

O papel do timo no desenvolvimento do sistema imune*

The role of the thymus in the development of the immune system *El papel del timo en el desarrollo del sistema inmune*

Flávia Afonso Lima¹, Magda Carneiro-Sampaio²

Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP), Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

¹ Mestre em Ciências. Aluna do Programa de Doutorado ICB-USP

² Professora Titular do Departamento de Pediatria da FMUSP

*Auxílio de Bolsa de Doutorado FAPESP, processo 05/60069-8, e projeto temático, processo 02/05880-4.

Resumo

Objetivo: discutir e atualizar informações relevantes sobre o papel do timo no desenvolvimento dos linfócitos T, na tolerância aos próprios antígenos, e na manutenção da homeostase do sistema imunológico. **Fontes dos dados:** revisões, artigos e livros contendo informações relevantes e atuais. **Síntese dos dados:** o timo é um órgão linfóide primário, essencial para o estabelecimento inicial de um repertório funcional de células T em humanos. Este órgão fornece o ambiente adequado para a diferenciação, seleção e maturação de linfócitos T a partir de células tronco progenitoras migrantes da medula óssea. O desequilíbrio deste sistema, provocado por fatores genéticos e/ou ambientais, pode acarretar reações imunopatológicas graves, como autoimunidades (Ex: síndrome poliglandular autoimune tipo 1) e imunodeficiências (Ex: síndrome DiGeorge). Muitos dos mecanismos fisiológicos e patológicos relacionados ao timo permanecem em discussão, ou são ainda completamente desconhecidos. **Conclusões:** a homeostase do sistema imunológico depende da função tímica para o desenvolvimento da tolerância e impedir a auto-imunidade. O mecanismo íntimo está em estudo para possibilitar a melhor abordagem terapêutica de pacientes com doenças autoimunes.

Descritores: Timo. Linfócitos T. Auto-imunidade. Síndrome de DiGeorge

Abstract

Objective: to discuss and update relevant information on the role of the thymus in the development of T lymphocytes, in the tolerance to the antigens and in the maintenance of the immunological system homeostasis. **Data source:** literature reviews, studies and books containing relevant and current information. **Data synthesis:** the thymus is a primary lymphoid organ, essential for the initial establishment of a functional T-cell reservoir in humans. This organ supplies the adequate environment for the differentiation, selection and maturation of T lymphocytes from bone marrow progenitor stem cells. The disequilibrium of this system, caused by genetic and/or environmental factors can cause severe immunopathological reactions, such as autoimmune diseases (e.g. poliglandular syndrome types) and immunodeficiency. Many of the physiological and pathological mechanisms related to the thymus remain debatable, or are still completely unknown. **Conclusions:** the homeostasis of the immunological system depends on the thymus function for the development of tolerance and to prevent autoimmunity. The intimate mechanism is being

studied in order to allow a better therapeutic approach of patients with autoimmune diseases.

Keywords: Thymus Gland. T Lymphocytes. Autoimmunity. DiGeorge Syndrome

Resumen

Objetivo: discutir y actualizar informaciones relevantes sobre el papel del timo en el desarrollo de los linfocitos T, en la tolerabilidad a los propios antígenos, y en la manutención de la homeostase del sistema inmunológico. **Fuente de los datos:** revisiones, artículos y libros conteniendo informaciones relevantes y actuales. **Síntesis de los datos:** el timo es un órgano linfóide primário, esencial para el establecimiento inicial de un repertorio funcional de células T en humanos. Este órgano ofrece el ambiente adecuado para la diferenciación, selección y madurez de linfocitos T a partir de células tronco progenitoras migrantes de la médula ósea. El desequilibrio de este sistema, provocado por factores genéticos y/o ambientales, puede generar reacciones inmunopatológicas, graves, como autoinmidades (ex: síndrome poliglandular autoinmune tipo 1) e inmunodeficiências (ex: síndrome DiGeorge). Muchos de los mecanismos fisiológicos y patológicos relacionados al timo permanecen en discusión, o son todavía completamente desconocidos. **Conclusiones:** la homeostasis del sistema inmunológico depende de la función del timo, para el desarrollo de la tolerancia para impedir la autoinmidad. El mecanismo íntimo está en estudio para posibilitar la mejor abordaje terapéutica de pacientes con enfermedades autoinmunes.

Palabras clave: Timo. Linfocitos T. Autoinmidad. Síndrome de DiGeorge

Introdução

O sistema imune é composto por órgãos, células especializadas e moléculas solúveis que têm a finalidade de reconhecer os elementos estranhos ao organismo e elaborar uma reação, ou resposta imune específica, dirigida a esses antígenos, com a finalidade de eliminá-los do organismo e preservar a saúde.

