

Aire: o gene regulador da autoimunidade

Erna Hêrida Domingues de Oliveira¹, Geraldo Aleixo Passos^{1,2,3}, Tiago Campos Pereira^{2,4}

¹ Departamento de Genética, FMRP - USP, Ribeirão Preto, SP

² Programa de Pós-Graduação em Genética, FMRP - USP, Ribeirão Preto, SP

³ Departamento de Biologia Básica e Oral, FORP - USP, Ribeirão Preto, SP

⁴ Departamento de Biologia, FFCLRP - USP, Ribeirão Preto, SP

Autor para correspondência - tiagocampospereira@ffclrp.usp.br

Palavras-chave: antígeno, síndrome de Sjogren, tiroidite de Hashimoto, linfócito, mTEC, expressão gênica promíscua

O gene *Aire* (*Autoimmune Regulator*) foi descoberto na década de 1990, por meio de estudos de associação genótipo-fenótipo da doença autoimune humana APECED (poli endocrinopatia auto-imune tipo 1). A doença é desencadeada por mutações no gene *Aire*, que levam à atividade anormal do timo. A descoberta desse gene abriu novas perspectivas para compreender melhor a base molecular da “tolerância imunológica”, isto é, a capacidade dos linfócitos de distinguirem entre as proteínas do nosso próprio organismo, que devem ser preservadas daquelas derivadas de microrganismos e cânceres, que devem ser destruídas. Mutações no gene *Autoimmune Regulator* prejudicam o estabelecimento da tolerância imunológica permitindo que células do sistema imune combatam proteínas do próprio corpo, desencadeando doenças autoimunes.

Aire – sigla do gene
Autoimmune Regulator.

TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA E AUTOIMUNIDADE

O sistema imunológico apresenta duas características fundamentais: (a) aptidão para identificar e reagir contra moléculas que não são próprias de nossos corpos (i.e., **antígenos** ‘não próprios’), como aquelas derivadas de microrganismos patogênicos e de células tumorais, e (b) ausência de resposta contra antígenos presentes nos diversos órgãos, tecidos e células do nosso próprio corpo, denominados auto-antígenos. Esse conceito é conhecido como *tolerância imunológica*.

O equilíbrio da tolerância imunológica é importantíssimo, pois falhas em seus mecanismos podem acarretar o desenvolvimento das chamadas *doenças autoimunes*, isto é, o sistema imunológico passa a atacar o próprio organismo (Figura 1). O ataque ocorre devido à reação de linfócitos T e/ou B específicos contra antígenos do próprio organismo (auto-antígenos). Um exemplo dessa ocorrência acontece quando **linfócitos T autorreativos** reconhecem a insulina, que é expressa pelas células beta pancreáticas, como auto-antígeno e então destroem essas células. A destruição desencadeia o desenvolvimento da doença autoimune diabetes *mellitus* do tipo 1.

Dessa forma, o equilíbrio ou **homeostase** do sistema imunológico é vital para a manutenção da saúde, permitindo identificar e combater **patógenos** e células tumorais, as quais expressam antígenos ‘não próprios’ e, simultaneamente, não atacar as células do próprio corpo, que expressam os antígenos ‘próprios’.

Atualmente são descritas mais de 100 doenças autoimunes classificadas em *sistêmicas*, que afetam vários órgãos do corpo, ou *órgão-específicas*, que afetam determinados órgãos. São exemplos de doenças autoimunes sistêmicas o lúpus eritematoso sistêmico, a artrite reumatoide e a **síndrome de Sjögren** e de doenças autoimunes órgão específicas a diabetes *mellitus* do tipo I (pâncreas); a **tiroidite de Hashimoto** (glândula tireoide) e a doença celíaca (revestimento do intestino delgado). Essas doenças, relacionadas ao reconhecimento de auto-antígenos por anticorpos, acometem milhões de pessoas em todo o mundo causando sofrimento crônico, disfunção de órgãos vitais e morte prematura.

Até o momento, não existe cura para as doenças autoimunes, apenas tratamentos que devem ser mantidos por toda a vida do paciente. Decorrente dessa situação, é necessário buscar sempre maior conhecimento acerca do perfil epidemiológico e dos mecanismos biológicos envolvidos no desencadeamento, progressão e prevenção dessas doenças, a fim de que o conhecimento possa ser traduzido em diagnósticos e terapias mais eficientes.

