



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Diana Sofia Azevedo Alves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Avanços na Imunoterapia na prevenção e tratamento da Diabetes *Mellitus* tipo 1”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria Helena Basto, Dra. Catarina Silva e do Professor Doutor Ricardo Castro, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Diana Sofia Azevedo Alves

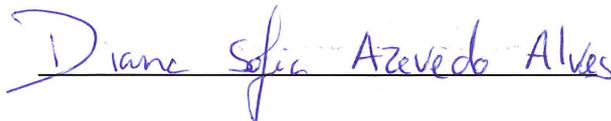
Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Avanços na Imunoterapia na prevenção e tratamento da Diabetes *Mellitus* tipo 1”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria Helena Basto, Dra. Catarina Silva e do Professor Doutor Ricardo Castro, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2022

Eu, Diana Sofia Azevedo Alves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017275685, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Avanços na Imunoterapia na prevenção e tratamento da Diabetes *Mellitus* tipo I” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2022.



(Diana Sofia Azevedo Alves)

Agradecimentos

Aos meus pais e irmã por serem o meu pilar, responsáveis por aquilo que sou hoje, por me darem apoio e força ao longo da vida, pelo caminhar lado a lado, pela presença nas etapas boas e também nas menos boas, e por acreditarem sempre em mim. Agradeço-vos todo o amor e toda a ajuda incansável para que consiga alcançar os meus sonhos.

Aos meus avós, que apesar de não estarem presentes em vida, demonstraram sempre amor, carinho e confiança por mim, e me guiaram ao longo deste percurso para que me tornasse no que sou hoje. Sei que ficariam orgulhos por verem mais um sonho meu tornado realidade.

À restante família, pela presença e incentivo ao longo de todo o meu percurso académico.

Ao Rui, pela paciência, pelo apoio constante e por ter acreditado que sou capaz.

Aos meus amigos de longa data, que embora à distância, sempre me apoiaram.

Às novas amizades que Coimbra me deu, em especial à Teresa, à Dani, à Maria, à Caseiro e à Raquel, pelas memórias criadas, pela alegria e gargalhadas contagiantes, pela ajuda e pelo apoio nos momentos mais difíceis e pela união presente. Agradeço por terem sido a minha segunda casa ao longo destes anos e por terem vivido e sentido comigo o que Coimbra tinha para oferecer.

Levo-vos comigo para a vida.

Às restantes amizades que a Faculdade me trouxe e que levo no coração.

À nova família, em especial a minha madrinha e afilhada, pelos sorrisos partilhados e por serem amigas que levo para a vida.

Ao Professor Doutor Ricardo Castro, pela disponibilidade, ajuda e profissionalismo com que me orientou na escrita da Monografia.

A toda a equipa da Farmácia Loureiro Basto pelos ensinamentos e pela amizade.

A toda a equipa do departamento de Garantia da Qualidade da Farmalabor, pelo apoio e pelo conhecimento que me transmitiram.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aos docentes e não docentes, pelas ferramentas fornecidas e ensinamentos para o meu futuro.

A Coimbra, por me ter visto crescer e ter sido a minha casa ao longo de 5 anos.

Índice

Parte I: Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária

Abreviaturas	7
1 Introdução	8
2 A Farmácia Loureiro Basto.....	9
3 Análise SWOT	10
3.1 Pontos Fortes.....	10
3.1.1 Fácil integração na equipa e bom acolhimento.....	10
3.1.2 Plano de Estágio.....	10
3.1.3 Diversificação de utentes.....	11
3.1.4 Variedade de produtos apresentados.....	12
3.2 Pontos Fracos	12
3.2.1 Medicamentos manipulados.....	12
3.2.2 Dificuldade na associação de princípio ativo ao nome comercial do medicamento.....	12
3.3 Oportunidades.....	13
3.3.1 Aplicação de conhecimentos teóricos.....	13
3.3.2 Contacto com a realidade da Farmácia Comunitária	13
3.4 Ameaças.....	14
3.4.1 Falta de confiança no estagiário	14
3.4.2 Concorrência ao setor.....	14
4 Casos Clínicos.....	15
5 Conclusão.....	17
6 Referências	18

Parte II: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas	20
1 Introdução	21
2 A Farmalabor – Grupo Medinfar	22
3 Análise SWOT	23
3.1 Pontos Fortes.....	23
3.1.1 Integração e equipa de trabalho.....	23
3.1.2 Atividades executadas, organização e conhecimentos adquiridos.....	23
3.1.3 Condições de trabalho e autonomia.....	24
3.2 Pontos Fracos	25
3.2.1 Duração do estágio.....	25
3.2.2 Realização de poucas formações complementares	25
3.3 Oportunidades.....	25
3.3.1 Desenvolvimento de mais competências informáticas.....	25
3.3.2 Perspetiva de uma nova saída profissional.....	26
3.3.3 Conhecimento alargado de diversos produtos farmacêuticos	26
3.4 Ameaças	26
3.4.1 Dificuldade em aplicar os conhecimentos adquiridos no MICF.....	26
4 Conclusão	27
5 Referências	28

Parte III: Monografia "Avanços na Imunoterapia na prevenção e tratamento da Diabetes Mellitus tipo I"

Abreviaturas	30
Resumo.....	32
Abstract.....	33
1 Introdução	34
2 Diabetes Mellitus (DM).....	35
3 Diabetes Mellitus tipo I	36
3.1 Epidemiologia.....	36
3.2 A patologia.....	36
3.3 Sintomas e diagnóstico	37
3.4 Risco genético e detecção de autoanticorpos-Biomarcadores	38
3.5 Imunopatogenia da DMI	41
3.6 Mecanismos Imunológicos na DMI	42
4 Insulina e novas terapias.....	43
5 Imunoterapia na DMI	44
5.1 Abordagem Histórica da Imunoterapia na DMI	45
5.2 Terapias de Imunoterapia na DMI	46
5.2.1 Terapias de inibição de citocinas pró-inflamatórias e de inflamação	46
5.2.2 Terapia direcionada à célula B	48
5.2.3 Terapias direcionadas à célula T	48
5.2.4 Terapia específica para autoantígenos.....	51
5.2.5 Terapias celulares.....	53
5.2.6 Terapias com células-tronco.....	55
5.3 Esperanças e deceções com a imunoterapia na DMI	55
6 Conclusão	57
7 Referências	58

Parte I

Relatório de estágio de Farmácia Comunitária

Farmácia Loureiro Basto



Sob orientação da Dra. Maria Helena Basto.

Abreviaturas

COVID-19 – Doença associada ao vírus SARS-CoV-2

DCI – Denominação Comum Internacional

FC – Farmácia Comunitária

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FLB – Farmácia Loureiro Basto

MICF – Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I Introdução

A Farmácia Comunitária (FC) é uma área significativa em relação a todo o setor farmacêutico, que conta com inúmeros farmacêuticos a trabalhar diariamente neste espaço. As Farmácias são locais que o utente procura em primeiro lugar em busca de auxílio de saúde e de medicação. Em muitas zonas do território nacional são as únicas estruturas de saúde disponíveis para prestar cuidados de saúde, tendo os farmacêuticos comunitários um importante cargo na sociedade.

O farmacêutico comunitário tem tido cada vez mais, um papel fundamental na população, focando-se nos utentes, contribuindo para a promoção da saúde e de estilo de vida saudável, identificando pessoas de risco, determinando parâmetros, cedendo medicamentos e promovendo o uso responsável destes ¹.

O Estágio Curricular em FC, contido no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), tem como objetivo a aplicação de todos os conhecimentos adquiridos no decorrer do curso e a consolidação dos mesmos, tornando-se fundamental para os estudantes a perceção deste mundo de trabalho antes da finalização do curso e para a preparação do seu futuro.

O presente relatório visa a análise do Estágio Curricular em FC realizado durante 4 meses, no período de 10 de janeiro a 21 de abril, que teve lugar na Farmácia Loureiro Basto (FLB), em Palmeira, Braga, com a orientação da Doutora Maria Helena Basto. Este apresenta-se sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), onde procuro mostrar os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*) identificados durante o estágio e por fim, são apresentados cinco casos clínicos que demonstram a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso.

2 A Farmácia Loureiro Basto

A FLB abriu as portas à comunidade no dia 15 de outubro de 1981, desde este dia apresenta como única proprietária e diretora técnica a Dra. Maria Helena Basto.

Em 2003, a FLB inaugurou as atuais instalações para corresponder às exigências do mercado, para servir cada vez melhor, em prol da comunidade e de todas as suas necessidades, tornando-se num espaço mais dinamizador e moderno. Nesse mesmo ano, a Dra. Maria Helena Basto torna-se pioneira num conceito ainda desconhecido no Minho, o “*Pharmadrive*”.

A FLB situa-se na freguesia de Palmeira do concelho de Braga, freguesia com cerca de 5500 habitantes, e encontra-se junto a uma estrada nacional que liga Palmeira a Braga. Sendo a única Farmácia na freguesia, é uma Farmácia muito procurada pelos habitantes de Palmeira e por muitos clientes passagem de freguesias e concelhos vizinhos e ainda, por muitos turistas.

A Farmácia é composta por dois pisos: o piso 0 e o piso -I. No piso 0 encontra-se a zona de atendimento ao utente, com 4 balcões de atendimento; um gabinete ao utente e de prestação de serviços farmacêuticos; um gabinete de estética e aconselhamento de dermofarmácia e cosmética; a zona de *back-office*, onde ficam os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e feita a receção de encomendas e ainda, a sala da direção técnica. É neste piso que os utentes se encontram e se depararam com muitos produtos nos diversos lineares que existem, como o linear de dermofarmácia e cosmética, de higiene oral e produtos de puericultura. O piso -I é constituído pelo armazém, que abriga todos os produtos e medicamentos em excesso e ainda, o acesso dos trabalhadores da Farmácia ao “*Pharmadrive*”. Na parte de exterior da Farmácia existe um “*Pharmashop24h*” e nas traseiras um parque de estacionamento para utentes.

A equipa da Farmácia é constituída por 11 funcionários, compostos pela diretora técnica, por uma farmacêutica adjunta, por mais três farmacêuticas e por seis técnicos de Farmácia.

O horário de funcionamento da FLB é das 8h30min às 20h, durante os dias úteis e das 8h30min às 19h aos sábados, aos domingos e feriados encontra-se encerrada.

A FLB abrange serviços de entrega de medicamentos ao domicílio, preparação individualizada de medicação, consultas de nutrição e de podologia, administração de injetáveis e vacinas, medição de parâmetros bioquímicos, medição da pressão arterial e mais recentemente testagem à COVID-19 pelo método de deteção de antígeno.

Com uma equipa muito diversificada, multifuncional e com inovação nas instalações, esta Farmácia atrai confiança aos utentes de várias faixas etárias, centrando-se nas suas necessidades, procurando a sua proximidade e promovendo a saúde e bem-estar.

3 Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes

3.1.1 Fácil integração na equipa e bom acolhimento

Durante a realização deste estágio, devo enaltecer a forma como desde o primeiro dia fui recebida e integrada por todos os membros da FLB, o que para mim foi uma mais-valia e sucesso para a minha aprendizagem durante o meu período de estágio.

No primeiro dia de estágio, a Dra. Maria Helena Basto mostrou-me as instalações da Farmácia, referindo toda a sua história envolvente, a sua organização e a metodologia que se pratica e de seguida, apresentou-me a todos os funcionários da FLB que demonstraram simpatia e disponibilidade.

Ao longo do estágio, tive que executar inúmeras tarefas e por vezes, durante a sua realização, suscitavam-me algumas dúvidas. Para que percebesse tudo com rigor, todos os colaboradores da FLB mostraram-se disponíveis para me esclarecerem todos os meus receios e auxiliaram-me em todos os trabalhos que efetuei.

Uma das atividades que me causava algumas dúvidas era o manuseio do *software* Sifarma 2000® durante os atendimentos, mas com a prontidão dos membros da FLB e de toda a sua paciência, senti-me confiante e segura em todos os atendimentos prestados aos utentes.

O facto de a equipa da FLB ser unida, apresentar profissionalismo, ser dinâmica e prestativa, fez-me sentir bem e adaptada, e tornou esta experiência mais enriquecedora e com um ambiente propício para o meu conhecimento e aprendizagem.

3.1.2 Plano de Estágio

Logo no início do estágio a Dra. Maria Helena definiu o meu plano de estágio em conjunto com os outros elementos da equipa da FLB, que veio a ser essencial para conhecer todo o trabalho existente numa Farmácia e desempenhar todo o tipo de tarefas necessitadas.

Nas primeiras semanas de estágio, o trabalho desenvolvido ocorreu na maior parte na zona de *back-office*, realizando a receção de encomendas, devolução de medicamentos e notas de crédito, no *software* da farmácia, o Sifarma 2000®. Ao mesmo tempo que rececionava as encomendas, arrumava os medicamentos nos locais previamente estabelecidos da Farmácia, verificava os prazos de validade e fazia a gestão de *stocks*. Considero que este trabalho seja de grande importância, uma vez que, na arrumação e receção de encomendas temos noção dos produtos existentes na Farmácia, contactamos diariamente com eles, com o seu nome comercial e princípios ativos, o que pode ajudar depois durante o atendimento ao público,

para o aconselhamento personalizado, ao associar o nome do produto à embalagem e também ajudar na localização dos produtos na Farmácia de forma rápida. O trabalho de *back-office* pode ainda, garantir uma proximidade com o *software* Sifarma 2000® para posterior utilização.

Numa fase seguinte observei atendimentos ao balcão, percebendo a sua logística envolvente e pude contactar pela primeira vez com os utentes. Nesta fase realizei ainda, algumas medições de tensão arterial e acompanhei a testagem de parâmetros bioquímicos com a supervisão de uma farmacêutica.

Na última parte do meu estágio iniciei os atendimentos ao balcão, primeiramente com a monitorização de algum membro da FLB e depois com o avançar do tempo, comecei a realizar atendimentos sozinha, mas sempre que tinha alguma dúvida não estava em pedir auxílio.

Considero que todo este plano de estágio diverso e organizado, permitiu que evoluísse enquanto estagiária, com etapas consolidadas em conhecimentos adquiridos e preparando-me sempre para o meu futuro.

3.1.3 Diversificação de utentes

A FLB apresenta muitos utentes habituais e que se encontram fidelizados na Farmácia, na maioria idosos, que frequentam a Farmácia muitas vezes durante a semana, para comprarem os seus medicamentos e para alguns esclarecimentos que não hesitam em perguntar devido à confiança e serviço lá prestado.

Durante o meu estágio, pude conhecer um pouco destes utentes habituais e consegui acompanhar um pouco da sua vida e personalizar o atendimento, uma vez que já os conhecia e podia ter uma melhor comunicação com eles. Ao conhecer as patologias que apresentavam e os medicamentos que tomavam habitualmente, verificava se cumpriam com a posologia e percebia se havia possibilidade de interações com outros medicamentos que compravam, para situações esporádicas.

