare, bisognerebbe tener conto di questo aspetto, ad esempio, selezionando l'accesso di un eventuale veicolo/vettore del costrutto genico al pancreas e/o impedendo al veicolo il passaggio della barriera ematoencefalica.

Tabella 1 ◆ **Caratteristiche, obiettivi e risultati degli studi sul targeting delle beta-cellule pancreatiche**

OBIETTIVO	CARICO	VEICOLO	STRATEGIA DI TARGETING	RISULTATO	TARGET RAGGIUNTO	REFERENZA
Produzione dell'IL-4 antinfiammatoria in beta-cellule pancreatiche	Plasmide codificante IL-4	Nanocarrier lipopolimerico idrosolubile	Espressione del plasmide codificante IL-4 controllata dal promotore dell'insulina	Produzione abbondante e responsiva al glucosio di IL-4 specificatamente in beta-cellule pancreatiche, in vitro	Beta-cellule pancreatiche (in vitro)	Lee M et al., 2001 ¹¹
Repressione dell'espressione di GAD in beta-cellule pancreatiche	Plasmide codificante RNA antisenso per GAD	PEG-g-PLL	Espressione del plasmide codificante RNA antisenso per GAD controllata dal promotore dell'insulina	Repressione dell'espressione dell'autoantigene GAD specificatamente in beta-cellule pancreatiche, in vivo	Beta-cellule pancreatiche	Lee M et al., 2001 ¹²
Trasporto specifico di agente immunosoppressivo alle isole pancreatiche	Genisteina	PLGA-b-PEG-COOH	Peptide in grado di raggiungere la microvascolatura delle isole (CHVLWSTRKC)	Aumento di 200 volte dell'effetto immunosoppressivo della genisteina	Isole pancreatiche	Gosh K et al., 2012 ²¹
Targeting delle beta-cellule pancreatiche per il trasferimento di acidi nucleici	RNA antisenso per miR-375	Carrier liposomico di sfingomielina, etilfosfatidilcolina e colesterolo (ratio 3:4:3)	Particolare composizione lipidica del carrier	Internalizzazione del carrier, rilascio dell'RNA antisenso, riduzione di miR-375 ed aumento della secrezione insulinica in vitro	Beta-cellule pancreatiche (in vitro)	Yamada Y et al., 2014 ²²
Modulazione del miR-216a in beta-cellule pancreatiche per il trattamento del diabete mediante induzione della proliferazione	miR216a <i>mimic</i> /inibitore	Nanoparticelle di ossido di ferro	Somministrazione intrapancreatica duttale	Incremento della proliferazione e miglioramento della funzione beta-cellulare	Isole pancreatiche	Wang P et al., 2020 ²³
Targeting delle beta-cellule pancreatiche	Plasmide codificante luciferasi	PEI-PEG-Fab'	Fab' anti-GAD	Targeting beta-cellulare (in vitro)	Beta-cellule pancreatiche (in vitro)	Jeong JH et al., 2005 ²⁴
Delivery di un plasmide codificante RAE1- γ alle cellule insulari mediante un polimero contenente un peptide rivolto alla microvascolatura dell'isola	Plasmide codificante RAE1- γ	(p(CBA-DAH)/PEG)/peptide rivolto alla microvascolatura dell'isola	Peptide rivolto a recettori sull'endotelio della microvascolatura dell'isola pancreatiche	Targeting delle cellule dell'isola e prevenzione del diabete di tipo 1	Isole pancreatiche	Blevins KS et al., 2012/ Joo WS et al., 2012 ^{25, 36}

(segue)

OBIETTIVO	CARICO	VEICOLO	STRATEGIA DI TARGETING	RISULTATO	TARGET RAGGIUNTO	REFERENZA
Trasferimento genico alle beta-cellule pancreatiche	Plasmide codificante insulina umana o esochinasi I sotto il promotore del gene per l'insulina	Microbolle fosfolipidiche contenenti gas	Distruzione di microbolle mirata al pancreas tramite ultrasuoni ed espressione genica mirata alle beta-cellule tramite plasmide codificante sotto il promotore del gene dell'insulina	Espressione beta-cellula specifica di insulina umana o esochinasi I in ratti, con conseguente aumento del peptide C umano circolante e diminuzione dei livelli di glicemia nel primo caso, ed aumento dei livelli di esochinasi I e di insulinemia, nonché riduzione della glicemia, nel secondo caso	Beta-cellule pancreatiche	Chen S et al., 2006 ²⁷
Incremento di VEGF-A in isole trapiantate per aumentare la densità vascolare e la funzionalità del trapianto	Plasmide codificante VEGF-A	Microbolle fosfolipidiche contenenti gas	Distruzione di microbolle mirata alle isole umane trapiantate nel fegato di topo tramite ultrasuoni	Incrementata espressione di VEGF-A a livello delle isole, maggiore densità vascolare e funzionalità del trapianto	Isole pancreatiche	Shimoda M et al., 2010 ²⁸
Trasporto di mRNA alle beta-cellule pancreatiche mediante LNP	mRNA codificante per luciferasi	LNP ionizzabili	LNP cationiche e somministrazione intraperitoneale	<i>Targeting</i> dell'isola pancreatica mediante LNP cationiche e somministrazione intraperitoneale	Isole pancreatiche (per lo più beta-cellule)	Melamed JR et al., 2023 ²⁹
Studio degli effetti del tipo di fosfolipide e delle dimensioni delle LNP sulla loro distribuzione <i>in vivo</i> e nelle isole pancreatiche		Diverse formulazioni di LNP, di diverse dimensioni	Particolare formulazione e dimensione delle LNP	Le LNP che maggiormente raggiungono l'isola pancreatica sono quelle a base di 1,2-dioleoyl-sn-glicero-3-fosfolcolina (DOPC), di 160 nm di diametro, >40% di colesterolo e >3% di PEG	Isole pancreatiche	Oguma T et al., 2024 ³¹
Somministrazione mirata di oligonucleotidi antisenso (ASO) alle beta-cellule pancreatiche	ASO verso un trascritto di RNA non codificante altamente espresso in molti tessuti (MALAT1)		Coniugazione dell'ASO ad un ligando del GLP-1R	Somministrazione mirata di ASO alle beta-cellule pancreatiche	Beta-cellule pancreatiche	Ämmälä C et al., 2018 ⁵³
Somministrazione mirata di oligonucleotidi antisenso (ASO) alle beta-cellule pancreatiche	ASO verso l'mRNA di IAPP		Coniugazione dell'ASO ad un ligando del GLP-1R	Somministrazione mirata di ASO alle beta-cellule pancreatiche e riduzione dei livelli di IAPP, <i>in vivo</i>	Beta-cellule pancreatiche	Knerr L et al., 2021 ⁵⁴

VEICOLI PER IL TARGETING DELLE BETA-CELLULE PANCREATICHE

Il farmaco da indirizzare alle beta-cellule pancreatiche può essere modificato nella struttura ed essere complessato ad una molecola in grado di effettuare il *targeting* (vedi paragrafo successivo) oppure venire veicolato tramite carrier al sito di interesse (8).