Os mecanismos de proteção anti-infecciosa, vistos de uma maneira mais ampla, podem ser classificados em três grandes categorias:

a) **barreiras naturais** – representadas pela integridade da pele e das mucosas, pelos movi-

mentos próprios das mucosas (movimento muco-ciliar do trato respiratório, movimento peristáltico do intestino), fluxos urinário, lacrimal, salivar, das secreções respiratórias e digestivas, ácidos graxos da pele, enzimas com atividade antimicrobiana, flora normal da pele, dos tratos digestivo e genital feminino, entre outras;

b) **imunidade inata ou natural** – está presente e é efetiva em todos os indivíduos normais mesmo sem exposição prévia ao antígeno, opera sobre os agentes infecciosos da mesma maneira a cada vez que o indivíduo é exposto. Os componentes mais conhecidos são os fagócitos poli e mononucleares, as células NK [*natural killer*], o sistema complemento, e também todas as células processadoras de antígenos, entre as quais estão as células dendríticas essenciais para o desenvolvimento da terceira categoria de mecanismos de proteção anti-infecciosa - a imunidade específica;

c) **a resposta adaptativa ou imunidade específica** é ativada somente após o primeiro contato com um agente estranho ao organismo, quando então se desenvolve a memória imunológica. Esta possibilita identificar os elementos estranhos em contatos subseqüentes, e distingui-los de componentes do próprio organismo [discriminação entre “próprio” ou *self* e “não próprio” ou *non-self*]; seqüencialmente ocorre uma reação rápida e específica como resposta protetora. Desta forma, é a resposta imune adaptativa que detém os atributos da memória e da especificidade na reação. Os linfócitos T e B são responsáveis pelo reconhecimento imune-específico dos patógenos e pelo desencadeamento das respostas imunes adaptativas. Estas células são derivadas de células-tronco da medula ósea, entretanto, os linfócitos T sofrem um processo de desenvolvimento no timo, enquanto os linfócitos B se desenvolvem na própria medula ósea.

Neste ensaio são revistos aspectos básicos do timo para o desenvolvimento normal dos linfócitos T, e para o estabelecimento da tolerância aos próprios antígenos. São abordadas as principais disfunções tímicas.

Breve histórico

Por séculos, o timo permaneceu como um órgão enigmático com funções desconhecidas, tendo sido o último dos grandes órgãos do corpo a ter as funções reveladas. A origem da palavra timo [*thymus*, em latim e em inglês] parece in-

certa: alguns alegam que é proveniente do latim, pela semelhança notável do órgão com a folha da planta *Thymus vulgaris*, outros acreditam que deriva do grego antigo- Θυμοσ que é traduzida amplamente como alma, coração, coragem, mente, vontade ou propósito. Os gregos antigos, faziam rituais com sacrifícios de animais muito jovens, notaram uma grande massa de tecido no tórax, logo acima do coração, que se estendia até o pescoço, e, então, concluíram que este órgão seria a sede da alma.

Até as primeiras décadas do século 20, o fato do timo na infância ter uma grande massa de tecido não foi particularmente destacado. Isto porque, naquela época, as autópsias feitas em crianças mortas por doenças fatais, tais como a difteria, geralmente apresentavam o timo encolhido como resultado do estresse durante a doença, e assim o pequeno tamanho do órgão era tido como normal. Quando mortes infantis ocorriam durante cirurgias, devido à anestesia, a fatalidade era atribuída ao timo grande, que se pensava interferir na respiração, condição então denominada de *status thymolymphaticus*. Alguns médicos passaram, então, a recomendar a irradiação para diminuir o tamanho do timo, desconhecendo que alguns dos pacientes poderiam vir a desenvolver adenocarcinoma da glândula tireóide¹.

Na década de 1950, o timo foi reconhecido como um sítio de produção de linfócitos, e a competência imunológica de linfócitos circulantes foi demonstrada inequivocamente por Billingham e Gowans no final da década de 1950 e início de 1960, respectivamente^{2,3}. Entretanto, embora se soubesse que o timo era um órgão produtor de linfócitos, os imunologistas não acreditavam que este tivesse alguma função imunológica, pois as principais características de resposta imune, como a plasmocitopoiese e a formação de centros germinativos, não eram observadas no timo de animais normais após a imunização. Além disto, os linfócitos do timo, ao contrário das células de outros tecidos linfóides, não eram capazes de iniciar ou transferir uma resposta imune ao antígeno em receptores apropriados; e os animais timentomizados na vida adulta produziam resposta celular e humoral tão eficientemente quanto os animais jovens. Muitas questões a respeito da embriologia, anatomia, fisiologia, patologia e significado clínico do timo

persistiram até 1961, quando Miller demonstrou pela primeira vez o papel fundamental do timo para o estabelecimento e desenvolvimento do sistema imune normal. Utilizou para isto os experimentos com camundongos timentomizados imediatamente após o nascimento⁴. Como resultado da timentomia neonatal os animais apresentavam tecido linfóide pobremente desenvolvido, a resposta imune prejudicada e maior susceptibilidade a infecções recorrentes.

Em 1967, Miller e Mitchell⁵ demonstraram que os linfócitos desenvolvidos no timo, até então tidos como imunoincompetentes, podiam responder a antígenos com proliferação, dando origem a uma progênie de células não produtoras de anticorpos, porém com outras habilidades, como auxiliar as células produtoras de anticorpos a desempenhar seu papel⁵. Em seus experimentos, Miller⁵ e seu colaborador observaram o efeito do estímulo antigênico e concomitante injeção de células provenientes do timo, da medula óssea, ou coletadas no ducto torácico, em camundongos irradiados ou timentomizados logo após o nascimento. Foi a primeira demonstração inequívoca da existência, em espécies mamíferas, de dois grupos de linfócitos interativos, as células T e B. Estes dados provocaram uma evolução no conhecimento dos fenômenos imunológicos, como a tolerância, memória e autoimunidade, que foram reavaliados e esclarecidos.

O desenvolvimento neste campo teve a destacada contribuição do brasileiro Mendes⁶, em estudos desenvolvidos na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e na Escola Paulista de Medicina, no início da década de 1970. O professor observou pela primeira vez a capacidade de ligação das hemácias de carneiro aos linfócitos T, mas não aos linfócitos B, e padronizou uma técnica simples e de baixo custo para identificar e diferenciar linfócitos T e B no sangue periférico e nos tecidos⁶. Este método foi largamente utilizado até o advento dos anticorpos monoclonais no começo da década de 1980.

