

# Novas Perspectivas para a Diabetes Tipo I – A Vacina

S. Silva<sup>1</sup>, N. Cabanelas<sup>2</sup>, M. C. Esteves<sup>3</sup>

Serviço de Medicina I (Dir: Dr. Manuel João Gomes), Hospital de Santarém, EPE

1- Interna 1º ano do Internato Complementar de Pneumologia

2- Interno 1º ano do Internato Complementar de Cardiologia

3- Assistente Hospitalar Graduada de Medicina Interna

## Resumo

**Introdução:** A diabetes tipo I é reconhecida hoje como uma doença auto-imune. Assim sendo, numerosos anticorpos dirigidos contra constituintes das células  $\beta$  podem ser detectados na fase pré-clínica, permitindo uma intervenção terapêutica precoce.

**Objectivo:** Dos vários anticorpos referidos destacam-se os anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD). Neste artigo pretende-se efectuar uma revisão sobre a sua relevância clínica, bem como a importância do desenvolvimento de uma vacina para a diabetes tipo I.

**Métodos:** Procedeu-se a revisão bibliográfica de publicações sobre os anticorpos anti-GAD e a vacina para a diabetes tipo I perspectivando as suas consequências na abordagem terapêutica.

**Resultados:** Actualmente em ensaios clínicos de fase II, a vacina utiliza como substância activa uma isoforma de GAD65 numa formulação standardizada com alumínio.

**Conclusões:** Esta vacina poderá vir a constituir num futuro próximo uma forma de abordagem eficaz ao promover a preservação da função pancreática residual.

## Abstract

**Introduction:** Type I diabetes is recognized today as an autoimmune disease. Many antibodies against  $\beta$  cell constituents can so be detected in a pre-clinical phase, allowing an early therapeutic intervention.

**Aims:** The anti-glutamic acid decarboxylase (anti-GAD) are the main antibodies. In this article we will review their clinical relevance and the importance of the development of a vaccine for type I diabetes.

**Methods:** We made a bibliographic revision of publications about antibodies anti-GAD and the vaccine for type I diabetes describing their consequences by being used as a therapy for this disease.

**Results:** Today in phase II of clinical trials, the vaccine is based on an alum-formulated 65-kD isoform of GAD.

**Conclusions:** This vaccine may become, very soon, an effective therapeutic approach in type I diabetes by promoting the preservation of residual pancreatic function.

## INTRODUÇÃO

A diabetes tipo I é, ainda hoje, uma doença com uma morbilidade e mortalidade significativas. É reconhecida como uma doença crónica, caracterizada por carência absoluta ou relativa em insulina.

A sua etiopatogenia resulta de um processo auto-imune dirigido contra a célula  $\beta$  pancreática. Este processo de auto-imunidade é desencadeado por factores ambientais em indivíduos geneticamente predispostos <sup>(1)</sup>. A fase de agressão auto-imune antecede o diagnóstico de diabetes e caracteriza-se pelo aparecimento de vários anticorpos dirigidos contra constituintes da célula  $\beta$  pancreática. Destes, destacam-se: anticorpos anti-insulina (IAA), anticorpos anti-ilhéus (ICA) e anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD). Histologicamente esta fase é demonstrada por insulite secundária a reacção inflamatória anti-ilhéu (com infiltrado linfocitário) <sup>(1)</sup>.

Os anti-GAD, envolvidos na insulite, são altamente específicos, sensíveis e de fácil detecção. Tornam-se assim, os marcadores ideais para o diagnóstico precoce de doentes dia-

béticos (diabetes tipo I) em fase pré-clínica de doença, fase na qual se justifica a intervenção terapêutica como forma de preservar a função  $\beta$  celular.

A utilização de auto-antígeno GAD como intervenção imunomoduladora tem, nos últimos anos, vindo a revelar grande importância. Estudos realizados em animais comprovaram que a sua utilização em fase precoce de doença poderia prevenir ou retardar a progressão para a hiperglicémia <sup>(2)</sup>.