No entanto, na FLB havia muitos utentes pontuais, pessoas que se encontravam de passagem devido à proximidade com Braga ou até mesmo turistas. Nestes casos, dispensava na maioria das vezes Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) que me solicitavam ao balcão e medicamentos para pequenas patologias que apresentavam. Aqui, prestava um atendimento mais simples e o mais breve possível, mas sempre eficaz para nunca deixar dúvidas ao utente e transmitir sempre a mensagem da forma mais clara possível.

A diversificação de utentes com que me deparei no meu dia-a-dia durante o estágio, desde a faixa etária, às diferentes patologias que apresentavam, contribuíram para ter atendimentos muito heterogéneos e ajudou-me a saber como atuar em diversas situações, consoante o utente que encontro à minha frente no balcão.

3.1.4 Variedade de produtos apresentados

Os clientes da FLB descrevem-na como um local organizado, que apresenta tudo o que precisam e com uma enorme variedade de produtos. A FLB patenteia um vasto leque de produtos, desde produtos farmacêuticos, suplementos alimentares, produtos de dermofarmácia, produtos de uso veterinário e produtos de puericultura, todos eles de várias marcas e de diferentes laboratórios. Esta diversidade de produtos contribuiu para ter um conhecimento mais alargado e um contacto com quase todos os produtos vendidos nas Farmácias.

3.2 Pontos Fracos

3.2.1 Medicamentos manipulados

Os medicamentos manipulados nas FC apresentam, cada vez mais uma expressão diminuída, e muito se deve ao avanço da Indústria Farmacêutica, com o aparecimento de produtos que correspondem ao problema sem ser necessário uma manipulação.

Na FFUC tive uma unidade curricular que me preparou para produzir manipulados, mas durante o meu estágio não tive a oportunidade de colocar os meus conhecimentos em prática, já que não preparei nenhum manipulado ou não observei nenhuma preparação. A FLB adquiria produtos manipulados a Farmácias da zona que se dedicam a este tipo de preparações.

3.2.2 Dificuldade na associação de princípio ativo ao nome comercial do medicamento

Um dos pontos fracos que saliento, nomeadamente no começo dos meus atendimentos, foi a complexidade em associar o princípio ativo ao nome comercial do medicamento.

A FFUC apresenta uma enorme abrangência no plano curricular, sendo que existem várias unidades curriculares onde abordamos os princípios ativos do medicamento. Durante o curso tivemos pouco contacto com o nome comercial do medicamento, já que, mesmo

durante o estudo de casos clínicos se usa a Denominação Comum Internacional (DCI) e poucas vezes se associa o nome do princípio ativo ao nome comercial.

Hoje em dia, as receitas são prescritas de acordo com a DCI, mas na maioria dos atendimentos, os utentes referem o medicamento que desejam pelo nome comercial e não pelo seu princípio ativo. Assim, nos primeiros atendimentos surgiu-me algumas dúvidas nesse aspeto e tive de consultar algumas vezes o sistema informático para saber qual o medicamento que o utente pretendia.

No entanto, à medida que realizava cada vez mais atendimentos e contactava com os medicamentos na arrumação e receção de encomendas, ultrapassei esta dificuldade e familiarizei-me com os nomes comerciais e com o aspeto da embalagem que apresentavam, e consegui realizar os atendimentos com uma maior facilidade.

3.3 Oportunidades

3.3.1 Aplicação de conhecimentos teóricos

O plano de estudos do MICF é de enorme abrangência. Ao longo destes cinco anos tive várias unidades curriculares que foram muito úteis durante o meu estágio em FC, e que pude por em prática ao aplicar os meus conhecimentos teóricos no dia-a-dia.

Durante os atendimentos, as unidades curriculares de Farmacologia, Farmacoterapia, Fitoterapia, Indicação Farmacêutica e Farmácia Clínica foram essenciais para transpor conhecimentos prévios em ação e ter um melhor desempenho nos atendimentos.

No entanto, ao longo do estágio aprendi e percebi, que é muito importante manter-me sempre atualizada e informada para garantir sucesso em todos os atendimentos efetuados.

3.3.2 Contacto com a realidade da Farmácia Comunitária

Através da FLB pude conhecer de perto a realidade vivida dentro de uma FC. Durante o meu estágio experienciei na primeira pessoa muitas atividades realizadas no dia-a-dia na FLB, desde a zona de *back-office*, a gestão e a organização envolvente e os atendimentos. A FC não é só um local de dispensa de medicamentos, a Farmácia engloba muitas áreas de logística e de aperfeiçoamento para que o cliente obtenha as melhores condições do medicamento e que se sinta sempre confortável na vinda à Farmácia. Para além da dispensa aos medicamentos, existem atividades de relevo para que sejam mantidas toda a segurança e a eficácia, como a receção de encomendas e verificação de prazos de validade dos produtos, gestão de *stocks* e de medicamentos psicotrópicos.

3.4 Ameaças

3.4.1 Falta de confiança no estagiário

Na realização do meu estágio foram muitas as vezes que efetuei atendimentos ao balcão. Por vezes, senti por parte de alguns utentes uma desconfiança e desconforto ao serem atendidos por um estagiário e muitas vezes, chamavam outro colaborador para serem atendidos por alguém com mais experiência. Na maioria das vezes, os utentes têm já uma preferência por parte de alguns membros da equipa, sentindo-se mais seguros e confiantes na presença deles e desconfiam das nossas capacidades enquanto estagiários devido à nossa inexperiência.

Apesar de ter acontecido poucas vezes no decorrer do meu estágio, considero que isto me afetou e foi uma ameaça, ao diminuir o número de atendimentos realizados e na aquisição de mais experiências. No entanto, com o passar do tempo esta situação tornou-se menos recorrente, uma vez que tentei contornar este problema, mostrando sempre assertividade e confiança durante os atendimentos, e toda a falta de confiança por parte de alguns utentes foi ultrapassada.

3.4.2 Concorrência ao setor

Ao longo dos anos as Farmácias têm sofrido uma forte concorrência a nível dos MNSRM com outros estabelecimentos, como as parafarmácias e o aumento de vendas na *internet*. Nestes locais, os MNSRM, tais como suplementos alimentares e produtos de saúde e bem-estar são comprados pelos utentes por vezes a preços mais apelativos e constituem uma ameaça aos farmacêuticos pela desvalorização do seu trabalho e às vendas da Farmácia.

A proximidade existente entre uma superfície comercial com venda de MNSRM e a FLB, tornou-se uma ameaça permanente à qual assisti no decorrer do meu estágio. Muitos utentes pediam aconselhamento dos produtos, junto dos elementos da FLB, mas acabavam por adquirir os mesmos, noutra estabelecimento de venda de MNSRM, referindo que se encontravam a um preço inferior. Porém, é de realçar o conhecimento científico que os profissionais qualificados de Farmácia têm perante os diversos produtos, bem como a segurança e responsabilidade que demonstram nos atendimentos, na medida em que se deveria dar uma maior importância a estes aspetos do que aos preços mais acessíveis.

4 Casos Clínicos

Caso Clínico 1

Um utente do sexo feminino, 23 anos, dirigiu-se à FLB com os seguintes sintomas, dor e ardência ao urinar, peso no fundo da barriga e sensação de micção incompleta. Com algumas questões realizadas, refere que não apresenta febre, nem sangue na urina.

Pela sintomática entendi tratar-se de uma infeção urinária. Questionei a jovem se era a primeira vez ou se já era habitual estar nesta situação e se tomava algum medicamento diariamente, indicando-me que era a primeira vez e que não tem medicação habitual.

Como medida não farmacológica, alertei a utente para a ingestão abundante de água, uso de roupas íntimas de algodão, evitar pensos diários, consumir alimentos ricos em vitamina C, fazer uma boa higiene genital, urinar sempre após uma relação sexual e nunca retardar o ato de urinar.

Aconselhei à utente uma solução de lavagem Saforelle^{®2} para uso diário, para respeitar o equilíbrio da zona íntima. Para além disso, indiquei a toma de um comprimido de Cistisil[®] de 12 em 12 horas. Este é constituído principalmente por arando vermelho, cavalinha e uva ursina, para garantir um bom conforto e funcionamento do trato urinário³. O arando vermelho tem como constituintes as proantocianidinas, que reduzem a adesão das bactérias ao trato urinário e elimina-as na urina; a uva ursina apresenta propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas; a cavalinha como é um diurético natural favorece a eliminação da urina, permitindo a remoção das bactérias.

Por fim, referi à utente que em caso de febre, aparecimento de mais sintomas ou a continuação dos atuais sintomas por tempo prolongado, deveria ser avaliada pelo médico.

Caso Clínico 2

Utente do sexo masculino de 33 anos, jogador de futebol, pediu informação sobre algo que lhe andava a incomodar há algum tempo no seu pé. Depois de um breve questionário refere que anda com comichão, ardor e pele gretada, principalmente entre o 4º e 5º dedo do pé. Perguntei se podia visualizar o seu pé e após a observação, percebi de imediato que se tratava de um fungo, o pé-de-atleta.

Para o tratamento aconselhei o creme Canesten Unidia[®] 10 mg/g de bifonazol, um antifúngico que lhe vai aliviar rapidamente os sintomas, para aplicar 1 vez ao dia, de preferência antes de deitar, durante 3 semanas, com o pé bem seco⁴.

Para prevenir a infeção alertei para a utilização de chinelos nos balneários públicos e para manter os pés sempre secos e limpos. Uma vez que, o utente frequenta com regularidade estes espaços, aconselhei o uso de Canesten® 10 mg/g em pó ⁵, para aplicar depois de terminar o tratamento com o creme, diariamente nas meias e no calçado pela manhã, já que absorve as humidades e previne a reinfeção.

Caso Clínico 3

Um utente do sexo feminino, 42 anos, recorreu à FLB indicando que sente uma sensação de queimação, formigueiro, dor e vermelhidão no lábio.

Após verificar o lábio percebi que se tratava de herpes labial, por isso indiquei a aplicação do creme Zovirax Duo® 50 mg/g + 10 mg/g, com aciclovir e hidrocortisona, 5 vezes ao dia durante 5 dias, indicado para o tratamento de *Herpes simplex*, uma vez que ainda se apresentava no início de sintomas e para diminuir a probabilidade de progredir para uma bolha ⁶. Para o tratamento ser mais eficaz recomendei que iniciasse o mais brevemente possível e que lavasse sempre as mãos antes e após aplicação do creme. Sugeri à utente evitar ao máximo as situações de *stress*, uma boa hidratação, reduzir a exposição solar e a colocação de um *stick* labial com proteção solar.

Caso Clínico 4

Uma jovem veio à FLB com a sua mãe, relatando que se encontrava bastante *stressada*, ansiosa e com dificuldades em adormecer, já que iria realizar os exames nacionais.

Posto isto, aconselhei o Valdispertstress®, com a toma de 1 comprimido 3 vezes ao dia. Este é um medicamento à base de plantas, com a combinação de extrato de valeriana (proporciona relaxamento e calma) e extrato de lúpulo (alívio leves de *stress* e ansiedade mental) ⁷.

Adverti a jovem para realizar pausas intercaladas durante o estudo, ter uma boa alimentação e hidratação, ter uma boa higiene de sono e reduzir o uso de ecrãs digitais, principalmente antes de deitar. No caso de os sintomas persistirem após 2 semanas, deveria consultar um médico.

Caso Clínico 5

Um senhor apresentou-se na FLB com um quadro clínico de tosse seca persistente, garganta irritada devido ao esforço provocado e solicitou algo para o alívio da tosse que o incomodava há cerca de 2 dias. Uma vez que, a COVID-19 se encontrava com muitos casos

ativos e a tosse é um dos principais sintomas da doença, perguntei ao senhor se queria realizar o teste de antigénio para despiste. Após a realização do teste, e este ter dado negativo, questionei se era diabético e depois de uma resposta negativa indiquei o Grintuss Adult® em xarope, recomendando a toma de 2 colheres doseadoras 2 a 4 vezes por dia e lembrando que a última toma deve ser efetuada antes de deitar. O Grintuss Adult® é um dispositivo médico, composto por um complexo molecular de Resinas, Polissacáridos e Flavonóides de Grindélia, Tanchagem, Helicriso e mel. O mel lubrifica e cria uma película protetora de efeito barreira que acalma a tosse e protege a mucosa das vias respiratórias superiores⁸.

Por fim, aconselhei uma boa hidratação, evitar ambientes com fumo e que em caso de persistência e/ou agravamento de sintomas, deveria dirigir-se ao médico.

5 Conclusão

As FC são na maioria das vezes os estabelecimentos de saúde de primeira linha, que garantem uma proximidade com os utentes e esclarecem dúvidas relativas ao seu estado de saúde ou de medicamentos. Como tal, os farmacêuticos comunitários são agentes importantes da saúde pública, com um papel fulcral na sociedade, que têm que responder sempre com assertividade, conhecimento e com responsabilidade.

Após a realização do estágio em FC entendo que este foi um passo importante para a minha formação enquanto futura farmacêutica, contribuindo para o meu conhecimento profissional e pessoal. No decorrer do estágio desenvolvi competências de comunicação interpessoal, que me garantiram uma boa interação com os utentes, confiança e autonomia. Tive a oportunidade de conhecer a realidade de uma FC ao longo deste período, perceber o papel dos farmacêuticos e as tarefas por eles realizadas e ainda, aplicar os meus conhecimentos teóricos em prática.

Agradeço a amabilidade com que me acolheram desde o primeiro dia, a ajuda incansável e a prontidão para comigo por parte de toda a equipa da FLB, que me permitiu evoluir mais a cada dia. Sinto-me mais completa e preparada para servir a sociedade e focar-me sempre no bem-estar e na saúde de todos.

6 Referências

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **A Farmácia Comunitária – Áreas Profissionais**. [Acedido a 30 março de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. SAFORELLE - **Solução de lavagem – Gel Higiene Íntima - Saforelle**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://pt.saforelle.com/cuidados-ginecologicos/suas-necessidades-gynaecological-cares/solucao-lavagem/>
3. SILFARMAPLUS - **CISTISIL**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://silfarmaplus.pt/produto/cistisil/>
4. INFARMED - **Infomed – Canesten Unidia**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
5. INFARMED - **Infomed – Canesten**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
6. ZOVIRAX - **Produtos para o Herpes Labial | Zovirax**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.zovirax.pt/cold-sore-products.html>
7. INFARMED - **Infomed – Valdispertstress**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
8. ABOCA - **Grintuss Adult**. [Acedido a 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.grintuss.pt/grintuss/grintuss-adult-xarope/>

Parte I I

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Farmalabor – Produtos Farmacêuticos, S.A



Sob orientação da Dra. Catarina Silva.

