

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Α' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑ

ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΛΑΪΚΟ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΤΑ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ

ΑΥΤΟΑΝΟΣΟΥ ΔΙΑΒΗΤΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΜΑΚΑΤΟΥΝΑΚΗ ΜΑΡΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΛΒΑΤΣΙΩΤΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2022

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- ΧΑΛΒΑΤΣΙΩΤΗΣ Π., ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΕΚΠΑ
(ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)
- ΧΑΤΖΗΑΓΓΕΛΑΚΗ Ε., ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΕΚΠΑ
- ΡΑΠΤΗΣ Α., ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

- ΠΕΜΠΤΗ 14 ΙΟΥΛΙΟΥ 2022

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, στο τμήμα Ιατρικής, κατά το έτος 2022.

Τα τελευταία δύο έτη αποτέλεσαν και συνεχίζουν να αποτελούν μια πρόκληση για όλους μας, ειδικότερα όσον αφορά τους επαγγελματίες υγείας. Θα ήταν αδύνατο να μην ευχαριστήσω τον συντονιστή του μεταπτυχιακού, κ. Ν. Τεντολούρη, ο οποίος πέρα από το γεγονός ότι μου έδωσε την ευκαιρία να συμμετέχω σε αυτό το υπέροχο πρόγραμμα από το οποίο έμαθα πάρα πολλά, σε αυτές τις δύσκολες στιγμές ήταν δίπλα μας και προσπάθησε να διευκολύνει και να βοηθήσει κάθε μεταπτυχιακό φοιτητή με όποιον τρόπο μπορούσε, καθιστώντας εφικτή την ολοκλήρωση των σπουδών μας με τον καλύτερο δυνατόν τρόπο παρά τις δυσκολίες της εποχής της οποίας διανύουμε. Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Π. Χαλβατσιώτη, Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας Ε.Κ.Π.Α., επιβλέποντα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την βοήθεια και την καθοδήγηση καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της.

Η ολοκλήρωση αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας θα ήταν όμως αδύνατη χωρίς την πολύτιμη υποστήριξη του καλού μου φίλου Γ. Κουρσιουμπά και της αδελφής μου Σ. Μακατουνάκη. Θα ήθελα λοιπόν να εκφράσω ένα βαθύ ευχαριστώ στα άτομα αυτά που πάντα με στηρίζουν και είναι δίπλα μου σε κάθε βήμα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, Ι. Μακατουνάκη και Παυλίδου Α., όπως και τη νονά μου, Μ. Τζαρδή, οι οποίοι υπήρξαν πάντα ένα ανεκτίμητο στήριγμα για μένα, και στους οποίους οφείλω ότι είμαι μέχρι σήμερα.

Αθήνα, Ιούλιος 2022

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	8
2. SUMMARY	10
3. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	11
3.1. Εισαγωγή.....	11
3.1.1. Εισαγωγή στην ανοσολογία.....	11
3.1.2. Ενεργοποίηση των Β-Λεμφοκυττάρων και αντισώματα.....	14
3.1.3. Ενεργοποίηση των Τ-Λεμφοκυττάρων	21
3.1.4. Εισαγωγή στην αυτοανοσία.....	24
3.1.5. Εισαγωγή στον Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ).....	25
3.1.6. Νησίδια του παγκρέατος.....	29
3.1.6.1. Ινσουλίνη.....	31
3.1.6.2. Γλυκαγόνη.....	32
3.1.6.3. Σωματοστατίνη.....	33
3.1.6.4. Παγκρεατικό πολυπεπτίδιο (PP)	33
3.2. Αυτοάνοσος σακχαρώδης διαβήτης.....	34
3.2.1. Ορισμός.....	34

3.2.2. Επιδημιολογία	34
3.2.3. Αιτιολογικοί παράγοντες	36
3.2.4. Παθογένεση	37
3.2.5. Παθοφυσιολογία	38
3.2.6. Γενετική	41
3.2.6.1. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1	41
3.2.6.2. LADA	43
3.2.7. Πρόληψη	45
3.2.8. Αυτοαντισώματα	47
3.2.8.1. Αντισώματα έναντι των κυττάρων των νησιδίων Langerhans	49
3.2.8.2. Αντισώματα ANTI-GAD	50
3.2.8.3. Αντισώματα έναντι της ινσουλίνης	51
3.3. Μονοκλωνικά αντισώματα	52
3.3.1. Εισαγωγή	52
3.3.2. Σύγχρονοι μέθοδοι παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων	53
3.3.3. Μηχανισμός δράσης	55
3.3.3.1. Άμεση θανάτωση καρκινικών κυττάρων	56

3.3.3.2. Ανοσο-επαγόμενη θανάτωση καρκινικών κυττάρων	57
3.3.3.3. Αδρανοποίηση αγγειακών και στρωματικών κυττάρων.....	57
3.3.4. Εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στον αυτοάνοσο διαβήτη ..	58
3.3.4.1. Anti-CD3 θεραπεία.....	60
3.3.4.2. Anti-CD20 θεραπεία.....	62
3.3.4.3. Anti-CD2 θεραπεία.....	62
3.3.5. Μέθοδοι χορήγησης και βιοδιαθεσιμότητα.....	63
3.3.6. Ανεπιθύμητες ενέργειες	65
3.3.7. Αποτελεσματικότητα	67
3.3.8. Κόστος.....	67
4. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	70
4.1. Σκοπός.....	70
4.2. Μέθοδοι.....	71
4.2.1. Κριτήρια ένταξης.....	73
4.2.2. Κριτήρια αποκλεισμού	74
4.3. Αποτελέσματα.....	75
4.3.1. Αντισώματα που στοχεύουν T - κύτταρα και B – κύτταρα	76

4.3.1.1. Οτελιξιζουμάμπη	78
4.3.1.2. Τεπλιζουμάμπη	81
4.3.1.3 Alfaccept	88
4.3.1.4 Σιπλιζουμάμπη	89
4.3.1.5 Ριτουξιμάμπη	90
4.3.2. Αντισώματα που στοχεύουν άλλες πρωτεΐνες ή κύτταρα	92
4.3.2.1 Γολιμουμάμπη	92
4.3.2.2. Ιματινίμπη	93
4.3.2.3 Anti IL-7/RN 168	95
4.3.2.4 IL-2/Anti-IL-2	96
4.3.2.5 Τεμελιμάμπη	97
4.3.3 Αντισώματα που επάγουν τον αυτοάνοσο διαβήτη	98
4.4. Συμπεράσματα	105
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	107

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο διαβήτης τύπου 1 (T1D) θεωρείται ευρέως ότι είναι μια αυτοάνοση ασθένεια που καθοδηγείται από T κύτταρα, με αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή ινσουλίνης λόγω δυσλειτουργίας/καταστροφής των παγκρεατικών β κυττάρων. Μεταξύ των διαφορετικών θεραπειών που έχουν δοκιμαστεί για τη θεραπεία της νόσου είναι και η ανοσοθεραπεία. Ο απώτερος στόχος μιας ανοσοθεραπείας για τον T1D είναι η καταστολή της συνεχιζόμενης αυτοανοσίας των β κυττάρων αποκαθιστώντας την περιφερική ανοχή χωρίς να επηρεαστεί η προστατευτική ανοσία και να διατηρηθεί η λειτουργία των β κυττάρων. Ωστόσο, η πολυπλοκότητα της διαδικασίας της νόσου, που χαρακτηρίζεται από πολλαπλούς ανοσολογικούς τελεστές, και η ποικίλη κινητική της εξέλιξης της νόσου μεταξύ των ατόμων, έχει καταστήσει την ανάπτυξη αποτελεσματικών ανοσοθεραπειών εξαιρετικά προκλητική μέχρι σήμερα.

Γενικά, οι θεραπείες με mAb έχουν εφαρμοστεί για την αλλαγή της εξέλιξης της νόσου διαγράφοντας ανοσοενεργά κύτταρα, αλλάζοντας τον φαινότυπο/λειτουργία των τελεστών κυττάρων ή παρεμποδίζοντας τις αλληλεπιδράσεις διαλυτής/κυτταρικής επιφάνειας πρωτεΐνης. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν βάσεις δεδομένων και με τη χρήση κατάλληλων λέξεων-κλειδιών προέκυψαν 1679 μελέτες οι οποίες περιλάμβαναν τη χρήση αντισωμάτων για τη θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη. Από τα αποτελέσματα της ανάλυσης φάνηκε ότι οι κλινικές θεραπείες που στοχεύουν τα T κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και τα B κύτταρα του παγκρέατος μέσω αντι-CD3 και αντι-CD20, αντίστοιχα, έχουν αποδείξει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα στη διατήρηση της μάζας των β-κυττάρων σε πρόσφατα διαγνωσμένους ασθενείς. Από τα αντι-CD3 φαίνεται πως η τεπλιζουμάμπη είναι πιο πολλά υποσχόμενη μιας και καταφέρνει να διατηρεί σταθερά ή να μειώνει τα επίπεδα

του πεπτιδίου C ενώ από τα αντι-CD20 και αντι-CD2 δεν έχουν τόσο καλά αποτελέσματα. Πλέον υποσχόμενα είναι τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται ήδη ως θεραπεία για άλλες νόσους

2. SUMMARY

Type 1 diabetes (T1D) is widely considered to be an autoimmune disease driven by T cells, resulting in reduced insulin production due to dysfunction or destruction of pancreatic β cells. Among the various treatments that have been tried to treat the disease through the years is immunotherapy. The ultimate goal of immunotherapy for T1D is the suppression of the continuous β -cell autoimmunity mainly by restoring peripheral tolerance. This must be done without affecting protective immunity and maintaining β -cell function. However, the complexity of the disease process, which is characterized by multiple immune actors, and the varied kinetics of disease progression between individuals, has made the development of effective immunotherapies extremely challenging to date.

In general, mAb therapies have been applied to reverse the progression of the disease by deleting immunoactive cells, altering the phenotype / function of cell operators, or inhibiting soluble / cell surface protein interactions. Databases were used in the present work and with the use of appropriate keywords 1679 studies were obtained which included the use of antibodies for the treatment of autoimmune diabetes. The results of the analysis showed that clinical therapies targeting immune T cells and pancreatic B cells via anti-CD3 and anti-CD20, respectively, have demonstrated safety and efficacy in maintaining β -cell mass. in newly diagnosed patients. From the anti-CD3 it seems that teplizumab is more promising since it manages to maintain stable or reduce the levels of peptide C while from the anti-CD20 and anti-CD2 they do not have such good results. Most promising are the antibodies already used as a treatment for other diseases.

3. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. Εισαγωγή

3.1.1. Εισαγωγή στην ανοσολογία

Ανοσολογία ορίζεται ως η μελέτη του ανοσιακού συστήματος και της αλληλεπίδρασης των οργάνων, τόσο σε υγιείς, όσο και σε παθολογικές καταστάσεις [1]. Παράλληλα, οι ανοσολογικές διαταραχές (αυτοάνοσα νοσήματα, υπερευαισθησίες, ανοσοανεπάρκειες, απόρριψη οργάνων) προκύπτουν από τη δυσλειτουργία του ανοσιακού συστήματος [2].

Το ανοσιακό σύστημα αποτελείται από βασικά ανολογικά όργανα (όπως είναι ο θύμος αδένας, ο σπλήνας, ο μυελός των οστών και το λεμφικό σύστημα), κύτταρα (όπως μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, σιτευτικά κύτταρα και λευκοκύτταρα), καθώς και από μη κυτταρικά στοιχεία που αποτελούν μέρος κάθε ιστού σε ολόκληρο το σώμα. Επιπρόσθετα, λειτουργεί διακρίνοντας ξένα μακρομόρια από τον εαυτό και στη συνέχεια αποκτά ανοχή στις φυσιολογικές ουσίες και εξαλείφει κάθε αντιγόνο. Τα αντιγόνα είναι ξένες, ως προς τον εαυτό ουσίες, οι οποίες προσδένονται σε T- και B-λεμφοκύτταρα ή αντισώματα. Αντιγόνα, επίσης, αποτελούν οι απτίνες και τα ανοσογόνα, αλλά μόνο τα τελευταία μπορούν να προκαλέσουν ανοσιακή απόκριση [3].

Η άμυνα του ανοσιακού συστήματος περιλαμβάνει φυσικούς, χημικούς και μηχανικούς φραγμούς στην είσοδο των παθογόνων παραγόντων. Η πρώτη γραμμή άμυνας, που εμποδίζει παθογόνα, όπως βακτήρια, ιούς και μύκητες, να εισέλθουν στο σώμα, είναι ο φυσικός φραγμός (δέρμα και μεμβρανικά εκκρίματα). Αν τα παθογόνα κύτταρα διαπεράσουν αυτούς τους φραγμούς, τότε αναλαμβάνει η δεύτερη γραμμή άμυνας του οργανισμού, το φυσικό ανοσιακό σύστημα το οποίο παρέχει μια άμεση μη ειδική

απόκριση στα ανοσογόνα και χαρακτηρίζεται από οξεία φλεγμονή και έλξη των κυκλοφορόντων λευκοκυττάρων στη περιοχή [4]. Αν η φυσική αντίδραση αποτύχει, τότε ο οργανισμός, μέσω αυτής, ενεργοποιεί την ειδική προστασία τρίτου βαθμού, το επίκτητο ανοσιακό σύστημα το οποίο μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ζωής και διαθέτει την ικανότητα μνήμης ώστε την δεύτερη φορά να έχει πιο άμεση και πιο ισχυρή αντιμετώπιση του εισβολέα [5]. Το επίκτητο σύστημα χωρίζεται στη κυτταρική ανοσία, η οποία στοχεύει μολυσμένα κύτταρα, και συντονίζεται από τα T- κύτταρα και τη χυμική ανοσία, η οποία αντιμετωπίζει λοιμογόνους παράγοντες τόσο στο αίμα, όσο και στους ιστούς, και διευθύνεται από τα B-κύτταρα και τα αντισώματα που παράγουν [6] [7] [8].

Όπως και το ανοσιακό σύστημα, έτσι και τα λευκοκύτταρα διακρίνονται σε δύο τύπους, τα φυσικά και τα επίκτητα. Τα φυσικά λευκοκύτταρα περιλαμβάνουν τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα, και τα δενδριτικά κύτταρα, και φέρουν υποδοχείς τόσο για τα παθογόνα όσο και για τα αντιγόνα καλυμμένα, είτε με το συμπλήρωμα, είτε με αντισώματα. Αυτά τα κύτταρα έχουν πολλαπλούς ρόλους. Αρχικά, περικυκλώνουν και καταστρέφουν τα παθογόνα, ενώ παράλληλά μέσω των ανοσομεσολαβητών επηρεάζουν τις αποκρίσεις. Επιπλέον, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα λειτουργούν ως αντιγονοπαρουσιαστικά στα T- λεμφοκύτταρα [9] . Όσον αφορά τα επίκτητα λευκοκύτταρα, κύριο ρόλο παίζουν τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK-natural killer cells) τα οποία επιτίθενται στα μη φυσιολογικά κυτταρικά σώματα, τα εωσινόφιλα, τα οποία κυρίως συμμετέχουν στις αλλεργικές αντιδράσεις, αλλά και σε άλλες ανοσοαποκρίσεις, και τα σιτευτικά κύτταρα, τα οποία συμμετέχουν στην άμυνα ενάντια στους παθογόνους και στην επούλωση του τραύματος [1].

Τα T-λεμφοκύτταρα έχουν ειδικούς αντιγονικούς υποδοχείς (TCRs-T cell receptors), οι οποίοι δεσμεύονται από τα αντιγόνα που παρουσιάζονται από τις πρωτεΐνες του MHC

(μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας) και διεγείρονται με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων και την δημιουργία κλώνων T-κυττάρων και κυττάρων μνήμης [10] [11]. Από τις πρωτεΐνες του MHC I διεγείρονται μόνο τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα (CTLs-cytotoxic lymphocytes), τα οποία αναγνωρίζουν και εξουδετερώνουν τα μολυσμένα με ενδοκυττάρια παθογόνα κύτταρα διεγείροντας την απόπτωση τους [1]. Αντίθετα, από τις πρωτεΐνες του MHC II διεγείρονται και τα βοηθητικά T-κύτταρα τύπου 1, τα οποία ενεργοποιούν τα μακροφάγα και τα βοηθητικά κύτταρα τύπου 2, τα οποία ενεργοποιούν τα B-λεμφοκύτταρα [3]. Τα βοηθητικά T-κύτταρα συντονίζουν τις πράξεις τους μέσω της έκκρισης κυτταροκινών, όπως η ιντερλευκίνη 2 (IL-2) και ιντερφερόνη γ (IFN-γ) [12]. Ένας τρίτος τύπος T-λεμφοκυττάρων είναι τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Treg-regulatory T cells), τα οποία αποτρέπουν την υπερδιέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος [13] [14].

Τα B-λεμφοκύτταρα έχουν, ομοίως, ειδικούς αντιγονικούς υποδοχείς, οι οποίοι δεσμεύουν καθαρά αντιγόνα, και με την ενεργοποίησή τους μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα, τα οποία παράγουν αντισώματα και κύτταρα μνήμης. Τα αντισώματα είναι ειδικές πρωτεΐνες, οι οποίες συνδέονται με τα αντιγόνα μέσω της μεταβλητής περιοχής (Fab region of the antibody) τους και τα οψονοποιούν, έτσι ώστε, όταν τα φαγοκύτταρα συνδεθούν στην σταθερή περιοχή του αντισώματος (Fc region of the antibody), να γίνουν περισσότερο φαγοκυτταρικά με σκοπό να ξεφύγουν το δυνατόν λιγότεροι εισβολείς (γνωστοί ή μη) [1].

3.1.2. Ενεργοποίηση των Β-Λεμφοκυττάρων και αντισώματα

Τα Β-λεμφοκύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών και κατάγονται από τα αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα (stem cells). Όλα τα Β-κύτταρα έχουν υποδοχείς, με τους οποίους επικοινωνούν με το περιβάλλον τους (BCRs-B cell receptors). Κάθε υποδοχέας έχει δύο μέρη, το αναγνωριστικό, το οποίο αποτελείται από πρωτεΐνες βαρέων (Hc-heavy chain) και ελαφρών (Lc-light chain) αλύσων, και το σήμανσης, το οποίο αποτελείται από Igα και Igβ πρωτεΐνες. Κάθε ώριμο Β-κύτταρο παράγει ένα και μόνο ένα είδος BCR ή αντισώματος, το οποίο αποτελείται από ένα και μόνο ένα είδος Hc και Lc πρωτεϊνών. Οι υποδοχείς για κάθε Β-κύτταρο είναι διαφορετικοί, καθώς τα τελικά γονίδια βαρέων και ελαφρών αλύσων σε κάθε Β-κύτταρο έχουν επιλεγθεί τυχαία, επομένως μπορούν αναγνωρίσουν σχεδόν εξ' ολοκλήρου κάθε οργανίδιο με το οποίο έρχονται σε επαφή [15] [16].

Οι Β υποδοχείς εντοπίζουν το αντιγόνο αναγνώρισης και δεσμεύονται στον αντιγονικό επίτοπο. Μέσω αυτής της σύνδεσης μεταφέρεται το σήμα στον πυρήνα του Β-λεμφοκυττάρου, όπου υπάρχουν γονίδια τα οποία μπορούν να το ενισχύσουν ή να το ελαττώσουν. Η ενεργοποίηση του σήματος (signal activation) επιτυγχάνεται μέσω της συσσώρευσης και της δημιουργίας συμπλόκων BCR (BCR clustering), το αποκαλούμενο «crosslinking», και επιτρέπει στα Β-κύτταρα να μπορούν να εστιάσουν σε έναν κοινό εχθρό [17]. Οι ουρές των πρωτεϊνών του τμήματος σήμανσης του BCR αλληλοεπιδρούν με τα μόρια σήμανσης μέσα στο κύτταρο, και όταν μέσω του «clustering» των BCR συγκεντρώνονται αρκετά Igα και Igβ μόρια σήμανσης μαζί, υπερβαίνεται ο ουδός και ενεργοποιείται η ενζυμική αλυσιδωτή αντίδραση, η οποία στέλνει το σήμα «υποδοχέας προσδεμένος» στον πυρήνα.

Τα Β-κύτταρα έχουν συνυποδοχείς στην επιφάνεια τους, οι οποίοι μπορούν να αναγνωρίσουν οψονισμένα αντιγόνα. Όταν και οι συνυποδοχείς είναι δεσμευμένοι, τότε ο ουδός των Igα και Igβ μορίων σήμανσης που απαιτείται για την ενεργοποίηση του σήματος είναι μικρότερος [18].

Τα μη ενεργοποιημένα Β-κύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν με δύο τρόπους, μέσω των Τ-λεμφοκυττάρων ή ανεξάρτητα. Τα Β-λεμφοκύτταρα όπως αναφέρθηκε και παραπάνω χρειάζονται δύο σήματα ώστε να ενεργοποιηθούν, το πρώτο έρχεται από το «BCR clustering» και το δεύτερο από τους «συνυποδοχείς», και είναι απαραίτητα διότι με αυτό τον μηχανισμό αποτρέπεται η πιθανή παραγωγή αυτοαντισωμάτων. Το δεύτερο σήμα παρέχεται είτε από τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα είτε από συνυποδοχείς που επιβεβαιώνουν ότι υπάρχει όντως απειλή για τον οργανισμό. Η ενεργοποίηση μέσω των Th κυττάρων γίνεται με άμεση επαφή αυτών και των Β-κυττάρων, μέσω των πρωτεϊνών που βρίσκονται στην επιφάνεια τους, CD40L και CD40 αντίστοιχα [19]. Στην περίπτωση αυτή τον ρόλο του συνυποδοχέα παίζουν τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα. Οποιαδήποτε διαταραχή σε μία από αυτές τις πρωτεΐνες καθιστά αυτή τη διαδικασία αδύνατη. Ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων χωρίς τη βοήθεια των Th γίνεται συνήθως με αντιγόνα που έχουν επαναλαμβανόμενους επιτόπους στην επιφάνεια τους και με αυτόν τον τρόπο πολλοί υποδοχείς μπορούν να «crosslink» [19]. Σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητο το δεύτερο σήμα να έρθει ως επιβεβαίωση «κινδύνου», καθώς διαφορετικά το Β-κύτταρο δεν θα ενεργοποιηθεί. Αντίθετα, τα Β-λεμφοκύτταρα μπορούν επιπρόσθετα να ενεργοποιηθούν και μέσω της πολυκλωνικής ενεργοποίησης, η οποία καθιστά έναν ανορθόδοξο τρόπο ενεργοποίησης και αποτελεί παράδειγμα πως το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αποτύχει κάποιες φορές καθώς δεν απαιτείται επιβεβαίωση από κάποιον

συνυποδοχέα και με αυτόν τον τρόπο από ένα μιτογόνο πολλά Β-λεμφοκύτταρα με διαφορετικές ειδικότητες μπορούν να ενεργοποιηθούν [20]. Σε αυτή τη περίπτωση το αντιγόνο λέγεται μιτογόνο και δρα δεσμεύοντας μόρια στην επιφάνεια των Β-κυττάρων άλλα των υποδοχέων, φέρνοντας αυτά τα μόρια κοντά, με αποτέλεσμα οι υποδοχείς αυτών να συσσωρεύονται και να δημιουργούν σύμπλοκα.

Τα ενεργοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα ωριμάζουν μέσω τριών βημάτων: μεταγωγής κατηγορίας (class switching) κατά την οποία τα Β-κύτταρα μπορούν να αλλάξουν την κατηγορία αντισωμάτων την οποία παράγουν, σωματική υπερμετάλλαξη (somatic hypermutation) κατά την οποία με τη βοήθεια της συγγενούς ωρίμανσης, τα ανασυνδυασμένα γονίδια των BCR μπορούν να μεταλλαχθούν ώστε να αυξήσουν την ευαισθησία αναγνώρισης του αντιγόνου τους (cognate antigen) από τους BCR, και τέλος, η απόφαση αν το ώριμο Β-κύτταρο θα γίνει πλασματοκύτταρο ώστε να παράγει αντισώματα ή κύτταρο μνήμης [21].

Τα Β-λεμφοκύτταρα μνήμης έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και ο λόγος είναι ότι είναι υπεύθυνα για τη παραγωγή αντισωμάτων σε μελλοντικές εκθέσεις του οργανισμού στο ίδιο αντιγόνο. Β-κύτταρα μνήμης μπορούν να παραχθούν όμως μόνο στη περίπτωση που τα Β-λεμφοκύτταρα ενεργοποιήθηκαν μέσω των Τ-βοηθητικών λεμφοκυττάρων. Ιδιότητα τους είναι λοιπόν η ανοσοποιητική μνήμη, χαρακτηριστικό που στηρίχτηκε πάνω ο εμβολιασμός, καθώς πολλά αντισώματα για το συγκεκριμένο αντιγόνο ελευθερώνονται στη κυκλοφορία άμεσα με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη και πιο άμεση απόκριση στο ίδιο αντιγόνο και κατ' επέκταση τη προστασία του οργανισμού από σοβαρή νόσηση [21].

Πλασματοκύτταρα είναι τα εργοστάσια αντισωμάτων του οργανισμού. Όταν ένα Β-λεμφοκύτταρο κατά την ωρίμανσή του επιλέγει να συνεχίσει ως πλασματοκύτταρο ταξιδεύει στον σπλήνα ή πίσω στον μυελό των οστών, και ξεκινάει να παράγει αντισώματα σύμφωνα με τον υποδοχέα του. Υπάρχουν πλασματοκύτταρα που συνθέτουν 2000 αντισώματα/λεπτό, με επακόλουθο ο μέσος χρόνος ζωής τους να είναι μερικές ημέρες. Τα αντισώματα είναι η εκκρινόμενη μορφή της Ig επιφανειακής ανοσοσφαιρίνης και μπορούν να εκκριθούν στη κυκλοφορία και στις κοιλότητες του σώματος, και κατ' επέκταση έχουν δύο μορφές, τη διαλυτή και τη δεσμευόμενη στη μεμβράνη. Υπάρχουν πέντε διαφορετικά ισότοπα αντισωμάτων ανάλογα σε ποιες βαριές αλυσούς ανήκουν: IgA, IgD, IgM, IgG και IgE, τα οποία εκτελούν διαφορετικές λειτουργίες και βοηθούν άμεσα στη κατάλληλη ανοσολογική απόκριση.

