

REFLEXÕES SOBRE A ETIOPATOGENIA

FERNANDO MAGRO

Serviço de Gastroenterologia, Hospital de São João, Porto, Portugal.

A doença inflamatória do intestino (DII) é uma doença crónica recidivante que afecta todas as partes do tubo digestivo. A DII é multifactorial, em que factores de ordem genética, imunológica e ambiências têm um relevo preponderante no início e na perpetuação da lesão tecidual imunomediada (Figura 1). Embora ainda hoje se desconheça com clareza a sequência de eventos que desencadeiam a DII a célula epitelial, as bactérias e a resposta imunológica inata parecem estar intrinsecamente envolvidas.

A mutação NOD2 (também designada CARD15) foi a primeira que se correlacionou com um risco aumentado para a doença de Crohn (1,2), particularmente o tipo fibrostenosante (3). As três principais mutações surgem no segmento rico em leucina o que está relacionado com o sinal intracelular de resposta a componentes bacterianos (4). Cada uma destas mutações confere um risco alélico. O CARD 15 faz parte da resposta imunológica inata e é um sensor ao muramilo dipeptídeo (MDP) presente na parede bacteriana (gram positivas e negativas). O intrigante desta molécula é que está presente nos monócitos e macrófagos e nas células de Paneth (5) e pode ser expressa em células epiteliais intestinais como resposta inflamatória (6). Muitas das mutações CARD 15 activam deficientemente o NFκB (4). Este paradoxo parece ser explicado pelo facto de as células de Paneth mutadas serem menos eficazes no combate bacteriano (7) e foi demonstrado que ratos deficientes em CARD15 foram mais susceptíveis a infecções por *Listeria* (8). Recentemente Begue et al (9) evidenciou que a mutação CARD15 compromete a resposta a agentes bacterianos, sendo a doença de Crohn primariamente uma alteração dos enterócitos com disfunção profunda da resposta epitelial a bactérias (9).

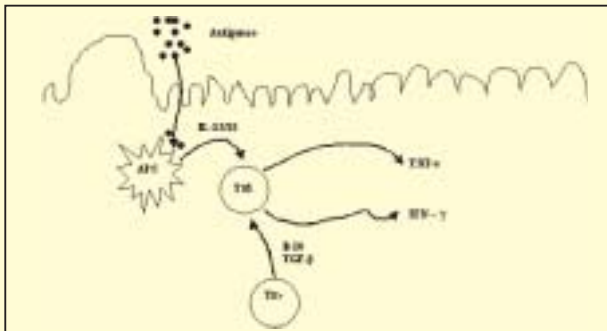


Figura 1 - Esquema representativo da resposta imunológica via T_H1 na doença de Crohn. A inflamação resulta do desequilíbrio entre resposta efetora (TNF- α e IFN- γ) e reguladora (IL-10 e TGF- β).

O mecanismo patogénico da inflamação intestinal tem três componentes: 1) alteração da barreira epitelial, 2) acesso de antígenos luminais à lamina própria e 3) resposta imunológica alterada. As células epiteliais formam uma barreira à microflora do lúmen intestinal e a diversos antígenos, regulando a resposta imunológica da mucosa. As células epiteliais podem ser perspectivadas como causa (10, 11) ou factor contributivo de colite (12). As células epiteliais têm a capacidade de produzir interleucinas, reagindo contra antígenos. Estas interleucinas libertadas têm o papel de recrutar linfócitos ao espaço peri-epitelial desempenhando, assim, a primeira linha de defesa. O modelo animal deficiente em *Mdr1a* (11) é muito interessante, neste contexto, uma vez que este gene pertence à família dos genes "resistentes a múltiplas drogas" responsáveis pelo transporte para fora das células de proteínas hidrofóbicas. Neste modelo existe um aumento de produção de interleucinas pelas células epiteliais por um aumento da estimulação antigénica. Na mesma perspectiva, ratos deficientes em N-caderina (10), molécula importante na adesão entre as células, desenvolvem um quadro de colite. A explicação para este quadro reside provavelmente numa excessiva exposição a antígenos levando à produção duma resposta imune aumentada e não regulada da mucosa.