Nesse contexto, pesquisas científicas no mundo todo, inclusive no Brasil, têm sido focadas no estudo de um gene considerado como um ‘fator-chave’ de controle da autoimunidade: *Aire*. O gene *Aire* codifica uma proteína do tipo ‘modulador da transcrição’, que atua no estabelecimento e manutenção da tolerância imunológica.

Antígeno - qualquer molécula, geralmente proteica, capaz de ser reconhecida pelo sistema imunológico e desencadear uma resposta dos linfócitos B na produção de anticorpos ou linfócitos T na atividade citotóxica.

Síndrome de Sjögren

- doença autoimune que afeta glândulas do corpo que secretam líquidos, caracterizada por boca e olhos secos.

Tiroidite de Hashimoto

- doença autoimune na qual a glândula tiroide é gradualmente destruída, causando hipotireoidismo.

Linfócito T autorreativo

- linfócito T capaz de reconhecer e destruir as células do próprio organismo.

Homeostase

- equilíbrio ou estabilidade biológica. É o estado que mantém as condições internas do organismo, físicas e químicas, ótimas para o funcionamento do mesmo. Tais condições incluem variáveis como a temperatura corporal, pH do fluido extracelular e o equilíbrio de líquidos, concentrações de íons sódio, potássio e cálcio, níveis de açúcar etc, variáveis que precisam ser reguladas apesar de mudanças no ambiente.

Patógeno - qualquer agente biológico causador de doença: príons, vírus, bactérias, leveduras, protozoários etc.

Quadro de doença autoimune

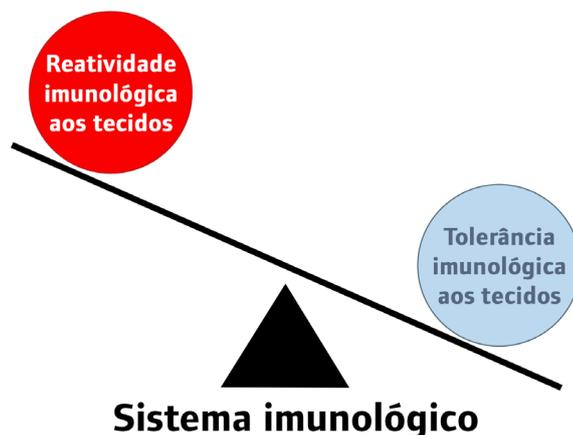


Figura 1.

Importância da homeostase do sistema imunológico. Quando há um desequilíbrio no sistema de defesa, resultando em falhas dos mecanismos que induzem e mantêm a tolerância imunológica, levando a queda da mesma (à direita na balança), e os linfócitos T e B podem atacar antígenos do próprio corpo (i.e., elevação da autorreatividade, à esquerda na balança), caracterizando, assim, uma autoimunidade agressiva. Imagem: Pereira, T.C.

Clonagem posicional –

isolamento de uma sequência de DNA (gene, por exemplo) com base na posição no mapa do genoma.

Herança autossômica

recessiva - padrão de transmissão genética associada a um gene localizado em cromossomo não sexual e cuja característica se expressa somente nos homocigotos.

Candidíase mucocutânea

- síndrome caracterizada por infecção persistente ou recorrente das unhas, pele, ou mucosas oral e genital causadas por fungos do gênero *Candida*.

Alopecia - perda de cabelo.

Vitiligo - doença autoimune desencadeada pelo ataque de linfócitos T aos melanócitos, causando perda irregular de pigmentação da pele e que tende a progredir ao longo do tempo.

Auto-anticorpo - um

anticorpo produzido pelo corpo e que reage contra moléculas do próprio organismo.

Figura 2.**Representação da estrutura de Aire na espécie humana.**

O gene *Aire* possui 14 éxons (retângulos em azul), 13 íntrons (linhas horizontais contínuas entre os retângulos, em azul). O transcrito (mRNA) é composto pelos 14 éxons (em verde), cuja região traduzida (demarcada pelo segmento de reta preto) gera uma proteína de 545 resíduos de aminoácidos (em vermelho) Imagem (fora de escala): composição de Pereira T.C., usando elemento da *Noun Project* (ser humano, GanKhoonLay), (baseado em Passos et al., 2018).