Abreviaturas

CAPAs – Plano de Ações Corretivas e Preventivas

CMO – *Contract Manufacturing Organization*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

GLP – Boas Práticas de Laboratório

GMP – Boas Práticas de Fabrico

GQ – Garantia da Qualidade

IF – Indústria Farmacêutica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

RL – Registo de lote

RQP – Revisão da Qualidade do Produto

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) diferencia-se em diversas áreas e contém um plano de estudos muito abrangente, que proporciona um enorme leque de saídas profissionais e inúmeras competências.

A oportunidade de um Estágio Curricular no segundo semestre do nosso 5º ano é importante para aplicarmos os nossos conhecimentos em prática e ainda, conhecermos as diferentes saídas profissionais e aprendermos sobre o papel do farmacêutico em cada uma delas. Para além de um estágio em Farmácia Comunitária, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) dá-nos a oportunidade de optar por outro estágio numa área do nosso interesse, como Farmácia Hospitalar ou Indústria Farmacêutica (IF).

Durante o meu percurso na FFUC sempre senti curiosidade na área da IF, uma vez que é uma área de grande crescimento e inovação e muito preponderante nos dias que correm.

O meu estágio realizou-se numa IF, na Farmalabor, sediada em Condeixa-a-Nova, no departamento de Garantia da Qualidade (GQ) e teve a duração de 3 meses, com início a 2 de maio e término a 29 de julho de 2022, e contou com a orientação da Dra. Catarina Silva.

O presente relatório está desenvolvido através de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), para analisar o meu percurso durante o estágio através de uma perspetiva interna, que inclui os Pontos Fortes e Fracos (*Strengths* e *Weaknesses*, respetivamente) e uma perspetiva externa, com as Oportunidades e Ameaças (*Opportunities* e *Threats*, respetivamente).

2 A Farmalabor – Grupo Medinfar

O Grupo Medinfar foi fundado em 1970 e tem sede na Venda Nova, na Amadora, mas conta com uma unidade de Produção Industrial em Condeixa-a-Nova, a Farmalabor. Atualmente, é uma empresa líder em Portugal na categoria de Saúde do Consumidor e Dermatologia, classificada como 3^a maior no top de 5 empresas portuguesas.

Ao longo de 50 anos no mercado, tem-se focado na investigação, desenvolvimento e fabrico de produtos farmacêuticos, cosméticos e suplementos alimentares para posterior distribuição e comercialização. Para além de marcas próprias, produz diferentes produtos em parcerias com empresas farmacêuticas e encontra-se disponível em mais de 40 países mundiais, trabalhando sempre de forma ética, segura e sustentável, para garantir um compromisso com a saúde ¹.

A Farmalabor é uma unidade de Produção Industrial, que foi adquirida em 2001 pelo Grupo Medinfar, e faz parte do Grupo Medinfar, juntamente com a Medinfar Consumer Health, Medinfar Maroc, Medinfar Sorológico, Genéricos Portugueses e a DVine ^{2, 3}.

Para além de produzir produtos do Grupo Medinfar, a Farmalabor produz para outras empresas parceiras do setor farmacêutico por contrato, a empresas nacionais e internacionais, sendo uma *Contract Manufacturing Organization (CMO)*. Na Farmalabor a produção pode ser completa, ou com serviço à medida, isto é: com fabrico a granel, com serviços de acondicionamento ou serviços analíticos e libertação de lotes. Na unidade de Produção Industrial, são produzidos inúmeros produtos, como produtos cosméticos, medicamentos com e sem receita médica, produtos de uso veterinário e suplementos alimentares, com diversas formas farmacêuticas, desde formas sólidas, líquidas e semi-sólidas não estéreis ^{4, 5, 6}.

A Farmalabor apresenta um rigor e garantia de qualidade nos produtos farmacêuticos, mantendo uma sustentabilidade ambiental e garantindo a proteção de todos os trabalhadores. Assim, cumpre com rigor e dedicação as Boas Práticas de Fabrico (GMP) e de Laboratório (GLP), e é certificada nas áreas de Qualidade, Higiene e Segurança no Trabalho e Ambiente, com as seguintes Normas ISO 9001, ISO 45001, ISO 14001 ⁷.

3 Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes

3.1.1 Integração e equipa de trabalho

No meu primeiro dia de estágio fui muito bem acolhida nas instalações da empresa e foi-me dada uma pequena apresentação inicial e algumas formações úteis para o decorrer do estágio. As formações incidiram no tópico de Acolhimento, isto é: o enquadramento da Farmalabor no Grupo Medinfar, estrutura da empresa e objetivos, identificação das políticas da empresa e conhecer as normas GMP; no tópico de Higiene e Segurança no trabalho, com a apresentação da regulamentação da empresa e do plano de Segurança Interno; no tópico de Ambiente, referenciando a política do Grupo Medinfar em relação a gestão de resíduos, água e efluentes líquidos e gasosos e por último, no tópico de Informática, com uma breve explicação de alguns programas que iria usar durante o meu estágio. No final das formações, a minha orientadora apresentou-me toda a equipa da GQ, referenciou-me algum do trabalho que iria realizar durante o estágio e fiz uma pequena visita a outros departamentos da empresa.

Ao longo do estágio, a equipa de trabalho demonstrou desde sempre muito profissionalismo, competência e disponibilidade, o que foi uma mais-valia para mim, já que estavam sempre disponíveis para me auxiliar em qualquer tarefa e dúvida que necessitasse, e contribuíram sempre para me sentir integrada e manter uma boa aprendizagem durante o estágio.

3.1.2 Atividades executadas, organização e conhecimentos adquiridos

Durante o meu estágio no departamento de GQ pude vivenciar diversas atividades realizadas, ajudar na sua concretização e perceber a importância deste departamento para garantir uma boa manutenção e a realização de um bom trabalho na empresa.

A Farmalabor encontra-se bem estruturada e organizada, com uma boa gestão de tarefas, contando com a ajuda da metodologia *Kaizen*, que ajuda na melhoria contínua e na otimização de processos nas equipas de trabalho. Participei em todas as reuniões semanais *Kaizen* onde me eram destinadas diferentes tarefas para a semana e que me ajudava a gerir o meu tempo. Por vezes, existiam pequenas reuniões diárias quando era necessário algum esclarecimento por parte de algum elemento da equipa. Considero esta metodologia muito boa para planear as tarefas e ajudar nas suas execuções.

Nos meus primeiros dias de estágio foi-me explicado alguns conceitos abordados no departamento de GQ, como o procedimento de desvios, reclamações e Plano de Ações Corretivas e Preventivas (CAPAs) e as bases de dados associadas aos diferentes processos. Posto isto, comecei a realização das minhas tarefas que me eram estipuladas durante a reunião *Kaizen*. As minhas tarefas consistiram na recolha de dados para investigações derivadas de desvios e reclamações, preenchimento e correção da Revisão da Qualidade do Produto (RQP) e carregamento de CAPAs para um ficheiro.

Durante as investigações de desvios e reclamações, a minha função foi recolher dados de diversos processos descritos no Registo de lote (RL) do medicamento, que pudessem pôr em causa o desenvolvimento do desvio ou da reclamação, como a humidade, granulometria e o doseamento, e por fim criar um ficheiro Excel com todos os dados para uma fácil interpretação. Nesta atividade pude perceber alguns dos processos mais críticos de fabrico que originam os desvios e as reclamações, e perceber mais acerca de produtos e equipamentos utilizados no fabrico dos produtos farmacêuticos.

No preenchimento e correção de RQP recolhia dados existentes no RL dos diferentes medicamentos e nos certificados de análise que estavam presentes numa base de dados da empresa.

As CAPAs são ações corretivas e preventivas, que são elaboradas para prevenir ou eliminar uma não conformidade, que derivavam de desvios, reclamações, auditorias e RQP e que são direcionadas a responsáveis pela concretização dessas ações. No estágio recolhia as CAPAs de diversos *inputs* para um único ficheiro, para depois ser mais fácil perceber se essas CAPAs já se encontravam concluídas, ou seja, fechadas ou não concluídas, abertas.

Para além destas tarefas ajudei sempre em tudo o que fosse preciso, procurando manter-me ativa e dinâmica, adquirindo sempre conhecimentos em todos os exercícios exercidos.

3.1.3 Condições de trabalho e autonomia

A Farmalabor preocupa-se bastante com as condições de trabalho e bem-estar dos seus colaboradores e também dos estagiários que por lá passam. Logo no início do estágio foi-me disponibilizado todo o material necessário para a realização do estágio. Além de material de escritório essencial, tive direito a uma secretária com um computador para poder realizar o meu trabalho e o acesso direto a algumas pastas de informação da empresa e bases de dados.

Com estas condições de trabalho pude exercer o meu trabalho sempre de forma autónoma, de forma crítica e testando os meus conhecimentos, sendo que a confiança que foi

depositada em mim na realização das tarefas também me ajudou a trabalhar melhor e com maior segurança.

3.2 Pontos Fracos

3.2.1 Duração do estágio

A FFUC dá-nos a oportunidade da realização do nosso estágio numa área diferente de Farmácia Comunitária ou Farmácia Hospitalar, o que considero interessante e proveitoso para mim. Na minha opinião, a duração de três meses de estágio em IF é um curto período de tempo. Se a duração do estágio fosse mais longa poderia ter a oportunidade para contactar com outros departamentos da empresa e conhecer melhor a realidade de cada um e ainda, realizar tarefas mais variadas na área de GQ e aprofundar mais os meus conhecimentos.

3.2.2 Realização de poucas formações complementares

Logo no primeiro dia de estágio foram-me providenciadas diferentes formações, que também são lecionadas sempre que há entrada de novos colaboradores na Farmalabor. Ainda que existam constantes formações diárias a colaboradores na empresa, não tive oportunidade de assistir a mais nenhuma formação durante o meu estágio e sinto que seria uma mais-valia para adquirir novos conhecimentos e novas experiências para o meu futuro.

3.3 Oportunidades

3.3.1 Desenvolvimento de mais competências informáticas

No decorrer do estágio uma das ferramentas informáticas mais requeridas foi o programa Excel, usado para compilação de informações. O conhecimento que tinha do programa informático era reduzido, apenas tinha noções básicas do seu uso. No estágio tive a oportunidade de desenvolver mais competências neste programa, primeiro com a ajuda da equipa da GQ e depois com o uso diário da ferramenta, ao explorá-lo sempre mais a cada dia e com a rotina de trabalho. O conhecimento mais profundo do programa Excel é sem dúvida uma mais-valia para o meu futuro e para pôr em prática para eventuais trabalhos idênticos, principalmente numa área da IF.

3.3.2 Perspetiva de uma nova saída profissional

Durante o meu percurso académico tive a oportunidade de realizar um estágio de verão em Farmácia Hospital e tinha imensa curiosidade em conhecer a realidade de uma IF, já que em MICF temos uma visão muito superficial desta área. Através deste estágio, pude visualizar algum do trabalho efetuado numa IF durante o seu dia-a-dia e analisar de perto o departamento de GQ e todos os contratemplos que vão surgindo, perspetivando uma nova saída profissional.

A área de IF é uma área em constante inovação e de permanente evolução, que fornece grandes oportunidades a um farmacêutico, dado que pode trabalhar nos diversos departamentos de uma IF.

3.3.3 Conhecimento alargado de diversos produtos farmacêuticos

Na Farmalabor são produzidos diariamente muitos produtos farmacêuticos e nas mais variadíssimas formas. No decorrer do meu estágio tive a oportunidade de conhecer mais profundamente alguns medicamentos e produtos farmacêuticos, nomeadamente do Grupo Medinfar, através dos seus RL que utilizava para trabalhos de investigação. No RL era descrito todos os processos realizados na fabricação, as diferentes matérias-primas usadas, todos os equipamentos, os diferentes controlos em processo e as análises efetuadas ao produto.

3.4 Ameaças

3.4.1 Dificuldade em aplicar os conhecimentos adquiridos no MICF

O plano curricular do MICF é abrangente e tem algumas unidades curriculares que foram importantes para o meu desempenho no decorrer do estágio, como Gestão e Garantia de Qualidade e Assuntos Regulamentares.

No entanto, considero que os conteúdos teóricos lecionados na FFUC são muito diferentes daquilo que é aplicado no dia-a-dia na IF. A maior parte das unidades curriculares abordam a temática da IF de forma teórica e muito simplista, por isso torna-se muito difícil transpor os conhecimentos adquiridos ao longo do curso para a prática da realidade vivida na IF.

4 Conclusão

A IF é uma área em constante desenvolvimento e progresso, com muita complexidade e inovação na saúde. Ao realizar o meu estágio na Farmalabor tive o primeiro contacto com a realidade vivida numa IF, percebi as diferentes atividades efetuadas e os diferentes cargos exercidos pelos farmacêuticos na IF.

O departamento de GQ engloba uma área que nos permite ter uma noção do circuito dos produtos farmacêuticos, desde o processo de fabricação, comercialização no mercado e pós-comercialização, garantindo a segurança e qualidade dos mesmos. Durante estes três meses tive a oportunidade de cimentar os conhecimentos que adquiri na FFUC, obter novos princípios, reforçar algumas competências, como a organização, espírito de equipa e a autonomia, conhecer novos horizontes de trabalho e ter a perspetiva de uma nova saída profissional.

A Farmalabor fez-me crescer a nível profissional e a nível pessoal, pois sei que as novas bases que adquiri e reforcei vão ser úteis no meu dia-a-dia enquanto futura farmacêutica e vão-me ajudar a ser melhor.

Agradeço a disponibilidade e simpatia desde o momento de acolhimento até ao final do estágio e a ajuda incansável para que aprendesse mais e melhor todos os dias.

5 Referências

1. MEDINFAR - **Quem Somos - Sobre Nós | Grupo Medinfar**. [Acedido a 2 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/sobre-nos/quem-somos>
2. MEDINFAR - **Estrutura do Grupo - Sobre Nós | Grupo Medinfar**. [Acedido a 10 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/sobre-nos/estrutura-do-grupo>
3. MEDINFAR - **História - Sobre Nós | Grupo Medinfar**. [Acedido a 10 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/sobre-nos/historia>
4. MEDINFAR - **Produção - Indústria | Grupo Medinfar**. [Acedido a 15 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/producao>
5. MEDINFAR - **Fabrico por contrato - Indústria | Grupo Medinfar**. [Acedido a 15 agosto 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/fabrico-por-contrato>
6. MEDINFAR - **Produtos | Grupo Medinfar**. [Acedido a 15 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/produtos>
7. MEDINFAR - **Certificação - Indústria | Grupo Medinfar**. [Acedido a 20 agosto de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/certificacao>

Parte III

Monografia

“Avanços na Imunoterapia na prevenção e tratamento da
Diabetes *Mellitus* tipo I”

Sob Orientação do Professor Doutor Ricardo Castro.

