



Universidade da Beira Interior
Covilhã | Portugal

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Faculdade de Ciências da Saúde



DOENÇA DE CROHN:
Etiologia, Patogénese e suas Implicações
na Terapêutica

- Dissertação de Mestrado -

Iolanda Cristina Teixeira Ribeiro

Dissertação realizada para obtenção de Grau de Mestre em Medicina

Covilhã, Maio de 2009



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Faculdade de Ciências da Saúde



DOENÇA DE CROHN:
Etiologia, Patogénese e suas Implicações
na Terapêutica

- Dissertação de Mestrado -

Iolanda Cristina Teixeira Ribeiro

Orientador: Doutor António José Duarte Banhudo

Dissertação realizada para obtenção de Grau de Mestre em Medicina

Covilhã, Maio de 2009

AGRADECIMENTOS

Após vários meses de trabalho, gostaria de agradecer a todos aqueles que de forma directa e indirecta me apoiaram.

Ao Dr. António Banhudo, pela orientação e disponibilidade demonstrada ao longo da realização deste trabalho.

Ao meu pai e à minha avó, que sempre estiveram presentes nos momentos mais difíceis e a quem agradeço tudo o que sou hoje. São as duas pessoas mais importantes da minha vida.

Aos meus amigos, particularmente à Mariana, Rute e Bárbara pela ajuda sempre prestada ao longo destes anos.

“ Valeu a pena? Tudo vale a pena se a alma não é pequena”

Fernando Pessoa

RESUMO

A doença de Crohn é uma doença inflamatória crónica transmural e segmentar do tracto gastrointestinal, cuja etiologia e patogénese permanecem desconhecidas. Apesar de várias hipóteses terem sido colocadas, considera-se que esta doença resulta da combinação de uma predisposição genética com factores ambientais, alterações na permeabilidade da parede intestinal, perda da tolerância aos antígenos comensais e diminuição da eliminação bacteriana, com a consequente génese e perpetuação dos mecanismos inflamatórios.

Várias mutações genéticas estão identificadas, embora ainda não seja totalmente compreendida a sua contribuição para o desenvolvimento da doença de Crohn. Diversas explicações foram propostas, embora controversas.

O sistema imunitário é um dos principais intervenientes. As células do sistema imunitário inato, nomeadamente as células dendríticas, respondem de forma inapropriada aos microorganismos comensais com produção de citocinas pró-inflamatórias e consequente activação de células T *helper*1 e aumento da expressão de moléculas de adesão. O desequilíbrio entre as células TCD4⁺efectoras e as células T reguladoras é outro dos mecanismos que contribui para a patogénese da doença de Crohn.

Diversos microorganismos, como o *Mycobacterium avium paratuberculosis*, foram identificados, mas ainda não existem evidências suficientes para estabelecer uma relação causal com esta doença.

Embora variados fármacos sejam utilizados para induzir a remissão da doença de Crohn, há muitos casos que não conseguem ser controlados pelas terapêuticas convencionais, o que indica a necessidade considerável de se apostar em tratamentos

novos e mais eficazes. Por isso, tendo em conta os actuais conhecimentos sobre a patogénese desta doença, são aqui abordados alguns dos novos agentes em investigação e que poderão vir a ser usados no futuro.

Apesar dos grandes avanços científicos nos últimos anos, ainda existe um longo caminho a percorrer no que diz respeito à patogénese da doença de Crohn. Só com um profundo conhecimento da etiologia e patogénese se conseguirá progredir verdadeiramente no sentido da cura.

Os principais objectivos deste trabalho são: discutir as possíveis etiologias da doença de Crohn, realçar a importância dos factores genéticos, ambientais, sistema imunitário, epitélio intestinal e microflora para a patogénese da doença; dar a conhecer os grandes avanços que têm sido alcançados no que diz respeito ao conhecimento dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da doença de Crohn, quais as suas implicações no tratamento futuro e melhoria da qualidade de vida e, por último, destacar novas estratégias de tratamento em estudo.

PALAVRAS-CHAVE

Doença de Crohn; patogénese; etiologia; NOD2/CARD15; TLR; sistema imunitário; factores ambientais; epitélio intestinal; microorganismos, tolerância oral.

ABSTRACT

Crohn's disease is an inflammatory chronic transmural and segmentar disorder of the gastrointestinal tract, whose etiology and pathogenesis remain unknown. Despite several hypotheses have been postulated, it is considered that this disease results from a combination of a genetic predisposition with environmental factors, changes in the permeability of the intestinal wall, loss of tolerance to the commensal antigens, reduction on the bacterial clearance, with the consequent genesis and perpetuation of the inflammatory mechanisms.

Several genetic mutations have been identified, but their role in Cronh's disease is still not fully understood. Although controversial, several examinations have been proposed.

The immune system is one of the major players. The cells of the innate immune system, including dendritic cells, respond in an inappropriate manner to commensal microorganisms, with production of proinflammatory cytokines and consequent activation of T helper 1 cells and increased expression of adhesion molecules. The imbalance between effector T cells and regulatory T cells is another mechanism contributing to the pathogenesis of Crohn's disease.

Several microorganisms such as *Mycobacterium avium paratuberculosis* were identified, but there is no sufficient evidence to establish a causal relationship with this disease.

In spite of the use of various drugs to induce remission of Crohn's disease, there are still many cases that can not be controlled by conventional therapies, which indicates a considerable need to invest in new and more effective treatments. Therefore,

given the current knowledge on the pathogenesis of this disease, here we talk about some new agents that are under investigation and that could be used in the future.

Despite significant scientific advances in recent years, there is still a long way to go and only with a thorough understanding of the etiology and pathogenesis, we can truly progress towards healing.

The main objectives of this work are: to discuss the possible causes of Crohn's disease, to highlight the importance of genetic and environmental factors, immune system, intestinal epithelium and microflora in the pathogenesis of the disease; to make people aware of the major progresses that have been made concerning the mechanisms responsible for the development of Crohn's disease, their implications for future therapies and an improved quality of life and, finally, to highlight new therapeutic strategies that are under investigation.

KEY WORDS

Crohn's disease, pathogenesis, etiology, NOD2/CARD15, TLR, immune system, environmental factors, intestinal epithelium, microorganisms, oral tolerance.

LISTA DE SIGLAS

ADN – Ácido desoxirribonucleico	CU - Colite ulcerosa
APDI - Associação Portuguesa de Doentes com Doença Inflamatória	DC - Doença de Crohn
AINES - Anti-inflamatórios não esteróides	DII - Doença Inflamatória Intestinal
AZA - Azatioprina	DLG5 - <i>Drosophila Long Disc Homologue 5</i>
Bax - <i>Bcl2-associated X protein</i>	E.coli - <i>Escherichia coli</i>
Bcl-2 - <i>B-cell CLL/lymphoma 2</i>	ECAI - <i>Escherichia coli</i> aderente invasiva
CAA - Células apresentadoras de antigénios	EUA - Estados Unidos da América
CD - Células dendríticas	Fab – <i>Fragment antigen binding</i>
CD 4/8/25/28/40/80/86 – <i>cluster of differentiation</i>	FISH - <i>Fluorescent in-situ hybridization</i>
CEACAM-6 - <i>Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6</i>	G-CSF – <i>Granulocyte colony-stimulating factor</i>
CEI - Células epiteliais intestinais	GM-CSF – <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
CMV - Citomegalovírus	IBD - <i>Inflammatory bowel disease</i>
CO - Contraceptivos orais	ICAM-1 - <i>Intercellular cell adhesion molecule 1</i>

ID - Intestino Delgado

IFN α/β - *Interferon alfa/beta* TIR -
Receptor Toll-interleucinal

Ig - Imunoglobulina

I κ B - *Inhibitor of nuclear factor*

IL - Interleucina

LPS - Lipopolissacarídeo

LRR - *Leucine rich repeats*

MAP - *Mycobacterium avium*
paratuberculosis

MDP – *Muramyl dipeptide*

MHC-II - *Major histocompatibility*
complex II

MLCK - *Myosin light chain kinase*

MP - Mercaptopurina

NBD - *Nucleotid binding domain*

NF- κ B - *Nuclear factor kappa B*

NK - *Natural Killers*

OCTN - *Organic Cation Transporter*

PCR - *Polymerase chain reaction*

PTG - Peptidoglicano

SIGIRR - *Single immunoglobulin-IR-*
related molecule

TGF - β - *Transforming growth factor*
beta

TGI - Tracto gastrointestinal

Th - *T helper*

TLR - *Toll-like receptors*

TL1A – *TNF family ligand*

TNF- α - *Tumor necrosis factor alfa*

Tollip - *Toll-inhibitory protein*

Tr - Células T reguladoras

VEB - Vírus Epstein Barr

VIH – Vírus da imunodeficiência humana

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadros

Quadro 1	Hipóteses etiológicas na DC	9
Quadro 2	Pontos chave: O tabaco e as suas implicações na DC	15
Quadro 3	Pontos chave: As mutações nos genes NOD2/CARD15 e as suas implicações na DC	21
Quadro 4	Pontos chave na tolerância oral	29
Quadro 5	Funções da microflora intestinal	43
Quadro 6	Evidências que implicam as bactérias comensais no desenvolvimento da DC	48
Quadro 7	Argumentos a favor da relação do MAP com a DC	50
Quadro 8	Argumentos contra a relação do MAP com a DC	51
Quadro 9	Terapêuticas em investigação na DC	70

Tabelas

Tabela 1	Exemplos de genes associados com a DC e respectivas funções	17
Tabela 2	Citocinas produzidas pelo sistema imunitário inato na DC	31
Tabela 3	Citocinas produzidas pelo sistema imunitário adaptativo na DC	34
Tabela 4	Diferenças entre os microorganismos intestinais de indivíduos normais e com DC	45

Figuras

Figura 1	Interacção entre os vários factores responsáveis pelo desenvolvimento da DC	10
Figura 2	Diferentes respostas à lesão intestinal	11
Figura 3	Estrutura do gene NOD2/CARD15	18
Figura 4	Mecanismos responsáveis pela activação do NF- κ B e suas consequências a nível de transcrição genética	19
Figura 5	Estrutura dos receptores TLR	22
Figura 6	Vários tipos de TLR e respectivos ligandos	23
Figura 7	Implicações das variantes alélicas do NOD2 e TLR na DC	25
Figura 8	Mecanismos de tolerância oral na DC	27
Figura 9	Activação do sistema imunitário adaptativo na DC e suas funções	35
Figura 10	Defeitos da imunorregulação na DC	36
Figura 11	Barreira epitelial íntegra vs barreira epitelial alterada	39
Figura 12	Estrutura das <i>Tight junctions</i>	40
Figura 13	Activação da MLCK na DC	41
Figura 14	Distribuição dos diferentes tipos de bactérias pelos segmentos do TGI	42
Figura 15	Acção da flora comensal na atenuação das respostas pró-inflamatórias induzidas por bactérias patogénicas	44
Figura 16	Composição anormal da microflora intestinal e seus efeitos	46
Figura 17	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>	49

Figura 18	<i>E. coli</i>	52
Figura 19	Mecanismos de lesão da bactéria ECAI nas células epiteliais intestinais	53
Figura 20	Comparação da expressão do CEACAM6 em indivíduos normais e naqueles com DC	54
Figura 21	Mecanismo de acção dos probióticos	65
Figura 22	Alvos terapêuticos futuros na DC	76

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Lista de siglas	ix
Lista de ilustrações	xi
Desenvolvimento	1
Capítulo I	2
1.1 Material e Métodos.....	2
1.2 Justificação do tema.....	2
1.3 Objectivos da dissertação.....	3
Capítulo II	4
2.1 Perspectiva histórica.....	4
Capítulo III	6
3.1 Considerações gerais.....	6
3.1.1 Definição.....	6
3.1.2 Epidemiologia.....	6
3.1.3 Etiologia e patogénese.....	7

3.1.4 Características clínicas.....	9
Capítulo IV	13
4.1 A influência dos factores ambientais.....	13
Capítulo V	16
5.1 A genética e a sua relação com a patogénese da DC.....	16
5.1.1 NOD2/CARD15.....	17
5.1.2 TLR.....	22
Capítulo VI	26
6.1 Tolerância oral	26
Capítulo VII	30
7.1 O papel do sistema imunitário na DC.....	30
7.1.1 Imunidade inata	30
7.1.2 Imunidade adaptativa.....	33
7.1.2.1 Resposta das células B e T.....	33
7.1.3 Apoptose celular.....	37
Capítulo VIII	38
8.1 Disfunção da barreira epitelial	38
Capítulo IX	42
9.1 O papel dos microorganismos na patogénese da DC.....	42
9.1.1 Microflora intestinal	42
9.1.2 Agentes patogénicos específicos	47
9.1.2.1 <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>	48
9.1.2.2 <i>Escherichia coli</i> aderente invasiva.....	52
9.1.2.3 Bactérias psicotrópicas.....	54
9.1.2.4 Vírus.....	55

Capítulo X	56
10.1 Tratamento médico baseado na patogénese.....	56
10.1.1 Aminossalicilatos.....	56
10.1.2 Glucocorticóides.....	57
10.1.3 Antibióticos.....	59
10.1.4 Imunossuppressores.....	59
10.1.5 Terapêuticas biológicas.....	61
10.1.6 Probióticos e prebióticos.....	64
10.1.7 Terapêuticas nutricionais.....	66
Perspectivas futuras e conclusões	68
Perspectivas futuras de tratamento	69
1. Inibição das citocinas inflamatória.....	70
1.1 Anticorpos anti-TNF α	71
1.1.1 Adalimumab.....	71
1.1.2 Humicade.....	72
1.1.3 Certolizumab pegol.....	72
1.1.4 Etanercept/Onercept.....	72
1.2 Anticorpos anti-IL-12.....	73
1.3 Anticorpos anti-IFN- γ	73
1.4 Anticorpos contra o receptor IL-6.....	73
2. Estimulação de citocinas anti-inflamatórias.....	74
3. Inibição de moléculas de adesão.....	74
4. Outros tratamentos.....	74
Conclusões	77
Bibliografia	79

DESENVOLVIMENTO

CAPÍTULO I

1.1 Material e Métodos

A pesquisa dos artigos realizou-se entre 15 de Abril de 2008 e 15 de Janeiro de 2009, recorrendo-se para tal à base de dados da *PubMed/MEDLINE*, *e-medicine*, *Interscience*, sites do “*American Journal of Gastroenterology*”, “*World Journal of Gastroenterology*”, “*The New England Journal of Medicine*”, “*The Gut*”, “*Inflammatory Bowel Disease*”, “*Nature*”, “*Journal of Immunology*” e “*The Lancet*”

As palavras-chave utilizadas foram: *Inflammatory bowel disease*, *Crohn’s disease*, *NOD2/CARD15*, *TLR*, *pathogenesis*, *etiology*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *innate immunity*, *cytokines*, *oral tolerance*, *dysbiosis*, *probiotics*. Procedeu-se posteriormente à selecção dos artigos, mais relevantes desde 1993 a 2008 em língua inglesa e portuguesa, tendo-se ainda utilizado os artigos referenciados noutros trabalhos. Foram incluídos artigos de revisão, estudos prospectivos e ensaios clínicos. Recorreu-se ainda a alguns livros da área da Medicina Interna e Gastrenterologia, nomeadamente o livro do Grupo de Estudos da Doença Inflamatória Intestinal.

1.2 Justificação do tema

A DC, tradicionalmente considerada comum no mundo ocidental, tem vindo a aumentar consideravelmente a sua incidência. Desde a sua descrição há várias décadas, que a investigação dos mecanismos patogénicos permitiu a aquisição de novos

conhecimentos e novas realidades, com consequências importantes na forma de abordagem da doença, sua terapêutica e da qualidade de vida dos doentes. No entanto, a etiologia e patogénese continuam desconhecidas, apesar dos avanços tecnológicos e científicos nesta área, o que tem contribuído para que a DC continue a ser uma doença sem cura e com elevados custos sociais e financeiros. Há, por isso, grande necessidade de se apostar em mais trabalhos científicos e estudos que revelem quais os mecanismos verdadeiramente responsáveis pelo desencadeamento e progressão da doença. Só com estas descobertas será possível, no futuro, o desenvolvimento de novas terapêuticas cujo objectivo primordial será a cura da doença. Com este trabalho, pretende-se que todos aqueles que trabalham no dia-a-dia com a DC, fiquem a par dos mais recentes avanços na área da etiologia e patogénese da doença, pois só assim conseguirão ajudar a melhorar a qualidade de vida dos doentes. Foram estes motivos que me levaram a escolher este tema para a realização do trabalho.

1.3 Objectivos da dissertação

O presente trabalho pretende dar a conhecer a problemática da DC, enfatizando os seus aspectos mais actuais. Assim os objectivos são vários:

- ❖ Discutir as possíveis etiologias da DC;
- ❖ Realçar a importância dos factores genéticos, ambientais, sistema imunitário, epitélio intestinal e microflora para a patogénese da doença;
- ❖ Dar a conhecer os grandes avanços que têm sido alcançados no que diz respeito ao conhecimento dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da DC e quais as suas implicações nas terapêuticas futuras e melhoria da qualidade de vida.
- ❖ Dar a conhecer as perspectivas futuras no tratamento da DC

CAPÍTULO II

2.1 Perspectiva histórica

A DC foi descrita pela primeira vez há cerca de quatrocentos anos atrás. Em 1612, Gullielmus Fabricius Hildenus verificou na autópsia de um rapaz com “dor sub-hepática” que “o cego estava contraído e invaginado no íleon, de tal forma que não era possível que o conteúdo intestinal passasse para o cólon. Ao extrair o cego, este estava ulcerado e fibrótico⁽¹⁾”. No início do século XIX, Combe e Saunders descreveram o caso de um homem com queixas abdominais crónicas que na autópsia demonstrava espessamento, inflamação e estenoses do íleon⁽²⁾. Foi, no entanto, o clássico artigo de Crohn et al, já no século XX, que definitivamente definiu esta entidade que se viria a denominar DC⁽³⁾.

Com o conhecimento de maior número de casos, o interesse dirigiu-se não só para a clínica mas também para as complicações, estratégias terapêuticas e busca de critérios de diagnóstico. Surgiram especulações etiológicas que incluíam infecções bacterianas, distúrbios psicológicos, deficiências nutricionais e alergia gastrointestinal⁽²⁾. Com o aparecimento dos corticóides, antibióticos, e imunossuppressores, abriram-se novos horizontes terapêuticos e incentivaram-se as novas descobertas na segunda metade do século XX.

Em Portugal, os dados relativos a esta doença são bastante mais difíceis de encontrar. Embora sem provas fidedignas, mas baseando-se em suspeitas clínicas, pensa-se que, entre 1870 e 1880, o escritor Eça de Queiroz terá sofrido de DC que lhe provocou diarreia crónica sanguinolenta, má absorção e fístulas anais e que terá sido a causa de morte em 1900⁽³⁾.

Em 1947, Maria Rosa publicou a sua dissertação de doutoramento sobre “ileíte regional: Doença de Crohn”, uma tese extremamente importante para o conhecimento da DC, tendo em conta a pouca informação existente acerca desta entidade no nosso país. Este trabalho estudou dez casos com várias formas de ileíte regional, desde os aspectos estenosantes aos fistulizantes, todos operados e com exames histopatológicos⁽³⁾. Vários outros artigos foram publicados, como é o caso do artigo “Doença de Crohn” de António Saturnino Gentil Roque, em 1957⁽³⁾. Na década de 70, Ermelinda Camilo introduziu, no Hospital de Santa Maria, alimentações entérica e parentérica em doentes com DC e foram organizadas consultas específicas para a DII⁽³⁾.

