UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

IL DIABETE DI TIPO 1: EZIOLOGIA, DIAGNOSI E NUOVI APPROCCI TERAPEUTICI

Relatore: chiar.ma Prof.ssa Maria Teresa Conconi

Laureanda: Arianna Fiorentini

Matr. 1205677

Anno accademico: 2024-2025

INDICE

INTRODUZIONE 1

CAPITOLO I: Diabete mellito di tipo 1 3

1.1 Definizione e classificazione 3

1.2 Sintomi, diagnosi 4
1.2.1 Definizione del termine LADA 6
1.2.2 GRS: punteggio rischio genetico 7

1.3 Incidenza del diabete di tipo 1 all'interno della popolazione 7

1.4 Complicanze diabete di tipo 1 9
1.4.1 Definizione chetoacidosi diabetica, diagnosi, gestione 10

1.4.2 Incidenza globale chetoacidosi diabetica 11

1.4.3 Definizione Ipoglicemia, classificazione, cause, trattamento e studi CGM 11

1.5 Complicanze diabete correlate al COVID 13

CAPITOLO II: Cellule β come possibile bersaglio del sistema immunitario nel diabete di tipo 1 14

2.1 Diabete di tipo 1 definito come malattia autoimmune: le cellule β non sono solamente vittime dell'attacco immunitario 14
2.1.1 Dimensione del pancreas: possibile fattore scatenante della risposta immunitaria 15

2.1.2 Infezioni virali ed agenti infiammatori intestinali: possibili fattori nello sviluppo dell'attivazione del sistema immunitario 16

2.1.3 Infezioni virali ed agenti infiammatori intestinali: possibili fattori nello sviluppo dell'attivazione del sistema immunitario 17

2.2 Insulite: effetto stressante su cellule β 18

2.3 Processi di segnalazione cellulare coinvolti durante la distruzione delle cellule β:attivazione di cellule T, rilascio di citochine e morte cellulare 22
2.3.1 Cellule T 22

2.3.2 Citochine: attivazione ed effetti su cellule β 24

2.3.3 Macrofagi: ruolo all'interno della patologia di diabete di tipo 1 25

2.3.4 Diverse vie di morte cellulare per le cellule β durante la progressione della patologia 26

CAPITOLO III: Trattamento e gestione del diabete di tipo 1 29

3.1 Insulina, terapia classica per il trattamento del diabete di tipo 1 29
3.1.1 Insuline basali ad azione ultra prolungata 30

3.1.2 Insuline prandiali ad azione ultra-rapida 31

3.1.3 Insulina polmonare inalata 32

3.2 Sistemi di monitoraggio e gestione dei livelli di glucosio nel diabete di tipo 1 32
3.2.1 Insulina intelligente 33

3.2.2 Sistemi CGM e AID per la gestione e il monitoraggio della glicemia 34
3.2.2.1 Sistemi AID per la gestione del diabete di tipo 1 35

3.3 Terapie aggiuntive per il diabete di tipo 1 38
3.3.1 Metformina 38

3.3.2 Agonisti del recettore del peptide simile al glucagone: GLP-1 39
3.3.3 Inibitori del co-trasportatore sodio-glucosio: SGLT-2 40

3.4 Terapie alternative per la gestione del diabete di tipo 1: β-terapie di sostituzione cellulare 41
3.4.1 Trapianto di pancreas 42
3.4.2 Trapianto di cellule insulari 43
3.4.2.1 Incapsulamento cellulare 43
3.4.3 Terapia genica 44

3.4.4 Terapia con cellule staminali 45

CAPITOLO IV: Teplizumab, un anticorpo monoclonale come possibile nuova terapia per il diabete di tipo 1 47

4.1 Relazione tra la presenza di autoanticorpi, distruzione di β-cellule e nuove terapie immunitarie 47

4.2 Teplizumab: Cos'è e come viene somministrato 50
4.2.1 Sperimentazioni cliniche effettuate su Teplizumab 52

4.3 Teplizumab: farmacodinamica e farmacocinetica 55
4.3.1 Studi clinici sulla farmacodinamica e farmacocinetica di teplizumab 56

4.4 Eventi avversi legati all'assunzione di Teplizumab 57

CONCLUSIONE 60

BIBLIOGRAFIA 61

INTRODUZIONE

Il diabete di tipo 1 è una patologia autoimmune cronica caratterizzata dalla distruzione e dalla perdita della funzionalità delle cellule β pancreatiche con conseguente carenza di insulina endogena e ciò richiede una terapia a base di insulina per tutta la vita.

Nel presente elaborato sono stati analizzati, nel primo capitolo, la diagnosi, i sintomi e le complicanze legate a questa patologia.
Gli autoanticorpi anti-insula, definiti biomarcatori chiave per il diabete di tipo 1 e nel diabete lentamente progressivo (LADA), sono rilevabili mesi o anni prima dello sviluppo della patologia; ad oggi sono riconosciute tre fasi del diabete.
La valutazione degli epitopi e delle sottoclassi immunoglobuliniche degli autoanticorpi anti-insula aiuta a distinguere autoanticorpi associati o non associati al diabete, ed è preziosa per prevedere la futura carenza di insulina nei pazienti adulti con LADA.

All'interno del secondo capitolo, è stata presa in considerazione una visione alternativa dello sviluppo della patologia, in cui le cellule-β stesse sono un fattore chiave che contribuisce alla malattia, contrariamente alle classiche teorie incentrate sul fatto che la distruzione delle β-cellule è mediata da meccanismi autoimmuni attraverso l'azione delle cellule T autoreattive.
Le β cellule sono soggette a forte stress biosintetico con misure limitate di autodifesa che provoca un attacco immunitario con notevoli effetti negativi sul rilascio di un ormone vitale, l'insulina.
Questa visione spiegherebbe perché, l'immunoterapia, nella migliore delle ipotesi, ritardi la progressione del diabete mellito di tipo 1.

Si è posta l'attenzione, successivamente, su quelle che sono le nuove terapie utilizzate per il diabete di tipo 1 e sui nuovi sistemi automatizzati di monitoraggio della glicemia e della somministrazione di insulina.

I grandi progressi negli studi preclinici hanno dimostrato, oltre alla somministrazione classica di insulina, l'efficacia delle terapie cellulari che comprendono: utilizzo di cellule staminali, terapie geniche, immunoterapia, pancreas artificiale e incapsulamento

cellulare; oltre a quelle che sono le terapie aggiuntive come gli agonisti del recettore del peptide-1 simile al glucagone.
Tutte queste nuove terapie potrebbero prendere parte in futuro nella gestione del diabete, visti i miglioramenti associati all'emoglobina glicata e alla riduzione dell'ipoglicemia nei pazienti con diabete.

All'interno del quarto ed ultimo capitolo, si è evidenziata l'efficacia delle nuove terapie chiamate "terapie del futuro" che prevedono l'utilizzo di Teplizumab come terapia immunitaria.
Teplizumab è un nuovo anticorpo monoclonale, ancora in fase di studio, su cui si è vista però una grande efficacia per quanto riguarda il ritardare l'insorgenza del diabete mellito di tipo 1 di stadio 3 negli adulti e nei pazienti pediatrici con diabete di tipo 1 di fase 2.

CAPITOLO I: Diabete mellito di tipo 1

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da A.Singh et al. (2023), S.Savitha et al.(2023).

1.1 Definizione e classificazione

Quando si parla di diabete si intende una situazione in cui sono presenti alti livelli di glucosio nel sangue, questa condizione è chiamata iperglicemia.
Il diabete lo si può differenziare in due classi: il diabete di tipo 1 ed il diabete di tipo 2.
Nel diabete di tipo 1 (o T1D), gli alti livelli di glucosio nel sangue sono dovuti ad un'alterata produzione di insulina; mentre nel diabete di tipo 2 (oT2D) l'iperglicemia è causata da una diminuzione della sensibilità e della funzione dell'insulina (figura 1).

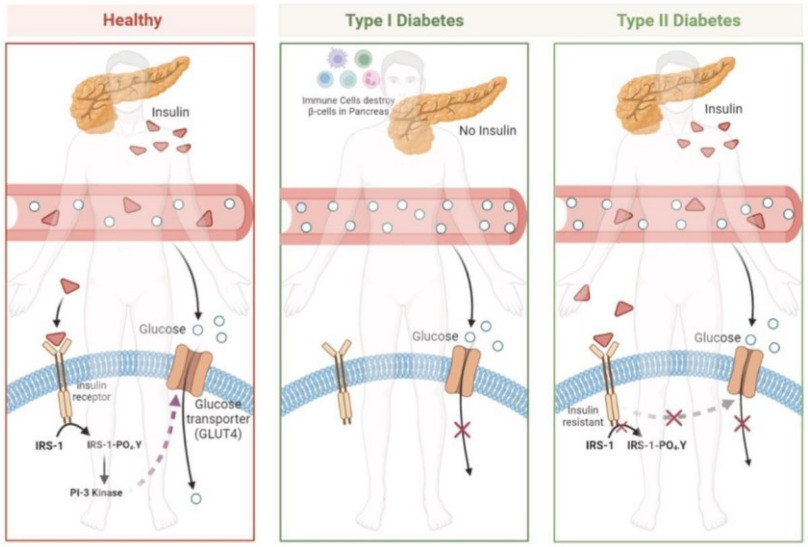

Figura 1. Soggetto sano, Diabete tipo 1 e diabete tipo 2: rappresentazione di un pancreas che non produce insulina in quantità adeguata (diabete tipo 1) oppure l'organismo che non è in grado di utilizzare l'insulina in modo appropriato (diabete tipo 2). L'immagine é stata tratta da A.Singh te al. (2023).

Il diabete di tipo 1 è una malattia autoimmune che determina l'innalzamento dei livelli di glucosio nel sangue in seguito alla distruzione, da parte del sistema immunitario,

delle cellule β incaricate della produzione di insulina nelle isole di Langherans del pancreas.
La conseguente distruzione di queste cellule porta ad un'incapacità nella produzione di una quantità adeguata di insulina endogena necessaria per regolare i livelli di glucosio nel sangue.
Proprio per questo i pazienti affetti da diabete di tipo 1 devono necessariamente assumere una dose giornaliera di insulina necessaria per evitare l'insorgenza di chetoacidosi diabetica che può portare alla morte.
Il diabete di tipo 1 viene quindi definito diabete insulina-dipendente.

1.2 Sintomi, diagnosi

I sintomi più comuni del diabete sono:

- sete eccessiva (polidipsia),
- minzione frequente (poliuria),
- glicosuria,
- perdita di peso senza motivo,
- visione offuscata
- aumento della fame

Negli adulti, l'indagine per sospetto di diabete di tipo 1 non è sempre semplice.
Questa patologia rappresenta circa il 5-10% di tutti i diabeti e la diagnosi avviene solitamente nei bambini, ma potrebbe apparire anche in età adulta.
La diagnosi è chiaramente identificabile data la presenza di iperglicemia definita con valori di glucosio >300 mg/dL nel sangue, associato nella maggior parte dei casi con chetonuria con o senza chetoacidosi.
Un'altra caratteristica che definisce la diagnosi di diabete è la presenza di un numero elevato di autoanticorpi contro le cellule delle insule che possono essere rilevati nel sangue tramite test standardizzati ed agiscono come marcatori dell'attivitá immunitaria.
Alcuni degli autoanticorpi che possono essere rilevati sono:

- l'anticorpo anti-decarbossilasi dell'acido glutammico (GADA),
- l'anticorpo anti- tirosina fosfatasi IA2
- l'autoanticorpo anti-trasportatore 8 dello zinco

(tabella 1).

La presenza di uno o più anticorpi in soggetti adulti potrebbe segnalare la progressione verso una grave carenza di insulina e si considerano quindi affetti da diabete di tipo 1.

Table 1 | Autoantibody characteristics associated with increased risk of type 1 diabetes[10]

Characteristic	Insulin autoantibody	Glutamic acid decarboxylase autoantibody	Islet antigen 2 autoantibody	Zinc transporter 8 autoantibody
Age of appearance	High risk in young children	Associated with risk in older cohorts	High risk for all ages	Associated with risk in older cohorts
Titer	High titer in all ages	High titer early after seroconversion	High titer, time constant	No association found to date

L' accostamento tra il numero di autoanticorpi delle isole con i parametri della tolleranza al glucosio costituiscono la base per identificare il rischio di diabete di tipo 1, che può essere suddiviso in 3 stadi, dove il terzo rappresenta la malattia clinica ***(figura 2).***

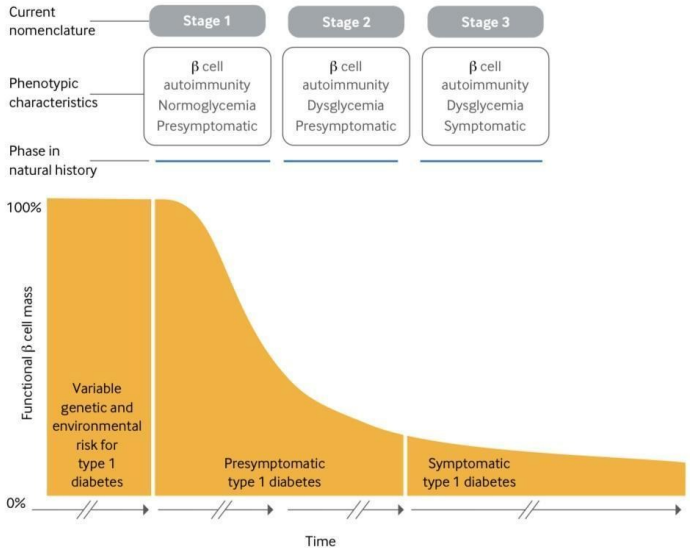

Figura 2. Rappresentazione grafica della storia del diabete tipo 1. Immagine tratta da Insel RA et al. Diabetes Care (2015).

Questi autoanticorpi, soprattutto GADA, devono essere misurati solamente nelle persone con sospetto di diabete di tipo 1 in quanto bassi livelli di GADA si possono osservare nel diabete di tipo 2.

Potrebbero quindi portare a false positività che si verificano in quasi il 40% dei pazienti e questo può risultare un problema.

Molto spesso viene effettuata una errata classificazione del diabete e questo deriva da una diagnosi errata. Questa diagnosi errata è data dal fatto che, a differenza del tipico

diabete di tipo 1 che si sviluppa in età infantile, l'identificazione clinica negli adulti è variabile.

1.2.1 Definizione del termine LADA

Circa 30 anni fa viene introdotto il termine LADA, ovvero Diabete Autoimmune Latente nell'adulto, che viene utilizzato per identificare adulti che presentano diabete immuno-mediato.
Vengono quindi definiti a livello internazionale dei criteri diagnostici per l'utilizzo di questo termine LADA, come ad esempio: età maggiore di 30 anni, presenza di autoanticorpi delle isole e l'assenza di necessità dell'assunzione di insulina per almeno 6 mesi.