## VACINAS COMO INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA

O termo “vacina” surgiu no final do século XVII com Jenner, referindo-se ao vírus da varíola bovina, naquela que foi a primeira tentativa médica de prevenção de uma doença infecciosa <sup>(3)</sup>. Nessa altura, era total o desconhecimento dos fundamentos fisiológicos da resposta imunológica. Um século mais tarde, Pasteur lança a base das teorias que explicam o processo de vacinação e microorganismos modificados começam a ser utilizados para gerar protecção imune <sup>(3)</sup>. Em 1957 foi elaborada a teoria da selecção clonal e em 1965 foram identificados os linfócitos T e B.

Desde então, um longo caminho se percorreu na clarificação dos fenómenos que regulam o sistema imune e explicam o mecanismo de vacinação. Este, caracteriza-se pela indução do aparecimento de células de memória capazes de produzir anticorpos específicos contra determinado antígeno de forma rápida e em quantidades suficientes <sup>(4)</sup>.

### Correspondência:

Sónia Silva

Avenida Bernardo Santarém

2005-177 Santarém

Tlm.: 919990346

Fax: 243300296

E-mail: soniasilva00@gmail.com

**Quadro I** - Exemplos de tipos de antígenos utilizados em algumas vacinas.

Tipo de Antígeno	Exemplos
<b>Organismos vivos</b>	
Natural	<i>Vaccinia</i>
Atenuado	Sabin (anti-poliomielite), sarampo, rubéola, anti-varicela zoster, BCG
<b>Organismos inactivados e intactos</b>	
Vírus	Salk (anti-poliomielite), raiva, <i>influenza</i> , hepatite A, tifo
Bactérias	Febre tifóide, tosse convulsa, cólera
<b>Fragmentos celulares</b>	
Polissacarídeos celulares	Anti- <i>Pneumococos</i> , Anti- <i>Meningococos</i> , Anti- <i>Haemophilus influenzae</i>
Antígenos de superfície	Hepatite B
<b>Toxóides</b>	Tétano, Difteria
<b>DNA recombinante</b>	
Genes clonados	Hepatite B

Hoje em dia, existe uma ampla gama de preparações antigénicas que são utilizadas como vacinas. Os antígenos contidos nas preparações podem ser organismos vivos atenuados, intactos mas inactivados, fragmentos celulares, antígenos de superfície, toxóides e produtos obtidos com DNA recombinante, por engenharia genética. O Quadro I mostra alguns exemplos de cada um destes tipos de vacinas <sup>(5)</sup>.

Em geral, quanto maior a quantidade de antígenos presentes na preparação, maior será a sua eficácia. Além disso, as vacinas preparadas com organismos vivos são mais imunogénicas que as de antígenos microbianos inactivados, conferindo assim maior protecção. As vacinas que utilizam toxinas inactivadas e toxóides são também muito eficazes <sup>(5)</sup>.

Recentemente surgiram as vacinas anti-idiótipo, que são constituídas por moléculas proteicas que funcionam como anticorpo contra o idiótipo de determinado anticorpo já presente no hospedeiro. Dessa forma, o anti-idiótipo comporta-se como um antígeno capaz de gerar memória imunológica mais facilmente, pelo facto de ser constituído por moléculas proteicas. Este tipo de preparação torna-se especialmente eficaz quando se está na presença de estruturas de superfície não suficientemente imunogénicas para gerar memória imunológica, como acontece com os antígenos polissacarídicos e lipídicos <sup>(5)</sup>.

Com o decorrer dos anos, a comunidade científica tem vindo a tentar aplicar os princípios da imunização contra doenças infecciosas na prevenção de outro tipo de patologias e processos fisiológicos que afectam as populações. Foi desenvolvida e tornada acessível à generalidade das pessoas, pela primeira vez, uma vacina que previne o aparecimento de uma neoplasia maligna (anti-Papiloma Vírus Humano), se bem que não deixe de o fazer de forma secundária à prevenção de uma infecção.