Em 1994 Tavarela Veloso impulsionou a criação da APDI⁽³⁾. Já no século XXI foi criada uma organização muito importante: o Grupo de Estudos da DII⁽³⁾.

Desde o ano 2000 que foram desenvolvidas consultas individualizadas da DII em vários hospitais, nomeadamente: Castelo Branco, Covilhã, Viseu, Vila Real, entre outros, o que indica a necessidade crescente de diagnosticar e tratar esta doença⁽³⁾.

Apesar da publicação de um número cada vez maior de trabalhos de pesquisa sobre a DC, esta doença continua a ser um desafio pois ainda pouco se sabe sobre a sua etiologia e patogénese.

CAPÍTULO III

3.1 Considerações gerais

3.1.1 Definição

A DC é uma doença inflamatória crónica transmural e segmentar que pode atingir qualquer parte do TGI, desde a boca até ao ânus, com localização preferencial a nível do íleon terminal. Caracteriza-se pela formação de ulcerações, fístulas, estenoses e granulomas, e evolui caracteristicamente por períodos de agravamento e remissão. Envolve um amplo espectro de manifestações extra-intestinais.

3.1.2 Epidemiologia

A DC pode ocorrer em qualquer idade, mas apresenta uma distribuição bimodal. O maior número de casos surge tipicamente na segunda e terceira década de vida, ocorrendo um outro pico, embora mais pequeno, entre os 60 e 80 anos⁽⁴⁾. Poderá ser mais frequente em mulheres (relação M/H é 1:1 até 1.8:1) e ocorre sobretudo, em classes socioeconómicas mais elevadas⁽⁵⁾.

Existe uma variação de acordo com o grupo étnico: os judeus são mais afectados que os não judeus caucasianos e estes mais que os hispânicos e asiáticos⁽⁴⁾.

Destacam-se como factores de risco o tabaco e os CO. A apendicectomia que tem um papel protector na CU, na DC não desempenha qualquer protecção⁽⁴⁾. O início e severidade da DC são aumentados pelo tabaco, como demonstrado pelo aumento das intervenções cirúrgicas e uso de imunossuppressores, maiores recorrências pós-cirúrgicas e taxas de mortalidades mais elevadas em indivíduos fumadores⁽⁶⁾.

Caracteriza-se pela existência de um padrão de agregação familiar, uma vez que os familiares em primeiro grau de indivíduos afectados têm cinco vezes mais probabilidade de virem a desenvolver a doença⁽⁷⁾.

A incidência varia de acordo com a área geográfica, o que poderá sugerir a intervenção de factores ambientais. A taxa de incidência da DC a nível mundial é de 0,1-16/10⁵ habitantes⁽⁸⁾. As maiores taxas são observadas na Europa ocidental e do norte, assim como nos EUA, enquanto as mais baixas são registadas em África, América do Sul e Ásia⁽⁸⁾. É, por isso, mais comum nos países desenvolvidos e industrializados, apontando-se a urbanização como um possível factor de risco⁽⁸⁾. Apesar disso, a incidência tem vindo a aumentar em áreas outrora consideradas com baixas taxas de incidência, o que poderá estar relacionado com adopção de um estilo de vida mais ocidental: alterações na dieta, hábitos tabágicos e maior exposição à poluição e químicos industriais⁽⁵⁾.

A prevalência da DC nos EUA é de 26,0-198,5/10⁵ habitantes e a incidência é de 3,1-14,6/10⁵ habitantes⁽⁸⁾. Na Europa, a prevalência é 8,3-214/10⁵ habitantes e a incidência de 0,7-9,8/10⁵ habitantes⁽⁸⁾. A incidência aumentou cerca de dez vezes na última metade do século na Europa e EUA⁽⁹⁾.

Em Portugal, ignora-se quantos doentes existirão com DC, mas é provável que existam mais de 7000 casos de DII e menos de 15000⁽³⁾.

3.1.3 Etiologia e patogénese

Apesar da intensa investigação nesta área, a etiologia ainda é desconhecida. Por isso, várias hipóteses foram propostas⁽¹⁰⁾ (Tabela 1):

- ❖ **Desregulação da resposta imunitária** – na DC, as respostas imunitárias inata e adaptativa são inadequadas, com incapacidade de reconhecimento e eliminação dos antígenos bacterianos, activação exagerada e diminuição da apoptose das células Th1 e inactivação de células Tr. Como resultado ocorre uma perda da tolerância à flora comensal e o desenvolvimento de mecanismos inflamatórios exagerados.

- ❖ **Defeitos na função de barreira da mucosa intestinal** – Alterações nas *tight junctions*, na produção de muco, de IgA e defensinas e o aumento da permeabilidade contribuem para uma inflamação persistente característica da DC.

- ❖ **Disbiose** – uma alteração no balanço entre os microorganismos protectores e agressivos da microflora intestinal altera a homeostasia, tendo como consequência uma inflamação intestinal crónica em indivíduos susceptíveis.

- ❖ **Infecção patogénica persistente** – a DC é desencadeada por diversos agentes patogénicos específicos, entre os quais: *MAP*, *ECAI*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e paramixovírus.

Apesar de todas estas teorias contribuírem para a compreensão da patogénese da DC, a hipótese mais consensual postula que a esta doença resulta de uma interacção entre factores genéticos, ambientais, sistema imunitário, microorganismos e epitélio intestinal⁽⁹⁾ (Figura 1).

Hipóteses etiológicas na DC

Desregulação da resposta imunitária
Defeitos na função de barreira da mucosa intestinal
Disbiose
Infecção patogénica persistente

Quadro 1 – Hipóteses etiológicas na DC. Tabela traduzida e adaptada de: Sartor RB. Bacteria in Crohn Disease: mechanisms of inflammation and therapeutics implications. J Clin Gastroenterol 2007 May/Jun;41:37-43

Os factores genéticos alteram a função de barreira do epitélio intestinal, as respostas imunitárias e eliminação bacteriana⁽¹¹⁾. Numa situação normal, uma lesão ou inflamação da mucosa desencadeada, por exemplo, por factores ambientais, é rapidamente controlada devido a uma resposta imunitária adequada e reparação do defeito epitelial⁽¹⁰⁾. No entanto, em indivíduos geneticamente predispostos, verifica-se uma perda da tolerância oral, incapacidade para remover as bactérias invasoras, de diminuir as respostas pró-inflamatórias e de reparar a mucosa, o que origina uma activação contínua e excessiva das respostas imunitárias adaptativas efectoras e uma inflamação crónica desencadeada por organismos patogénicos e comensais⁽¹⁰⁾ (Figura2).

3.1.4. Características clínicas

De acordo com a classificação de Vienna (1998), esta doença pode ser definida pela localização (íleon terminal, cólon, íleon-cólon e TGI superior), pelo padrão de doença (não-estenosante, não-penetrante, estenosante, penetrante) ou idade do doente (<40 anos; ≥ 40 anos)⁽¹²⁾.

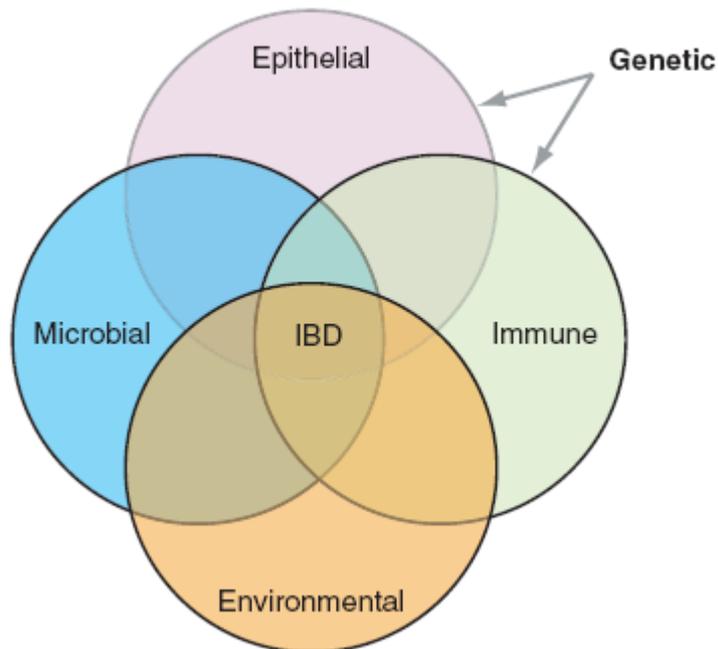


Figura 1- Interação entre os vários factores responsáveis pelo desenvolvimento da DC. A DC resulta da interacção da genética e ambiente com os microorganismos, sistema imunitário e epitélio intestinal. Os factores genéticos regulam as respostas imunitárias e a função de barreira do epitélio intestinal e a eliminação bacteriana. Fonte: Braun J, Wei B. Body Traffic: Ecology, Genetics, and Immunity in Inflammatory Bowel Disease. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2007;2:401–29

Relativamente à localização, 30-40% dos casos é limitada ao ID, 40-55% envolve o ID e cólon e 15-25% têm apenas colite⁽⁴⁾.

O recto é frequentemente poupado e, em 75% dos indivíduos com doença do ID, o íleon terminal está envolvido na maioria dos casos⁽⁴⁾.

Os sinais e sintomas variam de leve a grave e de acordo com a localização⁽⁴⁾:

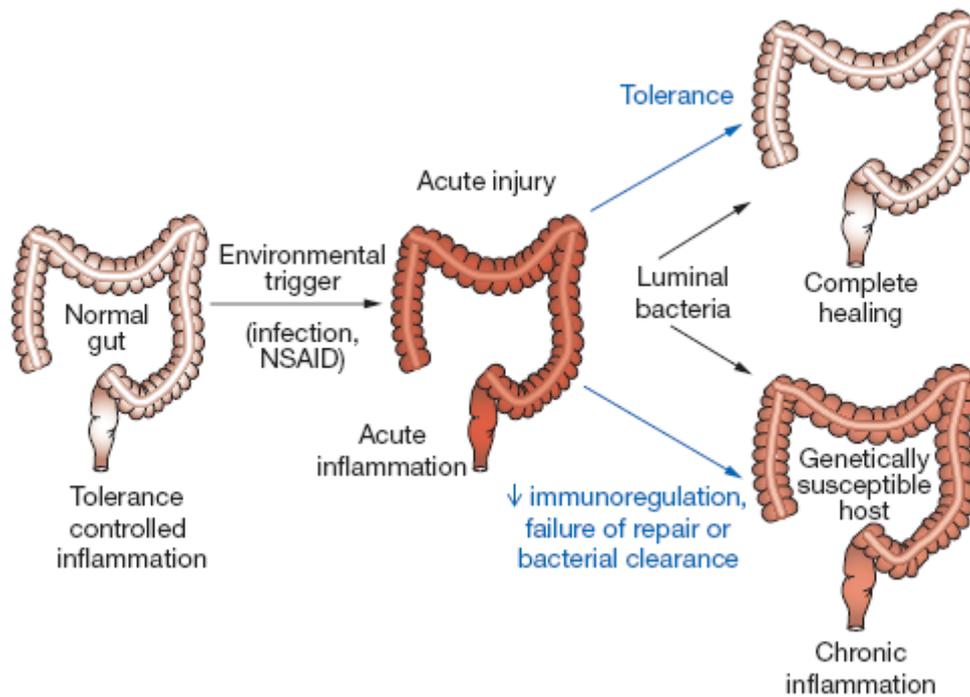


Figura. 2 – Diferentes respostas à lesão intestinal.

Em situações normais, uma lesão na mucosa é rapidamente reparada por respostas imunitárias adequadas, mantendo-se a tolerância aos microorganismos comensais. Em indivíduos susceptíveis, há uma incapacidade de eliminar as bactérias e de reparar o epitélio intestinal, o que origina uma activação contínua e excessiva das respostas imunitárias adaptativas efeotoras. Fonte: Sartor RB. Bacteria in Crohn Disease: mechanisms of inflammation and therapeutics implications. J Clin Gastroentrol 2007 May/Jun;41:37-43.

- ❖ Ileocolite - Episódios recorrentes de dor crónica, febre de baixo grau, diarreia, perda de peso, obstrução intestinal, formação de fístulas para o intestino adjacente, pele, vagina e bexiga;
- ❖ Jejunoileíte – má absorção (hipocalcémia, hipomagnesémia, coagulopatia, hipoalbuminémia, anemia megaloblástica), diarreia, esteatorreia, fracturas vertebrais (por hipocalcémia, deficiência de Vitamina D e utilização prolongada de corticóides), entre outros;

- ❖ Colite – cólicas abdominais, diarreia, mal-estar, hematoquézias, febre de baixo grau, estenoses e fístulas
- ❖ Doença perianal – incontinência fecal, formação de estenoses, fístulas e abscessos.
- ❖ Doença gastroduodenal – náuseas, vômitos, dor epigástrica, gastrite e formação de fístulas.

Porque é uma doença crónica, desenvolve-se com períodos em que a doença é activa e causa sintomatologia, seguida por períodos de remissão.

Para a melhoria qualidade de vida, tem contribuído a utilização de vários tipos de terapêuticas: aminossalicilatos, glucocorticóides, antibióticos, imunossuppressores, terapêuticas biológicas e cirurgia.

O crescente conhecimento sobre a patogénese da DC tem sido importante para a pesquisa de novos tratamentos, podendo no futuro não só melhorar as recidivas mas fundamentalmente tratá-las.

CAPÍTULO IV

4.1 A influência dos factores ambientais

Durante o último século, ocorreram grandes alterações nos tipos de doenças que afectam os seres humanos: as doenças infecciosas que durante anos foram as principais causas de morbimortalidade, foram ultrapassadas pelas doenças neoplásicas e as inflamatórias crónicas (de que é exemplo a DC), o que poderá ser explicado pelos progressos sociais e económicos e o aumento da industrialização⁽¹³⁾.

A “hipótese higiénica” foi proposta para explicar esta mudança. Considera que a melhoria da higiene através de um melhor acesso a água canalizada, a alimentos não contaminados, a produtos de higiene, vacinação e a redução do agregado familiar contribuem para que os indivíduos não sejam expostos precocemente aos antigénios dos microorganismos^(13;14). Como consequência, desenvolvem-se respostas imunitárias inapropriadas, incapazes de responder eficazmente aos agentes bacterianos patogénicos com os quais o indivíduo entra em contacto mais tardiamente, surgindo assim, processos inflamatórios anormais ou possivelmente a DC^(13;14).

Entre os diversos factores que condicionam o aparecimento da DC, os ambientais são dos menos compreendidos⁽¹⁵⁾. Vários factores de risco ambientais são considerados: dieta, status social e geográfico, stress, microflora intestinal, alteração da permeabilidade intestinal, apendicectomia, CO, AINES e tabaco, sendo este o melhor exemplo da influência do ambiente no desenvolvimento da DC⁽¹³⁾. O consumo de tabaco aumenta o risco de desenvolver DC, as complicações como as estenoses ou as fístulas, a frequência dos surtos da doença, a necessidade de cirurgia e de consumo de corticóides e imunossupressores e a sua descontinuação condiciona melhorias

significativas⁽¹⁶⁾. O tabaco também condiciona a localização da doença: nos fumadores: existe uma maior prevalência da doença no íleon que no cólon⁽¹⁶⁾. Existem várias explicações. Uma, mais simplista, considera que a nicotina tem mais efeitos no ID porque aqui atinge maiores concentrações e outra, mais provável, refere existirem diferenças na patofisiologia da doença no cólon e no ID⁽¹⁷⁾. No entanto, nem todos os estudos são concordantes em relação aos efeitos do tabaco no desenvolvimento da DC. Assim, por exemplo, Aldhous MC et al consideram que, embora o tabaco esteja relacionado com a localização da doença, não influencia directamente o seu comportamento, pois não está associado com o tempo de desenvolvimento da doença estenosante, penetrante ou com o tempo da primeira cirurgia⁽¹⁷⁾. É sim a localização da doença que determina directamente estes parâmetros. A doença do ID apresenta maior desenvolvimento de estenoses, assim como necessidade de cirurgia⁽¹⁷⁾.

Os efeitos do consumo passivo do tabaco na DC são bastante mais controversos. No entanto, Mahid SS et al verificaram que os indivíduos que desenvolvem DC têm uma maior exposição passiva ao fumo do tabaco antes do nascimento mas também durante a infância⁽¹⁸⁾. Portanto, o consumo passivo e activo do tabaco é um factor de risco importante no desenvolvimento desta doença. O tabaco afecta a imunidade humoral e celular. A nicotina tem um efeito inibitório nas células Th2, que predominam na CU, e não tem qualquer efeito nas células Th1, características na DC, o que explica porque o tabaco é um factor protector na primeira⁽¹⁹⁾. No entanto, a nicotina diminui a produção de IgA, a capacidade de fagocitose pelos macrófagos e os mecanismos anti-oxidantes, altera a microcirculação (diminui a capacidade de vasodilatação dos vasos inflamados, originando uma isquémia e perpetuação da fibrose e ulceração) e aumenta o potencial trombótico associado com a lesão vascular, contribuindo desta forma para a patogénese da DC⁽¹⁶⁾. A tabela 2 faz um resumo das implicações do tabaco na DC.

Pontos chave

O tabaco e as suas implicações na DC

O consumo de tabaco passivo e activo aumenta o risco de desenvolver DC

As complicações e a frequência de surtos são superiores nos fumadores

Nos fumadores, existe uma maior prevalência da doença a nível do íleon

O tabaco condiciona um aumento na necessidade de cirurgia e um maior consumo de corticóides e imunossuppressores, diminui a capacidade de fagocitose pelos macrófagos, a produção de anticorpos, a permeabilidade intestinal e altera a microcirculação.

Quadro 2- O tabaco e as suas implicações na DC.

Outros agentes ambientais, tais como os CO e os AINES, têm sido estudados no sentido de estabelecer uma relação com a DC. Embora esta relação não seja directa, as mulheres que tomam CO têm um risco duas vezes superior de desenvolver DC⁽¹³⁾. Em relação aos AINES, já existe uma clara associação uma vez estes fármacos aumentam a probabilidade de desenvolver novo surto de doença naqueles em remissão clínica⁽¹³⁾. O aumento da permeabilidade intestinal é um factor importante na patogénese da DC. Condiciona o aumento da captação de antigénios e a estimulação excessiva do sistema imunitário, o que tem como consequência a perpetuação do processo inflamatório⁽¹⁵⁾. Em suma: embora exista uma forte relação entre os factores ambientais e a DC, nenhum deles isoladamente é capaz de condicionar o seu desenvolvimento, sendo também necessária a presença de genes para que esta doença se possa manifestar⁽¹³⁾.