La scelta dell'una o dell'altra opzione è dettata dalle specifiche caratteristiche del farmaco (natura della molecola, struttura, farmacocinetica, farmacodinamica, immunogenicità, ecc.) e dalla tipologia dei tessuti da raggiungere (15-16).

Non esiste una vera e propria classificazione netta dei numerosi carrier ad oggi disponibili in ambito farmacologico o in via di sviluppo. Tuttavia, essi possono essere classificati sommariamente, in base alla loro natura, in organici o inorganici. Tra i carrier organici, oltre ai vettori virali per il trasferimento di materiale genico, esistono le nanoparticelle lipidiche (come liposomi e micelle, costituiti rispettivamente da un doppio o unico strato lipidico di rivestimento) e le nanoparticelle polimeriche (15-17). Sempre tra i carrier organici, sono emergenti in ambito terapeutico le vescicole extracellulari (esosomi, microvescicole ecc.), ossia vescicole nanometriche prodotte dalle cellule stesse e implicate nella comunicazione intercellulare, sia in processi fisiologici che patologici, in grado di trasportare acidi nucleici, proteine e fattori immunoregolatori (18). Tra le nanoparticelle inorganiche, ricordiamo invece, ad esempio, quelle basate sui metalli (19). Dimensioni, forma, carica e chimica superficiali, resistenza meccanica, porosità e altre proprietà di questi materiali possono essere modificate per ottenere il *targeting* desiderato (17).

Un carrier, generalmente, riconosce il sito in cui rilasciare il farmaco tramite un'individuazione attiva o passiva dell'obiettivo (20). Nel primo caso, il carrier è munito di moduli superficiali di riconoscimento specifici per la cellula target, come ligandi o anticorpi verso recettori o proteine di membrana caratteristiche della cellula bersaglio; nel secondo caso, invece, il raggiungimento del target avviene per solubilizzazione, permeabilità e/o ritenzione del carrier nel tessuto. Esistono, ad esempio, carrier in grado di rilasciare il farmaco solo in presenza di un determinato pH o di una data temperatura, perché solo in tali condizioni il carrier subisce degradazione, consentendo il rilascio del farmaco presente al suo interno. Questo approccio è particolarmente utilizzato nel trattamento di masse tumorali, caratterizzate generalmente da alterati pH e temperatura rispetto al tessuto sano, ma non ha finora trovato applicazione nel *targeting* farmacologico per la terapia del diabete.

Per il trattamento del diabete, tuttavia, sono stati sviluppati diversi tipi di veicoli in grado di effettuare *targeting* attivo o passivo delle isole pancreatiche (Tab. 1).

Gosh K. e colleghi, hanno progettato nanoparticelle, costituite da un copolimero a blocchi di polietilenglicole- β -poli(lattide-co-glicolide) (PLGA-b-PEG-COOH) coniugato ad un peptide in grado di raggiungere la microvascolatura delle isole, che incorporavano l'agente antinfiammatorio genisteina. Tali nanoparticelle legavano più facilmente le cellule endoteliali delle isole pancreatiche, determinando un aumento di 200 volte dell'effetto immunosoppressivo della genisteina (21).

Yamada Y et al. hanno, invece, targetizzato le beta-cellule pancreatiche tramite un carrier liposomico composto da sfingomielinina, etilfosfatidilcolina e colesterolo (*ratio* 3:4:3), veicolando tramite esso un RNA antisense verso il miR-375 ed ottenendo l'aumento della secrezione di insulina (22). Tuttavia, questi esperimenti sono stati condotti esclusivamente in vitro, in cellule murine MIN6 e non vi sono conferme della capacità del carrier di targetizzare selettivamente le beta-cellule mediante esperimenti in vivo in modelli animali o ex vivo su isole pancreatiche.

Nanoparticelle di ossido di ferro, somministrate per via intrapancreatica duttale, invece, sono state utilizzate per veicolare un analogo del miR-216a (induttore di proliferazione nelle beta-cellule) in isole di topi diabetici, così incrementando la proliferazione e migliorando la funzione beta-cellulare (23). In questo caso, è stato possibile verificare che le nanoparticelle di ossido di ferro raggiungevano il pancreas mediante risonanza magnetica.

Jeong J.H. e colleghi hanno sviluppato un veicolo mirato alle cellule insulari coniugando il frammento anticorpale Fab' anti-GAD alla polietilimmina (PEI) tramite un linker PEG (PEI-PEG-Fab'). Questa strategia ha consentito di mirare selettivamente alle beta-cellule e non a cellule non esprimenti GAD, in vitro. Tuttavia, non è stata testata la capacità del carrier di raggiungere selettivamente il pancreas e le beta-cellule, mediante esperimenti in vivo o ex vivo in isole (24).

Il polimero cationico poli(cistamina bisacrilamide-diamino esano) (p(CBA-DAH)), il PEG e un ligando di recettori della microvascolatura delle isole sono stati assemblati a formare un carrier per il trasporto di un plasmide codificante il gene RAE-1 (*retinoic acid early inducible gene-1*) solubile, per ridurre l'insulite e la infiltrazione di cellule T CD8+, quindi l'insorgenza di DMT1, in topi non obesi diabetici (NOD) (25-26).

Un altro studio descrive un metodo di *targeting* delle isole pancreatiche basato sull'incorporazione di plasmidi nel guscio fosfolipidico di microbolle piene di gas, che venivano poi infuse nel modello animale e distrutte all'interno della microcircolazione pancreatica mediante ultrasuoni. La somministrazione specifica di geni alle beta-cellule era ulteriormente ottenuta utilizzando un plasmide contenente un promotore dell'insulina (27). Similmente, in un altro lavoro, microbolle contenenti un plasmide codificante VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor A*) sono state distrutte nel fegato di un modello murino mediante ultrasuoni, al fine di targetizzare le isole umane trapiantate proprio a livello epatico. Questo approccio ha permesso l'incremento della vascolarizzazione e della funzionalità del trapianto (28).