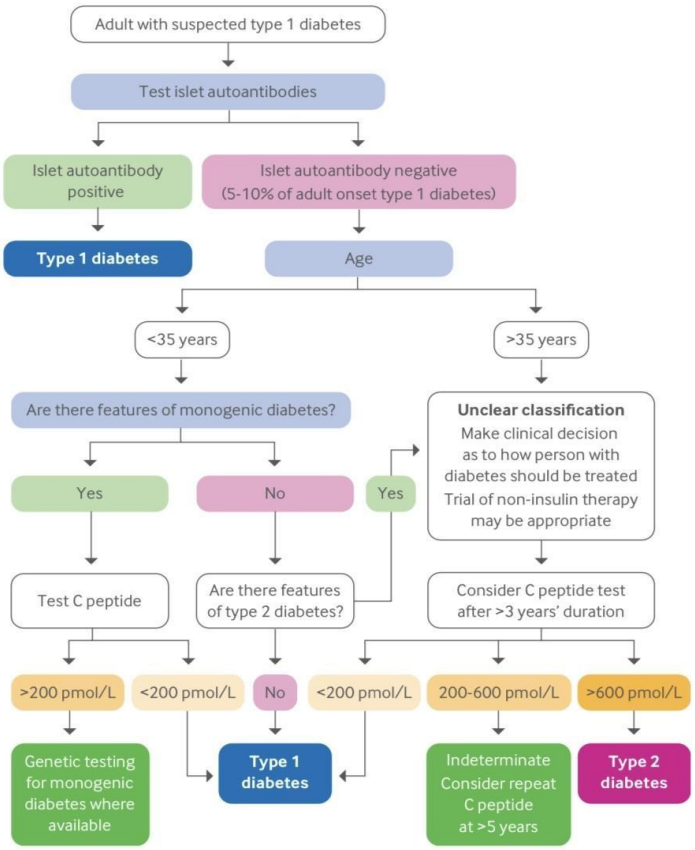

Figura 3: Rappresentazione di diagramma di flusso per indagine del sospetto di diabete di tipo 1 negli adulti basato su dati di popolazione europee. Immagine tratta da Holt RIG et al.Diabetes Care (2021).

L'American Diabetes Association (ADA) afferma che il termine LADA non può essere utilizzato come termine diagnostico ma può essere utilizzato solo per accelerare l'inizio della somministrazione di insulina da parte dei medici, per prevenire tutti gli effetti collaterali portati da un diabete di tipo 1 non trattato, come ad esempio la chetoacidosi diabetica.

Questo termine viene quindi utilizzato solamente per sensibilizzare e rendere maggiormente consapevoli gli adulti aventi una progressiva distruzione delle cellule β.
ADA inoltre definisce che all'interno della classificazione di diabete di tipo 1 rientrano tutte quelle forme di diabete che sono causate dalla distruzione delle cellule β.

1.2.2 GRS: punteggio rischio genetico

Non sempre il diabete di tipo 1 viene diagnosticato tramite la presenza di autoanticorpi, in circa il 5-10% dei casi questa patologia può manifestarsi senza la presenza di questi anticorpi anti-diabete ed è normale anche che gli anticorpi anti-diabete con il tempo possano scomparire.
Per differenziare gli adulti, la cui classificazione non è ben chiara viene utilizzato il punteggio di rischio genetico (GRS).
Questo GRS non viene utilizzato nelle diagnosi cliniche di routine, anche se il suo utilizzo permetterebbe di fare una previsione futura di casi di diabete di tipo 1 creando la possibilità di applicare interventi di prevenzione.

Nel 2019 viene sviluppato il T1D-GRS 2 che utilizza 67 poliformismi a singolo nucleotide provenienti da loci autoimmuni noti e con questo si possono prevedere casi di diabete di tipo 1 nei bambini di origine europea ed africana.

1.3 Incidenza del diabete di tipo 1 all'interno della popolazione

Nel corso degli anni si è evidenziato che all'interno della popolazione, comprese le persone con diabete di tipo 1, è presente un aumento di casi di obesità dati da uno stile

di vita sedentario e da diete “occidentalizzate” ovvero diete in cui vengono assunti alimenti trasformati, ricchi di zucchero raffinato e grassi saturi.
Tutto questo negli anni ha portato ad un cambiamento del fenotipo del diabete di tipo 1.
Il miglioramento del monitoraggio generale della glicemia, a partire dal rapporto del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) del 1993, ha portato ad una minore glicosuria per cui il tipico paziente affetto da diabete con peso corporeo ridotto è raro.
All’interno del US T1D EXCHANGE, si è osservato invece che piú di due terzi della popolazione era obesa o in sovrappeso e nel corso degli anni è aumentato anche il tasso di obesità in bambini ed adolescenti con diabete di tipo 1.
Molti di questi pazienti hanno familiari affetti da diabete di tipo 2 e molto probabilmente alcuni di essi presentano entrambi i tipi di diabete.
L'associazione tra obesità e resistenza all’insulina viene chiamata in modi differenti, questo determinato fenotipo viene definito come “doppio diabete” o “diabete ibrido”.
Sono state effettuate delle ricerche cliniche su come questa specifica popolazione risponda a determinate terapie come l’assunzione di agenti orali anti-iperglicemici, come ad esempio gli agonisti del recettore del peptide 1 (simile al glucagone GLP-1).
Queste terapie portano a dei benefici come perdita di peso e benefici a livello cardiovascolare.
È importante osservare quindi che oltre alla terapia insulinica, utilizzata per regolare i livelli di glucosio nel sangue; o qualsiasi altra terapia utile per monitorare la glicemia, accostare uno stile di vita sano con un regolare esercizio fisico possono aiutare nella gestione di questa patologia.

L’individuazione di pazienti affetti da diabete di tipo 1 è in continuo aumento ed avviene probabilmente a causa di fattori epigenetici ed ambientali.
Si stima che nel 2020 a livello globale circa 8,7 milioni di persone vivessero con il diabete di tipo 1, di cui 1,5 milioni con meno di 20 anni e si prevede l’aumento di questi casi di circa 17 milioni entro il 2040.
La International Diabetes Federation stima una prevalenza globale di diabete di tipo 1 del 0,1% ma questa probabilmente non è una valutazione ottimale poiché la diagnosi negli adulti spesso non viene presa in considerazione.
L’incidenza di questa patologia nell’adulto è più diffusa negli uomini rispetto alle donne ed è più alta in Europa soprattutto nei paesi Nordici e più bassa in quelli Asiatici.

1.4 Complicanze diabete di tipo 1

Il diabete di tipo 1 deve essere tenuto sotto stretto e continuo controllo attraverso il monitoraggio e la gestione regolare dei livelli di glucosio nel sangue in quanto se non controllato e trattato può portare allo sviluppo di numerose complicazioni che possono interessare vari organi e sistemi (come in figura 4) e questi possono avere un grande impatto sulla qualità della vita.

Tra le complicazioni che possono verificarsi sono presenti:

- malattie cardiovascolari,
- neuropatia,
- retinopatia,
- malattie renali,
- problemi al tratto gastro-intestinale,
- chetoacidosi diabetica
- ipoglicemia.

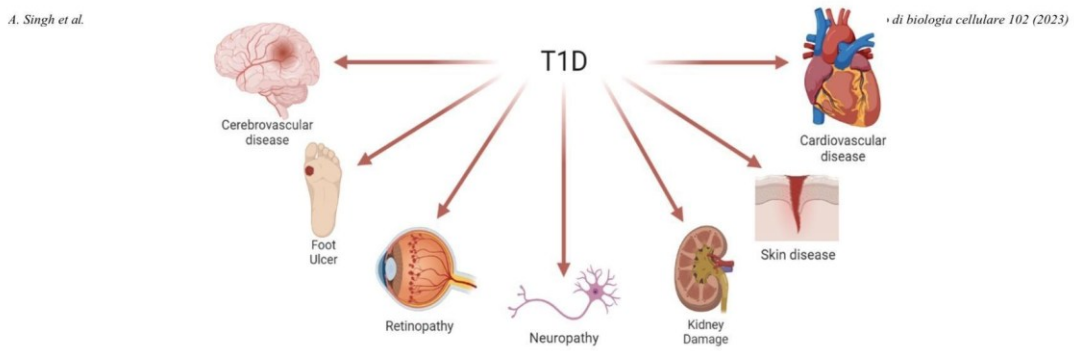

Figura 4. Possibili complicazioni del diabete di tipo 1 che possono colpire occhi,reni, muscoli scheletrici, tratto gastro-intestinale, sistema circolatorio, fegato rendendoli non funzionali. Immagine tratta da A.Singh et al (2023).

1.4.1 Definizione chetoacidosi diabetica, diagnosi, gestione

Per chetoacidosi diabetica si intende un'acidosi metabolica con GAP anionico aumentato, chetonemia o chetonuria importante in una persona con diabete e di conseguenza con un significativo innalzamento dei livelli di glucosio.
É una situazione grave che può essere potenzialmente fatale.
Inizialmente, la diagnosi per la chetoacidosi diabetica veniva effettuata attraverso la diagnosi glucocentrica.
Al giorno d'oggi viene individuata verificando la presenza di iperchetonemia ovvero si vanno a verificare i livelli di β-idrossibutirrato nel sangue, indipendentemente dai livelli di glicemia, ed è necessario che i livelli di questo chetone siano >3 mmol/L per l'individuazione di questo stato patologico.
Sono emerse però delle controversie per quanto riguarda l'uso del β -idrossibutirrato per la valutazione della gravitá di chetoacidosi diabetica in quanto non si ritengono molto accurati i misuratori di questo chetone durante le indagini.
Questa problematica si è evidenziata per concentrazioni superiori alla soglia di chetoacidosi diabetica.

La chetoacidosi diabetica può manifestarsi non solo in pazienti affetti da diabete che assumono inibitori SGLT-2 ma anche in soggetti che hanno una bassa aderenza allinsulina, soggetti che assumono quantitativi eccessivi di alcol, che fanno uso di cocaina, pazienti affetti da pancreatite, sepsi, malattia epatica cronica, conseguentemente ad un evento cardiovascolare acuto ed in gravidanza.
Il trattamento in questi casi è simile a quello della chetoacidosi diabetica data da diabete, ma in alcuni casi si può prevedere l'utilizzo di un liquido contenente destrosio a concentrazioni alte per l'infusione di insulina, oltre alla soluzione fisiologica al 0,9%.

La gestione della chetoacidosi diabetica avviene tramite il ripristino del volume circolatorio, attraverso la correzione degli squilibri elettrolitici ed attraverso il trattamento dell'iperglicemia.
Per la risoluzione sia dell'iperglicemia che della chetoacidosi diabetica l'infusione di insulina è il trattamento d'eccellenza in tutto il mondo data la sua capacità di agire in modo rapido.

Nella maggior parte delle persone la chetoacidosi e la chetonemia si risolvono entro 24 ore.

1.4.2 Incidenza globale chetoacidosi diabetica

Nell'ultimo decennio si sono osservati casi crescenti di chetoacidosi diabetica negli adulti in Europa e negli Stati Uniti.
In un rapporto statunitense, sui ricoveri ospedalieri per chetoacidosi diabetica, si sono osservati ricoveri di soggetti malati con età compresa tra 18 e 44 anni, con un'incidenza maggiore di uomini rispetto alle donne.
Benché i tassi di mortalità per chetoacidosi diabetica rimangano bassi nei paesi sviluppati, si è osservato un aumento della mortalitá in pazienti con un etá superiore ai 60 anni ed in quelli con malattie concomitanti potenzialmente letali.

1.4.3 Definizione Ipoglicemia, classificazione, cause, trattamento e studi CGM

L'ipoglicemia è un'ulteriore complicanza che possono sviluppare i soggetti affetti da diabete.
L'ipoglicemia è un evento comune durante il trattamento insulinico, si verifica quando i livelli di glucosio nel sangue scendono al di sotto dei valori normali.

L'International Hypoglycemia Study Group ha sviluppato una guida per definire i diversi livelli di ipoglicemia.
L'ipoglicemia di livello 1 é quella in cui è presente una concentrazione di glucosio nel sangue di 3,0-3,9 mmol/L o 54-70 mg/dL;
Livelli di glucosio <3 mmol/L o 54 mg/dL indicano un'ipoglicemia di livello 2, a questi livelli si può andare incontro a ipoglicemia neuroglicopenia ovvero quando si verifica una carenza di glucosio nei neuroni e nel sistema nervoso centrale i cui i sintomi possono essere: cambiamenti della vista, del comportamento, convulsioni e perdita di coscienza.
A concentrazioni di glucosio pari a <50 mg/dL può portare a disfunzione cerebrale.

L’ipoglicemia di livello 3 è quella piú grave ed è quella che porta a un deterioramento cognitivo e fisico e che necessita di assistenza esterna per il recupero.
Stati di ipoglicemia possono portare quindi a compromissione delle funzioni cognitive, deficit focali temporali tra cui sintomi simili a quelli dell’ictus e deficit di memoria.
Oltre a queste conseguenze possono verificarsi anche effetti cardiovascolari come tachicardia, aritmie prolungamento dell’intervallo QT e bradicardia.

I fattori scatenanti dell’ipoglicemia dovuta all’uso di insulina esogena nelle persone affette da diabete di tipo 1 possono essere molteplici, tra cui: la strumentazione imperfetta per iniezione sottocutanea di insulina, perdita di glucagone entro pochi anni dalla diagnosi, costante compromissione della risposta simpatico-surrenalica con ripetuti episodi di ipoglicemia.
Il glucagone è molto efficace come trattamento primario per l’ipoglicemia grave, esistono in commercio preparazioni liquide di glucagone da somministrare per via nasale che vanno a sostituire e sono preferite ai preparati iniettabili di glucagone.
Questo prodotto è molto utile nel caso in cui il paziente non abbia la possibilitá di assumere carboidrati per regolare stati di ipoglicemia, sono però poco utilizzati e sotto prescritti.

Studi CGM (monitoraggio continuo del glucosio) sono molto efficaci nella prevenzione e riduzione di eventi di ipoglicemia nell’arco di tutta la vita per giovani, adolescenti, adulti ed anziani.
Dato che la gestione dell'ipoglicemia è un aspetto importante nella gestione del diabete, sono stati sviluppati dei programmi di educazione per aumentare la consapevolezza e l’educazione per la gestione dell’ipoglicemia.
Uno dei programmi sviluppati è il programma britannico Dose Adjustment For Normal Eating (DAFNE), questo programma ha dimostrato un minor numero di ipoglicemie durante l’anno.
Un ulteriore studio che è stato sviluppato è chiamato Hypoglycemia Awareness Restoration Program, questo ha mostrato un effetto positivo per quanto riguarda stati di ansia e stress correlati alla gestione del diabete.

1.5 Complicanze diabete correlate al COVID

Il COVID-19 ha avuto un grande impatto sul diabete e ha portato ad ulteriori complicazioni legate a questa patologia.

Il COVID sappiamo essere una malattia virale causata dal virus sars-coV-2 che colpisce principalmente l'apparato respiratorio ma nei casi gravi può anche portare ad un'insufficienza multiorgano.

Uno studio ha evidenziato che, i pazienti affetti da diabete di tipo 1 sono quelli a più alto rischio di gravi complicazioni legate al COVID-19.

Tra queste complicazioni può presentarsi la sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), la sepsi ed eventi tromboembolici.

La causa di questo legame tra diabete 1 e le gravi complicazioni del COVID-19 può essere dovuto al fatto che il diabete di tipo 1 porta a degli effetti immunodepressivi tali da indebolire la capacità dell'organismo a combattere le infezioni virali.

Oltre a queste complicanze dirette, il covid ha portato a delle complicanze indirette sui pazienti con diabete di tipo 1.

Tra queste complicanze indirette si è verificata la difficoltà dell'accesso all'insulina e ad altri farmaci essenziali per il diabete oltre che all'interruzione dei servizi sanitari che sono punti fondamentali per il monitoraggio del diabete.