Alguns dos mais recentes avanços nas diversas áreas da biologia do timo, especialmente nos últimos 5 anos, incluem a organogênese do timo, a regulação transcricional que induz à escolha/decisão do tipo celular que se desenvolverá no ambiente intratímico, e a migração, regulada por quimiocinas, de precursores de células T através dos diferentes micro-ambientes tímicos.

Estrutura, função e interações

O timo situa-se imediatamente atrás da extremidade superior do esterno, próximo do coração e grandes vasos da base. Possui dois lobos envolvidos por uma cápsula delgada que penetra no órgão através de prolongamentos ou septos de tecido conjuntivo trabecular que, ao se unirem, dividem o órgão em lóbulos. O estroma de cada lóbulo tímico é formado por uma rede de células epiteliais, por macrófagos e células dendríticas, por entre as quais migram e interagem os timócitos - designação geral das células em diferentes estágios de diferenciação que vão dar origem aos linfócitos T maduros.

A parte periférica de cada lóbulo, denominada córtex, é formada por tecido linfóide denso e contém a maioria dos timócitos relativamente imaturos em proliferação, enquanto a porção central ou medula é constituída por tecido linfóide frouxo e contém as células maduras (Figura 1).

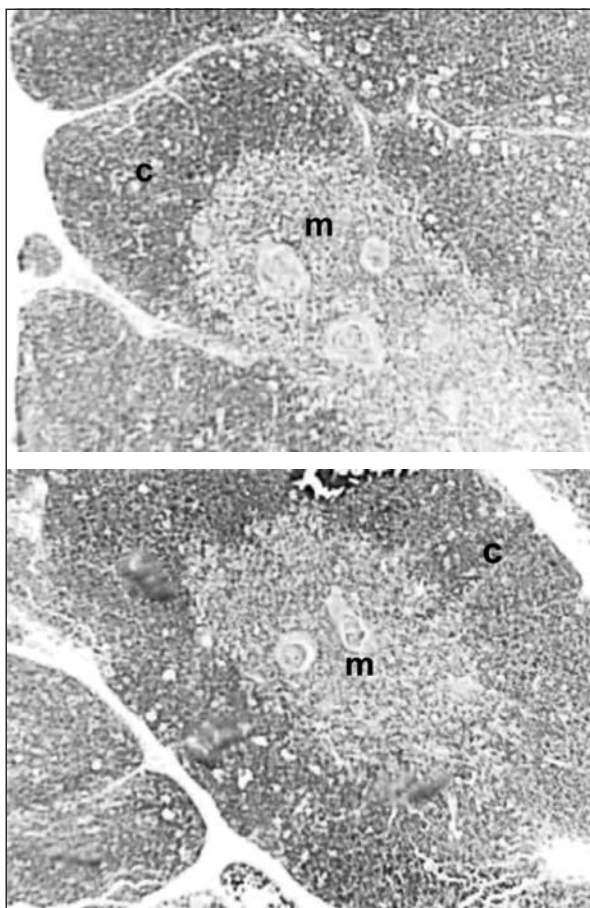


Figura 1. Corte histológico de um lóbulo tímico mostrando as regiões do córtex [c] e da medular [m] tímicas (40x)

O desenvolvimento dos timócitos avança concomitantemente com a migração destas células do córtex para a medula tímica. Durante a ontogenia ocorrem modificações seqüenciais intensas das moléculas expressas na superfície dos timócitos; estas alterações fenotípicas caracterizam os diferentes estágios de diferenciação da célula e permitem o estudo do desenvolvimento de linfócitos T.

As células tronco pluripotentes migrantes da medula óssea entram no timo através da corrente sanguínea na região da junção córtico-medular e se deslocam em direção à região subcapsular, externa ao córtex, onde começam a proliferar. Após todo o processo de diferenciação, as células T maduras migram da medula e deixam o timo através das vênulas pós-capilares, localizadas na junção córtico-medular. Porém, existe outra via de saída, constituída pelos vasos linfáticos eferentes, não dispondo o timo de linfáticos aferentes.

Na medula tímica são encontradas microestruturas características do órgão – os corpúsculos de Hassall, constituídos por grupamentos de células epiteliais medulares e células dendríticas (Figura 2). As funções destas estruturas permanecem em discussão, mas parecem estar envolvidas na diferenciação de linfócitos T regulatórios (T_{reg})⁷.

A principal função do timo é fornecer o ambiente adequado para a diferenciação, seleção e maturação de linfócitos T, a partir de células progenitoras migrantes da medula óssea. Neste ambiente especial, o contato íntimo entre timócitos e células do estroma tímico é fundamental para a sinalização celular mediada por moléculas de

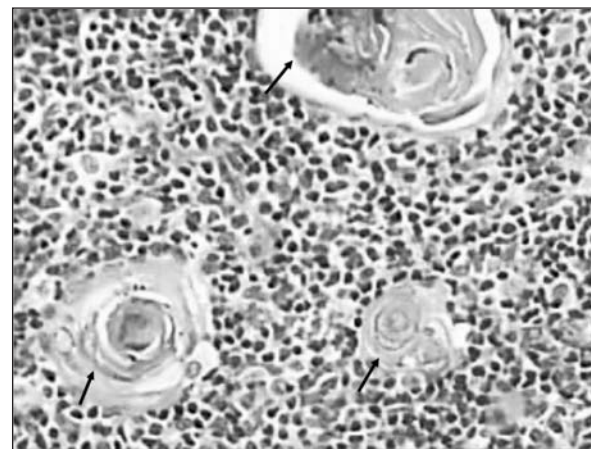


Figura 2. Medula tímica com corpúsculos de Hassall (setas) (200x)

adesão complementares (receptores e ligantes), expressas em ambas as células. Entre outros efeitos, esta influência mútua induz a produção das citocinas necessárias para a proliferação e maturação das células T no timo.