Abreviaturas

ADA – Associação Americana de Diabetes

APCs – Células Apresentadoras de Antígenos

ATG – Globulina Anti-timócito

CTLA4 – Proteína 4 Associada ao Linfócito T Citotóxico

DCs – Células Dendríticas

DM – Diabetes *Mellitus*

DM1 – Diabetes *Mellitus* tipo 1

DM2 – Diabetes *Mellitus* tipo 2

DPT-1 – *Diabetes Prevention Trial-Type 1 Diabetes*

FDA – *Food and Drug Administration*

GAD – Glutamato Descarboxilase

GADA – Anticorpo anti-descarboxilase do Ácido Glutâmico

GAD-alum – GAD com hidróxido de alumínio

G-CSF – Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos

HbA1c – Hemoglobina Glicada

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

HSP60 – Proteína de choque térmico 60

IA-2 – Proteína 2 Associada ao Insulinoma

IA-2A – Autoanticorpo da Proteína 2 Associada ao Insulinoma

ICA – Anticorpo das Células dos Ilhéus

IFN γ – Interferão-gama

IL – Interleucina

IL-1 β – Interleucina 1 Beta

IL-2 – Interleucina 2

IL2RA – Cadeia alfa do Recetor de Interleucina 2

INS – Gene de Insulina

MHC – Complexo Maior de Histocompatibilidade

mIAA – Micro- autoanticorpo da Insulina

MSCs – Células-tronco mesenquimais

NBI-6024 – Peptídeo alterado derivado do epítopo da insulina

NOD – Diabético Não Obeso

PTPN22 – Proteína Tirosina Fosfatase não Recetor tipo 22

TCR – Recetor de Células T

Teffs – Células T efetoras

TNF α – Fator de Necrose Tumoral alfa

ToIDCs – Células Dendríticas Tolerogénicas

Tregs – Células T reguladoras

ZnT8 –Transportador de Zinco 8

ZnT8A –Autoanticorpo do Transportador de Zinco 8

Resumo

A Diabetes *Mellitus* tipo I é uma doença que atinge quase 30 milhões de pessoas em todo o mundo. É uma doença autoimune, caracterizada por uma perda de massa e de função das células β do pâncreas secretoras de insulina, provocando uma hiperglicemia, falta de glicose nas células e diversos problemas nos tecidos e órgãos. A causa da doença ainda não é conhecida, mas acredita-se que interações genéticas e ambientais possam impulsionar a patologia. Diferentes biomarcadores estão a ser investigados para estudar o estágio da doença e o seu desenvolvimento. Atualmente, a insulina exógena é a única terapia disponível para a Diabetes *Mellitus* tipo I, mas o seu uso ainda apresenta alguns problemas. Devido ao facto da Diabetes *Mellitus* tipo I ser uma doença autoimune, uma nova proposta de uma terapia surgiu, a imunoterapia, já utilizada em diversas doenças autoimunes. Várias abordagens imunoterapêuticas foram estudadas ao longo dos anos, desde terapias não específicas para autoantígenos; estratégias para inibir as citocinas pró-inflamatórias; estratégias específicas para autoantígenos; terapia celular; uso de células-tronco e imunoterapias combinadas. Para já, a imunoterapia não consegue retardar ou tratar a Diabetes *Mellitus* tipo I, devido a vários obstáculos, mas já existem estudos com resultados promissores por um determinado tempo. Novos estudos de imunoterapia na Diabetes *Mellitus* tipo I estão em constante evolução, para que esta seja uma terapia eficaz num futuro próximo.

Palavras-chave: Diabetes *Mellitus* tipo I, Autoimunidade, Imunoterapia, Biomarcadores da doença, Abordagens imunoterapêuticas.

Abstract

Type I Diabetes *Mellitus* is a disease that affects almost 30 million people worldwide. It is an autoimmune disease, characterized by a loss of mass and function of pancreas β cells insulin secreting, causing hyperglycemia, lack of glucose in cells and various problems in tissues and organs. The cause of the disease is not yet known, but genetic and environmental interactions are thought to boost the pathology. Different biomarkers are being investigated to study the stage of the disease and its development. Currently, exogenous insulin is the only available therapy for Type I Diabetes *Mellitus*, but its use still presents some problems. Due to the fact that Type I Diabetes *Mellitus* is an autoimmune disease, a new proposal for a therapy has emerged, immunotherapy, which is already used in several autoimmune diseases. Several immunotherapeutic approaches have been studied over the years, ranging from nonautoantigen-specific therapies; strategies to inhibit pro-inflammatory cytokines; specific strategies for autoantigens; cell therapy; use of stem cells and combined immunotherapies. For now, immunotherapy can't delay or treat type I Diabetes *Mellitus*, due to several obstacles, but there are already studies with promising results for a certain time. New immunotherapy studies in Type I Diabetes *Mellitus* are constantly evolving so this will be an effective therapy in the near future.

Keywords: Type I Diabetes *Mellitus*, Autoimmunity, Immunotherapy, Disease biomarkers, Immunotherapeutic approaches.

I Introdução

Há atualmente, diversos tipos de Diabetes *Mellitus* (DM): a Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DMI), Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), diabetes gestacional e outros tipos mais específicos da diabetes. A Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DMI) é uma doença autoimune, que em relação a outro tipo de diabetes, costuma atingir idades mais jovens e é caracterizada por existir uma destruição progressiva nas células β pancreáticas produtoras de insulina, o que provoca uma hiperglicemia, uma falta de glicose nas células e diversos problemas nos tecidos e órgãos do corpo humano ^{1,2}.

A origem da doença ainda não é conhecida, mas acredita-se que problemas ambientais, juntamente com riscos genéticos possam provocar a patologia. Para isso, diferentes biomarcadores da doença estão a ser investigados.

Um aumento acrescido de incidência e prevalência da DMI tem vindo a constatar-se ao longo dos tempos e em diversas partes do mundo ³ e como tal, a procura de novas terapias para a prevenção e tratamento da DMI tem surgindo.

A administração de insulina exógena é atualmente, a única terapia disponível para a DMI, mas alguns problemas relacionados com o controlo glicémico podem ocorrer, como alguns picos de hipoglicemia. Assim é necessário um uso adequado para evitar problemas e um frequente ajuste na sua manutenção ³.

A imunoterapia tem sido usada em diferentes doenças autoimunes e como tal, novas abordagens imunoterapêuticas para a DMI têm sido estudadas.

Esta monografia pretende revelar os avanços existentes até hoje nas terapias de imunoterapia, relacionando a imunopatogenia da doença e efetuando várias abordagens de estudos e ensaios clínicos. Demonstra também, alguns obstáculos existentes na imunoterapia para a DMI e o que é preciso para que esta se torne um futuro próximo, para a prevenção ou tratamento da DMI.

2 Diabetes Mellitus (DM)

A DM é uma doença metabólica e crônica caracterizada pelos elevados valores de glicose no sangue, que podem resultar da deficiência de insulina devido à disfunção das células β do pâncreas; da resistência à insulina, ou de ambos os fatores. A existência de hiperglicemia de forma contínua pode levar a várias complicações em variados órgãos, como no coração, vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos ^{1,4}.

A DM é dividida em quatro categorias: DMI, DM2, diabetes gestacional e outros tipos específicos de diabetes que ocorrem com muito menor frequência e derivam de outras patologias associadas (doenças pancreáticas, aumento de função de glândulas endócrinas, mutações genéticas hereditárias e doenças genéticas).

A DM2 é o padrão mais comum da diabetes e resulta de um déficit de insulina e de resistência à insulina, e tem como principais fatores de risco o sedentarismo, obesidade e predisposição genética. A DM gestacional ocorre durante a gravidez e na maioria das vezes, termina quando a gravidez acaba, mas se não forem tomadas medidas de prevenção, anos mais tarde, as pessoas poderão adquirir DM2. A DMI é uma doença autoimune e atinge na maioria jovens e crianças, mas também pode aparecer nos adultos. Nesta patologia, as células β do pâncreas deixam de produzir insulina e há destruição destas células. As causas deste tipo de Diabetes ainda não são conhecidas, mas sabe-se que não estão relacionadas com maus hábitos de vida e alimentação, como muitas vezes acontece na DM2. Na DMI, as pessoas necessitam de administrar insulina para o resto da vida ².

Segundo a World Health Organization (WHO) ¹, cerca de 422 milhões de pessoas de todo o mundo têm Diabetes e 1,5 milhão de mortes são atribuídas a esta patologia todos os anos. Em Portugal, a prevalência da diabetes no ano de 2018, nas idades compreendidas entre os 20 e os 79 anos foi de 13,6%, o que significa que, mais de 1 milhão de portugueses neste grupo etário tem Diabetes ^{1,5}.

O número de casos de DM e a sua prevalência tem aumentado constantemente nas últimas décadas, com projeção de poder afetar 693 milhões de pessoas até 2045 ^{1,4}.

3 Diabetes Mellitus tipo I

3.1 Epidemiologia

Estima-se que em todo o mundo, 1,1 milhão de crianças e adolescentes com menos de 20 anos tenham DMI, sendo por isso, uma das doenças crônicas mais comuns na infância e que afeta cerca de 30 milhões de pessoas em todo o mundo^{2,6,7}. A DMI, está aumentando cada vez mais, tanto em incidência como em prevalência, com aumentos anuais de cerca de 2 a 3%³.

Em 2015, 3 327 crianças e jovens em Portugal, com idades entre 0-19 anos (0.16% da população portuguesa), apresentavam DMI⁸. No entanto, a DMI pode ocorrer em qualquer idade, sendo que 50% dos casos acontecem na idade adulta e quando isso acontece pode-se confundir erradamente com a DM2, uma vez que podem não apresentar os sintomas característicos da doença nas crianças³.

3.2 A patologia

A DMI é uma doença crónica e autoimune caracterizada por uma destruição das células β secretoras de insulina, localizadas nos ilhéus de Langerhans presentes no pâncreas, o que leva a uma redução de insulina endógena necessária para homeostase metabólica, emergindo uma hiperglicemia e uma falta de glicose nos tecidos e órgãos, que pode conduzir a uma necrose e por fim à morte^{6,9}.

A presença de células T CD4+ específicas para os ilhéus e de células T CD8+ no sangue periférico, forneceu evidências para a DMI ser uma doença autoimune, com um ataque imunológico a autoproteínas das células produtoras de insulina¹⁰.

Na DMI, o corpo reage a vários autoantígenos no pâncreas, o que produz inflamação nos ilhéus de Langerhans, uma insulite, caracterizada por várias células que atuam na resposta autoimune, que acelera o desenvolvimento da DMI, envolvendo disfunção nas vias inata e adaptativa, e que leva a infiltração de células T e células B no pâncreas, que combatem os antígenos e destroem as células β , iniciando a doença^{6,10}.

Os epítomos do autoantígeno ligam-se a células T ativadas, com sinalização de citocinas e recetores de adesão, que é conhecido pelo mimetismo molecular, já observado em muitas doenças autoimunes, como a artrite reumatoide e esclerose múltipla¹¹.

As células T CD4+ e CD8+ são os mediadores primários da destruição das células β , mas existem outras células imunes envolvidas no desenvolvimento da DMI, como as células B,

células NK, Células Dendríticas (DCs), macrófagos e o surgimento de autoanticorpos contra antígenos endógenos^{6, 12}.

A destruição e o ataque autoimune nas células β pensa-se que provém da combinação de fatores ambientais e da predisposição genética¹³, havendo uma ligação complexa entre fatores ambientais, do genoma e sistema imunológico e que variam de pessoa para pessoa³.

Nos fatores ambientais, existem evidências que referem, que a perda de células β na DMI pode ocorrer após uma doença infecciosa aguda, ou após um trauma, uma vez que, após uma infecção ou trauma o sistema imunológico está mais ativado, há mais linfócitos que podem reagir com autoantígenos, existe uma grande concentração de citocinas, moléculas de adesão e Células Apresentadoras de Antígeno (APCs)¹¹.

Segundo alguns estudos, as alterações da microbiota intestinal estão relacionadas com o aparecimento da DMI, uma vez que a microbiota modula a tolerância imune periférica, a migração e a diferenciação das células imunes para manter a homeostase intestinal¹⁰. Por exemplo, lipopolissacarídeos produzidos pela espécie *Bacterioides* são abundantes numa população com muita incidência da DMI e são menos capazes de ativar a imunidade inata e de educar o sistema imune para a tolerância, em relação ao lipopolissacarídeo produzido pela *Escherichia coli*, que é comum nos lactentes de populações com baixa incidência da DMI¹⁴.

A dieta pode também afetar o microbioma e a predisposição para a DMI. Consumir uma dieta de baixo glúten nos adultos induz mudanças favoráveis no microbioma intestinal, enquanto a ingestão de pouco glúten durante a gravidez mostra um reduzido desenvolvimento da DMI na descendência¹⁰.

No entanto, todas estas dúvidas derivadas da natureza da doença, tornam-se desafios para encontrar mecanismos diretos que possam ser alvos terapêuticos para a DMI¹⁵.

3.3 Sintomas e diagnóstico

Normalmente as crianças com DMI manifestam-se com sintomas, como perda de peso, poliúria, polidipsia e um terço destas podem apresentar cetoacidose diabética. Os adultos com DMI podem ter sintomas mais variáveis que as crianças e não apresentar os sintomas mais clássicos desta patologia.

O diagnóstico metabólico é baseado numa concentração de glicose no sangue em jejum superior a 126 mg/dl, ou uma concentração de glicose eventual superior a 200 mg/dl com apresentação de sintomas, ou num teste de tolerância oral à glicose. Ainda assim, o diagnóstico pode ser baseado na concentração de Hemoglobina glicada (HbA1c) acima de 6,5%, mas uma

vez que na DMI a disglícemia acontece de forma rápida, a HbA1c pode não ser a forma de diagnóstico mais aconselhada ³.

3.4 Risco genético e deteção de autoanticorpos-Biomarcadores

Até ao momento, não é possível regenerar as células β durante ou após destruição autoimune na DMI. Assim, é importante identificar precocemente pessoas com elevado risco de desenvolver esta patologia, para se desenvolver terapêuticas que ajudem na cura da DMI ¹⁵.

O Antígeno Leucocitário Humano (HLA) encontra-se no cromossoma 6 e funciona através de respostas imunes aos fatores ambientais, a diversas doenças autoimunes ¹⁶.

Dentro do antígeno HLA temos 2 classes, a I e a II. A classe I, codifica os genes A, B, C e as moléculas HLA classe II, codificam para os genes DP, DQ, DR e a maioria está associada a autoanticorpos. Na DMI a interação com autoanticorpos é forte para a classe II de HLA ¹⁶.

A DMI apresenta 50% de risco genético atribuível aos genes do HLA de classe II, correspondentes ao HLA-DR e HLA-DQ que se encontram no Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) e que são responsáveis na apresentação de antígenos pelas DCs, macrófagos e linfócitos B para as células T CD4+ ¹⁵.

