

**USO DE IMUNOMODULAÇÃO NO CONTROLE DO DIABETES: NOVAS PERSPECTIVAS PARA O TRATAMENTO DOS DANOS CAUSADOS POR ESTA DOENÇA**

**USE OF IMMUNOMODULATION IN DIABETES CONTROL: NEW PERSPECTIVES FOR THE TREATMENT OF DAMAGE CAUSED BY THIS DISEASE**

**Rafael Dias Mâncio\*, Marco Antonio Dias\*, Magda Jaciara Andrade de Barros\*, Rodrigo Eduardo da Silva\*, Marcelo Rodrigues da Cunha\*, Eduardo José Caldeira\*.**

\*Laboratório de Morfologia dos Tecidos - LMT\FMJ\FAPESP, Departamento de Morfologia e Patologia Básica da Faculdade de Medicina de Jundiaí, FMJ, Jundiaí, São Paulo, Brasil.

**Endereço para correspondência:** Prof. Dr. Eduardo José Caldeira

Rua Francisco Telles, 250, Vila Arens, Jundiaí, São Paulo, Brasil. - CEP: 13202-550

Email: caldeira@fmj.br ou eduardo4408@bol.com.br

**RESUMO:** O diabetes mellitus é uma desordem metabólica, caracterizada pela hiperglicemia com deficiência no uso de carboidratos, gordura e proteínas, resultante do comprometimento na secreção e/ou ação insulínica. As consequências do diabetes provocam o comprometimento de vários órgãos, causando disfunção ou até mesmo a falência orgânica e óbito. Assim, foi realizado um levantamento qualitativo de artigos que abordam os tratamentos clássicos para o diabetes tipo 1 e também artigos enfocando tratamentos imunorreguladores. Para este levantamento utilizou-se a base de dados PubMed. Também, utilizaram-se as palavras-chave: glândulas salivares; imunoterapia; diabetes tipo 1; complexo antígeno-anticorpo; imunomodulação. Como resultado observou-se que este tipo de diabetes é uma doença crônica e ainda irreversível. Outro dado importante é que sua incidência vem aumentando em todas as populações, atualmente podendo ser 40% superior aos dados oficiais obtidos em 1997. Entre os tecidos afetados por esta doença, têm-se as glândulas, entre eles o pâncreas e as glândulas salivares. Percebendo a íntima relação do diabetes com a diminuição do fluxo e componentes salivares e a eficácia de anticorpos monoclonais anti-CD3 no tratamento desta doença e na manutenção do tecido pancreático, os tratamentos baseados nesta imunoterapia podem também ser uma nova opção para reverter dos danos causados nos tecidos salivares.

**Palavras-chave:** complexo antígeno-anticorpo; diabetes mellitus tipo 1; glândulas salivares; imunomodulação; imunoterapia.

**ABSTRACT:** The diabetes mellitus is a metabolic disorder, characterized by the hyperglycemia with deficiency in the use of carbohydrates, fatness and proteins, resultant of the compromise in secretion and/or insulin action. The consequences of diabetes provoke the compromise of several organs, causing dysfunction and death. Thus, the objective of this study was to analyze manuscripts that relate the classical treatment for the type 1 diabetes and also manuscripts focusing the immunotherapy or immunomodulation. For this, was used the scientific database PubMed. Also, were utilized the keywords: salivary glands; immunotherapy; type 1 diabetes; antigen-antibody complex; immunomodulation. In the results were observed that the type 1 diabetes is an irreversible and chronic disease. The incidence comes increasing in all the populations, and was observed 40% to more of cases that the official data showed in 1997. The glands are affected by this disease, between them the pancreas and the salivary glands. According to the relation of diabetes and the compromise of flow and components salivary and the efficacy of anti-CD3 monoclonal antibodies for the treatment of this disease, mainly for the maintenance of the pancreatic tissues, this therapy based in the immunomodulation also can be a new option for revert the harmful effects caused in salivary tissues.

**Key words:** antigen-antibody complex; diabetes mellitus, type 1; salivary glands; immunomodulation; immunotherapy.

## **INTRODUÇÃO**

### **Diabetes Generalidades**

O diabetes mellitus tipo 1 é uma desordem metabólica causada por diversos fatores, caracterizada por hiperglicemia crônica com deficiência no uso de carboidratos, gordura e proteínas, resultante do comprometimento na secreção e/ou ação da insulina<sup>(1)</sup>.

