

COMPROMETIMENTO TÍMICO NO DIABETES EXPERIMENTAL.

Nathalie dos Santos Dias, Maria Sueli Parreira de Arruda, Taína Garcia Moreno, James Venturini. Ciências Biológicas. Laboratório de Imunopatologia Experimental, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências, Campus de Bauru

Estudos presentes na literatura estabelecem que pacientes portadores de diabetes exibem maior susceptibilidade às infecções (Romano, 2001). Embora este fato possa ser parcialmente explicado por sua falha em estabelecer uma resposta inflamatória apropriada, os exatos mecanismos envolvidos neste processo, não se encontram bem esclarecidos. Estudos neste sentido poderão auxiliar no melhor entendimento deste fenômeno e favorecer condutas que resultem na melhoria da qualidade de vida desses indivíduos. À semelhança do que ocorre em outros processos patológicos, também o diabetes experimental tem favorecido o conhecimento dos fenômenos envolvidos na patologia humana.

Um modelo comum de indução química do diabetes Tipo I, é por introdução intravenosa de aloxana. A droga pode causar efeitos severos nas células β do pâncreas, o que pode eventualmente resultar em necrose. Este modelo produz sinais típicos do diabetes e complicações características envolvendo os olhos, coração, rins e órgãos linfóides. O timo, é um órgão linfóide primário e é para este órgão que, a partir da medula óssea, migram as células precursoras dos linfócitos T. Uma vez no timo, estas células, sofrem processos complexos de maturação que ocorrem em microambientes distintos, delimitados morfológica e fenotipicamente no interior do órgão. Estes microambientes são compostos por células não linfóides e a matriz extracelular. As células não linfóides, compreendem as células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos e macrófagos; estas estão distribuídas (ou ancoradas) na matriz extracelular, uma rede de fibras que dá sustentação ao órgão (Brito, 2003).

A migração das células precursoras de células T (timócitos), evento crucial para a maturação destas células em células T funcionais, ocorre pela interação dos timócitos com os componentes não linfóides do timo (Savino, 2003). Assim qualquer desarranjo neste microambiente resulta em alterações da resposta imune. Considerando essa premissa e tendo em vista que pacientes portadores de diabetes exibem maior incidência às infecções que a população sadia, no presente estudo, investigamos possíveis alterações na arquitetura tímica de animais diabético-induzidos.

Participaram desse estudo camundongos BALB/c, machos, que após 48 horas da introdução de aloxana via endovenosa (60 mg/Kg), apresentaram níveis sanguíneos de glicose acima de 200mg/dl. O timo destes animais foram avaliados quanto ao peso e organização histológica às 6, 24 e 48 horas e aos 7 dias após a determinação do diabetes. Assim, após pesagem, amostras do tecido tímico foram submetidos aos processos rotineiros para inclusão em parafina e coloração por hematoxilina-eosina e nitrato de Prata, esta última para a visualização das fibras reticulares, que são compostas principalmente de colágeno do tipo III (Fakoya, 2002). A coloração por HE permite visualizar a delimitação da medula e do córtex tímico e, a coloração pela Prata, permite a visualização das fibras reticulares, pois assumem cor escura quando impregnadas pelas partículas de metal. Elas são usualmente observadas como uma malha delicada de fibras finas, formando uma extensa rede, normalmente delineando o epitélio e cobrindo a superfície de muitas células. Ficam bem próximas da lamina basal, formando uma estrutura única e dando suporte aos componentes celulares. A disposição reticular das fibras é conveniente para prover um espaço para movimento molecular no fluido extracelular (Ushiki, 2002).

Sob as condições ensaiadas, nossos resultados revelam que, 6 horas após a determinação do diabetes, portanto, na fase aguda da condição, os camundongos exibiam acentuada atrofia tímica, verificada pela marcada diminuição no peso relativo do órgão. A atrofia tímica precoce também é uma característica bem acentuada nas moléstias infecciosas. Nestas, a atrofia tem sido atribuída a uma intensa depleção de timócitos corticais, particularmente os de fenótipo CD4+CD8+, possivelmente por apoptose (Savino, 2006). Também o aumento dos níveis séricos de corticóides tem sido apontados como promotores da atrofia tímica (Durant et al., 1984). No caso de animais

diabéticos, contudo, os estudos realizados nesta área sugerem que as alterações tímicas não seriam devidas somente a este fenômeno, mas sim, como resultado da insulino-deficiência ou de outras alterações metabólicas associadas com o diabetes (Balasubramanian, 1985). De qualquer modo, os mecanismos precisos responsáveis pela atrofia tímica , não estão completamente compreendidos, e podem variar em diferentes patologias (Savino, 2006). Como a diferenciação de células T dentro do timo é uma seqüência de eventos biológicos muito complexa, alterações em diferentes níveis, incluindo a proliferação celular, diferenciação de expressão de proteína de membrana, morte celular programada e migração celular, podem contribuir para a atrofia tímica verificada em nosso estudo (Barreto, 2005).