Estudos de genes de pessoas e a análise do seu genoma identificaram também, genes não-HLA associados à DMI, incluindo a Insulina (INS), Proteína Tirosina Fosfatase não Recetor tipo 22 (PTPN22), a Cadeia alfa do Recetor de Interleucina 2 (IL2RA) e a Proteína 4 Associada ao Linfócito T Citotóxico (CTLA4) ^{15, 17}, que promovem uma inflamação inata, alterando a sinalização celular e aumentando o *stress* nas células β ¹⁸.

Estes dados permitem determinar escalas de vários riscos genéticos e servir para identificar indivíduos com maior risco de desenvolver DMI ^{15, 17}.

A determinação do risco genético ajuda a identificar o risco de desenvolver DMI ao longo da vida, mas não nos indica as pessoas que estejam com uma doença pré-clínica, que já estão com alguma destruição das suas células β , daí haver heterogeneidade da doença ¹⁵.

Na década de 1980, George Eisenbarth estudou a DMI e identificou-a como um processo crónico, caracterizada pelo aparecimento inicial de autoanticorpos dos ilhéus e desenvolveu um modelo de patogénese da DMI e da sua complexidade que podemos ver na Figura I. Este modelo é utilizado ainda hoje em dia e mostra a perda de células β em função da idade e refere as diversas etapas que ocorrem ao longo da doença, desde eventos pré-natais como a predisposição genética; a influencia ambiental que causa a autoimunidade nos

ilhéus que é detetada pelos autoanticorpos; a variação na massa e função das células β devido à autoimunidade; a disglícemia que ocorre antes do diagnóstico clínico da DMI; a DMI clínica, marcada pela perda acentuada de massa de células β e pelo declínio das suas funções, e o peptídeo C, que pode estar presente nas pessoas com DMI que estejam no início da doença e que acaba por ficar em baixa concentração quando a doença já está mais instalada e com mais perda de células β e das suas funções (Figura 1) ³.

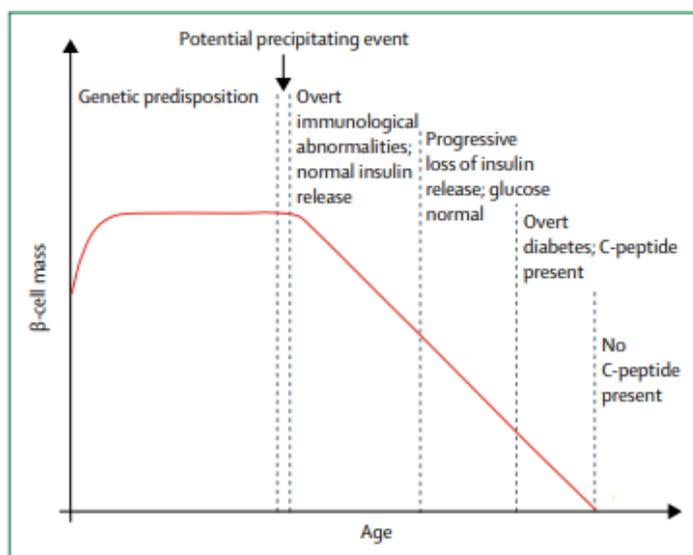


Figura 1 - Modelo de Eisenbarth da patogênese da DMI. Adaptado de ³.

Através deste modelo, Eisenbarth mostra os diferentes estádios e o desenvolvimento da DMI, começando pelo risco genético, que depois de associado um evento ambiental leva à autoimunidade, que é caracterizada pela presença de diversos autoanticorpos dos ilhéus e que continuamente, levam à destruição das células β . Com este modelo percebe-se a heterogeneidade da doença e nota-se a importância para que, indivíduos com risco potencial de desenvolver DMI, possam ser identificados antes do diagnóstico de hiperglicemia, com base na presença de autoanticorpos no início da evolução da doença ¹⁵.

Embora a baixa concentração do peptídeo C seja um marcador da deficiência endógena de insulina e seja útil para a classificação da doença, nenhuma característica clínica pode diferenciar perfeitamente a DMI de outro tipo, no momento do diagnóstico. Como tal, depende de outros fatores de risco, como idade e biomarcadores, como os autoanticorpos pancreáticos ³.

Cerca de 90% das pessoas com DMI recém-diagnosticadas têm anticorpos contra diversas proteínas das células β , incluindo a Insulina, Glutamato Descarboxilase (GAD), Proteína 2 Associada ao Insulinoma (IA-2) e o Transportador de Zinco 8 (ZnT8) ³.

Desde os ensaios de George Eisenbarth, existiram mais estudos para poderem solidificar o poder dos autoanticorpos na DMI. A presença de dois ou mais autoanticorpos dos ilhéus em indivíduos com alto risco genético, está associado a um risco de quase 80% de desenvolver DMI nos próximos 15 anos. Muitas vezes, no início da doença as pessoas encontram-se assintomáticas, mas são detetáveis autoanticorpos, existindo assim, a “autoimunidade dos ilhéus” que é sinónimo da DMI ^{6, 17}.

Estes novos estudos levaram em 2015, à classificação do diagnóstico da DMI em diferentes estádios, como explanado na Figura 2.

Numa situação de pré-diabetes podemos encontrar, um ou menos autoanticorpos para os ilhéus e apresentar uma tolerância normal à glicose; no estágio I da DMI existe a presença de dois ou mais autoanticorpos dos ilhéus e tolerância normal à glicose; no estágio 2 da DMI tem a presença de dois ou mais autoanticorpos dos ilhéus com a tolerância à glicose diminuída, mas ainda sem sintomas clínicos de hiperglicemia; o estágio 3 da DMI é já o início da doença sintomática e também com a presença de dois ou mais autoanticorpos (Figura 2) ¹⁷.

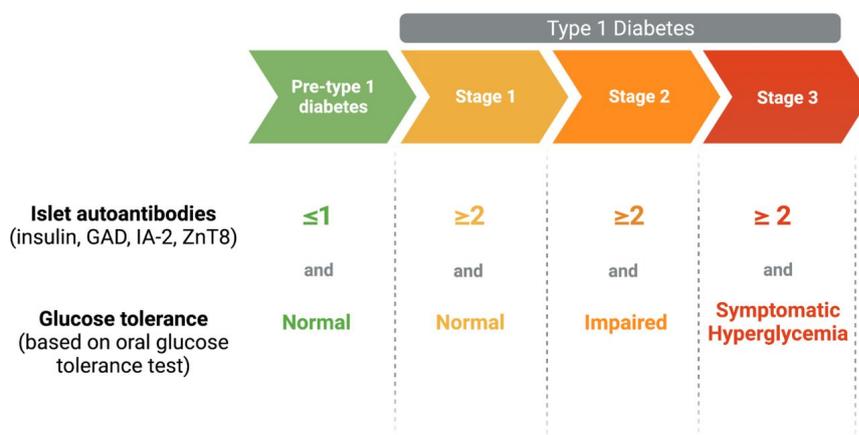


Figura 2 - Estádios da DMI ¹⁷.

Através deste novo paradigma de estádios da DMI, é de esperar o reconhecimento de um diagnóstico mais precoce da doença, mesmo antes dos sintomas clínicos aparecerem e ainda adotar intervenções e direcioná-las durante estes períodos pré-sintomáticos, para facilitar a cura ou apaziguar a doença ^{3, 17}.

Os principais autoanticorpos contra os antigénios dos ilhéus e que são detetados nos estudos de prevenção da DMI e de diagnóstico, são: o autoanticorpo Anti-descarboxilase do

Ácido Glutâmico (GADA), o micro-autoanticorpo da Insulina (mIAA), autoanticorpo da Proteína 2 Associada ao Insulinoma (IA-2A), autoanticorpo do Transportador de Zinco 8 (ZnT8A) e anticorpos de Células dos Ilhéus (ICA) ⁶.

Os primeiros autoanticorpos detetados são os da insulina e da enzima GAD, sendo que o último está presente em 70% dos doentes com DMI, quando são diagnosticados. O IA-2A, aparece mais tarde que os descritos em cima e está mais relacionado com a progressão da doença, cerca de 60% pessoas têm este anticorpo na deteção da doença. Já os anticorpos do ZnT8 também aparecem mais tarde e desaparecem muito cedo, logo após as manifestações clínicas da DMI ⁶.

Estudos de Coorte do nascimento de sujeitos com elevado risco genético para DMI demonstram que existe uma incidência de desenvolver autoanticorpos antes dos 2 anos de idade e que a maioria das pessoas com um só autoanticorpo não evolui para a DMI, mas a presença de dois ou mais autoanticorpos em crianças está associada a um risco de 84% da DMI ³.

Recentemente, existem outros biomarcadores para a DMI e para a sua progressão, por exemplo, medindo o nível de DNA de insulina não metilado, uma vez que as células β são a única fonte de DNA de insulina não metilado, assim a morte de células β pode ser quantificada pelo nível de DNA de insulina não metilado ¹⁵.

Estudos de imagem do pâncreas podem também ser um bom biomarcador não invasivo da doença e da sua dinâmica ao longo do tempo, dado que o volume pancreático diminui 100 dias após o diagnóstico da DMI, tal pode ser útil para diferenciar diferentes estádios da doença ¹⁵.

Atualmente, apesar de existirem diferentes estudos sobre novos biomarcadores da DMI, os mais usados são a combinação de autoanticorpos dos ilhéus e a medição da glicose plasmática em jejum e/ou níveis de glicose no teste tolerância oral à glicose, úteis para prever a progressão da doença ¹⁵.

3.5 Imunopatogenia da DMI

A patogénese da DMI resulta na interação entre as células β pancreáticas e do sistema imunológico, inato e adaptativo, destacando o papel das células T na fisiopatologia da DMI ³.

O desenvolvimento da DMI, acredita-se que seja iniciado pela apresentação de peptídeos de células β , por Células Apresentadoras de Antígenos (APCs), por exemplo macrófagos e DCs. As APCs captam autoantígenos e migram para os nódulos linfáticos do pâncreas e interagem com as células T CD4⁺ autorreativas, que posteriormente ativam as

células T CD8+ autorreativas. A ativação dessas células, permite que elas migrem para os ilhéus e litem as células β , que expressam autoantígenos nas moléculas de MHC-I.

Esta infiltração dos ilhéus contém uma mistura de células T CD4+ e células T CD8+, linfócitos B, DCs e macrófagos, e cada uma destas células tem um papel diferente na autoimunidade e na morte de células β . A destruição fica ainda mais exacerbada pela libertação de citocinas pró-inflamatórias^{3, 13}.

Este processo autoimune é amplificado pela deficiência de células T reguladoras (Treg), uma vez que estas, promovem a tolerância das células imunes e previnem a autoimunidade¹³.

As células T ativadas estimulam os linfócitos B, que produzem os autoanticorpos contra os autoantígenos dos ilhéus, que são libertados seguidamente para a circulação e podem ser usados como biomarcadores da DMI e ainda, segregam Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF α), que contribui para a inflamação^{3, 13}.

A células T CD4+ não causam a morte das células β por contacto direto, mas através de citocinas pró-inflamatórias, que promovem o recrutamento de outras células imunes, ao invés das células T CD8+ que levam à morte pelo contacto direto com as células β , utilizando nomeadamente a via de morte apoptótica¹³.

As citocinas pró-inflamatórias que são segregadas durante o ataque autoimune e que ajudam a morte das células β , são principalmente Interferão-gama (IFN γ), Interleucina I Beta (IL-1 β) e TNF α ¹³.

As células T CD8+ são as células imunes que se encontram em maior quantidade nos ilhéus pancreáticos e as células T CD 4+ estão presentes em menor número³.

3.6 Mecanismos Imunológicos na DMI

Na Figura 3, temos a perceção de alguns pontos estratégicos, que ajudam a perceber onde se pode atuar para interferir no desenvolvimento da doença.

A apresentação de autoantígenos das células β entre o MHC e Recetor de Células T (TCR), permite a ativação e a proliferação de células T reativas, que causam o maior dano das células β e a sua apoptose. A ausência de interação entre MHC e TCR das APCs para as células T CD8+, leva ao silenciamento das células T CD8+.

Uma vez que, as Tregs modulam a patogénese da DMI, ao existir um aumento de Tregs, estas inibem as células T autorreativas. Os linfócitos B são APCs e produzem autoanticorpos envolvidos no desenvolvimento da DMI, assim é necessário a sua depleção (Figura 3)¹⁹.

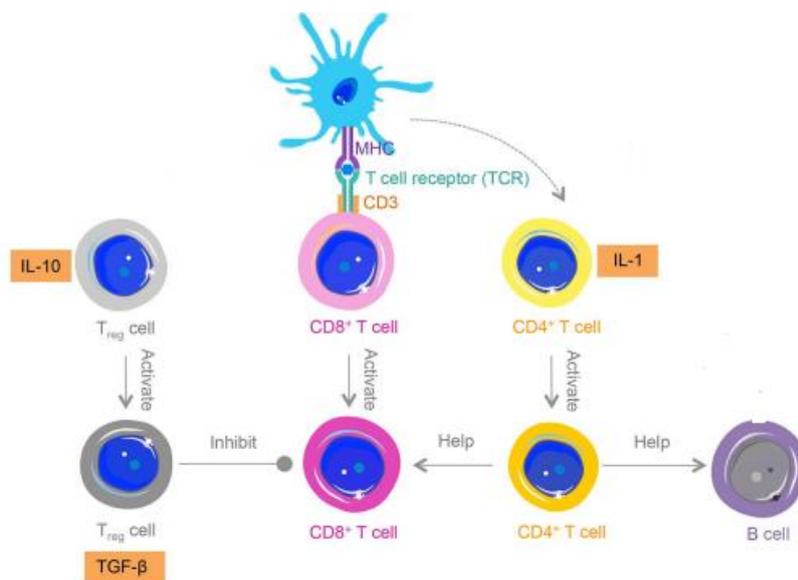


Figura 3 - Mecanismos imunológicos na DMI. Adaptado de ¹⁹.

4 Insulina e novas terapias

Atualmente, as pessoas com DMI dependem da administração de insulina exógena, que ajuda no controlo glicometabólico, no entanto, não tem as mesmas funções biológicas do que a insulina endógena e, portanto, as pessoas podem ter picos de hipoglicemia. É muito difícil alcançar o controlo glicémico utilizando insulina em monoterapia ¹⁵.

A insulina, descoberta em 1922, continua a ser a base da terapia da DMI e atualmente, existem análogos de insulina com início e duração de ação variados. Um controlo glicémico ideal, necessita de múltiplas doses de insulina para se equalizar à libertação fisiológica de insulina. A insulina pode ser administrada por injeção, por exemplo através de uma caneta de insulina; por uma bomba de insulina e por insulina inalada, mas esta é pouco utilizada. É essencial um uso adequado de insulina que requer ajustes frequentes na dosagem, após a alimentação, atividade física, doença ou stress ³.