As consequências do diabetes ao longo do tempo comprometem vários órgãos, podendo causar disfunção ou até mesmo falência e óbito. A doença pode ocasionar o desenvolvimento de complicações crônicas específicas, como a retinopatia com potencial cegueira, nefropatia levando à insuficiência renal, amputações, artropatias e até disfunção sexual<sup>(1)</sup>. Pessoas com diabetes têm risco aumentado para doenças cardiovasculares, doença vascular periférica e cerebrovascular<sup>(1)</sup>.

Todas essas complicações ocorrem devido a defeitos na secreção de insulina causados pela destruição autoimune das células-beta pancreáticas, causando prejuízo na absorção da glicose pelo organismo. A perda progressiva da função das células beta ocorre ao longo do processo da doença<sup>(2)</sup>.

Assim, a busca por tratamentos alternativos que controlam a hiperglicemia e que também possam reverter os danos ocorridos por esta doença tem sido objeto de estudo de vários trabalhos atuais<sup>(3-9)</sup>.

Nessa sentido, esta revisão objetiva realizar um levantamento comparando tratamentos clássicos e os possíveis efeitos benéficos do tratamento imunorregulador no controle do diabetes e de seus danos principalmente em tecidos glandulares, como o pâncreas e as glândulas salivares.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Nesse estudo, foi realizado um levantamento qualitativo de artigos que abordam os tratamentos clássicos para o diabetes e também artigos enfocando os novos tratamentos imunorreguladores. Para tal levantamento utilizou-se como fonte a base de dados PubMed. Também, para esta análise foram usadas as palavras-chave: complexo antígeno-anticorpo; diabetes mellitus tipo 1; glândulas salivares; imunomodulação; imunoterapia.

A seguir, depois de obtidos os artigos, estes foram separados pelo tipo de tratamento para discussão, sendo enfocados os tratamentos clássicos e novas terapias baseadas na imunomodulação.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O diabetes mellitus é uma doença crônica e ainda irreversível. Outro dado importante e muito preocupante também é que a incidência desta doença vem aumentando em todas as populações, atualmente podendo ser 40% superior à do ano de 1997<sup>(10)</sup>. Entre os tecidos acometidos pelos efeitos da hiperglicemia, têm-se os tecidos glandulares como o pâncreas e as glândulas salivares.

### **Diabetes e Glândulas Salivares**

O pâncreas é uma glândula que possui dois tipos celulares principais: ácinos que liberam secreções digestivas no duodeno e as ilhotas de “Langerhans”, compostas em parte por células beta secretoras de insulina e glucagon<sup>(11-12)</sup>.

Evidências mostram que o diabetes mellitus do tipo 1 pode ser desencadeada e estar relacionada com diferentes fatores como obesidade, viroses e inflamações crônicas ou agudas que acometem as células beta do pâncreas, produtoras de insulina. Contudo, é citado que esse tipo de diabetes tem relação com uma resposta autoimune, principalmente pela ação em cadeia de células T e/ou linfócitos T, resultando na destruição das células pancreáticas<sup>(6, 13-14)</sup>.

Trabalhos realizados com camundongos espontaneamente diabéticos, animais modelos para o estudo do diabetes tipo 1, mostraram uma condição semelhante à humana,

evidenciando também a destruição das células beta pancreáticas produtoras de insulina devido a um infiltrado linfocitário. Os estudos mostraram que a doença pode ser desencadeada juntamente a um processo inflamatório mediado por macrófagos que reconhecem autoantígenos e células T citotóxicas que irão atuar na destruição das células pancreáticas<sup>(15-17)</sup>.

Além do pâncreas, e com aspectos similares, têm-se as glândulas salivares que desempenham papel importante na biologia bucal por produzir a saliva. Este elemento fornece água para lubrificação, bem como eletrólitos, muco, compostos antibacterianos e várias enzimas para da cavidade oral. A perda da função normal das glândulas salivares pode resultar em deterioração generalizada das saúde bucal e geral do organismo<sup>(18)</sup>.