A linfopoiese intratímica é altamente ativa na fase embrionária, fetal e durante os primeiros meses de vida, quando é estabelecido o repertório funcional de linfócitos T, que o indivíduo levará pelo resto da vida. Em estudo recente, utilizando timos de crianças de várias idades submetidas a cirurgias corretivas de cardiopatias congênitas, Weerkamp e colaboradores verificaram que o número de células por lobo tímico alcançava as maiores cifras entre 6 e 9 meses, decaindo nitidamente com o passar da idade⁸. No ser humano, da mesma forma que em outros mamíferos, o timo diminui de tamanho com o avançar da idade. Ao nascimento tem cerca de 15 a 20g, e alcança o maior tamanho em relação ao peso cor-

póreo nos primeiros meses de vida, (Figura 3), quando podem ser observados timos enormes com formas pseudotumorais, observadas nas radiografias de tórax de lactentes (Figura 4). A evolução saudável destas crianças ao longo do tempo mostra que esta característica é própria da evolução imunológica normal. A partir da puberdade, inicia-se o processo de atrofia tímica, que continua ao longo da vida. A atrofia começa no córtex e está associada à sensibilidade dos linfócitos T corticais à ação dos corticóides, caracteristicamente expressos na fase adulta do indivíduo. A região cortical pode desaparecer completamente, enquanto os remanescentes medulares persistem, e é possível que a diferenciação de células T no timo continue durante toda a vida do indivíduo adulto, ainda que em taxas muito reduzidas. Observa-se com o passar da idade a presença de quantidades crescentes de tecido adiposo no órgão.

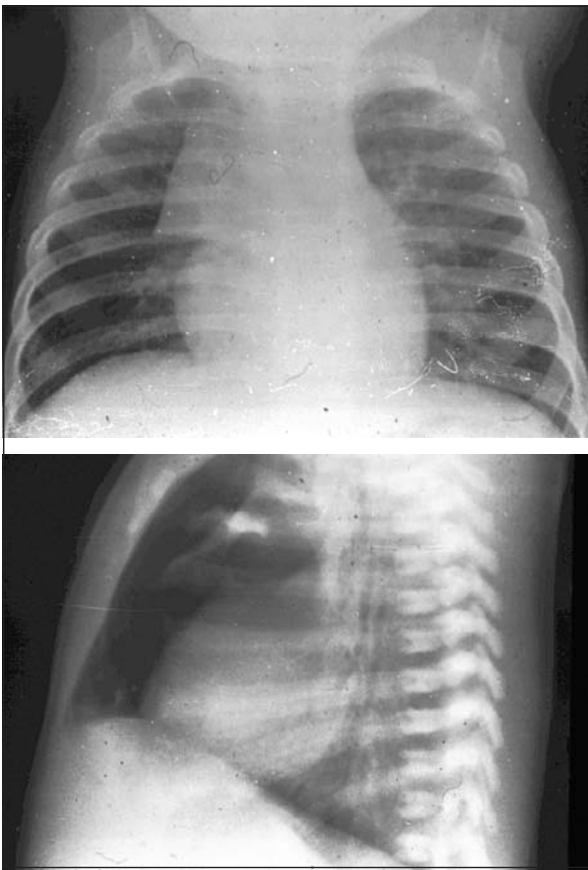


Figura 3. Radiografias torácicas de lactente normal com timo em “vela de barco”