Τη πρώτη φορά που ενεργοποιείται ένα Β-κύτταρο μπορεί να παράγει μόνο IgM ή IgD αντισώματα, αν και το τελευταίο αποτελεί ένα πολύ μικρό ποσοστό των κυκλοφορόντων αντισωμάτων στον άνθρωπο. Και τα δύο αυτά αντισώματα παράγονται από το ίδιο mRNA βαρέων αλυσών. Από τη στιγμή που ωριμάζει ένα Β-λεμφοκύτταρο έχει τη δυνατότητα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, να αρχίσει να παράγει διαφορετικές κατηγορίες αντισωμάτων: IgG, IgE, ή IgA. Η αλλαγή αυτή πραγματοποιείται στην Fc περιοχή του αντισώματος, διατηρώντας την Fab περιοχή σταθερή, με αποτέλεσμα η αντιγονική ειδικότητα να μένει αμετάβλητη κατά τη διάρκεια της μεταγωγικής κατηγορίας και οι απόγονοι ενός και μόνο Β-λεμφοκυττάρου να μπορούν να παράγουν όλα τα ειδικά αντισώματα για το συγκεκριμένο αντιγόνο. Ενεργοποίηση της μεταγωγικής κατηγορίας μπορεί να γίνει μόνο μέσω κυτοκινών ή συνδυασμού αυτών. Σε περίπτωση λοιπόν που το περιβάλλον είναι πλούσιο σε IL-4 και IL-5 (ιντερλευκίνη 4 και ιντερλευκίνη 5, αντίστοιχα) η μεταγωγή κατηγορίας θα γίνει

σε IgE, ενώ σε πληθώρα IFN- γ (ιντερφερόνη γ) θα γίνει αλλαγή σε IgG και πιο συγκεκριμένα IgG3, και τέλος, σε πληθώρα TGF- β (αυξητικός παράγοντας όγκου β -tumor growth factor beta) θα γίνει σε IgA [17] [18].

Τα IgM αντισώματα είναι ο βασικός ισότοπος αντισωμάτων που κάθε νέο B-λεμφοκύτταρο αρχικά παράγει. Τα αντισώματα αυτά, παράγονται σε μεγάλο αριθμό νωρίς στις λοιμώξεις, μπορούν και εξουδετερώνουν ιούς, και δρουν εξαιρετικά δεσμεύοντας το συμπλήρωμα με το κλασικό μονοπάτι, δεσμεύοντας δηλαδή δύο ή παραπάνω C1 σύμπλοκα στην Fc περιοχή, και κατ' επέκταση βοηθούν στην απελευθέρωση των αναστολέων και στη διέγερση της αλυσιδωτής αντίδρασης του συμπληρώματος. Μόνο τα αντιγόνα που έχουν δεσμευτεί από το συγκεκριμένο αντίσωμα θα είναι ευάλωτα στην αντίδραση του συμπληρώματος. Δυστυχώς, ο χρόνος ημίσειας ζωής τους είναι μόνο μία ημέρα [17] [18].

Στο ανθρώπινο σώμα υπάρχει πληθώρα IgA αντισωμάτων και αυτό δεν είναι τυχαίο γεγονός, καθώς είναι ο κύριος ισότοπος αντισωμάτων που προστατεύει τις μεμβρανώδεις επιφάνειες του ανθρώπινου σώματος (γαστρεντερικός σωλήνας, αναπνευστικό και αναπαραγωγικό σύστημα). Τα διμερή IgA αντισώματα έχουν τέσσερις Fab περιοχές που μπορούν να δεσμευτούν αντιγόνα και δρουν συγκεντρώνοντας παθογόνα σαν μάζες, οι οποίες είναι αρκετά μεγάλες ώστε να απομακρύνονται μέσω των κοπράνων και της βλέννης [17] [18].

Αντίθετα, τα IgG αντισώματα είναι ο ισότοπος που βρίσκεται σε περίσσεια στο αίμα. Τα IgG είναι αρκετά καλά στο να εξουδετερώνουν ιούς, μπορούν να περάσουν από τη μητέρα στο έμβρυο μέσω του πλακούντα και να προστατεύουν το νεογέννητο τους πρώτους μήνες τις ζωής του μέχρι να αρχίσει να παράγει αντισώματα μόνο του. Ο

χρόνος ημίσειας ζωής αυτών των αντισωμάτων είναι ο μεγαλύτερος μεταξύ των αντισωμάτων, και διαρκεί τρεις εβδομάδες. Υπάρχουν αρκετές υποκατηγορίες IgG αντισωμάτων, αλλά αξίζει να αναφερθούμε στα IgG1 και IgG3 στα πλαίσια αυτής της εργασίας, το καθένα για διαφορετικούς λόγους. Τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα έχουν υποδοχείς στην επιφάνεια τους που μπορούν να δεσμεύσουν την Fc περιοχή του IgG1 αντισώματος και με αυτόν τον τρόπο τα αντισώματα αυτά μπορούν να δεσμεύσουν τα αντιγόνα και να τα οφονίσουν ώστε να εξουδετερωθούν από μακροφάγα. Από την άλλη πλευρά, τα NK κύτταρα έχουν υποδοχείς που μπορούν να δεσμεύσουν την Fc περιοχή των IgG3 αντισωμάτων και με αυτόν τον τρόπο να χρησιμοποιήσουν τα αντισώματα αυτά σαν γέφυρα μεταξύ αυτών και των αντιγόνων έτσι ώστε να γίνουν πιο αποτελεσματικοί «φονείς». Η διαδικασία αυτή ονομάζεται κυτταρική κυτταροτοξικότητα εξαρτώμενη από αντισώματα (ADCC-antibody dependent cellular cytotoxicity). Αξίζει να σημειωθεί πως μεταξύ των αντισωμάτων, τα IgG3 μπορούν να δράσουν ικανοποιητικά στο συμπλήρωμα [17] [18].

Ένας ακόμη ισότοπος αντισωμάτων που αξίζει να αναφερθεί με λίγη παραπάνω λεπτομέρεια, είναι τα IgE αντισώματα, τα οποία είναι γνωστά για την αλλεργιογόνο δράση τους. Υποδοχείς IgE αντισωμάτων υπάρχουν στα μαστοκύτταρα (mast cells). Τη πρώτη φορά που ο οργανισμός έρχεται σε επαφή με κάποιο αλλεργιογόνο, τα μαστοκύτταρα προσδένονται στην Fc περιοχή των IgE αντισωμάτων και είναι ετοιμοπόλεμα. Σε δεύτερη έκθεση του οργανισμού στο ίδιο αλλεργιογόνο, τα IgE αντισώματα που είναι δεσμευμένα με τα μαστοκύτταρα, προσδένονται και στο αντιγόνο/αλλεργιογόνο, με αποτέλεσμα το «clustering» των Fc περιοχών με παρόμοιο μηχανισμό με αυτόν των B-λεμφοκυττάρων και την απελευθέρωση κοκκίων στους γύρω ιστούς, και κατ' επέκταση ισταμίνη και άλλες χημικές ουσίες. Αυτή η διαδικασία

μπορεί να οδηγήσει σε αλλεργική αντίδραση, αναφυλακτικό shock ή να προστατεύσει από παράσιτα τον ανθρώπινο οργανισμό [17] [18].

Ακόλουθο της μεταγωγής κατηγορίας είναι συχνά η σωματική υπερμετάλλαξη και η συγγένεια ωρίμανσης (affinity maturation). Μετά την ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων από το αντιγόνο, ακολουθεί ο πολλαπλασιασμός τους σε ταχύ ρυθμό, με αποτέλεσμα τα γονίδια που κωδικοποιούν τις μεταβλητές περιοχές των ελαφρών και βαρέων αλυσών (V, D και J) να υφίστανται υψηλό ποσοστό μετάλλαξης (1 νουκλεοτίδιο/μεταβλητό γονίδιο σε κάθε κυτταρική διαίρεση). Με αυτόν τον τρόπο, τα θυγατρικά Β-λεμφοκύτταρα θα έχουν μικρές αλλαγές στα αμινοξέα των Fab περιοχών των αντισωμάτων τους, με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων είτε με ασθενέστερη είτε με ισχυρότερη αλληλεπίδραση με το αντιγόνο συγκριτικά με το αρχικό κύτταρο (χαμηλής και υψηλής συγγένειας, αντίστοιχα). Τα κύτταρα χαμηλής συγγένειας αποπίπτουν και δεν επιβιώνουν. Αξίζει να σημειωθεί ότι συνήθως στα Β-κύτταρα που συνεχίζουν να παράγουν IgM αντισώματα ή δεν έχουν ενεργοποιηθεί με τη βοήθεια βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων δεν συμβαίνει σωματική υπερμετάλλαξη [22].

3.1.3. Ενεργοποίηση των T-Λεμφοκυττάρων

Τα T-λεμφοκύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών αλλά ωριμάζουν στον θύμο αδένα και μπορούν να αναγνωρίσουν μόνο αντιγονικά πεπτιδία συνδεδεμένα με πρωτεΐνες του MHC, που φέρονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs-Antigen Presenting Cells), μέσω των TCRs [23] [24]. Οι TCRs βρίσκονται στη επιφάνεια των T-λεμφοκυττάρων και με τη βοήθεια συνυποδοχέων δρουν σταθεροποιώντας τη σύνδεση μεταξύ T-λεμφοκυττάρων και των APCs. Οι υποδοχείς αυτοί αποτελούνται είτε από μία αλυσίδα α και μία β (>95% των TCR), είτε από μία αλυσίδα γ και μία δ, με μία σταθερή και μία μεταβλητή περιοχή. Μέσω των πρωτεϊνών RAG1 και RAG2, οι γονιδιακές αλληλουχίες διχοτομούνται και ανασυνδυάζονται, όπως και στη περίπτωση των B-λεμφοκυττάρων, με τη διαφορά όμως ότι κάθε T-λεμφοκύτταρο μπορεί να έχει είτε μόνο αβ-υποδοχείς, είτε μόνο γδ-υποδοχείς. Στη πλειοψηφία των περιπτώσεων, όλοι οι TCRs ενός ώριμου T-λεμφοκυττάρου είναι ίδιοι μεταξύ τους [25].

Μόνο τα T-λεμφοκύτταρα που έχουν αβ-υποδοχείς, εκφράζουν στην επιφάνειά τους CD8 ή CD4 συνυποδοχείς, και αναγνωρίζουν το σύμπλεγμα πεπτιδίου-MHC μορίου (τάξης I ή II, αντίστοιχα) στην επιφάνεια του κυττάρου [26]. Τα ανώριμα T-λεμφοκύτταρα εκφράζουν CD4+CD8+ στην επιφάνειά τους. Κατά την ωρίμανσή τους ο τελικός τύπος συνυποδοχέα που θα επικρατήσει καθορίζεται από τη τάξη MHC μορίου που έχει αναγνωρίσει ο αντίστοιχος TCR. Τα μόρια σήμανσης, CD4 και CD8, βοηθούν τα Th και τα CTLs, αντίστοιχα, να επικεντρωθούν στο κατάλληλο MHC μόριο και να δυναμώσουν το σήμα που εκπέμπεται από τους TCRs. Για να έχουν οι TCRs την ικανότητα σηματοδότησης είναι απαραίτητο το σύμπλοκο TCR-CD3, καθώς οι α και β πρωτεΐνες του υποδοχέα μπορούν να βοηθήσουν μόνο στη λήψη του σήματος

από τον εξωκυττάριο χώρο και οι γ, δ, ε, και ζ πρωτεΐνες που αποτελούν το CD3 συντελούν στη μετάδοση αυτού του σήματος στον πυρήνα του κυττάρου [27] [28]. Με αυτόν τον τρόπο τα γονίδια που εκφράζονται στο πυρήνα του κυττάρου, μπορούν να αλλάξουν τη κατάσταση του T-λεμφοκυττάρου από αδρανές σε ενεργοποιημένο. Όπως και στα B-λεμφοκύτταρα, η ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων περιλαμβάνει συσσώρευση και δημιουργία συμπλόκων TCR, καθώς και συνδιέγερση, έτσι ώστε το σήμα να φτάσει τον ουδό και να έχει αποτέλεσμα. Η συνδιέγερση στην περίπτωση των T-λεμφοκυττάρων επιτυγχάνεται συνήθως μέσω των B7 πρωτεϊνών (B7-1 και B7-2), οι οποίες εκφράζονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, δεσμεύοντας τους CD28 υποδοχείς στην επιφάνεια των T-λεμφοκυττάρων [29]. Με την ενεργοποίηση ενός ανώριμου T-κυττάρου, η σύνδεση του υποδοχέα του με τον πυρήνα ενισχύει, με αποτέλεσμα την μικρότερη ανάγκη του σε συνδιέγερση. Οι TCRs έχουν την ικανότητα να οδηγήσουν ένα T-λεμφοκύτταρο σε απόπτωση με σκοπό να προστατεύσουν τον οργανισμό από αυτοανοσία, να το αδρανοποιήσουν σε περίπτωση που δε λάβουν σήμα επιβεβαίωσης, ή να το ενεργοποιήσουν.

Από τη στιγμή που τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα και τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται, γίνονται δραστικά κύτταρα. Τα δραστικά βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα δρουν είτε μένοντας στη κυκλοφορία παρέχοντας βοήθεια στα B-λεμφοκύτταρα ή στα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, είτε βγαίνοντας από τη κυκλοφορία από τα σημεία της φλεγμονής και παρέχοντας βοήθεια στο ανοσοποιητικό σύστημα. Τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα παράγουν πολλές διαφορετικές κυτταροκίνες με σκοπό τη επικοινωνία που είναι απαραίτητη για να οργανωθεί σωστά η ανοσιακή απάντηση. Υπάρχουν τέσσερις κύριες υποκατηγορίες βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων, εκ των οποίων οι τρεις δρουν ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα (Th1, Th2, Th17, Th0), ενώ τα Treg

λειτουργούν καταστέλλοντας το. Κάθε υποκατηγορία παράγει διαφορετικά μείγματα κυτταροκινών σύμφωνα με τον εισβολέα που αντιμετωπίζει και τη περιοχή την οποία υπερασπίζεται. Τα Th1 δρουν καλύτερα έναντι ιών και βακτηρίων εκκρίνοντας TNF, IFN γ και IL2, τα Th2 υπερασπίζονται τον γαστρεντερικό σωλήνα δρώντας έναντι βακτηρίων και παρασίτων ενώ παράγουν IL4, IL5 και IL13, τα Th17 απελευθερώνουν IL17 και IL21 με σκοπό να κινητοποιήσουν το ανοσοποιητικό σύστημα και να υπερασπιστούν τον οργανισμό από μύκητες και εξωκυτάρια βακτήρια, ενώ τα Th0 έλκονται στη περιοχή που απειλείται και μετατρέπονται στην υποκατηγορία Th που χρειάζεται [23].

Συντονιστής αυτής της ανοσιακής απάντησης είναι τα αντιγονοπαρουσιαστικά δενδριτικά κύτταρα, τα οποία δρουν σύμφωνα με το μοτίβο της αναγνώρισης υποδοχέων και των κυτταροκινών που υπάρχουν στο περιβάλλον [23]

3.1.4. Εισαγωγή στην αυτοανοσία

Από τα βασικότερα χαρακτηριστικά του ανοσιακού συστήματος είναι η ικανότητα του να μπορεί να διακρίνει τα «ίδια» από τα ξένα αντιγόνα. Αυτή η ανοχή των ώριμων λεμφοκυττάρων έναντι των «ιδίων» αντιγόνων (self-tolerance) χαρακτηρίζει την ειδική ανοσία, και επιτυγχάνεται με την εξάλειψη των αυτοδραστικών κλώνων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των λευκοκυττάρων. Όπως κάθε σύστημα, έτσι κι αυτό, έχει τις αδυναμίες του, με αποτέλεσμα κάποια αυτοδραστικά κύτταρα να επιβιώνουν και να διαφεύγουν και στη συνέχεια να ωριμάζουν και να διαφοροποιούνται. Σε υγιή άτομα, αυτό το «πρόβλημα» ρυθμίζεται με διεργασίες εξάλειψης ή ανεργίας των αυτοδραστικών κλώνων. Η κατάργηση αυτής της ρύθμισης οδηγεί αυτόματα στην ενεργοποίηση αυτών των αυτοδραστικών T- και B- λεμφοκυττάρων και κατ' επέκταση την ανοσιακή απάντηση έναντι «ιδίων» αντιγόνων και την εκδήλωση αυτοανοσίας [30]. Όταν η αυτοάνοση διαδικασία οδηγεί σε κυτταρική ή/και οργανική βλάβη, μιλάμε πλέον για αυτοάνοσο νόσημα. Τα αυτοάνοσα νοσήματα προσβάλλουν περίπου το 5-7% του πληθυσμού [31].

Τα T-λεμφοκύτταρα μαθαίνουν «self-tolerance» στον θύμο, στον οποίο από τον μυελό των οστών χωρίς να εκφράζουν στην επιφάνεια τους CD8, CD4, ή TCR. Στη συνέχεια, αυτά τα κύτταρα αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να ανασυνδυάζουν τις γονιδιακές αλληλουχίες που κωδικοποιούν τις α και β αλυσίδες των TCR. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα πλέον τα αρχικά «γυμνά» λεμφοκύτταρα, να εκφράζουν πλέον και τους δύο συνυποδοχείς (CD4, CD8). Αυτά τα κύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα Fas και πολύ χαμηλά επίπεδα Bcl-2, με αποτέλεσμα να είναι πολύ ευαίσθητα σε σήματα που διεγείρουν την απόπτωσή τους και σε συνθήκες που δοκιμάζουν την αυτοανοσοανοχή τους και διαταραχές στα MHC μόρια [32].

3.1.5. Εισαγωγή στον Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ)

Σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας, ο διαβήτης είναι μια χρόνια ασθένεια στην οποία ρόλο κλειδί έχει η ινσουλίνη, καθώς προκύπτει είτε από ανεπαρκή παραγωγή αυτής από το πάγκρεας είτε από ανεπαρκή χρήση της από τον οργανισμό, και χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία. Ινσουλίνη είναι η ορμόνη η οποία ρυθμίζει τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα, ενώ υπεργλυκαιμία ορίζεται ως η παθολογική αύξηση των επιπέδων αυτών. Τυπικά συμπτώματα αποτελούν η πολυουρία, η πολυδιψία και η απώλεια βάρους, ενώ ο ασθενής σε πολλές περιπτώσεις παρουσιάζεται με κετοξέωση (συχνότερα στον τύπο 1), υπερωσμωτική υπεργλυκαιμία ή αιφνίδια μεταβολική απορρύθμιση. Οι επιπλοκές της χρόνιας υπεργλυκαιμίας μπορούν να είναι είτε μικροαγγειακές είτε μακροαγγειακές. Στις μικροαγγειακές επιπλοκές περιλαμβάνονται η διαβητική νεφροπάθεια με το ΣΔ να είναι από τις κυριότερες αιτίες τελικού σταδίου νεφρικής νόσου, η διαβητική νευροπάθεια του περιφερικού και του αυτόνομου νευρικού συστήματος, καθώς και η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Στις μακροαγγειακές επιπλοκές συγκαταλέγονται σημαντικού βαθμού βλάβες στα μεγάλα αγγεία και στην καρδιά, γεγονός που καθιστά τον ΣΔ στους σημαντικότερους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Κύριες μέθοδοι διάγνωσης αποτελούν η μέτρηση γλυκόζης νηστείας στον ορό και η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη [33].

Ο Σακχαρώδης διαβήτης ταξινομείται με βάση τον μηχανισμό παθογένεσης που οδηγεί στην υπεργλυκαιμία σε δύο κύριες κατηγορίες, τον τύπου 1 (ΣΔτ1), τον τύπου 2 (ΣΔτ2) και τον διαβήτη κύησης, καθώς και σε αρκετές άλλες λιγότερο συχνές στις οποίες περιλαμβάνονται μεγάλο εύρος συγγενών και επίκτητων παθήσεων [33].

Ο ΣΔτ1 αφορά τη μειονότητα των περιπτώσεων (5-10%) με ΣΔ, είναι αποτέλεσμα απόλυτης ή οριακά παντελούς έλλειψης ινσουλίνης, και χαρακτηρίζεται από αυτοάνοση καταστροφή των β κυττάρων του παγκρέατος (Τύπος 1A) [34]. Συνήθως διαγιγνώσκεται σε άτομα μικρότερης της ηλικίας των 30 ετών, χωρίς όμως να το καθιστά αδύνατο σε μεγαλύτερες ηλικίες. [35] [36] Είναι ο πιο συχνός τύπος διαβήτη στη παιδική και νηπιακή ηλικία και με ιδιαίτερα ταχεία εξέλιξη οδηγώντας συνήθως σε κετοξέωση και αρκετά συχνά αυτή είναι και η πρώτη κλινική εκδήλωση της νόσου [37]. Ενδιαφέρουσα υποκατηγορία αυτοάνοσου διαβήτη αποτελεί ο τύπος LADA (late onset autoimmune diabetes in adults/λανθάνων αυτοάνοσος διαβήτης των ενηλίκων),ο οποίος αφορά άτομα μεγαλύτερης ηλικίας στα οποία ο ρυθμός αυτοκαταστροφής των β-κυττάρων είναι βραδύτερος με αποτέλεσμα την πιο ήπια εκδήλωση της συμπτωματολογίας και εξέλιξης της νόσου, καθώς διατηρείται υπολειπόμενη ενδογενής έκκριση ινσουλίνης για 2-4 έτη [38] [39]. Τα άτομα αυτά ενώ εκδηλώνουν φαινοτυπικά χαρακτηριστικά συμβατά με διάγνωση ΣΔτ2, σε διάστημα μικρότερο των 6 μηνών είναι ινσουλινοεξαρτώμενα όπως τα άτομα με ΣΔτ1 [36].

Σε αυτούς τους τύπους διαβήτη υπάρχει έντονη συσχέτιση με το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας HLA καθώς και θετικά αυτοαντισώματα σε >85% σε άτομα με πρωτοδιάγνωση αυτοάνοσου ΣΔ.

Η πιο συχνή μορφή (95%) διαβήτη είναι ο τύπος 2, μία ετερογενής ομάδα διαταραχών η οποία χαρακτηρίζεται από διαφόρων βαθμού ινσουλινοαντίσταση, διαταραχές στην έκκριση ινσουλίνης, και αυξημένη παραγωγή γλυκόζης [40] [41]. Σημαντικό ρόλο σε αυτό τον τύπο διαβήτη έχουν γενετικές και μεταβολικές ατέλειες στην δράση της ινσουλίνης και/ή στην έκκριση αυτής. Χαρακτηριστικό αποτελεί η παρουσία προδιαβήτη πριν την εγκατάσταση της νόσου, ο οποίος συνεπάγεται διαταραχές στην

ανοχή της γλυκόζης (IGT) ή στην γλυκόζη νηστείας (IFG). Η διάγνωση γίνεται συνήθως σε τυχαίο εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας όπου παρατηρείται υπεργλυκαιμία [42]. Παρατηρούνταν κυρίως σε άτομα τρίτης ηλικίας αλλά τα τελευταία χρόνια είναι όλο και συχνότερο φαινόμενο σε παιδιά, εφήβους και νέους χωρίς καλό έλεγχο του σωματικού τους βάρους (υπέρβαροι/παχύσαρκοι) [43]. Είναι σαφής η γενετική προδιάθεση σε αυτόν τον τύπο διαβήτη καθώς και η συσχέτιση της νόσου με έκτοπη εναπόθεση λίπους (λιπώδες ήπαρ) και σπλαχνική παχυσαρκία, καθώς αποτελούν παράγοντες που συμβάλλουν σημαντικά στο φαινόμενο της αντίστασης της ινσουλίνης, παράγοντα κλειδί στο ΣΔΤ2.

Ιδιαίτερως συχνό φαινόμενο είναι ο διαβήτης κύησης, η πρωτοεμφανιζόμενη διαταραχή δηλαδή ανοχής στη γλυκόζη κατά τη διάρκεια της κύησης, συνήθως στο δεύτερο μισό αυτής. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη διάγνωση αυτή είναι η υπεργλυκαιμία να εμφανιστεί για πρώτη φορά μετά το πέρας του πρώτου τριμήνου κύησης. Χαρακτηριστική είναι η υποστροφή της υπεργλυκαιμίας μετά τον τοκετό, αν και στο 5-10% των περιπτώσεων μπορεί να μην υποχωρήσει. Συνήθως δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη πραγματοποιείται την 24η με 28η εβδομάδα της κύησης [44] [45] [46].

Αρκετά σπανιότεροι είναι οι μονογονιδιακοί τύποι διαβήτη στους οποίους περιλαμβάνονται οι τύποι MODY (maturity onset diabetes of the young/διαβήτης των νέων με όψιμη έναρξη) και ο νεογνικός διαβήτης. Στους MODY, μονογονιδιακές διαταραχές της λειτουργίας των β-κυττάρων οδηγούν στην εμφάνιση υπεργλυκαιμίας σε άτομα κάτω των 25 ετών με χαρακτηριστική την διαταραχή στην έκκριση της ινσουλίνης [47]. Επί του παρόντος έχουν αναφερθεί αρκετές μονογονιδιακές μεταλλάξεις οι οποίες θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν MODY, αλλά έχουν

εντοπιστεί διαταραχές σε μόνο 6 γονιδιακούς τύπους διαφορετικών χρωμοσωμάτων οι οποίες έτσι ορίζουν τους ακόλουθους τύπους: MODY 1 (διαταραχή στο γονίδιο HNF4A-χρωμόσωμα 20q), MODY 2 (διαταραχή στο γονίδιο GCK-χρωμόσωμα 7p), MODY 3 (διαταραχή στο γονίδιο TCF1/HNF1A-χρωμόσωμα 12q), MODY 4 (διαταραχή στο γονίδιο IPF1-χρωμόσωμα 13q), MODY 5 (διαταραχή στο γονίδιο TCF2/HNF1B-χρωμόσωμα 17q) και MODY 6 (διαταραχή στο γονίδιο NEU-ROD1/BETA2-χρωμόσωμα 2q). Ο νεογνικός διαβήτης διαγιγνώσκεται τους πρώτους 6 μήνες της ζωής και μπορεί να διακριθεί σε μόνιμο (45%), παροδικό (45%) και συνδρομικό (10%). Τα βρέφη ελέγχονται γονιδιακά σε αυτή τη περίπτωση, ιδίως αυτά που έχουν μόνιμο τύπο για τη πιθανότητα (31%) μεταλλάξεων των διαύλων καλίου (υποομάδα Kir6.2-γονίδιο KCNJ11) η οποία μπορεί να συνοδεύεται από νευροαναπτυξιακή διαταραχή. Ο συνδρομικός τύπος συνοδεύεται από απλασία ή παγκρεατική δυσγενεσία, ενώ ο παροδικός μπορεί να διαρκέσει από λίγες εβδομάδες έως μήνες, να υποχωρήσει και να επανέλθει στην εφηβεία [48].