Muitas vezes, os indivíduos com DMI têm complicações associadas, entre elas a neuropatia, nefropatia, retinopatia e variadas desregulações de glicemia, o que diminui o seu tempo de vida ^{20, 21}. Para solucionar a DMI, seria preciso regenerar as células β e interromper a reação autoimune delas. A insulina tem como objetivo mitigar a hiperglicemia e diminuir as complicações diabéticas, pode aliviar os sintomas e reduzir os danos provocados nos órgãos, mas não anula completamente as complicações, nem reverte a autoimunidade das células β ⁶.

²¹.

Para a manutenção da doença, o desenvolvimento de estratégias preventivas é de grande necessidade para a DMI. A redução de diferentes fatores ambientais em indivíduos de elevado risco, como os marcadores genéticos é a primeira estratégia; depois interromper a perda de células β nos diabéticos de estágio inicial e como última abordagem preservar a função das células β no estágio inicial da doença ²².

No presente, existem novas terapias a serem estudadas para o tratamento da DMI, como o transplante de ilhéus, mas apresenta algumas deficiências, nomeadamente um reduzido número de doadores; imunossupressão crónica e o reaparecimento de autoimunidade ⁶.

As abordagens imunoterapêuticas têm tido grande interesse, já que, abordam os mecanismos autoimunes implícitos na DMI ⁶ e os defeitos existentes nos diferentes estádios da doença ²².

As terapias direcionadas à tolerância imunológica são muito promissoras para prevenir e retardar a DMI e preservar um número máximo de massa de células β ^{6, 15}.

A imunoterapia pode parar a progressão da autoimunidade e a destruição das células β , preservando-as e ainda, diminuir a dependência de insulina. Assim, as imunoterapias têm-se focado em estabelecer um equilíbrio nas células T patogénicas ^{6, 15}.

Para se projetarem intervenções imunológicas bem-sucedidas para doenças autoimunes como a DMI, depende de toda a interação entre o ambiente, genes e toda a regulação imunológica ¹⁵.

5 Imunoterapia na DMI

A inovação tecnológica juntamente com a necessidade de novos tratamentos, fez com que a imunoterapia fosse estudada para ser uma terapia promissora para doenças autoimunes, como a DMI ¹¹.

As diversas reações imunomediadas contra as células β abrangem muitos tipos celulares diferentes e várias vias de morte devido a autoimunidade, promovendo diversos alvos para tratar ou prevenir a DMI através da imunoterapia ¹³. O objetivo da imunoterapia em doentes com DMI é parar a destruição das células β , preservar a secreção de insulina endógena e silenciar os mecanismos autoimunes da doença ²³.

As terapias com imunoterapia devem começar antes de ocorrer a queda na produção de insulina e com a tentativa de preservar a função das células β . O momento de intervenção não é o único fator na resposta à imunoterapia, a idade da pessoa no momento é também um fator importante ⁶.

Ao longo dos anos foram feitos bastantes estudos utilizando como referência murganhos diabéticos não obesos (NOD), um animal que desenvolve DMI espontaneamente como os humanos ²³ e foram testados diferentes alvos para as diversas abordagens de imunoterapia para prevenir ou tratar a DMI em diferentes estádios da doença.

5.1 Abordagem Histórica da Imunoterapia na DMI

Nas décadas de 1980, foi testado pela primeira vez a primeira imunoterapia em doentes com DMI com diagnóstico recente, usando a ciclosporina, um agente imunossupressor inibidor da calcineurina, especialmente dirigido para as células T ¹⁵.

Esta terapia aumentou as taxas de remissão da diabetes, mas após a interrupção da ciclosporina, a DMI progrediu e foram associadas muitas toxicidades ao longo prazo do medicamento, como nefrotoxicidade e aumento do risco de cancro, dificultando desde logo o uso como uma terapia curativa ¹⁷. Contudo, estes estudos permitiram confirmar a etologia imunológica da DMI e o desenvolvimento de terapias que promovam a tolerância imunológica, em vez de estratégias imunossupressoras ¹⁵, dado os efeitos adversos causados e os riscos da imunossupressão, principalmente nas crianças ¹⁷.

Estudos para corrigir defeitos na tolerância imunológica, mostraram-se promissores no transplante autólogo não mieloablativo de células-tronco hematopoiéticas usando ciclofosfamida, um fator estimulador de granulócitos e Globulina Anti-timócito (ATG) de coelho. Diferentes resultados foram relatados nos distintos estudos realizados. Num estudo existiram pessoas que ficaram livres de insulina durante 5 anos, mas alguns efeitos adversos surgiram, como infeções e erupções cutâneas. Noutro estudo, não existiu nenhuma diferença na dosagem do peptídeo C, nem na insulina e os valores de HbA1c estavam mais elevados ¹⁵.

A substituição de células β com pâncreas alogénico ou transplante de ilhéus mostrou reverter a DMI, mas requer imunossupressão ao longo da vida ¹⁵.

Durante alguns anos, utilizaram-se imunossupressão com ATG e Ciclosporina A, esteróides e Azatioprina, mas só 10% dos doentes permaneceram livres da insulina num ano ¹⁵.

Uma melhoria significativa na taxa de insulina, deu-se com o Protocolo de Edmonton, um regime sem glicocorticóides consistindo no uso de Sirolimus, Tacrolimus e Daclizumab ⁹.

Sirolimus, também conhecido como a Rapamicina inibe indiretamente a proliferação de células T e linfócitos B; o Tacrolimus é muito semelhante estruturalmente a Sirolimus, inibe a calcineurina, bloqueando a sinalização do recetor das células T, em menor dose que a Ciclosporina e causa menos efeitos adversos; o Daclizumab é um anticorpo monoclonal que

se liga à IL2RA e evita que a interleucina 2 (IL-2) se ligue à IL2RA, e visto que, a IL-2 é importante para o crescimento e diferenciação¹¹ das células T, não há ativação das células T⁹.

Devido a problemas de toxicidade e infecções graves, o Protocolo de Edmonton está longe de ser uma terapia ideal⁹.

Assim, terapias direcionadas são mais eficazes e seguras¹⁵. Segundo a Associação Americana de Diabetes (ADA), transplantes de ilhéus ou pâncreas é só recomendado a pessoas que já tenham recebido transplante renal, cetoacidose recorrente ou uma hipoglicemia grave. Para além dos riscos de imunossupressão crónica, há escassez de doadores de órgãos e de correspondência HLA perfeita¹⁵.

Todas estas terapias históricas, consideraram a DMI uma doença autoimune, que pode responder a intervenções imunológicas e que as alterações do sistema imunológico devem ser feitas de forma equilibrada e segura. Uma nova era de terapias direcionadas evitando a toxicidade dos imunossupressores das abordagens históricas está a ser desenvolvida¹⁵.

A terapia combinada, utilizando agentes sinérgicos direcionados a diferentes pontos da resposta imune é também uma alternativa potencial para melhorar a segurança e a eficácia¹⁷.

5.2 Terapias de Imunoterapia na DMI

Existe atualmente diversas abordagens imunoterapêuticas para a DMI, desde terapias não específicas para autoantígenos, relacionadas com a diminuição de células T e células B; estratégias para inibir as citocinas pró-inflamatórias; estratégias específicas para autoantígenos; abordagens imunoterapêuticas de terapia celular; uso de células-tronco na DMI e imunoterapias combinadas.

5.2.1 Terapias de inibição de citocinas pró-inflamatórias e de inflamação

As citocinas pró-inflamatórias fazem parte da patogénese da DMI, recrutando as células imunes para o local de inflamação e interferindo nas vias de transcrição e tradução celular⁶.

As células β contém recetores de IL-1 β que ajudam na expansão e diferenciação de células T para células patológicas. O aumento da glicemia promove a secreção de IL-1 β e esta ao ligar-se ao seu recetor pode incitar a apoptose de células β ²³. Posto isto, a IL-1 foi alvo de intervenção em estudos. Os estudos usaram o Anakinra e o Canakinumab. Anakinra é um antagonista do recetor IL-1 e foi administrado a doentes com início recente da DMI, mas não foram demonstradas diferenças nos níveis do peptídeo C. O Canakinumab é um anticorpo monoclonal antagonista de IL-1 β e, de igual forma, os níveis de peptídeo C não foram melhorados nos estudos realizados^{13, 15}.

Outra citocina que tem influência na DMI é o TNF α assim, a administração de Etanercept, uma proteína de fusão que inibe a atividade biológica do TNF α ²² num estudo de fase I/ fase 2 com 18 crianças com DMI de estágio 3, demonstrou preservação da função de células β , avaliada pelos níveis do peptídeo C durante 24 semanas e uma melhora nos níveis de HbA1c ^{6, 15, 22}.

Um diferente estudo de fase 3 com Golimumab (um anticorpo monoclonal TNF α ²⁴), que recrutou 84 participantes com idades entre 6 a 21 anos e com DMI em estágio 3, recém-diagnosticado, provou uma melhor produção de insulina e uma menor necessidade de insulina exógena em relação ao grupo placebo ⁶.

A patogénese da DMI é marcada também pelo desequilíbrio entre as células Tregs e células T efectoras (Teffs). Existe uma diferença na função das células Treg e nas células Teff, que na DMI se caracteriza com um aumento de atividade das Teffs. A Rapamicina demonstrou inibir a proliferação de células efectoras, Th1 e Th17 e foi usada num estudo de fase I, que comprovou um aumento das células Treg ²⁵. A sinalização de IL-2 é muito importante para o desenvolvimento e função das Tregs, uma redução de IL-2 pode contribuir para um declínio do número de Tregs ²⁶. Um estudo de fase I/2 com Aldesleukin (uma forma recombinante de IL-2 humana) durante 5 dias, resultou num aumento de Tregs, em doentes com DMI evidente e com idades entre 18 a 55 anos. Posto isto, foram realizados mais estudos com Aldesleukin para calcular a dosagem ótima para os efeitos desejados e desvendados alguns efeitos adversos não graves, que podem ser causados pela administração, como uma pequena inflamação no local da injeção e eritema. Diversos estudos com Aldesleukin continuam a ser efetuados e anseia-se novos resultados ⁶ e diferentes ensaios para inibir citocinas como IL-6, IL-21 ¹⁵.

Anteriormente, foram realizados outros estudos com diversas moléculas anti-inflamatórias, com Nicotinamida e Vitamina E, que juntamente com insulina exógena foram capazes de preservar os níveis de peptídeo C até 2 anos depois do diagnóstico da DMI, mas não existiram mais estudos com estas moléculas. Anos mais tarde, avaliaram-se Micofenolato de mofetil e Daclizumab, mas ambos os tratamentos não obtiveram efeito ²⁴.

Outro estudo, envolveu a combinação de Ciclosporina com Metotrexato em doentes com idade compreendida nos 8 e 18 anos e evidenciou a remissão da DMI, com redução das necessidades de insulina e a HbA1c foi inferior a 7,5% ^{6, 24}. As doses de Ciclosporina deviam ser baixas, para não causar nenhum efeito adverso grave ⁶.

A Hidroxicloroquina encontra-se atualmente em estudos e a recrutar indivíduos com DMI em estágio I, para avaliar a possibilidade de a administração retardar a progressão da DMI em estágio 2/3, uma vez que se trata de uma molécula que reduz a ativação inata e

adaptativa e atrasa a autoimunidade em doenças conhecidas, como a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico ⁶.

Estas estratégias direcionadas para a inflamação, mostram ser abordagens promissoras para a DMI, mas a eficácia da terapêutica pode depender do momento de aplicação e da progressão da doença. É também necessária uma avaliação mais cuidada na duração e frequência de administração dos medicamentos, e nos efeitos adversos provocados e para isso, são necessários estudos de larga escala ⁶.

5.2.2 Terapia direcionada à célula B

As células B estão implicadas na patogénese da DMI, uma vez que produzem anticorpos e servem muitas vezes como APCs às células T ¹². A depleção seletiva de células B, afeta a produção de autoanticorpos contra os autoantígenos das células β ¹⁹.

Assim, começaram a surgir alguns estudos com Rituximab (um anticorpo monoclonal com alvo no recetor CD20, exclusivo das células B), que inibe a função das células B, reduzindo a apresentação de autoantígenos às células T e a produção de autoanticorpos ²⁷.

O primeiro estudo clínico de fase 2, duplo-cego, foi realizado administrando 4 doses de Rituximab a 87 pessoas com DMI, com idades de 8 a 40 anos. Nesse estudo, o fármaco preservou durante 1 ano a função das células β , mas não teve efeito na remissão da doença ⁶. O Rituximab reduziu os níveis de HbA1c, atrasou o declínio dos níveis de peptídeo C e nesse período de tempo foi preciso menores quantidades de insulina ¹³. Apesar disto, após 2 anos com o Rituximab percebeu-se que, o declínio do peptídeo C foi semelhante ao grupo placebo ²⁸.

Assim, o Rituximab atrasa a decadência dos níveis de peptídeo C, mas não parece alterar a fisiopatologia da doença, nem restaurar a tolerância das células β ²⁸.

5.2.3 Terapias direcionadas à célula T

A célula T desempenha um papel crítico na patogénese da DMI logo, vários estudos têm abordado diferentes terapias com foco principal nas células T.

5.2.3.1 Terapias Anti-CD3

O CD3 faz parte do complexo recetor de células T e é expresso na superfície das células T ²³.

Desde o início da década de 1980, a terapia com anticorpos anti-CD3 tem sido usada e estudada. Nessa altura, era usado no tratamento de rejeição de transplantes renais, mas foram reportados muitos efeitos adversos, como o aumento de risco de linfomas ¹⁵.

O Teplizumab, um anticorpo anti-CD3 sem ligação ao recetor Fc foi desenvolvido, e após 7 anos foi comprovada segurança e eficácia clínica em pessoas com DMI diagnosticadas recentemente, após um uso de 2 semanas do fármaco ¹⁵. O resultado do estudo revelou melhoras nas respostas do peptídeo C, pelo menos 2 anos posteriormente ao início da DMI ²², embora não foi observada reversão da doença, nem redução da insulina.

Estudos para o Teplizumab determinaram que, a longo prazo pode trazer tolerância imunológica, induzindo a depleção Teffs e aumentando a atividade de Tregs ¹⁵.

Recentemente um estudo clínico de fase 2 com 76 participantes com elevado risco de desenvolver DMI (pelo menos dois autoanticorpos positivos e um teste de glicose oral de valores anormais), nos quais 55 tinham idades inferiores a 18 anos, iniciaram um estudo com Teplizumab; 44 das pessoas ficaram com Teplizumab e 32 com o placebo. No grupo de Teplizumab, a DMI surgiu passado 48,4 meses e no grupo placebo surgiu com 24,4 meses; a doença foi diagnosticada em 19 dos participantes com Teplizumab e em 23 dos que receberam placebo. A conclusão deste estudo foi que, o Teplizumab conseguiu retardar a progressão da DMI nos participantes que expunham elevado risco para a doença ²⁹.