A DESCOBERTA DO GENE AIRE

A maioria das doenças autoimunes são multifatoriais, isto é, são desencadeadas pela combinação de diferentes fatores genéticos e ambientais. Há poucas doenças autoimunes monogênicas, como por exemplo, a *poliendocrinopatia autoimune tipo 1* (APECED ou APS1), que é monogênica com **herança autossômica recessiva**. O fator genético na APECED, é mais importante que o ambiental e sua base genética foi determinada por associação genótipo-fenótipo, com mutações ao longo da sequência do gene *Aire* atingindo pessoas que desenvolveram essa doença autoimune agressiva.

A APECED foi descrita pela primeira vez em 1929 e é caracterizada por um conjunto de manifestações autoimunes severas contra vários órgãos, com prevalência aumentada em populações da Finlândia, Sardenha e judeus iranianos.

Frequentemente, os pacientes com APECED apresentam dois dos três principais sintomas: hipoparatiroidismo, insuficiência adrenal (doença de Addison) e **candidíase mucocutânea** crônica. Além desses sintomas, a APECED está associada também a uma série de manifestações clínicas, incluindo distúrbios autoimunes endócrinos (como hipotireoidismo, insuficiência ovariana prematura, anemia perniciosa, diabetes do tipo 1, hepatite e gastrite autoimunes) e também doenças autoimunes de pele, como **alopecia** e **vitiligo**. Tais manifestações estão associadas à presença de **auto-anticorpos** no soro sanguíneo e em determinados tecidos de pacientes, que atacam 'antígenos próprios' de várias glândulas endócrinas.

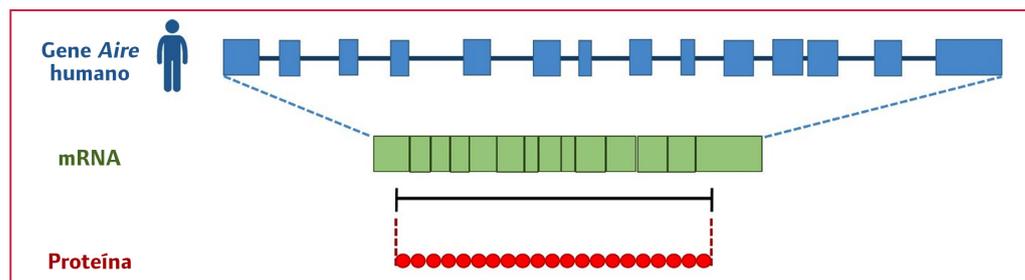
A descoberta da etiologia da doença ocorreu por meio de análises genéticas na década de 1990, que revelaram uma associação entre

APECED e mutações no cromossomo 21 humano. Por meio da técnica de **clonagem posicional** e sequenciamento do DNA, foi identificado o gene causador da síndrome, denominado de *Autoimmune regulator* ou, simplesmente, *Aire*. A análise detalhada da proteína AIRE revelou a existência de regiões com capacidade de interação com o DNA, as quais sugeriam que o AIRE poderia exercer um papel na transcrição gênica.

Mais de 100 mutações patogênicas foram identificadas ao longo da sequência nucleotídica do gene *Aire* humano, variando desde substituições de um único nucleotídeo a grandes deleções. A mutação mais frequente em portadores de APECED é a 'R257X', que resulta da substituição do aminoácido arginina (R), na posição 257 da proteína AIRE, por um códon de parada (X) prematuro. Essa proteína truncada (*i.e.*, menor que a forma selvagem) não é funcional. A conexão das mutações em *Aire* e o surgimento de doenças autoimunes será apresentada mais adiante.

ESTRUTURA DO GENE AIRE

Em humanos, o gene *Aire* está localizado no cromossomo 21, mais especificamente na região 21q22.3, abrange 12.390 pares de bases (pb) e apresenta 14 éxons. Seu transcrito possui 2690 nucleotídeos, contendo uma região codificadora de 1638 nucleotídeos, cuja tradução resulta em uma proteína com 545 resíduos de aminoácidos (Figura 2). Este gene, que também é conhecido por outras siglas (*APECED*, *APS1*, *APSI* e *PGA1*) é expresso majoritariamente no timo, onde sua função é relativamente bem conhecida. A expressão de *Aire* também pode ser observada em menor nível em alguns outros órgãos, tais como cérebro, apêndice, medula óssea, testículo e pele (dentre outros); é bom ressaltar que outras funções específicas de *Aire* nesses tecidos ainda está sob investigação.