Σακχαρώδης διαβήτης μπορεί επίσης να προκληθεί από νοσήματα του παγκρέατος ή ιογενείς λοιμώξεις όπως αυτή του κυτταρομεγαλοϊού και της συγγενής ερυθράς μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή του παγκρεατικού ιστού, ενδοκρινοπάθειες οι οποίες εκκρίνουν σε πληθώρα ορμόνες (κορτιζόλη, γλυκαγόνη, σωματοστατίνη, κατεχολαμίνες, θυροξίνη) οι οποίες από τη φύση του ανταγωνίζονται τη δράση της ινσουλίνης, καθώς και από φάρμακα ή χημικές ουσίες όπως τα κορτικοστεροειδή είναι δυνατόν να προκαλέσουν υπεργλυκαιμία, και κατ' επέκταση διαβήτη [33].

3.1.6. Νησίδια του παγκρέατος

Το πάγκρεας είναι ένας αδένας ο οποίος αποτελείται από ενδοκρινή και εξωκρινή μοίρα. Στη εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος βρίσκονται λοβίδια τα οποία είναι υπεύθυνα για την έκκριση πεπτικών ενζύμων και διττανθρακικών, τα οποία μέσω των παγκρεατικών πόρων παροχετεύονται στο δωδεκαδάκτυλο [49]. Η ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος αποτελείται από τα παγκρεατικά νησίδια (νησίδια Langerhans). Τα περισσότερα νησίδια είναι 100-200 μm σε διάμετρο και περιλαμβάνουν εκατοντάδες κύτταρα, αλλά κάποια είναι αρκετά μικρότερα και περιλαμβάνουν μόνο λίγα κύτταρα. Στο ανθρώπινο πάγκρεας υπάρχουν πάνω από ένα εκατομμύριο νησίδια, με την ουρά του παγκρέατος να είναι η πλουσιότερη ανατομική περιοχή σε αυτά [50].

Τα κύρια ορμονοπαραγωγά κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος είναι τα: α-κύτταρα τα οποία αποτελούν το 20% των κυττάρων των νησιδίων, εντοπίζονται συνήθως στη περιφέρεια και εκκρίνουν κυρίως γλυκαγόνη, αλλά σε μικρότερες ποσότητες και άλλα πεπτίδια όπως το GLP-1, GLP-2 και γλυκενίνη [51], β -κύτταρα τα οποία παράγουν και εκκρίνουν ινσουλίνη, προινσουλίνη, C-πεπτίδιο, GABA και GAD, βρίσκονται στο κέντρο των νησιδίων και αποτελούν το 70-90% των νησιδιακών κυττάρων [51], δ-κύτταρα αποτελούν το 10% των κυττάρων των νησιδίων, εντοπίζονται κυρίως στη περιφέρεια και εκκρίνουν σωματοστατίνη [51], καθώς και από τα PP-κύτταρα τα οποία βρίσκονται κυρίως στη ανατομική περιοχή της κεφαλής του παγκρέατος, εκκρίνουν το παγκρεατικό πολυπεπτίδιο, GAD και γαστρίνη, ενώ αποτελούν μόλις το 2% των νησιδιακών κυττάρων [52].

Η δραστηριότητα των κύριων κυτταρικών τύπων των νησιδίων, α και β κύτταρα, ρυθμίζεται κυρίως από τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα. Αυξημένα επίπεδα σακχάρου

ερεθίζουν τα β-κύτταρα ώστε να απελευθερώσουν ινσουλίνη και να καταστείλουν τη λειτουργία των α-κυττάρων, ενώ αντίθετα, μειωμένα επίπεδα σακχάρου διεγείρουν την έκκριση γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα και την αναστολή της λειτουργίας των β-κυττάρων [53] [54].

Νευρικές απολήξεις συμπαθητικού και παρασυμπαθητικού σχετίζονται κατά περίπου 10% με τα α-, β-, και δ-κύτταρα και μπορούν να επηρεάσουν τη έκκριση ινσουλίνης ή γλυκαγόνης. Πιο συγκεκριμένα, μέσω του συμπαθητικού επιτυγχάνεται αύξηση της έκκρισης γλυκαγόνης και αναστολή της απελευθέρωσης ινσουλίνης, ενώ μέσω του παρασυμπαθητικού επιτυγχάνεται αύξηση της έκκρισης και των δύο αυτών ορμονών [54] [53].

3.1.6.1. Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι μία πεπτιδική ορμόνη η οποία αποτελείται από 51 αμινοξέα και 2 πεπτιδικές αλυσίδες, Α και Β, οι οποίες έχουν αντίστοιχα 21 και 30 αμινοξέα. Εκκρίνεται στη κυκλοφορία απευθείας από το πάγκρεας, όπου και παράγεται από τα β-κύτταρα των νησιδίων μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης της προινσουλίνης σε ισομοριακές ποσότητες ινσουλίνης και C-πεπτιδίου, εισέρχεται στη πυλαία κυκλοφορία και διέρχεται από το ήπαρ πριν την είσοδο της στη συστηματική κυκλοφορία, όπου και απομακρύνεται το 50% της εκκρινόμενης ινσουλίνης, ενώ η υπόλοιπη διατίθεται για τη ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών στο ήπαρ, στον λιπώδη και μυϊκό ιστό. Η ινσουλίνη δρα μειώνοντας τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα μέσω του καταβολισμού της από ινσουλινάσες κυρίως στο ήπαρ, αλλά και στους νεφρούς, ενώ αντίθετα ο καταβολισμός του C-πεπτιδίου και της προινσουλίνης γίνεται αποκλειστικά από τους νεφρούς. Η διέγερση των β-κυττάρων πέρα από την έκκριση ινσουλίνης χαρακτηρίζεται και από ταυτόχρονη απελευθέρωση ίδιας ποσότητας C-πεπτιδίου και σε μικρές ποσότητες προινσουλίνης οι οποίες δεν έχουν διασπαστεί. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο χρόνος ημιζωής της ινσουλίνης είναι 3-5 λεπτά, ενώ του C-πεπτιδίου 3 με 4 φορές μεγαλύτερος, γεγονός που σε συνδυασμό με το ότι εκκρίνονται σε αναλογία 1:1 το καθιστά χρήσιμο δείκτη της έκκρισης ινσουλίνης [55].

3.1.6.2. Γλυκαγόνη

Η γλυκαγόνη είναι μια πεπτιδική ενδοκρινής ορμόνη, η οποία αποτελείται από 29 αμινοξέα, και σε αντίθεση με την ινσουλίνη, δρα αυξάνοντας τη συγκέντρωση της γλυκόζης στην κυκλοφορία. Αποτελεί τη πιο σημαντική αντιρροπιστική ορμόνη της ινσουλίνης και δρα προάγοντας τη γλυκογονόλυση, γλυκονεογένεση και την οξείδωση των λιπών, και αναστέλοντας τη γλυκογονογένεση, γλυκόλυση και την αποθήκευση των λιπών. Όπως και η ινσουλίνη, η γλυκαγόνη εκκρίνεται κατευθείαν στη πυλαία κυκλοφορία, μεταβολίζεται στο ήπαρ και τους νεφρούς και έχει χρόνο ημιζωής τα 3-6 λεπτά. Η διέγερση της έκκρισης της καθορίζεται κατ' εξοχήν από την υπογλυκαιμία (γλυκόση <70 mg/dl) και το στρές, ενώ η λήψη πρωτεϊνών και η αύξηση των επιπέδων σε αργινίνη, αλανίνη και γλουταμίνη, μπορούν επίσης να παίξουν σημαντικό ρόλο σε αυτή. Αντίθετα έχει διαπιστωθεί πως η ισολευκίνη μπορεί να αναστείλει την έκκριση της γλυκαγόνης, αλλά ο κύριος παράγοντας αναστολής της παραμένει η ινσουλίνη και τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης. Τέλος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί θεραπευτικά για την αντιμετώπιση της υπογλυκαιμίας [56].

3.1.6.3. Σωματοστατίνη

Η σωματοστατίνη είναι ένα πεπίδιο που αποτελείται από 28 ή 14 αμινοξέα, με την μορφή των 28 να επικρατεί στο πάγκρεας και τον υποθάλαμο και αυτή των 14 στον γαστρεντερικό σωλήνα. Έχει τη δυνατότητα να δρα με ενδοκρινή και παρακρινή μηχανισμό στα κύτταρα των νησιδίων αναστέλλοντας την έκκριση των λοιπών ορμονών, καθώς και με αυτοκρινή μηχανισμό αναστέλλοντας τη περαιτέρω δική της έκκριση. Η ινσουλίνη είναι η μοναδική από τις λοιπές ορμόνες που αναστέλλει την έκκριση της σωματοστατίνης, καθώς όλες οι άλλες δρουν διεγείροντάς την [57].

3.1.6.4. Παγκρεατικό πολυπεπτίδιο (PP)

Το PP αποτελείται από 36 αμινοξέα και εκκρίνεται σε περιπτώσεις υπογλυκαιμίας μέσω ενεργοποίησης του παρασυμπαθητικού καθώς και μετά από τη λήψη μικτών γευμάτων πλούσιων σε πρωτεΐνες [58].

3.2. Αυτοάνοσος σακχαρώδης διαβήτης

3.2.1. Ορισμός

Ο σακχαρώδης διαβήτης αυτοάνοσης αιτιολογίας διακρίνεται σε ΣΔτ1 και LADA. Όπως προδίδεται και από την ονομασία του, οφείλεται στην αυτοάνοση καταστροφή ολόκληρου ή σχεδόν ολόκληρου του πληθυσμού των β-κυττάρων του παγκρέατος, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη παραγωγή ινσουλίνης και τη ρύθμιση του σακχάρου αίματος.

3.2.2. Επιδημιολογία

Ο ΣΔτ1 διαφέρει ως επί τον επιπολασμό και την επίπτωση ανά κράτη και περιοχές. Υψηλότερο επιπολασμό εμφανίζει η Φιλανδία με 2.6% και ετήσια επίπτωση 49/100.000. Γενικότερα, στην Ευρώπη οι περιοχές του νότου εμφανίζουν μεγαλύτερη επίπτωση συγκριτικά με τις ανατολικές. Τα παραπάνω πιθανώς υποδεικνύουν ότι γενετικοί παράγοντες συμμετέχουν στην παθογένεια του ΣΔτ1. Η επίπτωση του ΣΔτ1 παρουσιάζει εποχική κατανομή, με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης Ιανουάριο με Μάρτιο, ενώ χαμηλότερη Μάιο με Ιούλιο. Η ετήσια αύξηση της επίπτωσης είναι της τάξεως του 3%, ενώ παρουσιάζει μέγιστο και για τα δύο φύλα, στην ηλικία 10 έως 13 ετών. Στο 50% των περιπτώσεων η διάγνωση γίνεται πριν την ηλικία των 15 ετών, ενώ στην εποχή μας υπολογίζεται ότι περίπου 1.5 εκατομμύριο παιδιά υποφέρουν από ΣΔτ1. [59]

Παράλληλα, ο LADA αποτελεί την περισσότερο συνήθη μορφή αυτοάνοσου διαβήτη που διαγιγνώσκεται σε ενήλικους, καθώς καταγράφεται με αυξημένη συχνότητα κατά 3,3-12 φορές, έναντι της αντίστοιχης έναρξης εκδήλωσης του T1DM [14] [13] [15] [17].

Ο επιπολασμός του LADA τείνει να διαφέρει μεταξύ διαφορετικών εθνολογικών ομάδων και κυμαίνεται μεταξύ 1,5-14,2% σε περιστατικά με T2DM [13] [14] [18].

Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί πως και εδώ καταγράφεται γεωγραφική διαφοροποίηση αναφορικά με τον επιπολασμό του LADA. Εντός της Ευρωπαϊκής ηπείρου οι υψηλότερες συχνότητες καταγράφονται σε χώρες του Βορρά [Νορβηγία (10,1%), Ηνωμένο Βασίλειο (10%), Φινλανδία (9,3%)] και οι χαμηλότερες σε χώρες του Νότου [Ιταλία (4,4%)] [13] [21] [22] [23] [24]. Καταλήγοντας, τα παραπάνω υποδηλώνουν την κοινή παθογένεση μεταξύ των LADA και T1DM [13] [26].

3.2.3. Αιτιολογικοί παράγοντες

Οι αιτιοπαθολογικοί παράγοντες υπεύθυνοι για τη νόσο δεν είναι πλήρως γνωστοί, καθώς η νόσο ξεκινά μήνες ή χρόνια πριν την έναρξη των κλινικών συμπτωμάτων. Δεν έχει αποδειχθεί ότι ένας παράγοντας είναι εκλυτικός, οπότε προς το παρόν το πιθανότερο είναι ότι η νόσος οφείλεται σε ένα συνδυασμό παραγόντων. [59]

Οι κυριότεροι ένοχοι μέχρι τώρα είναι ιοί, όπως ο ροταιός, αδενοϊός, ρετροϊός, κυτταρομεγαλοϊός (CMV), εντεροϊοί (ΕV πχ Coxsackie B), Epstein-Barr (EBV), καθώς και ο ιός της παρωτίτιδας και της ερυθράς. Μεγαλύτερη συσχέτιση έχει αποδειχθεί μεταξύ ΣΔτ1 και λοίμωξης από εντεροϊό. [59] [60]

Άλλοι παράγοντες είναι οι διατροφικοί, όπως η γλουτένη και το γάλα αγελάδας, καθώς και τοξίνες, οι οποίες μπορούν να έχουν άμεση τοξική δράση στα ινσουλινοπαραγωγά β-κύτταρα του παγκρέατος. Επιπρόσθετα, φαίνεται από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε πειραματόζωα ότι αλλαγές στη χλωρίδα του εντέρου θα μπορούσαν να έχουν ρόλο στην αυτοάνοση διαδικασία. [59] [60]

3.2.4. Παθογένεση

Μετά από μελέτες που διενεργήθηκαν σε γενετικά τροποποιημένα μη παχύσαρκα διαβητικά ποντίκια (NOD-non obese diabetic) διαπιστώθηκε ο ισχυρός ρόλος των CD4⁺ και CD8⁺ T- και B- λεμφοκυττάρων στην καταστροφή των β-κυττάρων. B- κύτταρα ειδικά αυτοδραστικά T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται από δενδριτικά κύτταρα που φέρουν νησιδιακά αντιγόνα από το πάγκρεας στον παγκρεατικό λεμφαδένα (PLN-pancreatic lymph node). Μετέπειτα, ανώριμα CD4⁺ και CD8⁺ T- λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε προφλεγμονώδη δραστικά κύτταρα (Teffs- T effector cells), όπως είναι τα δενδριτικά κύτταρα (DC-dendritic cells), τα μακροφάγα, και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK-natural killers). Η απελευθέρωση IL-2 από τα DC οδηγεί στη δημιουργία τύπου 1 CD4⁺ και CD8⁺ Teff, Th1 και Tc1, αντίστοιχα, τα οποία χαρακτηρίζονται από την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα T-bet και της κυτταροκίνης IFN γ . Μετά τη μετανάστευση των αυτοδραστικών Teff στα νησίδια και την προαγωγή της καταστροφής των β-κυττάρων άμεσα μέσω κυτταρόλυσης, και έμμεσα μέσω παραγωγής προφλεγμονώδων κυτταροκινών, όπως είναι η IFN γ , IL-1 β , και TNF α . Η καταστροφή των β-κυττάρων και το stress που έχει προκληθεί, εκθέτει ακόμα περισσότερο τα αυτοαντιγόνα, γεγονός που με τη σειρά του οδηγεί στη διασπορά των επιτόπων και στην επέκταση ειδικών β-κυττάρων T-λεμφοκυττάρων. DCs, μακροφάγα και NKs που διαμένουν στα νησίδια, προάγουν με τη σειρά τους την καταστροφή των β-κυττάρων και φροντίζουν να διατηρηθεί το προφλεγμονώδες περιβάλλον που έχει δημιουργηθεί. Από τη στιγμή που δημιουργείται η ινσουλίτιδα και εξελίσσεται, η μάζα των λειτουργικών β-κυττάρων μειώνεται μέχρι πλέον η παραγωγή ινσουλίνης να μην είναι αρκετή για να διατηρηθούν επαρκή επίπεδα. [59] [16] [60]

3.2.5. Παθοφυσιολογία

Αν και οι άλλοι τύποι κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος είναι λειτουργικά και εμβρυολογικά όμοιοι με τα β-κύτταρα, και εκφράζουν στην πλειονότητα τις ίδιες πρωτεΐνες, η αυτοάνοση καταστροφή στοχεύει μόνο στα β-κύτταρα. Χαρακτηριστικό της παθογενετικής διαδικασίας του αυτοάνοσου διαβήτη είναι η ινσουλίτιδα, ή αλλιώς νησίτιδα, η φλεγμονή δηλαδή των νησιδίων του παγκρέατος μέσω της διήθησης των λεμφοκυττάρων. Μετά την καταστροφή όλων των β-κυττάρων, η φλεγμονώδης διαδικασία υποχωρεί, τα νησίδια γίνονται ατροφικά, και οι περισσότεροι ανοσολογικοί δείκτες εξαφανίζονται. [59]

Ο ακριβής μηχανισμός καταστροφής των β-κυττάρων δεν είναι γνωστός αλλά μπορεί να περιλαμβάνει τον σχηματισμό μεταβολικών νιτρικού οξέος, απόπτωση, και άμεση κυτταροτοξικότητα των CD8+ T-λεμφοκυττάρων. Ωστόσο, από μελέτες έχει παρατηρηθεί η παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι των νησιδίων, ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων στα νησίδια, στους περιπαγκρεατικούς λεμφαδένες, και στη κυκλοφορία, καθώς και ο πολλαπλασιασμός των T-λεμφοκυττάρων μετά από διέγερση τους από τις πρωτεΐνες των νησιδίων, όπως και απελευθέρωση κυτταροκινών στην ινσουλίτιδα. Τα β-κύτταρα του παγκρέατος φαίνεται να είναι ιδιαίτερος επιρρεπής στις τοξικές δράσεις των κυτταροκινών, όπως TNF-α, IFN-γ, IL-1. [59] [60]

Η αυτοάνοση διαδικασία στα νησίδια του παγκρέατος στοχεύει στην ινσουλίνη, την προινσουλίνη, την αποκαρβοξυλάση του γλουταμικού οξέος 65, στο αντιγόνο των νησιδιακών κυττάρων, και στον ειδικό για τα β-κύτταρα μεταφορέα ψευδαργύρου 8. Η πλειοψηφία όμως των αυτοαντισωμάτων δεν έχει ειδικότητα για τα β-κύτταρα, και γι' αυτό τον λόγο έχουν αναπτυχθεί διάφορες θεωρίες για την επιλεκτική καταστροφή

αυτών των κυττάρων. Η επικρατούσα θεωρία είναι ότι η αυτοάνοση διαδικασία ξεκινάει έναντι ενός β-κυτταρικού μορίου, η οποία στη συνέχεια επεκτείνεται σε άλλα νησιδιακά μόρια, καταστρέφοντας τα β-κύτταρα και δημιουργώντας δευτερογενή αυτοαντιγόνα. [59]

Είναι γεγονός ότι τα β-κύτταρα ατόμων που πάσχουν από ΣΔτ1 δεν διαφέρουν από άτομα που δεν υποφέρουν από τη νόσο, ενώ παράλληλα έχει αποδειχθεί ότι στην απουσία Β- ή Τ- λεμφοκυττάρων δεν αναπτύσσεται αυτοάνοσος διαβήτης. [59]

Ο LADA αντιπροσωπεύει μία ενδιάμεση μορφή διαβήτη, ο οποίος χαρακτηρίζεται από αυτοανοσία με μειωμένο ρυθμό απώλειας β-κυττάρων, έναντι του ΣΔτ1, και ορισμένα μεταβολικά χαρακτηριστικά του ΣΔτ2, όπως είναι η υπεργλυκαιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη, η οποίες επιμένουν παρά τη διόρθωση του δείκτη μάζας σώματος (BMI) όπου αυτό κρίνεται αναγκαίο. [18] [12].

Οι Badal et al. έδειξαν πως σε ασθενείς με LADA τα PBMCs εκκρίνουν αυξημένα in vitro επίπεδα της IL-17, έπειτα από διέγερση με β κυτταρικά αυτο-αντιγόνα, έναντι του T1D. Στο πλαίσιο της εν λόγω μελέτης αναδείχθηκε ένας θετικός συσχετισμός ανάμεσα στο δείκτη σωματικής μάζας και την IL-17. [12] [43]

Σε αντίθεση με τη περίπτωση του ΣΔτ1, στον LADA παρατηρείται διήθηση των CD68 μακροφάγων στα νησιδιακά κύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, σε σχέση με τον ΣΔτ1, μεγαλύτερη έκφραση την IL-1 και μειωμένη έκφραση του TNF-α στα Τ-λεμφοκύτταρα. Επιπρόσθετα, παρατηρείται αύξηση του δείκτη πολλαπλασιασμού του πυρηνικού αντιγόνου (PCNA) και της IL-10, ενώ σημαντική ελάττωση παρατηρείται στους αποπτωτικούς διεγέρτες, caspase 3 και TUNEL. [12] [43] [59]

Γενικότερα, αυτός ο τύπος διαβήτη έχει πιο αργή εξέλιξη συγκριτικά με τον ΣΔτ1, αλλά η παρουσία παραπάνω του ενός θετικού αυτοαντισώματος προμηνύει γρηγορότερη εξέλιξη.

3.2.6. Γενετική

3.2.6.1. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1

Η πιθανότητα εμφάνισης ΣΔτ1 σε μονοζυγωτικά δίδυμα είναι 40-60%, γεγονός που σημαίνει ότι κι άλλοι παράγοντες πέρα από τη γενετική προδιάθεση έχουν τον ρόλο τους. Η επιρρέπεια σε ΣΔτ1 αφορά αρκετά γονίδια, αλλά το κυριότερο βρίσκεται στην HLA περιοχή του χρωμοσώματος 6p21. Πολυμορφισμοί στο σύμπλεγμα HLA είναι υπεύθυνοι για πάνω από 40-50% του γενετικού κινδύνου, καθώς σε αυτή τη περιοχή περιλαμβάνονται γονίδια που κωδικοποιούν το τάξης II MHC. Η ικανότητα του MHC τάξης II να παρουσιάζει τα αντιγόνα στα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα εξαρτάται από τη σύσταση αμινοξέων στα σημεία σύνδεσης του αντιγόνου, με αποτέλεσμα αλλαγές στα αμινοξέα να επηρεάζουν την ειδικότητα της ανοσολογικής απάντησης. [59] [61]

Οι ισχυρότερες συσχετίσεις έχουν γίνει με τις περιοχές HLA-DR και HLA-DQ, τα οποία είναι α-β ετεροδιμερή και κάθε αλυσίδα κωδικοποιείται από τους γενετικούς τόπους DRA, DRB και DQA, DQB, αντίστοιχα. Όσον αφορά τη λευκή φυλή τον υψηλότερο γενετικό κίνδυνο προσδίδουν οι HLA απλότυποι τάξης II, DR4-DQA1*0301-DQB1*0302 (DR4-DQ8), και ακολουθεί ο DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201 (DR3-DQ2). 90% των ατόμων που πάσχει από ΣΔτ1 φέρει έναν από αυτούς τους απλότυπους, ενώ 30% φέρει και τους δύο. Επιπρόσθετα, υπάρχουν γονίδια που προστατεύουν από ΣΔτ1, όπως το DQB1*0602. [59] [61]

Σημαντικό προδιαθεσικό ρόλο στην εμφάνιση ΣΔτ1 έχουν επίσης πολυμορφισμοί στα μη HLA-γονίδια: CTLA4 (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein) το οποίο είναι αρνητικός ρυθμιστής των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων, IL2RA (interleukin-2 receptor subunit α) το οποίο επηρεάζει την ευαισθησία της ιντερλευκίνης 2 και τα'

επέκταση να διαταράξουν την ισορροπία μεταξύ δραστικών και ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων, PTPN22 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2) το οποίο εκφράζεται ισχυρά στα β-κύτταρα, BACH2 (basic leucine zipper transcription factor 2) ο οποίος είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ελέγχει τα αποπτωτικά μονοπάτια του β-κυττάρου που ενεργοποιούνται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, και FoxP3 ο οποίος είναι ο μεταγραφικός παράγοντας που ελέγχει τα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα. Αλλά, η ισχυρότερη συσχέτιση έχει διαπιστωθεί με το μη HLA γονίδιο της ινσουλίνης INS, το οποίο περιλαμβάνει μια πολυμορφική περιοχή VNTR στην οποία έχουν διαπιστωθεί 3 διαφορετικά VNTR αλληλόμορφα ανάλογα με τον αριθμό των επαναλήψεων. Σε αυτή τη περίπτωση υψηλότερο κίνδυνο προσφέρει η ομοζυγωτία VNTR I. Αυτοί οι πολυμορφισμοί δρουν ρυθμίζοντας τη ποσότητα του mRNA της ινσουλίνης στον θύμο και ίσως επηρεάζουν την ανάπτυξη της ανοσολογικής ανοχής σε αυτή. [59] [61]

Τέλος, η πιθανότητα ένα άτομο να πάσχει από ΣΔτ1 είναι 3-4% αν έχει γονιό που πάσχει, και 5-15% σε περίπτωση που έχει αδέρφια που πάσχουν, ανάλογα με το ποιον απλότυπο μοιράζονται. [59] [61]

3.2.6.2. LADA

Ο ΣΔ τύπου LADA έχει γενετικές ομοιότητες και με τον ΣΔτ1 και με τον ΣΔτ2, με αποτέλεσμα τα ίδια γονίδια που έχουν συσχετιστεί με τον ΣΔτ1 να ενοχοποιούνται και για τον LADA με κάποιες διαφορές όσον αφορά τα HLA γονίδια [23] [12]. Ωστόσο θα πρέπει να αναφερθεί πως οι περισσότερες μελέτες περιορίστηκαν σε συγκεκριμένα υποψήφια γονίδια που αποτελούν γονιδιακούς τόπους που σχετίζονται με τον κίνδυνο εκδήλωσης των προαναφερθέντων διαβητικών μορφών [24] [25] [12]. Έχει παρατηρηθεί μικρή συνεργική επίδραση των γονότυπων HLA-DR3/DR4, καθώς και μειωμένη συχνότητα των ομοζυγωτών HLA-DR4/4. Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί αυξημένη συχνότητα των προστατευτικών αλληλόμορφων HLA-DRB1*15, καθώς και των μη προδιαθεσικών αλληλόμορφων DRX/X. Δεν συμβαίνει το ίδιο όμως και με τον ΣΔτ2, καθώς δεν έχει αποδειχθεί γονιδιακή συσχέτιση μέχρι στιγμής. Σύμφωνα όμως με τη μελέτη GWAS, φαίνεται το γονίδιο PFKB3 να έχει κάποια θέση στη γενετική προδιάθεση του LADA [26] [12].

Επιπρόσθετα, ο LADA σχετίζεται με ΣΔτ1-σχετιζόμενες παραλλαγές στα γονίδια PTPN22 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22), INS (insulin) και SH2B3 (SH2B adapter protein 3). Ωστόσο, οι εν λόγω συσχετισμοί φαίνεται να περιορίζονται σε μία υποομάδα ασθενών με LADA, οι οποίοι και επιδεικνύουν ένα αυξημένο αυτοάνοσο φορτίο και χαρακτηρίζονται από την παρουσία >1 θετικών διαβητικών αυτοαντισωμάτων [27] [12].