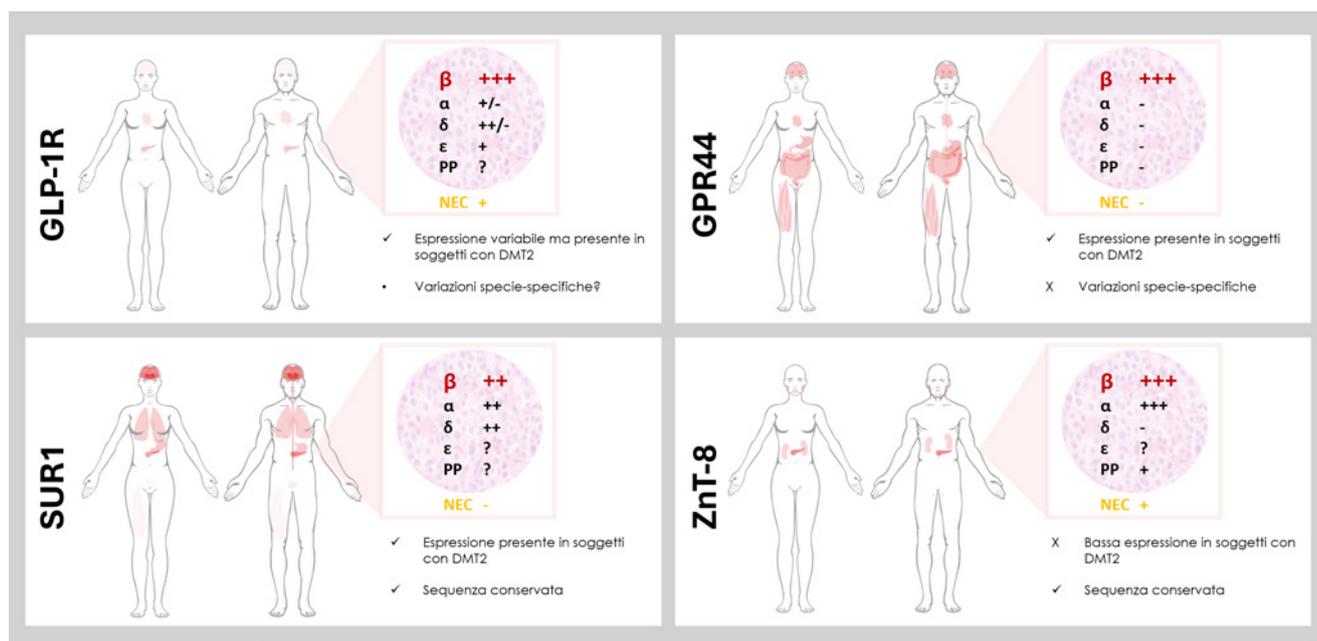
Per quanto concerne i carrier basati su nanoparticelle lipidiche (LNP), diversi studi dimostrano come specifiche formulazioni possano favorire il *targeting* pancreatico, sfavorendo il loro più probabile reclutamento a livello epatico. Le LNP contenenti lipidi cationici, ad esempio, possono favorire il *targeting* pancreatico sia dopo somministrazione endovenosa ma soprattutto con l'ausilio di una somministrazione intraperitoneale, più vicina al pancreas (29). In questo caso, un ruolo determinante per il trasferimento del carico a livello pancreatico è svolto anche dai macrofagi peritoneali, in grado essi stessi di inglobare LNP e di effettuare "trasferimento orizzontale" del contenuto delle nanoparticelle mediante secrezione di vescicole (29). Inoltre, dal momento che le isole pancreatiche sono separate dal tessuto esocrino circostante da una sottile membrana basale con componenti della matrice carichi negativamente (30), le LNP contenenti lipidi cationici possono interagire favorevolmente con la membrana peri-insulare, distribuendo l'agente farmacologico all'interno delle isole (29).

Uno studio recente ha valutato gli effetti di diverse formulazioni e dimensioni di LNP, somministrate per via sistemica, sul *targeting* delle isole pancreatiche in modelli murini, concludendo che le LNP che maggiormente arrivano nell'isola pancreatica sono quelle a base di 1,2-dioleoyl-sn-glicero-3-fosfolcolina (DOPC), di 160 nm di diametro, >40% di colesterolo e >3% di PEG (31).

Sebbene i nanocarrier offrano diversi potenziali vantaggi attraverso la somministrazione mirata di agenti terapeutici, l'applicazione di nanoparticelle può determinare effetti collaterali e tossicità, soprattutto in seguito alla loro aggregazione (32). Le informazioni sulla tossicità dei nanocarrier di nuova generazione sono limitate, per cui sono necessari ulteriori studi a riguardo.

Per quanto concerne invece le vescicole extracellulari, gli esosomi (piccole vescicole dal doppio strato fosfolipidico, che trasportano proteine funzionali e acidi nucleici regolatori) sono emersi come un nuovo possibile strumento terapeutico per la distribuzione di acidi nucleici, soprattutto per il trattamento del DMT1. È stato, infatti, dimostrato in diversi lavori che le cellule staminali mesenchimali sono in grado di trasferire fattori (fisiologicamente presenti o indotti) in esosomi e tramite essi, veicolarli ad isole pancreatiche trapiantate, promuovendone la funzione ed inibendo il rigetto immunitario (33-35). Gli esosomi derivati dalle stesse beta-cellule, inoltre, possono preservare l'architettura e la vascolarizzazione delle isole in modelli murini di DMT1 (36). Seppure questo argomento non sia stato approfondito, è possibile che gli esosomi derivati dalle beta-cellule (o da altre cellule dell'isola) possano effettuare *targeting* beta-cellulare. Nonostante gli esosomi sembrino agenti promettenti, bisognerebbe standardizzarne le procedure di isolamento e selezionare attentamente i donatori, dal momento che tali vescicole possono veicolare agenti infettivi, ormoni, miRNA e oncoproteine (37-38).

In conclusione, diversi tipi di veicoli sono stati utilizzati per il *targeting* attivo o passivo delle isole pancreatiche (Tab. 1). Tuttavia, il raggiungimento selettivo della beta-cellula pancreatica all'interno dell'isola non sembra essere stato ottenuto e dimostrato in maniera esaustiva con nessuno dei carrier descritti.

Figura 1 ♦ Caratteristiche dei peptidi per il *targeting* attivo delle beta-cellule pancreatiche

Localizzazione e livelli di espressione genica (intensità del colore) di GLP-1R, GPR44, SUR1 e ZnT-8 in soggetti femminili o maschili. Box giallo: livelli di espressione nel pancreas. β, α, δ, ε, PP, NEC = livelli di espressione rispettivamente in cellule pancreatiche beta, alfa, delta, epsilon, PP e cellule non endocrine; «+++» = molto espresso; «++» = espresso; «+» = poco espresso; «-» = non espresso; «+/-» = espressione controversa; «?» = espressione non valutata; «✓» o «X» = vantaggio o svantaggio ai fini del *targeting*. Immagini adattate da Human Protein Atlas (www.proteinatlas.org); per altri riferimenti bibliografici, consultare il testo (paragrafo corrente).

TARGETING ATTIVO MEDIANTE LEGAME DI PEPTIDI A MOLECOLE DI SUPERFICIE CHE CARATTERIZZANO LE BETA-CELLULE PANCREATICHE

Una delle strategie più sfruttate per indirizzare farmaci specificatamente ad un tipo cellulare è quella di complessare la molecola farmacologica (o il veicolo che la contiene) con anticorpi/ligandi in grado di legare specificatamente molecole di superficie che caratterizzano in maniera possibilmente esclusiva la cellula *target*.

Nel paragrafo precedente, sono stati citati esempi di veicoli complessati a peptidi in grado di riconoscere la microvascolatura dell'isola pancreatica (21, 25-26) o la beta-cellula esprimente GAD nel DMT1 (24).

Tuttavia, affinché questa strategia trovi applicazione nel *targeting* beta-cellulare finalizzato al trattamento del DMT2, le molecole di superficie da bersagliare dovrebbero avere necessariamente alcune caratteristiche: i.) essere abbondantemente espresse sulla superficie delle beta-cellule; ii.) non essere espresse sulla superficie di cellule/tessuti extra-pancreatici; iii.) non essere espresse in cellule pancreatiche esocrine o in cellule pancreatiche endocrine diverse dalle beta-cellule; iv.) essere espresse nel paziente con DMT2; v.) avere sequenza proteica ed espressione tissutale conservati in diverse specie (per facilitarne lo studio preclinico); vi.) quando legato da un anticorpo o ligando, non provocare alterazioni nella sopravvivenza o funzione delle beta-cellule.