Durante la pandemia si è verificato poi un cambiamento dello stile di vita, con una riduzione dell'attività fisica e un'alterazione delle abitudini alimentari che possono essere la causa che porta ad un effetto negativo sui pazienti affetti da diabete di tipo 1.

CAPITOLO II: Cellule β come possibile bersaglio del sistema immunitario nel diabete di tipo 1

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Singh et al. (2023) e Bart O. Et al. (2021).

2.1 Diabete di tipo 1 definito come malattia autoimmune: le cellule β non sono solamente vittime dell'attacco immunitario.

Si è creduto per molto tempo che il diabete mellito di tipo 1 (T1DM) fosse una malattia autoimmune mediata dalle cellule T e quindi che ci fosse una connessione tra sistema immunitario e diabete di tipo 1.
Le cellule T autoreattive, peró, fanno parte di un normale repertorio di cellule T e quindi non é attendibile che la malattia sia causata solamente da una disfunzione delle cellule immunitarie; piuttosto, si puó dire che è necessaria un'attivazione periferica del sistema immunitario a livello locale nel tessuto bersaglio.
Sono stati evidenziati i seguenti fattori scatenanti che potrebbero portare le cellule β a causare una risposta immunitaria: dimensioni del pancreas, massa delle cellule β durante le infezioni virali e stress metabolico.

Si può osservare, tuttavia, che durante lo sviluppo della patologia il primo segno evidente della presenza di diabete di tipo 1, e quindi l'avanzamento verso l'autoimmunità e la conseguente perdita progressiva delle cellule β, la si osserva dalla combinazione nel siero di autoanticorpi delle isole contro l'insulina, la glutammato decarbossilasi, il trasportatore 8 dello zinco, l'antigene 2 dell'insulinoma e dalla presenza di sintomi tipici del T1DM.

2.1.1 Dimensione del pancreas: possibile fattore scatenante della risposta immunitaria

Il diabete di tipo 1 sembra colpire sia il pancreas endocrino che quello esocrino, in quanto studi hanno evidenziato la presenza di infiammazione e perdita del parenchima esocrino.
Su questa scoperta si pone molta attenzione durante lo studio o la progressione delle ipotesi sui meccanismi che portano a manifestare il diabete di tipo 1.
Si é potuto notare che non é presente nessuna prova che indichi una diminuzione nel tempo della massa pancreatica in soggetti affetti da T1DM.
È stato osservato, però, che pazienti affetti da diabete di tipo 1 solitamente hanno un pancreas di dimensioni ridotte, così come è stato notato che i parenti di primo grado di pazienti affetti da diabete sia con o senza autoimmunità delle isole hanno un pancreas di dimensioni ridotte rispetto alla popolazione generale.
Quindi si può dedurre da questo che una dimensione ridotta del pancreas possa essere presente in individui inclini a sviluppare T1DM.
Si può ipotizzare poi che un pancreas più piccolo e una massa endocrina ridotta aumentino il carico sul numero ridotto di cellule β che cercano di fronteggiare l'iperglicemia.

È importante notare che le lesioni insuliniche nelle prime fasi dopo la diagnosi di T1DM indicano un'infiltrazione monoclonale o oligo-clonale di cellule T CD8+ autoreattive dell'isolotto e poche evidenze di cellule T "bystander" o di un coinvolgimento esocrino. Questo sottolinea il ruolo centrale dell'autoimmunità nella immunopatologia del pancreas in quelle fasi.
Inoltre, si può notare che gli isolotti privati delle cellule β non presentano più insulite; questo evidenzia il fatto che le cellule β sono la forza trainante di questo processo infiammatorio caratteristico del diabete di tipo 1 e il ruolo centrale delle cellule β all'interno della patologia.

2.1.2 Infezioni virali ed agenti infiammatori intestinali: possibili fattori nello sviluppo dell'attivazione del sistema immunitario

Oltre allo stress metabolico, le infezioni virali e gli agenti infiammatori intestinali che si manifestano potrebbero determinare un ambiente pro-infiammatorio nel pancreas.
Le cellule β sono esposte ad infezioni virali dato che esprimono specifici recettori e molecole di adesione; è presente, infatti, un recettore unico per le cellule β per coxsackievirus e adenovirus (CAR) che si trova nei granuli contenenti insulina che potrebbe rendere le cellule β attaccabili dall'infezione virale durante la secrezione di insulina.
Ci sono studi che correlano l'infezione enterovirale da coxsackievirus con l'autoimmunità delle isole.
Le infezioni virali possono essere un fattore di rischio solo in una piccola parte di pazienti affetti da T1DM; il contributo virale nello sviluppo del diabete di tipo 1 non è limitato solo al coxsackievirus ma sono stati implicati anche rotavirus e citomegalovirus.

É importante osservare che ci può essere una correlazione tra la presenza di disbiosi del tratto gastrointestinale provocata da cambiamenti nel microbiota intestinale e un aumento del rapporto Bacteroidetes/ Firmicutes con la sieroconversione e l'insorgenza del diabete di tipo 1.
Il microbiota svolge un ruolo importante in quanto forma la tolleranza immunitaria perifocale, modulando sia la migrazione che la differenziazione delle cellule immunitarie per mantenere l'omeostasi intestinale.
Oltre a questo, l'infiammazione locale é limitata grazie agli acidi grassi a catena corta (SCFA) che vengono generati dai batteri intestinali residenti dalla fermentazione dei carboidrati non digeribili.
Questi SCFA hanno un effetto diretto sui sottogruppi di cellule T attraverso l'inibizione dell'istone deacetilasi e l'attivazione della segnalazione di mTOR e STAT3; questo porta ad un aumento di cellule T regolatrici che producono IL-10 ed esprimono FOXP3.
Altro effetto che hanno SCFA é quello di andare ad esercitare il loro effetto antinfiammatorio su neutrofili, macrofagi e cellule dendritiche plasmacitoidi attraverso peptidi anti-microbici prodotti dalle cellule dell'immunità innata o dalle stesse cellule β.

Si può quindi dire che anche la dieta ha un ruolo importante, in quanto può influenzare il microbioma intestinale in modo favorevole o sfavorevole rispetto alla predisposizione di sviluppare T1DM.
È stato osservato che una dieta a basso contenuto di glutine può indurre a cambiamenti favorevoli nel microbioma intestinale di adulti sani, mentre una bassa assunzione di glutine da parte di una madre durante la gravidanza mostra un'importante correlazione con una probabilità di sviluppare diabete di tipo 1 del bambino.

2.1.3 Rischio genetico come possibile fattore di sviluppo della patologia

La connessione tra diabete insulino-dipendente e sistema immunitario è stata evidenziata per la prima volta nel 1973 quando si è scoperto, attraverso studi di associazione a livello del genoma, che gli antigeni HLA erano connessi con il diabete di tipo 1 e non con il diabete insulino-indipendente. Questi studi hanno confermato che i geni HLA rappresentano fino al 50% del rischio genetico del diabete di tipo 1.
Il rischio genetico è determinato da alcune varianti genetiche nel gene che codifica l'insulina (INS); questo puó influenzare la funzione delle cellule β e il conseguente controllo glicemico.
Sono presenti studi che evidenziano le varianti protettive dell'INS e l'aumentata espressione di esso nel timo, in questo modo viene aumentata la probabilità che il sistema immunitario venga istruito ad evitare la reattività immunitaria all'insulina.
Anche gli effetti sulla funzione delle cellule β é stata associata a questi poliformismi genetici, così come la differente attività dell'INS nelle isole pancreatiche.
Altre varianti genetiche possono essere associate ad un aumento del rischio di T1DM e queste possono influire sulla salute, vitalitá e sull'autodifesa delle cellule β.
Una minore massa di cellule β potrebbe corrispondere ad una minore capacità di esse ed a una pressione maggiore per far fronte al controllo glicemico.
È stato osservato che la massa e la funzione delle cellule β potrebbero essere in diminuzione da piú di 10 anni prima della manifestazione clinica della malattia negli adulti.

Il concetto che definisce il diabete di tipo 1 una malattia autoimmune è tutt'oggi ancora valido, ma diverse osservazioni degli ultimi anni indicano un ruolo delle cellule β che va al di là dell'essere vittima non induttrice dell'attacco autoimmune.
Si sostiene quindi che le β cellule siano partecipanti attivi nell'attivazione del sistema immunitario.
Questo è stato rilevato data la presenza di alcune caratteristiche comuni in individui affetti da T1DM, come:

- una mancanza di effetti duraturi delle terapie di intervento immunosuppressive;
- l'autoimmunità delle isole che si verifica senza lo sviluppo di T1DM;
- una incidenza notevolmente bassa di insulite alla diagnosi;
- la percentuale alta di β cellule che persistono dopo la diagnosi di T1DM (anche se non sempre funzionanti).

In diversi studi è stato notato che la sovraregolazione dell'HLA come segno precoce di sofferenza delle isole pancreatiche si verifica frequentemente senza infiammazione anche se le cellule β sono ancora presenti.
L'insulite, d'altra parte, è una caratteristica rara negli individui che hanno autoanticorpi delle isole pancreatiche ma non presentano diabete di tipo 1.
Inoltre, le immunoterapie nel diabete mellito di tipo 1 non hanno ancora dimostrato un effetto duraturo durante la progressione della malattia.

2.2 Insulite: effetto stressante su cellule β

La conoscenza degli effetti dell'insulite sulle β cellule è aumentata in modo esponenziale con l'incremento dell'accesso al pancreas da parte di donatori affetti da diabete di tipo 1.
Queste informazioni però non sono completamente attendibili in quanto non si conoscono le condizioni dei donatori.
Ci sono fattori che potrebbero andare ad influenzare alcune osservazioni fatte sui pancreas in termini di effetto dello stress.
Tra questi si hanno:

- la causa di morte,
- la presenza di morte cerebrale,

- la permanenza e il trattamento all'interno della terapia intensiva,
- la chetoacidosi,
- l'ischemia da freddo,
- lesioni,
- stress.

L'aumento di marcatori specifici delle proteine non ripiegate nelle β cellule, come conseguenza della risposta allo stress durante l'insulite, indica che vengano attivati meccanismi adattivi per aiutare le β cellule a fronteggiare la pressione ambientale.
Le cellule β stressate hanno una percentuale di traduzione cellulare complessiva ridotta. Esse attivano la degradazione delle proteine accumulate nel reticolo endoplasmatico (ER) aumentando il tasso di traduzione dei chaperoni e promuovendo l'autofagia per tornare all'omeostasi cellulare normale.
Oltre ad una funzione citoprotettiva è noto che, l'attivazione dei sensori di stress del reticolo endoplasmatico porta ad una cascata di eventi che promuovono (figura 1):

- l'apoptosi diretta attraverso l'attivazione della via IRF-STAT,
- la necrosi tramite l'attivazione di TNFR1-RIP1,
- la necrosi tramite l'aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno.

Questa serie di eventi porta all'amplificazione dell'infiammazione e alla distruzione delle cellule β dando il via alla comunicazione con altre cellule endocrine e cellule immunitarie residenti.
Il decadimento delle cellule β indotte dallo stress spinge le cellule β a un fenotipo secretorio associato alla senescenza, questo è correlato con l'infiltrazione intra-insulare di CD45+ in pazienti affetti da diabete di tipo 1.

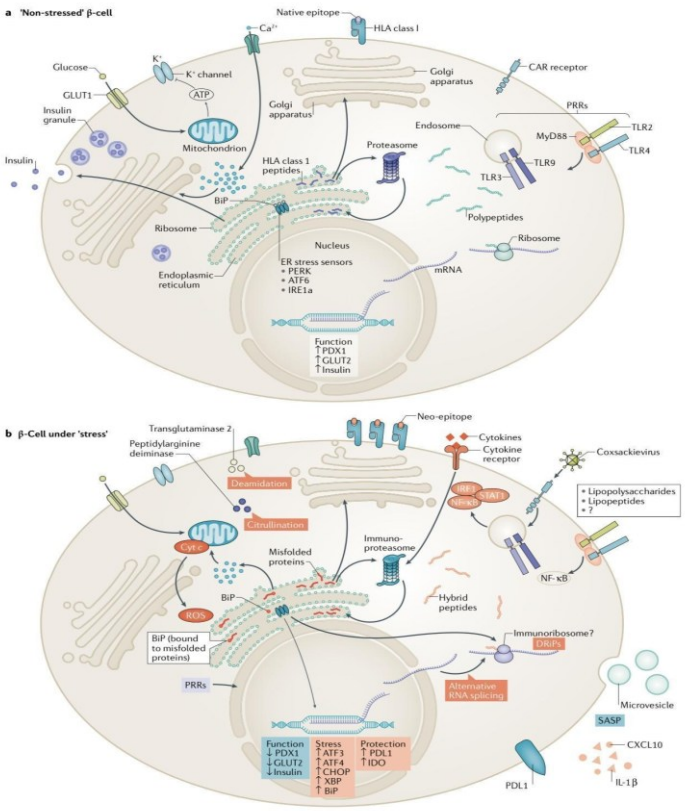

Figura 5. Effetto dello stress sulla funzione delle β cellule e sull'immunogenicitá. Nelle cellule β non stressate (***a***) l'assorbimento di glucosio avviene attraverso il trasportatore GLUT-4 che porta alla formazione di piruvato attraverso la glicolisi e all'aumento di ATP da parte dei mitocondri. Con l'aumento di ATP a livello citosolico avviene la chiusura dei canali del potassio, la depolarizzazione della membrana e l'apertura dei canali del calcio voltaggio dipendenti. Questo processo innesca l'esocitosi dei granuli contenenti insulina. Durante questo processo la preproinsulina non traslocata, il peptide segnale dell'insulina presente nel reticolo endoplasmatico (ER) e le molecole di proinsulina non mature vengono degradate attraverso il proteosoma direttamente o dopo la retro-trascrizione e sono presentate sull'HLA di classe I sulla superficie cellulare.

Nel diabete di tipo 1 (***b***) le citochine determinano profondi cambiamenti nell'espressione genica e proteica attraverso l'attivazione delle vie STAT1, IRF1, NF-kB; queste determinano l'iperespressione di HLA di classe I e anche l'espressione in superficie di recettori inibitori (PDL1). In condizioni di stress l'assorbimento di calcio è responsabile dell'aumento della permeabilità dei mitocondri che va a determinare il

rilascio di fattori pro-apoptotici come specie attive dell'ossigeno (ROS) e il citocromo C. Il reclutamento di chaperoni dell'ER (proteina legante BiP) in risposta all'accumulo di proteine mal ripiegate porta all'attivazione di sensori (PERK, IRE1 e ATF6) espressi sulla superficie della membrana dell'ER. Durante lo stress le normali attività di trascrizione, traduzione e degradazione vengono alterate generando splicing alternativi dell'RNA, prodotti ribosomiali difettosi e peptidi ibridi. Immagine tratta da Bart O. Et al. Nature reviews (2021)

Le β cellule sono più sensibili delle α agli stimoli ambientali, questo lo si è potuto osservare da studi condotti su isole sottoposte a stress metabolico che imitano le condizioni fisiopatologiche del diabete di tipo 2.
Le grandi capacità delle β cellule di produrre fino a 1 milione di molecole di insulina in un minuto e di aumentarne la produzione fino a 50 volte in risposta al glucosio, unito alla bassa espressione della superossido dismutasi e del fattore anti-apoptotico BCL-2, rendono le β cellule scarsamente predisposte per sopravvivere in un ambiente infiammatorio.