Ορισμένες μελέτες έχουν περιγράψει έναν συσχετισμό με τον ΣΔτ2-σχετιζόμενο TCF7L2 (transcription factor 7-like 2) γονιδιακό τόπο [28] [29] [12]. Ωστόσο, ο εν λόγω

συσχετισμός αμφισβητήθηκε πρόσφατα σε μελέτη που διερεύνησε τη γενετική αξιοπιστία του LADA [27] [12].

Ισχυρός συσχετισμός έχει επίσης αναφερθεί ανάμεσα στη παχυσαρκία και τους HLA γονότυπους υψηλού κινδύνου έναντι του κινδύνου εκδήλωσης LADA, ιδίως σε περιπτώσεις με τον γονότυπο DR4/4 [30] [12]. Η ίδια μελέτη αναφέρει πως το υπερβολικό βάρος βρέθηκε πως αλληλεπιδρά με τον TCF7L2, τη λιπώδη μάζα και τα αλληλία κινδύνου, επάγοντας την εκδήλωση LADA.

Τέλος, δύο διαφορετικοί δείκτες για το γονίδιο MICA (MHC class I polypeptide-related sequence A), πιο συγκεκριμένα τα αλληλία MICA5 και MICA5.1 σχετίζονται με τους ΣΔτ1 και LADA, αντίστοιχα [32] [12]. Ωστόσο, μελέτη που διενεργήθηκε μεταξύ των MHC τάξεων έδειξε πως στον LADA, σε αντίθεση με τον παιδιατρικό τύπο του ΣΔτ1, δεν υπάρχει ανεξάρτητη επίδραση της MHC τάξεως I στη διαμόρφωση MHC τάξεως II συσχετισμών. Το εν λόγω γεγονός ενδεχομένως να σημαίνει πως ο βαθμός συσχετισμού της MHC τάξεως I δύναται να αποτελεί ένα τρόπο γενετικού διαχωρισμού ανάμεσα στο LADA και τον παιδιατρικό ΣΔτ1 [33] [12].

3.2.7. Πρόληψη

Όσον αφορά τη πρόληψη έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες με στόχο την πιο έγκαιρη διάγνωση της νόσου, καθώς και τη δυνατόν συντομότερη έναρξη θεραπείας, προφυλακτικής ή μη.

Πρόσφατα ανευρέθηκε ένας νέος προφλεγμονώδης βιοδείκτης για την διαφορική διάγνωση μεταξύ LADA, T1D και T2D, με την επωνυμία sTNFRII (soluble levels of TNF alpha 2 receptor). Ο sTNFRII αποτελεί μία σταθερή πρωτεΐνη που ρυθμίζει την ενεργοποίηση του TNF-α στα λιποκύτταρα, στο πλαίσιο της παχυσαρκίας και αντίστασης στην ινσουλίνη [44] [12]. Οι Castelblanco et al. αναφέρουν πως οι συγκεντρώσεις του εν λόγω βιοδείκτη σταδιακά αυξάνουν από τον ΣΔτ1 στο LADA και από τον LADA στο ΣΔτ2 και δημιουργούν τις προϋποθέσεις ως αξιοποίησής του σε επίπεδο προγνωστικού δείκτη [45] [12]. Επιπρόσθετα, ο sTNFRII διαδραματίζει κομβικό ρόλο στην διαφοροποίηση των ενεργοποιημένων CD4+ Tregs (T-regulatory cells), τα οποία είναι θεμελιώδους σημασίας στη διατήρηση της ανοσολογικής μη ανταπόκρισης στα αυτοαντιγόνα [46] [47] [12]. Επομένως, ο αυξημένος αριθμός των Tregs στο LADA, σε σχέση με τον ΣΔτ1, δύναται να εξηγήσει τον περισσότερο ελαφρύ κλινικό φαινότυπο της LADA μορφής.

Η ECL (electrochemiluminescence) δοκιμασία αποτελεί μία νέα αναδυόμενη μέθοδο για τον εντοπισμό αυτοαντισωμάτων νησιδίων και τον διαχωρισμό μεταξύ αυξημένου βαθμού συγγένειας, εξειδικευμένων αντισωμάτων υψηλού κινδύνου εκδήλωσης διαβήτη και μειωμένου βαθμού συγγένειας, αντισωμάτων μειωμένου κινδύνου εκδήλωσης διαβήτη [57] [12]. Ασθενείς που είναι ECL-GAD65- μοιράζονται παρόμοιο ΣΔτ2 φαινότυπο με μειωμένο ρυθμό απώλειας β-κυττάρων. Από την άλλη πλευρά,

ασθενείς που είναι ECL-GAD65+ σχετίζονται με ταχεία δυσλειτουργία των β κυττάρων και χρήζουν θεραπείας με ινσουλίνη, κατά ανάλογο τρόπο με ασθενείς με ΣΔτ1 [58] [12].

Γενικότερα έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες σε πειραματικά μοντέλα με σκοπό να καθυστερήσουν την εμφάνιση του διαβήτη ή να τον αποτρέψουν. Κάποιες από αυτές στοχοποίησαν το ανοσοποιητικό σύστημα ευθέως (ανοσοκαταστολή, διαγραφή ειδικών υποομάδων των T-λεμφοκυττάρων, πρόκληση αυτοανοσοανοχής στις πρωτεΐνες των νησιδίων), ενώ άλλες προσπάθησαν να αποτρέψουν τον κυτταρικό θάνατο των νησιδίων τις κυτταροτοξικές κυτταροκίνες ή αυξάνοντας την αντίσταση των νησιδίων στην αυτοκαταστροφική διαδικασία. Δυστυχώς, ενώ τα αποτελέσματα των ερευνών σε πειραματικά μοντέλα είναι υποσχόμενα, δεν ισχύσει το ίδιο με την εφαρμογή τους σε ανθρώπους. [59]

Σε ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση αυτοάνοσου ΣΔ, η θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα και με GAD εμβόλιο φαίνεται να καθυστερεί την εξέλιξη της νόσου και να βοηθάει στη διατήρηση των επιπέδων C-πεπτιδίου. [59]

3.2.8. Αυτοαντισώματα

Σημαντικό ρόλο στη διάγνωση και στη εξέλιξη της νόσου του αυτοάνοσου διαβήτη έχουν τα αυτοαντισώματα έναντι των αυτοαντιγόνων των β-κυττάρων όσον αφορά το είδος του αυτοαντισώματος, τον τίτλο αυτού, την εκλεκτική του συγγένεια και τον αριθμό τους. Κατά τη διάγνωση >90% των πασχόντων έχουν ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα αυτοαντισώματα: αντινησιδιακά αντισώματα (ICA-Islet antibodies), αντιπινσουλινικά αντισώματα (IAA-Insulin autoantibodies), αντισώματα κατά της αποξαρβοξυλάσης του γλουταμικού οξέος 65 (GADA/GAD65-gluamic acid decarboxylase 65), αντισώματα κατά της τυροσινικής φωσφατάσης (IA2-insulinoma associated autoantigen 2), και αντισώματα κατά του μεταφορέα του ψευδαργύρου 8 (ZnT8-zinc transporter 8). [59] [62]

Τα αντισώματα αυτά μπορούν να εμφανιστούν πολύ πρώιμα και να είναι παρόντα μήνες ή έτη πριν την έναρξη της κλινικής συμπτωματολογίας της νόσου. Όσο μικρότερη είναι η ηλικία εμφάνισης των αυτοαντισωμάτων και όσο περισσότερα είναι τα αυτοαντισώματα που εμφανίζονται, τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα νόσησης. Ασθενείς με LADA συνήθως έχουν μονήρη αυτοαντισώματα, ενώ ασθενείς με ΣΔΤ1 είναι πιθανότερα να εκδηλώσουν την νόσο σε μικρή ηλικία και να έχουν πολλαπλά αυτοαντισώματα. Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι σε σπάνιες περιπτώσεις η αυτοάνοση διαδικασία μπορεί να έχει ξεκινήσει από την ενδομήτρια ζωή. [59] [62]

Τα πρώτα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται είναι τα IAA ή τα GADA, ενώ δεν αποκλείεται και η πιθανότητα εμφάνισης και των δύο μαζί. Έχει διαπιστωθεί ότι τα αντι-IAA εμφανίζονται με κορύφωση μεταξύ πρώτου και δεύτερου χρόνου, συνήθως σε παιδιά μικρότερα των 13 μηνών, που φέρουν τους απλότυπους HLA-DR4-DQ8.

Αντίθετα τα αντι-GADA, κορυφώνονται μεταξύ τρίτου και πέμπτου χρόνου, συνήθως σε παιδιά μεγαλύτερα των 40 μηνών ή σε ασθενείς με LADA, και με συχνή συσχέτιση με τον γονότυπο HLA-DR3-DQ2. Ο τίτλος των GADA αυτοαντισωμάτων μειώνεται ακριβώς πριν τη διάγνωση της νόσου, ενώ ο τίτλος των αντι-IA2 αυξάνεται τη περίοδο της διάγνωσης. Τα αντι-ZnT8 έχει διαπιστωθεί πως είναι θετικά στο 60-80% των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΣΔτ1, ακόμα και σε άτομα που είναι αρνητικά για όλα τα άλλα αντισώματα (περίπου 26% των περιπτώσεων), αλλά παράλληλα εξαφανίζονται πολύ γρήγορα με την κλινική εκδήλωση της νόσου. [59] [62]

3.2.8.1. Αντισώματα έναντι των κυττάρων των νησιδίων Langerhans

Τα αντισώματα αυτά αντιδρούν με το κυτταρόπλασμα όλων των τύπων κυττάρων των νησιδίων του παγκρέατος, αλλά και με τη μεμβράνη των β-κυττάρων. Τα ICA είναι τάξης IgG, και ανήκουν σχεδόν εξ' ολοκλήρου στην υπόταξη IgG1. Τα αντισώματα αυτά δρουν συνδέοντας το συμπλήρωμα, ανιχνεύονται μέσω δοκιμασίας σύνδεσης συμπληρώματος στο 65-90% των νεοδιαγνωσθέντων με διαβήτη αυτοάνοσης αιτιολογίας και στο 0.9-9% των πρώτου βαθμού συγγενών, και λίγες εβδομάδες ή μήνες μετά την εκδήλωση της νόσου εξαφανίζονται από τη κυκλοφορία, εκτός απ-ο9 τις περιπτώσεις που συνυπάρχει άλλη ενδοκρινοπάθεια. Καθώς τα αντισώματα αυτά εμφανίζονται συνήθως αρκετά πριν την έναρξη της νόσου μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως προγνωστικοί δείκτες σε συγγενείς διαβητικών ατόμων. [62]

3.2.8.2. Αντισώματα ANTI-GAD

Η GAD αποτελεί το ένζυμο που μετατρέπει το γλουταμικό οξύ στον νευροδιαβιβαστή GABA, και εντοπίζεται πέραν των λοιπών οργάνων και στα β-κύτταρα του παγκρέατος. Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται μέσω RIA στο 70-85% των νεοδιαγνωσθέντων ατόμων με διαβήτη αυτοάνοσης αιτιολογίας, καθώς και σε άτομα που επρόκειτο να αναπτύξουν διαβήτη στο μέλλον. Τα αντισώματα αυτά παραμένουν για μεγάλο διάστημα μετά την εκδήλωση της νόσου στην κυκλοφορία σε χαμηλό τίτλο. Αποτελούν χαρακτηριστικά αντισώματα στον τύπο LADA. [62] Η ομάδα των Liu et al. (2019) ανέφερε πως ασθενείς με LADA, με μειωμένο τίτλο των GADA, κατέγραψαν παραπλήσια εικόνα με ασθενείς με T2DM, ακολουθώντας παραπλήσια μειωμένη λειτουργικότητα των β κυττάρων (άρθρο 13). Η συγκεκριμένη παρατήρηση υποδηλώνει πως ο αυξημένος τίτλος των GADA αποτελεί δείκτη ανεπάρκειας των β κυττάρων σε ασθενείς με LADA. [32] [13]

3.2.8.3. Αντισώματα έναντι της ινσουλίνης

Τα αντισώματα έναντι της ινσουλίνης φαίνεται να παράγονται σε δεύτερο χρόνο, μετά δηλαδή την έναρξη καταστροφής των β-κυττάρων, και ανιχνεύονται μέσω RIA ή ELISA στο 53% των νεοδιαγνωσθέντων ατόμων με ΣΔτ1 σε χαμηλό τίτλο. Συχνότερα παρατηρούνται σε μικρότερης ηλικίας ασθενείς με ταχύτερο ρυθμό καταστροφής των β-κυττάρων, και κατ' επέκταση με βαρύτερη εκδήλωση της νόσου. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συνδυασμός ICA και IAA έχει ισχυρή προγνωστική αξία και καθιστά σχεδόν βέβαιη την εκδήλωση της νόσου, ενώ αντίθετα τα θετικά IAA μόνα τους είναι χαμηλής αξίας. Όπως και στην περίπτωση των περισσότερων αντισωμάτων, τα IAA φθίνουν με τη κλινική εκδήλωση της νόσου. [62]

Επιπρόσθετα, έχουν παρατηρηθεί αντισώματα έναντι της προινσουλίνης σε κάποιους ασθενείς, τα οποία είναι παρόμοια με τα IAA, αλλά εμφανίζονται σε κάποιες περιπτώσεις ασθενών με αρνητικά IAA. [62]

3.3. Μονοκλωνικά αντισώματα

3.3.1. Εισαγωγή

Η ανακάλυψη της υβριδωματικής τεχνολογίας των Β κυττάρων στα μέσα της δεκαετίας του '70 αποτέλεσε την έναρξη παραγωγής αντιγονο-ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. Άμεση απόρροια ήταν η δημιουργία του επιστημονικού πεδίου της μονοκλωνικής ανοσοθεραπείας. Η εν λόγω προσέγγιση περιλαμβάνει τη συλλογή Β κυττάρων που παράγουν αντισώματα από αντιγονο-ανοσοποιημένα ποντίκια. Τα τελευταία έχουν τροποποιηθεί με τέτοιο τρόπο ώστε να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστο και δύνανται να καλλιεργηθούν για μεγάλες χρονικές περιόδους. Η διαδικασία που ακολουθείται περιλαμβάνει σύντηξη με κύτταρα μυελώματος για την παραγωγή υβριδωματικών κυτταρικών σειρών. Η υβριδωματική μέθοδος, εάν και αποτελεί αναγνωρισμένο πρωτόκολλο για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων, χαρακτηρίζεται από μεγάλη διάρκεια ολοκλήρωσης της διαδικασίας και εμφανίζει τεχνικές δυσκολίες. Ως εκ τούτου, έχουν αναπτυχθεί έτερες εργαστηριακές προσεγγίσεις, προκειμένου να συμβάλλουν στην πρόσθετα ταχύτερη παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων και να διευρύνουν το ήδη υπάρχων ρεπερτόριο αντιγονο-ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. [17]

3.3.2. Σύγχρονοι μέθοδοι παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων

Η κατασκευή φάγου αποτελεί ένα είδος τεχνικής που διαμορφώθηκε στα μέσα της δεκαετίας του '80. Περιλαμβάνει την κλωνοποίηση ενός γονιδίου σε γονίδιο τάξεως III ενός νηματοειδούς φάγου, με την ενσωματωμένη πρωτεΐνη/πεπτιδίο να εκφράζεται στην επιφάνεια του φάγου. Οι κατασκευασμένοι φάγοι ακολούθως εκτίθενται σε μία πρωτεΐνη που προσδένεται στην έκτοπη πρωτεΐνη/πεπτιδίο, οι προσδεδεμένοι σε πρωτεΐνη φάγοι διευρύνονται στα βακτήρια και υπόκεινται σε πρόσθετους κύκλους ελέγχου. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία έχει προσαρμοσθεί για APD (antibody phage display) και τον έλεγχο βιβλιοθηκών σε μεταβλητές περιοχές των Fab (antigen binding fragments) ή ανασυνδυασμένων scFv (single-chain variable fragments), τα οποία και εκφράζονται στην επιφάνεια των φάγων. [62] [17] [63]

Η διαδικασία παραγωγής και ελέγχου των CDR (complementary determining regions) σε ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες πραγματοποιείται ταχέως, καθώς είναι ήδη διαθέσιμες μεγάλες ανθρώπινες βιβλιοθήκες ανοσοσφαιρινών. Η adalimumab, γνωστή και ως Humira, (D2E7) αποτέλεσε το πρώτο ανθρώπινο anti-TNF α μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο αναπτύχθηκε με την βοήθεια της APD τεχνολογίας, καθώς και το πιο επικερδές. Εκδήλωσε ανασταλτική ικανότητα προς το μονοκλωνικό αντίσωμα MAK195, που χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα. [62] [63] [17]

Η APD δύναται επίσης να χρησιμοποιηθεί για την βελτιστοποίηση της εκδήλωσης και παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία επιτρέπει την αποφυγή σταδίων ανοσοποίησης, το οποίο συνιστά σημαντικό πλεονέκτημα για την διαμόρφωση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι μη-ανοσογόνων, τοξικών ή αυτο-αντιγόνων. Ένα βασικό μειονέκτημα της APD αποτελεί το γεγονός πως η επιλογή των

βαριών και ελαφριών αλύσων βασίζεται σε τυχαία γεγονότα επιλογής, τα οποία ενδέχεται να αντιπροσωπεύουν μία λειτουργική ανοσοσφαιρίνη in vivo. Παραταύτα, η APD παρέχει ένα ταχύ τρόπο ανακάλυψης και ελέγχου μονοκλωνικών αντισωμάτων, σε σύγκριση με την κλασσική μεθοδολογία υβριδωματικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. [17] [62] [63]

3.3.3. Μηχανισμός δράσης

Οι μηχανισμοί δράσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων και οι τρόποι με τους οποίους στοχεύουν τα εκάστοτε κύτταρα, προήλθαν αρχικά από μελέτες σε καρκινικά κύτταρα, τα ευρήματα των οποίων συνέβαλλαν στην αναθεώρηση των μεθοδολογιών αντιμετώπισης και διαμόρφωσης ενός περισσότερο ανεκτού, από τοξικολογική άποψη, προφίλ. Η χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων στην ογκολογία εναπόκειται σε διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης, με σκοπό την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Οι εν λόγω μηχανισμοί περιλαμβάνουν την παρεμπόδιση μονοπατιών επιβίωσης καρκινικών κυττάρων, την αναστολή της ανάπτυξης της καρκινικής εστίας μέσω παρέμβασης στην καρκινική αγγειογένεση, τη διαφυγή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, καθώς επίσης και την αποφυγή ανοσιακών σημείων ελέγχου. [62] [64]

3.3.3.1. Άμεση θανάτωση καρκινικών κυττάρων

Η συγκεκριμένη δράση διεγείρεται από την δραστικότητα αγωνιστών μορίων των υποδοχέων, όπως για παράδειγμα η πρόσδεση ενός αντισώματος σε ένα καρκινικό υποδοχέα της κυτταρικής επιφάνειας και η μετέπειτα ενεργοποίησή του, με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. Δύναται όμως να διεγερθεί επίσης και λόγω δραστικότητας ανταγωνιστών των υποδοχέων, όπως για παράδειγμα η πρόσδεση ενός αντισώματος στον υποδοχέα μίας κυτταρικής επιφάνειας και η αναστολή του διμερισμού, η ενεργοποίηση κινάσης, η κατερχόμενη σηματοδότηση, με αποτέλεσμα ο μειωμένος πολλαπλασιασμός και η απόπτωση [9] [15]. Η πρόσδεση ενός μονοκλωνικού αντισώματος σε ένα ένζυμο δύναται να οδηγήσει σε ουδετεροποίηση και απόπτωση, ενώ συζευκτικά αντισώματα δύναται να χρησιμοποιηθούν για την μεταφορά ενός φαρμακευτικού σκευάσματος σε ένα καρκινικό κύτταρο.

3.3.3.2. Ανοσο-επαγόμενη θανάτωση καρκινικών κυττάρων

Κατά την διάρκεια της συγκεκριμένης δράσης, το ανοσοποιητικό σύστημα αναζητά καρκινικά κύτταρα, με σκοπό την καταστροφή τους. Ο συγκεκριμένος τύπος κυτταρικού θανάτου δύναται να διεξαχθεί μέσω έναρξης των ακόλουθων μηχανισμών: (α) φαγοκυττάρωση, (β) ενεργοποίηση του συμπληρώματος, (γ) αντισωματικά εξαρτώμενη κυτταρική κυτταροτοξικότητα, (δ) στόχευση γενετικώς τροποποιημένων T κυττάρων έναντι μίας καρκινικής εστίας, (ε) ενεργοποίηση T κυττάρων αντισωματικά επαγόμενη παρουσίαση του αντιγόνου σε δενδριτικά κύτταρα, (στ) αναστολή των T κυτταρικών υποδοχέων [10] [15].

3.3.3.3. Αδρανοποίηση αγγειακών και στρωματικών κυττάρων

Η εν λόγω δράση απαιτεί την ενεργοποίηση μίας εκ των ακόλουθων επιλογών: (α) ανταγωνισμό του αγγειακού υποδοχέα ή δέσμευση συνδέτη, (β) αναστολή των στρωματικών κυττάρων, (γ) μεταφορά μίας τοξίνης σε στρωματικά κύτταρα, (δ) μεταφορά μίας τοξίνης προς τα αγγεία [10] [15].

3.3.4. Εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στον αυτοάνοσο διαβήτη

Στόχος των mAbs σε ό,τι αφορά στην θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη είναι η καταστολή της εν εξελίξει καταστροφής των β-κυττάρων του παγκρέατος, ενώ παράλληλα επιτυγχάνεται μακροπρόθεσμη αυτοανοσοανοχή, η οποία σε σημαντικό βαθμό καθορίζεται από τα Tregs. Μετά από αρκετές μελέτες, υπάρχουν ενδείξεις πως η φάση και η εξέλιξη της νόσου κατά την περίοδο έναρξης της θεραπείας παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα αυτής. Έναρξη της θεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα κατά τα πρώτα στάδια της νόσου, όπου η μάζα των β-κυττάρων είναι για τα δεδομένα υψηλή και ο αριθμός των Tregs που διηθούν τα νησίδια είναι χαμηλός, φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Βέβαια, έναρξη της θεραπείας σε μετέπειτα στάδια της νόσου δεν είναι απαραίτητως παράγοντας αποτυχίας αυτής, αλλά είναι απαραίτητο σε αυτή την περίπτωση να συνδυαστεί με τα αντισώματα με άλλες μεθόδους που βοηθούν στην αύξηση και τη λειτουργία της μάζας των β-κυττάρων που έχει απομείνει (πχ. μεταμόσχευση νησιδίων).

Τα θεραπευτικά αντισώματα λειτουργούν είτε μέσω της ελάττωσης του πληθυσμού των κυττάρων στόχων, όπως είναι τα anti-CD3, anti-CD2, και anti-CD20, ή μέσω της παρεμπόδισης των λειτουργιών των κυτταρικών υποδοχέων, όπως για παράδειγμα τα anti-TNF α , anti-TNF γ , anti-IL12, anti-IL21, anti-IL17A, anti-IL25, τα οποία δρουν εξουδετερώνοντας ανοσοδραστικά μόρια, τα anti-CTLA4-Ig, anti-CD4-IgG1, anti-CD8 α , mab287, anti-CD127, anti-IL7R α , anti-NCR1, anti-ICAM1, anti-MADCAM1, που δρουν ρυθμίζοντας τη δραστηριότητα ανοσοδραστικών κυττάρων, anti-IL2, και άλλα σύμπλοκα κυτταροκινών.