A hiperglicemia permanente pode comprometer as glândulas salivares e sua função, levando a uma redução do fluxo salivar. Estudos relacionando o diabetes e as alterações nos componentes salivares em investigações experimentais e clínicas mostraram uma diminuição do fluxo salivar e nos compostos salivares<sup>(19)</sup>. A diminuição do fluxo salivar, devido à uma hiperglicemia aguda, pode levar à muitas alterações bucais como o aumento na concentração de mucina e de glicose, diminuição da produção e/ou ação de fatores antimicrobianos, ausência de melatoproteínas, que contém zinco e é responsável pelo constante crescimento das papilas gustativas, aumento da esfoliação de células devido à pouca lubrificação, aumento da proliferação de microorganismos patogênicos, candidíase oral, língua saburosa, halitose, ardência bucal, doença periodontal, cáries, manchas brancas devido à desmineralização dos dentes, demora na cicatrização de feridas, maior tendência à infecções, ulcerações da mucosa<sup>1</sup>. Além de todas estas alterações, a diminuição no fluxo salivar também produz alterações no paladar fazendo com que os pacientes sintam um sabor amargo ou azedo<sup>(20)</sup>.

Em relação à morfologia, análises de glândulas salivares de camundogos diabéticos mostraram que houve uma redução do volume acinar, retardo de crescimento, redução de peso das glândulas parótida e submandibular, diminuição na quantidade de ductos granulares e na densidade de secreção de grânulos, assim como a acumulação de gotículas de gordura nas células acinares e ductos intercalares. Também foi identificado processo inflamatório composto por células mononucleares localizadas ao redor dos vasos sanguíneos, ácinos e ductos<sup>(19)</sup>.

## **Tratamentos Clássicos**

O transplante de pâncreas é um tratamento para o diabetes que foi feito pela primeira vez em humanos no ano de 1966. Com a melhoria das técnicas cirúrgicas e pós-operatória o transplante de pâncreas passou a ser uma opção de tratamento para a cura do diabetes, principalmente em pacientes com diabetes tipo 1<sup>(21)</sup>. Um método alternativo ao transplante de pâncreas é o transplante de ilhotas que é menos invasivo e mais seguro para o paciente<sup>(22)</sup>.

A diferenciação de células-tronco embrionárias é um tratamento que ainda está em fase de pesquisa, mas o que já se sabe é que as células-tronco embrionárias são células pluripotentes capazes de se diferenciar em todos os tipos celulares do embrião. Há pesquisas que buscam a geração de tecidos pancreáticos através dessa diferenciação celular<sup>(23-24)</sup>.

O principal tratamento do diabetes mellitus tipo 1 é a aplicação intensiva de injeções de insulina exógena e também o acompanhamento dos níveis de glicose no sangue. Este é um tratamento que se mostrou adequado, seguro e satisfatório para controlar os níveis de glicose no sangue e que também pode ajudar a prevenir complicações a longo prazo<sup>(22)</sup>.

Alternativas para o controle do diabetes vêm abordando, por exemplo, um adequado plano alimentar, rotina de exercícios, administração de insulina, monitoramento do tratamento, seguimento e prevenção das complicações crônicas são medidas que devem ser tomadas com o objetivo de prevenir complicações agudas e crônicas do diabetes<sup>(10)</sup>. Novos análogos da insulina e métodos automatizados e programáveis de liberação desta trouxeram novas perspectivas para o tratamento da doença. Além de um melhor controle glicêmico, esses tratamentos procuram diminuir a variabilidade na liberação de insulina e os efeitos hipoglicêmicos que ainda são obstáculos para se alcançar um tratamento mais próximo do fisiológico do diabetes mellitus. Mesmo apresentando bons resultados, em outros casos não tem se observado recuperação nem tão pouco controle dos níveis glicêmicos, e quando isso acontece outras formas de tratamento devem ser utilizadas na tentativa de controlar os efeitos causados pela diminuição da secreção de insulina<sup>(10)</sup>.

### **Novos Tratamentos**

Vários tipos de tratamentos têm sido usados na tentativa de reverter a hiperglicêmica<sup>(19)</sup> e também na tentativa de preservar a secreção de insulina e proteger as células beta<sup>(3,15)</sup>. Conseguir preservar a secreção de insulina residual é importante para manter o equilíbrio metabólico, menor quantidade de complicações agudas e tardias e a melhoria da qualidade de vida. Uma melhora acentuada da secreção de insulina residual pode levar a uma remissão completa ou até mesmo a cura da doença.