Studi sull'insulite umana hanno dimostrato che i "segnali di pericolo" provenienti dalle cellule β stressate potrebbero precedere l'insulite.
Tra questi segnali è stata riscontrata una iper-espressione dell'HLA di classe I (e forse anche HLA di classe II) nel pancreas di pazienti con diabete di tipo 1 recentemente diagnosticato.
Inoltre, gli isolotti secernono la chemochina CXCL10; questa attrae verso la lesione leucociti che esprimono il suo recettore CXCR3.
La produzione di chemochine da parte delle cellule β stressate potrebbe essere un segnale generale di avvio dell'infiammazione delle isole.
L'insulite, quindi, non porta solo alla disfunzione delle cellule β ma anche ad una maggiore visibilità di esse alla vigilanza immunitaria.
Questa caratteristica ha attirato l'attenzione di diverse industrie farmaceutiche, in quanto, potrebbe essere un'opportunità di terapia alternativa per la cura del diabete di tipo 1.
Altri interventi alternativi potrebbero essere quelli indirizzati alla riduzione dello stress sulle cellule β.

2.3 Processi di segnalazione cellulare coinvolti durante la distruzione delle cellule β: attivazione di cellule T, rilascio di citochine e morte cellulare.

Durante la progressione della malattia le cellule immunitarie si infiltrano nelle isole pancreatiche prendendo di mira le cellule β, produttrici di insulina, creando conseguentemente un ambiente infiammatorio caratteristico dell'insulite (processo distruttivo delle cellule β).
Questo processo innesca ed accelera la progressione del diabete di tipo 1, incrementando l'esposizione degli antigeni nell' isolotto presentati dalle molecole HLA di classe I del sistema immunitario.
Questo porta a vari processi di segnalazione tra cui l'attivazione delle cellule immunitarie T, la segnalazione delle citochine e percorsi di morte cellulare.

2.3.1 Cellule T

Le cellule T autoreattive delle isole sono comuni nella popolazione sana, 9 individui su 10 con autoanticorpi delle isole non svilupperanno mai il diabete di tipo 1. Tuttavia, alcuni pazienti con diabete di tipo 1 presentano un'autoimmunità trascurabile delle cellule T.

L'attivazione dei linfociti T è uno dei processi più critici ed essi svolgono un ruolo cruciale nel riconoscere ed attaccare le cellule β nel sangue. ***(Figura 2)***

La presenza delle cellule T CD4 e CD8 autoreattive isole-specifiche nei linfonodi pancreatici drenanti, nelle lesioni insuliniche e nel sangue periferico ha dato prova che il T1DM è una malattia autoimmune caratterizzata dal fatto che essa è causata da un'alterazione dell'educazione timica, (o selezione timica, è un processo che avviene nel timo ed è quello responsabile nel far avvenire una risposta immunitaria contro proteine estranee) un processo responsabile dell'attacco immunitario diretto contro le cellule responsabili della produzione di insulina.
La frequenza di queste cellule autoreattive nel sangue periferico però è bassa e molto simile nei pazienti sani e in quelli affetti da diabete di tipo 1.

La regolazione periferica o attivazione di queste cellule T autoreattive necessita però di una regolazione differente nei pazienti con T1DM, in quanto le cellule T regolatorie (Treg) hanno un ruolo importante nel reprimere queste cellule T autoreattive.

È stato dimostrato che la presenza di queste cellule è simile nei pazienti di controllo e in quelli affetti da diabete di tipo 1, la differenza sta nel fatto che nei pazienti con T1DM la capacità è ridotta.

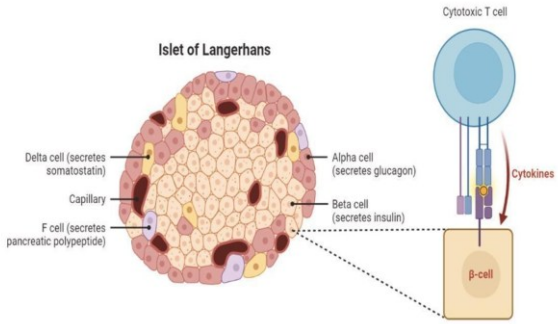

Figura 6. Distruzione delle cellule β del pancreas, le cellule T prendono di mira le cellule β, che producono insulina all'interno delle isole di Langherans, distruggendole e causando la perdita della loro funzionalità e compromettendo la produzione di insulina. Immagine tratta da Singh et al. (2023).

L'attivazione di queste cellule T avviene in seguito ad un'articolata serie di eventi che coinvolgono:

- l'impiego del recettore delle cellule T(TCR);
- la co-stimolazione da parte delle cellule che presentano l'antigene;
- la segnalazione di citochine.

L'interazione tra TCR ed il suo ligando, il peptide-MHC, innesca molte vie di segnalazione intracellulare tra cui l'attivazione di proteine tirosin-chinasi (PTK), ovvero ZAP-70 e Lck.
Queste protein-chinasi (PTK) di conseguenza attivano la cascata di segnalazione a valle; in questa è compresa l'attivazione della fosfolipasi C-gamma (PLC-*γ)* con conseguente

produzione di inositolo trifosfato e diacilglicerolo, il rilascio di ioni calcio e l'attivazione della proteina chinasi C.
Infine, avviene l'attivazione e la proliferazione delle cellule T che andranno a contribuire alla distruzione delle cellule β.
Queste cellule immunitarie T, in seguito alla loro attivazione, rilasciano citochine che vanno ad agire come molecole di segnalazione per regolare la risposta immunitaria.

2.3.2 Citochine: attivazione ed effetti su cellule β

Il rilascio delle citochine avviene in seguito all'attivazione delle cellule T autoreattive e da parte dei macrofagi.
Tra le citochine che vengono attivate ci sono:

- l'interleuchina-1 (IL-1)
- l'interleuchina-6 (IL-6)
- il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-α)

Il processo di segnalazione delle citochine è mediato da specifici recettori sulla superficie cellulare, come ad esempio il recettore dell'IL-1 (IL-1R), che vanno ad attivare di conseguenza vie di segnalazione a valle come la via JAK-STAT portando all'espressione di geni pro-infiammatori.
Le citochine poi possono attivare la via NF-kB che promuove di conseguenza la produzione di ulteriori citochine e chemochine amplificando ancor di più la risposta infiammatoria con conseguente distruzione delle cellule β innescandone la morte cellulare.

Le citochine che agiscono sulle cellule β non si limitano solo ad aumentare la densità di peptidi-HLA sulla superficie cellulare, ma vanno ad influenzare anche la natura dei peptidi presenti.
Al momento sono stati riconosciuti diversi autoantigeni di cui molti peptidi derivano da proteine native, ma alcuni possono derivare da una nuova gamma di neo-antigeni che è stata riconosciuta.

Sono prodotti proteici derivanti da mutazioni, frameshift, splicing alternativo dell'mRNA e modifiche post-traduzionali ed è emerso che queste vanno ad attivare fortemente la risposta del sistema immunitario.
In condizioni infiammatorie l'aumento degli eventi di splicing misurato da RNA-seq nelle isole umane combinato con un'alterazione della traduzione e l'aumento dell'attività degli enzimi post-traduzionali, come le arginine deaminasi e la transglutaminasi tissutale, contribuiscono alla diversitá del proteoma delle isole.
Diversi studi hanno dimostrato che il basso tasso di espressione nella maggior parte di questi neo-antigeni è probabilmente vicino ai limiti di sensibilità nelle analisi proteomiche; la conseguenza, quindi, è che potrebbero non essere rilevati.
La sintesi di neo-antigeni potrebbe richiedere un'esposizione cronica alle citochine e di conseguenza le cellule immunitarie che producono citochine pro-infiammatorie potrebbero causare un ulteriore stress alle cellule β.
È interessante anche notare che le cellule dendritiche possono convertire gli autoantigeni nativi delle isole in neo-antigeni immunogenici e questo va a ad evidenziare un possibile ruolo di espansione dell'autoimmunità delle isole.
Questi studi hanno rilevato possibili nuovi meccanismi dove peptidi ibridi vengono generati dalle cellule β durante la proteolisi nel proteasoma. Qui alcuni frammenti proteici possono essere trattenuti e legati ad altri peptidi in un processo chiamato splicing peptidico prima dell'azione su HLA.

L'esposizione alle citochine può portare a cambiamenti metabolici ed epigenetici sostanziali, come l'alterazione dei livelli di acetilazione e deacetilazione degli istoni e la struttura della cromatina nelle cellule β, esponendo promotori, potenziatori della risposta infiammatoria e loci di predisposizione genetica al diabete di tipo 1.

2.3.3 Macrofagi: ruolo all'interno della patologia di diabete di tipo 1

I macrofagi presenti negli isolotti hanno un ruolo di mediatori in quanto inglobano, elaborano e presentano prodotti catabolici che provengono dai granuli di insulina o prodotti trasportati dagli esosomi secreti dalle cellule β.
I macrofagi che si trovano negli isolotti vicino ai vasi sanguigni e a stretto contatto con le cellule β formano strutture simili a sinapsi.

Questo può avere un ruolo importante nelle fasi effettrici del T1DM dato che secernono citochine pro-infiammatorie e radicali liberi innescando processi di infiammazione a valle di NF-kB e STAT1 e processi di apoptosi mediati da FAS nelle cellule β.
Oltre a queste azioni i macrofagi riconoscono i pattern molecolari associati ai patogeni o pattern molecolari associati ai tessuti danneggiati (DAMP) tramite i recettori Toll-like (TLR).
Uno studio che utilizzava campioni di biopsia pancreatica da pazienti con diabete di tipo 1 di recente insorgenza ha dimostrato che i macrofagi negli isolotti sono la principale fonte di citochine pro-infiammatorie rilasciate durante l'insulite.
Questo può presupporre che i macrofagi siano al centro della patologia.

È interessante porre attenzione su studi sperimentali che sono stati fatti su modelli murini suscettibili al diabete mellito autoimmune. Si può notare che i recettori appartenenti alla famiglia TLR in presenza di DAMP delle cellule β innescano il diabete di tipo 1; al contrario, in assenza dei corrispondenti ligandi gli stessi TLR esercitano tolleranza.
Tale scoperta dà luce all'importanza delle cellule β nell'equilibrio tra tolleranza ed autoimmunità.
Nei topi, invece, le terapie che agiscono sui macrofagi limitano la progressione della patologia.

2.3.4 Diverse vie di morte cellulare per le cellule β durante la progressione della patologia

L'attacco autoimmune alle cellule β pancreatiche durante la progressione del diabete di tipo 1 porta alla loro distruzione con la conseguente perdita di produzione di insulina.
Sono state studiate diverse vie di morte cellulare che hanno luogo durante la patologia.
Durante il T1DM le cellule β possono andare incontro a diversi percorsi di morte cellulare (figura 7), tra cui:

I. Apoptosi
II. Necrosi

III. Autofagia

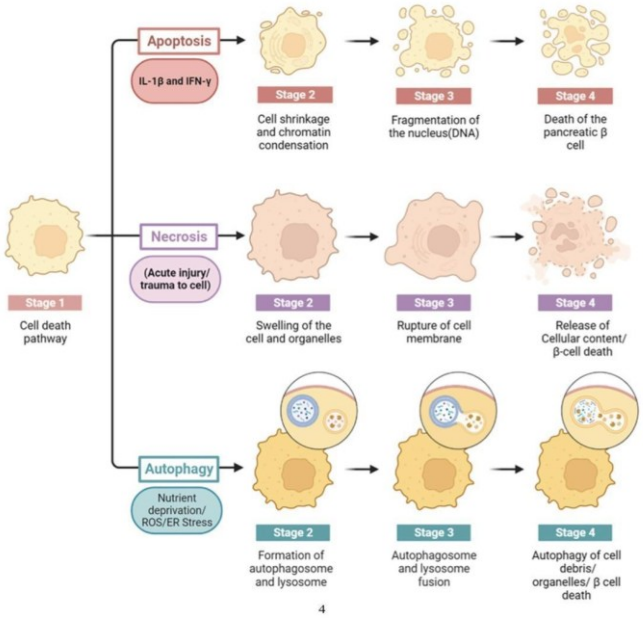

Figura 7. Percorsi di morte cellulare implicati nella distruzione delle cellule β pancreatiche nel diabete di tipo 1. Immagine tratta da Singh et al. (2023).

L'apoptosi è un percorso di morte cellulare "programmata" determinato da caratteristiche morfologiche specifiche come il restringimento e condensazione cellulare, citoplasma molto denso, lo smantellamento dell'involucro nucleare e da caratteristiche biochimiche tipiche come la frammentazione del DNA e delle proteine.
L'attivazione quindi dei processi apoptotici porta alla morte delle cellule β causata dalla scissione delle proteine cellulari e dalla frammentazione del DNA.
Questi processi vengono attivati da diversi fattori come citochine pro-infiammatorie (interleuchina-1β e interferone-γ), stress del reticolo endoplasmatico e da specie reattive dell'ossigeno.

La necrosi è caratterizzata dal rigonfiamento della cellula che porta alla rottura della membrana plasmatica e al conseguente rilascio del contenuto cellulare.
Questo fenomeno è causato da lesioni acute o da un trauma della cellula tipico della necrosi e va a scatenare infiammazione e l'attivazione del sistema immunitario.
Nel diabete di tipo 1 la necrosi può essere indotta da citochine, ipossia e stress ossidativo.

L’autofagia, invece, è un meccanismo di sopravvivenza ed in determinate condizioni puó portare alla morte cellulare. Questo processo cellulare va a scomporre i componenti cellulari danneggiati o indesiderati per riciclarli. L’autofagia nel diabete di tipo 1 puó essere indotta conseguentemente alla privazione di nutrienti, dallo stress ossidativo e dallo stress del reticolo endoplasmatico.

CAPITOLO III: Trattamento e gestione del diabete di tipo 1

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Farah Khan et al (2021), A.Singh te al (2023)

3.1 Insulina, terapia classica per il trattamento del diabete di tipo 1

Nei pazienti affetti da diabete di tipo 1 il pancreas non produce abbastanza insulina, quindi è necessario effettuare delle iniezioni di insulina o utilizzare microinfusori per l'insulina al fine di gestire i livelli di glucosio nel sangue.
I microinfusori di insulina permettono l'infusione di insulina 24h su 24h nel tessuto sottocutaneo.

L'insulina fu scoperta nel 1921 e questa fu considerata una delle più grandi conquiste scientifiche del XX secolo.
Lo sviluppo di insuline animali, alla fine degli anni '70, seguito dall'insulina umana all'inizio degli anni '80, portò ad una riduzione delle reazioni allergiche e della lipoatrofia nei pazienti affetti da diabete di tipo 1.

Un grande passo in avanti per il trattamento del diabete di tipo 1, avvenne con l'introduzione della prima generazione di analoghi dell'insulina, l'insulina Lispro, a metà degli anni '90 e l'insulina Glargine all'inizio degli anni 2000.
Possiamo dire quindi che il farmaco più comunemente prescritto per il diabete sia l'insulina.