Σημειώνεται πως αρκετά από τα mAbs που αναφερθήκαν βρίσκονται ακόμη αποκλειστικά σε πειραματικό στάδιο. [65]

3.3.4.1. Anti-CD3 θεραπεία

Η θεραπεία με anti-CD3, αποτελεί μία από τις πιο επιτυχημένες κλινικά ανοσοθεραπείες για τη θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη, και κυρίως του ΣΔτ1. Το 1994, οι Chatenoud και Bach απέδειξαν ότι η anti-CD3 θεραπεία συσχετίζεται με υποστροφή του νεοδιαγνωσθέντος διαβήτη σε NOD (Non obese diabetic-μη παχύσαρκα διαβητικά) ποντίκια, καθώς και με μακροπρόθεσμη ύφεση και ανοχή β-κυττάρων. Με τη χορήγηση του anti-CD3 mAb επιτυγχάνεται αυξημένη σηματοδότηση των TCR, η οποία οδηγεί σε κατευθυνόμενη απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων που διηθούν τα νησίδια (Teffs), περιορίζοντας έτσι την τρέχουσα καταστροφή των β-κυττάρων, με κόστος τη παροδική συστηματική μείωση των T-λεμφοκυττάρων στη περιφέρεια. Επιπρόσθετα, μέσω της φαγοκύτωσης των αποπτωτικών Teffs από τα μακροφάγα, αυξάνεται η παραγωγή TGFβ προάγοντας τη διαφοροποίηση των Foxp3⁺Treg, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ύφεσης της νόσου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η κατευθυνόμενη απόπτωση μέσω των anti-CD3 επηρεάζει σε ελάχιστο βαθμό τα Foxp3⁺Tregs. Πρόσφατες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι ο ταχέως εξελισσόμενος ΣΔτ1 συσχετίζεται με την παρουσία ενεργοποιημένων ειδικών για τα νησίδια HELIOS⁺CD8⁺ Tmem (HELIOS⁺CD8⁺ T-λεμφοκύτταρα μνήμης) στο περιφερειακό αίμα. Αντιθέτως, βραδέως εξελισσόμενος αυτοάνοσος διαβήτης χαρακτηρίζεται από ειδικά για τα νησίδια CD8⁺ Tmem, τα οποία φέρουν έναν εξουθενωμένο φαινότυπο ο οποίος χαρακτηρίζεται από αυξορρύθμιση των EOMES, 2B4, PD-1, TIGIT, και CD160. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι μέχρι τώρα ενδείξεις δείχνουν ότι η anti-CD3 θεραπεία επηρεάζει τον φαινότυπο των T-λεμφοκυττάρων στους υπό θεραπεία ασθενείς με ΣΔτ1, αυξάνοντας τον αριθμό των κυκλοφορούντων CD8⁺ Tmem και ειδικών για τα νησίδια εξουθενωμένων CD8⁺ T-

λεμφοκυττάρων, παίζοντας σημαντικό ρόλο στο προστατευτικό όφελος. Χαρακτηριστικά παραδείγματα anti-CD3 θεραπείας αποτελούν τα teplizumab και otelixizumab, στα οποία μετά από μελέτες διαπιστώθηκε ότι επιτυγχάνεται διατήρηση των επιπέδων C-πεπτιδίου και λειτουργίας β-κυττάρων σε βάθος χρόνου, καθώς και μείωση των αναγκών σε ινσουλίνη. Σε ό,τι αφορά στο teplizumab διαπιστώθηκε μεγάλη συσχέτιση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με την παρουσία του HLA απλότυπου, καθώς και το γεγονός ότι 14 ημέρες θεραπείας μπορούν να προσφέρουν καθυστέρηση εμφάνισης της νόσου σε άτομα με προδιάθεση έως και 24 μήνες. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι έρευνες έχουν διαπιστώσει καλύτερη ανταπόκριση στο teplizumab από άτομα με μειωμένα επίπεδα C-πεπτιδίου την περίοδο της παρέμβασης. Αντιθέτως, μελέτες πάνω στο otelixizumab έδειξαν ότι η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου αυξάνεται ανάλογα με την υπολειπόμενη μάζα β-κυττάρων και είναι δοσοεξαρτώμενη. Δυστυχώς όμως, σε κάποιες περιπτώσεις διαπιστώθηκε επανενεργοποίηση του EBV κατά τη θεραπεία με otelixizumab. Τέλος, υπό μελέτη βρίσκεται η από του στόματος χορήγηση των anti-CD3, η οποία μέχρι τώρα φαίνεται να έχει λιγότερες παρενέργειες, μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε χαμηλότερες δόσεις, ενώ παράλληλα η ανοχή επιτυγχάνεται μέσω της ένταξης TGFβ1 Th3 κυττάρων, και όχι μέσω μείωσης ή εξάντλησης των κυττάρων στόχων. [65] [66] [67] [68]

3.3.4.2. Anti-CD20 θεραπεία

Ταχέως εξελισσόμενη μορφή ΣΔτ1 στα αρχικά στάδια της νόσου συσχετίζεται με υψηλά επίπεδα CD20 Β-λεμφοκυττάρων τα οποία διηθούν τα νησίδια του παγκρέατος. Η anti-CD20 θεραπεία, για παράδειγμα το rituximab, σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε NOD ποντίκια και σε πειραματόζωα, φαινόταν πολλά υποσχόμενη όσον αφορά τη βελτίωση των επιπέδων C-πεπτιδίου και της ανάγκης σε εξωγενή ινσουλίνη, αλλά με αποτελέσματα φτωχά σε μακροχρόνια οφέλη. [65] [68]

3.3.4.3. Anti-CD2 θεραπεία

Τα CD2 είναι μόρια τα οποία εκφράζονται σε ποικίλους τύπους κυτταρικών πληθυσμών, συμπεριλαμβανομένων των NK, DC και T-λεμφοκυττάρων, ενώ υψηλά επίπεδα αυτών παρατηρούνται κυρίως στα Tmem. Χαρακτηριστικό παράδειγμα anti-CD2 θεραπείας αποτελεί το alfacerpt, το οποίο αρχικά χρησιμοποιήθηκε αποτελεσματικά για τη θεραπεία της ψωρίασης. Το alfacerpt αποτελείται από ένα συνδυασμό πρωτεϊνών CD2 του LFA3 με IgG1_{Fc} και δρα δεσμεύοντας τα Tmem και διεγείροντας απόπτωση μέσω των NK. Μετά από μελέτες που διενεργήθηκαν σε άτομα με πρόσφατης έναρξης ΣΔτ1, θεραπεία με alfacerpt για διάστημα 12-24 μηνών, οδηγεί σε μείωση των Tmem, αύξηση των Treg, αύξηση των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων, και κατ' επέκταση βελτίωση των επιπέδων C-πεπτιδίου, της λειτουργίας των β-κυττάρων και των αναγκών σε εξωγενή ινσουλίνη. [65]

3.3.5. Μέθοδοι χορήγησης και βιοδιαθεσιμότητα

Η πλειοψηφία των μονοκλωνικών αντισωμάτων χορηγείται είτε ενδοφλεβίως, είτε υποδορίως, με την ενδομυϊκή χορήγηση να χρησιμοποιείται σε ορισμένες περιπτώσεις. Η χορήγηση από του στόματος αποκλείεται λόγω του υψηλού μοριακού βάρους, της πτωχής διαλυτότητας, της πρωτεολυτικής αστάθειας και διαπερατότητας των μονοκλωνικών αντισωμάτων, καθώς επίσης και της αποδιάταξής τους, ως πρωτεΐνες, στη γαστροεντερική οδό λόγω πρωτεόλυσης. Έπειτα από την ολοκλήρωση ενδοφλέβιας χορήγησης, τα περισσότερα μονοκλωνικά αντισώματα επιδεικνύουν διφασικά φαρμακοκινητικά προφίλ, με ταχεία κατανομή (α φάση) και σχετικά βραδεία εξάλειψη (β φάση). Από την άλλη πλευρά, σε περιπτώσεις όπου επιλέγεται η υποδόρια χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων, ακολουθεί βραδεία απορρόφηση στη κυκλοφορία που επάγεται από λεμφική παροχέτευση και διαρκεί αρκετές ημέρες μέχρι να επιτευχθούν οι ανώτατες τιμές συγκέντρωσης στο πλάσμα. Η βιοδιαθεσιμότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων κυμαίνεται μεταξύ 50-100%, εφόσον χορηγηθούν υποδορίως.

Η υποδόρια χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων εμφανίζει προφανή πλεονεκτήματα έναντι της ενδοφλέβιας χορήγησης. Ο ασθενής δεν χρειάζεται να παρευρεθεί σε κλινική ή νοσοκομείο για την χορήγηση από επαγγελματία υγείας. Ωστόσο, καθώς ο υπό χορήγηση όγκος είναι περιορισμένος, συχνά απαιτείται έγχυση σε πολλαπλά σημεία. Ορισμένες φαρμακευτικές φόρμουλες περιλαμβάνουν υαλουρονιδάση, με σκοπό την επίτευξη διάχυσης έπειτα από την υποδόρια χορήγηση, ιδίως σε περιπτώσεις όπου απαιτούνται μεγάλοι όγκοι. Έτερα προβλήματα που συναντώνται με την υποδόρια χορήγηση περιλαμβάνουν την αυξημένη πιθανότητα δημιουργίας ADA (adenosine deaminase) αντισωμάτων έναντι της ενδοφλέβιας

χορήγησης, καθώς επίσης και αυξημένη εκδήλωση τοπικών εκδηλώσεων στο σημείο της έγχυσης (π.χ. πόνος, ερύθημα, αποσκλήρυνση, οίδημα και κνησμός), οι οποίες όμως τις περισσότερες φορές είναι ανεκτές. [65] [67] [69]

3.3.6. Ανεπιθύμητες ενέργειες

Το γεγονός ότι τα mAbs παράγονται μέσω της ανασυνδυασμένης βιοτεχνολογίας τα καθιστά ασφαλή και ελεύθερα κινδύνου πρόκλησης λοιμώξεων. Παρόλα αυτά, όπως κάθε φάρμακο, έχουν κάποιες ανεπιθύμητες αντιδράσεις. Αρχικά, αντιδράσεις μπορεί να οφείλονται και να παρατηρούνται κατά το χρονικό διάστημα περίξ της χορήγησης-έγχυσης. Οι αντιδράσεις αυτές συνήθως λαμβάνουν χώρα κατά την πρώτη με δεύτερη ώρα της έγχυσης. Μπορούν να επηρεάσουν οποιοδήποτε όργανο, σύστημα και ιστό, και μπορεί να ποικίλουν από ήπιες έως και ιδιαίτερας έντονες, όπως πυρετό, κνησμό, ακόμα και απειλητική για τη ζωή αναφυλαξία. Ωστόσο οι ήπιες εκδηλώσεις είναι συνηθέστερες. Άλλη ανεπιθύμητη εκδήλωση μπορεί να είναι και η δημιουργία αντισωμάτων έναντι των mAbs, με αποτέλεσμα αντιδράσεις οξείας υπερευαισθησίας. Μάλιστα, ακόμα και απολύτως ανθρωποποιημένα mAbs μπορούν να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις. Τα «αντι-αντισώματα» αυτά στη πλειονότητα τους είναι IgG και μπορούν να περιορίσουν τη διαθεσιμότητα του φαρμάκου ακόμα και στο ημίσειο, ενώ όσα από αυτά είναι IgE μπορούν να προκαλέσουν μέχρι και άμεσο οίδημα και αναφυλαξία μετά από επανειλημμένες εκθέσεις. Η διακοπή των mAbs στις παραπάνω αντιδράσεις δεν συνεπάγεται και την οριστική διακοπή τους, αλλά πολλές φορές τη προσωρινή μόνο παύση της χρήσης τους. Άλλο πιθανό ρίσκο που συνεπάγεται η χρήση mAbs που φθίνουν την ανοσιακή λειτουργία, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που έχουν ως στόχο αντιγόνα στα B- και τα T- λεμφοκύτταρα, είναι οι φλεγμονώδεις και οι αυτοάνοσες αντιδράσεις, καθώς και η απώλεια επίκτητης ανοσίας. Ειδικότερα, σε ότι αφορά στον στόχο αντιγόνου χαρακτηριστικά παραδείγματα mAbs που εμπλέκονται είναι το abciximab που μπορεί να προκαλέσει αιμορραγία, το cetuximab που προκαλεί δερματοξικότητα, και το trastuzumab που σε κάποιες περιπτώσεις έχει

προκαλέσει καρδιοτοξικότητα. Τέλος, μια ιδιαίτερως σημαντική ανεπιθύμητη αντίδραση της χορήγησης των mAbs είναι το CRS (cytokine release syndrome- σύνδρομο έκλυσης κυτταροκινών), στο οποίο η συνεχής θετική ανατροφοδότηση οδηγεί σε μια προοδευτική κλιμάκωση στην έκλυση φλεγμονωδών κυτταροκινών από τα T-λεμφοκύτταρα. Τυπικά προκαλείται 2 με 3 ημέρες, μέχρι και 14 μετά την έκθεση στον εκλυτικό παράγοντα. Το CRS μπορεί να συνοδεύεται από πυρετό, κε, υπόταση, δύσπνοια, ταχυκαρδία, τρανσαμινασαιμία και υπερχολερυθριναιμία, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, κ.α.. Αξιοπρόσεκτο είναι το γεγονός ότι στον τρόπο αντιμετώπισης του CRS το οποίο προκαλείται από τη θεραπεία με mAbs, είναι η χορήγηση επίσης mAb και πιο συγκεκριμένα του tocilizumab που δρα έναντι της IL-6.

3.3.7. Αποτελεσματικότητα

Παρά το γεγονός ότι η χρήση των mAbs είναι αρκετά διαδεδομένη και αποτελεσματική, υπάρχουν σημαντικά περιθώρια βελτίωσης ώστε να προσεγγιστεί η μέγιστη θεραπευτική τους ικανότητα. Προβλήματα που διαπιστώνονται συχνά σε αυτές τις θεραπείες είναι η περιορισμένη αποτελεσματικότητα λόγω φτωχής διείσδυσης ιστού ή καρκινικού όγκου, χαμηλή in vivo αποτελεσματικότητα, πολυπλοκότητά χορήγησης, αντισωματική συσσώρευση, διαλυτότητα, καθώς και υψηλό κόστος παραγωγής.

3.3.8. Κόστος

Ενώ τα αντισώματα είναι πολύ αποτελεσματικά ως θεραπεία, η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας αποτελούσε πάντα θέμα συζήτησης λόγω του πολύ υψηλού κόστους τους, συγκεντρώνοντας περισσότερο από ένα δισεκατομμύριο δολάρια από την προκλινική ανάπτυξη μέχρι την έγκριση της άδειας κυκλοφορίας στην αγορά.

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον από τις βιοφαρμακευτικές εταιρείες στα βιο-ομοειδή αντισώματα ως πιο προσιτές εκδοχές των θεραπευτικών αντισωμάτων που έχουν ήδη λάβει έγκριση κυκλοφορίας οδηγεί στη δημιουργία νέων θεραπευτικών εναλλακτικών επιλογών, καθώς και μείωση του κόστους τόσο των βιο-ομοειδών όσο και των θεραπευτικών αντισωμάτων στο μέλλον.

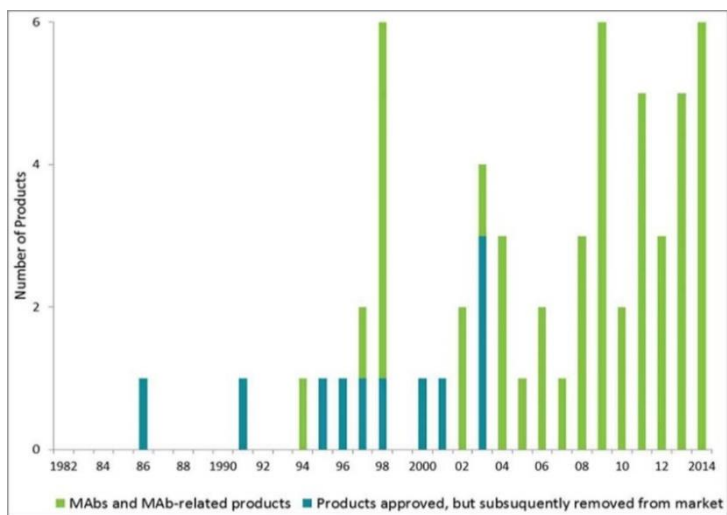
Σύμφωνα με τον FDA, τα βιο-ομοειδή συντελούν στη μείωση κόστους της τάξεως 10-30%, γεγονός το οποίο οδηγεί σε σημαντικές αποταμιεύσεις στους φορείς υγείας χωρών που έχουν οικονομικά προβλήματα. Ο ανταγωνισμός που προσφέρεται πλέον λόγω του χαμηλότερου-κόστους βιο-ομοειδών αναμένεται να αυξήσει τον όγκο και κατ'επέκταση να μειώσει το γενικότερο κόστος και των βιο-ομοειδών και των αρχικών θεραπευτικών αντισωμάτων.

Τα τελευταία χρόνια, όπως προαναφέρθηκε, αυξημένο ενδιαφέρον υπάρχει όσον αφορά τα φυτικά συστήματα παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων, καθώς απουσιάζουν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που φέρουν τα θηλαστικά, και έχουν το προτέρημα του χαμηλού κόστους, και της σχετικής ευκολίας να διατεθούν και στις αναπτυσσόμενες χώρες.

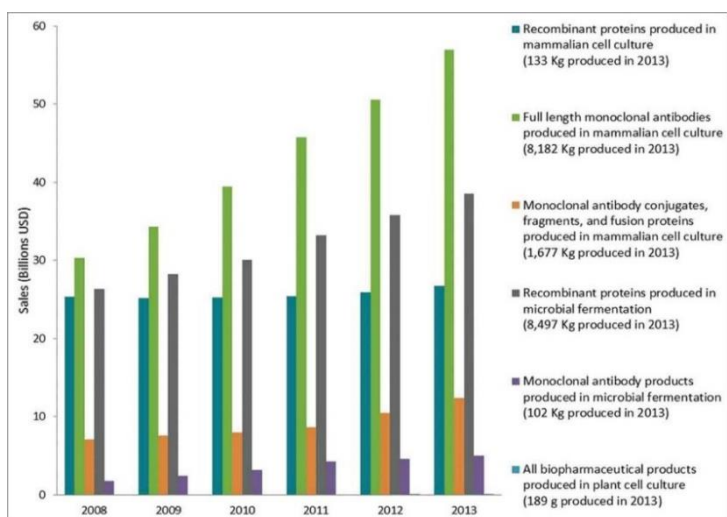
Σύμφωνα με τους σύγχρονους ρυθμούς της αγοράς κάθε χρόνο παράγονται περίπου 4 νέα μονοκλωνικά αντισώματα. Αυτή τη στιγμή με το συνολικό απόθεμα κυκλοφορούντων mAbs να κυμαίνεται περί τα 70 σε αριθμό, το ύψος των συνολικών συναλλαγών των εν λόγω προϊόντων αγγίζει τα 125 δισεκατομμύρια δολάρια.

Το 2013, οι πωλήσεις για το σύνολο των mAbs που διατίθεντο ήταν περίπου 75 δισεκατομμύρια δολάρια, δηλαδή σχεδόν το μισό του συνολικού κόστους όλων των βιοφαρμακευτικών προϊόντων. Μάλιστα, αν συλλογιστούμε το γεγονός ότι το 2008 το παραπάνω κόστος ήταν 39 δισεκατομμύρια δολάρια, παρατηρούμε μια ραγδαία αύξηση των δαπανών γύρω από τα mAbs της τάξεως του 90%,μ όταν οι πωλήσεις σε άλλα ανασυνδυασμένα θεραπευτικά πρωτεϊνικά προϊόντα αυξήθηκε μόνο 26% την αντίστοιχη χρονική περίοδο.

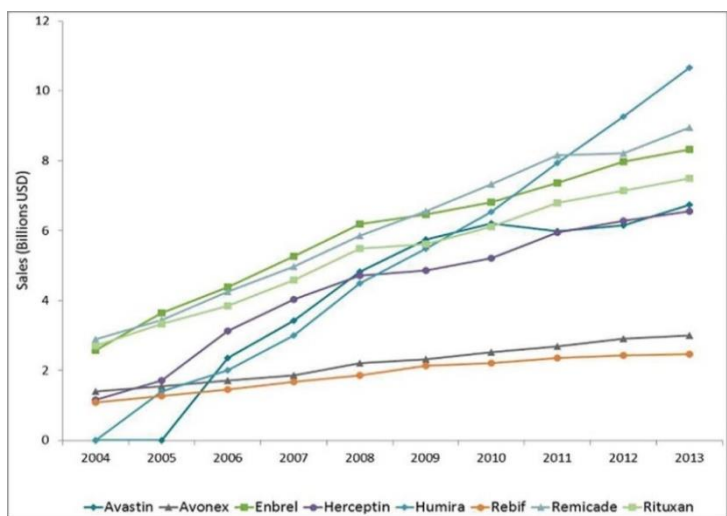
Τέλος, με τουλάχιστον 300 μονοκλωνικά αντισώματα να βρίσκονται υπό μελέτη και κλινική δοκιμή, σίγουρα θεωρείται και ακόμα εντονότερη αύξηση της χρηματιστηριακής αγοράς γύρω από αυτά τα προϊόντα, με τους ειδικούς να την υπολογίζουν γύρω στον 8% κατά τη διάρκεια κάθε επόμενης χρονιάς. [69]



Εικόνα I - Ετήσιες εγκρίσεις νέων μονοκλωνικών αντισωμάτων στην αγορά σε Ευρώπη και Αμερική - *The therapeutic monoclonal antibody market, Dawn M Ecker, Susan Dana Jones, Howard L Levine*



Εικόνα II - Πωλήσεις βιοφαρμακευτικών προϊόντων ανά κατηγορία - *The therapeutic monoclonal antibody market, Dawn M Ecker, Susan Dana Jones, Howard L Levine*



Εικόνα III - Ετήσιες πωλήσεις μονοκλωνικών αντισωμάτων - *The therapeutic monoclonal antibody market, Dawn M Ecker, Susan Dana Jones, Howard L Levine*

4. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. Σκοπός

Η χρήση mAbs είναι μια νέα και συνεχώς εξελισσόμενη στρατηγική για τη στόχευση συγκεκριμένων πληθυσμών ανοσοκυττάρων που προκαλούν αυτοάνοση παθολογία σε πολλές ασθένειες. Πολλά mAbs έχουν αποδειχθεί ότι είναι κλινικά ασφαλή και παρουσιάζουν διάφορους βαθμούς αποτελεσματικότητας στη ρύθμιση της αυτοανοσίας και πλέον αποτελούν μια πολύ καλή εναλλακτική θεραπεία για αυτοάνοσες καταστάσεις. Μεταξύ των αυτοάνοσων νοσημάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι και ο αυτοάνοσος διαβήτης τύπου 1.

Σε αυτό το πλαίσιο κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί και να αναλυθεί η αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης θεραπείας στον αυτοάνοσο διαβήτη. Το βασικό ερώτημα της εργασίας θα μπορούσε να έχει τη μορφή: 'Πόσο αποτελεσματική είναι η χρήση αντισωμάτων στη θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη τύπου 1;'. Πιο συγκεκριμένα προτείνεται η παρακάτω φόρμα PICO.

- P (population): Παιδιά και ενήλικες με διαβήτη τύπου 1
- I (intervention): Η χρήση αντισωμάτων
- C (comparator): Placebo
- (outcome): Μείωση ή επιδείνωση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη νόσο.

4.2. Μέθοδοι

Προκειμένου να επιτευχθούν οι απαιτήσεις της παρούσας ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν ως βασικές μηχανές αναζήτησης το PubMed, το Embase, το Clinical trials.gov και το Scopus χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες λέξεις-κλειδιά. Όσον αφορά την αναζήτηση στο PubMed δε βασίστηκε μόνο σε ελεύθερο κείμενο αλλά και στη χρήση της επικεφαλίδας όρων ιατρικών θεμάτων (MeSH). Η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε μεταξύ των μηνών Μάρτιος-Απρίλιος 2022 και οι λέξεις-κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν είναι μονοκλωνικά αντισώματα, αυτοάνοσος διαβήτης, διαβήτης τύπου 1, mAb και T1D, θεραπεία διαβήτη με αντισώματα. Λόγω του μεγάλου όγκου των δεδομένων που προέκυψαν κατά την αναζήτηση, χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα αναζήτησης ώστε στην παρούσα εργασία να χρησιμοποιηθούν μόνο μελέτες της τελευταίας εικοσαετίας και να αναλυθούν αυτές που αναφέρονται μόνο στον αυτοάνοσο διαβήτη τύπου 1. Επίσης, στα φίλτρα επιλέχθηκε να μη συμπεριληφθούν βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις και συστηματικές ανασκοπήσεις καθώς και μελέτες που δεν αφορούσαν τη θεραπεία με αντισώματα.

Ο πληθυσμός περιλάμβανε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με αντισώματα σε διαφορετικές χώρες σε παγκόσμιο επίπεδο. Επίσης, περιλάμβανε τόσο ενήλικα άτομα όσο και άτομα μικρότερης ηλικίας τα οποία εμφάνισαν πρώιμο διαβήτη τύπου 1. Σε καμία μελέτη δεν υπήρχε αναφορά για το φύλο των συμμετεχόντων ή την εθνικότητα, οπότε δεν έγιναν και συσχετίσεις με αυτές τις δύο παραμέτρους.

Χρησιμοποιήθηκαν ορισμένοι χειριστές Boolean σε μια προσπάθεια να δημιουργηθεί μια αποτελεσματική και προηγμένη συμβολοσειρά αναζήτησης. Οι συμβολοσειρές αναζήτησης που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

Συμβολοσειρά αναζήτησης θεραπεία αυτοάνοσου διαβήτη: (("αυτοάνοσος διαβήτης * θεραπεία * παιδιά" [Οροι MeSh]) 'H " αυτοάνοσος διαβήτης * θεραπεία * ενήλικες") [70]

Συμβολοσειρά αναζήτησης με αντισώματα: "αντισώματα 'H "mAbs"» [71]

Φίλτρο που χρησιμοποιείται για τη μεγιστοποίηση της ευαισθησίας και της ακρίβειας:

- # 1 τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή [pt]
- # 2 διπλά ελεγχόμενη κλινική δοκιμή [pt]
- # 3 τυχαιοποιημένο [tiab]
- # 4 εικονικό φάρμακο [tiab]
- # 5 κλινικές δοκιμές ως θέμα [mesh: noexp]
- # 6 τυχαία [tiab]
- # 7 δοκιμή [ti]
- # 8 # 1 'H # 2 'H # 3 'H # 4 'H # 5 'H # 6 'H # 7
- # 9 άνθρωποι [mh] 'H ζώα [mh]
- # 10 # 8 # 9 [3]

Πλήρης συμβολοσειρά αναζήτησης: [70] και [71] και [72]

4.2.1. Κριτήρια ένταξης

Τα κριτήρια ένταξης των μελετών που συμπεριελήφθησαν στην παρούσα εργασία δίνονται παρακάτω:

- P (population): παιδιά και ενήλικες
 - με το ηλικιακό εύρος των παιδιών να κυμαίνεται από 6 ετών και άνω, ενώ για τους ενήλικες δεν υπήρξε συγκεκριμένο όριο,
 - με διαγνωσμένο αυτοάνοσο διαβήτη τύπου 1 με κάποιο εγκεκριμένο κριτήριο βαθμολόγησης ή με πιθανότητα εμφάνισης αυτοάνοσου διαβήτη τύπου 1 στους οποίους έχει χρησιμοποιηθεί η θεραπεία με αντισώματα.
- I (intervention): μελέτες που χρησιμοποιούν σαν παρέμβαση
 - τα αντισώματα ως θεραπεία δεύτερης γραμμής,
 - η συγκέντρωση των αντισωμάτων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα διεθνή πρότυπα
 - η συμμετοχή ασθενών που εμφάνιζαν και άλλες συννόσους ασθένειες όπως για παράδειγμα καρκίνο
- C (comparator): μελέτες που χρησιμοποιούν μόνο τα αντισώματα ως θεραπεία
- O (outcome): τα αποτελέσματα αφορούν
 - μείωση ή επιδείνωση των συμπτωμάτων
 - μείωση ή σταθεροποίηση της βαθμολογίας SCORAD
 - αξιολόγηση του πεπτιδίου C και της ινσουλίνης

4.2.2. Κριτήρια αποκλεισμού

Τα κριτήρια αποκλεισμού των μελετών δίνονται παρακάτω:

- μελέτες που δεν πληρούσαν τις ηθικές πτυχές
- μελέτες που δεν αξιολογούσαν την αποτελεσματικότητα των αντισωμάτων στον αυτοάνοσο διαβήτη αλλά έδιναν βαρύτητα στις συννοσηρές καταστάσεις ή στον μηχανισμό ενεργοποίησης ή απόκρισης.

Παρακάτω δίνεται το διάγραμμα ροής σύμφωνα με το Prisma Flow Diagram.

Τα δεδομένα που εξήχθησαν από τις επιλέξιμες μελέτες περιλάμβαναν πληροφορίες για τα βασικά χαρακτηριστικά της μελέτης, όπως για παράδειγμα ο αριθμός συμμετεχόντων, το έτος διεξαγωγής της μελέτης, καθώς επίσης και τις εκβάσεις που μας ενδιέφεραν. Στην περίπτωση που υπήρχαν πολλαπλές αναφορές από την ίδια μελέτη συνενώθηκαν. Στις μελέτες τα σημαντικότερα σημεία ήταν η μεταβολή του πεπτιδίου C και τα επίπεδα ινσουλίνης. Επίσης, σημαντική ήταν η επίδραση της δόσης του εκάστοτε αντισώματος στην έκβαση της νόσου.