Outro estudo com Teplizumab foi realizado proximamente em 44 participantes com a DMI em estágio 3 e idades entre os 10 e os 37 anos. O estudo divulgou uma menor redução na função das células β , devido a uma diminuição do declínio do peptídeo C, mesmo após 7 anos do diagnóstico nos indivíduos que responderam bem à terapia com Teplizumab ³⁰.

Outros anticorpos monoclonais anti-CD3 foram estudados e foram concretizados alguns estudos, como foi o caso do Otelixizumab. Num estudo de fase 3, o Otelixizumab foi aplicado a 281 doentes com DMI no estágio 3 e após 1 ano de acompanhamento mostrou-se ineficaz ⁶.

As terapias anti-CD3 demonstram ser bastante promissoras para a redução da progressão da doença e preservação das células β , apesar de ser muito importante um conhecimento mais alargado dos efeitos adversos e das doses a ser aplicadas ⁶. É necessário a combinação de fatores genéticos, metabólicos e imunológicos para identificar indivíduos que possam ter benefício na prevenção da doença ¹⁵. O Teplizumab tem sido dos fármacos mais abordados nestes últimos anos e é o primeiro a receber uma designação de terapia inovadora pela agência norte-americana do medicamento (FDA) para a DMI ⁹.

5.2.3.2 Terapias com a proteína de fusão CTLA4-Ig

Quando as APCs apresentam o antígeno às células T, o complexo B7 constituído por CD80/CD86 presente nas APCs liga-se ao CD28 ou a CTLA4 que estão presentes nas células T para fazer uma co-estimulação²³. A ligação do complexo B7 a CD28 é essencial para ativar a função das células Teffs. CTLA4 compete com o CD28 na ligação a B7 para inibir essa ativação⁹. CTLA4 liga-se com maior afinidade ao complexo B7, nomeadamente a CD80 do que CD28. A ligação de CTLA4 reduz a proliferação e ativação das células T e o bloqueio de CTLA4 nas células Treg promove a autoimunidade²³.

O Abatacept é uma proteína de fusão que contém a região Fc com IgG1 e o domínio extracelular com CTLA4²³. A fusão de uma Ig com CTLA4 aumenta o seu tempo de vida⁹. Assim, atua ligando-se a CD80 e CD86 das APCs e impedindo a interação com CD28 das células T e bloqueando a sua ativação¹⁵.

Um estudo realizado com Abatacept em pessoas com DMI de início recente, mostrou que este, retardou o declínio do peptídeo C e diminuiu a necessidade de insulina exógena nos primeiros 12 meses. No entanto, este efeito foi diminuindo ao longo do tempo^{13, 22}.

Um estudo mais recente de fase 2, que recrutou 112 participantes com DMI em estágio 3, teve como objetivo determinar se existia subtipos da DMI com base nos perfis imunorregulatórios, uma vez que era importante em relação ao tratamento e prevenção. Deste modo, foram identificados 4 subtipos que eram independentes da idade e que diferiram em diversos valores, principalmente na taxa de declínio do peptídeo C e na resposta ao tratamento com CTLA4-Ig³¹.

O Abatacept mostrou efeitos bastantes positivos na DMI e é adequado para testes num estágio inicial da doença. Atualmente estão em andamento alguns estudos de prevenção desta patologia, com parentes de doentes com DMI, avaliando o uso de CTLA4-Ig por tempo mais prolongado e todos os efeitos adversos que possam causar⁶.

Outra proteína de fusão também foi estudada, a Alefacept. A Alefacept é uma proteína de fusão LFA3-Ig que se liga a CD2, presente nas Teffs. Nos estudos realizados existiu um declínio mais lento do peptídeo C e um aumento da razão de Treg/Teff, mas a necessidade de insulina não diminuiu e não foi observada nenhuma melhora da HbA1c para indicar reversão da doença, por isso mais nenhum estudo com este fármaco está em andamento¹⁵.

5.2.3.3 Terapias com ATG

ATG é produzido com uma imunização de coelhos com timócitos humanos, sendo um soro purificado de coelho que contém anticorpos IgG citotóxicos contra as células T¹⁵.

Terapias com ATG são mais uma abordagem para as células T e estão a ser estudadas para prevenção e reversão da doença ¹⁵.

Estudos de ATG com um fator estimulador de colónias de granulócitos (G-CSF) em murganhos NOD apresentaram uma boa eficácia sinérgica, já que reduzem efeitos adversos. Esta combinação mostrou resultados promissores na preservação do peptídeo C e na função das células β em pessoas com DMI no estágio 3 ⁶.

Recentemente, num estudo de fase 2, participantes com idades entre os 12 e os 45 anos com DMI em estágio 3 foram divididos em 3 grupos. Um grupo recebeu ATG sozinha de baixa dose, outro grupo recebeu ATG e G-CSF peguilado, e o outro foi um grupo placebo. O grupo que recebeu a ATG sozinha, preservou as células β e reduziu a HbA1c depois de 2 anos de terapia, no entanto o grupo de ATG e G-CSF não mostrou capacidade na preservação do peptídeo C. Posto isto, a ATG de baixa dose sozinha pode prevenir ou retardar o início da DMI e serão necessários mais estudos para revelar efeitos adversos que possam ocorrer e assegurar a sua segurança ³².

5.2.4 Terapia específica para autoantigénios

A imunoterapia antígeno-específica tem um impacto direcionado na patologia que leva a desenvolver manifestações clínicas, sem promover supressão e efeitos adversos relacionados ²³. Devido a uma boa segurança desta terapia, muitos estudos de prevenção da DMI têm sido realizados ²⁴.

5.2.4.1 Terapia antígeno-específica com insulina

O *Diabetes Prevention Trial-Type 1 Diabetes* (DPT-1) executou 2 estudos diferentes com insulina na forma oral e insulina parenteral, e de como esta podia prevenir ou retardar o desenvolvimento da DMI em parentes de primeiro ou segundo grau de pessoas com a DMI. A realização destes estudos comprovou que a insulina administrada não alterou a incidência da DMI, mas num grupo com uma maior quantidade de anticorpo de insulina foi demonstrado um atraso no diagnóstico da DMI. Após estes estudos, outro estudo foi realizado, também com o objetivo de prevenção da doença em parentes que tenham DMI. Os resultados não deferiram dos outros estudos, e entre o grupo que recebeu uma cápsula de insulina e do grupo placebo, o desenvolvimento da doença foi igual nos dois ^{13, 22}.

A insulina nasal foi também alvo de estudos. Um ensaio clínico recrutou crianças com risco de desenvolver a DMI em relação à população geral e foi administrado diariamente insulina intranasal a essas crianças, contudo não existiu nenhuma diferença na taxa de

progressão da doença. Mais tarde, um estudo que abordou participantes que eram positivos para autoanticorpos, novamente com insulina intranasal, mostrou que esta não preveniu ou acelerou a incidência da patologia, e que a insulina nasal estava relacionada com um aumento de anticorpos e menores respostas da célula T à insulina ^{13, 22}.

Outros ensaios clínicos estão em andamento com um número mais alargado de participantes, mas até ao momento os resultados demonstraram que a insulina não tem benefício para a prevenção da DMI ^{13, 22}.

5.2.4.2 Terapia antigénio-específica com GAD-alum

O GAD é um autoantigénio importante no aparecimento da DMI e, como tal, pode ser usado para induzir tolerância nas células T, usado na forma subcutânea ⁶.

Uma formulação de GAD com hidróxido de alumínio (*GAD-alum*) foi usada para diferentes estudos.

Um ensaio clínico de fase 2 avaliou se a *GAD-alum* preservaria a produção de insulina na DMI. Assim, participantes de diferentes idades, dos 3 anos aos 45 com DMI foram testados aleatoriamente para receber *GAD-alum* de forma subcutânea. Segundo os resultados, as injeções de *GAD-alum* durante 4-12 semanas não modificou a perda de secreção de insulina durante 1 ano ³³.

Um estudo com *GAD-alum* com injeções intralinfáticas e vitamina D oral, e com participantes dos 12 aos 30 anos está em andamento, para avaliar como é que esta combinação pode influenciar o sistema imunológico e a secreção de insulina ⁶.

5.2.4.3 Terapia antigénio-específica com peptídeos

A imunoterapia peptídica restaura a homeostase imunológica de algumas doenças alérgicas. Para um bom sucesso desta terapia na DMI é importante o conhecimento dos principais autoantigénios responsáveis pela patologia ³⁴.

Um peptídeo alterado derivado do epítipo da insulina, correspondente à região 9-23 de aminoácidos (NBI-6024) foi utilizado para estudos. As células T modularam a sua resposta, alterando uma resposta predominantemente IFN γ para uma tendência de Th2, responsáveis por bloquear a evolução de DMI. Estudos mais avançados, concluíram que não existiu qualquer benefício no uso deste peptídeo ³⁴.

DiaPep277 é um peptídeo derivado da proteína de choque térmico 60 (HSP60), que apresentou bons resultados em diminuir a deterioração da função das células β em murinhos

NOD e adultos com DMI clínico. Diferentes estudos tiveram interesse neste peptídeo e em verificar a sua segurança ^{6,23}.

Num estudo clínico com 48 doentes com DMI em estágio 3, a administração subcutânea do DiaPep277, resultou numa diminuição da perda dos níveis de peptídeo C. Noutro estudo de fase 2 com a duração de 18 meses, o uso do peptídeo apresentou segurança e benéfico na preservação dos níveis de peptídeo C em algumas pessoas, mas não em todas ⁶.

Num estudo de fase 3 com doentes com DMI, entre os 16 e os 45 anos com injeções subcutâneas de DiaPep777 ou com placebo; o DiaPep777 provou segurança, uma boa preservação dos níveis do peptídeo C em relação ao placebo e um melhor controlo glicémico ³⁵.

Outros estudos foram realizados com o DiaPep777 e os resultados demonstraram-se promissores relativamente ao placebo ²³.

No Reino Unido um estudo recente de fase I com 24 pessoas portadoras da DMI no estágio 3, com idades entre os 18 e os 45 anos foi realizado com um novo medicamento que consistia numa mistura de peptídeos autoantigénios dos ilhéus (MultiPepTIDe). Os resultados recentes do estudo revelaram uma menor perda dos níveis do peptídeo C, um aumento na expressão de Tregs, e o facto de ser um medicamento com vários peptídeos em vez de 1, tem uma abordagem mais potente ³⁶.

5.2.5 Terapias celulares

Diferentes tipos de células têm tido impacto na patogénese da DMI, desde as células T, DCs e células B. Há cada vez mais estudos que se concentram na terapia baseada em células, com o objetivo de se conseguir moldar o processo de destruição autoimune das células β . As células dendríticas tolerogénicas (ToIDCs) e as Tregs são uma nova estratégia terapêutica, usadas isoladamente ou com combinação ³⁷.

Dado que, as Tregs estão em menor número nos doentes com DMI, há diversos estudos que se focam na restauração dessas células para reverter a autoimunidade e preservar a função das células β ¹³.

Uma técnica isolou e expandiu Tregs de doentes com DMI e mantiveram a atividade funcional. Um estudo de fase I com 14 adultos portadores da DMI foi realizado para avaliar a segurança de Tregs adotivas. Nesse estudo, os indivíduos receberam Treg policlonais autólogas que foram expandidas *ex vivo*. Após a transferência adotiva, cerca de 25% dessas células foram encontradas na circulação sanguínea depois de 1 ano e os valores do peptídeo C mantiveram-se estáveis durante 2 anos em alguns participantes ³⁸.

Um estudo foi finalizado recentemente com uma combinação de IL-2 com Tregs em pessoas com DMI, com idades entre os 18 e 45 anos. Os doentes receberam uma infusão de Tregs policlonais autólogas e IL-2 recombinante humana subcutânea de baixa dose durante 5 dias. A terapia combinada levou a uma ampliação no número de Tregs, mas também um aumento de algumas células citotóxicas ³⁹.

Diferentes estudos relacionados com Tregs derivadas de sangue do cordão umbilical, que posteriormente são expandidas estão em andamento. Outro estudo de Tregs expandidas ex vivo derivadas do sangue do cordão umbilical em combinação com a liraglutida também aguarda resultados ⁶.

A terapia com Tregs é uma abordagem atraente, mas há desafios que limitam a eficácia da imunoterapia com Tregs, como por exemplo: a progressão da doença no momento do tratamento e o estágio da doença que também afeta a atividade imunorreguladora das Tregs, uma vez que, num estágio mais avançado da doença há um menor número e função das Tregs. Para aumentar a eficácia da terapia adotiva de Tregs deve-se aumentar o número de Tregs, usar Tregs específicas de antígeno e aumentar a estabilidade e sobrevivência delas ²⁰.

As DCs são APCs e interagem com as células T através do MHC-I e II, mas necessita de um equilíbrio de sinalização através de co-recetores e de diversas citocinas que determinam o reconhecimento do antígeno ⁴⁰. As TolDCs são diferentes das DCs pró-inflamatórias e expressam diferentes co-recetores e citocinas, e conseguem induzir Tregs e promover a apoptose de células T ^{20, 40}.

Assim, visto que as TolDCs são uma imunoterapia poderosa para doenças autoimunes, há diversos estudos interessados nas TolDCs como terapia para a DMI ²⁰.

Para induzir a tolerância, as DCs são cultivadas com agentes farmacológicos indutores de tolerância, como a interleucina 10 (IL-10), Rapamicina ou Dexametasona e tornam-se TolDCs aptas para estudos ⁴⁰.

Num estudo com TolDCs de fase I realizado em doentes com DMI, a segurança e o uso de TolDCs foi avaliada, indicando que o tratamento foi bem tolerado e tem um bom perfil de segurança ²⁰.

Segundo outros estudos, as TolDCs são uma abordagem promissora na DMI, visto alcançar a tolerância imunológica específica de antígeno a longo prazo, estimulando Tregs e células B reguladoras e provocando a anergia de células T ⁴⁰.

5.2.6 Terapias com células-tronco

Foram realizados diferentes estudos referentes a transplantes de células-tronco hematopoiéticas. Num estudo, as células-tronco eram mobilizadas com ciclofosfamida, retiradas do sangue periférico com leucaferese e depois era feita criopreservação. Após isso, uma dose de ciclofosfamida e ATG era administrada para uma imunossupressão e depois, as células eram injetadas por via intravenosa. O acompanhamento do transplante revelou um aumento da função das células β e independência da insulina na maioria dos participantes do estudo, mas efeitos adversos graves foram relatados. Com base nisso, iniciaram outro estudo, que resultou na mesma em resultados positivos, como o aumento dos níveis de peptídeo C e independência de insulina, no entanto diversos efeitos adversos graves continuaram a existir ^{6, 13}.