Al giorno d'oggi esistono diverse classi di analoghi dell'insulina, per il trattamento del diabete di tipo 1, tra queste possiamo trovare:

- *Insuline basali ad azione ultra prolungata*

- *Insuline prandiali ad azione ultrarapida*

- *Insulina polmonare inalata (Tabella 4)*

Table 4 | Pharmacokinetics of commonly used insulin preparations				
	Half life*	Effective peak	Duration of action†[2]	Notes
Basal insulin type				
NPH	4.4 h	2-8 h	14-24 h	-
Insulin glargine U-100	12 h	No pronounced peak	20-›24 h	-
Insulin glargine U-300	19 h	No pronounced peak	30-34 h	Higher doses by 10-20% compared with U-100 glargine will be needed
Detemir	5-7 h	3-9 h	8-24 h	-
Degludec	25 h	No pronounced peak	42 h	-
Prandial insulin type				
Human regular	30 min	2-4 h	5-8 h	Times vary depending on site of injection
Insulin lispro and aspart	15-30 min	1-3 h	4-7 h	-
Fast acting aspart	16-20 min	1-1.5 h	4-5 h	-
Lispro-aabc	15-17 min	1-1.5 h	4-5 h	More infusion site skin reactions than lispro
Inhaled insulin	12 min	0.5-0.9 h	1.5-3 h	Often requires postprandial dosing

NPH=neutral protamine Hagedorn.
*In general, four half lives are needed to reach steady state.
†In general, the larger the dose, the longer the duration of action.

3.1.1. Insuline basali ad azione ultra prolungata

All'interno di questa categoria possiamo trovare:

- Insulina Degludec,
- Insulina Glargine U-100,
- Insulina Glargine U-300.

L'insulina Degludec è stata sviluppata con l'obiettivo di migliorare la durata d'azione e ottenere un profilo più "piatto "rispetto alle insuline a lunga durata d'azione, come l'insulina Glargine e l'insulina Detemir. (Tabella 4)
La durata d'azione di Degludec è di 42 ore, ciò significa che ha una variabilità giornaliera minore con conseguente minore ipoglicemia a differenza di insulina U-100 Glargine.

L'insulina Glargine U-300, invece, ha un profilo cinetico diverso e viene somministrata in un terzo del volume dell'insulina Glargine U-100 con effetti più lunghi e "piatti".
La somministrazione di un volume più piccolo dell'insulina Glargine U-300 determina un rilascio graduale e più lento dei monomeri di insulina; questo è dovuto alla ridotta area superficiale nello spazio sottocutaneo.
L'insulina Glargine U-300 provoca anche una minore ipoglicemia rispetto a U-100 Glargine.

3.1.2 Insuline prandiali ad azione ultra-rapida

Tra gli analoghi dell'insulina ad azione rapida sono presenti:

- Insulina Lispro,
- Insulina Aspart
- l'insulina Glulisina

Queste nuove insuline sono troppo lente per controllare il picco glicemico che si può osservare, ad esempio, con l'ingestione di un carico elevato di carboidrati; per questo si sono sviluppate insuline con un inizio d'azione ancora più rapido.

La prima insulina prandiale ultra-rapida disponibile è stata l'insulina Aspart ad azione rapida.
Questa insulina ha una velocità d'azione circa 2 volte più veloce dell'insulina Aspart (circa 5 minuti); la relazione dose-concentrazione e dose-risposta sono comparabili tra le due insuline.

Si può osservare che negli adulti con diabete di tipo 1 l'insulina Aspart ad azione rapida, assunta durante i pasti e dopo i pasti, ha determinato un controllo glicemico non inferiore dell'insulina Aspart assunta solo durante i pasti in combinazione con l'insulina basale. L'HbA1c media era pari a 7,3%, 7,3% e 7,4% nell'Aspart ad azione rapida al momento del pasto e Aspart ad azione rapida dopo i pasti.

Un ulteriore insulina prandiale ad azione ultra-rapida è l'Lispro-aabc.
L'obiettivo dello sviluppo dell'insulina Lispro fu quello di creare delle insuline che si adattassero meglio all'assorbimento degli alimenti.
Nei primi studi cinetici effettuati, si è notato che, l'insulina Lispro-aabc è apparsa nel siero cinque minuti più velocemente con un'esposizione di 6,4 volte maggiore nei primi 15 minuti rispetto all'insulina Lispro.
Con questo studio si è potuto anche evidenziare che l'esposizione delle concentrazioni di insulina Lispro-aabc è stata di 51 minuti più rapida; comunque, l'esposizione complessiva all'insulina è stata simile tra i due gruppi.

Da un punto di vista clinico si può dire dunque che Lispro-aabc non è inferiore all'insulina Lispro, ma l'iperglicemia post-prandiale è inferiore con l'analogo ad azione più rapida (Lispro-aabc).
Somministrando Lispro-aabc al momento del pasto si ha un miglioramento della glicemia post-prandiale.
Entrambe le insuline ad azione ultra rapida possono essere utilizzate nei microinfusori di insulina. L'insulina Lispro-aabc tende ad avere più reazioni nel sito di inserimento rispetto all'insulina Lispro.

3.1.3 Insulina polmonare inalata

L'insulina ad azione più rapida è l'insulina polmonare utilizzata per via inalatoria.
Questa ha un inizio di durata di 12 minuti e una durata di 1,5-3 ore. Se viene utilizzata con un dosaggio addizionale post prandiale, il controllo del glucosio migliora senza che ci sia un aumento dell'ipoglicemia.

3.2 Sistemi di monitoraggio e gestione dei livelli di glucosio nel diabete di tipo 1

Il controllo e la gestione della glicemia, da parte dei pazienti affetti da diabete di tipo 1, sono migliorati molto nel corso degli anni; questo anche grazie all'introduzione di sistemi digitali.
Al giorno d'oggi, quindi, la gestione digitale della salute svolge un ruolo fondamentale nella cura e gestione del diabete di tipo 1.
I recenti progressi tecnologici, come il monitoraggio continuo della glicemia (CGM) e le pompe o microinfusori di insulina, permettono di alleviare il peso dell'autogestione del diabete ed hanno dimostrato un miglioramento nel controllo glicemico oltre che una riduzione del rischio di ipoglicemia grave che si riscontra rispetto al classico automonitoraggio della glicemia (BGM).

I microinfusori di insulina forniscono una somministrazione automatizzata dell'insulina ma il loro utilizzo non è molto diffuso a causa del costo, della copertura assicurativa variabile e degli ostacoli dati dalle autorizzazioni.

Oggigiorno le penne per l'insulina intelligente ed il pancreas artificiale (o sistema AID) stanno attirando l'attenzione per quanto riguarda l'autogestione del TD1M.

3.2.1 Insulina intelligente

L'insulina intelligente è una nuova classe di analoghi dell'insulina avente lo scopo di imitare la secrezione naturale di insulina dell'organismo come risposta ad alti livelli di glucosio nel sangue.
Nel 2017 la Food and Drug Administration (FDA) Statunitense ha approvato l'uso della prima penna per l'insulina intelligente.
Le insuline intelligenti sono formulazioni composte da una serie di componenti fondamentali, come: connettività wireless in tempo reale, acquisizione digitale della dose, connessione in tempo reale con i dispositivi di rilevamento del glucosio ed integrazione con il supporto decisione per il dosaggio dell'insulina.
Sono quindi progettate per autoregolare il rilascio di insulina in base ai livelli di glucosio nel sangue.

Tra le insuline intelligenti troviamo l'insulina sensibile al glucosio (GRI).
Queste insuline sensibili al glucosio (GRI) contengono appunto elementi sensibili al glucosio che determinano il rilascio di insulina in risposta all'iperglicemia.
Questi sistemi offrono diversi vantaggi, ad esempio:

- un miglior controllo glicemico,
- un minor rischio di ipoglicemia,
- una maggior aderenza del paziente alle terapie,
- migliore qualità della vita del paziente

Inoltre, queste insuline intelligenti (GRI) sono progettato per eliminare la necessità di effettuare iniezioni multiple durante la giornata, attraverso lo sviluppo di formulazioni a lunga durata d'azione che regolano il rilascio di insulina in base ai livelli di glucosio nel tempo.

3.2.2 Sistemi CGM e AID per la gestione e il monitoraggio della glicemia

Al giorno d'oggi, in molte parti del mondo il BGM (monitoraggio della glicemia effettuata direttamente dal sangue) è stato sostituito da CGM.
I sistemi CMG sono diventati uno standard per il monitoraggio del glucosio e sono utilizzati nella maggior parte degli adulti affetti da diabete di tipo 1.
Questa tecnologia utilizza la concentrazione di glucosio nel fluido interstiziale per stimare la glicemia, con questo sistema si ha la possibilità di avere una misurazione continua della glicemia.
Sono disponibili due tipologie di CGM:

I. ***CGM in tempo reale:*** fornisce un flusso continuo di dati sul glucosio a un ricevitore che può essere un'applicazione mobile, uno smartwatch o un microinfusore.

II. ***CGM a scansione intermittente:*** deve essere scansionato da un dispositivo di lettura o da uno smartphone.

Entrambe le tipologie di CGM, quando utilizzate assieme a microinfusori per l'insulina o con iniezioni multiple giornaliere di insulina, hanno dimostrato solo modesti miglioramenti dei livelli di emoglobina glicata nel sangue (Hba1c). D'altra parte, però, si sono evidenziati miglioramenti per quanto riguarda il tempo trascorso nell'intervallo ipoglicemico rispetto ai dati che si ricavano dal solo utilizzo dell'automonitoraggio della glicemia (BGM); riducendo in questo modo il rischio di ipoglicemia grave.
Questo non ha migliorato d'altro canto il peso della gestione del diabete, poiché sono necessari frequenti controlli da parte del paziente.

Metric	Target: most adults with type 1 diabetes	Target: older "high risk" individuals with type 1 diabetes
No of days sensor is worn	≥14 days	≥14 days
Glucose management indicator	<7%	Individualized
Time in range	<70%	>50%
Time below range <70 mg/dL (level 1 and level 2 hypoglycemia)	<4%	<1%
Time below range <54 mg/dL	<1%	<1%
Time above range >180 mg/dL	<25%	-
Time above range >250 mg/dL	<5%	<10%
Coefficient of variation	<36%*	<36%*

*No consensus on this value; lower number indicates lower risk of hypoglycemia.

*Tabella 5***.** dimostrazione delle metriche e gli obiettivi standard per i dati CGM.

I miglioramenti esponenziali nelle tecnologie CGM e negli algoritmi delle pompe di dosaggio dell'insulina dell'ultimo decennio, hanno reso possibile lo sviluppo di sistemi AID che consentono di ridurre al minimo il carico di somministrazione di insulina e migliorare, di conseguenza, la qualità di vita del paziente.

Non tutti i pazienti affetti da diabete di tipo 1, però, desiderano utilizzare queste nuove tecnologie, in quanto, indossare un dispositivo può essere scomodo o il costo non è accessibile a tutti.
Per i pazienti che non desiderano utilizzare un dispositivo CGM, pertanto, è necessario una misurazione con un dispositivo BGM prima dei pasti e prima di andare a dormire

È importante che, con la valutazione dei rapporti retrospettivi e l'osservazione del CGM in tempo reale, si offra al paziente una valutazione in merito: al dosaggio di insulina, alle scelte alimentari e all'esercizio fisico.
É importante, inoltre, che i pazienti siano incoraggiati a valutare i propri dati regolarmente per comprendere al meglio la propria autogestione del diabete.

3.2.2.1 Sistemi AID per la gestione del diabete di tipo 1

I sistemi AID, ovvero sistemi insulinici a circuito chiuso, chiamati anche pancreas artificiale; sono dispositivi medici che includono tre componenti:

1. Una pompa per l'insulina che eroga insulina ad azione rapida

2. Un sensore continuo del glucosio che misura il glucosio nel fluido interstiziale a intervalli frequenti

3. Un algoritmo di controllo, che regola continuamente l'erogazione di insulina che risiede in una pompa per insulina, un dispositivo portatile o un'applicazione per lo smartphone.

(Figura 8)

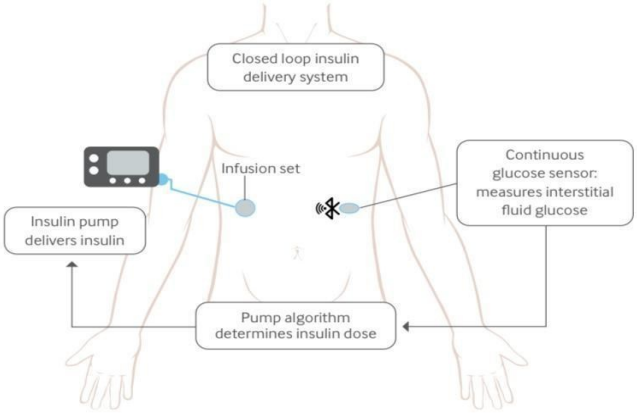

Figura 8: schema della tecnologia del microinfusore di insulina ad anello chiuso. È presente un monitor continuo del glucosio che rileva le concentrazioni di glucosio interstiziale e invia informazioni via bluetooth ad un algoritmo di controllo presente nel microinfusore di insulina (o su smartphone o un dispositivo portatile). L'algoritmo calcolerà di conseguenza la quantità di insulina necessaria. Il microinfusore di insulina somministrerà dunque l'insulina ad azione rapida per via sottocutanea. Immagine tratta da Savitha Subramanian, Farah Khan, Irl B Hirsch, Diabetes Care (2021).

Questi sistemi AID permettono la somministrazione automatica di insulina sensibile al glucosio.
La somministrazione automatica di insulina viene regolata grazie ai dati del CGM, che informano e ne consentono la regolazione della somministrazione durante il giorno.
I primi sistemi AID hanno ridotto il rischio di ipoglicemia sospendendo automaticamente la somministrazione di insulina quando le concentrazioni scendono al di sotto di una soglia predefinita.
Grazie agli algoritmi più complessi che regolano automaticamente la somministrazione di insulina, in risposta alle concentrazioni di glucosio del sangue in tempo reale, ora si può replicare in modo preciso la normale fisiologia del pancreas endocrino.
Proprio per questo, questi sistemi AID sono anche chiamati "pancreas artificiale".

Variable	Medtronic 670G/780G AHCL	Tandem Control-IQ	CamAPS FX	Diabeloop DBLG1	Omnipod 5 HCL	iLet Betabionics
Licensed countries	USA, Canada, and Europe	USA, Canada, and Europe	Europe, Canada, and Australia	Europe	USA and Europe	USA
Algorithm location	Integrated in pump	Integrated in pump	App based	App based	Pod based	App based
Compatible CGM system	Guardian 3,4	Dexcom G6	Dexcom G6	Dexcom G6	Dexcom G6	Dexcom G6
Compatible insulin pump	Medtronic 670G or 780 G	T:Slim X2	Dana RS and Dana-i Ypso Pump	Accucheck Insight Kaleido	Omnipod	iLet
Type of algorithm	PID	MPC	MPC	MPC	MPC	MPC
Approved for ages	≥7 years	≥6 years	≥1 year	≥18 years	≥2 years	≥6 years

CGM=continuous glucose monitoring; MPC=model predictive control; PID=proportional integrative derivative.

Tabella 6. indica il confronto tra i vari sistemi ibridi ad anello chiuso disponibili in commercio

Il pancreas bionico iLet, approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) statunitense nel maggio del 2023, è un ulteriore sistema AID che determina tutte le dosi terapeutiche di insulina per un individuo sulla base del peso corporeo; eliminando quindi la necessità di calcolare i rapporti insulina/carboidrati, le correzioni della glicemia, le dosi di bolo di insulina e le velocità basali.
Gli algoritmi di controllo si adattano in modo autonomo e continuo alle esigenze di insulina dell'individuo.