Για την αξιολόγηση της ποιότητας των κλινικών δοκίμων που συμπεριλήφθηκαν στη παρούσα μετα-ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν το αναθεωρημένο εργαλείο αξιολόγησης συστηματικού σφάλματος RoB 2.0 της Cochrane Collaboration και το εργαλείο GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation). Το πρώτο εργαλείο χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του κινδύνου συστηματικού σφάλματος και το δεύτερο για την εκτίμηση της εμπιστοσύνης

4.3. Αποτελέσματα

Από την αναζήτηση προέκυψαν 19 μελέτες οι οποίες πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού. Συνολικά συμμετείχαν 1.621 ασθενείς οι οποίοι είχαν διαγνωσθεί με αυτοάνοσο διαβήτη και υποβλήθηκαν σε θεραπεία είτε με αντι-CD3 είτε με CD20 είτε με άλλου είδους αντισώματα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία άλλων ασθενειών. Παρακάτω τα αποτελέσματα κατηγοριοποιούνται ανάλογα.

4.3.1. Αντισώματα που στοχεύουν T - κύτταρα και B – κύτταρα

Τα T-κύτταρα έχουν αποδειχθεί ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του αυτοάνοσου διαβήτη με αυτοαντιδραστικά T-ενεργά κύτταρα (Teffs) που επιφέρουν την καταστροφή των κυττάρων των νησιδίων και κατασταλτικά ρυθμιστικά κύτταρα T (Tregs) βελτιώνοντας την αυτοανοσία. Ως εκ τούτου, τα T-κύτταρα έχουν απασχολήσει διάφορες μελέτες ανοσολογικών παρεμβάσεων με στόχο την πρόληψη ή την καθυστέρηση της ανοσοδιαμεσολαβούμενης καταστροφής των β-κυττάρων. Η CD3, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, δρα ως συν-υποδοχέας για τον υποδοχέα των T-κυττάρων (TCR) και εμπλέκεται στην ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των παρελθοντικών T-κυττάρων σε παθογόνα Teff. Αν και δεν είναι σαφώς κατανοητά, τα μονοκλωνικά αντισώματα κατά της CD3 εμποδίζουν την ενεργοποίηση και προάγουν την εξάντληση των T-κυττάρων, με τα Teff να είναι πιο ευαίσθητα στις επιδράσεις των αντισωμάτων αντι-CD3 σε σύγκριση με το κύτταρα Tregs [73].

Μεταξύ των αντισωμάτων που έχουν αναφερθεί είναι η οτελιξιζουμάμπη και η τεπλιζουμάμπη. Η τεπλιζουμάμπη είναι ένα πειραματικό μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του CD3 που προορίζεται να καθυστερήσει την κλινική διάγνωση του T1D σε άτομα σε κίνδυνο. Τελικά, τον Ιούλιο, η FDA εξέδωσε μια Πλήρη Επιστολή Απάντησης (CRL) στο Provention Bio και δήλωσε ότι η εταιρεία απέτυχε να δείξει συγκρισιμότητα φαρμακοκινητικής (PK) στις κλινικές δοκιμές [74]. Η οτελεξιζουμάμπη είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που συνδέεται με έναν υποδοχέα που βρίσκεται σε όλα τα T κύτταρα που ονομάζονται CD3, ο οποίος εμπλέκεται στη σηματοδότηση των φυσιολογικών T κυττάρων. Η οτελιξιζουμάμπη πιστεύεται ότι αναστέλλει τη λειτουργία των αυτοαντιδραστικών T κυττάρων, τα οποία είναι σημαντικά για τη διάδοση αυτοάνοσων ασθενειών, ενώ διεγείρει ρυθμιστικές οδούς T κυττάρων που προάγουν

την ανοσολογική ανοχή και αναστέλλουν τη δραστηριότητα της αυτοαντιδραστικής νόσου. Η Tolerx αναπτύσσει το αντίσωμα αυτό για τη θεραπεία ασθενών με διαβήτη τύπου 1, ψωρίαση και άλλες αυτοάνοσες ασθένειες όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα (<https://go.drugbank.com/drugs/DB05496>).

4.3.1.1. Οτελιξιζουμάμπη

Η οτελιξιζουμάμπη έχει εκτενώς μελετηθεί για τη δράση της στη θεραπεία ωστόσο δεν έχουν μελετηθεί σε βάθος οι δόσεις που πρέπει να χορηγηθούν. Μια τυχαίοποιημένη, μονο-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο διάρκειας 24 μηνών μελέτη από τους Keymeulen A. Et al. [75] έδειξε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ δόσης και ανεπιθύμητων δράσεων και ότι η συχνότητα και η σοβαρότητα των ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν δόσοεξαρτώμενες. Σε αυτήν την μελέτη, που διεξήχθη σε πέντε κέντρα στο Βέλγιο μέσω του Βελγικού Μητρώου Διαβήτη, οι συμμετέχοντες (16-27 ετών, <32 ημέρες από τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 1) προγραμματίστηκαν να λάβουν εικονικό φάρμακο ή οτελιξιζουμάμπη σε μία από τις τέσσερις κοόρτες δόσεων δόση 9, 18, 27 ή 36 mg σε 6 ημέρες. Κατά τη διάρκεια διεξαγωγής η δόση σταμάτησε σε 27 mg καθώς πληρούνταν τα προκαθορισμένα κριτήρια διακοπής της επανενεργοποίησης του EBV. [76]

Όλοι οι συμμετέχοντες που έλαβαν οτεξαλιζουμάμπη παρουσίασαν τουλάχιστον μία ανεπιθύμητη ενέργεια που σχετίζεται με το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκίνης κατά τη διάρκεια της περιόδου χορήγησης. Επίσης, η επανενεργοποίηση του EBV (otelixizumab 9 mg, n = 2/9; 18 mg, n = 4/8; 27 mg, n = 5/7) και οι κλινικές εκδηλώσεις (otelixizumab 9 mg, n = 0/9, n = 0/9, 18 mg 1/8, 27 mg, n = 3/7) ήταν ταχείες, δόσοεξαρτώμενες και παροδικές, ενώ παράλληλα συσχετίστηκαν με αυξημένη παραγωγική κλωνικότητα των T κυττάρων που μειώθηκε με την πάροδο του χρόνου. Τέλος, η τιμή του πεπτιδίου C μετά από 9 mg οτελιξιζουμάμπης ήταν πάνω από την αρχική τιμή για έως και 18 μήνες και δεν παρατηρήθηκε διατήρηση της λειτουργίας των βήτα κυττάρων σε οτελιξιζουμάμπη 18 και 27 mg [75].

Οι Aronso et al., (2014) διεξήγαγαν τη δοκιμή DEFEND-1 (Durable Response Therapy Evaluation for Early or New-Onset Type 1 Diabetes), με σκοπό την αξιολόγηση θεραπείας ανθεκτικής απόκρισης για διαβήτη τύπου 1 (πρώιμης ή νέας έναρξης), η οποία σχεδιάστηκε για να ελέγξει εάν μια χαμηλότερη δόση οτελιξιζουμάμπης θα μπορούσε να διατηρήσει την έκκριση του πεπτιδίου C σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 με άρχουσα εμφάνιση. Διεξήγαγαν μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή, η οποία πραγματοποιήθηκε σε ΗΠΑ, Καναδά και Ευρώπη. Στην μελέτη τους συμμετείχαν 281 ασθενείς και υποβλήθηκαν σε θεραπεία με 3,1 mg οτελιξιζουμάμπης, η οποία χορηγήθηκε σε 8 ημέρες ή εικονικό φάρμακο. Το πρωταρχικό τελικό σημείο της μελέτης ήταν η αλλαγή στην περιοχή του πεπτιδίου C κάτω από την καμπύλη (AUC) από ένα τεστ ανοχής 2 ωρών σε μικτά γεύματα τον 12ο μήνα. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι η οτελιξιζουμάμπη ήταν καλά ανεκτή σε ασθενείς με πρόσφατη εμφάνιση διαβήτη τύπου 1 σε συνολική δόση 3,1 mg, αλλά δεν επιτεύχθηκε διατήρηση των επιπέδων του C-πεπτιδίου ή άλλων δεικτών μεταβολικού ελέγχου [71].

Σε συνέχεια της προηγούμενης μελέτης οι Amberly et al., (2014) στη φάση III DEFEND-2 διερεύνησαν εάν η οτελιξιζουμάμπη (3,1 mg σε 8 ημέρες) διατήρησε την έκκριση πεπτιδίου C σε ασθενείς με νεοεμφανιζόμενο διαβήτη Τύπου 1, εστιάζοντας σε εφήβους (12-17 ετών). Στην κλινική δοκιμή συμμετείχαν 179 ασθενείς (54 έφηβοι) τυχαιοποιήθηκαν σε οτελιξιζουμάμπη ή εικονικό φάρμακο. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν η αλλαγή στην περιοχή του πεπτιδίου C που διεγείρεται από μικτό γεύμα 2 ωρών κάτω από την καμπύλη τον μήνα 12. Η εγγραφή ανεστάλη τον Απρίλιο του 2011 μετά από αρνητικά αποτελέσματα αποτελεσματικότητας από το DEFEND-1. Το DEFEND-2 τερματίστηκε νωρίς μετά από 12 μήνες παρακολούθησης της

αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας και φάνηκε ότι η αλλαγή από το αρχικό πεπτιδίο C δεν ήταν σημαντικά διαφορετική και αναφέρθηκαν περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες [70].

Μια κλινική δοκιμή Φάσης I/IIa διεξήχθη με σκοπό τον προσδιορισμό της ασφάλειας και της ανεκτικότητας δοσολογικού σχήματος της ενδοφλεβίως χορηγούμενης οτελιξιζουμάμπης. Επιπλέον, διερευνήθηκαν η μείωση του πεπτιδίου C σε ασθενείς με νέα εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (NOT1DM) και οι πιθανοί ανοσολογικοί μηχανισμοί με σκοπό τον εντοπισμό τάσεων και πρώιμων ανοσολογικών βιοδεικτών που θα μπορούσαν να προβλέψουν την απόκριση στην ανάσχεση/επιβράδυνση της καταστροφής των βήτα κυττάρων σε αυτό πληθυσμό ασθενών. Χρησιμοποίησαν τη δόση των 3,1 mg και μιας αθροιστικής δόση 48 mg στην οποία αποδείχθηκε αποτελεσματικότητα με βάση την ανάλυση του πεπτιδίου C. Οι 30 ασθενείς που συμμετείχαν τυχαιοποιήθηκαν σε μάρτυρες ή λαμβάνοντες ενεργό θεραπεία με οτελιξιζουμάμπη (1:4), που χορηγήθηκε μέσω έγχυσης για 6 ημέρες, σε μια μελέτη αύξουσας δόσης που αποτελείται από τρεις κοόρτες (n = 10 ανά κοόρτη) σε δόσεις των 9, 18 ή 27 mg αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η εμπλοκή του στόχου CD3ε βρέθηκε ότι ήταν ταχεία (μέσα στα πρώτα 30 λεπτά), οδηγώντας σε κατάληψη υποδοχέα ~ 60% εντός 6 ωρών από τη χορήγηση και στις τρεις δόσεις. Παρατηρήθηκε μια σχέση δόσης-απόκρισης με τις δύο υψηλότερες δόσεις να επιτυγχάνουν εμπλοκή στόχου ~ 90% και επακόλουθη υποδιαμόρφωση CD3ε/TCR έως την Ημέρα 6. Συγκεκριμένα η μέγιστη δέσμευση στόχου και η τροποποίηση CD3ε/TCR επιτυγχάνεται σε δόσεις των 18 και 27 mg οτελιξιζουμάμπης. Αυτά τα ευρήματα μπορεί να είναι χρήσιμα στην καθοδήγηση της επιλογής δόσης σε κλινικές δοκιμές με mAbs αντι-CD3ε [77].

4.3.1.2. Τεπλιζουμάμπη

Οι Herold et al., (2013) στην μελέτη που διεξήγαγαν είχαν ως στόχο να προσδιορίσουν εάν δύο σειρές τεπλιζουμάμπης, μειώνουν τα επίπεδα πτώσης του C-πεπτιδίου σε ασθενείς με T1D 2 χρόνια μετά την έναρξη της νόσου. Επίσης προσπάθησαν να προσδιορίσουν τα χαρακτηριστικά των ανταποκρινόμενων. Στη μελέτη συμμετείχαν 52 άτομα με T1D νέας εμφάνισης με τεπλιζουμάμπη για 2 εβδομάδες κατά τη διάγνωση και μετά από 1 χρόνο σε μια ανοιχτή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή. Στην πρόθεση θεραπείας της ανάλυσης του πρωτεύοντος τελικού σημείου, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τεπλιζουμάμπη είχαν μικρότερη μείωση των επιπέδων C-πεπτιδίου στα 2 χρόνια (μέση τιμή -0,28 nmol/L) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (μέση τιμή - 0,46 nmol/L) και βελτίωση 75%. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν εξάνθημα, παροδικές λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού, πονοκέφαλος και ναυτία. Επίσης, σε μια ανάλυση που πραγματοποίησαν αργότερα χαρακτήρισαν τους κλινικούς ανταποκρινόμενους δείκτες και διαπίστωσαν ότι τα μεταβολικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά που διέκριναν ήταν διαφορετικά μεταξύ αυτών που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία και αυτών που δεν ανταποκρίθηκαν, σημειώνοντας έτσι τη χρησιμότητα της θεραπείας [78].

Οι ίδιοι ερευνητές προχώρησαν και σε μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη για να ελεγχθεί εάν ένας μόνο κύκλος θεραπείας με το μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD3, hOKT3gamma1 (Ala-Ala), τεπλιζουμάμπη θα αποτρέψει την απώλεια της ικανότητας έκκρισης ινσουλίνης σε άτομα με διαβήτη τύπου 1 για 4 - 12 μήνες από τη διάγνωση. Ο σχεδιασμός της μελέτης είναι μια διπλή τυφλή ελεγχόμενη δοκιμή εικονικού φαρμάκου που θα εγγράψει άτομα ηλικίας μεταξύ 8 - 30 ετών που είχαν τη διάγνωση διαβήτη τύπου 1, 4 - 12 μήνες πριν από την εγγραφή. Είχε

προγραμματιστεί να δοθεί ένας μόνο κύκλος θεραπείας 14 ημερών με mAb hOKT3gamma1 (Ala-Ala), Teplizumab. Το κύριο τελικό σημείο είναι η απόκριση του πεπτιδίου C σε ένα μεικτό γεύμα στους 12 μήνες. Συνολικά εγγράφηκαν 60 άτομα σε 4 τοποθεσίες μελέτης: το Πανεπιστήμιο Yale, το Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια στο Σαν Φρανσίσκο, το Νοσοκομείο Παίδων της Φιλαδέλφειας και το Κέντρο Διαβήτη Barbara Davis. Η πορεία της τεπλιζουμάμπης περιλάμβανε ημερήσιες δόσεις των 51 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, 103 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, 207 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, 413 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ και 10 των 826 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ σε περίοδο θεραπείας 14 ημερών. Γενικά, το φάρμακο ήταν καλά ανεκτό χωρίς να εμφανιστούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Ένας μόνο κύκλος θεραπείας, εντός των πρώτων 6 εβδομάδων μετά τη διάγνωση, διατήρησε τις αποκρίσεις του πεπτιδίου C σε ένα μεικτό γεύμα για 1 χρόνο μετά τη διάγνωση (97 +/- 9,6% της ανταπόκρισης κατά την έναρξη της μελέτης σε ασθενείς που έλαβαν φαρμακευτική αγωγή έναντι 53 +/- 7,6% σε άτομα ελέγχου), με σημαντική βελτίωση στις αποκρίσεις του πεπτιδίου C σε ένα μεικτό γεύμα ακόμη και 2 χρόνια μετά τη θεραπεία. Οι βελτιωμένες αποκρίσεις του πεπτιδίου C συνοδεύτηκαν από μειωμένες απαιτήσεις χορήγησης εξωγενούς ινσουλίνης και μείωση των επιπέδων της HbA(1c). Οι κλινικές αποκρίσεις στη θεραπεία με φάρμακα προβλέφθηκαν από μια αύξηση στον σχετικό αριθμό των CD8(+) T-κυττάρων στο περιφερικό αίμα μετά την ανάκτηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων 2 εβδομάδες μετά την τελευταία δόση του φαρμάκου [79].

Μεταξύ των μελετών που συμπεριλήφθηκαν είναι και μια διπλή, τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη η οποία διεξήχθη σε συγγενείς ατόμων T1D οι οποίοι δεν είχαν διαβήτη αλλά διέτρεχαν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης κλινικής νόσου. Οι ασθενείς (76 άτομα) κατανεμήθηκαν τυχαία σε ένα μόνο κύκλο 14 ημερών με τεπλιζουμάμπη ή εικονικό φάρμακο και η παρακολούθηση για εξέλιξη σε κλινικό διαβήτη τύπου 1

πραγματοποιήθηκε με τη χρήση από του στόματος δοκιμασιών ανοχής γλυκόζης σε διαστήματα 6 μηνών. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι η τεπλιζουμάμπη καθυστέρησε την εξέλιξη σε κλινικό διαβήτη τύπου 1 σε συμμετέχοντες υψηλού κινδύνου. Ο διάμεσος χρόνος για τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 1 ήταν 48,4 μήνες στην ομάδα που χορηγήθηκε το φάρμακο και 24,4 μήνες στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Επίσης, η νόσος διαγνώστηκε σε 19 (43%) από τους συμμετέχοντες που έλαβαν τεπλιζουμάμπη και σε 23 (72%) από αυτούς που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Η αναλογία κινδύνου για τη διάγνωση του διαβήτη τύπου 1 (τεπλιζουμάμπη έναντι εικονικού φαρμάκου) ήταν 0,41. Τέλος, οι ανεπιθύμητες ενέργειες δεν ήταν σοβαρές και περιλάμβαναν εξανθήματα και παροδική λεμφοπενία [80].

Οι Sims et al. (2021) προχώρησαν την ανάλυση των προηγούμενων ερευνητών μέσω παρακολούθησης αυτής της δοκιμής κατά 12 μήνες. Από την μελέτη τους διαπίστωσαν ότι η αποτελεσματικότητα του αρχικού κύκλου θεραπείας 2 εβδομάδων παρέμεινε, με παρατεταμένο χρόνο έως τη διάγνωση του T1D στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με τεπλιζουμάμπη. Τα κλινικά οφέλη σχετίζονται με την αντίστροφη μείωση του πεπτιδίου C βελτίωσαν τη λειτουργία των βήτα κυττάρων και τη μερική εξάντληση στα CD8+ T κύτταρα στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία. Η HbA1c δε διέφερε μεταξύ των ομάδων εικονικού φαρμάκου και θεραπείας. Αυτή η μελέτη παρακολούθησης υποστηρίζει περαιτέρω τη χρήση αντι-CD3 θεραπείας για την πρόληψη του T1D [81].

Το ίδιο έτος από τους Hagopian et al., (2013) παρουσιάστηκε μια φάσης 3, τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, παράλληλη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο 2ετής μελέτη. Χρησιμοποίησαν 3 ενδοφλέβια δοσολογικά σχήματα τεπλιζουμάμπης που χορηγούνταν καθημερινά για 14 ημέρες στην έναρξη και ξανά μετά από 26 εβδομάδες, σε διαβήτη τύπου 1 με άρχουσα εμφάνιση. Όμοια με τους Herold et al., (2013) ήθελαν

να προσδιορίσουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της ανοσοθεραπείας στα 2 χρόνια και να εντοπίσουν χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη θεραπευτική ανταπόκριση. Στη μελέτη συμμετείχαν 516 τυχαίοποιημένοι ασθενείς, εκ των οποίων οι 513 έλαβαν θεραπεία και οι 462 συμπλήρωσαν 2 χρόνια παρακολούθησης. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι η πλήρης δόση μείωσε την απώλεια της μέσης περιοχής του πεπτιδίου C κάτω από την καμπύλη (AUC), στα 2 χρόνια έναντι του εικονικού φαρμάκου. Επίσης, οι ανάγκες σε εξωγενή ινσουλίνη έτειναν να μειώνονται σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Σε ορισμένους ασθενείς αναπτύχθηκαν αντισώματα κατά των φαρμάκων, χωρίς εμφανή αλλαγή στην αποτελεσματικότητα του φαρμάκου ωστόσο δεν παρατηρήθηκαν άλλες ανεπιθύμητες δράσεις [82].

Η δοκιμή Autoimmunity-Blocking Antibody for Tolerance (AbATE) έδειξε ότι δύο σειρές τεπλιζουμάμπης μείωσαν τη ποσότητα του πεπτιδίου C 2 χρόνια μετά την έναρξη της νόσου συνολικά στους θεραπευόμενους με φάρμακο έναντι του ελέγχου. Εκτός από τις επιδράσεις στο C-πεπτίδιο, υπήρξε βελτίωση στα επίπεδα HbA1c και ιελάπτωση των αναγκών σε εξωγενή ινσουλίνη στην ομάδα που έλαβε φάρμακο. Μια post hoc ανάλυση των συμμετεχόντων στη μελέτη έδειξε ότι οι απαντήσεις ήταν διχοτομικές. Το 45% των ατόμων που έλαβαν φαρμακευτική αγωγή εμφάνισαν πολύ ισχυρή ανταπόκριση και έχασαν λιγότερο από το 10% της αρχικής ανταπόκρισής τους στο C-πεπτίδιο, ενώ το 55% έδειξε αλλαγές στο C-πεπτίδιο που δεν διακρίνονταν από τους συμμετέχοντες ελέγχου που δεν έλαβαν θεραπεία [83] [84].

Μια μελέτη φάσης 3, τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, πολυκεντρική μελέτη διεξάγεται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της τεπλιζουμάμπης σε παιδιά και εφήβους ηλικίας 8 έως 17 ετών που

διαγνώστηκαν πρόσφατα με διαβήτη τύπου 1 (εντός 6 εβδομάδων από τη διάγνωση). Είναι η πρώτη μελέτη που αφορά αποκλειστικά αυτή την ηλικιακή ομάδα. Περίπου 300 συμμετέχοντες τυχαιοποιήθηκαν σε αναλογία 2:1. Η τεπλιζουμάμπη ή το αντίστοιχο εικονικό φάρμακο χορηγήθηκαν σε δύο κύκλους με διαφορά 6 μηνών. Κάθε κύκλος θεραπείας περιλάμβανε καθημερινές εγχύσεις για 12 ημέρες με συνολική διάρκεια για κάθε συμμετέχοντα τις 86 εβδομάδες. Η μελέτη είναι ανοιχτή μέχρι το 2023 και ο πρωταρχικός στόχος της είναι να προσδιοριστεί εάν δύο κύκλοι τεπλιζουμάμπης που χορηγούνται με διαφορά 6 μηνών επιβραδύνουν την απώλεια των β κυττάρων και διατηρούν τη λειτουργία των β κυττάρων για 18 μήνες (78 εβδομάδες) σε παιδιά και εφήβους 8-17 ετών που έχουν διαγνωστεί με T1D (Clinical Trials).

Εκτός από την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών σχημάτων με τα αντισώματα, έχουν κατά καιρούς διεξαχθεί και μελέτες που αφορούν τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην απόκριση στη θεραπεία. Οι Long et al., (2016) χρησιμοποίησαν ολοκληρωμένες προσεγγίσεις βιολογίας των συστημάτων και κυτταρομετρίας ροής με δείγματα αίματος κλινικών δοκιμών για να διεκρινίσουν τις οδούς που σχετίζονται με τη σταθεροποίηση του πεπτιδίου C σε άτομα T1D που έλαβαν θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD3 τεπλιζουμάμπη. Εντόπισαν έναν πληθυσμό CD8 T κυττάρων που συσσωρεύτηκαν σε άτομα με την καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία (ανταποκρίθηκαν) και έδειξαν ότι αυτά τα κύτταρα φαινοτυπικά έμοιαζαν με εξαντλημένα T κύτταρα εκφράζοντας υψηλά επίπεδα του μεταγραφικού παράγοντα EOMES, μορίων τελεστών και πολλαπλών ανασταλτικών υποδοχέων (IRs), συμπεριλαμβανομένων των TIGIT και KLRG1. Αυτά τα κύτταρα επεκτάθηκαν μετά τη θεραπεία, με τα επίπεδα να κορυφώνονται μετά από 3-6 μήνες. Για να χαρακτηρίσουμε λειτουργικά αυτά τα εξαντλημένα T κύτταρα, απομονώσαμε T κύτταρα μνήμης CD8

TIGIT+KLRG1+ από ανταποκριτές και δείξαμε ότι εμφάνιζαν εκτεταμένους κλωνότυπους TCR, ενδεικτικά της προηγούμενης in vivo επέκτασης. Αναγνώρισε ένα ευρύ φάσμα που εκφράζεται από περιβαλλοντικά και αυτοαντιγόνα και ήταν υποπολλαπλασιαστικοί κατά τη διάρκεια της πολυκλωνικής διέγερσης, αυξάνοντας την έκφραση των γονιδίων IR και μειώνοντας τα γονίδια του κυτταρικού κύκλου. Η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων με έναν ανασυνδυασμένο συνδέτη για το TIGIT κατά τη διάρκεια της πολυκλωνικής διέγερσης μείωσε περαιτέρω την ενεργοποίησή τους, δείχνοντας ότι ο εξαντλημένος φαινότυπος τους δεν ήταν τερματικός. Αυτά τα ευρήματα εντοπίζονται και χαρακτηρίζουν λειτουργικά έναν μερικώς εξαντλημένο κυτταρικό τύπο που σχετίζεται με την ανταπόκριση στη θεραπεία με τεπλιζουμάμπη και υποδηλώνουν ότι οι οδοί που ρυθμίζουν την εξάντληση των T κυττάρων μπορεί να διαδραματίσουν ρόλο σε επιτυχημένες ανοσολογικές παρεμβάσεις για τον ΣΔτ1 [85].