Além disso, no âmbito experimental, estão em investigação, entre outras, vacinas como forma de prevenção de infertili-

dade, hipertensão arterial (pela inibição do eixo renina-angiotensina) <sup>(6)</sup> e da diabetes tipo I.

## VACINA COM ANTIGÉNIO GAD

O GAD é uma proteína encontrada nos ilhéus secretores de insulina do pâncreas e no cérebro. Em doentes susceptíveis, esta proteína pode funcionar como auto-antígeno desencadeando processo patológico conduzindo respectivamente à diabetes tipo I e à doença de Stiff-man <sup>(7)</sup>.

O processo auto-imune envolve não só as células T citotóxicas mas também a formação de auto-anticorpos.

Defeitos no sistema imunológico como a incapacidade de formar células T reguladoras fundamentais na imunoregulação parecem estar na base de todo o processo auto-imune.

Na diabetes, o reconhecimento dos vários elementos envolvidos nesse processo de insulite constituiu um passo fundamental para a identificação de possíveis alvos terapêuticos.

Tratando-se de um estado “hiperimune” a utilização de agentes imunossupressores tem sido explorada, como forma de intervenção terapêutica na diabetes recém diagnosticada.

A Ciclosporina, Azatioprina e Metotrexato, apesar do seu sucesso na redução das necessidades de insulina diária nos doentes tratados, foram abandonados pelos seus graves efeitos adversos, nomeadamente nefrotoxicidade, aplasia medular e hepatotoxicidade .

Mais recentemente, a utilização de anticorpos monoclonais anti-CD3 constitui outro exemplo de formas de intervenção terapêutica. O seu uso revelou alguma eficácia em estudos animais com redução de hiperglicémia em estadio precoce de diabetes e indução de tolerância em doença recorrente <sup>(8)</sup>. Contudo, apesar de não possuírem efeitos acessórios relevantes, foram também abandonados, pela fraca eficácia observada no Homem.

Também a utilização de insulina administrada oralmente como forma de prevenção foi estudada. Em modelos animais, demonstrou levar à preservação da secreção endógena de insulina (quantificada pelo péptido C), assim como à redução dos níveis de HbA1c <sup>(9)</sup>. No Homem, esta intervenção terapêutica não mostrou tais resultados. A administração de insulina oral não preveniu a diabetes tipo I ou retardou o seu aparecimento. Estudos com utilização de nicotinamida demonstraram um modesto efeito protector para a diabetes, tanto em animais como em humanos, assim como a preservação dos níveis de péptido C <sup>(9)</sup>. Este antioxidante previne a morte de células  $\beta$  pancreática, pela repleção dos níveis de NAD inactivando a polimerase ribossómica evitando lesão do DNA. Como alternativa à terapêutica imunossupressora, a utilização de auto-antígenos como forma de induzir tolerância imunológica tem vindo a ser mais recentemente investigada.

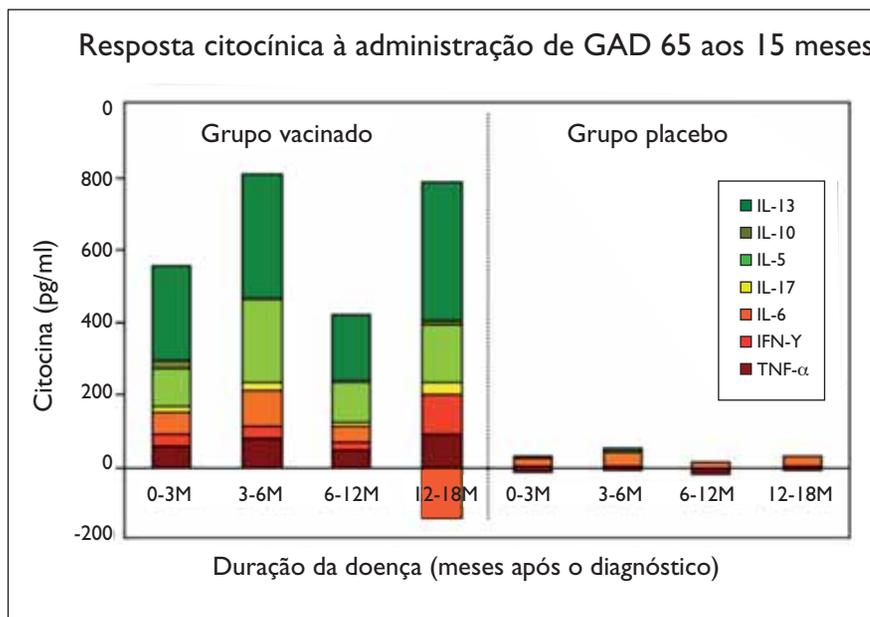
Em doentes com diabetes *mellitus* tipo I os auto-antígenos *major* são a insulina e a isoforma 65-kD da descarboxilase do ácido glutâmico.