A imunoterapia começou a ser testada no final dos anos 1970. Seu efeito foi positivo na preservação da secreção residual de insulina. De lá para cá diversos tratamentos com ciclosporina, imunoglobulinas, azatioprina, linomide, globulina atitimócito e prednisona, photopheresis e antioxidantes tem sido testados, mas seus efeitos foram limitados demais ou apresentaram riscos muito graves<sup>(3)</sup>. Tentativas com imunoterapias específicas também foram feitas.

Um dos processos que desencadeiam o diabetes mellitus é a alteração no complexo CD3<sup>(8)</sup>. Este complexo é responsável pela estimulação das células T específicas, por isso, é um dos receptores mais importantes, quando o antígeno é apresentado para as células T<sup>(9)</sup>. Anticorpos monoclonais contra este receptor podem bloquear ou, pelo menos, modular o processo imunológico, evitando assim o estabelecimento da condição hiperglicêmica<sup>(3)</sup>. Estudos utilizando anticorpo monoclonal CD3 demonstraram que é possível inibir a destruição auto-imune e adiar a diminuição da função das células-beta<sup>(4, 25-26)</sup>.

Nestes estudos a diminuição da secreção de insulina foi significativamente reduzida, mas a eficácia do tratamento durou apenas um ano.

Apesar de o anticorpo monoclonal anti-CD3 murino ou OKT-3 ser um anticorpo utilizado em tratamentos para evitar a rejeição em transplantes, seu uso tem apresentado efeitos importantes em relação à produção e regulação de insulina, principalmente pela participação na resposta imune em condições diabéticas. Alguns estudos mostraram que o OKT-3 pode ter a capacidade de reverter essa doença por induzir a tolerância autoimune, principalmente quando o diagnóstico da doença é feito precocemente<sup>(4, 26-27)</sup>. Um estudo recente mostrou que a administração oral do OKT-3 em seres humanos induziu um efeito imunológico dose-dependente nas células T e células dendríticas. A conclusão dos autores foi que a administração oral do OKT-3 é segura e biologicamente ativa em seres humanos, abrindo assim uma porta para tratamentos de doenças autoimunes<sup>(5)</sup>.

Experimentalmente, o uso deste medicamento também tem demonstrado resultados. Um tratamento com anticorpo monoclonal anti-CD3 em camundongos não obesos espontaneamente diabéticos (NOD) inibiu significativamente o processo auto-imune. Em fêmeas NOD adultas, dentro de 7 dias do início do diabetes, o mesmo regime anti-CD3 induziu uma remissão completa da doença em 64-80% dos camundongos<sup>(3)</sup>. Outro estudo comprovou que o uso do anticorpo monoclonal anti-CD3 resulta na modulação transitória e parcial do complexo TCR-CD3, induzindo a remissão da doença em camundongos diabéticos (NOD)<sup>(26)</sup>.

## **CONCLUSÃO**

Desta forma, a partir dos resultados observados, percebe-se a íntima relação do diabetes com a diminuição do fluxo e componentes salivares e a eficácia de anticorpos monoclonais anti-CD3 no tratamento do diabetes e na manutenção do tecido pancreático, que é similar ao tecido salivar. Assim, os tratamentos baseados na imunoterapia podem também ser uma nova opção para a reversão dos danos causados por esta doença nos tecidos salivares.

**Agradecimentos:** NAPED-FMJ, CNPq, Capes e FAPESP (Processos FAPESP: 2010/51619-2 e 2010/05455-8).

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

NEGRATO CA, TARZIA O. Buccal alterations in diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2010; 15(2):3.

DIB SA. Resistência à Insulina e Síndrome Metabólica no Diabetes Mellito do Tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006; 50(2):250-63.

LUDVIGSSON J. Linköping Diabetes Immune Intervention Study Group. The role of immunomodulation therapy in autoimmune diabetes. *J Diabetes Sci Technol.* 2009 1; 3(2):320-30.

MEHTA DS, CHRISTMAS RA, WALDMANN H, ROSENZWEIG M. Partial and transient modulation of the CD3–T-cell receptor complex, elicited by low-dose regimens of monoclonal anti-CD3, is sufficient to induce disease remission in non-obese diabetic mice. *Immunology.* 2010; 130(1):103-13.

ILAN Y, ZIGMOND E, LALAZAR G, DEMBINSKY A, BEN YA'ACOV A, HEMED N, et al. Oral administration of OKT3 monoclonal antibody to human subjects induces a dose-dependent immunologic effect in T cells and dendritic cells. *J Clin Immunol.* 2010 30;(1):167-77.