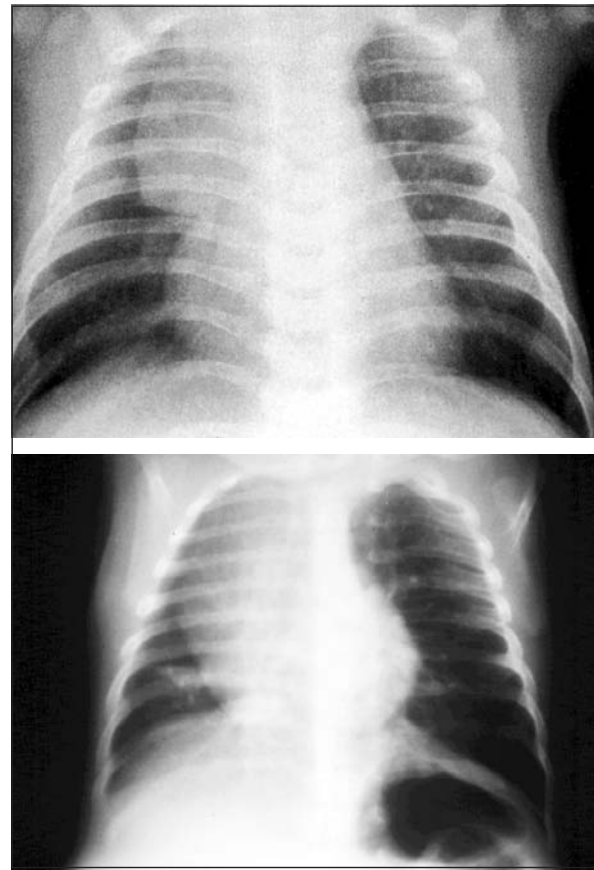


Figura 4. Imagens de timos pseudotumorais de crianças sem doença imune

Histogênese do timo

O timo é o primeiro órgão linfóide a aparecer durante a ontogênese, e no ser humano os dois primórdios laterais de tecido tímico surgem no final da quarta semana da vida embrionária. O timo desenvolve-se a partir de células epiteliais derivadas do endoderma do terceiro par de bolsas faríngeas e do mesênquima, dentro do qual crescem tubos de células epiteliais, que logo se tornam cordões maciços, proliferam e dão origem a ramos laterais. Cada ramo lateral se torna o eixo de cada lóbulo do timo. As células dos cordões epiteliais se espalham frouxamente, mas se mantêm conectadas umas com as outras, e formam o retículo epitelial do timo. O mesênquima que se estende entre os cordões epiteliais forma septos delgados incompletos entre os lóbulos. Aparentemente, os corpúsculos de Hassall são derivados de células ectodermais da terceira fenda faríngea.

Entre a quarta e a sétima semana de vida intrauterina, os tecidos tímicos perdem sua conexão com a faringe e migram para a localização definitiva, no mediastino superior, onde se fundem para formar um único órgão bilobado. Logo após a formação do órgão, por volta da décima semana de desenvolvimento embrionário, o interstício entre as células epiteliais se torna colonizado por células tronco precursoras de timócitos, que são provenientes do omento, saco vitelino e fígado do embrião; estas alcançam o timo através da corrente sanguínea, como resultado de sinais quimiotáticos emitidos periodicamente pelo rudimento tímico. Por volta da décima segunda semana de vida intrauterina, cada lóbulo tímico apresenta de 0,5 a 2 mm de diâmetro, e já aparecem bem definidas as regiões cortical e medular. Cada lobo tem o suprimento sanguíneo, a drenagem linfática e a inervação individualizada. A forma bilobada do timo é alcançada nesta fase, assim como o revestimento por uma cápsula discreta, que permanecem por toda a vida.

Linfócitos T: origem da diversidade e tolerância central

A adequada função do sistema imune demanda plasticidade e diversidade das estruturas, dos mecanismos e dos processos imunológicos, e parecem ter resultado das relações evolutivas entre os microorganismos e a imunidade. Assim, a

pressão seletiva originada dos processos infecciosos garantiu a diversidade essencial à adaptação e sobrevivência da espécie. Neste prisma, duas peculiaridades genéticas desempenham papel essencial: polimorfismo e a poligenia. Como exemplo de características polimórficas têm-se os genes dos *loci* do complexo principal de histocompatibilidade (MHC – *major histocompatibility complex*), os das regiões variáveis das imunoglobulinas, dos receptores de antígenos das células T (TCR – *T cell receptor*) e os do sistema complemento. Por outro lado, acham-se sob controle de poligenes as principais características efetoras da imunidade, como a atividade catabólica de macrófagos e resposta inflamatória, a síntese e produção de anticorpos por células B, a expressão de TCR e imunidade mediada por células, e a tolerância imunológica⁹.

O timo é o local onde a diversidade de moléculas dos receptores de antígenos (TCR), presentes na membrana dos linfócitos T funcionais, é gerada e selecionada. Isto é fundamental para o reconhecimento de antígenos pelos linfócitos T, e a regulação de uma resposta imune adequada. No timo, um extraordinário repertório de clones de linfócitos T é gerado através de rearranjos aleatórios de diferentes segmentos gênicos (recombinação somática), dando origem ao polimorfismo das cadeias de TCR α e β ou γ e δ expressas na superfície de cada timócito. Esta variedade é necessária para fornecer a proteção contra os diferentes agentes infecciosos, com os quais o indivíduo defronta-se ao longo da vida. Entretanto, a diversidade de moléculas de TCR produzida deve ser conferida e selecionada para que não ocorra reação contra elementos do próprio organismo. Para tal, é necessário garantir a maturação apenas de linfócitos T que reconheçam antígenos próprios (moléculas de classe I ou classe II de histocompatibilidade), e com especificidade antigênica restrita aos elementos estranhos ou “não-próprios”. Desta forma, os timócitos bem sucedidos na expressão da molécula completa de TCR (cadeias $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$) são submetidos a dois processos diferentes de seleção – positiva e, depois, negativa. As células T são selecionadas positivamente, em termos de utilidade, baseados na ligação do TCR com o complexo de MHC (restrição pelo MHC) e negativamente para auto-antígenos, contra a auto-reatividade. O próprio (*self*) imunológico compreende todos os epítomos (determinantes antigênicos) codifi-

cados pelo DNA do indivíduo, de modo que todos os outros epítópos sejam reconhecidos como não-próprios.

A seleção positiva acontece predominantemente no córtex tímico e assegura o desenvolvimento de timócitos que expressam TCR útil, capaz de se ligar adequadamente às moléculas de classe I ou II do MHC nas células do epitélio cortical. Os timócitos que apresentam receptores com afinidade muito alta ou muito baixa para os antígenos próprios do MHC sofrem apoptose e morrem no córtex tímico. As células que reconhecem o MHC com afinidade intermediária são poupadas da apoptose, sobrevivem, e seguem em direção à maturação^{10,11}. Esta etapa garante que sejam selecionados positivamente somente os linfócitos T capazes de reconhecer antígenos quando apresentados no contexto do MHC.