CAPÍTULO V

5.1 A genética e a sua relação com a patogénese da DC

A D.C. é uma doença poligénica complexa, o que significa que vários genes contribuem para o seu desenvolvimento. Uma série de evidências demonstram a importância da genética na D.C:

- ❖ A existência de um padrão de agregação familiar: os familiares de primeiro grau de indivíduos com D.C. têm um risco 5 vezes superior de desenvolver esta doença⁽⁷⁾;
- ❖ Existência de concordância no tipo e local da doença em membros de famílias com múltiplos membros afectados⁽²⁰⁾.
- ❖ A identificação de vários genes associados com a D.C.(Tabela 1)
- ❖ Maior taxa de concordância da doença em gémeos monozigóticos (37-58%)⁽⁵⁾ que dizigóticos (3.9-18%)⁽⁵⁾. No entanto, o facto da concordância entre gémeos monozigóticos ser de apenas 37-58% indica que os genes sozinhos não são suficientes para produzir a doença.

Ao longo de vários anos, e ainda actualmente, múltiplos genes têm sido estudados no sentido de determinar a sua ligação à D.C. Foi em 1996, que Hugot et al relataram pela primeira vez a existência de um gene (NOD2/CARD15) com localização no locus IBD1 do cromossoma 16⁽²¹⁾. Subsequentemente novos estudos foram realizados, permitindo confirmar os achados de Hugot et al mas também descobrir novos loci (até à data cerca de 9 – IBD1-9) associados não só com a D.C. mas também com a CU.

Genes associados com a DC		
Gene	Cromossoma	Função
NOD2/CARD15	16	Produção de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias; manutenção da homeostasia intestinal/tolerância oral; produção de defensinas
TLR4	9	Produção de citocinas inflamatórias; manutenção da homeostasia intestinal/tolerância oral; manutenção da função de barreira do epitélio intestinal
OCTN1(SLC22A4)/ OCTN2 (SLC22A5)	5	Transportadores proteicos para catiões orgânicos e carnitina (co-factor essencial na oxidação dos ácidos gordos); manutenção da integridade do epitélio intestinal
DLG5	10	Manutenção da integridade da barreira epitelial e regulação do crescimento celular
PPARG	3	Inibidor intracelular do NF-κB

Tabela 1- Exemplos de genes associados com DC e respectiva função. Tabela adaptada e traduzida de: Sartor RB. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. Nature 2006 Jul;3(7): 390-407.

Estes genes têm funções importantes na regulação da imunidade inata, integridade da barreira epitelial e eliminação microbiana e/ou homeostasia⁽¹¹⁾.

De seguida são descritas as alterações genéticas que mais contribuem para explicar a patogénese da DC.

5.1.1 NOD2/CARD15

O gene NOD2/CARD15, foi o primeiro gene que se descobriu estar associado à DC. Codifica uma proteína com o mesmo nome, expressa nos macrófagos, neutrófilos,

linfócitos B e T, CD, células de Paneth e CEI⁽²²⁾. A sua constituição está representada na figura 3.

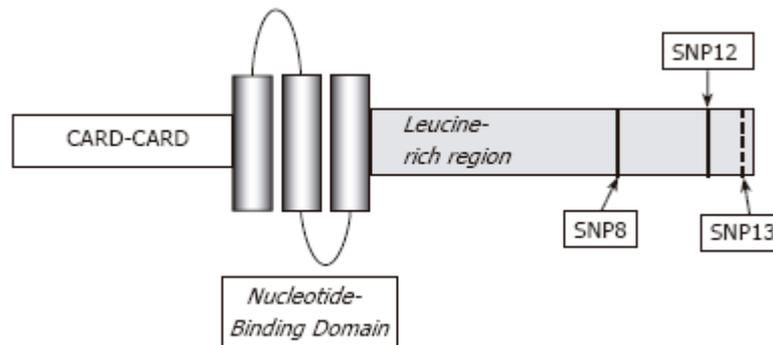


Figura 3- Estrutura do gene NOD2/CARD15.

O gene é formado por dois CARD- CARD2 e CARD15, uma região designada NBD e uma outra designada LRR. As mutações SPN12, SPN13 e SPN8, localizadas no domínio LRR estão associadas com o desenvolvimento da DC. Fonte: Lakatos PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down?. World J Gastroenterol 2006 October 14;12(38):6102-08.

O NOD2/CARD15 é um receptor de reconhecimento padrão citoplasmático do sistema imunitário inato, cujo domínio LRR é responsável pelo reconhecimento intracelular de produtos bacterianos de que é exemplo o PTG, encontrado na membrana de quase todas as bactérias⁽¹¹⁾. O CARD está envolvido na activação do NF- κ B.

Através do seu domínio LRR, liga-se ao MDP que é o componente biologicamente activo do PTG⁽¹¹⁾. Após a interacção com outras proteínas, o NF- κ B é activado, com a consequente produção de moléculas de adesão (ICAM-1), citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-12; IL-18) anti-inflamatórias (IL-10) e quimiocinas (IL-8)⁽²²⁾ (Figura 4).

O NOD2/CARD15 é também responsável pela expressão de várias moléculas protectoras essenciais para uma eficaz eliminação bacteriana: as defensinas⁽²²⁾. Produzidas pelas células de Paneth (um tipo de CEI especializadas), as defensinas são péptidos antibióticos naturais que representam um importante mecanismo de defesa da

imunidade inata, uma vez que eliminam rapidamente os microorganismos, ajudando assim a prevenir a invasão bacteriana da mucosa intestinal e mantendo uma homeostasia intestinal⁽²²⁾.

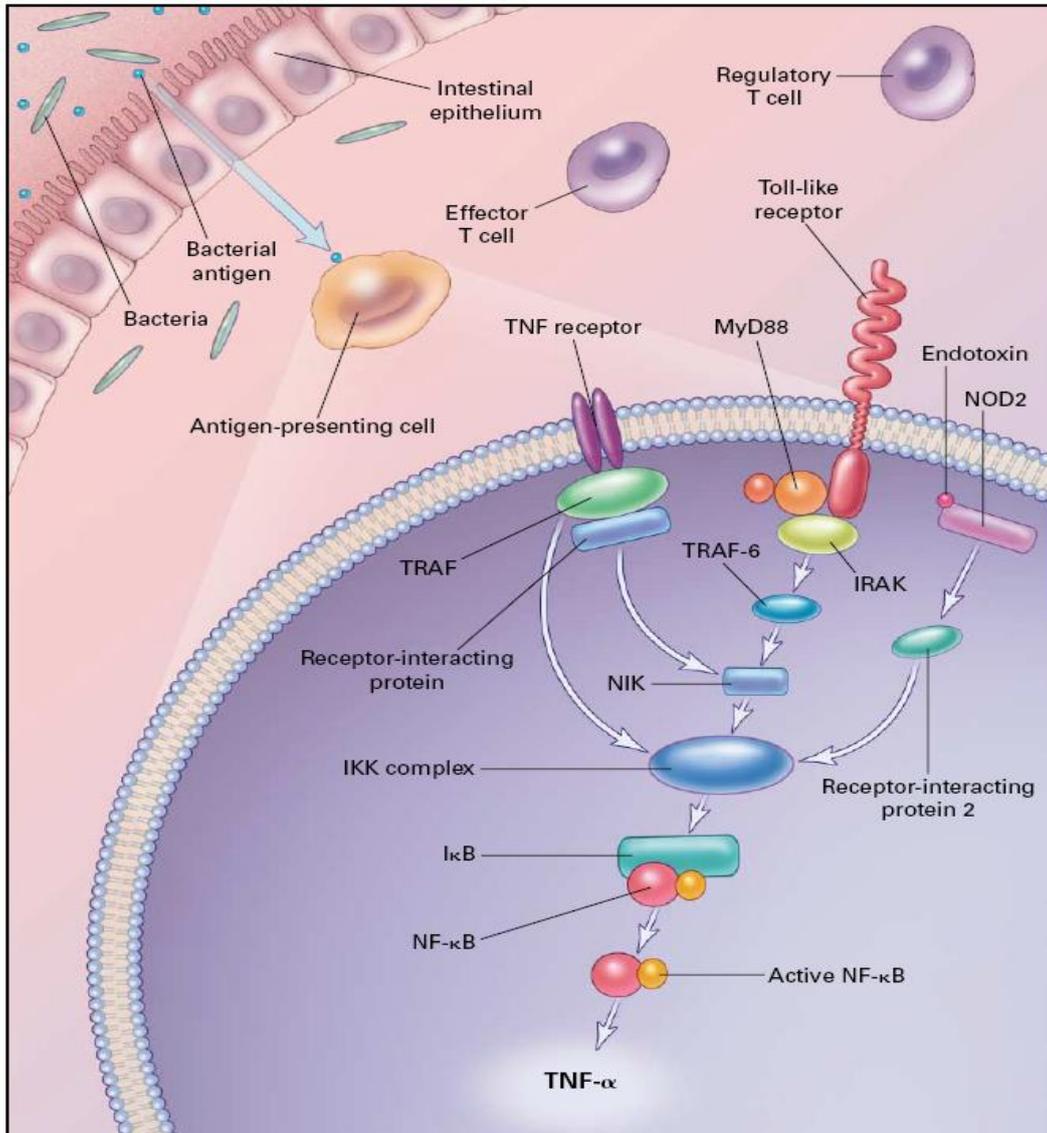


Figura 4 – Mecanismos responsáveis pela ativação do NF-κB e suas consequências a nível da transcrição genética

A ligação de endotoxinas (PTG) ao NOD2 origina, através de uma cascata de proteínas, a activação do NF-κB que, após a migração para o núcleo, é responsável pela produção de citocinas pró/anti-inflamatórias, quimiocinas e defensas. Fonte: Elson CO. Genes, microbes and T cells – New Therapeutics targets in Crohn’s disease. N Engl J Med 2002 Feb 21; 346(8):614-6

As mutações no gene NOD2/CARD15 estão presentes em até 30% dos indivíduos com DC⁽²³⁾. Os portadores heterozigóticos têm o risco aumentado de doença de cerca de 2-4 vezes e os homozigóticos de cerca de 20-40 vezes⁽²⁴⁾.

Existem três mutações a nível do gene NOD2/CARD15 que estão associadas com a susceptibilidade para a D.C.: L1007fsinsC-SNP13; R702W-SNP8 e G908R-SNP12⁽²⁵⁾.

Mais de 90% destas mutações estão localizadas a nível do domínio LRR, o que indica que poderão ter importantes consequências no que diz respeito ao reconhecimento bacteriano⁽²⁴⁾. Além disso, estes polimorfismos podem alterar a produção de defensinas e citocinas.

Existem vários modelos propostos para explicar a forma como as mutações no NOD2 podem estar relacionadas com a DC. No entanto, ainda não estão totalmente compreendidas e muitas das explicações que surgem são mesmo paradoxais. Pensa-se que as diferentes mutações originam diferentes fenótipos, que vão desde uma perda a um aumento de função do NOD2/CARD15⁽²⁶⁾.

Como é que uma perda de função, ou seja, uma incapacidade de responder aos produtos bacterianos desencadeia respostas inflamatórias? Sabe-se que, as mutações que estão associadas a uma perda de função originam uma diminuição da produção das defensinas. Isto permite que as bactérias proliferem e atravessem a barreira epitelial, entrando em contacto com as CAA da mucosa, responsáveis pela indução de uma resposta inflamatória Th1 exagerada⁽²²⁾. Além disso, estas mutações têm outras importantes consequências: diminuição do reconhecimento bacteriano e da produção de citocinas (IL-1; IL-8) e quimiocinas o que origina um defeito na eliminação das bactérias invasoras e a aumento da susceptibilidade para infecções⁽²³⁾; diminuição de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) pelas CD e conseqüente perda de respostas

reguladoras; diminuição do reconhecimento das bactérias comensais, o que evita o desenvolvimento de tolerância à microflora comensal e o desencadeamento de respostas inflamatórias exageradas⁽²³⁾. No entanto, estas teoria ainda são muito especulativas e não explicam de forma definitiva a patogénese da doença. A perda de função do NOD2 aumenta a susceptibilidade para infecções por *Listeria monocytogenes*⁽²⁶⁾.

A teoria do aumento da função foi suportado por estudos em modelos animais que possuíam uma mutação muito idêntica à variante L1007fsinsC⁽²⁶⁾. Nestes estudos, demonstrou-se um aumento da activação do NF-κB e elevação da secreção do IL-1 pelos macrófagos, o que contribuiria para um processo inflamatório característico da DC⁽²²⁾. No entanto, os macrófagos de doentes com Crohn e que possuem a variante L1007fsinsC não têm uma aumento da secreção de IL-1⁽²⁶⁾. O Quadro 3 faz um resumo das implicações do gene NOD2/CARD15 e respectivas mutações na DC.

Pontos chave
As mutações no gene NOD2/CARD15 e as suas implicações na DC
Três mutações no NOD2/CARD15 estão associadas com o desenvolvimento da DC: L1007fsinsC-SNP13; R702W-SNP8 e G908R-SNP12
As mutações podem originar perda ou ganho de função do NOD2
Activação excessiva do NF-κB em modelos animais aumenta a produção de citocinas inflamatórias, o que contribui para a lesão do epitélio intestinal; no entanto esta hipótese ainda não está comprovada em humanos
A diminuição da activação do NF-κB origina uma diminuição da produção das defensinas, defeito no reconhecimento de bacteriano e de produção de IL-10.

Quadro 3 – Pontos chave: As mutações no gene NOD2 e suas implicações no desenvolvimento da DC

Tem sido sugerido que as mutações no gene NOD2/CARD15 influenciam o fenótipo da doença. Estão associadas com o aparecimento mais precoce da DC, com doença localizada a nível do íleon e doença fibro-estenósante⁽²³⁾.

Os achados relativos ao papel das mutações do NOD2 são contraditórias e mais estudos são necessários para compreender o seu papel na patogénese da DC.

5.1.2. TLR

Os TLR constituem uma família de cerca de onze receptores transmembranares. A sua estrutura está representada na figura 5. São expressos na superfície dos monócitos, macrófagos, CD e CEI⁽²⁴⁾.

A função de cada um dos TLR e as possíveis interações entre eles e os ligandos não bacterianos ainda não está completamente definida.

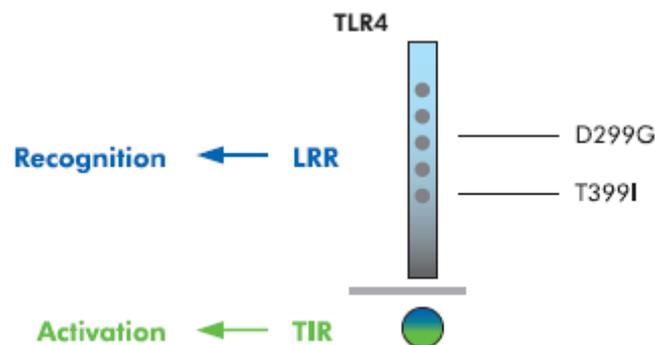


Figura. 5- Estrutura dos receptores TLR.

Os TLR são receptores transmembranares constituídos por um domínio LRR, um domínio TIR e uma região transmembranar curta (não representada na figura). Duas mutações – D299G e T399I – localizadas no domínio LRR, poderão estar associadas com respostas imunitárias desreguladas aos produtos microbianos. O LRR é responsável pelo reconhecimento bacteriano e o TIR pela activação de toda a cascata de eventos que desencadeia a activação do NF-κB. Fonte: Cario E. Bacterial interactions with cells of intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. Gut 2005 Apr 19;54:1182-93.

Tal como as proteínas NOD, são receptores de reconhecimento padrão do sistema imunitário inato da mucosa, que reconhecem diferentes classes de produtos microbianos e desempenham um importante papel no desencadeamento da resposta imunitária inata, na homeostasia intestinal e controlo da infecção através da activação do NF- κ B (Figura 4) e produção de citocinas inflamatórias⁽²²⁾. Para além de reconhecerem os microorganismos patogénicos, são essenciais na identificação da microflora comensal e indução da tolerância oral⁽¹³⁾. A interacção das bactérias comensais com os TLR (nomeadamente o TLR2 e TLR4) contribuiu para a manutenção da integridade da barreira epitelial através da produção de factores tecidulares protectores, IL-6 e TNF⁽²⁷⁾. Embora estas citocinas estejam associadas com o desencadeamento de mecanismos inflamatórios, também desempenham um papel protector⁽²⁷⁾.

Diferentes padrões moleculares activam selectivamente diferentes TLR, tal como representado na figura 6⁽²²⁾.

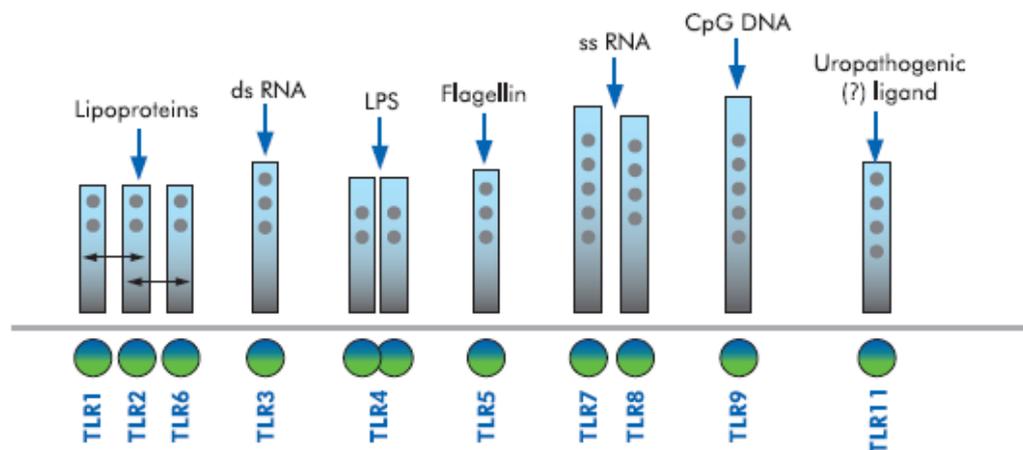


Figura.6- Vários tipos de TLR e respectivos ligandos. O TLR2 é um receptor para o peptidoglicano, o TLR3 para dsRNA, o TLR 4 para os LPS e o TLR-5 para a flagelina bacteriana. Fonte: Cario E. Bacterial interactions with cells of intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. Gut 2005 Apr 19;54:1182-93.

A compartimentalização subcelular dos TLR é um determinante crítico da resposta imunitária⁽²²⁾. *In vivo*, o TLR5 está localizado no pólo basolateral e no apical, no entanto, o basolateral é o único a responder à flagelina com a produção de citocinas inflamatórias. Isto significa que, apenas os microorganismos com capacidade invasiva e não as bactérias comensais, desencadeiam uma resposta inflamatória. Assim, o TLR5 da superfície basolateral tem a capacidade de detectar a invasão de uma grande quantidade de microorganismos numa fase precoce, desde que a flagelina atinja este pólo da célula⁽²⁸⁾.

Num indivíduo normal, as CEI expressam sobretudo TLR3 e TLR5, enquanto o TLR2 e TLR4 estão presentes em menor quantidade, o que permite que estas células minimizem a resposta às bactérias comensais e que, portanto, co-habitem com uma elevada concentração destas bactérias⁽²⁹⁾. No entanto, na DC, existe uma diferença de expressão do TLR 4 e TLR3. O TLR3 está significativamente diminuído na DC activa⁽³⁰⁾, enquanto o TLR4 está muito aumentado, o que significa que vai haver uma resposta exagerada em relação à microflora intestinal⁽³⁰⁾. O TLR2 e TLR5 permanecem inalterados.