Για να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με αντι-CD3, έχει προταθεί μια στρατηγική συνδυασμού με αντιγόνα νησιδίων για την αποτελεσματικότερη αποκατάσταση της αυτοανοχής στα αντιγόνα των νησιδίων. Οι Bresson, et al (2006) ανέφεραν ότι η θεραπεία συνδυασμού αντι-CD3 και ρινικής προΐνσουλίνης ενισχύει την ύφεση από τον πρόσφατο αυτοάνοσο διαβήτη σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με αντι-CD3 ή αντιγόνο μόνο. Περαιτέρω μελέτες κατέδειξαν την επέκταση των CD25+Foxp3+ και των ειδικών για το αντιγόνο ινσουλίνης ρυθμιστικών T κυττάρων που παράγουν IL-10, TGF-β και IL-4. Η ίδια ομάδα χρησιμοποίησε ένα μαθηματικό μοντέλο ασθένειας και αποκάλυψε ότι τα προϋπάρχοντα αυτοαντισώματα προβλέπουν την αποτελεσματικότητα της από του στόματος ινσουλίνης σε συνδυασμό με αντισώματα αντι-CD3 για τη θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι τα ποντίκια NOD με υψηλότερα επίπεδα προ θεραπείας αντιγόνων που

σχετίζονται με την ινσουλίνη ορού ανταποκρίθηκαν με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα στη συνδυαστική θεραπεία αλλά όχι στη μονοθεραπεία με αντι-CD3, υποδεικνύοντας ότι τα IAA μπορεί να είναι ένας καλός βιοδείκτης για την πρόβλεψη καλύτερης ικανότητας του ποντικών στην επαγωγή ειδικών για την ινσουλίνη ρυθμιστικών T κυττάρων μετά από στοματική ανοσοποίηση ινσουλίνης [86].

Εκτός από τα T κύτταρα, και τα B-κύτταρα είναι κρίσιμα για την παθογένεση του ΣΔτ1 και ανιχνεύονται σταθερά εντός της διήθησης των παγκρεατικών νησίδων. Σε αυτό το πλαίσιο έχουν κατασκευαστεί μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των β-κυττάρων, με το 50% των μελετών να έχουν διεξαχθεί σε NOD ποντίκια. Από τους Chen et al., (2022) φάνηκε ότι η θεραπεία με αντι-CD20 μπορεί να έχει κάποια ευεργετικά αποτελέσματα που βελτιώνουν τη λειτουργία των β κυττάρων ανακουφίζοντας τη φλεγμονή των νησιδίων μέσω της ρύθμισης των κυττάρων Th17/Treg και της προφλεγμονώδους/αντιφλεγμονώδους ισορροπίας. Πιο συγκεκριμένα οι ερευνητές χρησιμοποίησαν δύο ομάδες διαβητικών ποντικών και εξέτασαν την παρουσία φλεγμονής και τη μορφολογία των νησιδίων και έδειξαν χαμηλή βαθμολογία φλεγμονής [87].

4.3.1.3 Alefacept

Το CD2 είναι ένα μόριο επιφανειακής προσκόλλησης που εκφράζεται από μια ποικιλία πληθυσμών κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των T κυττάρων, των κυττάρων NK και των DC, Σημειωτέων, τα επίπεδα CD2 αυξάνονται στο Tmem. Το Alefacept, μια πρωτεΐνη σύντηξης που αποτελείται από την περιοχή δέσμευσης CD2 του LFA3 συντηγμένη με την περιοχή Fc του ανθρώπινου IgG1 (IgG1Fc), έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της ψωρίασης. Η πρωτεΐνη σύντηξης δεσμεύεται κατά προτίμηση με το Tmem και προκαλεί απόπτωση που προκαλείται από τη σύνδεση IgG1Fc σε FcRγ που εκφράζεται από κύτταρα NK, γεγονός που τα καθιστά ικανά να τοποθετηθούν στην επόμενη κατηγορία, δηλαδή τα αντισώματα που στοχεύουν σε άλλες πρωτεΐνες ή κύτταρα. Αντίστοιχα, τα άτομα που έλαβαν θεραπεία με alefacept έχουν μειωμένα επίπεδα Tmem. Όσον αφορά την T1D, μια κλινική δοκιμή 12 και 24 μηνών με ασθενείς με πρόσφατη έναρξη έδειξε μειωμένη συχνότητα ενεργοποιημένων T κυττάρων και αυξημένη αναλογία Treg προς Tmem στο αίμα [88].

4.3.1.4 Σιπλιζουμάμπη

Ένα άλλο αντίσωμα που έχει αναπτυχθεί πρόσφατα είναι η σιπλιζουμάμπη. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να αντιπαραβάλει τις μηχανιστικές ιδιότητες της σιπλιζουμάμπη με την αλεμταζουμάμπη (anti-CD52 IgG1) και τη σφαιρίνη κατά των θυμοκυττάρων κουνελιού (rATG-polyclonal mixture of IgG antibodies). Μηχανιστικά συστήματα δοκιμασίας που διερευνούν την κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από αντίσωμα, την κυτταρική φαγοκυττάρωση που εξαρτάται από το αντίσωμα και την κυτταροτοξικότητα που εξαρτάται από το συμπλήρωμα χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό της σιπλιζουμάμπης. Περαιτέρω, οι λειτουργικές επιδράσεις των αντισωμάτων και του rATG διερευνήθηκαν σε αλλογενή μικτή αντίδραση λεμφοκυττάρων. Οι αλλαγές στην ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων, στον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων και στη συχνότητα των πρωτογενών T-λεμφοκυττάρων, των T-λεμφοκυττάρων μνήμης και των ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων που επάγονται από τα αντισώματα και το rATG σε αλλογενή αντίδραση μικτών λεμφοκυττάρων αξιολογήθηκαν μέσω κυτταρομετρίας ροής. Η σιπλιζουμάμπη εξάντλησε τα T κύτταρα, μείωσε την ενεργοποίηση των T κυττάρων, ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων και εμπλούτισε τα ρυθμιστικά T κύτταρα. Ούτε η αλεμτουζουμάμπη, ούτε το rATG, προκάλεσαν τον ίδιο συνδυασμό λειτουργικών επιδράσεων [72].

4.3.1.5 Ριτουξιμάμπη

Μια τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή κλινική μελέτη που δοκίμαζε την επίδραση της ριτουξιμάμπης στη νεοεμφανιζόμενη ΣΔτ1 διεξήχθη από την ομάδα μελέτης T1D TrialNet Anti-CD20. Τα αποτελέσματα δημοσιεύτηκαν στο New England Journal of Medicine 2009. Σε αυτήν την καλά σχεδιασμένη κλινική μελέτη, 87 ασθενείς ηλικίας 8 έως 40 ετών που είχαν πρόσφατα διαγνωσθεί T1D έλαβαν είτε εγχύσεις 375 mg/m² Rituximab (57 περιπτώσεις) είτε εικονικό φάρμακο (30 περιπτώσεις) τις ημέρες 1, 8, 15, 22. Το πρωτογενές αποτέλεσμα που αξιολογήθηκε 1 έτος μετά την πρώτη έγχυση, ήταν η μέση γεωμετρική περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) για το επίπεδο του πεπτιδίου C στον ορό κατά τη διάρκεια των πρώτων 2 ωρών μιας δοκιμής ανοχής σε μικτά γεύματα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 1 έτος μετά τη θεραπεία, η μέση AUC για το επίπεδο του πεπτιδίου C ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα του Rituximab από ότι στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και οι ανάγκες σε ινσουλίνη μειώθηκαν σημαντικά στην ομάδα του Rituximab σε σύγκριση με την ομάδα εικονικού φαρμάκου. Τα λεμφοκύτταρα B του περιφερικού αίματος εξαντλήθηκαν γρήγορα στην ομάδα Rituximab και ανακτήθηκαν αργά με τον καιρό. Στο τέλος της παρατήρησης ενός έτους, τα επίπεδα των B λεμφοκυττάρων αυξήθηκαν στο 69% της αρχικής τιμής. Σημειώνεται ότι ο ρυθμός απώλειας του C-πεπτιδίου δεν επιταχύνθηκε με την ανάκτηση των B κυττάρων μεταξύ 6 μηνών και 1 έτους. Οι ασθενείς στην ομάδα του Rituximab είχαν περισσότερες περιπτώσεις ανεπιθύμητων ενεργειών, εμφανίζοντας κυρίως βαθμού 1 ή βαθμού 2 μετά την πρώτη έγχυση. Οι αντιδράσεις φάνηκαν να είναι ελάχιστες με τις επόμενες εγχύσεις. Δεν αναφέρθηκε αυξημένη συχνότητα λοίμωξης ή ουδετεροπενίας με Rituximab. Σε αυτή τη μελέτη, οι συγγραφείς παρατήρησαν σημαντική μείωση της IgM του ορού αλλά όχι

της IgG, υποδηλώνοντας ότι το Rituximab μπορεί να εξαντλεί επιλεκτικά τους υποπληθυσμούς των B κυττάρων. Με βάση τα αποτελέσματα παρακολούθησης ενός έτους, η θεραπεία με αντι-CD20 είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη θεραπεία T1D. Πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω εάν χρειάζεται επανάληψη της θεραπείας με αντι-CD20 και εάν αυτή η θεραπεία οδηγεί σε μακροχρόνια προστασία (Clinical Trials).

4.3.2. Αντισώματα που στοχεύουν άλλες πρωτεΐνες ή κύτταρα

4.3.2.1 Γολιμουμάμπη

Η γολιμουμάμπη είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τον παράγοντα νέκρωσης όγκου α (TNFα) που έχει ήδη εγκριθεί για τη θεραπεία πολλών αυτοάνοσων καταστάσεων σε ενήλικες και παιδιά. Οι Quattrin et al., (2020) σε μια φάση 2, πολυκεντρική, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, διπλή-τυφλή, παράλληλη ομαδική δοκιμή, ανέθεσαν τυχαία, σε αναλογία 2:1, παιδιά και νεαρούς ενήλικες (ηλικιακό εύρος, 6 έως 21 ετών) με πρόσφατα διαγνωσμένη εμφανή διαβήτη τύπου 1 να λάβει υποδόρια γολιμουμάμπη ή εικονικό φάρμακο για 52 εβδομάδες. Συνολικά 84 συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε τυχαιοποίηση - 56 κατατάχθηκαν στην ομάδα γολιμουμάμπη και 28 στην ομάδα εικονικού φαρμάκου. Η μέση (\pm SD) AUC του πεπτιδίου C 4 ωρών την εβδομάδα 52 διέφερε σημαντικά μεταξύ της ομάδας γολιμουμάμπη και της ομάδας εικονικού φαρμάκου ($0,64\pm 0,42$ pmol ανά χιλιοστόλιτρο έναντι $0,43\pm 0,39$ pmol ανά χιλιοστόλιτρο). Μια προσέγγιση θεραπείας προς στόχο οδήγησε σε καλό γλυκαιμικό έλεγχο και στις δύο ομάδες και δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων στο επίπεδο γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Τέλος, η χρήση εξωγενούς ινσουλίνης ήταν χαμηλότερη με τη γολιμουμάμπη από ότι με το εικονικό φάρμακο [89].

4.3.2.2. Ιματινίμπη

Ο αναστολέας της κινάσης της τυροσίνης ιματινίμπη μπορεί να επηρεάσει σχετικές ανοσολογικές και μεταβολικές οδούς και οι προκλινικές μελέτες δείχνουν ότι αναστρέφει και προλαμβάνει τον διαβήτη. Στόχος των Gitelman et al. ήταν να αξιολογήσουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του αντισώματος στη διατήρηση της λειτουργίας των β-κυττάρων σε ασθενείς με πρόσφατη εμφάνιση διαβήτη τύπου 1. Διεξήγαγαν μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάση 2 δοκιμή. Ασθενείς με πρόσφατη εμφάνιση διαβήτη τύπου 1 (<100 ημέρες από τη διάγνωση), ηλικίας 18-45 ετών, θετικοί για τουλάχιστον έναν τύπο αυτοαντισώματος που σχετίζεται με τον διαβήτη και με κορυφαίο διεγερμένο C-πεπτιδίο μεγαλύτερο από 0,2 nmol L⁻¹ σε ένα τεστ ανοχής μεικτού γεύματος (MMTT) εγγράφηκαν από εννέα ιατρικά κέντρα στις ΗΠΑ (n=8) και την Αυστραλία (n=1). Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν τυχαία (2:1) για να λάβουν είτε 400 mg imatinib mesylate (4 × 100 mg επικαλυμμένα με λεπτό υμένιο δισκία την ημέρα) είτε ταιριαστό εικονικό φάρμακο για 26 εβδομάδες μέσω ενός προγράμματος αποκλεισμένης τυχαιοποίησης που δημιουργήθηκε από υπολογιστή, στρωματοποιημένο ανά κέντρο. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν η διαφορά στην περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) για την ανταπόκριση του C-πεπτιδίου στις πρώτες 2 ώρες ενός MMTT στους 12 μήνες στην ομάδα του φαρμάκου έναντι της ομάδας εικονικού φαρμάκου. Μετά τις αποσύρσεις, 43 συμμετέχοντες στην ομάδα του αντισώματος και 21 στην ομάδα εικονικού φαρμάκου συμπεριλήφθηκαν στην αρχική ανάλυση ITT στους 12 μήνες. Η μελέτη πέτυχε το κύριο καταληκτικό της σημείο: η προσαρμοσμένη μέση διαφορά στην AUC του πεπτιδίου C 2 ωρών στους 12 μήνες για τη θεραπεία ιματινίμπη έναντι εικονικού φαρμάκου ήταν 0,095 (90% CI -0,003 έως

0,191, $p=0,048$, δοκιμή μιας ουράς). Αυτό το αποτέλεσμα δεν διατηρήθηκε για 24 μήνες [90].

Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης 24 μηνών, 32 (71%) από τους 45 συμμετέχοντες που έλαβαν ιματινίμπη είχαν βαρύτητα 2ου βαθμού ή χειρότερη ανεπιθύμητη ενέργεια, σε σύγκριση με 13 (59%) από τους 22 συμμετέχοντες που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες (βαθμού 2 ή χειρότερα) που διέφεραν μεταξύ των ομάδων ήταν γαστρεντερικά προβλήματα κυρίως ναυτία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ένας κύκλος 26 εβδομάδων με ιματινίμπη διατήρησε τη λειτουργία των β -κυττάρων στους 12 μήνες σε ενήλικες με πρόσφατη εμφάνιση διαβήτη τύπου 1 [90].

4.3.2.3 Anti IL-7/RN 168

Εκτός από τα κύτταρα έχουν στοχευθεί και πρωτεΐνες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα. Η ιντερλευκίνη IL-7 είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη και λειτουργία των Τ κυττάρων, οπότε αποτελεί και ένα πιθανό φαρμακευτικό στόχο. Οι Herold et al., (2019) πραγματοποίησαν μια μελέτη Φάσης Ib σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 (T1D) για να αξιολογήσουν πώς ο αποκλεισμός της IL-7 θα επηρέαζε τα ανοσοκύτταρα και τις σχετικές κλινικές αποκρίσεις. Τριάντα επτά άτομα με T1D έλαβαν s.c. RN168, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει τον υποδοχέα IL-7 α (IL7Ra) σε μια μελέτη κλιμάκωσης της δόσης. Μεταξύ 90% και 100% κατάληψη IL-7R και σχεδόν πλήρης αναστολή του pSTAT5 παρατηρήθηκε σε δόσεις RN168 1 mg/kg κάθε δεύτερη εβδομάδα (Q2wk) και μεγαλύτερες. Υπήρξε σημαντική μείωση των CD4+ και CD8+ τελεστών και Τ-λεμφοκυττάρων κεντρικής μνήμης και CD4+ αδικοχαμένων κυττάρων, αλλά υπήρξαν λιγότερες επιδράσεις στα CD8+ αγενή Τ κύτταρα. Οι αναλογίες Tregs προς τελεστές CD4+ ή CD8+ και Τ κύτταρα κεντρικής μνήμης έναντι της βασικής γραμμής αυξήθηκαν. Η ανάλυση αλληλουχίας RNA έδειξε υποτροποποίηση των γονιδίων που σχετίζονται με την ενεργοποίηση, την επιβίωση και τη διαφοροποίηση των Τ κυττάρων. Η έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 μειώθηκε. Η πλειονότητα των ανεπιθύμητων ενεργειών που προέκυψαν από τη θεραπεία (TEAE) ήταν ήπιες και δεν σχετίζονταν με τη θεραπεία. Τέσσερα άτομα έγιναν αντι-EBV IgG+ μετά από RN168 και 2 είχαν συμπτώματα ενεργού μόλυνσης [91].

4.3.2.4 IL-2/Anti-IL-2

Στο πλαίσιο των κυτοκινών οι Izquierdo et al., (2018) επινόησαν μια συνδυαστική θεραπεία πεπτιδίων/τετραμερών MHC και συμπλεγμάτων μονοκλωνικών αντισωμάτων IL-2/anti-IL-2 για τη δημιουργία ειδικού για το αντιγόνο Treg και τη διατήρησή τους για εκτεταμένες χρονικές περιόδους. Ουσιαστικά είδαν ότι το αντιγόνο-ειδικό Treg είναι ένας σημαντικός στόχος για τη βελτίωση των τρεχουσών κλινικών παρεμβάσεων κατά αυτής της νόσου. Πρώτα βελτιστοποίησαν τα πρωτόκολλα θεραπείας που σχεδιάστηκαν για να λάβουν μια βελτιωμένη αναλογία T-κυττάρων Treg/Εδραστής για συγκεκριμένες νησίδες που οδήγησε στην *in vivo* επέκταση και ενεργοποίηση αυτών των Treg καθώς και σε μια βελτιωμένη κατασταλτική λειτουργία. Τα βελτιστοποιημένα πρωτόκολλα εφαρμόστηκαν στη θεραπεία για τον έλεγχο της πρόληψης του διαβήτη σε ποντικούς NOD καθώς και σε ένα μοντέλο επιταχυνόμενης μεταφοράς T κυττάρων του T1D. Η συνδυασμένη θεραπεία οδήγησε σε ισχυρή προστασία έναντι του διαβήτη, και στο μοντέλο NOD, σε σχεδόν πλήρη πρόληψη της ινσουλίτιδας. Η θεραπεία συνοδεύτηκε με αυξημένη έκκριση IL-10, ανιχνεύσιμη στα ολικά σπληνοκύτταρα και στα T κύτταρα Foxp3⁻ CD4 υποδηλώνοντας ότι λαμβάνει χώρα ένας μηχανισμός διπλής προστασίας με τη συνεργασία των ρυθμιστικών κυττάρων Foxp3⁺ και Foxp3⁻ [92].

4.3.2.5 Τεμελιμάμπη

Μεταξύ των πιθανών παραγόντων που σχετίζονται με την ΣΔτ1, έχει προταθεί ο ρόλος των ανθρώπινων ενδογενών ρετροϊών (HERV, human endogenous retroviruses). Ο HERV είναι μέρος κινητών γενετικών στοιχείων και αποτελείται από διαφορετικά γονίδια και προέρχεται από εξωγενείς αλληλουχίες ρετροϊών που έχουν ενσωματωθεί σε βλαστικά κύτταρα DNA και αντιπροσωπεύουν το ~8% του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μία μελέτη από τους Curtin et al., (2020) διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή στρατολόγησε ενήλικες ασθενείς με T1D εντός 4 ετών μετά τη διάγνωση και την υπολειπόμενη έκκριση πεπτιδίου C. Εξήντα τέσσερις ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν (2:1) σε μηνιαία δόση τεμελιμάμπης (anti-IgG4 mAb) 6 mg/kg ή εικονικό φάρμακο κατά τη διάρκεια 24 εβδομάδων, ακολουθούμενη από μια ανοιχτή παράταση 24 εβδομάδων, κατά την οποία όλοι οι ασθενείς έλαβαν τεμελιμάμπη. Ο πρωταρχικός στόχος ήταν η ασφάλεια και η ανεκτικότητα στη τεμελιμάμπη. Ο δευτερεύων στόχος ήταν η αξιολόγηση της φαρμακοδυναμικής απόκρισης όπως τα επίπεδα του πεπτιδίου C, η χρήση ινσουλίνης, η HbA1c, η υπογλυκαιμία και τα αυτοαντισώματα. Η τεμελιμάμπη ήταν καλά ανεκτή χωρίς καμία διαφορά ομάδας στη συχνότητα ή τη σοβαρότητα των ανεπιθύμητων ενεργειών. Όσον αφορά τα διερευνητικά τελικά σημεία, δεν υπήρχε διαφορά στα επίπεδα του πεπτιδίου C, της χρήσης ινσουλίνης ή της HbA1c μεταξύ των ομάδων θεραπείας τις εβδομάδες 24 και 48. Η συχνότητα των συμβάντων υπογλυκαιμίας μειώθηκε με τη χορήγηση τεμελιμάμπης την εβδομάδα 24. Τα αντισώματα κατά της ινσουλίνης ήταν χαμηλότερα μετά από χορήγηση τεμελιμάμπης ενώ τα άλλα αυτοαντισώματα δεν διέφεραν μεταξύ των ομάδων [93].

4.3.3 Αντισώματα που επάγουν τον αυτοάνοσο διαβήτη

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Anti PD-1 είναι ένα εξανθρωπισμένο αντίσωμα IgG4 anti PD-1. Μπορεί να εμποδίσει την οδό PD-1/PD-L1, η οποία έχει αρνητικό αντίκτυπο στη λειτουργία των Τ κυττάρων, για να ενισχύσει τις αντικαρκινικές επιδράσεις των Τ κυττάρων του ξενιστή. Σήμερα, το μονοκλωνικό αντίσωμα anti PD-1 έχει αξιολογηθεί σε κλινικές δοκιμές για πολλούς τύπους καρκίνου. Η επίδραση του έχει συσχετισθεί και με τον διαβήτη. Σε μια μελέτη περίπτωσης από τους η θεραπεία με αντισώματα έδειξε να επάγει τον διαβήτη. Ένας 73χρονος άνδρας ασθενής χωρίς ιστορικό διαβήτη ο οποίος είχε μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του PD-1 200 mg κάθε 3 εβδομάδες για θεραπεία με ΜΜΚΠ. Μετά από 10 κύκλους θεραπείας, τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα του αυξήθηκαν και υπέστη διαβητική κετοξέωση (DKA, diabetic ketoacidosis). Και το C-πεπτίδιο του μειώθηκε σημαντικά με αρνητικά σχετικά αυτο-αντισώματα. Σε συνδυασμό με το ιατρικό του ιστορικό και την εργαστηριακή εξέταση, διαγνώστηκε αυτοάνοσος σακχαρώδης διαβήτης που προκαλείται από μονοκλωνικό αντίσωμα anti PD-1. Μετά την ανάρρωση από DKA και τον έλεγχο της γλυκόζης στο αίμα του, η θεραπεία του με anti PD-1 συνεχίστηκε και εξακολουθούσε να έχει κάποιο όφελος. Αυτή η αναφορά πρότεινε ότι η γλυκαιμική παρακολούθηση είναι επιτακτική κατά τη διάρκεια αυτής της θεραπείας με μονοκλωνικά αντισώματα κατά του PD-1. Επιπλέον, μετά τον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, η συνέχιση της ανοσοθεραπείας θα μπορούσε να είναι ωφέλιμη και ασφαλής για τον ασθενή [94].

Η νιβολουμάμπη, ένα αντίσωμα κατά του PD-1, θεωρείται πλέον σημαντικός θεραπευτικός παράγοντας σε αρκετές προχωρημένες κακοήθειες. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό, όπως οι ενδοκρινοπάθειες που σχετίζονται με διαταραχή του θυρεοειδούς και η μεμονωμένη

ανεπάρκεια αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης. Οι Zaiet et al. (2018) ανέφεραν την περίπτωση μιας 68χρονης γυναίκας που ανέπτυξε αρνητικό ΣΔ1 με αυτοαντίσωμα σχετιζόμενο με τις παγκρεατικές νησίδες, που πιθανώς προκλήθηκε από τη συνεχή χορήγηση γλυκοκορτικοειδών και του αντισώματος. Η ασθενής έλαβε θεραπεία με νιβολουμάμπη για προχωρημένο κακοήγη μελάνωμα, ταυτόχρονα με 10 mg πρεδνιζολόνης ημερησίως για θρομβοφλεβίτιδα μειωμένη στα 5 mg μετά από 13 κύκλους θεραπείας με νιβολουμάμπη. Περίπου στον 27ο κύκλο, έδειξε αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα παρά τη διατηρημένη έκκριση ινσουλίνης και εμφάνισε διαβητική κετοξέωση. Διαγνώστηκε με οξεία έναρξη ΣΔ1 εξαιτίας μιας ταχέως προοδευτικής πορείας σε διαβητική κετοξέωση για μόλις περισσότερο από 1 εβδομάδα [95].

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται τα σημαντικότερα στοιχεία που αφορούν τη χρήση αντισωμάτων τα οποία δρουν έμμεσα στη θεραπεία ή στην εμφάνιση διαβήτη λόγω χρήσης τους σε άλλες θεραπείες.

Επίσης συνοψίζονται οι μελέτες που αφορούν τα αντισώματα με στόχο τα T-κύτταρα και ειδικότερα την οτελιξιζουμάμπη και την τεπλιζουμάμπη. Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλήφθηκαν 1.247 ασθενείς και σε μόνο μία έρευνα υπήρχε κατηγοριοποίηση σε ενήλικες και εφήβους. Σε καμία έρευνα δεν υπήρξε διαχωρισμός με βάση το φύλο και την ηλικία οπότε και δεν μπορεί να εξαχθεί συμπέρασμα για τον υπάρχει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας ή του φύλου και στην απόκριση με θεραπεία αντι-CD3 αντισωμάτων. Το 50% των μελετών που χρησιμοποίησαν την οτελιξιζουμάμπη σε δόση 3,1. mg δεν ανέφερε θετικό αποτέλεσμα στη μείωση του πεπτιδίου C, ενώ σε υψηλότερες δόσεις φάνηκε να έχει καλύτερα αποτελέσματα. Σχετικά με την τεπλιζουμάμπη σε όλες τις μελέτες παρατηρήθηκε μείωση του

πεπτιδίου C ωστόσο σε μια μελέτη με σχετικά μικρό ποσοστό ασθενών εμφανίστηκαν συχνές και διαφορετικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Ωστόσο δεν υπάρχει σαφής τιμή δόσης.