Em doentes com doença de Crohn a permeabilidade intestinal precede a recidiva clínica por mais de um ano (13) e familiares de primeiro grau de doentes com doença de Crohn têm um aumento da permeabilidade intestinal. O TNF- α e o IFN- γ são as citocinas responsáveis por estas alterações epiteliais (14). O IFN- γ afecta as proteínas de junção entre as células, incluindo a ZO-1, moléculas de adesão juncional 1, ocludina, claudina-1 e claudina 4 (15). O papel central do IFN- γ na colite pode ser documentado em dois modelos animais com produção aumentada de IFN- γ : 1) t-bet (16) e 2) STAT 4 (17). A proteína t-bet é uma molécula fundamental na regulação da produção de IFN- γ e quando aumentada induz a produção excessiva desta citocina com níveis diminuídos de produção de IL-4 (18). A STAT 4 é necessária para a diferenciação T_H1 actuando como factor de transcrição do IFN- γ e manutenção da resposta T_H1 (19, 20).

O processo inflamatório da mucosa é mediado por uma de duas vias: resposta imunológica por células T_H1 ou células T_H2 (21). À resposta T_H1 estão associadas as

Etiopatogenia

interleucinas IL-12, IFN- γ e TNF- α e à T_H2 as interleucinas IL-4, IL-5 e/ou IL-13 (16). Estes dois tipos de comportamento imunológico são encontrados na colite induzida pelo ácido sulfônico trinitrobenzeno (TNBS) (tipo T_H1) e na colite induzida pela oxazolona (T_H2). A oxazolona induz as células "natural killer" produtoras de IL-13 (22, 23). O primeiro modelo (TNBS) mimetiza a colite transmural e o segundo a colite ulcerosa.

O relevo da inflamação na DII tem vindo a ser documentado em vários estudos animais e em doentes com doença de Crohn (Figura 1). Nos primeiros, foram descritas alterações na: 1) indução de células reguladoras (CD4⁺45RB^{hi}) (24), 2) células reguladoras (ratinhos deficientes em IL-10 e TGF- β) (25,26) e 3) aumento da resposta efectora (ratinhos transgênicos em STAT 4, ratinhos deficientes na proteína G, subunidade α_i) (17, 27, 28). E nos segundos, observou-se aumento da produção de IL-12 (29,30) e aumento de STAT 4 activada, indicando activação da transdução de sinal via IL-12 (31, 32). Foi ainda documentado, um aumento de produção de IFN- γ e diminuição da produção de IL-4, nas células T de doentes com doença de Crohn (33, 34).

Na DII existem, assim, um conjunto de factores: 1) exposição a antigéneos bacterianos que desencadeiam uma resposta imunológica alterada, 2) células epiteliais com resposta deficiente a antigéneos luminiais e 3) células epiteliais com aumento da permeabilidade conduzindo a uma resposta efectora perpetuada com lesão tecidual.