MECANISMO DE AÇÃO DE AIRE

Conforme mencionado anteriormente, *Aire* está envolvido com a tolerância imunológica, isto é, a capacidade do sistema imunológico em distinguir entre as moléculas (**epítomos**) que são do próprio organismo e não atacá-las, daquelas que são estranhas, isto é, de vírus, bactérias etc, e combatê-las. Para compreendermos tal fato, tornar-se necessário entendermos como o sistema imunológico distingue entre essas duas classes.

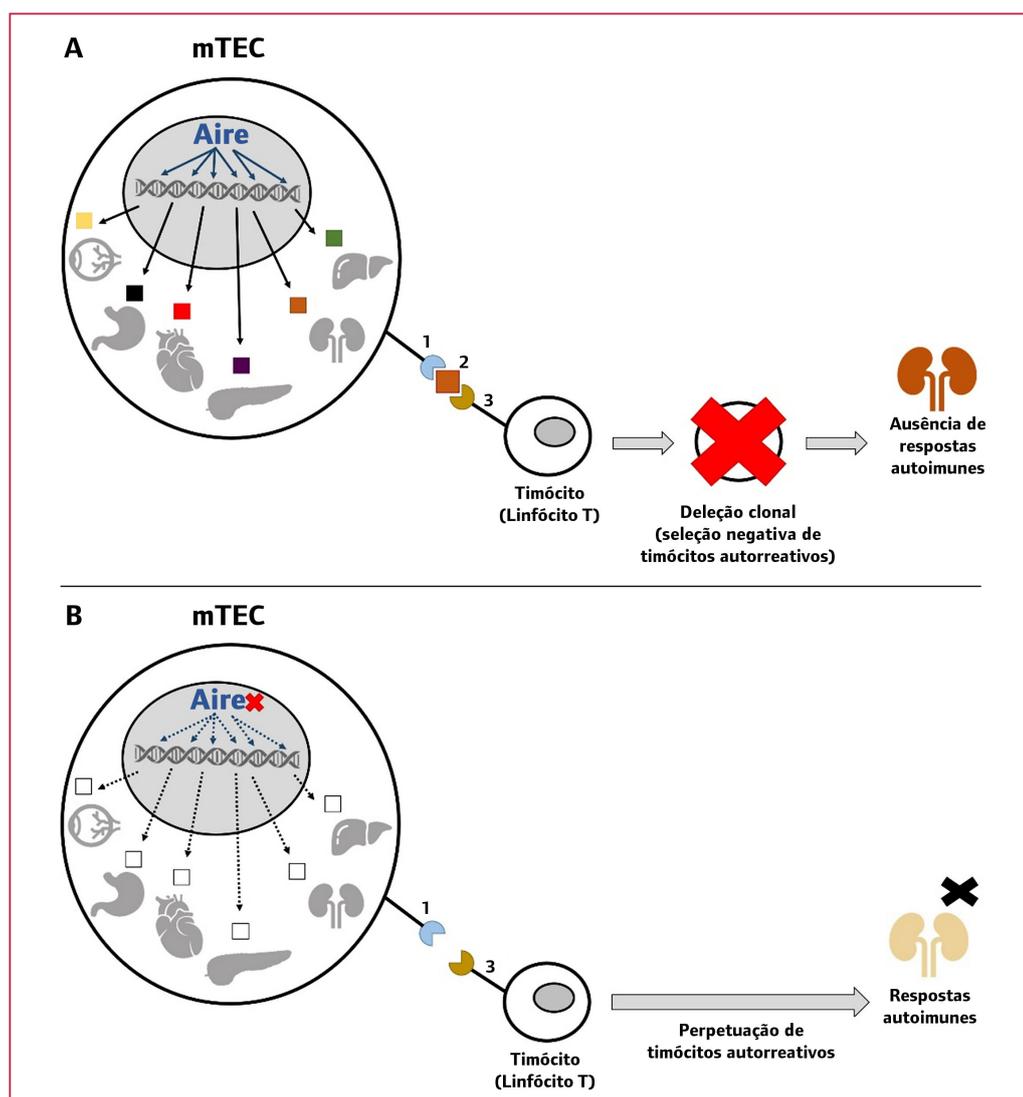
Os linfócitos T são células de defesa geradas na medula óssea. Naturalmente, alguns deles possuem capacidade de reconhecer epítomos do próprio organismo, isto é, são autorreativos, ao passo que outros são capazes de identificar epítomos estranhos. Nesse sentido, é necessário que os linfócitos autorreativos sejam seletivamente destruídos. A segunda etapa do desen-

volvimento dos linfócitos T ocorre no timo, onde o gene *Aire* é majoritariamente expresso.