O gene do TLR4 está localizado no cromossoma 9. Duas mutações que foram observadas no TLR4 - Asp299Gly e Thr399I - estão associadas com o desenvolvimento da DII em populações caucasianas⁽²⁴⁾. Tal como no NOD2, poderá haver uma diminuição ou ganho de função. A primeira é responsável pelo aumento da susceptibilidade a infecções, perda de tolerância às bactérias comensais e diminuição da integridade da barreira epitelial⁽²²⁾. O ganho de função, origina o desenvolvimento de respostas pró-inflamatórias excessivas em resposta a concentrações fisiológicas de LPS⁽²²⁾.

Como conclusão, podemos afirmar que os TLR têm pelo menos duas funções distintas: protecção contra a infecção e controlo da homeostasia e, que estas funções dependem, respectivamente, do reconhecimento de microorganismos patogénicos e comensais⁽²⁷⁾. Isto explica porque razão as citocinas aqui produzidas estão envolvidas quer na defesa quer na reparação tecidual⁽²⁷⁾.

No entanto, mais estudos serão necessários para confirmar o papel dos TLR e respectivas mutações na patogénese da DC.

A figura 6 descreve as implicações das variantes alélicas do NOD2 e TLR na DC.

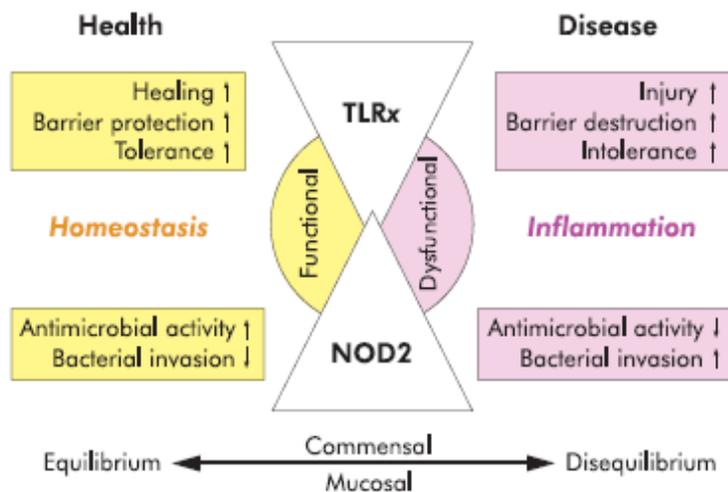


Figura 7 - Implicações das variantes alélicas do NOD2 e TLR na DC. Em indivíduos saudáveis, o TLR aumenta a função de barreira do epitélio intestinal e a tolerância oral e o NOD2 contribui para a eliminação de microorganismos e diminuição da invasão bacteriana devido à produção de defensas. Na DC, as mutações no TLR e NOD2 alteram todas estas funções.

Fonte: Cario E. Bacterial interactions with cells of intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. Gut 2005 Apr 19;54:1182-93.

CAPÍTULO VI

6.1 Tolerância oral

Num ambiente como o intestino, o sistema imunitário da mucosa tem de ter a capacidade de manter a tolerância às bactérias comensais e aos alimentos, mas também desenvolver respostas de defesa perante os agentes patogénicos. Vários autores consideram que, na DC, esta capacidade está diminuída e que, portanto, existe uma perda da tolerância oral⁽³¹⁾.

A tolerância oral em indivíduos normais é mediada essencialmente pelas CEI, células Tr, linfócitos B e CD que secretam IL-10, IFN- α/β e TGF- β ⁽¹¹⁾.

As CEI são de enorme importância para a manutenção desta tolerância. Com as suas *tight junctions*, com a produção de muco, de imunoglobulinas e de defensinas, impedem o contacto directo dos antígenos bacterianos comensais com o tecido folicular e o consequente desenvolvimento de respostas inflamatórias. Além disso, as células M, um tipo de CEI especializadas, transportam os antígenos para as CD e outras CAA que, por sua vez, vão induzir uma resposta imunitária ou uma tolerância oral ao estimular as células TCD4⁺ efectoras (Th1/Th17) ou as células Tr, respectivamente⁽³²⁾ (Figura8).

Em condições fisiológicas, as CD produzem sobretudo IL-10, IFN- α/β e TGF- β que estimulam a acção das células Tr, contribuindo para a homeostasia intestinal⁽⁹⁾.

Na DC, as CD produzem mais IL-12, uma importante citocina que activa as células Th1, responsáveis pelas respostas inflamatórias⁽¹³⁾.

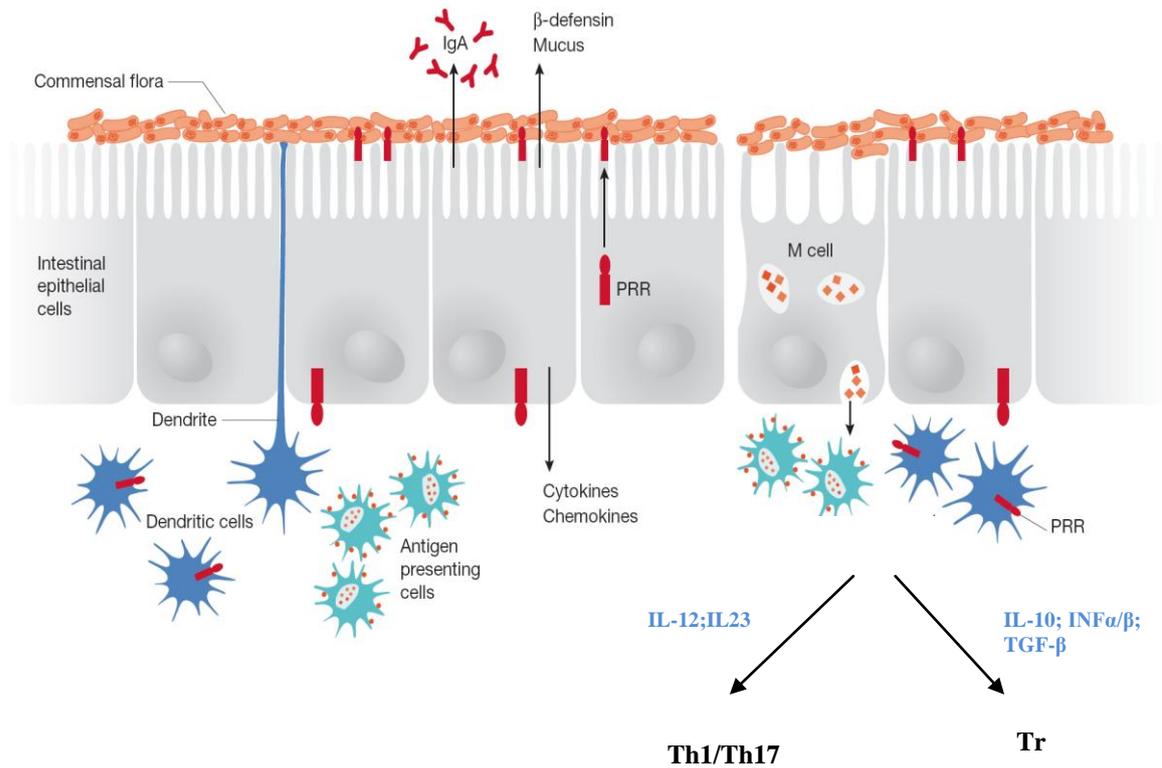


Figura 8 – Mecanismos de tolerância oral na DC.

As CEI produzem muco, IgA e defensinas. As células M transportam os antígenos para as CD e outras CAA que, por sua vez, os apresentam às células T imaturas, a nível das placas de Peyer. As CD estimulam o desenvolvimento de uma resposta imunitária ou de tolerância ao promoverem as células T efectoras ou Tr, respectivamente. A IL-10, o IFN- α/β e o TGF- β desencadeiam a formação de células Tr, o que contribui para a homeostasia intestinal. Fonte: Figura adaptada de: O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO 2006 Feb 23;7:688-93.

Vários mecanismos moleculares asseguram a tolerância via TLR, nas CEI e outras CAA⁽²²⁾:

- ❖ Diminuição da expressão do TLR2 e TLR4, o que limita o desencadeamento de respostas imunitárias aos antígenos das bactérias comensais;
- ❖ Expressão do TLR5 apenas na membrana basolateral;
- ❖ Reguladores externos expressos pelas CEI que suprimem a acção dos TLR – Tollip, SIGIRR e PPARG
- ❖ Activação do PPARG pelas bactérias comensais, o que tem como consequência a diminuição da expressão do NF- κ B mediada pelo TLR e uma

atenuação da inflamação do cólon. Esta molécula tem potente actividade anti-inflamatória e está diminuída na DC⁽⁹⁾.

Assim, qualquer distúrbio a nível destes receptores contribui para uma perda da tolerância imunitária, constituindo por isso, importantes alvos numa terapêutica futura. Como se pode verificar, as próprias bactérias comensais são também essenciais na manutenção da tolerância oral. Na DC verifica-se alteração na microflora intestinal.

O balanço entre as células TCD4⁺ efectoras e as células Tr é essencial para a manutenção da homeostasia da mucosa⁽³³⁾. Os principais tipos de células Tr são as células Tr CD4⁺/CD25⁺, Tr1, células Th3 e as células TCD8⁺/CD28⁻. Estas células, através da produção das citocinas IL-10 e TGF- β , inibem a produção de IL inflamatórias pelos macrófagos e diminuem a activação das células Th1 e de CAA, podendo constituir terapêuticas potenciais em doenças induzidas por este tipo de células⁽³³⁾.

Em indivíduos normais, existe um equilíbrio entre as células TCD4⁺ efectoras e as Tr. No entanto, na DC verifica-se ocorre um desequilíbrio entre estes dois tipos de células: as primeiras com respostas inflamatórias excessivas e as segundas com actividade de supressão inflamatória diminuída⁽³³⁾.

Polimorfismos no gene NOD2/CARD15 originam um defeito no reconhecimento da flora, o que contribui para a diminuição da tolerância oral.

O quadro 4 faz um resumo dos principais mecanismos responsáveis pela indução da tolerância oral.

Pontos chave

Tolerância oral

A tolerância oral em indivíduos normais é mediada pelas CEI, células Tr, linfócitos B, CD e bactérias comensais

As CEI, com as suas *tight junctions*, produção de muco, imunoglobulinas e defensinas, impedem o contacto directo dos antigénios bacterianos comensais com o tecido folicular e o consequente desenvolvimento de respostas inflamatórias.

As CD estimulam as células Tr devido à produção de IL-10, IFN- α/β e TGF- β

Existem diversos mecanismos que asseguram a tolerância via TLR

As bactérias comensais activam o PPAR γ , o que impede activação do NF- κ B e a produção de citocinas pró-inflamatórias

A existência de um equilíbrio entre células Tr e efectoras permite a manutenção da homeostasia intestinal

Todos estes mecanismos estão alterados na DC

Quadro 4 – Pontos chave na tolerância oral

CAPÍTULO VII

7.1 O papel do sistema imunitário na DC

Os grandes avanços científicos nas últimas décadas permitiram um profundo conhecimento no que diz respeito às alterações imunitárias observadas na DC. E sem dúvida que essas alterações são enormes.

Embora os factores genéticos e ambientais contribuam em larga medida para os distúrbios imunológicos observados nesta doença, a compreensão dos mecanismos imunitários ajuda-nos a definir novas bases de tratamento⁽³³⁾.

7.1.1 Imunidade inata

A descoberta da associação da DC com mutações a nível dos genes NOD2/CARD15 e TLR, cujos produtos são encontrados em células da imunidade inata, fez aumentar o interesse por este tipo de resposta imunitária⁽¹³⁾.

Activação do NF- κ B estimula a expressão de diversas moléculas relevantes para a patogénese da DC: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-23, TNF- α , moléculas de adesão e moléculas co-estimuladoras (CD40, CD80, CD86)⁽²⁶⁾ essenciais para a interacção entre os vários elementos do sistema imunitário, nomeadamente para activação das células T.

Na DC, os macrófagos e as CD não só estão aumentadas em número, como também expressam de forma exagerada TLR2 e TLR4, moléculas co-estimuladoras e produzem mais citocinas pró-inflamatórias como IL-12 e IL-6, com a consequente activação de células Th1⁽¹³⁾. Além disso, as CD produzem menos IL-10, o que diminui as respostas reguladoras⁽²³⁾. A tabela 2 representa os vários tipos de citocinas inflamatórias predominantemente produzidas pelo sistema imunitário inato.

Grupos de citocinas inflamatórias produzidas pelo sistema imunitário inato na DC			
Citocina	Células produtoras	Células alvo	Efeitos
IL-1	Monócitos/ macrófagos, fibroblastos; células epiteliais; células B	Todas as células	Aumenta a produção de moléculas de adesão; recrutamento de neutrófilos e macrófagos; aumento da produção hepática de proteínas de fase aguda
IL-6	Monócitos/macrófagos; fibroblastos; células epiteliais e endoteliais	Células T; células B, células epiteliais; monócitos/macrófagos	Aumento da produção de proteínas de fase aguda; diferenciação e crescimento das células T e B
IL-8	Monócitos/macrófagos; células T; neutrófilos; fibroblastos; células endoteliais e epiteliais	Neutrófilos; células T; monócitos/macrófagos; células endoteliais e basófilos	Induz a migração de neutrófilos, monócitos e células T; aderência dos neutrófilos às células endoteliais e a libertação de histamina pelos basófilos
IL-12	Macrófagos, CD, neutrófilos;	Células T e NK	Induz a formação de células Th1 e aumenta a actividade das células citotóxicas TCD8+
IL-18	Macrófagos	Células T e B; macrófagos	Aumenta a produção de IFN- γ ; aumenta a citotoxicidade das NK
IL-23	CD; monócitos/macrófagos	Células Th17	Estimula a produção de IL-17, TNF- α e IL-6
TNF-α	Monócitos/macrófagos; mastócitos; basófilos, eosinófilos; NK, células B, células T, células epiteliais	Todas as células excepto os eritrócitos	Aumento da citotoxicidade dos leucócitos; aumento da função das NK; induz a produção de citocinas pró-inflamatórias e de proteínas de fase aguda; recrutamento de neutrófilos; produção de moléculas de adesão; activação da coagulação

Tabela 2- Citocinas inflamatórias produzidas pelo sistema imunitário inato na DC. Fonte: Tabela traduzida de . Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: McGraw Hill, Health; Professions Division; 2008.

Note-se que, embora estas citocinas sejam também produzidas por outros tipos de células, o seu aumento na DC deve-se, sobretudo, ao sistema imunitário inato.

As células de Paneth também têm um contributo importante. Na DC, a mutação do gene NOD2 diminui a produção das defensinas por estas células, o que reduz a resistência contra os microorganismos entéricos.

As moléculas de adesão, de que são exemplo a ICAM-1 e as integrinas, são essenciais para a migração dos leucócitos para o foco inflamatório. A sua produção está aumentada na DC.

O TNF- α é um dos mediadores mais importantes nesta doença. É produzido por vários tipos de células e tem entre outras funções, a produção de moléculas de adesão e citocinas inflamatórias, apoptose celular, recrutamento de neutrófilos para os locais de inflamação, activação da coagulação e indução da formação de granulomas⁽³⁴⁾.

Vários estudos demonstraram um aumento do TNF- α no soro, fezes e mucosa intestinal de indivíduos com DC⁽³³⁾. Um desequilíbrio entre a secreção e a inibição do TNF- α poderá estar implicado na patogénese da doença⁽³⁵⁾. O bloqueio do TNF- α por anticorpos monoclonais (infiximab) diminui as respostas Th1, sendo por isso usado como uma forma de tratamento eficaz na DC moderada a severa, com melhorias em termos clínicos e endoscópicos⁽²⁶⁾.

O TL1A, recentemente identificado como membro da família do TNF- α , está aumentado na DII⁽³¹⁾. É produzido pelas CD e actua nas células TCD4+, onde estimula a produção de IFN- γ ⁽³¹⁾. Mutações no gene do TL1A aumentam a susceptibilidade para a DC⁽³¹⁾.

O sistema imunitário inato tem um importante papel no controlo da invasão das bactérias luminais e na prevenção de respostas pró-inflamatórias de longa duração⁽²³⁾. Qualquer falha nestes mecanismos pode estar na origem da DC.

7.1.2 Imunidade adaptativa

O sistema imunitário adaptativo desempenha um papel essencial na patogénese da DC. A natureza das respostas imunitárias e o tipo de citocinas produzidas está sob o controlo genético e determina as características do processo inflamatório⁽³¹⁾.

7.1.2.1 Respostas das células T e B

Dois tipos de células TCD4⁺ efectoras, Th1 e Th2, causam uma inflamação crónica intestinal, predominando na DC um padrão de respostas Th1 e na CU o padrão Th2. A IL-12 produzido por CAA induz a formação de células Th1 produtoras de IFN- γ , IL-2 e TNF- α . Por sua vez a IL-4 estimula a produção de IL-5 e IL-10 pelas células Th2⁽³¹⁾. Os principais tipos de citocinas inflamatórias produzidas na DC pelo sistema imunitário adaptativo estão representados na tabela 3.

Para a inflamação na DC, contribui uma resposta exagerada das células Th1 aos componentes da microflora intestinal⁽¹¹⁾. Estas células, têm entre outras funções, o aumento da expressão de moléculas MHC-II nas CAA, a activação de células T citotóxicas (TCD8+), activação de macrófagos e a produção de IgG pelos linfócitos B⁽³⁶⁾ (Figura 9).

Citocinas inflamatórias produzidas pelo sistema imunitário adaptativo na DC			
Citocinas	Células produtoras	Células alvo	Efeitos
IFN- γ	Células Th e NK	Todas as células	Regula a activação dos macrófagos e NK; estimula a secreção de Ig pelas células B; aumenta a expressão de moléculas MHC-II; estimula a produção de células Th1
IL-17	Células TCD4+	Fibroblastos, endotélio e epitélio	Aumento da secreção de citocinas que estimulam as respostas Th1;

Tabela 3- Grupo de citocinas inflamatórias produzidas pelas respostas imunitárias adaptativas na DC. Tabela traduzida e adaptada de Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: McGraw Hill, Health; Professions Division; 2008.

Para além deste tipo de respostas imunológicas, existe outra que se tem vindo a dar cada vez mais atenção: IL-23/IL-17. Estas citocinas estão aumentadas nos tecidos de indivíduos com D.C.⁽²⁶⁾.

A IL-23, produzido pelas CAA, tais como as CD e macrófagos, estimula a produção de IL-17, TNF- α e IL-6 pelas células Th17⁽³¹⁾ (Figura9). A IL-17 tem uma potente actividade pró-inflamatória que induz a produção de citocinas que aumentam as respostas Th1, quimiocinas, factores de crescimento (G-CSF, GM-CSF, IL-6) e moléculas de adesão pelas células epiteliais, endoteliais e fibroblastos⁽³⁷⁾.

Embora se considere que a DC seja mediada por células Th1 devido aos elevados níveis de IL-12 e IFN- γ detectados, novos achados sugerem que a IL-23 é uma citocina chave na inflamação intestinal⁽³¹⁾. Num estudo realizado por Yen D et al, verificou-se que, em modelos animais, o desenvolvimento de colite estaria suprimido pela deficiência de IL-23 mas não de IL-12 e que a administração de IL-23 acelera o início de colite⁽³⁸⁾. Esta supressão é devida à subsequente inibição da IL-17.