Os timócitos submetidos à seleção positiva co-expressam as moléculas CD4 e CD8 na membrana, ou seja, são considerados duplo-positivos (DP), entretanto, logo amadurecem em células simples-positivas (SP), quando passam a expressar somente uma destas moléculas, ou seja CD4 ou CD8. É exatamente em paralelo com a seleção positiva que ocorre o processo de comprometimento alternativo em linhagens T auxiliadora [Ta] ou citotóxica [Tc], caracterizado pela modulação dos co-receptores CD4 ou CD8, respectivamente. As moléculas de MHC exercem um papel importante neste processo.

Alguns dos timócitos positivamente selecionados podem ter TCR capazes de reconhecer alguns autocomponentes, outros que não os do MHC. Estas células, idealmente, devem ser detectadas e destruídas através do processo de seleção negativa ou tolerância central; este ocorre nas camadas mais profundas do córtex, na junção córtico-medular e na medula do timo. Durante este processo de seleção, os timócitos interagem com antígenos próprios, apresentados no contexto do MHC, expressos por células dendríticas interdigtantes, macrófagos e células epiteliais medulares. Os timócitos que reagem com alta afinidade contra auto-antígenos sofrem apoptose, e apenas aqueles que reagem com baixa afinidade sobrevivem e prosseguem no processo de desenvolvimento normal^{10,11}. Desta forma, na medula tornam-se os linfócitos T maduros aptos para exercer suas funções efetoras, e lá permanecem por alguns dias antes de serem liberados ao *pool* linfóide periférico.

Há muito, logo após Muller ter provado que o timo é um órgão imunológico, diversos grupos de pesquisadores demonstraram que a auto-tolerância ocorre largamente no timo através da seleção negativa. Entretanto, várias décadas depois, os mecanismos e os mediadores celulares da seleção negativa permanecem pouco compreendidos.

Em 2002, Anderson¹² e seus colaboradores mostraram que o AIRE (*autoimmune regulator*), um possível fator transcricional, promove a tolerância de timócitos através da indução da expressão de uma infinidade de antígenos de tecidos e órgãos periféricos, pelas células epiteliais da medula tímica¹². Nos últimos anos, vários estudos têm sido realizados no sentido de desvendar os mecanismos e interações que o AIRE promove durante a seleção de timócitos. Defeitos no gene AIRE são responsáveis pelo surgimento de uma doença autoimune, a APECED (apresentada na seqüência), que acomete vários órgãos glandulares do indivíduo. Deste modo, o AIRE constitui um elemento essencial para o processo de seleção negativa dos linfócitos T no timo e, conseqüentemente, para o desenvolvimento normal do sistema imune.

Alguns estudos recentes sugerem que nem todos os timócitos com alta afinidade para auto-antígenos são destruídos por seleção negativa dentro do timo, algumas destas células sobreviventes passam por um processo chamado *non-deletional central tolerance*, que tem como resultado uma seleção positiva em que as células se diferenciam e dão origem a células T CD4⁺ imunossupressoras, as denominadas células T_{reg}¹¹.

Durante todo o processo de desenvolvimento dos timócitos, uma grande parte dessas células morre (mais de 95%) por apoptose. Isto se deve principalmente aos arranjos mal sucedidos das cadeias de TCR e aos processos de seleção positiva e negativa, restando apenas uma pequena parcela (3 a 5 % das células) que se tornam linfócitos T maduros. As mortes celulares ocorrem por apoptose - a morte celular pré-programada, por ativação de endonucleases endógenas que determinam a fragmentação do DNA. Assim, além de fornecer o ambiente adequado para a diferenciação dos timócitos, o timo é responsável pela seleção de linfócitos T e pelo processo de tolerância central.

Doenças do timo e relacionadas

A resposta imune abrange os vários tipos celulares, os receptores presentes nas membranas,

e as moléculas secretadas. Este conjunto está sujeito a uma variedade de mecanismos de controle, como os processos de ativação, supressão e regulação. A resposta imune envolve o discernimento entre o próprio e o não próprio, o reconhecimento e a memória, e depende de sinais transmitidos pelos componentes do sistema imune. O desequilíbrio em algum destes mecanismos imunes pode acarretar doenças, como a autoimunidade e a imunodeficiência. Fatores genéticos e/ou ambientais são responsáveis por essas alterações, entretanto, a origem e os mecanismos de muitas doenças imunológicas permanecem em discussão.

Destacam-se como exemplos duas doenças decorrentes de alterações tímicas e classificadas dentro do grupo das imunodeficiências primárias. A síndrome de DiGeorge, decorre de alterações na embriogênese do timo, enquanto a APECED (*autoimmune polyendocrinopathy, candidiasis, ectodermal dystrophy*) está associada a defeitos na expressão do gene *AIRE*, já mencionado, e resulta de um defeito no processo de indução de tolerância central aos auto-antígenos. No caso dos linfócitos T, o termo tolerância central se contrapõe ao de tolerância periférica, que engloba os mecanismos envolvidos na manutenção da tolerância fora do timo. Esses compreendem, sobretudo, a ação das células T_{reg} nos tecidos onde estão ocorrendo reações inflamatórias e o reconhecimento de antígenos estranhos em geral.