Os anticorpos anti-GAD, envolvidos no processo de insulite, sendo de fácil detecção, possuem elevada sensibilidade e especificidade. Surgindo na fase pré-clínica, constituem bons indicadores de futura insulínopénia. Assim sendo, a sua detecção permite identificar indivíduos diabéticos tipo I em fase precoce de doença ainda com reserva insulínica, candidatos a beneficiar da utilização de uma intervenção terapêutica.

Baseado em estudos em modelos animais, a injeção com GAD sob a forma de vacina tem vindo a ser estudada, parecendo preservar a secreção residual de insulina sem ter os graves efeitos adversos das terapêuticas imunossupressoras. A vacina em estudo utiliza como substância activa uma isoforma de GAD65 numa formulação standardizada com alumínio sendo a sua administração por via sub-cutânea <sup>(10)</sup>. Outras vias de administração como a oral e a intra-muscular estão a ser estudadas, pois o efeito profilático conferido pela resposta imune parece depender da via de administração da vacina <sup>(11)</sup>.

O seu mecanismo de acção baseia-se na indução de células T específicas que têm a capacidade de re-equilibrar o sistema imunitário resultando num efeito protector da função das células  $\beta$ .

Estudos em animais, demonstraram que a utilização de antígenos GAD, como forma de indução de tolerância aos anti-GAD, presentes no diabético, por si só preveniam ou retardavam a progressão para a hiperglicemia. No Homem no entanto, não se observou essa capacidade de prevenir ou retardar a progressão para a hiperglicémia, apesar do com-



**Figura 1** - Resposta imunológica de doentes a quem foi administrada a vacina (DiamydA). Foi demonstrada maior quantidade de citocinas protectoras (verde) no grupo de doentes tratados e maior quantidade de citocinas inflamatórias (vermelho) no grupo placebo. Adaptado de: M Faresjö, M Hedman, R Casas, S Axelsson, J Ludvigsson.

provado aumento de múltiplas substâncias imunomoduladoras, nomeadamente citocinas citoprotectoras (Figura 1). Constatou-se que se mantinha o declínio dos valores de péptido-C (proporcional à insulina secretada) não havendo redução dos valores de insulina diários necessários, como o inicialmente previsto <sup>(10)</sup>.

No entanto, a vacina antigenica parece contribuir de forma importante para a preservação da insulina residual.

## CONCLUSÃO

A diabetes tipo I é uma doença multifactorial complexa. Na sua história natural está bem estabelecida a reacção auto-imune dirigida contra constituintes do ilhéu. A destruição da célula  $\beta$  com redução progressiva da capacidade secretória de insulina é condicionada por factores genéticos e adquiridos.

Mais tarde, na evolução da doença a exposição crónica das células  $\beta$  à hiperglicemia condiciona efeitos tóxicos: inicialmente com disfunção das mesmas (com consequente alteração da insulino-secreção) e posteriormente contribuindo também para morte celular. Por este motivo, a intervenção terapêutica precoce constitui fonte de investigação actual fundamental.