Πίνακας - Αποτελέσματα μελετών

Συγγραφέας / τύπος μελέτης	Τύπος διαβήτη	Αριθμός συμμετεχόντων	Δόση φαρμάκου	Αποτελέσματα	Ανεπιθύμητες δράσεις
Quattrin et al., (2020) φάση 2, πολυκεντρική, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, διπλή- τυφλή, παράλληλη ομαδική δοκιμή,	Πρώιμης έναρξης	84	Γολιμουάμοση	Δεν παρέμειναν σταθερά τα επίπεδα του πεπτιδίου C Μειωμένη χρήση ινσουλίνης	Δεν αναφέρθηκαν
Gitelman et al. (2020) Πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάση 2 δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	100	Ιματίνιμπη 400 mg	Μείωση στα επίπεδα πεπτιδίου C Διατήρηση της λειτουργία των β- κυττάρων	Ναυτία Εξανθήματα
Herold et al., (2019) Πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάση 2 δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	37	RN168 1 mg/kg	Υποτροπο- ποίηση των γονιδίων που σχετίζονται με την ενεργοποίηση, την επιβίωση και τη διαφοροποίηση των T κυττάρων	Ήπια μη σχετιζόμενα με τη θεραπεία
Izquierdo et al., (2018)	NOD	Μοντέλα ποντικών	IL-2/anti-IL-2	Ισχυρή προστασία	Δεν αναφέρθηκαν

				Πρόληψη ινσουλινίπδας	
T1D TrialNet Anti-CD20	Πρώιμης έναρξης	87	375 mg/m ² Rituximab		Δεν αναφέρθηκαν
Curtin et al. (2020) Πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάση 2 δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	64	Τεμελιμάμπης 6 mg/kg	Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα του πεπτιδίου C	Δεν αναφέρθηκαν
Li et al., (2020)	Δεν αναφέρθηκε	1	PD-1 200 mg	Εμφάνιση διαβήτη	Δεν αναφέρθηκαν
Zaied, et al., (2018).	Δεν αναφέρθηκε	1	Anti PD-1	Αυξημένα επίπεδα γλυκόζης	Δεν αναφέρθηκαν
Binder, C., et al., (2020)	Δεν αναφέρθηκε	Μελέτες σε κύτταρα	Σιπλιζουμάμπη	Αναστολή ενεργοποίησης και πολλαπλασια- σμού των T -κυττάρων	Δεν αναφέρθηκαν
Aronso et al., (2014) DEFEND-1	Πρώιμης έναρξης	281	Οτελιζουμάμπη 3,1 mg	Δεν παρέμειναν σταθερά τα επίπεδα του πεπτιδίου C	Δεν αναφέρθηκαν
Ambery et al., (2014) DEFEND-2	Πρώιμης έναρξης εσπασμένη σε εφήβους	179	Οτελιζουμάμπη 3,1 mg	Δεν παρέμειναν σταθερά τα επίπεδα του πεπτιδίου C	Αναφέρθηκαν παρενέργειες

Hagopian et al., (2013) Διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή	Δεν αναφέρθηκε	519	Τεπλιζουμάμπη	Μείωση του C- πεπτιδίου σε 1 χρόνο	Ανάπτυξη αντισωμάτων
Herold et al., (2013) Ανοιχτή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	52	Τεπλιζουμάμπη	Μείωση του C- πεπτιδίου στα 2 χρόνια	Εξάνθημα, παροδικές λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού, πνοοκέφαλος και ναυτία
Herold et al., (2005) Ανοιχτή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	60	Τεπλιζουμάμπη 51 µg/m ² , 103 µg/m ² , 207 µg/m ² , 413 µg/m ² 826 µg/m ²	Μείωση του C- πεπτιδίου σε 1 χρόνο	Δεν αναφέρθηκαν
Herold, et al., 2019	Δεν αναφέρθηκε		Τεπλιζουμάμπη	Μείωση του C- πεπτιδίου σε 1 χρόνο	Εξάνθημα, λεμφοπενία
Sims et al. (2021) Διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή	Πρώιμης έναρξης	52	Τεπλιζουμάμπη	Μείωση του C- πεπτιδίου σε 1 χρόνο	Δεν αναφέρθηκαν
Vlasakakis et al., (2020).	Δεν αναφέρθηκε	30	Οτελιζουμάμπη σε δόσεις των 9, 18 ή 27 mg	Σχέση δόσης- απόκρισης με καλύτερα	Δεν αναφέρθηκαν

				αποτελέσματα στα 18 ή 27 mg	
Keymeulen et al., 2021	Πρώιμης έναρξης	30	Οτελιζουμάμπη 18 και 27 mg	Αύξηση του πεπτιδίου C και μείωση της ποσότητας των β κυττάρων	Δεν αναφέρθηκαν
Perdigoto et al., (2019). ABATE	Δεν αναφέρθηκε	44	Τεπλιζουμάμπη	Μείωση του C- πεπτιδίου σε 1 χρόνο	Δεν αναφέρθηκαν

4.4. Συμπεράσματα

Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (mAb) είναι μια στρατηγική για τη στόχευση συγκεκριμένων πληθυσμών ανοσοκυττάρων που προκαλούν αυτοάνοση παθολογία, όπως άλλωστε αποτελεί στρατηγική και για την αντιμετώπιση άλλων σοβαρών παθήσεων, όπως είναι ο καρκίνος και οι λοιμώξεις. Αρκετά mAb έχουν αποδειχθεί ότι είναι κλινικά ασφαλή και παρουσιάζουν διάφορους βαθμούς αποτελεσματικότητας στη ρύθμιση της αυτοανοσίας, συμπεριλαμβανομένου του T1D. Οι δοκιμές ανοσοθεραπείας στον πρόσφατο διαβήτη τύπου 1 (T1D) είχαν μικτά αποτελέσματα, με ορισμένες θεραπείες - μονοκλωνικά αντισώματα αντι-CD3 που στοχεύουν τα T κύτταρα, τα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-CD20 που στοχεύουν τα B κύτταρα και τον αποκλεισμό της συν διέγερσης δίνοντας ενθαρρυντικά μηνύματα, με τουλάχιστον παροδική βελτίωση στη λειτουργία των β-κυττάρων σε σύγκριση με τις τυχαίοποιημένες ομάδες ελέγχου. Από τις 19 μελέτες που συμπεριλήφθηκαν μόνο οι 2 αφορούν παιδιά και εφήβους ενώ άλλες δύο τα συμπεριλαμβάνουν στους ενήλικες.

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας καθίσταται φανερό ότι τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολλά υποσχόμενα για τη θεραπεία του αυτοάνοσου διαβήτη τόσο σε πρώιμο όσο και σε ώριμο στάδιο. Το 70% των μελετών ανέφεραν ότι είναι πρώιμος διαβήτης ή ότι η διάγνωση είχε γίνει πριν από κάποιες ημέρες. Από την ανάλυση των μελετών φαίνεται ότι οι περισσότερες στοχεύουν την λειτουργία των T κυττάρων τα οποία εμπλέκονται στην απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος και πιο συγκεκριμένα ακολουθείται η αντι-CD3 θεραπείας Αυτή η μελέτη παρακολούθησης υποστηρίζει περαιτέρω τη χρήση αντι-CD3 θεραπείας για την πρόληψη του T1D. Μεταξύ των σημαντικότερων αντισωμάτων που συναντώνται σε αυτή την κατηγορία είναι η οτελιξιζουμάμπη και η τεπλιζουμάμπη. Μεταξύ των δύο τα καλύτερα

αποτελέσματα δίνει η τεπλιζουμάμπη της οποίας βέβαια η σταθερά προκαθορισμένη δόση χορήγησης δεν έχει ακόμη αποφασιστεί. Στην περίπτωση της και ο FDA θετικός μιας και τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι μπορεί να καθυστερήσει την εμφάνιση και τη διάγνωση του αυτοάνοσου διαβήτη.

Ένα άλλο ποσοστό των μελετών αφορά την χρήση αντισωμάτων για την διατήρηση της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος ή των T κυττάρων. Αυτά τα αντισώματα στο 20% των περιπτώσεων χρησιμοποιούνται για την θεραπεία άλλων ασθενειών,. Σε αυτό το πλαίσιο η ιματινίμπη αποδείχθηκε το καλύτερο αντίσωμα μια και μειώθηκε η τιμή του πεπτιδίου. Το Imatinib μπορεί να προσφέρει ένα νέο μέσο για την αλλαγή της πορείας του διαβήτη τύπου 1. Μελλοντικές εκτιμήσεις είναι ο καθορισμός της ιδανικής δόσης και διάρκειας θεραπείας, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα στα παιδιά, η συνδυαστική χρήση με ένα δωρεάν φάρμακο και η ικανότητα του imatinib να καθυστερεί ή να αποτρέπει την εξέλιξη σε διαβήτη σε πληθυσμό σε κίνδυνο. Ακόμη υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί στη χρήση τους και απαιτείται προσεκτική παρακολούθηση για πιθανές τοξικότητες καθώς και άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες. Επίσης, απαιτούνται και περαιτέρω μελέτες για τον καθορισμό του μηχανισμού δράσης.

Τέλος, μια ακόμη ισχυρή τροχοπέδη είναι το υψηλό κόστος των εν λόγω φαρμάκων, το οποίο τα καθιστά δυσπρόσιτα στον μέσο καταναλωτή.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] A. K. Lentz και R. J. Feezor, «Principles of immunology,» *Nutr Clin Practice*, pp. 451-460, 18 December 2003.
- [2] S. H. E. Kaufmann, «Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the nobel prize to Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff.,» *Nature Immunology*, pp. 705-712, 9 July 2008.
- [3] M. Moser και O. Leo, «Key concepts in immunology,» *Vaccine*, pp. 28 Suppl 3: C2-13, 31 August 2010.
- [4] C. A. Janeway Jr και R. Medzhitov, «Innate immune recognition,» *Annu Rev Immunol*, pp. 197-216, 2002.
- [5] K. A. Smith, «Toward a molecular understanding of adaptive immunity: a chronology Part 1,» *Front Immunol*, p. 364, 29 November 2012.
- [6] J. F. Miller, «The golden anniversary of the thymus,» *Nature Reviews Immunology*, pp. 489-495, 27 May 2011.
- [7] H. N. Claman, «On discovering thymus-marrow synergism,» *Front Immunol*, p. 5: 588, 21 November 2014.
- [8] A. N. Mitchison, «The discovery of T cell cooperation,» *Front Immunol*, p. 5:377, 24 October 2014.

- [9] R. Steinman και H. Hemmi, «Dendritic cells: translating innate to adaptive immunity,» *Curr Top Microbiol Immunol*, pp. 311: 17-58, 2006.
- [10] C. Viret και C. Janeway Jr, «MHC and T cell development,» *Rev Immunogenet*, pp. 1:91-104, 1999.
- [11] K. Rock, I. York, Saric T και et al, «Protein degradation and the generation of MHC class I-presented peptides,» *Advances Immunology*, pp. 80:1-70, 1 January 2002.
- [12] C. Dinarello, Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis: A Primer for Clinicians., 2002.
- [13] S. Sakaguchi, T. Yamaguchi, T. Nomura και et al, «Regulatory T cells and immune tolerance,» *Cell*, pp. 775-787, 30 May 2008.
- [14] S. Sakaguchi, «Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite,» *Nature Immunology*, pp. 10-11, 1 January 2003.
- [15] S. K. Pierce και W. Liu, «The tipping points in the initiation of B cell signalling: how small changes make big differences,» *Nature Reviews Immunology*, pp. 10: 767-777, 11 October 2010.
- [16] L. Sompayrac, How the immune system works, Wiley- Blackwell, 2015.
- [17] Y. Feng, Y. Wang, S. Zhang και et al, «Structural and immunogenomic insights into B cell receptor activation,» *J Genet Genomics*, pp. 27-35, 20 January 2020.

- [18] Z. Chen και J. H. Wang, «How the signaling crosstalk of B cell receptor (BCR) and co-receptors regulates antibody class switch recombination: A new perspective of checkpoints of BCR signaling,» *Front Immunology*, 25 May 2021.
- [19] J. D. Laman, E. Claassen και R. J. Noelle, «Functions of CD40 and its ligand, gp39 (CD40L),» *Crit Rev Immunol*, pp. 371-420, 2017.
- [20] C. Montes , E. Acosta-Rodriguez, M. Merino και et al, «Polyclonal B cell activation in infections: infectious agents' devilry or defense mechanism of the host?,» *Journal of Leukocyte Biology*, pp. 1027-1032, 1 November 2007.
- [21] Y. Wang , J. Liu, P. D. Burrows και et al, «B cell development and maturation,» *Adv Exp Med Biol*, pp. 1-22, 2020.
- [22] T. W. LeBien και T. F. Tedder, «lymphocytes:how they develop and function,» *Blood*, pp. 1570-1580, 1 September 2008.
- [23] K. Murphy και C. Weaver, *Janeway's Immunology 9th edition*, 2017.
- [24] R. M. Steinman, «Dendritic cells: understanding immunogenicity,» *European Journal of Immunology*, 31 October 2007.
- [25] R. A. Mariuzza, P. Agnihotri και J. Orban, «The structural basis of T-cell receptor (TCR) activation: An enduring enigma,» *J Biol Chem* , pp. 914-925, 24 January 2020.

- [26] D. A. Witherden, M. D. Johnson και W. L. Havran, «Coreceptors and their ligands in epithelial $\gamma\delta$ T cell biology,» *Front Immunol*, 9 April 2018.
- [27] D. Delcassian, S. Sattler και I. E. Dunlop, «T cell immunoengineering with advanced biomaterials,» *Integr Biol (Camb)*, pp. 211-222, 1 March 2017.
- [28] L. Kane, J. Lin και A. Weiss, «Signal transduction by the TCR for antigen,» *Curr Opin Immunol*, pp. 242-249, Juny 2000.
- [29] F. A. Schilberg, S. R. Klein, G. J. Freeman και et al, «Coinhibitory pathways in the B7-CD28 ligand-receptor family,» *Immunity*, pp. 955-972, 17 May 2016.
- [30] U. Khan και H. Ghazanfar, «T lymphocytes and autoimmunity,» *Intern Rev Cell Mol Biol*, pp. 125-168, 22 Juny 2018.
- [31] Q. Zhang και D. A. A. Vignali, «Co-stimulatory and co-inhibitory pathways in autoimmunity,» *Immunity*, pp. 1034-1051, 17 May 2016.
- [32] D. Tischner, C. Woess, E. Ottina και et al, «Bcl-2-regulated cell death signaling in the prevention of autoimmunity,» *Cell Death Disease*, p. e48, 3 Juny 2010.
- [33] A. D. Association, «Classification and diagnosis of diabetes: Standads of medical care in diabetes-2021,» *Diabetes Care*, pp. S15-S33, 2021.
- [34] D. Dabelea, A. Rewers, J. M. Stafford και et al, «Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in Youth study,» *Pediatrics*, pp. 938-945, 31 March 2014.

- [35] A. Humphreys, V. Bravis, A. Kaur και et al, «Individual and diabetes presentation characteristics associated with partial remission status in children and adults evaluated up to 12 months following diagnosis of type 1 diabetes: an ADDRESS-2 study analysis,» *Diabetes Research and Clinical Practice*, September 2019.
- [36] N. J. Thomas, A. L. Lynam, A. V. Hill και et al, «Type 1 diabetes defined by severe insulin deficiency occurs after 30 years of age and is commonly treated as type 2 diabetes,» *Diabetologia*, pp. 1167-1172, July 2019.
- [37] J. S. Skyler, G. L. Bakris, E. Bonifacio και et al, «Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history and prognosis,» *Diabetes*, pp. 241-255, February 2017.
- [38] Y. Zhu, L. Qian, Q. Liu και et al, «Glutamic acid decarboxylase autoantibody detection by electrochemiluminescence assay identifies latent autoimmune diabetes in adults with poor islet function,» *Diabetes Metab J*, pp. 260-266, April 2020.
- [39] A. Lynam, T. McDonald, A. Hill και et al, «Development and validation of multivariable clinical diagnostic models to identify type 1 diabetes requiring rapid insulin therapy in adults aged 18-50 years,» *BMJ Open*, p. e031586, 2019.
- [40] J. Chen, M. Sun, A. Adeyemo και et al, «Genome-wide association study of type 2 diabetes in Africa,» *Diabetologia*, pp. 1204-1211, 2 May 2019.

- [41] W. Chung, K. Erion, Florez JC και et al, «Precision medicine in diabetes: a consensus report from the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes(EASD),» *Diabetes Care*, pp. 1617-1635, 2020.
- [42] C. Chadra, A. G. Plttas , C. W. Lary και et al, «D2d Research Group. Reproducibility of a prediabetes classification in a contemporary population,» *Metabol Open*, 7 March 2020.
- [43] M. A. B. Khan, M. J. Hashim, J. K. King και et al, «Epidemiology of type 2 diabetes-global burden of disease and forecasted trends,» *J Epidemiol Glob Health* , pp. 107-111, March 2020.
- [44] R. E. Ratner, C. A. Christophi, B. E. Metzger και et al, «Diabetes Prevention Program Research Group. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions,» *J Clin Endocrinol Metab*, pp. 4774-4779, December 2008.
- [45] V. Aroda, C. Christophi, S. Edelstein και et al , «Diabetes Prevention Program Research Group. The effect of lifestyle intervention and metformin on preventing or delaying diabetes among women with and without gestational diabetes: the Diabetes Prevention Program outcomes study 10-year follow-up,» *J Clin Endocrinol Metab*, pp. 1646-1653, April 2015.
- [46] C. Wang, Y. Wei, X. Zhang και et al, «A randomized clinical trial of exercise during pregnancy to prevent gestational diabetes mellitus and improve pregnancy

outcome in overweight and obese pregnant women.,» *Am J Obstet Gynecol*, pp. 340-351, April 2017.

[47] B. Shields, S. Hicks, M. Shepherd και et al, «Maturity-onset diabetes of the young(MODY): how many cases are we missing?,» *Diabetologia*, pp. 2504-2508, December 2010.

[48] E. De Franco, S. E. Flanagan, J. Houghton και et al, «The effects of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: an international cohort study,» *Lancet*, pp. 957-963, 5 September 2015.

[49] P. V. Roder, B. B. Xu και Y. Liu, «Pancreatic regulation of glucose homeostasis,» *Exp Mol Med*, p. e219, March 2016.

[50] R. Chandra και R. A. Liddle, «Neural and hormonal regulation of pancreatic secretion,» *Curr Opin Gastroenterol*, pp. 441-446, September 2009.

[51] M. Brissova , M. J. Fowler, W. E. Nicholson και et al, «Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy,» *J Histochem Cytochem*, pp. 1087-1097, September 2005.

[52] G. Katsuura, A. Asakawa και A. Inui, «Roles of pancreatic polypeptide in regulation of food intake,» *Peptides*, pp. 323-329, February 2002.

[53] L. Freychet, S. Rizkalla, N. Desplanque και et al, «Effect of intranasal glucagon on blood glucose levels in healthy subjects and hypoglycaemic patients with insulin-dependent diabetes,» *Lancet*, pp. 1364-1366, 18 Juny 1988.

- [54] M. Komatsu, M. Takei, H. Ishii και et al, «Glucose - stimulated insulin secretion: a newer perspective,» *J Diabetes Inestig*, pp. 511-516, 27 Noveber 2013.
- [55] N. Marrano, G. Biondi, A. Cignarelli και et al, «Functional loss of pancreatic islets in type 2 diabetes: How can we halt it?,» *Metabolism*, September 2020.
- [56] S. Haedersdal , A. Lund, F. K. Knop και et al, «The role of glucagon in the pathophysiology and treatment of type 2 diabetes,» *Mayo Clin Proc*, 5 January 2018.
- [57] P. Rorsman και M. O. Huising, «The somatostatin-secreting pancreatic δ -cell in health and disease,» *Nat Rev Endocrinol*, pp. 404-414, July 2018.
- [58] J. Rojas, V. Bermudez, J. Palmar και et al, «Pancreatic beta cell death: Novel potential mechanisms in diabetes therapy,» *J Diabetes Res*, 19 February 2018.
- [59] Ε. Ε. Δ. Εταιρία), Σύγχρονη Διαβητολογία, Ιατρικές εκδόσεις σελίδα, 2019.
- [60] L. J. Jameson, A. S. Fauci, D. L. Kasper και et al., Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th edition.
- [61] Jorde, Carey και Bamshad, Medical genetics.
- [62] Α. Ε. Γερμενής , Ιατρική Ανοσολογία.
- [63] L. S. Carvalho, B. d. S. Otávio , C. d. A. Gabriela και et.al., «Production Processes for Monoclonal Antibodies,» 8 February 2017.

- [64] H. Rang, M. Dale, J. Ritter και et al., Rang and Dale's Pharmacology.
- [65] Q. Ke, C. J. Kroger, . M. Clark και et al., «Evolving Antibody Therapies for the Treatment of Type 1 Diabetes,» 18 February 2021.
- [66] C. Kuhn και H. L. Weiner, «Therapeutic anti-CD3 monoclonal,» 10 May 2016.
- [67] Å. Lernmark και H. Larsson, «Immune therapy in type 1 diabetes mellitus.,» *Nature Reviews Endocrinology (LUNG UNIVERSITY)*, 2013.
- [68] Griselda Lim Loo Xin, Yap Pui Khee, Tan Yoke Ying και et al., «Current Status on Immunological Therapies for Type 1,» 23 March 2019.
- [69] D. M. Ecker, S. D. Jones και H. L. Levine, «The therapeutic monoclonal antibody market,» *Taylor and Francis Online*, 14 January 2015.
- [70] P. Ambery, T. Donner, N. Biswas και et al, «Efficacy and safety of low-dose oteelixizumab anti-CD3 monoclonal antibody in preserving C-peptide secretion in adolescent type 1 diabetes: DEFEND-2, a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-centre study.,» *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*, pp. 399-402, 16 November 2013.
- [71] R. Aronson, P. A. Gottlieb, J. S. Christiansen και et al, («). Low-dose oteelixizumab anti-CD3 monoclonal antibody DEFEND-1 study: results of the randomized phase III study in recent-onset human type 1 diabetes,» *Diabetes Care*, pp. 2746-2754, 1 October 2014.

- [72] C. Binder , F. Sellberg, F. Cvetkovski και et al, «Siplizumab, an Anti-CD2 Monoclonal Antibody, Induces a Unique Set of Immune Modulatory Effects Compared to Alemtuzumab and Rabbit Anti-Thymocyte Globulin In Vitro,» *Frontiers in Immunology*, 11 November 2020.
- [73] A. Visperas και D. Vignali, «Are Regulatory T Cells Defective in Type 1 Diabetes and Can We Fix Them?,» *Journal of immunology*, pp. 3762-3770, 2016.
- [74] A. Z. Nourelden, . A. A. Elshanbary, . L. El-Sherif και et al, «Safety and Efficacy of Teplizumab for Treatment of Type One Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis,» *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, pp. 1895-1904, 9 December 2020.
- [75] B. Keymeulen, A. v. Maurik, D. Inman και et al, «A randomised, single-blind, placebo-controlled, dose-finding safety and tolerability study of the anti-CD3 monoclonal antibody oteelixumab in new-onset type 1 diabetes,» *Diabetologia* 64, pp. 313-324, 4 November 2020.
- [76] «DrugBank online,» [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://go.drugbank.com/drugs/DB05496>.
- [77] G. Vlasakakis, A. Napolitano, R. Barnard και et al, «Target engagement and cellular fate of oteelixumab: a repeat dose escalation study of an anti-CD3ε mAb in new-onset type 1 diabetes mellitus patients,» *British journal of clinical pharmacology*, pp. 704-714, 19 December 2018.

- [78] K. C. Herold, S. E. Gitelman, M. R. Ehlers και et al, «Teplizumab (Anti-CD3 mAb) Treatment Preserves C-Peptide Responses in Patients With New-Onset Type 1 Diabetes in a Randomized Controlled Trial: Metabolic and Immunologic Features at Baseline Identify a Subgroup of Responders,» *Diabetes*, pp. 3766-3774, 18 October 2013.
- [79] K. C. Herold, S. E. Gitelman, U. Masharani και et al, «A Single Course of Anti-CD3 Monoclonal Antibody hOKT3γ1(Ala-Ala) Results in Improvement in C-Peptide Responses and Clinical Parameters for at Least 2 Years after Onset of Type 1 Diabetes,» *Diabetes*, 1 Juny 2005.
- [80] K. C. Herold, M.D., B. N. Bundy και et al, «An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes,» *The new england journal of medicine*, 15 August 2019.
- [81] E. K. Sims, B. N. Bundy, K. Stier και et al , «Teplizumab improves and stabilizes beta cell function in antibody-positive high-risk individuals,» *Science translational medicine*, 3 March 2021.
- [82] W. Hagopian, R. J. Ferry , N. Sherry και et al, «Teplizumab Preserves C-Peptide in Recent-Onset Type 1 Diabetes: Two-Year Results From the Randomized, Placebo-Controlled Protégé Trial,» *Diabetes*, 1 November 2013.
- [83] A. L. Perdigoto, P. Preston-Hurlburt, P. Clark και et al, «Treatment of type 1 diabetes with teplizumab: clinical and immunological follow-up after 7 years from diagnosis,» *Diabetologia*, 19 December 2018.

- [84] «ClinicalTrials.gov,» U.S. National Library of Medicine, [Ηλεκτρονικό]. Available: <https://clinicaltrials.gov..>
- [85] S. A. Long, J. Thorpe, H. A. Deberg και et al, «Partial exhaustion of CD8 T cells and clinical response to teplizumab in new-onset type 1 diabetes,» *Science immunology*, 18 November 2016.
- [86] D. Bresson, L. Togher, E. Rodrigo και et al, «Anti-CD3 and nasal proinsulin combination therapy enhances remission from recent-onset autoimmune diabetes by inducing Tregs,» *The journal of clinical investigation*, 1 May 2006.
- [87] M. Chen, Q. Zhang, Y. Wei και et al, «Anti-CD20 therapy ameliorates β cell function and rebalances Th17/Treg cells in NOD mice,» *Endocrine*, pp. 44-52, 2022.
- [88] J. Prassler, S. Thiel, C. Pracht και et al, «HuCAL PLATINUM, a synthetic Fab library optimized for sequence diversity an superior performance in mammalian expression systems,» *J Mol Biol*, pp. 261-278, 2011.
- [89] T. Quattrin, M.D., M. J. Haller και et al, «Golimumab and Beta-Cell Function in Youth with New-Onset Type 1 Diabetes,» *The new england journal of medicine*, 19 November 2020.
- [90] Gitelman, S. EBarr, Mayalin και et al, «Imatinib therapy for patients with recent-onset type 1 diabetes: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial,» *The lancet diabetes and endocrinology*, pp. 502-514.

- [91] K. C. Herold, S. L. Bucktrout, X. Wang και et al, «Immunomodulatory activity of humanized anti-IL-7R monoclonal antibody RN168 in subjects with type 1 diabetes,» *JCI insight*, 19 December 2019.
- [92] C. Izquierdo, A. Z. Ortiz, M. Presa και et al, «Treatment of T1D via optimized expansion of antigen-specific Tregs induced by IL-2/anti-IL-2 monoclonal antibody complexes and peptide/MHC tetramers,» *scientific reports*, 25 May 2018.
- [93] F. Curtin, B. Champion, . P. Davoren και et al, «A safety and pharmacodynamics study of temelimab, an antipathogenic human endogenous retrovirus type W envelope monoclonal antibody, in patients with type 1 diabetes,» *Diabetes*, 2020.
- [94] W. Li, H. Wang, B. Chen και et al, «Anti PD-1 monoclonal antibody induced autoimmune diabetes mellitus: a case report and brief review,» *Translational lung cancer research*, April 2020.
- [95] A. A. Zaied, H. K. Akturk, R. W. Joseph και et al, «New-onset insulin-dependent diabetes due to nivolumab,» *Endocrinology, Diabetes & Metabolism Case Reports*, 18 March 2018.
- [96] E. M. Dawn , S. D. Jones και H. L. Levine, «The therapeutic monoclonal antibody market,» 2014.