SHIN S, LI N, KOBAYASHI N, YOON JW, JUN HS. Remission of diabetes by beta-cell regeneration in diabetic mice treated with a recombinant adenovirus expressing betacellulin. *Mol Ther.* 2008; 16(5):854-61.

NGOC PK, PHUC PV, NHUNG TH, THUY DT, NGUYET NT. Improving the efficacy of type 1 diabetes therapy by transplantation of immunoisolated insulin-producing cells. *Hum Cell.* 2011; 24(2):86-95.

MEHTA DS, CHRISTMAS RA, WALDMANN H, ROSENZWEIG M. Partial and transient modulation of the CD3-T-cell receptor complex, elicited by low-dose regimens of monoclonal anti-CD3, is sufficient to induce disease remission in non-obese diabetic mice. *Immunology.* 2010; 130(1):103-13.

ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. *Imunologia celular e molecular.* 6ª ed. Elsevier. Rio de Janeiro, p. 143. 2008.

DIB SA, TSCHIEDEL B, NERY M. *Diabetes Mellitus, Type 1 : from research to clinic.* Arq Bras Endocrinol Metabol. 2008; 52(2):143-5.

KEDEES MH, GRIGORYAN M, GUZ Y, TEITELMAN G. Differential expression of glucagon and glucagon-like peptide 1 receptors in mouse pancreatic alpha and beta cells in two models of alpha cell hyperplasia. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 311: 69-76.

GUYTON AC, HALL JE. *Tratado de Fisiologia Médica.* 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 747. 1997.

BOTTAZZO GF, CUDWORTH AG, MOUL DJ, DONIACH D, FESTENSTEIN H. Evidence for a primary autoimmune type of diabetes mellitus. *Br Med J.* 1978 4;2(6147):1253-5.

YOON JW, JUN HS. Autoimmune destruction of pancreatic beta cells. *Am J Ther.* 2005; 12(6):580-91.



CHATENOUD L, E THERVET, PRIMO J, JF BACH. Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994 4;91(1):123-7.

CALDEIRA EJ, CAGNON VH. IGF-I and INS receptor expression in the salivary glands of diabetic Nod mice submitted to long-term insulin treatment. *Cell Biol Int*. 2008; 32(1):16-21.

AKIRAV EM, BAQUERO MT, OPARE-ADDO LW, AKIRAV M, GALVAN E, KUSHNER JA, et al. Glucose and inflammation control islet vascular density and beta-cell function in NOD mice: control of islet vasculature and vascular endothelial growth factor by glucose. *Diabetes*. 2011; 60(3):876-83.

HSU JC, YAMADA KM. Salivary Gland Branching Morphogenesis - Recent Progress and Future Opportunitie. *Int J Oral Sci*. 2010; 2(3):117-26.

CALDEIRA EJ, CAMILLI JA, CAGNON VH. Stereology and ultrastructure of the salivary glands of diabetic Nod mice submitted to long-term insulin treatment. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2005; 286(2):930-7.

MESE H, MATSUO R. Salivary secretion, taste and hyposalivation. *J Oral Rehabil*. 2007; 34(10):711-723.

HAN DJ, SUTHERLAND DE. Pancreas transplantation. *Gut Liver*. 2010; 4(4):450-65.

NOGUCHI H. Pancreatic islet transplantation. *World J Gastrointest Surg*. 2009 30;1(1):16-20.

KIM PT, HOFFMAN BG, PLESNER A, HELGASON CD, VERCHERE CB, CHUNG SW, et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells into endoderm without embryoid body formation. *PLoS One*. 2010 30;5(11):e14146.

MFOPOU JK, CHEN B, SUI L, SERMON K, BOUWENS L. Recent advances and prospects in the differentiation of pancreatic cells from human embryonic stem cells. *Diabetes*. 2010; 59(9):2094-101.

KEYMEULEN B, VANDEMEULEBROUCKE E, ZIEGLER AG, MATHIEU C, KAUFMAN L, HALE G, et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2005;352(25):2598–2608.

HEROLD KC, GITELMAN SE, MASHARANI U, HAGOPIAN W, BISIERSKA B, DONALDSON D, et al. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1 (Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005;54(6):1763–1769.

HEROLD KC, HAGOPIAN W, AUGER JA, POUMIAN-RUIZ E, TAYLOR L, DONALDSON D, et al. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2002 30;346(22):1692-8.