Os avanços na compreensão da evolução da diabetes tipo I, a identificação bioquímica de auto-antígenos, incluindo a possibilidade de detecção precoce e o reconhecimento de agentes imunomoduladores estimularam o desenvolvimento de novas formas de abordagem terapêutica <sup>(12)</sup>. A prevenção através da imunomodelação com vacina antigenica constitui uma abordagem de intervenção futura.

Com base nas suas características, os anticorpos anti-GAD têm ganho importância crescente ao permitir identificar can-

didatos à utilização de uma vacina com o objectivo de prevenção da doença.

Apesar de não estar demonstrada a reversão da diabetes tipo I, a vacina antigénica parece contribuir de forma importante para a preservação da insulina residual.

A regeneração de células pancreáticas tem sido também alvo de grande investigação. A capacidade de regeneração do pâncreas já conseguida em estudos animais constitui uma área de investigação recente no ser humano.

Nos doentes com diabetes tipo I a taxa de progressão da lesão imunológica é altamente variável. Este facto, levanta um dilema terapêutico: a intervenção num período pré-clínico é por um lado fundamental ao preservar um maior número de células  $\beta$  funcionantes, mas por outro poderá estar a ser utilizada em casos desnecessários. Nestes casos o tratamento de doentes com doença não progressiva pode até aumentar o risco de diabetes tipo I ao alterar o equilíbrio entre células T helper e T citotóxicas. Contudo, retardar a introdução de terapêutica em fase pré-clínica implica menor número de células  $\beta$  que ainda restam para preservar <sup>(13)</sup>.

Apesar de todos os avanços na compreensão da patologia complexa da diabetes e na possibilidade de intervenção terapêutica a vários níveis, há que ter em conta que se trata de uma doença crónica do jovem que requer, a par da eficácia terapêutica, uma absoluta segurança a longo prazo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Esteves MC, Duarte R, Caldeira JL. Anticorpos anti-GAD. Indicações na prática clínica. *Medicina Interna*. 1998; 5(2): 117-21.
2. Faustman DL. Immunotherapy on Trial for New-Onset Type I Diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 359: 1956-8.
3. Quadros CA. History and prospects for viral disease eradication. *Med Microbiol Immunol*. 2002; 191(2): 75-81.
4. Male D, Roitt I. Introdução ao Sistema Imune. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, *Imunologia*. 5ª Edição, Mosby International Limited, 1ª Edição Brasileira, Editora Manole, São Paulo, 1999. pág. 11.
5. Beverly P. Vaccination. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, *Imunologia*. 5ª Edição, Mosby International Limited, 1ª Edição Brasileira, Editora Manole, São Paulo, 1999, págs: 264-8.
6. Gradman AH, Pinto R. Vaccination: a novel strategy for inhibiting the rennin-angiotensin-aldosterone system. *Curr Hypertens Rep*. 2008; 10: 473-9.
7. Neves J. Vacina para diabetes recebe aprovação para iniciar ensaios de fase III na Europa. *Actualidades em Diabetes*, 2008.
8. Herold KC, Hagopian V, Auger JA, Poumian-Ruiz E, et al. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type I diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2002; 346(22).
9. Schatz DA. Prevention of Type I Diabetes Mellitus CME.
10. Ludvigsson J, Faresjo M, Hjorth M, et al. GAD Treatment and Insulin Secretion in Recent-Onset Type I Diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 359(18).
11. Li AF, Escher A. Intradermal or oral delivery of GAD-encoding genetic vaccines suppresses type I diabetes. *DNA Cell Biol*. 2003; 22(4): 227-32.
12. Atkinson MA. Thirty years of Investigating the Autoimmune Basis for Type I Diabetes- Why can't we prevent or reverse this disease? *Medline*. 2005.
13. Skyler JS, Marks JB. Immune intervention in type I diabetes mellitus. *Diabetes Reviews*. 1993; 1: 15.