Devido a distintos efeitos adversos graves associados ao transplante de células-tronco hematopoiéticas e também pelo facto das células-tronco mesenquimais (MSCs) não precisarem de imunossupressão, estão a ser realizados diversos estudos com MSCs ⁶.

Em doentes com diagnóstico da DMI e com idades dos 18 aos 40 anos foi administrado MSCs e resultou numa melhoria dos níveis de peptídeo C, mas após 1 ano de acompanhamento não houve alteração de HbA1c e de doses de insulina ⁶.

Há alguma dificuldade em obter MSCs, assim surgiu uma nova técnica de MSCs que são derivadas de geleia de *Wharton*, capazes de produzir um número elevado de células jovens a partir do cordão umbilical sem procedimentos adicionais. Essa técnica teve bons resultados em pessoas com DMI, melhorando a HbA1c e os níveis do peptídeo C e nenhum efeito adverso foi observado ⁶.

O transplante de células-tronco tem apresentado resultados atraentes na DMI, mas é necessário mais ensaios clínicos, de período mais prolongado para perceber melhor este potencial ⁶.

5.3 Esperanças e deceções com a imunoterapia na DMI

A insulina exógena continua a ser a única terapia, uma vez que nos tempos que correm ainda não há uma cura definitiva para tratar a DMI ⁴¹. Nos últimos anos surgiram diferentes moléculas de imunoterapia que foram úteis no tratamento de doenças autoimunes, como tal abriram-se novos conhecimentos e estudos na tentativa de se conseguir prevenção ou tratamento de igual forma, mas na DMI.

A imunoterapia na DMI tem um efeito limite e transitório, apesar de já existirem estudos que demonstram resultados promissores em relação à manutenção do peptídeo C e

também bons resultados como o caso do Teplizumab, que já tem sucesso no atraso da doença, mas ainda são necessários mais estudos para avançar para a fase de aprovação e garantir segurança e eficácia ⁴².

Há diversos obstáculos que podem explicar alguns problemas de sucesso da imunoterapia na DMI, como: a heterogeneidade da doença, com a desregulação imune distinta de pessoa para pessoa; falta de acessibilidade ao órgão produtor de insulina, que torna difícil avaliar o estado autoimune e conseguir monitorizar as respostas da imunoterapia; mau recrutamento de doentes em relação ao estágio da doença e a falta de biomarcadores necessários para avaliar o estado imunológico dos doentes com DMI, o peptídeo C auxilia, mas por vezes não avalia bem e pode apresentar várias alterações num único indivíduo. Todos estes obstáculos desaceleraram a progressão de novos tratamentos para a clínica e muitos ensaios clínicos realizados falharam ^{41, 43}.

As indústrias farmacêuticas nunca demonstraram muito interesse por terapias imunológicas, devido ao pouco conhecimento da patogénese da DMI; pelo facto de existir um tratamento adequado (insulina); de ser uma área de pouca prioridade em relação a outras patologias⁴² e de muitas vezes, a imunoterapia ter bons resultados nos murranhos avaliados e nos humanos não, uma vez que o processo da doença nos humanos é mais lenta e ter um sistema imunológico mais complexo, o que dificulta o sucesso da terapia ⁴⁴.

Para aumentar a taxa de sucesso da imunoterapia na DMI, temos que identificar bem os alvos medicamentosos, realizar a monitorização da doença antes e após a terapia e identificar estratégias para a seleção dos doentes em relação à resposta ao medicamento ⁴¹.

6 Conclusão

A DMI diferencia-se dos outros tipos de diabetes, por ser uma doença autoimune com uma grande incidência mundial e que continua a provocar muitos problemas a quem é portador da patologia. Pode ser caracterizada pela produção de diferentes autoanticorpos contra os autoantígenos das células β , que podem servir como biomarcadores da doença e ajudar a perceber em que estágio se encontra o indivíduo, juntamente com a tolerância à glicose.

Atualmente, ainda não se sabe a origem por detrás da doença, mas pensa-se que pode ser uma combinação de fatores ambientais, do risco genético e que pode diferir de pessoa para pessoa.

A administração de insulina exógena é a única terapia a ser utilizada na DMI, existindo no presente vários análogos de insulina com início e duração de ação variados, mas para haver um bom controlo glicémico é necessário um uso adequado e ajustes frequentes na dosagem pois, por vezes, a insulina pode causar picos de hipoglicemia e ser difícil a manutenção da dosagem correta.

Com o avanço da tecnologia e pelo facto da DMI ser uma doença autoimune, uma nova terapia abriu portas, a imunoterapia, já utilizada em muitas doenças autoimunes e com bons resultados. Posto isto, diferentes formas de abordagens imunoterapêuticas para a DMI foram estudadas ao longo dos anos para que, a imunoterapia pudesse retardar a doença, preservando a massa das células β ou mesmo tratá-la.

Os diferentes avanços da imunoterapia na DMI demonstraram alguns resultados promissores, muitos deles em relação ao peptídeo C, mas muitos dos estudos tornaram-se transitórios e sem benefício a longo prazo, e nenhum pode ainda substituir a insulina exógena. A terapia com o anticorpo Teplizumab é atualmente a mais benéfica para uma prevenção da doença por determinado tempo. Há, no entanto, muitos obstáculos que ainda têm que ser ultrapassados para que a imunoterapia na DMI consiga ser eficaz num futuro próximo.

Assim, torna-se importante continuar o estudo da DMI, da sua patogénese e de mecanismos imunológicos envolvidos na patologia, para se conhecer mais onde se possa atuar e uma compreensão das interações que provocam a doença, como os fatores genéticos e ambientais. Deve-se continuar a realizar mais ensaios clínicos e mais estudos de imunoterapia que garantam segurança e benefício, para se encontrarem moléculas e fármacos que sejam eficazes na prevenção e tratamento da doença e fazer com que, a imunoterapia seja uma terapia de sucesso no futuro da DMI.

7 Referências

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Diabetes**. [Acedido dia 21 março de 2022]. Disponível na Internet: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1
2. PORTUGAL, Associação Protectora Dos Diabéticos De - **Portal da Diabetes - APDP**. [Acedido dia 4 abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://apdp.pt/>
3. DIMEGLIO, Linda A.; EVANS-MOLINA, Carmella; ORAM, Richard A. - Type 1 diabetes. **The Lancet**. ISSN 1474547X. 391:10138 (2018) 2449–2462.
4. COLE, Joanne B.; FLOREZ, Jose C. - Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. **Nature Reviews Nephrology**. ISSN 1759507X. 16:7 (2020) 377–390.
5. RAPOSO, João Filipe - Diabetes: Factos e Números 2016, 2017 e 2018. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 15:1 (2020) 19–27.
6. VALLIANOU, Natalia G. *et al.* - Diabetes type 1: Can it be treated as an autoimmune disorder? **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**. ISSN 15732606. 22:4 (2021) 859–876.
7. ATLAS, I. D. F. Diabetes - International Diabetes Federation. **The Lancet**. 266:6881 (2019) 134–137. ISSN 01406736.
8. OBSERVATÓRIO DA DIABETES - **Diabetes: Factos e Numeros ano 2015**, atual. 2016.
9. CEBALLOS, Bryan; ALEXANDER, Michael; LAKEY, Jonathan R. T. - Advanced Approaches in Immunotherapy for the Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus. **EMJ Diabetes**. October (2020).
10. ROEP, Bart O. *et al.* - Type 1 diabetes mellitus as a disease of the β -cell (do not blame the immune system?). **Nature Reviews Endocrinology**. ISSN 17595037. 17:3 (2021) 150–161.
11. KOPAN, Christopher *et al.* - Approaches in immunotherapy, regenerative medicine, and bioengineering for type 1 diabetes. **Frontiers in Immunology**. ISSN 16643224. 9:JUN (2018).
12. LI, Li *et al.* - Immunotherapy of type 1 diabetes. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**. ISSN 0004069X. 56:4 (2008) 227–236.
13. BONE, Robert N.; EVANS-MOLINA, Carmella - Combination Immunotherapy

for Type I Diabetes. **Current Diabetes Reports**. ISSN 15390829. 17:7 (2017).

14. ILONEN, Jorma; LEMPAINEN, Johanna; VEIJOLA, Riitta - The heterogeneous pathogenesis of type I diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**. ISSN 17595037. 15:11 (2019) 635–650.

15. WARSHAUER, Jeremy T.; BLUESTONE, Jeffrey A.; ANDERSON, Mark S. - New Frontiers in the Treatment of Type I Diabetes. **Cell Metabolism**. ISSN 19327420. 31:1 (2020) 46–61.

16. DARIYA, Begum *et al.* - Pathophysiology, etiology, epidemiology of type I diabetes and computational approaches for immune targets and therapy. **Critical Reviews in Immunology**. ISSN 10408401. 39:4 (2019) 239–265.

17. FELTON, Jamie L. - Timing of Immunotherapy in Type I Diabetes: The Earlier, the Better? **ImmunoHorizons**. ISSN 25737732. 5:7 (2021) 535–542.

18. JACOBSEN, Laura M. *et al.* - T Cell Receptor Profiling in Type I Diabetes. **Current Diabetes Reports**. ISSN 15390829. 17:11 (2017).

19. NI, Qianqian *et al.* - Advances in immunotherapy of type I diabetes. **Advanced Drug Delivery Reviews**. ISSN 18728294. 139:2019) 83–91.

20. LORETELLI, Cristian *et al.* - Cell therapy for type I diabetes. **Expert Opinion on Biological Therapy**. ISSN 17447682. 20:8 (2020) 887–897.

21. VILLALBA, Adrian *et al.* - Antigen-specific immunotherapy combined with a regenerative drug in the treatment of experimental type I diabetes. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 10:1 (2020) 1–11.

22. RAPINI, Novella; SCHIAFFINI, Riccardo; FIERABRACCI, Alessandra - Immunotherapy strategies for the prevention and treatment of distinct stages of type I diabetes: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*. ISSN 14220067. 21:6 (2020) 1–11.

23. RYDÉN, Anna K. E. *et al.* - Non-antigenic and antigenic interventions in type I diabetes. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**. ISSN 2164554X. 10:4 (2014) 838–846.

24. FRUMENTO, Davide *et al.* - Immunotherapy for type I diabetes. **Journal of Endocrinological Investigation**. ISSN 17208386. 40:8 (2017) 803–814.

25. LONG, S. Alice *et al.* - Rapamycin/IL-2 combination therapy in patients with type I diabetes augments Tregs yet transiently impairs β -cell function. **Diabetes**. ISSN 00121797. 61:9 (2012) 2340–2348.
26. HULME, Maigan A. *et al.* - Central role for interleukin-2 in type I diabetes. **Diabetes**. ISSN 00121797. 61:1 (2012) 14–22.
27. REWERS, Marian; GOTTLIEB, Peter - Immunotherapy for the prevention and treatment of type I diabetes: Human trials and a look into the future. **Diabetes Care**. ISSN 01495992. 32:10 (2009) 1769–1782.
28. PESCOVITZ, Mark D. *et al.* - B-lymphocyte depletion with rituximab and β -cell function: Two-year results. **Diabetes Care**. ISSN 01495992. 37:2 (2014) 453–459.
29. HEROLD, Kevan C. *et al.* - An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type I Diabetes. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 381:7 (2019) 603–613.
30. PERDIGOTO, Ana Luisa *et al.* - Treatment of type I diabetes with teplizumab: clinical and immunological follow-up after 7 years from diagnosis. **Diabetologia**. ISSN 14320428. 62:4 (2019) 655–664.
31. CABRERA, Susanne M. *et al.* - Innate immune activity as a predictor of persistent insulin secretion and association with responsiveness to CTLA4-Ig treatment in recent-onset type I diabetes. **Diabetologia**. ISSN 14320428. 61:11 (2018) 2356–2370.
32. HALLER, Michael J. *et al.* - Low-dose Anti-Thymocyte Globulin Preserves C-Peptide and Reduces A1c in New Onset Type I Diabetes: Two Year Clinical Trial Data. **Diabetes**. ISSN 0012-1797. (2019).
33. WHERRETT, Diane K. *et al.* - Antigen-based therapy with glutamic acid decarboxylase (GAD) vaccine in patients with recent-onset type I diabetes: A randomised double-blind trial. **The Lancet**. ISSN 1474547X. 378:9788 (2011) 319–327.
34. SMITH, Emma L.; PEAKMAN, Mark - Peptide immunotherapy for type I diabetes-clinical advances. **Frontiers in Immunology**. ISSN 16643224. 9:FEB (2018) 1–5.
35. RAZ, Itamar *et al.* - Treatment of recent-onset type I diabetic patients with DiaPep277: Results of a double-blind, placebo-controlled, randomized phase 3 trial. **Diabetes Care**. ISSN 19355548. 37:5 (2014) 1392–1400.
36. LIU, Yuk Fun *et al.* - Immune and Metabolic Effects of Antigen-Specific

Immunotherapy Using Multiple b-Cell Peptides in Type I Diabetes. **Diabetes**. ISSN 1939327X. 71:4 (2022) 722–732.

37. GROHOVÁ, Anna *et al.* - Cell based therapy for type I diabetes: Should we take hyperglycemia into account? **Frontiers in Immunology**. ISSN 16643224. 10:FEB (2019).

38. BLUESTONE, Jeffrey A. *et al.* - Type I diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. **Science Translational Medicine**. ISSN 19466242. 7:315 (2015).

39. DONG, Shen *et al.* - The effect of low-dose IL-2 and Treg adoptive cell therapy in patients with type I diabetes. **JCI Insight**. ISSN 23793708. 6:18 (2021).

40. CIFUENTES-RIUS, Anna *et al.* - Inducing immune tolerance with dendritic cell-targeting nanomedicines. **Nature Nanotechnology**. ISSN 17483395. 16:1 (2021) 37–46.

41. ORABONA, Ciriana *et al.* - Immune Checkpoint Molecules, Personalized Immunotherapy, and Autoimmune Diabetes. **Trends in Molecular Medicine**. ISSN 1471499X. 24:11 (2018) 931–941.

42. ATKINSON, Mark A. *et al.* - The challenge of modulating β -cell autoimmunity in type I diabetes. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**. ISSN 22138595. 7:1 (2019) 52–64.

43. REKERS, Niels V.; HERRATH, Matthias G. VON; WESLEY, Johnna D. - Immunotherapies and immune biomarkers in Type I diabetes: A partnership for success. **Clinical Immunology**. ISSN 15217035. 161:1 (2015) 37–43.

44. KOLB, Hubert; HERRATH, Matthias VON - Immunotherapy for Type I Diabetes: Why Do Current Protocols Not Halt the Underlying Disease Process? **Cell Metabolism**. ISSN 19327420. 25:2 (2017) 233–241.