O que ocorre no timo é algo muito interessante – as células tímicas epiteliais medulares (mTECs) têm o papel de apresentar aos linfócitos T em desenvolvimento, todo o repertório de epítomos que são do próprio corpo. Assim, quando os diferentes linfócitos T adentram no timo, eles são expostos aos epítomos de todas as partes do organismo. Todos os linfócitos T, que forem reativos a esses epítomos ‘próprios’, sofrem apoptose (morte celular) (Figura 3A). A apoptose é necessária, caso contrário, tais linfócitos voltariam a circular no corpo e poderiam desencadear doenças autoimunes (Figura 3B). Nesse sentido, apenas os linfócitos T, os que não reconhecem os epítomos próprios, apresentados no timo, voltam vivos para a circulação, sendo capazes de reconhecer os diversos outros epítomos (virais, bacterianos, fúngicos etc).

Epítomo - região pequena e acessível de um antígeno à qual um anticorpo se liga.

Figura 3. Ação de *Aire* na regulação da transcrição e indução da tolerância. No núcleo das células tímicas epiteliais medulares (mTEC), *Aire* controla a transcrição (biossíntese de RNAs) de milhares de genes que codificam proteínas (auto-antígenos) que representam os vários tecidos e órgãos do corpo. Esses antígenos (tal como indicado como 2, em marrom) são apresentados pela célula mTEC (por meio de uma estrutura indicada como 1, em azul), aos linfócitos T (ou timócitos; por meio do receptor indicado como 3, na cor ocre) que estão passando pelo processo de maturação no timo. Quando os timócitos reconhecem com alta afinidade os antígenos próprios, eles morrem por apoptose. Esse processo é denominado ‘seleção negativa’ e é essencial para a prevenção de ataques autoimunes. Inversamente, os timócitos que se ligam com baixa afinidade aos antígenos próprios são liberados. (A) Situação em que o gene *Aire* é ativo, e a célula mTEC apresenta um antígeno dos rins (quadrado marrom, indicado como 2). (B) Situação em que o gene *Aire* está mutado (inativo), e a célula mTEC não apresenta o antígeno dos rins, resultando na manutenção do timócito autorreativo correspondente e, conseqüente autoimunidade contra aqueles órgãos. Imagem: composição de Pereira T.C., usando elementos da *Noun Project* (DNA, parkjisin; olho, Arthur Shlain; estômago, domínio público; coração, Weikang Wang; pâncreas, Philip Hogeboom; rins, Ayub Irawan; fígado, Arfan Khan Kamol) (Baseado em Mathis & Benoist, 2007).



Modulador de transcrição

- proteína que se liga ao DNA de maneira sequência-específica, diretamente envolvida no controle da taxa de síntese de RNAs a partir do DNA (transcrição). Os fatores de transcrição ligam ou desligam genes de modo específico, dependendo do tipo celular, da fase do ciclo de vida e da quantidade necessária de seus produtos.

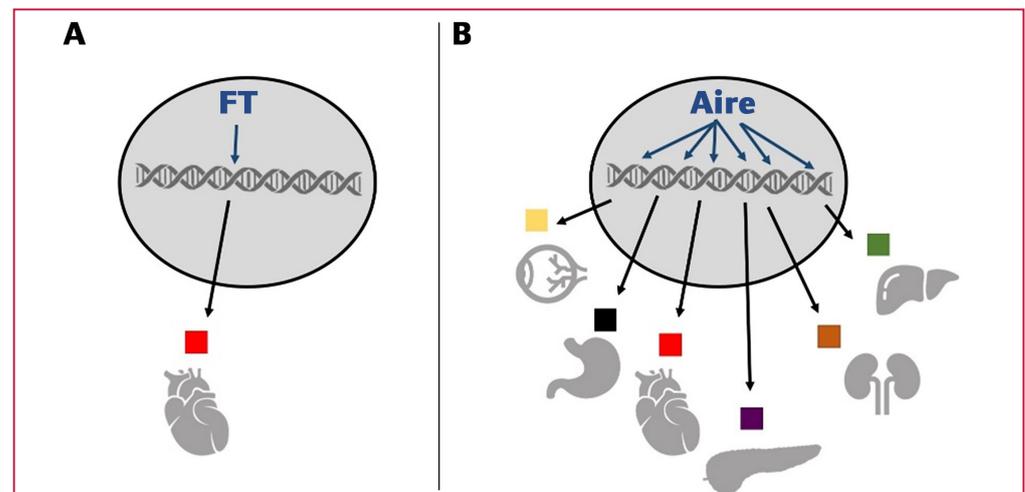
Figura 4. Comparação entre um fator de transcrição convencional e *Aire*. Os fatores de transcrição (FT) geralmente contribuem para que determinado gene seja expresso apenas no(s) tecido(s) onde ele desempenha seu papel biológico. Por exemplo, em 'A' vemos um fator de transcrição cardíaco, isto é, que leva à expressão de uma proteína importante para o coração. Diferentemente, *Aire* codifica um modulador de transcrição que permite que milhares de proteínas (que seriam expressas apenas em seus respectivos tecidos) sejam expressas também nas células tímicas epiteliais (mTECs), possibilitando assim que os tímócitos tenham contato com todas as proteínas (epítomos) do corpo.