APECED ou Síndrome Poliglandular Autoimune tipo 1

Esta entidade foi reconhecida há algumas décadas, mas somente nos últimos anos foi identificada como decorrente de mutações do gene *AIRE*. Caracteriza-se pela presença de candidíase mucocutânea em todos os casos, associada a múltiplas endocrinopatias sendo as mais comuns o hipoparatiroidismo (79-93%) e o hipoadrenalismo (70-73%). Não são raras as outras endocrinopatias, tais como a falência ovariana ou testicular (43-50%), hipotireoidismo (10%), diabetes mellitus insulino-dependente (2-12%) e hipofisite (7%)^{13,14,15}. Outros sítios corpóreos podem ser acometidos, com a ocorrência de hepatite autoimune crônica (20% dos casos), alopecia, vitiligo e a anemia perniciososa, manifestações comuns entre os afetados. A tríade candidíase, hipoparatiroidismo e síndrome de Addison é a

mais característica da APECED. A candidíase da pele, unhas e mucosas é, de forma geral, a manifestação mais precoce, e aparece já nos primeiros anos de vida, enquanto as endocrinopatias podem surgir mais tardiamente, na infância, adolescência ou mesmo na vida adulta. É interessante que os pacientes afetados apresentam múltiplas manifestações autoimunes do tipo órgão-específicas, em geral, mas não se observam doenças autoimunes sistêmicas como o lúpus eritematoso sistêmico, glomerulonefrites, artrites, vasculites, anemia hemolítica, púrpura e doença inflamatória intestinal.

As manifestações clínicas da APECED demonstram a relevância do mecanismo de seleção negativa para a manutenção da autotolerância, particularmente para os antígenos presentes em epitélios e tecidos glandulares. Assim, na ausência de expressão adequada do gene *AIRE*, os antígenos próprios de alguns tecidos não podem ser expressos pelas células tímicas; e desta forma linfócitos T auto-reativos escapam da apoptose decorrente da seleção negativa, alcançam a periferia, e terminam por atacar tecidos próprios, com o surgimento de múltiplas manifestações autoimunes ao longo da vida. Os portadores de APECED podem ser vistos como experimentos naturais que demonstram o papel crucial, e não redundante, do *AIRE* para a tolerância central ao *self*.

Síndrome de DiGeorge

Síndrome de DiGeorge é a denominação original da entidade clínica hoje também conhecida como síndrome da deleção cromossômica 22q11.2, síndrome velocardiofacial ou ainda pelo acrônimo CATCH 22, derivado do inglês *cardiac defects, abnormal facies, thymic hypoplasia, cleft palate, hypocalcemia, chromosome 22 abnormalities*. O gene afetado na síndrome pode ser o *TBX1* ou o *CRKOL*, embora outros também possam estar envolvidos na patogenia.

A CATCH 22/síndrome de DiGeorge resulta de uma das mais freqüentes deleções cromossômicas conhecidas; é estimado que haja um afetado a cada 4.000 a 6.000 nascidos vivos, de acordo com estudos populacionais realizados na Suécia e nos Estados Unidos^{16,17}. As malformações observadas na síndrome DiGeorge decorrem de um desenvolvimento defeituoso da terceira e quarta bolsas faríngeas, que afetam diretamente o desenvolvimento do timo e da paratiroides.

Na descrição original da síndrome havia uma imunodeficiência grave, porém, os estudos posteriores com casuísticas numericamente expressivas mostraram que menos de um por cento dos afetados apresenta um comprometimento importante do sistema imune. A imunodeficiência de menor grau é mais freqüente, e entre os portadores da síndrome de DiGeorge ocorrem mais infecções como sinusite, otite média, bronquite e pneumonias de repetição¹⁸⁻²¹. As manifestações de autoimunidade ocorrem em cerca de 6% dos casos, a púrpura trombocitopênica em 4% dos pacientes e a artrite reumatóide juvenil em 2%.

A ocorrência de imunodeficiência é compreendida a partir da hipoplasia tímica (**Figura 5**), porém, é surpreendente a imunocompetência de parte dos casos, mesmo quando a imagem tímica não é observada na radiografia de tórax^{18,20}. Isto tem levantado a hipótese de que haja resquícios de tecido tímico ou timos ectópicos nos pacientes acometidos, que podem ter a capacidade de produzir linfócitos T maduros, de fato presentes em quase todos os pacientes. Um estudo norte-americano recente, com 195 portadores da síndrome de DiGeorge, constatou que estes apresentavam linfócitos T no sangue periférico (células CD3⁺CD4⁺ e CD3⁺CD8⁺), embora em taxas menores do que as crianças do grupo controle, pareadas por faixa etária²¹. As manifestações de autoimunidade são atribuídas ao desenvolvimento anormal do timo, que poderia levar a uma seleção inadequada dos linfócitos T, com persistência de células autorreativas.

As outras manifestações clínicas da CATCH 22/síndrome de DiGeorge variam bastante, e as

mais freqüentes são os defeitos cardíacos - em especial anomalias dos grandes vasos e a Tetralogia de Fallot (75-81% dos casos), a hipocalcemia devida ao hipoparatiroidismo (com convulsões no período neonatal em 60% dos casos), fâcies dismórfica, palato fendido e outras anomalias velofaríngeas (16-32%), e ausência de timo (28%). Freqüentemente os pacientes também apresentam dificuldades de aprendizado, distúrbios de comportamento e são constitucionalmente pequenos (36% encontram-se abaixo do 3º percentil para estatura e peso)^{16,18,19}. Nas crianças com estas cardiopatias ou outras alterações clínicas sugestivas, é recomendado que se faça a pesquisa da deleção do cromossoma 22q11.2, sistematicamente¹⁶.