À semelhança do descrito na literatura, o timo de camundongos saudáveis apresentam, histologicamente, lóbulos cujo interior apresenta uma medula pálida e, na periferia, córtex rico em linfócitos. Em camundongos diabéticos, 6 horas após a instalação da condição e concomitante com a atrofia tímica, observamos, histologicamente perda da definição cortico-medular e desorganização de matriz extracelular, com distribuição desordenada das fibras reticulares (Figuras 2a e 2b). Em camundongos saudáveis, a reticulina apresentou-se concentrada na medula do órgão, região onde há maior incidência de vasos (Figura 1b). Nos períodos subsequentes, esse quadro foi se tornando menos intenso e, aos 7 dias, essas alterações não foram mais observadas (Figuras 3b e 4b)

Considerando que, em estudo paralelo, verificamos que a aloxana por si só não exerce ação direta sobre este órgão, nossos resultados sugerem que, embora ocorram alterações tímicas quando da instalação do diabetes, estas são transitórias e não devem ser elencadas entre os fatores favorecedores da maior frequência de infecções que acometem os pacientes portadores desta condição.

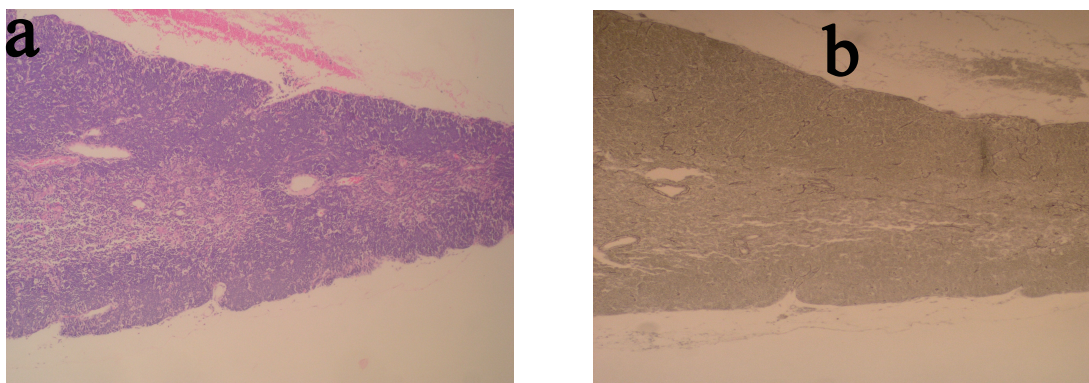


Figura 1. Timo de animais controle, observados através de microscopia óptica **(a)** Corte corado com Hematoxilina-Eosina. Região de córtex densa, rica em linfócitos e medula pálida. Delimitação cortico-medular bem evidente (10X). **(b)** Corte corado com Prata. Fibras reticulares, de coloração escura aparecem concentradas em torno dos vasos, principalmente na região medular.

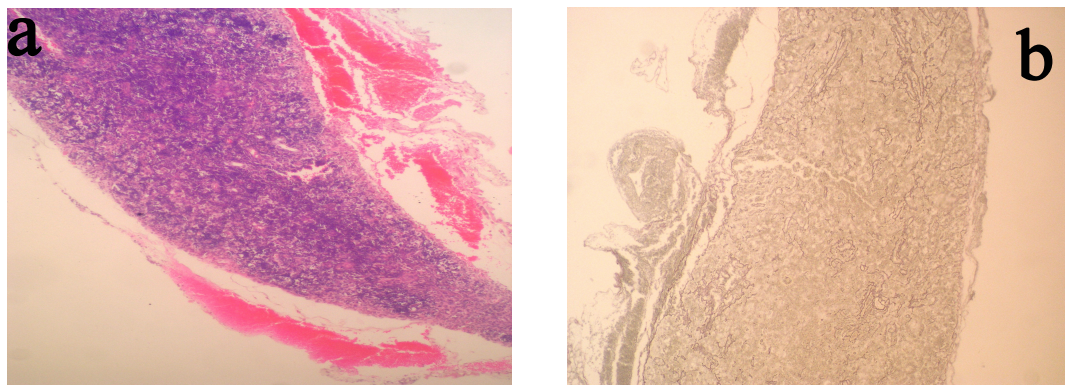


Figura 2. Timo de animais diabético-induzidos. 6h após confirmação do diabetes. **(a)** Corte corado com Hematoxilina-Eosina. A delimitação cortico-medular aparece bastante desorganizada. **(b)** Corte corado com Prata. Distribuição de reticulina por todo o órgão, evidenciando desorganização cortico-medular.