Apesar destes resultados, o papel das células Th1 não deve ser excluído, uma vez que a IL-12/IFN- γ e a IL-23/IL-17 são vias paralelas na DC. No entanto, elas são mutuamente exclusivas, uma vez que o IFN- γ suprime a IL-17 e vice-versa⁽²⁶⁾.

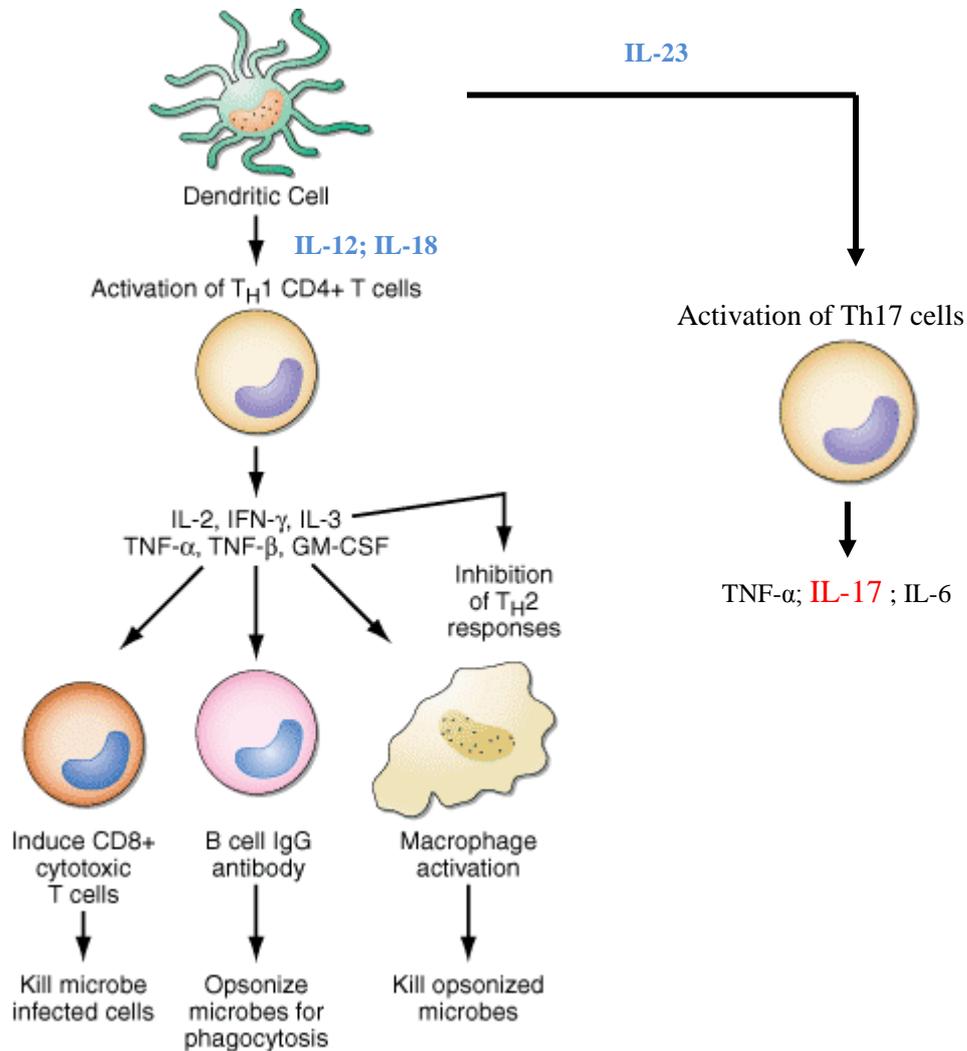


Figura 9 –Ativação do sistema imunitário adaptativo na DC e suas funções.

As CD ou outras CAA produzem IL-12 e IL-23, citocinas responsáveis pela activação de células Th1 e Th17, respectivamente.

As células Th1, pela produção de várias IL, nomeadamente a IL-2, TNF- α e IFN- γ , estimulam a acção células citotóxicas TCD8+, dos macrófagos e a produção de IgG pelos linfócitos B.

As células Th17 produzem IL-17, TNF- α e IL-6. A IL-17 é responsável pela produção de citocinas que promovem as respostas Th1, de quimiocinas, factores de crescimento (G-CSF, GM-CSF, IL-6) e moléculas de adesão pelas células epiteliais, endoteliais e fibroblastos

Figura adaptada de Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: McGraw Hill, Health; Professions Division; 2008.

Sendo assim, quer a resposta Th1 quer o eixo IL-17/IL-23 devem ser considerados da maior importância para a patogênese da DC.

A diminuição das células Tr, tal como referido anteriormente, contribui para o desenvolvimento de uma resposta inflamatória excessiva.

Para além das alterações nas células T, também as células B se encontram afectadas. A produção de IgG, principalmente o IgG2, está aumentada a nível sistémico assim como na mucosa intestinal de doentes com Crohn⁽¹³⁾.

A figura seguinte faz um resumo das alterações imunitárias na DC

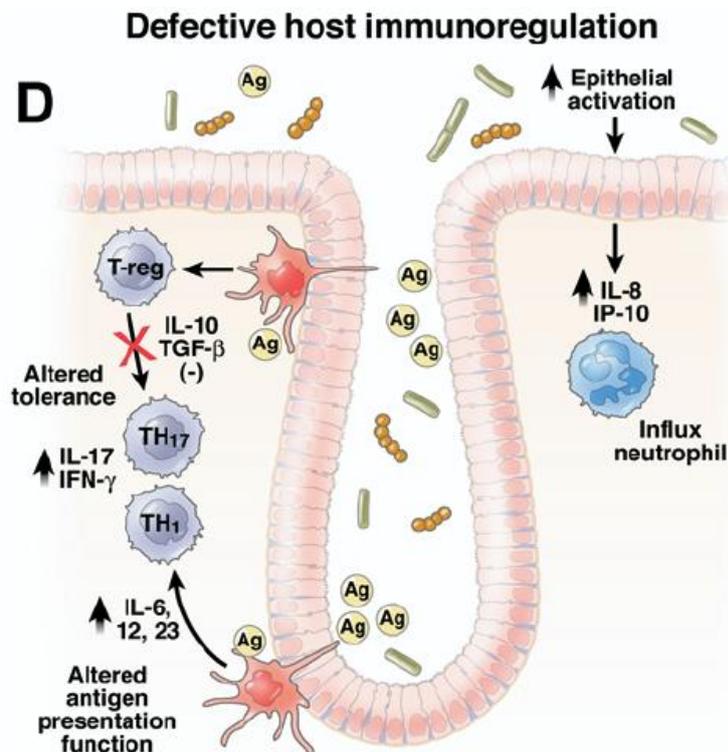


Figura 10 – Defeitos da imunorregulação na DC. Respostas imunitárias inatas inadequadas, quer pelas CAA ou pelas CEI, induzem respostas inflamatórias através da secreção de quimiocinas e IL pró-inflamatórias. Disfunção das células Tr ou CAA originam respostas T agressivas. Fonte: Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterol 2008;134:577-94.

7.1.3 Apoptose celular

Um aspecto importante a ter em consideração quando se fala dos mecanismos imunológicos na DC, diz respeito à capacidade de expansão das células TCD4⁺ efectoras. Em virtude do grande estado de activação destas células, um aumento da apoptose é necessário para manter a homeostase imunitária intestinal. Na DC ocorre uma diminuição dessa susceptibilidade à apoptose.

Num estudo realizado por Ina K et al, verificou-se que nos doentes com Crohn, as células T são mais resistentes à apoptose induzida pelo antigénio Fas, TNF, óxido nítrico e pela deprivação de IL-2⁽³⁹⁾. Estas anormalidades são devidas a uma alteração do balanço Bcl-2/Bax na mucosa. O Bcl-2 contribui para a protecção contra a apoptose enquanto o Bax a promove. Na DC, expressão do Bax está diminuída e a de Bcl-2 aumentada⁽³⁹⁾.

A insuficiente apoptose pode interferir com os mecanismos reguladores da tolerância à microflora intestinal e originar uma acumulação de células TCD4⁺ efectoras, o que contribui para a inflamação crónica característica da DC.

CAPÍTULO VIII

8.1 Disfunção da barreira epitelial intestinal

Num indivíduo normal, as bactérias são eficazmente excluídas do contacto com o sistema imunitário da mucosa por uma barreira epitelial intacta. Desta barreira fazem parte as células epiteliais, *tight junctions*, muco, IgA e as defensinas que, juntamente com outros factores luminiais tais como ácido gástrico, enzimas pancreáticas, ácidos biliares e peristaltismo, contribuem para evitar lesões na mucosa intestinal (Figura 11)⁽¹⁰⁾. Em situações normais, qualquer lesão na mucosa é rapidamente reparada por mecanismos de restituição. São os defeitos na barreira epitelial que vão permitir que o tecido folicular seja exposto a uma quantidade excessiva de antígenos bacterianos, com a consequente produção de citocinas pró-inflamatórias (Figura 11)⁽²⁶⁾. Evidências do aumento da permeabilidade intestinal são encontradas em indivíduos com DC.

As *tight junctions* (Figura 12) são formadas por uma variedade de proteínas de que são exemplo: a ocludina, moléculas de adesão juncionais e claudinas que determinam quais as moléculas que atravessam a barreira epitelial⁽⁴⁰⁾. Na DC foram identificadas alterações nestas proteínas⁽⁴⁰⁾. Alterações nas *tight junctions* permitem que os microorganismos ultrapassem a barreira epitelial e contactem com as células imunitárias.

Factores inflamatórios como o IFN- γ , TNF- α e IL-13 alteram as *tight junctions* e são responsáveis pela diminuição da função da barreira epitelial⁽⁴⁰⁾.

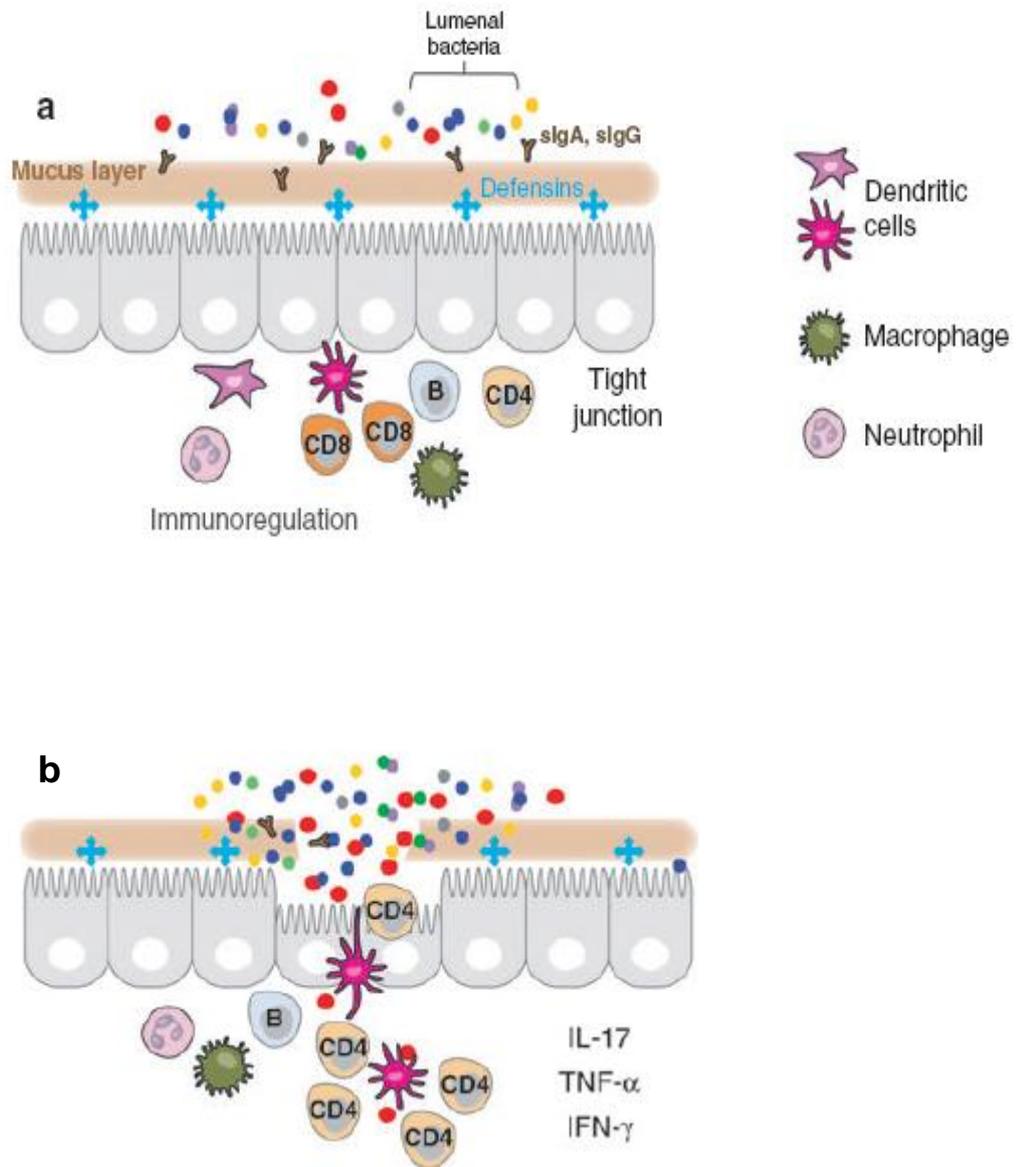


Figura 11 – Barreira epitelial íntegra vs barreira epitelial alterada.

a – Imunoregulação - Da barreira epitelial intestinal fazem parte as CEI, a camada de muco, as Igs e as defensinas. Todos estes factores contribuem para evitar lesões na mucosa intestinal. **b**- Disfunção da barreira epitelial - Quando existe uma alteração na barreira intestinal, as células efectoras TCD4+ são expostas a uma quantidade excessiva de antígenos bacterianos, o que origina uma resposta imunitária destrutiva e lesão tecidual. Figura adaptada de Braun J, Wei B. Body Traffic: Ecology, Genetics, and Immunity in Inflammatory Bowel Disease. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2007;2:401–29

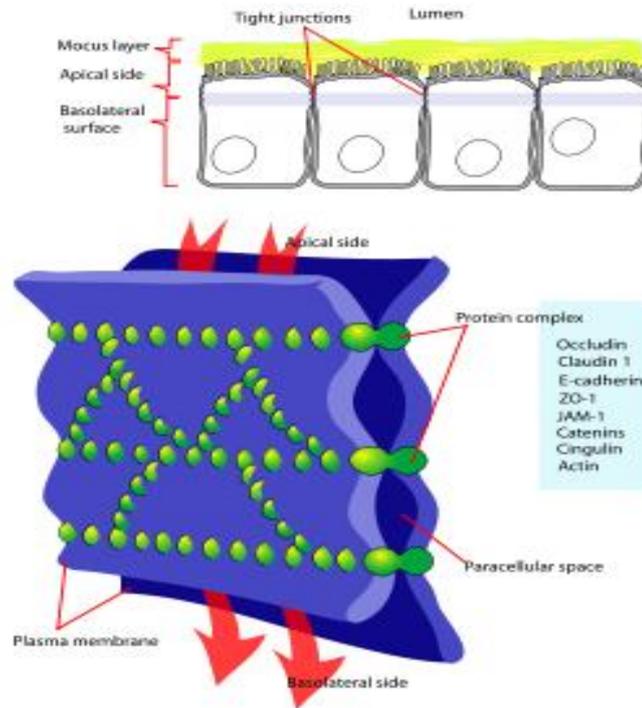


Figura 12- Estrutura das Tight junctions. Fonte: www.answers.com/topic/tight-junction

O TNF- α e a IL-13 para além de estimularem a expressão de uma tight junction específica, a claudina 2 que, de forma directa, aumenta a permeabilidade intestinal devido à formação de poros na membrana celular⁽⁴⁰⁾, também desencadeiam a apoptose das CEI. O TNF- α e o IFN- γ diminuem a expressão da ocludina (que diminui a passagem de moléculas na barreira epitelial) e estimulam a MLCK responsável pela fosforilação da miosina, o que altera os componentes do citoesqueleto das *tight junctions*⁽⁴¹⁾ (Figura13). Terapêutica anti-TNF- α permite restaurar a integridade do epitélio e diminuir a apoptose dos enterócitos⁽³³⁾. Num estudo realizado em 2007 por Zeissig S et al, verificou-se que, na DC, a claudina 2 está aumentada e as proteínas que reforçam a barreira epitelial – claudina 5, claudina 8 e ocludina têm a sua expressão diminuída⁽⁴²⁾.

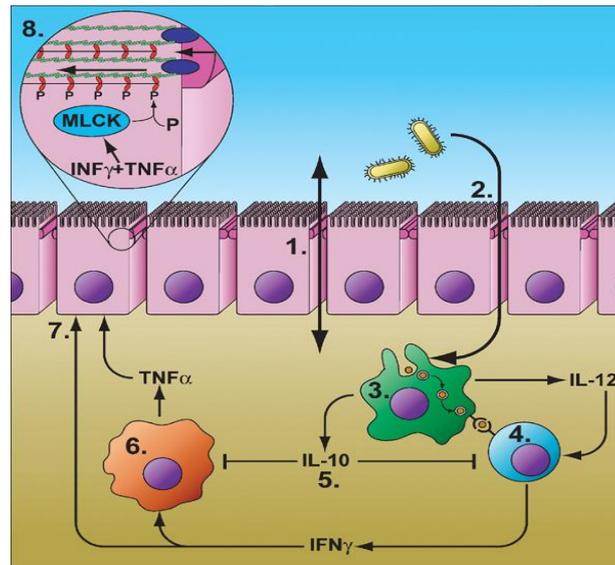


Figura 13 – Ativação da MLCK na DC. O TNF- α e o IFN- γ produzidos pelos macrófagos (6) e células Th1 CD4+ (4), estimulam a MLCK responsável pela fosforilação da miosina, o que altera os componentes do citoesqueleto das *tight junctions*. Fonte: www.nature.com

As CEI constituem uma barreira física à passagem de microorganismos e produzem factores que excluem as bactérias da lâmina própria – muco, IgA, IgG e as defensas. Mutações no gene NOD2 diminuem a sua produção, tendo como consequência o aumento da susceptibilidade às infecções. Além disso, alterações nos receptores TLR e na flora comensal reduzem a função de protecção da barreira epitelial. Dois genes associados com a DC e que afectam a permeabilidade da mucosa foram identificados: OCTN e DLG5. As mutações no gene do OCTN diminuem a oxidação dos ácidos gordos e aumentam o transporte de cationes orgânicos para o interior da célula, o que promove a lesão celular, enquanto as mutações no gene DLG5 alteram a produção de proteínas envolvidas na manutenção da integridade epitelial⁽²⁵⁾. Resumindo: A manutenção da função da barreira epitelial é essencial para a homeostasia intestinal e qualquer factor que altere esta barreira favorece o desenvolvimento de respostas inflamatórias.

Capítulo IX

9.1 O papel dos microorganismos na patogênese da DC

9.1.1 Microflora intestinal

A microflora intestinal é constituída por um conjunto complexo de bactérias essenciais para a saúde normal de um indivíduo. A sua concentração e complexidade aumentam do estômago até ao cólon, onde são atingidas as mais altas concentrações de bactérias (10^{11} - 10^{12} organismos/grama)⁽⁴³⁾ (Figura 14).