BIBLIOGRAFIA

- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411: 599-603.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411: 603-6.
- Abreu MT, Taylor KD, Lin YC, Hang T, Gaiennie J, Landers CJ, et al. Mutations in NOD2 are associated with fibrostenosing disease in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;123: 679-88.
- Chamaillard M, Philpott D, Girardin SE, Zouali H, Lesage S, Chareyre F, et al. Gene-environment interaction modulated by allelic heterogeneity in inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100: 3455-60.
- Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, et al. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 2003;125: 47-57.
- Gutierrez O, Pipaon C, Inohara N, Fontalba A, Ogura Y, Prosper F, Nunez G, Fernandez-Luna JL. Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J Biol Chem* 2002;277: 41701-5.
- Wehkamp J, Schmid M, Fellermann K, Stange EF. Defensin deficiency, intestinal microbes, and the clinical phenotypes of Crohn's disease. *J Leukoc Biol* 2005;77: 460-5.
- Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G, Flavell RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005;307: 731-4.
- Begue B, Dumant C, Bambou JC, Beaulieu JF, Chamaillard M, Hugot JP, et al. Microbial induction of CARD15 expression in intestinal epithelial cells via toll-like receptor 5 triggers an antibacterial response loop. *J Cell Physiol* 2006;209: 241-52.
- Hermiston ML, Gordon JI. Inflammatory bowel disease and adenomas in mice expressing a dominant negative N-cadherin. *Science* 1995;270: 1203-7.
- Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998;161: 5733-44.
- Madsen KL, Malfair D, Gray D, Doyle JS, Jewell LD, Fedorak RN. Interleukin-10 gene-deficient mice develop a primary intestinal permeability defect in response to enteric microflora. *Inflamm Bowel Dis* 1999;5: 262-70.
- D'Inca R, Di Leo V, Corrao G, Martines D, D'Odorico A, Mestriner C, et al. Intestinal permeability test as a predictor of clinical course in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1999;94: 2956-60.
- Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol* 2005;166: 409-19.
- Clayburgh DR, Shen L, Turner JR. A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. *Lab Invest* 2004;84: 282-91.
- Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol* 2002;20: 495-549.
- Wirtz S, Finotto S, Kanzler S, Lohse AW, Blessing M, Lehr HA, Galle PR, Neurath MF. Cutting edge: chronic intestinal inflammation in STAT-4 transgenic mice: characterization of disease and adoptive transfer by TNF- plus IFN-gamma-producing CD4+ T cells that respond to bacterial antigens. *J Immunol* 1999;162: 1884-8.
- Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000;100: 655-69.
- Jacobson NG, Szabo SJ, Weber-Nordt RM, Zhong Z, Schreiber RD, Darnell JE, Jr., Murphy KM. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat)3 and Stat4. *J Exp Med* 1995;181: 1755-62.
- Kaplan MH, Sun YL, Hoey T, Grusby MJ. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature* 1996;382: 174-7.
- Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003;3: 521-33.
- Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, Strober W. Oxazolone colitis: A murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J Exp Med* 1998;188: 1929-39.
- Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS, Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002;17: 629-38.
- Powrie F, Leach MW, Mauze S, Caddle LB, Coffman RL. Phenotypically distinct subsets of CD4+ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol* 1993;5: 1461-71.
- Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993;75: 263-74.
- Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992;359: 693-9.
- Rudolph U, Finegold MJ, Rich SS, Harriman GR, Srinivasan Y, Brabet P, et al. Ulcerative colitis and adenocarcinoma of the colon in G alpha i2-deficient mice. *Nat Genet* 1995;10: 143-50.

Etiopatogenia

28. Rudolph U, Finegold MJ, Rich SS, Harriman GR, Srinivasan Y, Brabet P, et al. Gi2 alpha protein deficiency: a model of inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 1995;15: 101S-105S.
29. Liu Z, Colpaert S, D'Haens GR, Kasran A, de Boer M, Rutgeerts P, et al. Hyperexpression of CD40 ligand (CD154) in inflammatory bowel disease and its contribution to pathogenic cytokine production. *J Immunol* 1999;163: 4049-57.
30. Monteleone G, Biancone L, Marasco R, Morrone G, Marasco O, Luzzza F, et al. Interleukin 12 is expressed and actively released by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells. *Gastroenterology* 1997;112: 1169-78.
31. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E, Strober W. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995;182: 1281-90.
32. Parrello T, Monteleone G, Cucchiara S, Monteleone I, Sebkova L, Doldo P, et al. Up-regulation of the IL-12 receptor beta 2 chain in Crohn's disease. *J Immunol* 2000;165: 7234-9.
33. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, de la Motte C, Strong SA, et al. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996;157: 1261-70.
34. Paronchi P, Romagnani P, Annunziato F, Sampognaro S, Becchio A, Giannarini L, et al. Type 1 T-helper cell predominance and interleukin-12 expression in the gut of patients with Crohn's di-

∴