In uno studio clinico randomizzato di 16 settimane è stato rivelato che l'uso di un sistema pancreas artificiale aiuta a migliorare il controllo glicemico nei bambini con diabete di tipo 1.
In un ulteriore studio clinico a lungo termine, l'uso di un sistema a pancreas artificiale ha migliorato il controllo glicemico e ridotto il rischio di ipoglicemia negli adulti con diabete di tipo 1 nell'arco dei 6 mesi.
Questi risultati pertanto suggeriscono che un sistema pancreas artificiale potrebbe offrire benefici significativi per gli individui affetti da diabete di tipo 1.

Molti sistemi AID disponibili oggi sono denominati sistemi a circuito chiuso "ibridi" (HCL) in quanto il paziente deve inserire manualmente il bolo di insulina prandiale, ma l'erogazione di insulina è automatizzata di notte e durante i pasti.
Le limitazioni degli attuali sistemi HCL sono principalmente legate alla farmacocinetica ed alla farmacodinamica delle insuline analoghe disponibili e all'accuratezza del CGM.

Indipendentemente dal tipo utilizzato, tutti i sistemi AID hanno mostrato benefici nel controllo glicemico, migliorando la qualità della vita, la qualità del sonno e riducendo l'ansia e il peso del diabete negli adulti e nei bambini.

3.3 Terapie aggiuntive per il diabete di tipo 1

Le terapie aggiuntive per il diabete di tipo 1 sono state prese in considerazione a causa dei problemi che riguardano la somministrazione di insulina, l'adeguatezza della gestione glicemica, gli effetti collaterali associati all'insulina; in particolare l'ipoglicemia e l'aumento di peso.
Almeno il 50% delle persone affette da diabete di tipo 1 sono obese o in sovrappeso e questo rappresenta un'esigenza insoddisfatta per quanto riguarda la gestione del peso in queste persone.
L'aumento del rischio cardiovascolare, nonostante ci sia una buona gestione della glicemia, presenta ulteriori sfide per queste persone. L'uso dunque di terapie adiuvanti può aiutare ad affrontare questi problemi.

3.3.1 Metformina

La metformina ha dimostrato di essere utile per ridurre le dosi di insulina ed eventualmente migliorare il controllo metabolico nelle persone con diabete di tipo 1 obese o in sovrappeso.
Una delle sue funzioni è quella di diminuire la produzione epatica di glucosio e questo potrebbe essere utile per ridurre le concentrazioni di glucosio a digiuno.

Una meta analisi di 19 studi RCT, evidenzia un miglioramento a breve termine dell'HbA1c che non si mantiene dopo tre mesi, a questo può associarsi all'insorgenza di effetti collaterali gastrointestinali.
Non è presente nessuna prova che la Metformina riduca la morbilità cardiovascolare nel diabete di tipo 1.
Proprio per la mancanza di benefici effettivamente dimostrati, l'aggiunta della metformina al trattamento non è raccomandata nelle linee guida di consenso.

3.3.2 Agonisti del recettore del peptide simile al glucagone: GLP-1

Il GLP-1 è un ormone della famiglia delle incretine che viene secreto dalle cellule L-intestinali in risposta all'ingestione di nutrienti e questo:

- aumenta la secrezione di insulina indotta dal glucosio,
- sopprime la secrezione di glucagone,
- ritarda lo svuotamento gastrico e induce sazietà.

Il GLP-1 favorisce la proliferazione delle cellule β e inibisce l'apoptosi, portando all'espansione della massa delle cellule β.
La secrezione del GLP-1 nei pazienti con diabete di tipo 1 è molto simile a quella osservata nelle persone senza diabete.

L'uso di agonisti del recettore GLP-1 può essere utile per la perdita di peso e per la riduzione delle dosi di insulina in pazienti con diabete di tipo 1.
Gli agonisti del recettore GLP-1 non sono un'opzione di trattamento raccomandata nel diabete di tipo 1.

I primi studi RCT su Liraglutide, un agonista del recettore GLP-1, hanno evidenziato una perdita di peso ed una modesta riduzione dell'HbA1c nei pazienti.
L'assunzione di Liraglutide 1,8 mg in persone con diabete di tipo 1 e con un peso corporeo maggiore ha evidenziato una riduzione dell'HbA1c, del peso e del fabbisogno di insulina senza aumentare il rischio di ipoglicemia.
Nonostante ciò, basandosi sui risultati di uno studio su l'Exenatide, ulteriore agonista del recettore GLP-1, cha mostrato risultatti simili, questi effetti potrebbero essere non duraturi nel tempo.

Una meta-analisi di 24 studi che includevano 3377 partecipanti ha dimostrato che la diminuzione media dell'HbA1c a seguito dell'assunzione di agonisti del recettore GLP-1 rispetto al placebo era più alta per la Liraglutide 1,8 mg al giorno.
La perdita di peso stimata come conseguenza dell'assunzione di agonisti del recettore GLP-1, rispetto al placebo, è migliore per Liraglutide con -4,89 Kg e per Exenatide con -4,06 Kg.

Non è stato pertanto osservato alcun aumento dell'ipoglicemia grave ma a questa terapia sono stati associati livelli più elevati di nausea.

La Semaglutide, ulteriore agonista del recettore GLP-1, è in fase di studio all'interno di due studi clinici.

3.3.3 Inibitori del co-trasportatore sodio-glucosio: SGLT-2

Il co-trasportatore sodio-glucosio 2 (SGLT2), una proteina espressa nel tubulo contorto prossimale del rene, riassorbe il glucosio filtrato. La sua inibizione impedisce il riassorbimento del glucosio nel tubulo ed aumenta l'escrezione del glucosio da parte del rene.
L'azione di questi agenti è indipendente dall'insulina; quindi, questa classe di farmaci ha la particolarità di essere utilizzata come terapia aggiuntiva per il diabete di tipo 1.

Alcuni studi clinici hanno mostrato un beneficio significativo negli esiti cardiovascolari e renali nel diabete di tipo 2; esiste però un notevole interesse anche per le terapie del diabete di tipo 1.

Diversi inibitori SGLT-2 disponibili sono stati studiati nel diabete di tipo 1 e hanno mostrato risultati promettenti; con prove di riduzione del dosaggio totale giornaliero di insulina, miglioramento dell'HbA1c, riduzione dell'ipoglicemia e del peso corporeo.
Ad ogni modo, questi effetti non sembrano essere mantenuti per molto tempo e sembrano scemare nel tempo.
Per quanto siano stati evidenziati effetti benefici, è stata anche osservata un'incidenza aumentata di chetoacidosi diabetica in tutti gli studi.

Gli studi clinici su l'Empagliflozin a basso dosaggio hanno mostrato tassi inferiori di chetoacidosi diabetica.
Sono stati osservati profili di rischio importanti in Giappone, dove l'uso degli inibitori SGLT-2 sono approvati come terapia aggiuntiva nel diabete di tipo 1.
Negli Stati Uniti, gli inibitori SGLT-2, sono stati approvati solamente per la terapia del diabete di tipo 2.

In Europa, invece, sebbene il dapagliflozin sia stato approvato per l'uso come terapia aggiuntiva all'insulina negli adulti con diabete di tipo 1, il produttore ha ritirato l'indicazione per il farmaco nel 2021.

Un inibitore duale di SGLT-1 e SGLT-2, il Sotagliflozin, riduce il riassorbimento renale del glucosio attraverso l'inibizione sistemica di SGLT-2 e riduce l'assorbimento nell' intestino attraverso l'inibizione di SGLT-1, attenuando e ritardando in questo modo l'iperglicemia post-prandiale.
Studi sulla Sotagliflozin nel diabete di tipo 1 hanno dimostrato: una particolare riduzione dell'HbA1c, perdita di peso, minore necessità di insulina, minore ipoglicemia ma maggiore chetoacidosi diabetica rispetto al placebo.
Questo farmaco ha ottenuto l'autorizzazione nell'UE per l'uso nel diabete di tipo 1 ma non viene commercializzato.
Anche se gli inibitori di SGLT-2 sono efficaci nella gestione del diabete di tipo 1, il rischio di chetoacidosi diabetica rimane una limitazione importante legata all'uso di questi farmaci.

3.4 Terapie alternative per la gestione del diabete di tipo 1: β-terapie di sostituzione cellulare

Per pazienti con diabete di tipo 1, che soddisfano specifici criteri clinici, può essere presa in considerazione la terapia sostitutiva delle cellule β attraverso il trapianto di pancreas intero o delle isole pancreatiche.
I benefici del trapianto possono includere:

- immediata cessazione della terapia insulinica,
- raggiungimento dei valori normali di glicemia,
- si evita l'ipoglicemia,
- migliore qualità della vita,
- stabilizzazione delle complicazioni

Tuttavia, è stata suggerita come potenziale strumento per la terapia del diabete la terapia cellulare combinata che include diverse tipologie di terapie tra cui: la terapia genica, l'incapsulamento cellulare, la terapia con cellule staminali.

3.4.1 Trapianto di pancreas

Il trapianto di pancreas intero richiede un complesso intervento chirurgico addominale e una terapia immunosoppressiva per tutta la vita; è limitato, inoltre, dalla disponibilità di donatori di organi.
La maggior parte dei trapianti di pancreas intero viene eseguita insieme ad un trapianto di rene per nefropatia diabetica allo stadio terminale.
I trapianti di pancreas, appunto, possono essere eseguiti:

- simultaneamente utilizzando due organi dello stesso donatore; trapianto simultaneo di pancreas e rene: SPKT,

- può avvenire inizialmente il trapianto di rene e subito dopo trapianto di pancreas: PAKT,

- il trapianto può avvenire eseguendo un trapianto solo del pancreas.

La sopravvivenza dei pazienti che hanno subito il trapianto SPKT, a cinque anni dall'intervento, è dell'80% ed è superiore rispetto a PAKT (67%) o dei soli trapianti di pancreas (62%).

Sono stati condotti degli studi in grandi centri in cui viene eseguito l'SPKT e questi dimostrano che ci si può aspettare grandi miglioramenti metabolici, ad esempio, il miglioramento dell'ipoglicemia per almeno 5 anni.

3.4.2 Trapianto di cellule insulari

La terapia cellulare per il diabete può comportare il trapianto di cellule insulari o pancreatiche o cellule β.

Il trapianto di isole pancreatiche comporta il trapianto di cellule insulari dal pancreas di un donatore sano in un paziente affetto da diabete di tipo 1.
Questa tipologia di intervento viene effettuata su pazienti selezionati, affetti da diabete di tipo 1, caratterizzati da inconsapevolezza dell'ipoglicemia e da gravi episodi ipoglicemici, per aiutare a ripristinare la risposta delle cellule.
Prima di eseguire effettivamente il trapianto di cellule insulari è necessario affrontare diverse fasi per isolare, purificare, coltivare ed infine infondere gli isolotti.
Per affrontare questi interventi, perciò, sono necessari più donatori al fine di fornire abbastanza cellule insulari per superare la perdita che si ha durante il trapianto.

Tuttavia, il trapianto di cellule insulari è associato a svantaggi come la limitata sopravvivenza degli innesti di isolotti, il numero limitato di donatori, la necessità di un gran numero di cellule e l'esigenza di una terapia immunosoppressiva per tutta la vita.
È stato dimostrato che con questa metodologia si migliora il controllo del glucosio e si riduce il rischio di ipoglicemia grave negli individui affetti da diabete di tipo 1.

Negli Stati Uniti, il trapianto di isole pancreatiche è ancora sperimentale ed il servizio viene offerto in alcuni centri specializzati nel Nord America, in alcune parti d'Europa ed in Australia.

3.4.2.1 Incapsulamento cellulare

L'incapsulamento cellulare è emerso come approccio promettente per il trapianto di cellule produttrici di insulina, senza l'utilizzo di farmaci immunosoppressori nei pazienti con diabete di tipo 1.
Questa tecnica prevede l'utilizzo di membrane semipermeabili per proteggere dal sistema immunitario le cellule trapiantate; consentendo il passaggio di nutrienti ed ossigeno.

In uno studio clinico l'impianto di cellule insulari incapsulate in alginato ha migliorato il controllo glicemico nei pazienti senza causare eventi avversi importanti.

È stato dimostrato, inoltre, che in uno studio clinico pilota, l'impianto di cellule insulari derivate da cellule staminali incapsulate in idrogeno ha migliorato il controllo glicemico nei pazienti affetti da diabete di tipo 1 senza causare eventi avversi importanti; le stesse cellule staminali incapsulate sono state utilizzate in uno studio preclinico per migliorare il controllo glicemico e prevenire l'attacco del sistema immunitario nei topi con diabete di tipo 1.

3.4.3 Terapia genica

Il termine terapia genica si riferisce all'inserimento di geni nelle cellule per correggere anomalie genetiche o migliorare la funzione cellulare.
Per gli individui con diabete di tipo 1, la terapia genica utilizza vettori virali per fornire geni che potenziano la crescita e la sopravvivenza delle cellule β o per silenziare i geni che contribuiscono alla distruzione delle cellule β.

La terapia genica che utilizza la glucochinasi è stata suggerita come potenziale trattamento per il diabete di tipo1, dato che la glucochinasi è un enzima che svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo del glucosio.
Pertanto, uno studio preclinico ha dimostrato che la terapia genica con glucochinasi ha migliorato l'omeostasi del glucosio e ha prevenuto lo sviluppo di diabete in modello murini.

D'altra parte, è noto che l'infiammazione svolge un ruolo chiave nella patogenesi del diabete di tipo 1; la terapia genica, dunque, che utilizza citochine anti-infiammatorie come l'interleuchina 10 (IL-10) è stata proposta come trattamento per il diabete di tipo1. Inoltre, le cellule T regolatorie (Treg) sono importanti nel sopprimere la risposta autoimmune che provoca la distruzione delle cellule β nel diabete di tipo 1.

Un ulteriore terapia genica che è stata proposta come potenziale trattamento per il diabete di tipo 1 è la terapia genica con cellule produttrici di insulina.

In uno studio preclinico, la terapia genica che utilizza cellule produttrici di insulina che sono state ottenute da cellule staminali embrionali umane ha prevenuto l'insorgenza di diabete in modelli murini e ha migliorato l'omeostasi del glucosio.

3.4.4 Terapia con cellule staminali

La terapia con cellule staminali è attualmente un'area di intensa esplorazione per quanto riguarda la terapia cellulare per il diabete di tipo 1.
L'obiettivo di queste terapie è quello di rivitalizzare le cellule β all'interno del pancreas utilizzando cellule staminali che possiedono la capacità di differenziarsi in una vasta gamma di tipi di cellule.

Le cellule staminali, dunque, sono cellule indifferenziate che possiedono la capacità unica di differenziarsi in tipi cellulari specializzati e di auto-rinnovarsi.
Esistono diverse tipologie di cellule staminali tra cui:

- cellule staminali embrionali (ESC),
- cellule staminali pluripotenti indotte(iPSC),
- cellule staminali adulte

Queste cellule staminali hanno un potenziale significativo per le applicazioni mediche, in particolare nella medicina rigenerativa e nelle terapie basate sulle cellule per diverse malattie.
I ricercatori stanno infatti studiando queste tipologie di cellule staminali con lo scopo di utilizzarle un giorno come possibile terapia per il diabete di tipo 1.
Fino ad ora, le sperimentazioni cliniche in fase iniziale hanno portato a risultati incoraggianti ma sono necessarie ulteriori indagini per accertare la sicurezza e l'efficacia della terapia basata su cellule staminali.