Qual é a relação de *Aire* com tudo isso? Note que, geralmente, cada gene é expresso em apenas um ou poucos órgãos, onde eles exercem funções biológicas. Por exemplo, o gene da insulina é transcrito apenas no pâncreas. A expressão restrita a determinado órgão é denominada "tecido-específica", sendo controlada por fatores de transcrição "tecido-específicos" (Figura 4A). Portanto, genes codificadores de proteínas exclusivas de neurônios são transcritos apenas em tais células, por meio de fatores de transcrição específicos de neurônios, por exemplo.

O gene *Aire*, entretanto, codifica uma proteína que é um **modulador de transcrição** ou um 'fator de transcrição não clássico'; isto é, ele possibilita a transcrição de genes que são (ou seriam) 'específicos' de outros órgãos e tecidos – fenômeno esse denominado de *expressão gênica promíscua* (Figura 4B). Assim, a proteína AIRE nas células tímicas medulares (mTECs) permite que essas células expressem pro-

teínas típicas do pâncreas (insulina), placenta (sincitina), cérebro (synaptoporin), e de diversas outras partes do corpo. Portanto, *Aire* executa o papel de permitir que o repertório de epítomos do corpo seja apresentado aos linfócitos T no timo, fazendo com que aqueles que são autorreativos morram, permitindo a circulação apenas dos linfócitos T não autorreativos. É essa atividade de *Aire* que o torna central no processo de tolerância imunológica.

Se o gene *Aire* estiver mutado, as mTECs não serão capazes de expressar diversas proteínas que são próprias do corpo, por exemplo, um determinado 'polipeptídeo Y' do rim. Consequentemente, um eventual linfócito T, capaz de reconhecer um epítipo desse 'polipeptídeo Y', não será eliminado por apoptose no timo e voltará a circular no corpo, eventualmente levando a um quadro de doença autoimune (Figura 3B). Devido a tal ocorrência, mutações tais como a R257X no gene *Aire* resultam em quadros de autoimunidade.

**CONCLUSÕES**

A identificação do gene *Aire*, em 1997, representou um passo importante na imunogenética e elucidou o papel definitivo da glândula do timo no mecanismo da auto-tolerância. Processos biológicos dependentes do timo são cruciais tanto na homeostase do sistema imunológico como na **fisiopatologia** de muitas doenças autoimunes. Mutações no gene *Aire* são responsáveis pela síndrome APECED, caracterizada por manifestações autoimunes severas. Desde a sua descoberta, o gene *Aire* mantém-se como um fator chave no controle da tolerância imunológica,

atuando essencialmente na prevenção da autoimunidade agressiva. Recentemente, pesquisadores descobriram um segundo gene controlador da autoimunidade, denominado *Fezf2*, abrindo novas perspectivas de pesquisas nessa fascinante área de intersecção entre a genética e a imunologia.

PARA SABER MAIS

BRUSERUD, Ø.; OFTEDAL, B. E.; WOLFE, A. B.; HUSEBYE, E. S. AIRE-mutations and autoimmune disease. *Curr Opin Immunol.* v.43, p.8-15, 2016.

NAGAMINE, K.; PETERSON P.; SCOTT, H. S. et al. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet.* v.17, p.393-398, 1997.

Fisiopatologia - processos fisiológicos alterados, associados a doenças ou injúrias no corpo.