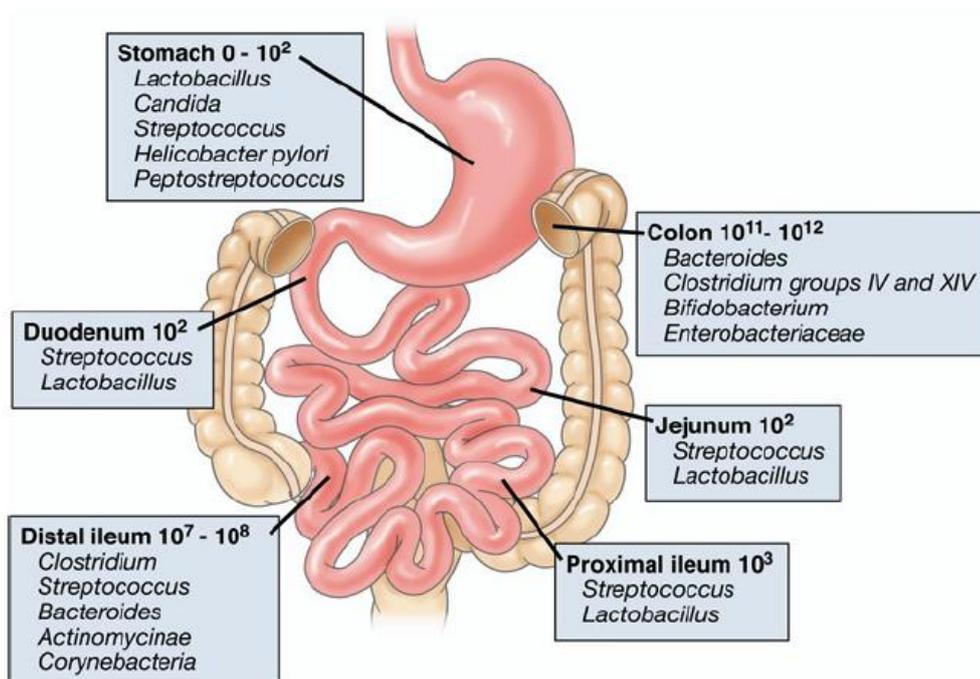


Figura 14 – Distribuição dos diferentes tipos de bactérias pelos segmentos do TGI. O seu número e complexidade aumentam do estômago ao cólon. Fonte: Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol* 2008;134:577-94.

Mais de 99% de todos estes microorganismos pertencem a quatro divisões de bactérias⁽⁴³⁾: Firmicutes (64%), Bacteroidetes (23%), Proteobacteria (8%), e Actinobacteria. Os géneros *Clostridium*, *Streptococcus* e *Lactobacillus* constituem o primeiro grupo; a *E.coli* pertence à divisão Proteobacteria e do último fazem parte os géneros *Actinomyces*, *Corynebacterium* e *Bifidobacterium*.

A microflora intestinal forma uma barreira de defesa natural e exerce numerosos efeitos protectores, estruturais e metabólicos no epitélio intestinal, tal como indicado no quadro 5.

Funções da microflora intestinal
Síntese de aminoácidos e vitaminas (folatos, biotina, Vitamina Ke vitaminas do complexo B)
Produção de ácidos gordos de cadeia curta (butirato) a partir de fibras da dieta (<i>Clostridium</i> e <i>Bifidobacterium</i>). Estes ácidos gordos têm características anti-angiogénicas e anti-proliferativas e constituem a principal fonte de energia dos enterócitos ⁽⁴³⁾
Atenuação das respostas pró-inflamatórias induzidas por bactérias patogénicas, devido ao aumento do PPARG (fig.15) ⁽⁴⁴⁾
Indução e manutenção das células reguladoras TCD4+CD25+ ⁽⁴⁵⁾
Manutenção da integridade do epitélio intestinal através da interacção com os receptores TLR ⁽⁴⁶⁾
Produção de factores anti-microbianos, por exemplo acido láctico e bacteriocinas ⁽³²⁾

Quadro 5- Funções da microflora intestinal

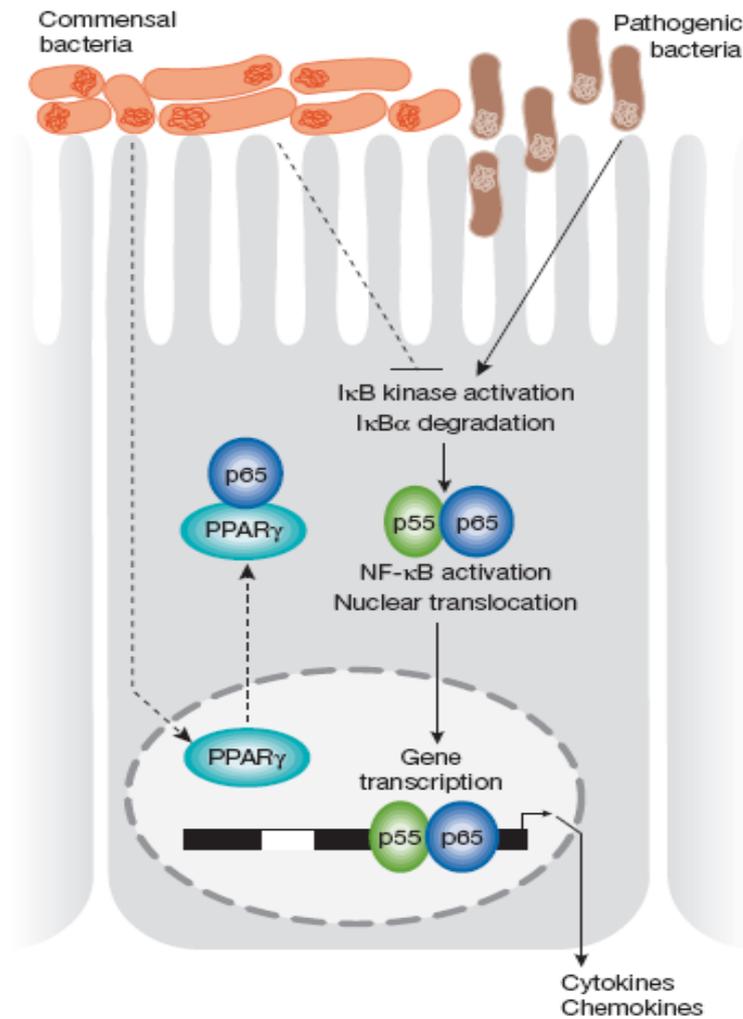


Figura 15- Acção da flora comensal na atenuação das respostas pró-inflamatórias induzidas por bactérias patogénicas.

As bactérias patogénicas activam a quinase IκB, promovem a degradação do IκBα e a migração nuclear das sub-unidades p55 e p65 do NF-κB. Algumas bactérias comensais activam o PPARγ que impede activação do NF-κB devido à exportação nuclear de uma das suas subunidades, o p65. Outras bactérias comensais inibem a degradação do IκBα e a activação da quinase IκBα. Fonte: O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO 2006 Feb 23;7:688-93.

Apesar de todas estas importantes funções, os microorganismos que constituem a flora intestinal podem ser responsáveis pelo desenvolvimento da DC em indivíduos geneticamente predispostos e no contexto de uma desregulação imunitária. Desde que vários modelos animais geneticamente alterados não desenvolvem colite na ausência de microorganismos, que cada vez mais a microflora intestinal tem sido considerada como

um dos mais importantes factores no desenvolvimento da DC⁽⁴⁷⁾. No entanto, o papel exacto da microflora ainda não está totalmente estabelecido.

Existem algumas diferenças na composição da microflora em indivíduos com DC comparativamente com indivíduos saudáveis (Tabela 4).

Indivíduos normais	Indivíduos com DC
Elevada biodiversidade	Baixa biodiversidade
Microbiota estável	Disbiose
Aumento dos agentes comensais	Aumento de agentes patogénicos
Elevada quantidade de Firmicutes	Diminuição da quantidade de Firmicutes

Tabela 4- Diferenças entre os microorganismos intestinais de indivíduos normais e com DC. Tabela traduzida de: Shih DQ et al 2008.

Na DC, a redução da biodiversidade em cerca de 30-50% resulta de uma diminuição das bactérias anaeróbias normais tais como *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Eubacterium* e *Lactobacillus*⁽²⁶⁾. Para além do *Lactobacillus*, verifica-se uma redução de bactérias do género *Clostridium*⁽⁴⁷⁾, importantes produtoras de butirato, o que tem consequências no aumento da fragilidade do epitélio intestinal (Figura16). A biodiversidade é importante, porque permite que vários processos, como por exemplo, a produção ou quebra de nutrientes sejam asseguradas e, além disso, evita flutuações caóticas das subpopulações bacterianas, o que impede a lesão da mucosa intestinal⁽²⁶⁾.

Vários agentes patogénicos são aqui encontrados com maior frequência e estão associados com o desenvolvimento da DII: *Pectinatus*, *Sutterella*, *Fusobacterium*,

Verrucomicrobium, *Clostridia*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Listeria monocytogenes* e *Helicobacter hepaticus*⁽²⁶⁾. Esta alteração na composição da microflora intestinal é designada disbiose. Gera-se um desequilíbrio entre as espécies comensais e as bactérias agressivas, o que contribui para o desenvolvimento de um ambiente pró-inflamatório e uma inflamação intestinal crônica em indivíduos susceptíveis⁽¹¹⁾ (Figura16).

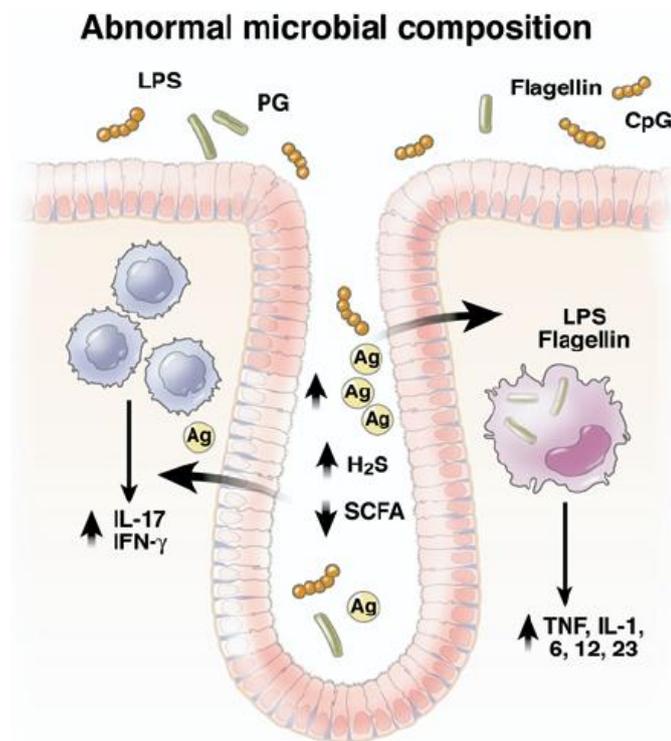


Figura 16 – Composição anormal da microflora intestinal e seus efeitos.

A diminuição da produção de bactérias protectoras que produzem butirato pode aumentar a permeabilidade intestinal. Por sua vez, o aumento das bactérias agressivas estimula o desenvolvimento de respostas imunitárias patogénicas ou o aumento de metabolitos tóxicos como o hidróxido sulfúrico que bloqueia a produção de butirato e aumenta a permeabilidade intestinal. Fonte: Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. Gastroenterol 2008;134:577-94.

Vários componentes da dieta podem alterar a composição das bactérias comensais, o que pode explicar o aumento da incidência da DC na última metade do século XX⁽¹¹⁾. Apesar das diferenças encontradas na microflora, é preciso ter em atenção que a disbiose em pacientes com DC pode não ser a causa, mas simplesmente reflectir as diferentes condições ecológicas que surgem como resultado da mucosa intestinal inflamada⁽²⁶⁾.

Vários estudos realizados consideram que a microflora comensal normal é essencial para o desenvolvimento de uma colite experimental: a inflamação não se desenvolve em ambientes estéreis, mas uma vez introduzida a flora normal, uma inflamação é rapidamente desencadeada⁽¹³⁾. Existem um conjunto de evidências que implicam as bactérias comensais na patogénese da DC e estão descritas no Quadro 6.

Porque ocorre uma resposta anormal às bactérias comensais normais ainda não está totalmente claro, mas perturbações no seu reconhecimento (por mutações no gene NOD2 e TLR) poderá ser uma das explicações.

Concluindo: apesar das importantes funções, as bactérias comensais têm também um importante contributo para a patogénese da DC, embora ainda não totalmente estabelecido.

9.1.2 Agentes patogénicos específicos

Uma das hipóteses etiológicas para o desenvolvimento da DC considera que esta doença é causada por uma infecção persistente por um microorganismo específico. Vários agentes patogénicos tais como *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *CMV*, *E.Coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia*, *Helicobacter*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas maltophilia*, *Mycobacterium Kansasii*,

Chlamydia Trachomatis, têm sido apontados como possíveis causas⁽⁴⁸⁾. No entanto, ainda existe muita controvérsia nesta relação.

Evidências que implicam as bactérias comensais no desenvolvimento da DC⁽⁴²⁾

Na maioria dos estudos com modelos animais, a inflamação intestinal não se desenvolve na ausência de bactérias comensais

As lesões na DC ocorrem principalmente nos segmentos com as mais altas concentrações de bactérias: íleon e cólon

Os antígenos bacterianos estimulam respostas das células Th1 e Th17

Na DII existe uma grande concentração de bactérias em contacto com o epitélio intestinal

O desvio cirúrgico do trânsito intestinal previne o reaparecimento da DC; a sua restauração induz recorrência

Modulação da flora entérica com antibióticos e probióticos atenua a inflamação

Quadro 6 - Evidências que implicam as bactérias comensais no desenvolvimento da DC. Adaptado e traduzido de: Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol* 2008;134:577-94.

9.1.2.1 *Mycobacterium avium paratuberculosis*

O MAP (Figura17) é o agente que mais tem sido alvo de investigações no sentido de se estabelecer alguma relação com a DC. É uma micobactéria atípica, que causa a doença de Johne, uma infecção sistémica e uma inflamação crónica do intestino

que afecta os ruminantes e outros animais, e que é muito idêntica à DC. Mas os resultados dos vários estudos realizados têm sido controversos. Há quase 90 anos que a comunidade científica ainda discute este problema, não conseguindo chegar a nenhum consenso. Por isso, nos quadros seguintes (Quadros 7 e 8) são apresentados os argumentos a favor e contra esta associação,

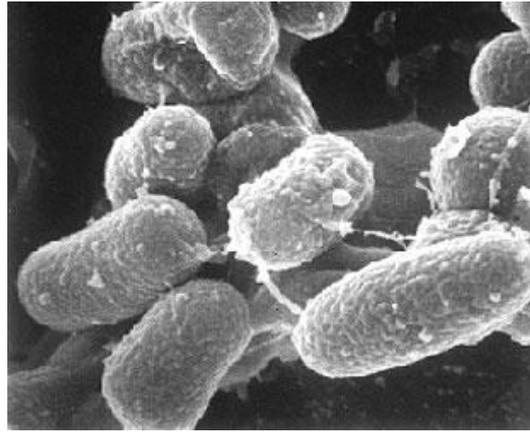


Figura 17– *Mycobacterium avium paratuberculosis*.

Fonte: www.johnes.org/sheep/faqs.html

reunidos por Sartor RB e adicionando-se outros também relevantes.

Embora existam evidências que nos permitem afirmar que o MAP não está implicado na DC, existem outras que não nos permitem excluir com toda a certeza a possibilidade desta associação. Sartor RB considera que, para por fim a todas estas especulações, é essencial o desenvolvimento de estudos cuidadosamente planeados, com técnicas de detecção sensíveis e específicas e postos em prática por investigadores sem ideias pré-concebidas sobre este tema, no sentido de determinar se esta bactéria é a causa da DC em indivíduos geneticamente predispostos ou, se pelo contrário, apenas coloniza a mucosa ulcerada destes doentes, não sendo a responsável pelo desencadear da inflamação⁽⁴⁹⁾.

Além disso, seria fundamental uma melhor compreensão da relação do MAP com a DC e do benefício da utilização de agentes anti-micobacterianos e apostar em investigações sobre a influência do NOD2/CARD15 na infecção ou na eliminação intracelular do MAP⁽⁴⁹⁾. Tendo em consideração que a prevalência da DC tem vindo a aumentar, torna-se pois imperativo resolver este paradigma.

Argumentos a favor

Semelhanças clínicas e patológicas entre a DC e a doença de Johne

O ADN da bactéria foi detectada em doentes com DC por métodos de cultura, PCR e FISH.

Hemoculturas positivas do MAP em indivíduos com DC.

Anticorpos contra proteínas do MAP foram identificados na DC.

Identificação da bactéria em amostras de leite materno, leite de vaca pasteurizado e seus derivados

Mais de 70% dos indivíduos com DC são portador de pelo menos uma mutação no gene NOD2/CARD15 e estão infectados com o MAP⁽⁵⁰⁾. Uma deficiente função do gene permite a aderência e invasão epitelial e resulta numa clearance ineficaz do microorganismo

Respostas terapêuticas a uma combinação de fármacos anti-tuberculostáticos que incluem antibióticos macrólidos

Quadro 7- Argumentos a favor da associação do MAP com a DC. Tabela adaptada e traduzida de Sartor RB. Does *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cause Crohn's disease? Gut 2005;54:896-98.

Argumentos contra

Diferenças clínicas e patológicas entre a DC e Doença de Johne

Falta de suporte epidemiológico em relação à transmissibilidade da infecção.

Proliferação do MAP com a terapêutica anti-TNF- α e corticoterapia e com a infecção concomitante por VIH

Ausência de diferenças na serologia entre os pacientes com DC (37,8%), CU (34,7%) e os casos controlo (33,6%)⁽⁵¹⁾

Incapacidade de detecção da membrana celular micobacteriana pela coloração imunohistoquímica

Variabilidade na detecção do MAP por PCR – 0-100% na DC e CU

Ausência de respostas terapêuticas aos antibióticos anti-micobacterianos tradicionais

As mutações no gene NOD2/CARD15 estão associadas com uma doença fibro-estenotante e de aparecimento precoce, localizada preferencialmente a nível do íleon. No entanto, o MAP foi detectado principalmente a nível do cólon, não se encontrando associado nem com DC mais precoce nem com doença estenosante.

Os resultados positivos obtidos em vários estudos que comprovam a associação do MAP com a DC, podem ser devidos à identificação de sequências de outras bactérias, sequências essas que também são encontradas noutros ambientes e micobactérias⁽⁵²⁾

O MAP pode contaminar os meios de cultura ou as várias sequências de ADN obtidas por PCR. Qiurke P verificou que os seus resultados positivos não eram confirmados quando utilizava métodos que evitavam a contaminação pela bactéria⁽⁵³⁾.

Quadro 8 - Argumentos contra a relação do MAP com a DC. Tabela adaptada e traduzida de Sartor RB. Does *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cause Crohn's disease? Gut 2005;54:896-98.