Le molecole di superficie beta-cellulare che più rispecchiano queste caratteristiche sembrano essere il recettore del glucagon-like peptide 1 (GLP-1R), il recettore accoppiato a proteina G 44 (GPR44), il recettore delle sulfoniluree 1 (SUR1) e il trasportatore dello zinco 8 (ZnT-8) (Fig. 1).

GLP-1R

Il recettore del GLP-1 è già di per sé un bersaglio terapeutico nel trattamento del DMT2. Nelle beta-cellule, infatti, la sua attivazione incrementa il rilascio di insulina glucosio-dipendente ed induce numerosi altri effetti positivi su vitalità

e funzione beta-cellulare. In altri organi, l'attivazione del GLP-1R determina effetti pleiotropici che contribuiscono a determinare la sua azione ipoglicemizzante e benefica (39-43). Per questi motivi, oggi, diversi agonisti del GLP-1R sono in uso nella pratica clinica per il trattamento del DMT2 (43).

Oltre che come bersaglio terapeutico, il GLP-1R è stato anche ampiamente studiato ed utilizzato per il *targeting* delle isole pancreatiche finalizzato alla diagnostica per immagini (44-45). Tramite il legame del GLP-1R a marcatori, è stato infatti possibile visualizzare la massa endocrina a livello pancreatico in studi preclinici e clinici, suggerendo la possibilità di diagnosticare e seguire la progressione della patologia diabetica mediante misurazione della perdita di massa beta-cellulare.

Il GLP-1R ha un'espressione abbondante sulla superficie delle beta-cellule pancreatiche. Tuttavia, seppure in minore misura e seppure vi siano lavori contrastanti a riguardo, esso sembra essere anche espresso in altre cellule endocrine dell'isola pancreatica (alfa cellule, delta-cellule, cellule epsilon ecc.). Inoltre, il GLP-1R è presente anche sulla superficie di cellule esocrine del pancreas e di alcune cellule extrapancreatiche (46-49). Pertanto, eventuali ligandi del GLP-1R complessati a molecole farmacologiche libere o veicoli potrebbero indirizzare le stesse verso cellule e tessuti diversi dalle beta-cellule pancreatiche.

Un altro aspetto da considerare è che il GLP-1R può essere meno espresso in soggetti diabetici rispetto ai sani. Diversi lavori dimostrano, infatti, che i livelli di GLP-1R sono ridotti in beta-cellule esposte a glucotossicità e/o lipotossicità, che caratterizzano il milieu diabetico (50-51). Nonostante ciò, livelli di GLP-1R adeguati ad ottenere il *targeting* mediante utilizzo di opportuni ligandi sono stati riscontrati in modelli di obesità o diabete (44-45).

Sebbene la maggior parte degli studi preclinici siano effettuati in modelli di roditori, non è ancora chiaro se vi possano essere variazioni specie-specifiche legate alla struttura del GLP-1R e alla capacità di taluni anticorpi/ligandi di legarsi (46, 52).

In un lavoro del 2018, un oligonucleotide antisense (ASO) per un trascritto di RNA non codificante espresso in molti tessuti (trascritto 1 dell'adenocarcinoma polmonare associato alle metastasi, MALAT1) coniugato a un ligando del GLP-1R era in grado di giungere selettivamente alle beta-cellule pancreatiche sia *in vitro* che *in vivo*. L'ASO, inoltre, era in grado di silenziare il bersaglio nelle isole pancreatiche a dosi che non influenzavano l'espressione dello stesso nel fegato o in altri tessuti, indicando una buona specificità del *targeting* (53). Tuttavia, lo specifico raggiungimento della beta-cellula pancreatica rispetto alle altre cellule dell'isola è stato parzialmente dimostrato mediante un unico esperimento di *imaging*. La stessa strategia di coniugazione di un ASO ad un ligando del GLP-1R è stata applicata per ottenere la riduzione dell'espressione del polipeptide amiloide delle isole pancreatiche (IAPP), fattore proapoptotico, in isole di topi (54).

GPR44

Il GPR44 è anche noto come recettore 2 della prostaglandina D₂. È un recettore transmembrana accoppiato a G, attivato dalla prostaglandina endogena D₂, che agisce negativamente sulla produzione di cAMP (55-56).

Il GPR44 è espresso sulle cellule del sistema immunitario, in particolare cellule TH₂ ed eosinofili, ed è coinvolto nella chemiotassi (57). Difatti, sono stati sviluppati numerosi antagonisti del GPR44 per il trattamento dell'allergia e dell'asma e molti di essi sono già impiegati in studi clinici (58-59).

Il GPR44, inoltre, è espresso a livello dei follicoli piliferi, dove l'azione della prostaglandina endogena D₂ è stata collegata all'alopecia da caduta dei capelli, innescando la ricerca su un potenziale ruolo degli antagonisti del GPR44 come trattamento per la calvizie (60-61).

A livello pancreatico, il GPR44 è altamente espresso nelle beta-cellule ma non nel tessuto esocrino né in altre cellule endocrine del pancreas, sia in umani che in primati non umani e in maiali (62). Questa peculiare caratteristica del GPR44 può rappresentare un vantaggio da sfruttare ai fini del *targeting* selettivo delle beta-cellule nel pancreas.

Il GPR44 risulta assente nelle isole insulino-negative di soggetti con DMT1 ma presente nel pancreas di soggetti con DMT2 (62-63). Difatti, il GPR44 è stato anche utilizzato con successo come marcatore di massa beta-cellulare in tecniche di *imaging* (63-66).

Sebbene ci si aspetti che l'attivazione del signaling del GPR44 inibisca la secrezione di insulina (essendo il GPR44 un inibitore della produzione di cAMP), la somministrazione orale di un inibitore del GPR44 non ha portato ad un incremento della secrezione di insulina nei pazienti con DMT2 (67). Tuttavia, l'antagonismo del GPR44 è stato in grado di migliorare la funzione delle isole pancreatiche in condizioni di infiammazione e iperglicemia (68).

Infine, la struttura proteica del GPR44 ha un'identità dell'80% tra la specie murina ed umana e il GPR44 è 3 volte più presente nelle isole umane rispetto alle isole di topo e poco presente in linee cellulari di ratto (62, 69). Queste differenze specie-specifiche andrebbero considerate nel valutare la traslabilità all'uomo di risultati sperimentali ottenuti mediante modelli animali.

SUR1

SUR1 è una subunità del canale del potassio ATP-dipendente delle beta-cellule pancreatiche e un regolatore del rilascio di insulina (70). Esso è target farmacologico della classe delle sulfaniluree, attualmente sul mercato per il trattamento del DMT2 (71).

È altamente espresso in beta-cellule ma anche in altre cellule pancreatiche endocrine (72), nel tessuto esocrino (73) e in cellule extrapancreatiche, come quelle cerebrali (74).