Nos lactentes, o diagnóstico diferencial da Síndrome de DiGeorge deve ser feito com as diferentes formas de imunodeficiência combinada grave (em inglês *SCID – severe combined immunodeficiency*). Na imunodeficiência combinada também falta a sombra tímica na radiografia de tórax, porém a imunidade humoral está afetada, o que estabelece o diagnóstico. Os casos de SCID mostram como ocorre o desenvolvimento dos linfócitos T. Nestes casos, após um transplante bem sucedido de medula óssea o timo desenvolve-se, e passa a desempenhar um papel relevante para o amadurecimento pleno das células T e a reconstituição do sistema imunológico do receptor. Estas observações constituem prova inequívoca de que não apenas as células do estroma tímico influenciam o desenvolvimento dos linfócitos T, mas também as células provenientes da medula óssea são necessárias ao desenvolvimento do tecido tímico. Estes aspectos têm sido amplamente demonstrados em modelos animais.

Perspectivas

O timo é um órgão linfóide primário cuja função essencial é a maturação funcional dos linfócitos T e o estabelecimento da tolerância aos autoantígenos. Os progressos em relação ao conhecimento das funções do timo foram grandes, mas ainda permanecem desconhecidos os sinais e interações celulares que promovem a multiplicação e seleção dos linfócitos no interior do órgão. Estes esclarecimentos poderão facilitar a compreensão de questões centrais da Imunologia, como a tolerância e a autoimunidade, e abrirão perspectivas para a abordagem terapêutica dos pacientes com doenças autoimunes.



Figura 5. Radiografia de tórax sem imagem tímica em lactente com imunodeficiência combinada grave

Agradecimentos – Dra. Irma Duarte do Departamento de Patologia da FMUSP (cortes histológicos), Dra. Beatriz Costa Carvalho da UNIFESP-EPM, e Dr. Mário Flores Barba do Instituto da Criança FMUSP (imagens radiográficas).

Referências

1. Miller JFAP. The Discovery of thymus functional and of thymus-derived lymphocytes. *Immunol Rev* 2002;185:7-14.
2. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III. Actively acquired tolerance. *Philos Trans R Soc Lond* 1956;239B:357-412.
3. Gowans IL, Gesner BM, McGregor DD. The immunological activities of lymphocytes. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M. *Biological activity of leucocyte*. Ciba Foundation Study Group. London: Churchill; 1961. p.32-4.
4. Miller JFAP. Immunological function of the thymus. *Lancet* 1961;ii:748-9.
5. Miller JFAP, Mitchell GF. The thymus and the precursors of antigen-reactive cells. *Nature* 1967;216:659-63.
6. Mendes NF, Tolnai ME, Silveira NP, Gilbertsen RB, Metzgar RS. Technical aspects of the rosette tests used to detect human complement receptor (B) and sheep erythrocyte-binding (T) lymphocytes. *J Immunol* 1973;111:860-7.
7. Watanabe N, Wang YH, Lee HK, Ito T, Wang YH, Cao W, et al. Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4+CD25+ regulatory T cells in human thymus. *Nature* 2005;436:1181-5.
8. Weerkamp F, de Haas EFE, Naber BAE, Comans-Bitter WM, Bogers AJJC, van Dongen JJM, et al. Age-related changes in the cellular composition of the thymus in children. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115: 834-40.
9. Sant'Anna AO, Lima FA, DeFranco M, Ribeiro OG. *Imunogenética e Resistência a Infecções*. In: Mir L. *Genômica*. São Paulo: Atheneu; 2004. p.437-62.
10. Hogquist AK, Baldwin TA, Jameson SC. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature* 2005;5:772-81.
11. Liu YJ. A unified theory of central tolerance in the thymus. *Trends Immunol* 2006;27:215-21.
12. Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. Projection of an immunological self shadow with the thymus by the Aire protein. *Science* 2002;298:1395-401.
13. Ahonen P, Myllarniemi S, Sipila I, Perheentupa J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N Engl J Med* 1990;322:1829-36.
14. Betterle C, Greggio NA, Volpato M. Autoimmune polyglandular syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1049-55.
15. Notarangelo L, Mazza C, Forino C, Mazzolari E, Buzi F. Aire and immunological tolerance: insights from the study of autoimmune polyendocrinopathy candidiasis and ectodermal dystrophy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:491-6.
16. Botto L, May K, Fernhoff PM, Correa A, Coleman K, Rasmussen SA, et al. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics* 2003;112:101-7.
17. Öskarsdóttir S, Vujic M, Fasth A. Incidence and prevalence of the 22q11 deletion syndrome: a population-based study in Western Sweden. *Arch Dis Child* 2004;89:148-51.
18. Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, Levy A, Seidel H, Schuffenhauer S, et al. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J Med Genet* 1997;34:798-804.
19. Perez E, Sullivan KE. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge and velocardiofacial syndromes). *Curr Opin Pediatr* 2002;14:678-83.
20. Sullivan KE. The clinical, immunological, and molecular spectrum of chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:505-12.
21. Jawad AF, McDonald-McGinn DM, Zackai E, Sullivan K. Immunologic features of chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge and velocardiofacial syndromes). *J Pediatr* 2001;139:715-23.

Endereço para correspondência:

Profa. Magda Carneiro-Sampaio
 Instituto da Criança
 Avenida Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 647
 Cerqueira César, São Paulo - SP
 Cep 05403-900
 E-mail: magdascas@icr.hcnet.usp.br

Enviado para publicação: 10/9/2006

Aceito para publicação: 12/2/2007