9.1.2.2 *Escherichia coli* aderente - invasiva

A *E.coli* (Figura18) é uma bactéria gram-negativa com importantes funções na manutenção da homeostasia intestinal e que raramente causa doença. No entanto, existem algumas estirpes patogénicas que têm a capacidade de desencadear potentes repostas inflamatórias.

Vários estudos demonstraram a associação da DC com uma estirpe de *E.coli* com propriedades invasivas – ECAI - LF82^(54;55). Foi identificada em 65% de todas as ressecções do íleon e em 36% das biópsias do íleon terminal em indivíduos com DC⁽⁴³⁾.

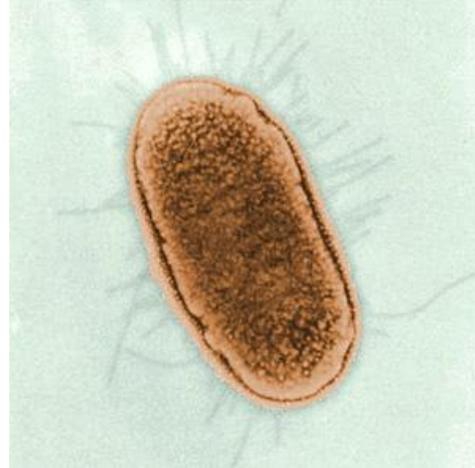


Figura 18- *E. coli*. Fonte: www.flickr.com/photos/ajc1/2125064794/

Esta bactéria adere através das pili tipo 1 à CEACAM6 que, na DC, é expressa de forma patológica pelas CEI⁽⁵²⁾. Após esta adesão, a interacção da flagelina com o TLR5 dos enterócitos, desencadeia a libertação de quimiocinas (IL-8) e a consequente migração de leucócitos. A capacidade invasiva das bactérias permite-lhes ultrapassar a barreira epitelial e multiplicar-se no interior dos macrófagos onde induzem a produção de TNF- α e IFN- γ (Figura19). A acção destas citocinas nos enterócitos, juntamente com a invasão pela bactéria, induz a sobre-expressão da CEACAM6 na superfície da mucosa, o que amplifica a colonização e inflamação⁽⁴³⁾(Figura 19).

A ECAI está envolvida na formação de granulomas: pensa-se que a bactéria induz a formação de células gigantes multinucleadas através da fusão dos macrófagos e estimula o recrutamento de linfócitos, formando-se agregados de células muito idênticos aos granulomas epitelióides⁽⁵²⁾.

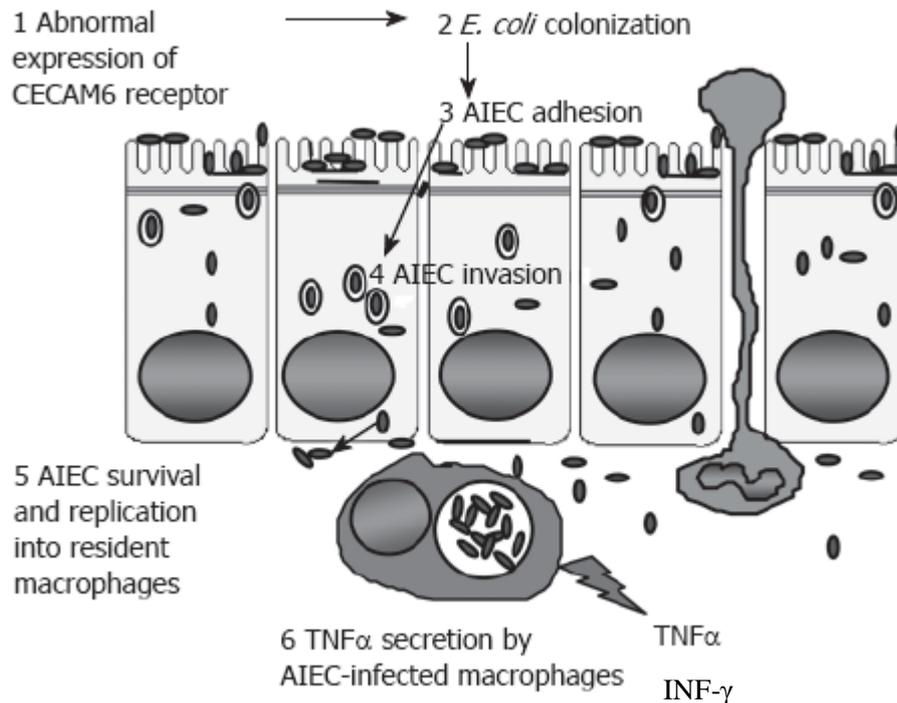


Figura 19- Mecanismos de lesão da bactéria ECAI nas CEI.

(1)- A expressão anormal da CEACAM6 na mucosa do íleon de indivíduos com DC permite (2) que a ECAI possa aderir à mucosa (3) e invadi-la (4). A interação da flagelina com o TLR5 dos enterócitos, desencadeia a liberação de quimiocinas e a consequente migração de macrófagos. Após a invasão do epitélio, as bactérias multiplicam-se no interior dos macrófagos (5), onde estimulam a produção de TNF- α e IFN- γ (6). Estas citocinas, juntamente com a invasão bacteriana, estimulam a expressão da CEACAM 6 na superfície epitelial. Figura adaptada de: Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Role of bactéria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007 Nov 14;13(42):5571-76.

Em indivíduos geneticamente predispostos, a bactéria ECAI está altamente associada a uma lesão da mucosa do íleon devido a uma expressão aumentada da CEACAM6 neste segmento⁽⁵⁶⁾

A diminuição da produção de defensinas pelas mutações no NOD2, juntamente com o aumento da expressão da CEACAM6, facilitam a colonização das bactérias e o desenvolvimento de processos inflamatórios tão característicos da DC⁽⁵⁶⁾ (Figura 20).

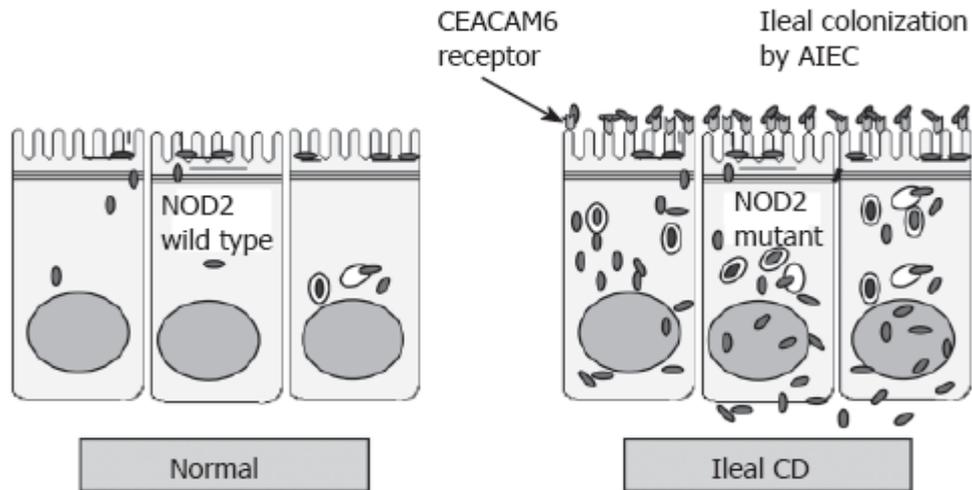


Figura 20 – Comparação na expressão da CEACAM6 em indivíduos normais e naqueles com DC. Doentes com aumento da expressão da CEACAM6 e com mutações no NOD2, são aqueles com maior probabilidade de lesão epitelial.

Fonte: Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Role of bactéria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007 Nov 14;13(42):5571-76.

9.1.2.3. Bactérias psicotrópicas

A “hipótese da corrente fria” considera que a DC resulta do aumento da exposição a microorganismos que sobrevivem a baixas temperaturas – bactérias psicotrópicas, de que são exemplo a *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus*⁽⁴⁸⁾. A utilização da refrigeração na preparação e armazenamento dos alimentos teve como consequência o aumento da ingestão destes microorganismos.

Vários estudos demonstraram a presença da *Yersinia enterocolitica* ou *Yersinia pseudotuberculosis* em doentes com Crohn, embora considerem que mais trabalhos sejam necessários para confirmar esta hipótese⁽⁵⁷⁾. A *Yersinia enterocolitica* estimula a libertação de citocinas inflamatórias, invade as placas de Peyer, estimula a produção de microabcessos e a ulceração do epitélio intestinal⁽⁵²⁾. Em relação ao envolvimento da *Listeria monocytogenes*, mais estudos são necessários para confirmar a sua relação com

a DC. No entanto, sabe-se que a deficiência de NOD2 e a consequente diminuição da produção de defensinas em modelos animais aumenta a susceptibilidade para a infecção desencadeada por este microorganismo⁽⁵²⁾.

9.1.2.4 Vírus

Os paramixovírus, o CMV e o VEB têm sido apontados como possíveis agentes no desencadeamento da DC.

Os achados de partículas de paramixovírus na DC é um argumento a favor da possível correlação dos vírus com esta doença. Wakefield AJ et al referem que o vírus do sarampo é capaz de originar uma infecção intestinal persistente e que a DC pode ser causada por uma vasculite granulomatosa em resposta a estes vírus⁽⁵⁸⁾. Há outros estudos que consideram que uma história de sarampo em criança é mais frequente em doentes com Crohn, mas que esta relação permanece por definir⁽⁵⁹⁾. Também Thompson et al estabeleceram uma possível associação entre a vacinação contra o sarampo e a DC, tendo verificado que o grupo vacinado tem um risco três vezes superior de desenvolver a doença⁽⁶⁰⁾.

Um trabalho realizado em 2007 não conseguiu comprovar estas hipóteses⁽⁶¹⁾. Verificou-se que a seropositividade para os paramixovírus é idêntica nos doentes controlo, nos pacientes com DC assim como na CU, o que põe em causa a relação entre a aquisição de sarampo, papeira ou rubéola (por infecção natural ou vacinação) e a DC⁽⁶¹⁾. O declínio progressivo da infecção pelo vírus do sarampo na última década e o aumento concomitante da DII nesse mesmo período, coloca em causa o papel etiológico deste vírus na DC⁽²⁵⁾.

Também existe muita controvérsia em relação à possível relação com o CMV e VEB, sendo por isso necessárias mais investigações⁽⁵²⁾.

CAPÍTULO X

10.1 Tratamento médico baseado na etiologia e patogénese

A DC não é curável médica ou cirurgicamente, por isso, os objectivos da terapêutica continuam a ser a indução e manutenção da remissão, restabelecimento e manutenção de um bom estado nutricional e melhoria da qualidade de vida⁽³⁾. A escolha depende da severidade e localização da doença, dos seus efeitos secundários, se se pretende induzir uma remissão ou se é necessária uma terapêutica de manutenção, de aspectos emocionais e sociais, e da eficácia comprovada e perfil de segurança dos fármacos⁽³⁾.

Em termos gerais, os fármacos mais usados para controlar esta doença são os aminossalicilatos, os corticóides, antibióticos, os imunossuppressores e as terapêuticas biológicas. No entanto, ainda há casos que não respondem totalmente a estas terapêuticas. Os salicilatos, o budenosido e os antibióticos são os fármacos mais usados como primeira linha na DC com actividade ligeira, enquanto os imunossuppressores, infliximab e corticóides sistémicos estão reservados para os casos de actividade moderada a grave⁽³⁾

De seguida, são descritas as várias terapêuticas usadas actualmente tendo em conta a etiologia e patogénese da doença

10.1.1 Aminossalicilatos

Os aminossalicilatos (sulfassalazina, messalazina) são fármacos usados há longa data na indução da remissão e manutenção da DC ligeira.

Estes fármacos têm múltiplos efeitos anti-inflamatórios, incluindo a inibição da cicloxigenase, lipoxigenase, células B e citocinas inflamatórias. Os agentes 5-ASA activam o PPAR γ que inibe a activação do NF- κ B e o consequente desenvolvimento de respostas inflamatórias⁽⁶²⁾.

No entanto, a sua eficácia tem vindo a ser questionada, principalmente a messalazina, um dos fármacos mais usados na terapêutica da DC. Isto coloca em dúvida se realmente vale a pena utilizar este agente. Mas o facto é que nos diversos estudos efectuados, a percentagem de respostas à messalazina foi superior ao grupo placebo, o que significa que poderá haver um benefício que, embora pequeno, poderá ser importante nestes doentes⁽³⁾.

10.1.2 Glucocorticóides

Os corticóides tópicos ou sistémicos são potentes agentes usados no tratamento de várias formas de DC. Ligando-se a receptores intra-citoplasmáticos em vários tipos de células (leucócitos e células endoteliais), os corticóides podem atravessar a membrana nuclear e interagir com sequências de nucleótidos, reduzindo a produção de ácido araquidónico, de leucotrienos, prostaglandinas e citocinas inflamatórias, assim como inibir o NF- κ B⁽³⁾. Além disso, diminuem o recrutamento e proliferação de linfócitos, monócitos e macrófagos e a migração dos neutrófilos para os locais de inflamação⁽⁶²⁾.

Relativamente à sua utilização na DC, a Associação de Gastrenterologia Americana faz as seguintes recomendações⁽⁶³⁾:

- ❖ Doença leve a moderada: o budenosido (corticóide sintético com acção tópica, com pouca biodisponibilidade e reduzida toxicidade sistémica) está indicado no tratamento da doença com localização no íleon ou no cólon direito;

- ❖ Doença moderada a severa: corticóides sistémicos, tais como a prednisona, são a terapêutica de primeira linha. No entanto, o budenosido constitui uma razoável alternativa terapêutica de primeira linha em doentes com DC activa com actividade moderada com localização ileal ou ileo-cólica, o que evita os efeitos secundários dos corticóides sistémicos⁽³⁾.
- ❖ Doença severa e fulminante: hospitalização para administração de corticóides parenterais está indicada quando há falha na resposta aos corticóides orais ou em doentes com DC severa
- ❖ Na terapêutica de manutenção, os corticóides convencionais não são eficazes, mas o budenosido poderá ser utilizado como manutenção a curto prazo (3 meses) na DC íleo-cecal leve a moderada.

De notar que, a curto prazo e no contexto de DC activa moderada a grave, os corticóides juntamente com o infliximab são os agentes terapêuticos mais eficazes⁽³⁾.

A indução da remissão clínica com os corticóides oscila entre 46-92%⁽³⁾. No entanto, o benefício terapêutico destes fármacos é contrabalançado pelos seus efeitos secundários - hiperglicémia, cataratas sub-capsulares, acumulação de fluidos, estrias abdominais⁽³⁾.

Uma vez alcançada a remissão clínica, a dose dos corticóides deverá ser diminuída gradualmente. Cerca de 80% dos doentes tratados com corticóides tornam-se dependentes ou são refractários a esta terapêutica, pelo que se devem considerar tratamentos alternativos tais como imunossuppressores (AZA ou 6-MP) ou infliximab⁽³⁾.

10.1.3 Antibióticos

Tendo em conta que a evidência do papel das bactérias na patogénese da DC tem aumentado, os antibióticos poderão ser considerados possíveis terapêuticas. Dois antibióticos têm sido estudados no sentido de determinar a sua eficácia como tratamento de indução da remissão e na manutenção da DC: o metronidazol e a ciprofloxacina. Estes dois fármacos actuam nos microorganismos gram-negativos e têm uma acção imunomoduladora que ainda não está bem esclarecida. Não há, contudo, evidência que nos permita a sua utilização como terapêutica de primeira linha na DC com actividade ligeira⁽³⁾. No entanto, o metronidazol poderá ter um papel importante na doença localizada no cólon⁽³⁾.

Têm sobretudo um importante papel na terapêutica das complicações sépticas, no sobrecrecimento bacteriano e na doença perianal, nomeadamente as fístulas⁽³⁾. Estes antibióticos não são usados como terapêutica de manutenção.

10.1.4 Imunossuppressores

Vários imunossuppressores têm sido usados no tratamento da DC com actividade moderada a grave: a AZA, a 6-MP e o MTX.

A 6-MP e a AZA (convertida em 6-MP) são dois imunossuppressores membros da classe das tiopurinas, com início de acção lento (cerca de 3 meses) e eficácia demonstrada no tratamento da DC⁽⁶³⁾.

Estes agentes interferem com a síntese de ácidos nucleicos, têm efeitos anti-proliferativos nos linfócitos activados e induzem a apoptose destas células⁽⁶²⁾.

Para além de induzirem a remissão e poderem ser utilizados como terapêutica de manutenção da DC moderada a severa, permitem a poupança de corticóides em doentes corticodependentes⁽³⁾. São moderadamente eficazes na diminuição da recorrência pós-

operatória⁽⁶³⁾. Alguns estudos referem alguma eficácia no tratamento e cura das fístulas perianais e entéricas⁽⁶³⁾. As tiopurinas induzem a remissão clínica em 60% dos doentes e a sua manutenção em mais de 50% dos casos, aos 5 anos⁽³⁾.

Ainda existe alguma controvérsia no que diz respeito ao tempo de duração em que as tiopurinas podem ser utilizadas na DC em remissão prolongada⁽³⁾. Há autores que questionam o seu uso prolongado, mas há estudos que demonstram que, em doentes tratados com AZA pelo menos durante 42 meses, a taxa de recidiva naqueles que suspenderam o tratamento é o triplo daqueles que mantiveram o esquema terapêutico⁽³⁾.

A AZA e a 6-MP apresentam um conjunto de efeitos secundários que podem ser dose-dependentes (tipo A) – associados à produção de metabolitos potencialmente tóxicos: mal-estar, náuseas, complicações infecciosas, hepatite e mielossupressão – e dose-independentes (tipo B) – febre, rash e artralgias⁽³⁾. A pancreatite ocorre em 3-4%⁽⁴⁾ dos doentes e é uma reacção idiossincrática⁽³⁾. A utilização destes agentes poderá estar associada a um aumento de cerca de quatro vezes de desenvolver linfoma, em comparação com a população em geral, o que poderá ser explicado pela leucopenia prolongada⁽⁶²⁾.

Antes do início da terapêutica recomenda-se a genotipagem da tiopurina metiltransferase (embora não acessível em Portugal), uma vez que a deficiência homozigótica desta enzima potencia os efeitos adversos da 6-MP e da AZA⁽⁶⁴⁾. Além disso, deve ser feita uma monitorização periódica do hemograma e das enzimas hepáticas todas as semanas durante o primeiro mês e depois mensalmente⁽⁶⁴⁾.

O MTX é um análogo do folato e um inibidor da diidrofolato redutase, resultando numa diminuição da síntese do ADN. Além disso, tem propriedades anti-inflamatórias, incluindo a diminuição de citocinas e apoptose dos linfócitos activados⁽⁶²⁾.

É uma alternativa às tiopurinas no tratamento da DC corticorresistente ou corticodependente. Tem uma acção mais rápida que as tiopurinas e é eficaz na indução da remissão da DC moderada a severa e poupança de corticóides⁽³⁾. Também pode ser usada como terapêutica de manutenção⁽⁶³⁾. O MTX é relativamente bem tolerado, embora com potenciais toxicidades: leucopenia e fibrose hepática, pelo que, também aqui, se recomenda uma avaliação periódica do hemograma e função hepática⁽⁴⁾.