La sequenza e il pattern di espressione sono per lo più conservati in roditori e nell'uomo (72).

SUR1 è stato suggerito come potenziale biomarcatore per le isole pancreatiche (75) e il suo *targeting* ha dato risultati promettenti in studi finalizzati all'*imaging* della massa beta-cellulare (76-77).

Numerosi derivati delle sulfaniluree radiomarcati sono stati utilizzati per tali studi. Tuttavia, tali sonde non sono riuscite a raggiungere una specificità sufficiente per le beta-cellule, determinando invece poco accumulo del segnale specifico nel pancreas e segnali di fondo elevati (78-79). Sebbene un derivato della mitiglinide sia stato segnalato come potenziale sonda per l'*imaging* delle beta-cellule con specificità più elevata (77), nessuna delle sonde disponibili mirate a SUR1 è ancora attualmente in uso nella pratica clinica.

ZnT-8

Zinc Transporter 8 (ZnT-8) è un trasportatore dello zinco, localizzato nella membrana dei granuli secretori e coinvolto nei meccanismi di secrezione insulinica delle beta-cellule pancreatiche (80). La localizzazione di ZnT-8 sulla superficie cellulare è favorita dalla fusione dei granuli secretori con la membrana plasmatica (81,82).

ZnT-8 ha un ruolo ancora controverso: sebbene sia stato dimostrato che la sua downregolazione possa provocare riduzione del contenuto insulinico e della secrezione insulinica glucosio-indotta (81, 83-84), in un recente lavoro emerge che la sua carenza migliora la secrezione insulinica in modelli murini (85).

Nonostante ciò, ZnT-8 è stato di recente identificato come autoantigene nel DMT1 (86) e polimorfismi del suo gene SL-C30A8 sono stati associati ad un aumento del rischio di DMT2 in studi di associazione *genome wide* (87).

Dello ZnT-8 vi sono ortologhi di mammiferi (ratto, topo, scimpanzé e cane), con proteine ZnT-8 molto simili (98% di amminoacidi conservati) alla ZnT-8 umana (80).

Nel considerare ZnT-8 come possibile target per il trasporto di farmaci alle beta-cellule, va considerato che la sua espressione, sebbene limitata a pochi tipi di cellule extrapancreatiche, è presente in cellule pancreatiche esocrine ed in cellule endocrine diverse dalle beta-cellule (88).

Seppure il *targeting* di ZnT-8 abbia dato risultati promettenti in studi di *imaging* di massa beta-cellulare (82, 89), la capacità di *targeting* è risultata inferiore rispetto ai ligandi del GLP-1R, probabilmente perché quest'ultimo è costitutivamente presente sulla superficie cellulare, mentre ZnT8 risiede più frequentemente nella sua posizione intracellulare (89).

Questo aspetto diventa particolarmente importante da considerare nel *targeting* di ZnT8 in condizioni di DMT2: l'espressione di ZnT-8 sulla superficie cellulare è, infatti, dipendente dalla secrezione insulinica, la quale è notoriamente compromessa in condizioni di diabete; pertanto, in tali condizioni, l'espressione di superficie di ZnT-8 potrebbe non essere sufficiente a dare segnale/contatto specifico e abbondante con la formulazione targettizzante (81-82).

VIE DI SOMMINISTRAZIONE CHE FAVORISCONO IL TARGETING BETA-CELLULARE

Somministrazione intra-arteriosa nell'arteria pancreatica

Sebbene le isole pancreatiche costituiscano solo l'1-2% della massa pancreatica, esse sono altamente vascolarizzate. Le isole ricevono il 5-10% del flusso sanguigno pancreatico e lo scambio di soluti è facilitato da un endotelio di tipo fenestrato (90). Il corpo e la coda del pancreas, che contengono la maggior parte delle isole, sono perfusi dall'arteria pancreatica dorsale e dalla grande arteria pancreatica.

Per la somministrazione diretta di farmaci al pancreas, è stata sviluppata una tecnica microchirurgica in modelli murini, che sfrutta l'apporto di sangue arterioso, senza indurre danni fisici (ad esempio, sanguinamento) o biochimici (ad esempio, pancreatite). Questa tecnica è stata utilizzata per comparare l'efficacia di una chemioterapia sistemica ad una intra-arteriosa in modelli murini di carcinoma pancreatico, risultando in esiti migliori (91).

In uno studio pilota, l'arteria pancreatica dorsale è stata infusa con cellule stromali mesenchimali del cordone ombelicale e cellule staminali autologhe mononucleate del midollo osseo, ottenendo un miglioramento dei profili metabolici in pazienti con DMT1 (92).

Questo approccio chirurgico richiede una sedazione profonda del paziente ed esperienza dell'operatore chirurgico, comportando rischi connessi alla puntura delle arterie e del pancreas. Pertanto, seppure promettente, esso presenta rischi intrinseci che andranno considerati e misurati ai benefici di una eventuale terapia del DMT2.

Somministrazione intraperitoneale

L'iniezione intraperitoneale è una strategia efficace per la somministrazione di farmaci diretti ad organi nella cavità peritoneale. Sebbene generalmente poco praticata, viene utilizzata di routine in clinica per somministrare chemioterapici in pazienti con determinati tipi di tumori peritoneali (tra cui quelli pancreatici) (93).

Rispetto alla somministrazione endovenosa, quella intraperitoneale può ridurre la tossicità sistemica, fornire una maggiore biodisponibilità del farmaco e prolungare il contatto dello stesso con gli organi bersaglio (93). Questo accade soprattutto quando il farmaco è coniugato a nanoparticelle, dal momento che la ritenzione delle stesse all'interno della cavità peritoneale è elevata. Difatti, generalmente solo il farmaco libero o piccole nanoparticelle possono essere assorbite nella circolazione sistemica e negli organi circostanti la cavità peritoneale, mentre le particelle più grandi non possono essere trasportate attraverso il peritoneo o attraverso i vasi linfatici e l'assorbimento del farmaco può avvenire solo dopo il rilascio dalle particelle (93).

In un recente lavoro, è stata testata l'efficacia di varie formulazioni di nanoparticelle lipidiche nel rilasciare elevate quantità di mRNA specificatamente al pancreas. I risultati hanno dimostrato che la somministrazione intraperitoneale (e non l'iniezione endovenosa) di nanoparticelle lipidiche contenenti lipidi helper cationici (più che anionici o zwitterionici) produceva un'espressione proteica del mRNA robusta e specifica nel pancreas (29). È interessante notare che la maggior parte dell'espressione proteica risultante si è verificata proprio all'interno delle beta-cellule pancreatiche. Inoltre, gli autori hanno scoperto che le LNP interagiscono nella cavità peritoneale con le cellule B, le cellule T e i macrofagi, e questi ultimi contribuiscono in modo apprezzabile alla somministrazione di mRNA pancreatico. Difatti, essi sono in grado di secernere vescicole extracellulari che trasferiscono il loro carico (non è chiaro se si tratti di LNP integre o di mRNA) alle cellule all'interno del pancreas, secondo un meccanismo definito di "trasferimento genico orizzontale" (29).