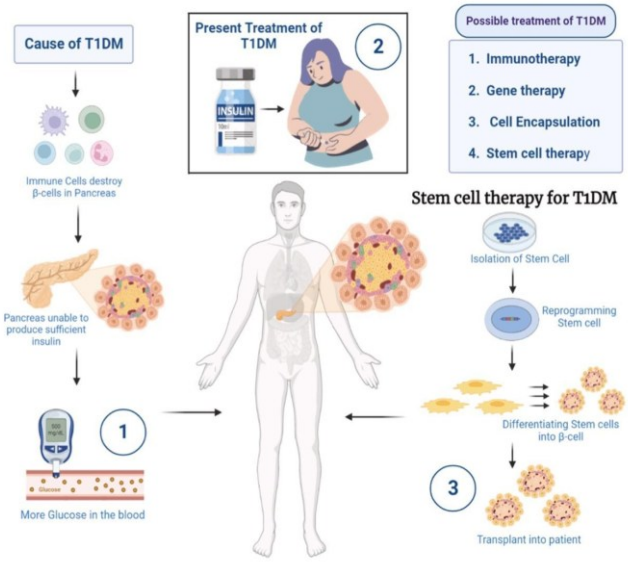

Figura 9*:* Terapie attuali e del futuro per il diabete di tipo 1: panoramica generale. Immagine tratta da A.Singh et Al. (2023).

CAPITOLO IV: Teplizumab, un anticorpo monoclonale come possibile nuova terapia per il diabete di tipo 1.

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da E.Kawasaki (2023) e Susan J. Keam (2023)

4.1 Relazione tra la presenza di autoanticorpi, distruzione di β-cellule e nuove terapie immunitarie

Come è stato illustrato precedentemente, il diabete di tipo 1 è una malattia autoimmune cronica, caratterizzata dalla progressiva distruzione delle cellule β pancreatiche che secernono insulina. Questo processo è mediato dalle cellule T effettrici CD4+ e CD8+ patogene; questo comporta la necessità di assumere insulina esogena per la sopravvivenza in quanto si ha una carenza di insulina endogena.
La distruzione delle cellule β inizia anni prima della comparsa dei sintomi clinici del diabete di tipo 1.
Le prove a sostegno che il diabete mellito sia una patologia autoimmune comprendono:

I. la presenza di infiltrazione linfocitaria intorno ed all'interno delle isole (insulite),

II. la comparsa di auto-anticorpi contro molteplici auto-antigeni delle isole,

III. la presenza di geni di suscettibilità alle malattie, sia legati al complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sia non legati a MHC,

IV. la maggiore propensione a sviluppare malattie auto-immuni multiple organo-specifiche.

Nella classificazione eziologica attuale del T1DM, esso è suddiviso in tipi immuno-mediati ed idiopatici. Si distinguono unicamente dalla presenza o l'assenza di autoanticorpi anti-insula nel sangue periferico.

Tuttavia, si ritiene che gli autoanticorpi anti-insula (GADA, IA-2A e ZnT8A) non causino direttamente la distruzione delle cellule β, ma che essi siano il prodotto della distruzione delle cellule β mediata dai linfociti T.
Pertanto, é stato dimostrato che la fuga di cellule T specifiche verso la periferia abbia ridotto il numero e la funzione di cellule T regolatorie; e che l'aumento della produzione di β-cellule autoreattive giochi un ruolo chiave nella generazione di auto-anticorpi anti-insula.

É noto anche che, gli anticorpi anti-insula, compaiono prima dell'insorgenza della malattia ed essi fungono da importanti marcatori immunitari per la previsione e la diagnosi del T1DM.

Sono stati definiti due stadi pre-sintomatici per il T1DM autoimmune, ed un terzo stadio che richiede però l'effettivo trattamento con insulina (figura 5).

1. *Stadio 1* della T1DM: caratterizzato da normoglicemia.
   In questo stadio si ha l'autoimmunità verso le isole pancreatiche, indotta dalle cellule T citotossiche. A questo livello inizia la distruzione delle cellule β pancreatiche (insulite), anche se i livelli di glucosio nel sangue rimangono nell'intervallo normale.
   Il rischio quinquennale di sviluppare diabete è del 44-70%.

2. *Stadio 2* della T1DM: caratterizzato dalla comparsa di disglicemia con livelli di emoglobina glicata (Hba1c) > 5,7% o >39 mmol/mol.
   In questo stadio i soggetti risultano positivi a due o più autoanticorpi anti-insula e la distruzione delle cellule β progredisce, portando ad intolleranza al glucosio o alla disglicemia.
   Il rischio a cinque anni di sviluppare T1DM in questo stadio è di circa il 75%

3. *Stadio 3* della T1DM: caratterizzato dalla manifestazione dei sintomi e dei segni clinici tipici del T1DM, tra cui: poliuria, polidipsia, perdita di peso, chetoacidosi diabetica, affaticamento generale.
   In questa fase la quantità di β cellule pancreatiche residue si riduce al 20-30% dei livelli normali.

Il passaggio a quest'ultimo stadio avviene prima della completa distruzione delle cellule β in un momento in cui l'insulina viene ancora prodotta ma non è sufficiente.

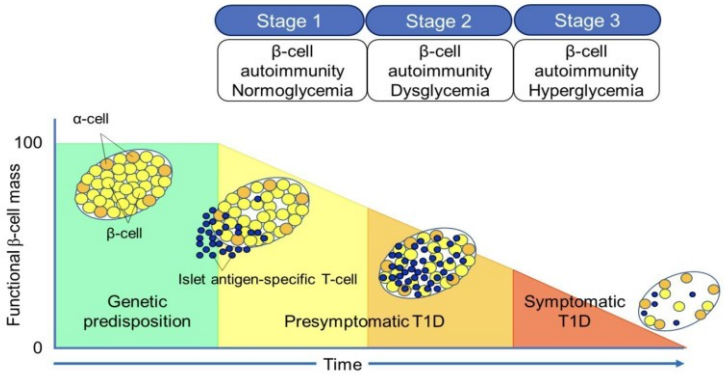

Figura 10: Rappresenta le tre fasi della storia naturale della T1DM. Immagine tratta da Kawasaki, E. (Diabetes Center 2023). Gli studi finora condotti sul diabete di tipo1 non hanno ancora dimostrato con successo la prevenzione della perdita di peptide C o il mantenimento delle concentrazioni dopo la diagnosi, sebbene, alcuni studi abbiano dimostrato la conservazione o il rallentamento della perdita delle cellule β in soggetti predisposti. Questo suggerisce che esiste una finestra temporale critica di opportunità per iniziare un trattamento a seconda dello stadio del diabete di tipo 1.Le terapie immunitarie che mirano a modificare le cellule T patogene sono ancora in fase di studio in tutti gli stadi del T1DM.

L'obbiettivo principale di queste terapie immunitarie è quello di preservare o ritardare la perdita di massa funzionale delle cellule β.

Diversi agenti terapeutici hanno dimostrato la loro utilità nel ritardare la progressione dallo stadio 2 allo stadio 3 della T1DM, preservando di conseguenza la funzione delle β cellule nello stadio 3.

Tra gli agenti che, nello stadio 2, preservano la produzione di peptide C troviamo:

- Abatacept (anti-CTLA-4)
- Alefacept (proteina di fusione dell'antigene solubile della funzione linfocitaria con frammenti Fc di IgG1)
- Rituximab (anti-CD20)
- Globulina Antitimocita

Inoltre, è stato dimostrato che è presente un agente che ritarda la progressione dallo stadio 2 allo stadio 3 nel T1DM negli adulti e nei bambini di età superiore agli 8 anni; questo agente è il Teplizumab (anti-CD3).

4.2 Teplizumab: Cos'è e come viene somministrato

Il Teplizumab è un anticorpo monoclonale (mAb) contro la molecola CD3 sui linfociti T (figura 6).
Si ritiene che modifichi i linfociti T CD8 positivi; cellule effettrici chiave che mediano la morte delle cellule β e preservano i linfociti T regolatori.

Teplizumab, è un derivato geneticamente modificato del mAb OKT3 murino CD3-diretto.
l'OKT3 è altamente immunogenico nell'uomo ed è associato a una significativa tossicità dovuta all'attivazione immunitaria.
Per ridurre l'immunogenicità, Teplizumab è stato realizzato innestando la regione determinante la complementarietà (CDR) anti-CD3 di topo in IgG umane.
Sono stati introdotti mutazioni a due punti nella porzione Fc per ridurre l'azione delle cellule T.
Di conseguenza, teplizumab, si lega all'antigene di superficie cellulare CD3 dei linfociti T, ma non al recettore Fc.

Nel novembre del 2022, teplizumab, è stato approvato negli Stati Uniti per ritardare l'insorgenza della T1D di stadio 3 negli adulti e nei pazienti pediatrici di età pari o superiore a 8 anni con T1D di stadio 2 (figura 7).
Teplizumab, quindi, è il primo farmaco più indicato per ritardare l'insorgenza della T1D.
Inizialmente, questo farmaco è stato studiato nel trattamento del rigetto acuto dell'allotrapianto renale, successivamente, nelle patologie autoimmuni tra cui: la T1D di stadio 2 e 3, la psoriasi e l'artrite psoriasica.

Features and properties of teplizumab	
Alternative names	Teplizumab-mzwv; TZIELD™; MGA031; PRV031; huOKT3-γ1-ala-ala
Class	Antihyperglycemics; Monoclonal antibodies
Mechanism of action	CD3 antigen inhibitors; may involve partial agonistic signalling and deactivation of pancreatic β cell autoreactive T lymphocytes
Route of administration	IV infusion
Pharmacodynamics	Binds to CD3 molecules on the surface of CD4+ and CD8+ T cells, with internalization of the teplizumab/CD3 complex from the surface of T cells. Does not bind to the Fc receptor Increases proportions of regulatory T cells and of exhausted CD8+ T cells in peripheral blood Improves pancreatic β cell function (based on C-peptide AUC levels), glucose tolerance, insulin secretory capacity
Pharmacokinetics	Vd 2.27 L, mean $t_{1/2}$ 4.5 d, mean CL 2.7 L/d
Adverse events (in Stage 2 T1D within 28 days of dosing)	
Most frequent	Lymphopenia, rash, leukopenia, headache, neutropenia, increased ALT, nausea, diarrhea, nasopharyngitis
Other important events	Cytokine release syndrome, serum sickness
ATC codes	
WHO ATC code	A10X (Other Drugs Used in Diabetes)
EphMRA ATC code	A10X (Other Drugs Used in Diabetes)

Figura 11*:* la tabella rappresenta le caratteristiche e proprietà generali di Teplizumab. Immagine tratta da S.J.keam (2023).

Per poter sottoporsi al trattamento con teplizumab è necessaria una diagnosi confermata e documentata di T1D allo stadio 2.
Questa diagnosi deve comprendere:

- una quantità pari a >2 autoanticorpi positivi delle cellule dell'isola pancreatica,

- una disglicemia, senza iperglicemia evidente basata su un test di tolleranza al glucosio orale (OGTT); oppure con un metodo alternativo se OGTT non è disponibile (glucosio plasmatico a digiuno o HbA1c),

- nessuna storia clinica che suggerisca un diabete di tipo 2.

Il Tepliuzumab non è raccomandato nei pazienti con alterazioni significative dell'emocromo (riduzione della conta dei linfociti, delle piastrine o dei neutrofili assoluti, riduzione dell'emoglobine), in pazienti che hanno livelli di alanina aminotransferasi (ALT) o aspartato aminotransferasi (AST) >2 volte il limite superiore della norma o bilirubina elevata; oppure in pazienti con evidente infezione acuta da virus di Epstein-Barr o Citomegalovirus o altre infezioni attive gravi o croniche.
D'altro canto, il Teplizumab, deve essere evitato durante la gravidanza e almeno 30 giorni prima della gravidanza programmata, dato che i mAb possono essere trasportati attivamente attraverso la placenta e possono causare danni al neonato.

Il trattamento con questo anticorpo monoclonale prevede la somministrazione una volta al giorno per 14 giorni consecutivi, attraverso infusione endovenosa per un minimo di 30 minuti.
La dose giornaliera viene calcolata utilizzando un regime di dosaggio basato sull'area di superficie corporea (BSA).

Un esempio di dosaggio per la somministrazione nei 14 giorni di trattamento può essere:

- ➔ Giorno 1: 65 $\mu g/m^2$
- ➔ giorno 2: 125 $\mu g/m^2$
- ➔ giorno 3: 250 $\mu g/m^2$
- ➔ giorno 4: 500 $\mu g/m^2$
- ➔ Nei giorni da 5 a 14: 1030 $\mu g/m^2$

Nei primi 5 giorni di somministrazione, prima dell'infusine di tepplizumab, è richiesta una pre-medicazione con un farmaco antinfiammatorio non steroideo (FANS) o acetaminofene, un antistaminico e/o un antiemetico.

4.2.1 Sperimentazioni cliniche effettuate su Teplizumab

Attraverso uno studio di fase II, denominato TN-10, si è potuto dimostrare che il trattamento con teplizumab ritarda in modo significativo l'insorgenza dello stadio 3 del diabete di tipo 1 in soggetti adulti e in quelli pediatrici, con età compresa tra gli 8 e 49 anni, con diabete di tipo 1 allo stadio 2 definita con la presenza di anticorpi delle isole pancreatiche (IAA, GADA; ZnT8A) e disglicemia in base all'OGTT.
I pazienti sono stati randomizzati a ricevere un ciclo ambulatoriale di 14 giorni di teplizumab o soluzione fisiologica (placebo).
il Teplizumab è stato somministrato utilizzando un regime di dosaggio basato sulla BSA di:

- 51 $\mu g/m^2$ il giorno 1

- 103 μg/m^2 il giorno 2
- 207 μg/m^2 il giorno 3
- 413 μg/m^2 il giorno 4
- 826 μg/m^2 nei giorni 5-14

I pazienti sono stati seguiti in cieco e si è potuto osservare che l'esposizione totale al farmaco, nello studio TN-10, era paragonabile a quella ottenuta con il dosaggio totale di teplizumab approvato.
Attraverso questo studio, quindi, si è dimostrato che la progressione allo stadio 3 dallo stadio 2, è stata osservata nel 45% dei pazienti che avevano ricevuto teplizumab, rispetto al 72% dei pazienti trattati con il placebo.
Il tempo mediano dalla randomizzazione alla diagnosi di T1D di stadio 3 è stato di 50 mesi nel gruppo di pazienti con teplizumab rispetto a 25 mesi nel gruppo placebo.
Tuttavia, i tassi annuali di diagnosi del T1D di stadio 3 sono stati del 14,9% all'anno nei pazienti che avevano ricevuto teplizumab rispetto al 35,9% all'anno nei pazienti trattati con placebo.
Si può comunque osservare che il tempo mediano alla diagnosi è significativamente più lungo con teplizumab rispetto al placebo

È in corso uno studio, PROTECT di fase III, per valutare l'efficacia e la sicurezza del teplizumab rispetto al placebo nei bambini e negli adolescenti, di età compresa tra gli 8 e 17 anni, che hanno ricevuto una recente diagnosi di diabete di tipo 1 allo stadio 3.
Questo studio comprende la somministrazione di due cicli di 12 giorni di teplizumab o placebo a distanza di sei mesi l'uno dall'altro; la somministrazione del trattamento avviene a sei settimane dalla diagnosi.