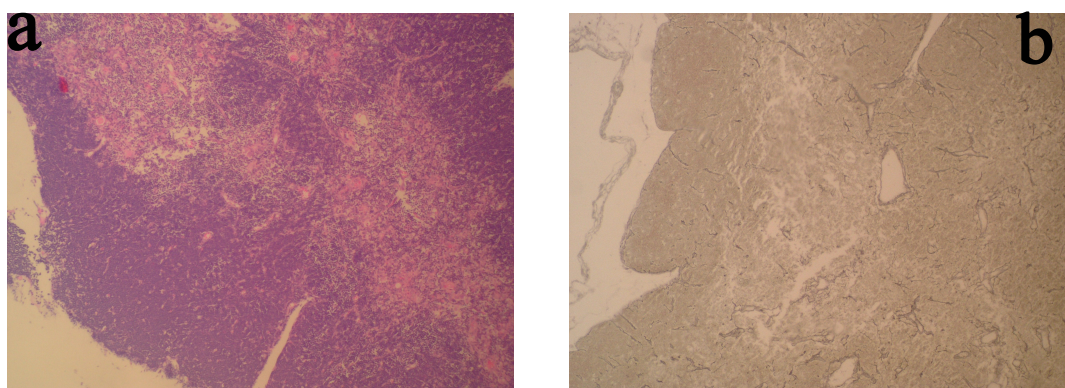


Figura 3. Timo de animais diabético-induzidos. 48h após confirmação do diabetes. **(a)** Corte corado com Hematoxilina-Eosina. A delimitação cortico-medular é menos intensa que no período anterior. **(b)** Corte corado com Prata. Fibras reticulares distribuídas por todo o órgão.

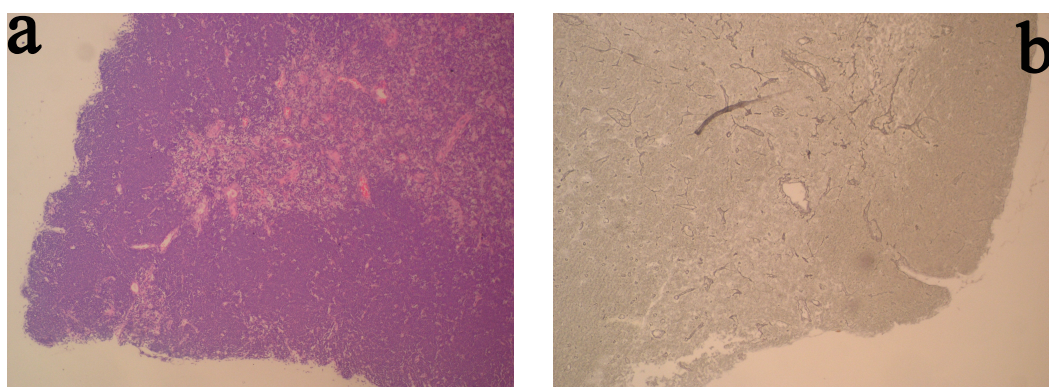


Figura 4. Timo de animais diabético-induzidos. 7 dias após confirmação do diabetes. **(a)** Corte corado com Hematoxilina-Eosina. Delimitação cortico-medular bem evidente. **(b)** Corte corado com Prata. Distribuição de reticulina em torno dos vasos, principalmente na região de medula.

Bibliografia:

ABBAS, AK, LICHTMAN, AH, POBER, JS. **Imunologia celular e molecular**. 4ed. Rio de Janeiro. Revinter, 544, 2003.

BALASUBRAMANIAN R, HOFERT JF, HEIDRICK ML. Suppressed proliferation of lymphatic tissue in diabetic and adrenalectomized-diabetic rats. **Immunopharmacology**, v.10, n. 2, 1985. p. 83-88.

BARRETO, E.O. et al. Thymus involution in alloxan diabetes: analysis of mast cells. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.100, n. 1, Mar. 2005. p.127-130.

BRITO, V.N. et al. Thymic invasion and atrophy induced by *Paracoccidioides brasiliensis* in BALB/c mice. **Med.Mycol.** v.41, n.2, Apr. 2003. p. 83-87.

DURANT S et al. Role of adrenal hormones and prostaglandins in the control of mouse thymocytes lysis. **Int J Immunopharmacol.**, v.6, n. 3, 1984. p. 223-232.

EUNSIL YU, M.D., INCHUL LEE, M.D. Reticular network of the thymus. **Journal of Korean Medical Science**, v. 8, n.6, Dec. 1993. p.431-436.

FAKOYA, F.A. Reticulin fibres in the tunica albuginea and peritubular tissue of seminiferous tubules of adult male wistar rats. **Acta Histochem**, v.104, n. 3, Apr. 2002. p.279-283.

ROMANO, C. et al. Prevalence of dermatophytic skin and nail infections in diabetic patients. **Mycoses**, v.44, n.3-4, May. 2001. p.83-86.

SAVINO, W. The thymus is a common target organ in infectious diseases. **PloS Pathog.**, v. 2, n. 6, Jun. 2006.

SAVINO, W. Thymocyte migration: an affair of multiple cellular interactions? **Braz J Med Biol Res.**, v. 36, n. 8, Jul. 2003. p.1015-25.

USHIKI, T. Collagen Fibers, Reticular Fibers and Elastic Fibers. A comprehensive Understanding from a Morphological Viewpoint. **Arch. Histol. Cytol.**, v. 65, n. 2, May. 2002. p. 109-126.