Sebbene promettente, è da considerare che l'uso clinico della terapia intraperitoneale è limitato dalla tossicità dovuta all'uso di cateteri permanenti o all'elevata esposizione al farmaco (93).

CONCLUSIONI

Diverse strategie di *targeting* beta-cellulare sono state ad oggi esplorate. La maggior parte di esse riesce a raggiungere l'isola pancreatica in toto (non solo le beta-cellule) e nessuna di esse è stata ancora utilizzata per il trattamento del DMT2.

Le strategie più efficaci nel targetizzare le beta-cellule pancreatiche sembrano essere quelle che sfruttano l'espressione del farmaco controllata dal promotore per l'insulina e quelle che utilizzano come peptide targetizzante attivo il GLP-1R. Per quanto concerne le tipologie di veicolo dei farmaci, nanoparticelle lipidiche cariche positivamente sembrano essere efficaci nel raggiungere le beta-cellule pancreatiche in seguito a somministrazione intraperitoneale.

Tuttavia, a seconda delle caratteristiche del farmaco da somministrare, sarà necessario comprendere quali di queste strategie possa essere realmente utilizzata in maniera efficace e sicura.

Rimane da ottimizzare il *targeting* differenziale in vivo delle beta-cellule pancreatiche rispetto alle altre cellule dell'isola, punto cruciale per consentire ad un farmaco di agire selettivamente a livello beta-cellulare.

Inoltre, vi sono differenze fondamentali nella struttura del pancreas tra topo e uomo che dovrebbero essere studiate per validare la traslabilità all'uomo dei risultati ottenuti in studi preclinici.

In conclusione, il *targeting* farmacologico delle beta-cellule pancreatiche sembra essere una strategia promettente ai fini della prevenzione e/o del trattamento del DMT2. Ulteriori studi sono necessari al fine di identificare la strategia più efficace e sicura per raggiungere in maniera selettiva le beta-cellule pancreatiche dell'isola.

RINGRAZIAMENTI

Articolo prodotto nell'ambito delle attività del Centro Nazionale di Ricerca - Sviluppo di Terapia Genica e Farmaci con Tecnologia a RNA, a valere sulle risorse del Piano Nazionale Ripresa e Resilienza (PNRR), Missione 4 "Istruzione e ricerca", Componente 2 "Dalla ricerca all'impresa", Linea di investimento 1.4 "Potenziamento strutture di ricerca e creazione di campioni nazionali di R&S su alcune Key Enabling Technologies", finanziato dall'Unione Europea - Next Generation EU, Progetto CN0000041, CUP B93D21010860004, Spoke n. 4 "Metabolic and cardiovascular diseases".

BIBLIOGRAFIA

1. Biondi G, Marrano N, Borrelli A, et al. Adipose tissue secretion pattern influences β -cell wellness in the transition from obesity to type 2 diabetes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:5522.
2. Marrano N, Biondi G, Cignarelli A, et al. Functional loss of pancreatic islets in type 2 diabetes: How can we halt it? *Metabolism.* 2020; 110:154304.
3. Lytrivi M, Castell AL, Poitout V, et al. Recent insights into mechanisms of β -cell lipo- and glucolipotoxicity in type 2 diabetes. *J Mol Biol.* 2020; 432:1514-1534.
4. DeFronzo RA, Eldor R, Abdul-Ghani M. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2013; 36:S127-138.
5. U.K. prospective diabetes study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. U.K. Prospective Diabetes Study Group. *Diabetes.* 1995; 44:1249-1258.
6. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, et al. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003; 52:102-110.
7. Chen C, Cohrs CM, Stertmann J, et al. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Mol Metab.* 2017; 6:943-957.
8. Zeynaloo E, Stone LD, Dikici E, et al. Delivery of therapeutic agents and cells to pancreatic islets: Towards a new era in the treatment of diabetes. *Mol Aspects Med.* 2022; 83:101063.
9. Parhiz H, Atochina-Vasserman EN, Weissman D. mRNA-based therapeutics: looking beyond COVID-19 vaccines. *The Lancet.* 2024; 403:1192-1204.
10. Yu AM, Choi YH, Tu MJ. RNA drugs and RNA targets for small molecules: Principles, progress, and challenges. *Pharmacol Rev.* 2020; 72:862-898.
11. Lee M, Han S oh, Ko KS, et al. Cell type specific and glucose responsive expression of interleukin-4 by using insulin promoter and water soluble lipopolymer. *J Controlled Release.* 2001; 75:421-429.
12. Lee M, Han SO, Ko KS, et al. Repression of GAD autoantigen expression in pancreas beta-Cells by delivery of antisense plasmid/PEG-g-PLL complex. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* 2001; 4:339-346.

13. Havrankova J, Schmechel D, Roth J, et al. Identification of insulin in rat brain. *Proc Natl Acad Sci.* 1978; 75:5737-5741.
14. Csajbók ÉA, Tamás G. Cerebral cortex: a target and source of insulin? *Diabetologia.* 2016; 59:1609-1615.
15. Rizvi SAA, Saleh AM. Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. *Saudi Pharm J.* 2018; 26:64-70.
16. Coelho JF, Ferreira PC, Alves P, et al. Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. *EPMA J.* 2010; 1:164-209.
17. Prajapati SK, Jain A, Jain A, et al. Biodegradable polymers and constructs: A novel approach in drug delivery. *Eur Polym J.* 2019; 120:109191.
18. Yang C, Xue Y, Duan Y, et al. Extracellular vesicles and their engineering strategies, delivery systems, and biomedical applications. *J Controlled Release.* 2024; 365:1089-1123.
19. Behzadifar S, Barras A, Plaisance V, et al. Polymer-based nanostructures for pancreatic beta-cell imaging and non-invasive treatment of diabetes. *Pharmaceutics.* 2023; 15:1215.
20. Alshawwa SZ, Kassem AA, Farid RM, et al. Nanocarrier drug delivery systems: Characterization, limitations, future perspectives and implementation of artificial intelligence. *Pharmaceutics.* 2022; 14:883.
21. Ghosh K, Kanapathipillai M, Korin N, et al. Polymeric nanomaterials for islet targeting and immunotherapeutic delivery. *Nano Lett.* 2012; 12:203-208.
22. Yamada Y, Tabata M, Yasuzaki Y, et al. A nanocarrier system for the delivery of nucleic acids targeted to a pancreatic beta cell line. *Biomaterials.* 2014; 35:6430-6438.
23. Wang P, Liu Q, Zhao H, et al. miR-216a-targeting theranostic nanoparticles promote proliferation of insulin-secreting cells in type 1 diabetes animal model. *Sci Rep.* 2020; 10:5302.
24. Jeong JH, Lee M, Kim WJ, et al. Anti-GAD antibody targeted non-viral gene delivery to islet beta cells. *J Controlled Release.* 2005; 107:562-570.
25. Blevins KS, Jeong JH, Ou M, et al. EphA2 targeting peptide tethered bioreducible poly(cystamine bisacrylamide-diamino hexane) for the delivery of therapeutic pCMV-RAE-1 γ to pancreatic islets. *J Controlled Release.* 2012; 158:115-122.
26. Joo WS, Jeong JH, Nam K, et al. Polymeric delivery of therapeutic RAE-1 plasmid to the pancreatic islets for the prevention of type 1 diabetes. *J Controlled Release.* 2012; 162:606-611.
27. Chen S, Ding J huan, Bekeredjian R, et al. Efficient gene delivery to pancreatic islets with ultrasonic microbubble destruction technology. *Proc Natl Acad Sci.* 2006; 103:8469-8474.
28. Shimoda M, Chen S, Noguchi H, et al. In vivo non-viral gene delivery of human vascular endothelial growth factor improves revascularisation and restoration of euglycaemia after human islet transplantation into mouse liver. *Diabetologia.* 2010; 53:1669-1679.
29. Melamed JR, Yerneni SS, Arral ML, et al. Ionizable lipid nanoparticles deliver mRNA to pancreatic β cells via macrophage-mediated gene transfer. *Sci Adv.* 2023; 9:eade1444.
30. Irving-Rodgers HF, Ziolkowski AF, Parish CR, et al. Molecular composition of the peri-islet basement membrane in NOD mice: a barrier against destructive insulinitis. *Diabetologia.* 2008; 51:1680-1688.
31. Oguma T, Kanazawa T, Kaneko YK, et al. Effects of phospholipid type and particle size on lipid nanoparticle distribution in vivo and in pancreatic islets. *J Controlled Release.* 2024; 373:917-928.
32. Patra JK, Das G, Fraceto LF, et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J Nanobiotechnology.* 2018; 16:71.
33. Wen D, Peng Y, Liu D, et al. Mesenchymal stem cell and derived exosome as small RNA carrier and immunomodulator to improve islet transplantation. *J Controlled Release.* 2016; 238:166-175.
34. Nie W, Ma X, Yang C, et al. Human mesenchymal-stem-cells-derived exosomes are important in enhancing porcine islet resistance to hypoxia. *Xenotransplantation.* 2018; 25: e12405.
35. Keshtkar S, Kaviani M, Sarvestani FS, et al. Exosomes derived from human mesenchymal stem cells preserve mouse islet survival and insulin secretion function. *EXCLI J.* 2020; 19:1064-1080.
36. Sun Y, Mao Q, Shen C, et al. Exosomes from β -cells alleviated hyperglycemia and enhanced angiogenesis in islets of streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2019; 12:2053-2064.

37. Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth in vivo. *Cancer Lett.* 2012; 315:28-37.
38. Andre F, Scharztz NE, Movassagh M, et al. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *The Lancet.* 2002; 360:295-305.
39. Laviola L, Leonardini A, Melchiorre M, et al. Glucagon-like peptide-1 counteracts oxidative stress-dependent apoptosis of human cardiac progenitor cells by inhibiting the activation of the c-Jun N-terminal protein kinase signaling pathway. *Endocrinology.* 2012; 153:5770-5781.
40. Natalicchio A, Labarbuta R, Tortosa F, et al. Exendin-4 protects pancreatic beta cells from palmitate-induced apoptosis by interfering with GPR40 and the MKK4/7 stress kinase signalling pathway. *Diabetologia.* 2013; 56:2456-2466.
41. Natalicchio A, De Stefano F, Orlando MR, et al. Exendin-4 prevents c-Jun N-terminal protein kinase activation by tumor necrosis factor- α (TNF α) and inhibits TNF α -induced apoptosis in insulin-secreting cells. *Endocrinology.* 2010; 151:2019-2029.
42. Leonardini A, D'Oria R, Incalza MA, et al. GLP-1 receptor activation inhibits palmitate-induced apoptosis via ceramide in human cardiac progenitor cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017; 102:4136-4147.
43. Caruso I, Di Gioia L, Di Molfetta S, et al. Glucometabolic outcomes of GLP-1 receptor agonist-based therapies in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *eClinicalMedicine.* 2023; 64:102181.
44. Reiner T, Thurber G, Gaglia J, et al. Accurate measurement of pancreatic islet β -cell mass using a second-generation fluorescent exendin-4 analog. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108:12815-12820.
45. Wang P, Yoo B, Yang J, et al. GLP-1R-targeting magnetic nanoparticles for pancreatic islet imaging. *Diabetes.* 2014; 63:1465-1474.
46. Knudsen LB, Hastrup S, Underwood CR, et al. Functional importance of GLP-1 receptor species and expression levels in cell lines. *Regul Pept.* 2012; 175:21-29.
47. Khera E, Zhang L, Roberts S, et al. Blocking of glucagon like peptide-1 receptors in the exocrine pancreas improves specificity for β -cells in a mouse model of type 1 diabetes. *J Nucl Med.* 2019; 60:1635-1641.
48. Gray SM, Xin Y, Ross EC, et al. Discordance between GLP-1R gene and protein expression in mouse pancreatic islet cells. *J Biol Chem.* 2020; 295:11529-11541.
49. Zhang Y, Parajuli KR, Fava GE, et al. GLP-1 receptor in pancreatic α -cells regulates glucagon secretion in a glucose-dependent bidirectional manner. *Diabetes.* 2019; 68:34-44.
50. Xu G, Kaneto H, Laybutt DR, et al. Downregulation of GLP-1 and GIP receptor expression by hyperglycemia. *Diabetes.* 2007; 56:1551-1558.
51. Natalicchio A, Biondi G, Marrano N, et al. Long-term exposure of pancreatic β -cells to palmitate results in SREBP-1C-dependent decreases in GLP-1 receptor signaling via CREB and AKT and insulin secretory response. *Endocrinology.* 2016; 157:2243-2258.
52. Eriksson O, Rosenström U, Selvaraju RK, et al. Species differences in pancreatic binding of DO₃A-VS-Cys₄₀-Exendin₄. *Acta Diabetol.* 2017; 54:1039-1045.
53. Ämmälä C, Drury WJ, Knerr L, et al. Targeted delivery of antisense oligonucleotides to pancreatic β -cells. *Sci Adv.* 2018; 4:eaat3386.
54. Knerr L, Prakash TP, Lee R, et al. Glucagon like peptide 1 receptor agonists for targeted delivery of antisense oligonucleotides to pancreatic beta cell. *J Am Chem Soc.* 2021; 143:3416-3429.
55. Hata AN, Zent R, Breyer MD, et al. Expression and molecular pharmacology of the mouse CRTH₂ receptor. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 306:463-470.
56. Wang L, Yao D, Deepak RNVK, et al. Structures of the human PGD₂ receptor CRTH₂ reveal novel mechanisms for ligand recognition. *Mol Cell.* 2018; 72:48-59.
57. Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, et al. Prostaglandin D₂ selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor Crth₂. *J Exp Med.* 2001; 193:255-262.
58. Kupczyk M, Kuna P. Targeting the PGD₂/CRTH₂/DP₁ signaling pathway in asthma and allergic disease: Current status and future perspectives. *Drugs.* 2017; 77:1281-1294.