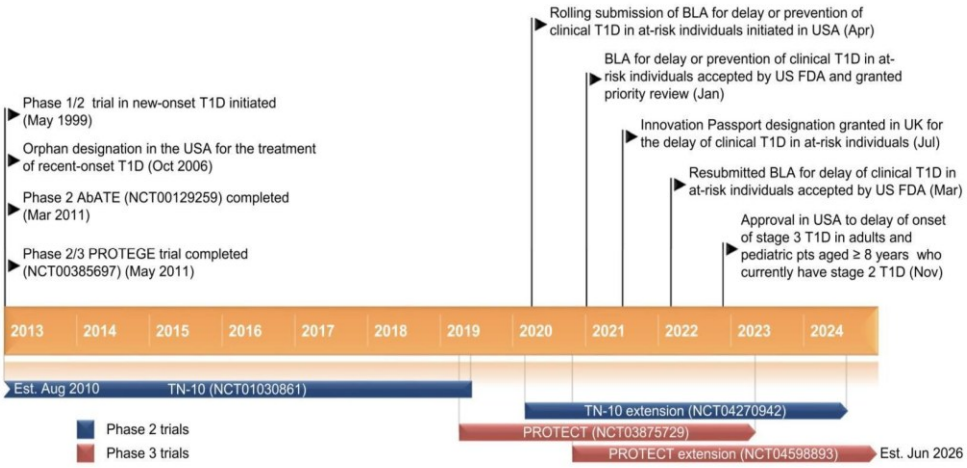

Figura 12: descrizione delle tappe fondamentali nello sviluppo del teplizumab per il trattamento del diabete mellito di tipo 1. Immagine tratta da S.J. Keam (2023).

In un ulteriore studio globale, PROTÉGÉ, di fase 2/ 3 randomizzato, durato 2 anni, è stato evidenziato che il trattamento con Teplizumab in pazienti con T1D di stadio 3 di recente insorgenza che necessitano del trattamento con insulina, non ha raggiunto l'endpoint dimostrante una maggiore efficacia rispetto al placebo; ovvero non si è raggiunto l'obiettivo di un uso di insulina pari a < 0,5 U/Kg/die.
Oltre a questo, non si ha una riduzione di HbA1c <6,5% a 1 anno dal trattamento.
In questo studio, sono stati presi in considerazione:

- pazienti affetti da diabete di 1 con un'età compresa tra gli 8 e i 35 anni,
- pazienti con diagnosi di T1D allo stadio 3 con necessità di insulina per via parenterale (<12 settimane prima dell'inizio dello studio),
- pazienti che presentavano un titolo positivo di auto-anticorpi contro ICA-512/IA-2, GAD65 o insulina (entro 2 settimane prima dell'inizio dello studio).

Il dosaggio di teplizumab era basato sulla BSA e le dosi totali cumulative di teplizumab erano:

- 9043 $\mu g/m^2$ nel braccio a dose piena di 14 giorni,
- 2985 $\mu g/m^2$ nel braccio a dose ridotta di 14 giorni,
- 2426 $\mu g/m^2$ nel braccio a dose piena di 6 giorni

Questo ciclo di trattamento o placebo è stato somministrato al basale e ripetuto a 26 settimane.

La percentuale di pazienti che ha raggiunto l'uso di insulina <0,5 U/Kg/die e HbA1c <6,5% a 1 anno a dose piena di 14 giorni, a dose bassa per 14 giorni e a dose piena di 6 giorni erano rispettivamente: 19,8%, 13,7%, 20,8%; rispetto al 20,4% del gruppo placebo.

Le variazioni di HbA1c a 1 anno sono state: -0,41%, -0,33%, -0,36% nei gruppi con teplizumab rispetto a -0,40% nel gruppo placebo.
A distanza di 2 anni dallo studio, le percentuali di pazienti che hanno raggiunto l'endpoint sono state rispettivamente dell'8,2%, del 5,9% e del 9,4% nei gruppi teplizumab a dose piena per 14 giorni, a dose bassa per 14 giorni e a dose piena per 6 giorni; rispetto al 9,2% del placebo.
Sempre a 2 anni, le dosi medie aggiustate di HBA1c sono state del 0,233%, 0,220%, 0,149% nei gruppi con teplizumab; rispetto allo 0,135% del gruppo placebo.

4.3 Teplizumab: farmacodinamica e farmacocinetica

Il meccanismo d'azione proposto, di teplizumab, per modificare la malattia può coinvolgere la segnalazione agonistica parziale e la disattivazione dei linfociti T autoreattivi delle cellule β pancreatiche.

Durante il trattamento, teplizumab, si lega alle molecole CD3 sulla superficie delle cellule T CD4+ e CD8+ con internalizzazione del complesso teplizumab-CD3 dalla superficie delle cellule T.

Il trattamento con teplizumab porta ad un aumento della proporzione di cellule T regolatorie e di cellule T CD8+ nel sangue periferico.

Il regime di dosaggio basato sulla BSA normalizza l'esposizione a teplizumab in base al peso corporeo. Durante il ciclo di trattamento di 14 giorni, non si prevede che concentrazioni stazionarie del farmaco siano raggiunte.
In un soggetto di 60 Kg, il volume di distribuzione del farmaco è pari a 2,27 L, il t ½ (emivita) medio è di 4,5 giorni e la CL (clearance renale) media è di 2,7 L/giorno.

Il teplizumab ha dimostrato un legame e un'eliminazione saturabile e si prevede che venga metabolizzato attraverso le vie cataboliche.

4.3.1 Studi clinici sulla farmacodinamica e farmacocinetica di teplizumab

In uno studio su 12 pazienti con T1D di recente diagnosi (entro le 6 settimane dall'inizio dello studio), sono state rilevate nella maggior parte di questi pazienti, dopo la somministrazione di teplizumab:

- Citochine
- Interleuchine 5 (IL-5)
- Interleuchina 6 (IL-6)
- Interleuchina 10 (IL-10)
- Fattore di necrosi tumorale (TNF ALFA).

I livelli di questi sono risultati massimi dopo la seconda dose, ma a livelli inferiori a quelli riportati nei pazienti con CRS associata a OKT3.
Non è stata rilevata,però, l'interleuchina 2 (IL-2) e l'interferone-γ (INF-γ) è stato rilevato solo in un paziente.

La relazione esposizione-risposta di teplizumab e il decorso temporale della risposta farmaco dinamica per la sicurezza ed efficacia del farmaco non sono stati completamente caratterizzati.

D'altro canto, in uno studio TN-10 di fase 2, controllato con placebo, condotto su familiari adulti e pediatrici di pazienti con diabete di tipo 1 allo stadio 2 di età pari o superiore a 8 anni; il trattamento con teplizumab ha migliorato la funzione delle cellule β rispetto al placebo.
Questo lo si è potuto osservare attraverso il C-peptide circolante (una misura della produzione di insulina) dopo stimolazione del peptide C attraverso l'osservazione di AUC (area sottesa alla curva concentrazione-tempo) del peptide-C in studio di 1,94 vs 1,72 pmol/ml; p=0,006.

Un aumento delle cellule T KLRG1+, TIGIT+, CD8+ e la ridotta secrezione delle citochine pro-infiammatorie INF-γ e TNF-α sono stati associati alle variazioni dell'AUC del peptide-C osservate nei riceventi teplizumab.

Teplizumab non ha avuto un impatto negativo sulla frequenza delle cellule T regolatorie CD4+ o delle cellule T KLRG1+, TIGIT+, CD8+; che sono risultate simili dopo il trattamento con teplizumab o placebo.
Anche la tolleranza al glucosio è migliorata con il trattamento con questo farmaco.
Le curve di risposta al glucosio e del C-peptide nel gruppo teplizumab a 3 e 6 mesi suggeriscono un miglioramento metabolico, a differenza di quelle del gruppo placebo che riflettono un deterioramento metabolico.

In uno studio randomizzato di fase 2 AbATE, il trattamento con teplizumab (ciclo iniziale di 14 giorni di trattamento all'ingresso dello studio e ripetuto dopo 1 anno) ha dimostrato di ridurre significativamente il declino dell'AUC del peptide -C a due anni nei pazienti con diabete di tipo 1 di stadio 3 di nuova diagnosi, rispetto al gruppo di controllo non trattato.
La variazione percentuale media della linea di base a 24 mesi era significativamente più bassa con teplizumab (-45,1% rispetto a -72,2%).

A 7 anni dalla diagnosi, nello studio di follow-up AbATE, i riceventi teplizumab identificati come responder a 1 anno, hanno continuato a presentare una minore perdita di peptide-C rispetto al gruppo di controllo e la frequenza di cellule T CD8+ è aumentata.
Il miglioramento della risposta al peptide-C non è stato associato a un minor uso di insulina o a una riduzione dell'HbA1c.

4.4 Eventi avversi legati all'assunzione di Teplizumab

Teplizumab è stato ben tollerato nello studio di fase 2 TN-10 su pazienti adulti e pediatrici di età pari o superiore a 8 anni con T1D di stadio 2 e negli studi di fase 2 e 3 su pazienti adulti e pediatrici di etá pari o superiore a 8 anni con T1D di fase 3.

Le reazioni avverse osservate nei pazienti pediatrici che hanno ricevuto teplizumab nello studio TN-10 sono risultate coerenti con quelle riportate nei pazienti adulti.
Le reazioni avverse, non gravi, più comuni nello studio TN-10 che si sono verificate durante il trattamento e fino a 28 giorni dopo l'ultima somministrazione di farmaco erano:

- Rush cutaneo
- Leucopenia
- Cefalea
- Neutropenia
- Aumento delle ALT
- Nausea
- Diarrea
- Nasofaringite
- CRS è stata osservata nel 2% dei pazienti

Tuttavia, le principali reazioni avverse gravi che si sono verificate nei pazienti durante la somministrazione di teplizumab e fino a 28 giorni dopo la somministrazione del farmaco durante lo studio TN-10 sono state:

- Linfopenia
- Malattia da siero

Nei pazienti con linfopenia, variazioni nel conteggio medio dei linfociti nadir si sono verificate al quinto giorno del trattamento con ritorno ai livelli basali alla 6° settimana.
Il paziente con malattia da siero aveva un'anamnesi precedente di positività agli anticorpi antinucleari ed ha presentato i sintomi 5 giorni dopo il completamento del trattamento; la malattia si è risolta 2,5 mesi dopo il trattamento.

Infezioni gravi che si sono riportate durante o dopo la prima dose di farmaco in studio; sono state riportate nel 9% dei pazienti riceventi teplizumab rispetto allo 0% dei pazienti riceventi placebo.

Nello studio TN-10 si è osservata la presenza di anticorpi anti-teplizumab nel 57% dei riceventi teplizumab e poco meno della metà di questi individui ha sviluppato anticorpi neutralizzanti.
I riceventi teplizumab che hanno sviluppato anticorpi anti-teplizumab hanno avuto un'incidenza leggermente superiore di rash rispetto a quelli che non hanno sviluppato anticorpi anti-teplizumab (39% rispetto a 33%).
L'effetto di questi anticorpi anti-farmaco sulla farmacocinetica, sulla farmaco-dinamica e sull'efficacia di teplizumab non è stato analizzato a causa della mancanza di dati.

In un'analisi congiunta di 5 studi clinici controllati su pazienti con T1D allo stadio 2 o con T1D allo stadio 3, con un totale di 773 pazienti riceventi teplizumab e 245 pazienti riceventi placebo o controllo standard, si è osservato che il 5% dei riceventi teplizumab e lo 0,8% dei pazienti trattati con controllo avevano sviluppato CRS.
Il 56% dei riceventi teplizumab che hanno sviluppato CRS avevano transaminasi epatiche elevate.
Le reazioni di ipersensibilità osservate sono state:

- anafilassi
- Angioedema periorbitale e facciale
- Edema periferico e generalizzato
- Rash
- Orticaria

Durante i 14 giorni di trattamento sono state osservate anemia e trombocitopenia. Il recupero è avvenuto entro 2-4 settimane dal trattamento.
Pochi pazienti trattati con teplizumab hanno interrotto il trattamento a causa di riduzioni dell'emoglobina (1,8%) o delle piatrine (1%).

Si sono verificate, nel 25% dei pazienti riceventi teplizumab e nel 11% dei pazienti riceventi placebo, aumenti delle transaminasi epatiche per lo più transitorie e risolte entro 1-2 settimane dal completamento del ciclo di trattamento dei 14 giorni.
Sono state osservate anche diminuzioni del bicarbonato e del calcio nel sangue nei pazienti riceventi Teplizumab.

CONCLUSIONE

Il diabete di tipo 1 è una condizione cronica complessa con una prevalenza mondiale in aumento che colpisce milioni di persone.

La valutazione del ruolo delle β-cellule nella loro stessa scomparsa, l'importanza dello stress del reticolo endoplasmatico nella patologia del diabete di tipo 1, l'identificazione delle cellule β nei pazienti che hanno avuto il diabete di tipo 1 per diverso tempo e la presenza di cellule β "dormienti" che eludono l'attacco immunitario suggeriscono che, la disfunzione e la distruzione delle cellule β, sono guidate dalla loro stessa attività metabolica e potrebbero essere al centro dell'eziologia del diabete di tipo 1.

Dalla scoperta dell'insulina (1921), nel corso degli anni, si sono visti progressi nella ricerca biomedica che hanno portato allo sviluppo di vari approcci terapeutici, di diagnosi e di gestione del diabete di tipo 1 tra cui: le pompe per l'insulina, il trapianto, il pancreas artificiale, la terapia cellulare, l'immunomodulazione, lo sviluppo di insuline analoghe, i sistemi CGM e i sistemi avanzati di somministrazione di insulina.

L'immunoterapia si basa sulla modulazione del sistema immunitario che a sua volta previene la distruzione delle cellule β e preserva di conseguenza la produzione di insulina.
La terapia basata sulle cellule tra cui, la terapia genica e l'incapsulamento cellulare stanno guadagnando attenzione nella terapia del diabete.
La terapia genica è in grado di ripristinare la normale produzione di insulina fornendo i geni che promuovono la crescita e la normale sopravvivenza delle β cellule o silenziando i geni che contribuiscono alla distruzione delle β cellule.
Questi nuovi approcci terapeutici per il diabete promettono molto per quanto riguarda il trattamento e la gestione del diabete attraverso modalità d'azione uniche e potenti.
D'altro canto, terapie combinate che mirano a diversi aspetti della patogenesi della malattia possono essere necessarie per avere risultati ottimali.

La ricerca continua a concentrarsi su obiettivi immunitari per prevenire o ritardare l'insorgenza del diabete di tipo 1.

BIBLIOGRAFIA

Akash Singh, Noor Afshan, Anshuman Singh , Suraj Kumar Sing, Sudhanshu Yadav, Manoj Kumar, Devojit Kumar Sarma, Vinod Verma. Recent trends and advances in type 1 diabetes therapeutics: A comprehensive review, European Journal of Cell Biology 2023, 102, 151329, https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2023.151329

Bart O. Roep. Sofia Thomaidou, René van Tienhoven and Arnaud Zaldumbide. Type 1 diabetes mellitus as a disease of the BETA- cell (do not blame the immune system?), Nature reviews endocrinology 2021, 17, https://doi.org/10.1038/s41574-020-00443-4

Eiji Kawasaki. Anti-Islet Autoantibodies in Type 1 Diabetes, International Journal Of Molecular Sciences 2023, 24, 10012, https://doi.org/10.3390/ijms241210012

Savitha Subramanian, Farah Khan, Irl B Hirsch. New advances in type 1 diabetes, State of the art review 2023, 384, 075681,http://doi.org/10.1136/ bmj-2023-075681

Susan J. Keam. Teplizumab: First Approval, Springer Nature Switzerland AG, 2023, 83, 65901, https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21992762