59. Xue L, Gyles SL, Wettley FR, et al. Prostaglandin D2 causes preferential induction of proinflammatory Th2 cytokine production through an action on chemoattractant receptor-like molecule expressed on Th2 cells. *J Immunol.* 2005; 175:6531-6536.
60. Nieves A, Garza LA. Does prostaglandin D2 hold the cure to male pattern baldness? *Exp Dermatol.* 2014; 23:224-227.
61. Garza LA, Liu Y, Yang Z, et al. Prostaglandin D2 inhibits hair growth and is elevated in bald scalp of men with androgenetic alopecia. *Sci Transl Med.* 2012; 4:126.
62. Hellström-Lindahl E, Danielsson A, Ponten F, et al. GPR44 is a pancreatic protein restricted to the human beta cell. *Acta Diabetol.* 2016; 53:413-421.
63. Eriksson O. GPR44 as a Target for Imaging Pancreatic Beta-Cell Mass. *Curr Diab Rep.* 2019; 19:49.
64. Jahan M, Johnström P, Selvaraju RK, et al. The development of a GPR44 targeting radioligand [¹¹C]AZ12204657 for in vivo assessment of beta cell mass. *EJNMMI Res.* 2018; 8:113.
65. Cheung P, Zhang B, Puuvuori E, et al. PET imaging of GPR44 by antagonist [¹¹C]MK-7246 in pigs. *Biomedicines.* 2021; 9:434.
66. Lindskog C, Korsgren O, Pontén F, et al. Novel pancreatic beta cell-specific proteins: Antibody-based proteomics for identification of new biomarker candidates. *J Proteomics.* 2012; 75:2611-2620.
67. Skrtic S, Tyrberg B, Broberg M, et al. Exploring the insulin secretory properties of the PGD₂-GPR44/DP2 axis in vitro and in a randomized phase-1 trial of type 2 diabetes patients. *PLoS One.* 2018; 13:e0208998.
68. Abadpour S, Tyrberg B, Schive SW, et al. Inhibition of the prostaglandin D₂-GPR44/DP2 axis improves human islet survival and function. *Diabetologia.* 2020; 63:1355-1367.
69. Cheung P, Amin MA, Zhang B, et al. [¹⁸F]MK-7246 for positron emission tomography imaging of the beta-cell surface marker GPR44. *Pharmaceutics.* 2023; 15:499.
70. Ashcroft SJH, Ashcroft FM. The sulfonylurea receptor. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res.* 1992; 1175:45-59.
71. Hansen J. Towards selective Kir6.2/SUR1 potassium channel openers, medicinal chemistry and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem.* 2006; 13:361-376.
72. Guiot Y, Stevens M, Marhfour I, et al. Morphological localisation of sulfonylurea receptor 1 in endocrine cells of human, mouse and rat pancreas. *Diabetologia.* 2007; 50:1889-1899.
73. Ladriere L, Malaisse-Lagae F, Malaisse WJ. Uptake of tritiated glibenclamide by endocrine and exocrine pancreas. *Endocrine.* 2000; 12:329-332.
74. Kaubisch N, Hammer R, Wollheim C, et al. Specific receptors for sulfonylureas in brain and in a B-cell tumor of the rat. *Biochem Pharmacol.* 1982; 31:1171-1174.
75. Nakamura Y, Bryan J. Targeting SUR1/Abcc8-type neuroendocrine KATP channels in pancreatic islet cells. *PLoS One.* 2014; 9:e91525.
76. Wängler B, Schneider S, Thews O, et al. Synthesis and evaluation of (S)-2-(2-[¹⁸F]fluoroethoxy)-4-([3-methyl-1-(2-piperidin-1-yl-phenyl)-butyl-carbamoyl]-methyl)-benzoic acid ([¹⁸F]repaglinide): a promising radioligand for quantification of pancreatic β-cell mass with positron emission tomography (PET). *Nucl Med Biol.* 2004; 31:639-647.
77. Kimura H, Matsuda H, Fujimoto H, et al. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled mitiglinide derivatives as positron emission tomography tracers for β-cell imaging. *Bioorg Med Chem.* 2014; 22:3270-3278.
78. Oh CS, Kohanim S, Kong FL, et al. Sulfonylurea receptor as a target for molecular imaging of pancreas beta cells with ^{99m}Tc-DTPA-glipizide. *Ann Nucl Med.* 2012; 26:253-261.
79. Schneider S, Feilen P, Schreckenberger M, et al. In vitro and in vivo evaluation of novel glibenclamide derivatives as imaging agents for the non-invasive assessment of the pancreatic islet cell mass in animals and humans. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2005; 113:388-395.
80. Chimienti F, Favier A, Seve M. ZnT-8, A pancreatic beta-cell-specific zinc transporter. *BioMetals.* 2005; 18:313-317.
81. Huang Q, Merriman C, Zhang H, et al. Coupling of insulin secretion and display of a granule-resident zinc transporter ZnT8 on the surface of pancreatic beta cells. *J Biol Chem.* 2017; 292:4034-4043.
82. Merriman C, Huang Q, Gu W, et al. A subclass of serum anti-ZnT8 antibodies directed to the surface of live pancreatic β-cells. *J Biol Chem.* 2018; 293:579-587.

83. Fu Y, Tian W, Pratt EB, et al. Down-regulation of ZnT8 expression in INS-1 rat pancreatic beta cells reduces insulin content and glucose-inducible insulin secretion. *PLoS One*. 2009; 4:e5679.
84. Wijesekara N, Dai FF, Hardy AB, et al. Beta cell-specific Znt8 deletion in mice causes marked defects in insulin processing, crystallisation and secretion. *Diabetologia*. 2010; 53:1656-1668.
85. Piro A, Luo Y, Zhang Z, et al. Beta cell specific ZnT8 gene deficiency and resulting loss in zinc content significantly improve insulin secretion. *Mol Cell Endocrinol*. 2024; 594:112376.
86. Wenzlau JM, Frisch LM, Gardner TJ, et al. Novel antigens in type 1 diabetes: The importance of ZnT8. *Curr Diab Rep*. 2009; 9:105-112.
87. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007; 445:881-885.
88. Tamaki M, Fujitani Y, Uchida T, et al. Downregulation of ZnT8 expression in pancreatic β -cells of diabetic mice. *Islets*. 2009; 1:124-128.
89. Eriksson O, Johnström P, Cselenyi Z, et al. In vivo visualization of β -cells by targeting of GPR44. *Diabetes*. 2018; 67:182-192.
90. Brissova M, Powers AC. Revascularization of transplanted islets. *Diabetes*. 2008; 57:2269-2271.
91. Rezaee M, Wang J, Razavi M, et al. A study comparing the effects of targeted intra-arterial and systemic chemotherapy in an orthotopic mouse model of pancreatic cancer. *Sci Rep*. 2019; 9:15929.
92. Cai J, Wu Z, Xu X, et al. Umbilical cord mesenchymal stromal cell with autologous bone marrow cell transplantation in established type 1 diabetes: A pilot randomized controlled open-label clinical study to assess safety and impact on insulin secretion. *Diabetes Care*. 2016; 39:149-157.
93. Lu Z, Wang J, Wientjes MG, et al. Intraperitoneal therapy for peritoneal cancer. *Future Oncol*. 2010; 6:1625-1641.