10.1.5 Terapêuticas biológicas

A compreensão do importante papel das citocinas na patogénese da DC, juntamente com as novas tecnologias dos anticorpos monoclonais, tornou possível o desenvolvimento de um novo grupo de fármacos conhecidos como agentes biológicos⁽³¹⁾. São anticorpos monoclonais que bloqueiam selectivamente as moléculas implicadas no processo inflamatório. Desde 1997, data em que o infliximab se tornou disponível no mercado, que o uso generalizado destes agentes nos últimos anos ofereceu uma solução clínica importante a doentes anteriormente considerados intractáveis⁽³⁾. Apesar de existirem várias moléculas em fase de investigação, o infliximab é o único disponível no mercado.

O infliximab é um anticorpo monoclonal quimérico (um componente humano e outro animal) IgG1 com elevada especificidade e afinidade para o TNF- α , uma citocina chave na patogénese da DC. Bloqueia o TNF- α no soro e na superfície das células e provoca a lise dos macrófagos produtores de TNF- α e células T através da fixação do complemento e citotoxicidade dependente de anticorpos⁽⁴⁾.

É usado no tratamento de indução e manutenção da remissão clínica em doentes com DC moderada a grave, com resposta inadequada à terapêutica convencional (corticóides e imunossuppressores) assim como na DC fistulizante⁽³⁾. Vários estudos

demonstraram a eficácia do infliximab na indução da remissão em doentes com DC activa. Na terapêutica de indução da remissão, a dose de infliximab recomendada é de 5mg/Kg endovenoso, às 0, 2 e 6 semanas⁽³⁾.

Em 2002, num ensaio multicêntrico alargado, ficou comprovada a superioridade do infliximab relativamente ao placebo, na obtenção da remissão clínica às 30 semanas, assim como na manutenção da resposta⁽³⁾. Também se verificou que os seus benefícios se mantêm a longo prazo nos doentes medicados com o regime de manutenção⁽³⁾: A terapêutica de manutenção com periodicidade regular (oito em oito semanas) quando comparada com a episódica tem resultados superiores na manutenção da remissão clínica, na melhoria da ulceração da mucosa⁽⁶²⁾ (embora a correlação entre as respostas clínicas e endoscópicas fosse fraca), menor formação de anticorpos e menor número de hospitalizações e actos cirúrgicos⁽³⁾. Por isso, actualmente o regime de manutenção periódico é o mais utilizado.

Devido à imunogenicidade, o infliximab pode originar a formação de anticorpos anti-quiméricos humanos em 30 a 75% dos doentes⁽⁶⁴⁾, o que está associado com um maior risco de reacções de infusão, diminuição da concentração do fármaco e, portanto, com uma menor resposta ao tratamento⁽⁶²⁾. A reacção de infusão pode ocorrer como uma reacção alérgica/anafilática ou reacção de hipersensibilidade⁽⁶⁴⁾. Este tipo de reacção pode diminuir com uma dose tripla de infusão seguida por uma terapêutica de manutenção, administração adicional de imunossuppressores e glucocorticóides e pré-tratamento com hidrocortisona⁽⁶²⁾. No entanto, o papel concomitante com os imunomoduladores ainda não está totalmente definido: não foi comprovado que a referida associação confira benefício a longo prazo à terapêutica de manutenção programada com infliximab⁽³⁾.

Para além das reacções de infusão destacam-se outros efeitos secundários que incluem: desenvolvimento de infecções, lúpus induzido por fármacos, linfoma não Hodgkin, pneumonia, doença desmielinizante, tuberculose, histoplasmose, insuficiência cardíaca, aspergilose e listeriose. Antes de se aplicar o tratamento com infliximab, para evitar o ressurgimento de uma tuberculose latente, deve investigar-se a sua existência mediante um RX do tórax e teste da tuberculina⁽⁶⁴⁾. Note-se que o TNF- α é essencial na defesa contra as infecções causadas pelas micobactérias⁽³⁾.

A utilização de infliximab está contra-indicada na presença de uma infecção clinicamente activa, insuficiência cardíaca congestiva (grau III/IV) e doença desmielinizante⁽³⁾.

Relativamente à posição do infliximab na DC, existem autores que consideram que não deva ser usado apenas em doentes com resposta inadequada à terapêutica convencional, uma vez que foi demonstrado que, o tratamento precoce de infliximab e AZA quando comparado com corticóides e AZA, origina maiores taxas de remissão às 26 semanas, melhor cicatrização da mucosa⁽⁶²⁾ e reduz a necessidade de corticoterapia⁽³⁾. No entanto, ainda existem dúvidas se estes agentes poderão ser utilizados precocemente, com o objectivo de obter um melhor controlo a longo prazo. Por isso, o infliximab ainda não está recomendado como agente de primeira linha no tratamento da DC moderada a grave.

Outro dado que permanece por esclarecer diz respeito à utilização do infliximab como “ponte” na transição da corticoterapia para os imunomoduladores. Estudos referem que a combinação do infliximab com AZA é mais eficaz que a utilização isolada de AZA, em doentes corticodependentes, na indução da remissão, livre de corticóides⁽³⁾.

No capítulo seguinte são abordados outros agentes biológicos que estão a ser estudados e que poderão vir a ser usados no futuro, nomeadamente o adalimumab e o certolizumab.

10.1.6 Probióticos e prebióticos

Considerando que um dos factores que contribui para o desenvolvimento da DC é uma alteração da microflora intestinal, com diminuição da biodiversidade e aumento dos microorganismos patogénicos, é lógico pensar que a utilização dos probióticos poderá ser eficaz. Os probióticos são suplementos orais de microorganismos vivos que modificam o ecossistema do hospedeiro e são benéficos para o mesmo⁽³⁾. A lista de microorganismos inclui: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, espécies não patogénicas de *E.coli*, *Clostridium Butyricum*, *Streptococcus salivarius* e *Saccharomyces boulardii*⁽⁶⁵⁾. Estes microorganismos têm uma série de benefícios:

- ❖ Inibem a proliferação de bactérias patogénicas – diminuem o pH luminal, aumentam a secreção de bacteriocinas, bloqueiam a adesão das bactérias ao epitélio intestinal⁽⁶⁶⁾.
- ❖ Melhoram a função da barreira epitelial – aumentam a produção de ácidos gordos de cadeia curta e de muco⁽⁶⁶⁾.
- ❖ Estimulam a imunidade inata, a produção de defensinas e modulam a inflamação induzida pelos agentes patogénicos via TLR⁽⁶⁷⁾.
- ❖ Induzem a produção de IL-10 e TGF- β e diminuem a de TNF- α ⁽⁶⁵⁾.
- ❖ Limitam a migração de células Th1 para locais de inflamação; modulam a percepção da dor⁽⁶⁵⁾.

Apesar de todos estes benefícios, ainda não está comprovada a sua total eficácia no tratamento da DC.

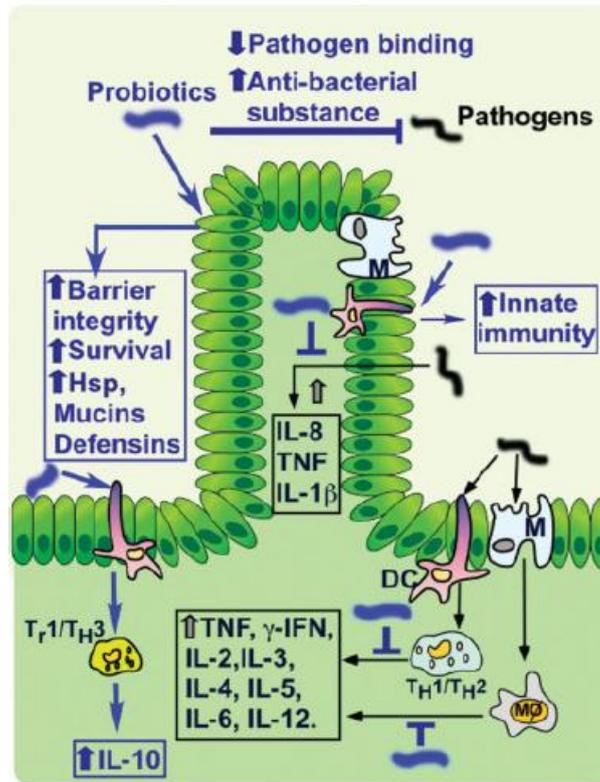


Figura 21 – Mecanismo de ação dos probióticos.

Os probióticos aumentam a integridade da barreira epitelial, a sobrevivência das CEI, a produção de mucina e defensinas, estimulam a imunidade inata, aumentam a produção de citocinas protectoras como a IL-10 e inibem a libertação de citocinas pró-inflamatórias: TNF- α , IL-2, IFN- γ . Fonte: Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of Probiotic Action: Implications for Therapeutic Applications in Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1585–96.

Num estudo realizado por Campieri et al verificou-se que a administração de rifaximina e uma preparação de Probióticos, VSL#3, originava uma diminuição da recorrência pós-cirúrgica, quando comparada com a messalazina⁽⁶⁶⁾. No entanto, Prantera et al não conseguiram obter estes resultados quando administraram o probiótico *Lactobacillus GG*⁽⁶⁶⁾. Num artigo publicado em 2006, onde foram analisados sete estudos sobre a eficácia dos probióticos como terapêutica de manutenção na DC, verificou-se que esses estudos envolveram apenas um pequeno número de doentes e que

nenhum deles tinha significância estatística, sendo por isso necessários mais estudos para comprovar a eficácia dos probióticos na DC⁽⁶⁸⁾.

Os probióticos diferem na sua capacidade para resistir ao ácido gástrico e aos ácidos biliares, colonizar a mucosa e influenciar a secreção de citocinas pelas CEI⁽⁶⁵⁾. Isto significa que nem todas as preparações são iguais e que, portanto, os benefícios observados com algumas das preparações não se repetem necessariamente com outras⁽⁶⁵⁾. Além disso, as diferenças nas durações dos estudos e as diferentes características dos doentes (ex: localização da doença) também poderão contribuir para os resultados díspares dos vários estudos realizados e para o facto de ainda não se ter chegado a nenhum consenso no que diz respeito ao benefício dos probióticos na DC⁽⁶⁵⁾.

Uma forma de se estimular a proliferação das estirpes probióticas é administrar substâncias que favoreçam o seu crescimento: os prebióticos. Estes são carboidratos de cadeia curta que aumentam as bactérias imunorreguladoras, reduzem a inflamação e a actividade pró-inflamatória dos factores de transcrição e aumentam a produção de butirato e acetato⁽³¹⁾. Assim, os prebióticos poderão ser importantes como terapêutica adjuvante, mas mais estudos são necessários.

10.1.7 Terapêuticas nutricionais

As terapêuticas nutricionais podem ter um importante valor se se provarem eficazes e sem efeitos secundários, uma vez que os nutrientes fazendo parte da constituição da membrana celular, podem mediar a expressão de proteínas envolvidas na resposta imunitária, como as citocinas ou moléculas de adesão⁽³¹⁾.

Embora não existam recomendações específicas que nos permitam concluir que, a adesão a uma determinada dieta diminua o risco de reactivação da doença, existem,

contudo, estudos que consideram que a utilização de nutrientes específicos poderá ser benéfica⁽³⁾. É o caso dos ácidos-gordos insaturados e das fibras.

Os lípidos da dieta são os substratos nutricionais mais activos no que diz respeito à modulação da resposta imunitária⁽³¹⁾. Os ácidos gordos n-6 (ácido araquidónico) são os precursores das prostaglandinas e leucotrienos, com um importante papel na inflamação. Dieta rica em os ácidos gordos n-3 (ácido eicosapentaenoico), frequentemente encontrados nos óleos de peixe, resulta numa substituição parcial do ácido araquidónico nas membranas celulares e na consequente diminuição de factores inflamatórios⁽⁶⁹⁾. Estes ácidos gordos têm, portanto, a capacidade de diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos, ecosanóides inflamatórios e moléculas de adesão e de reduzirem a quimiotaxia de monócitos e macrófagos⁽⁶⁹⁾. Diversos estudos realçam o efeito imunomodulador e anti-inflamatório dos ácidos gordos n-3.

Vários trabalhos demonstram que as fibras da dieta têm um efeito anti-inflamatório, o que suporta o seu potencial papel no tratamento da DC. O seu efeito terapêutico está associado com o aumento da produção dos ácidos gordos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato) e sua utilização pelas CEI⁽³¹⁾. Estes são produzidos pelas bactérias anaeróbias a partir de carboidratos não digeridos e constituem a principal fonte de energia dos enterócitos. A oxidação do butirato é utilizada na produção de ATP, o que acelera a reparação intestinal, a manutenção da integridade da mucosa e a diminuição da resposta inflamatória⁽³¹⁾. Além disso, estes ácidos gordos inibem a expressão do NF- κ B⁽³⁾ e consequente produção e libertação de citocinas pró-inflamatórias, bem como das espécies reactivas de oxigénio e os metabolitos de nitrogénio⁽³¹⁾.

***PERPECTIVAS FUTURAS E
CONCLUSÕES***

Perspectivas futuras de tratamento

Apesar do grande número de terapêuticas disponíveis no mercado para o tratamento da DC, ainda há doentes que não conseguem obter resposta mesmo com os novos agentes utilizados actualmente. Assim⁽⁷⁰⁾

- ❖ A messalazina, embora seja largamente usada na DC com actividade ligeira, existem muitas dúvidas acerca do seu actual benefício;
- ❖ Os corticóides, embora clinicamente muito úteis, não controlam completamente a doença em alguns doentes e além disso não são recomendados como terapêutica de manutenção;
- ❖ Enquanto alguns obtêm uma boa resposta com o infliximab, outros não respondem ou acabam por perdê-la com o tempo.

Tendo em consideração estes dados, novas estratégias terapêuticas têm vindo a ser investigadas.

Os recentes avanços na área da imunologia e no conhecimento da patogénese da DC permitiram definir novos alvos terapêuticos e o desenvolvimento de novos fármacos que, possibilitarão, num futuro não muito longínquo, a melhoria da qualidade de vida dos doentes (Quadro 9).

De seguida são descritas algumas dessas novas terapêuticas, mas que actualmente ainda não são usadas na prática clínica diária na DC. A pouca informação relativa a alguns desses agentes é explicada pelo facto de ainda estarem numa fase precoce de investigação.

Terapêuticas em investigação na DC

Inibição de citocinas inflamatórias

- ❖ Anticorpos anti-TNF- α – Adalimumab, Humicade, Certolizumab pegol, Etanercept, Onercept
- ❖ Anticorpo anti-IL-12 - ABT-874/J695; CNTO 1275
- ❖ Anticorpos anti-IL-18
- ❖ Anticorpos contra o receptor da IL-6 - Tocilizumab
- ❖ Anticorpos anti-INF- γ – Fontolizumab

Estimulação de citocinas anti-inflamatórias:

- ❖ IL-10

Inibição das moléculas de adesão – Natalizumab, MLN-02

Óleos de peixe

Talidomida

Terapêutica anti-micobacteriana

Hormona de crescimento

Parasitas

Terapêutica com células estaminais

Transplante da medula óssea

Leucoferése

Fotoferése extra-corporal

Quadro 9 – Terapêuticas em investigação na DC

1. Inibição das citocinas inflamatórias

A DC é uma doença caracterizada por um estado de desregulação imunitária e um predomínio de citocinas inflamatórias, nomeadamente o TNF- α , IL-12, IL-6 e INF- γ . Por isso, a sua inibição poderá trazer benefícios na melhoria da inflamação e na qualidade de vida dos doentes.

1.1 Anticorpos anti-TNF- α

1.1.1 Adalimumab

O adalimumab é um anticorpo monoclonal IgG1 totalmente humano dirigido contra o TNF- α e com administração subcutânea, ao contrário do infliximab de administração endovenosa. Foi aprovado nos EUA e na Europa no tratamento da DC.

Tem uma eficácia e segurança idêntica ao infliximab, mas tendo em conta que não possui nenhuma sequência de origem animal, é menos imunogénico e mais tolerável⁽⁷¹⁾. No entanto, tal como o infliximab, apresenta um aumento do risco de infecção, reactivação de tuberculose latente e linfomas, entre outros efeitos adversos⁽⁷⁰⁾. Assim, o adalimumab não deve ser administrado perante infecções activas e além disso, os doentes devem ser avaliados para factores de risco da tuberculose e infecção latente antes de iniciarem o tratamento⁽⁷²⁾.

Pode ser uma alternativa terapêutica naqueles doentes com DC com actividade moderada a severa que deixaram de responder ou desenvolveram intolerância ao infliximab⁽⁷¹⁾. Também é eficaz como terapêutica de indução da remissão e manutenção em doentes que não respondem ou são intolerantes aos corticóides ou agentes imunossupressores, que são dependentes dos corticóides apesar do uso dos imunossupressores ou que não podem esperar pelos efeitos do MTX ou AZA⁽⁷²⁾.

O uso concomitante com imunossupressores não aumenta a taxa de remissão ou as respostas ao adalimumab, no entanto, são necessários mais estudos para clarificar a utilização conjunta destes agentes⁽⁷²⁾. A eficácia do adalimumab em indivíduos com doença fistulizante ainda não foi estabelecida⁽⁷²⁾.

Diversos trabalhos demonstraram eficácia similar entre o infliximab e o adalimumab, mas nenhum deles fez a sua comparação directa. No futuro, a decisão de utilizar um ou outro poderá ser influenciado por vários factores: facilidade de

administração subcutânea do adalimumab; eficácia do infliximab no tratamento do doença fistulizante e maior número de estudos e informação sobre a segurança do infliximab⁽⁷²⁾.

1.1.2 Humicade (CDP571)

É um anticorpo monoclonal IgG4 anti-TNF- α , com uma parte humana (95%) e outra animal (5%). Alguns estudos realizados demonstraram que este agente é eficaz na indução da remissão mas não como terapêutica de manutenção⁽⁷¹⁾. É bem tolerado em doentes que desenvolvem reacções de infusão com administração de infliximab⁽⁷¹⁾. Não permite diminuir a utilização de corticóides em doentes corticodependentes⁽⁷¹⁾. É seguro, mas não tão eficaz quanto o infliximab.

1.1.3 Certolizumab pegol (CDP870)

É um fragmento Fab de um anticorpo monoclonal humanizado dirigido contra o TNF- α , que tem na sua constituição o polietilenoglicol⁽⁷¹⁾. Esta molécula aumenta a semi-vida do composto, diminui a frequência das doses e possivelmente reduz a imunogenicidade⁽⁷⁰⁾. Os doentes aos quais é administrado certolizumab têm taxas de resposta clínica superiores em relação ao grupo placebo⁽⁷¹⁾. No entanto, a sua eficácia é inferior ao infliximab⁽⁷¹⁾.

1.1.4 Etanercept/ Onercept

O etanercept é uma proteína de fusão que consiste em dois receptores TNF p75 ligados a um fragmento IgG1⁽⁷¹⁾. Num estudo piloto, este agente esteve associado a uma redução da actividade da doença em seis dos dez doentes com DC activa, mas este benefício não foi comprovado noutros trabalhos⁽⁷⁰⁾.

O Ornecept é um receptor p55 do TNF, que tal como o etanercept, inactiva a acção desta citocina⁽⁶⁴⁾. Mais estudos são necessários para comprovar a sua eficácia.

1.2 Anticorpos anti-IL-12

A IL-12 é uma citocina importante na activação das células Th1. Por isso, a eficácia dos anticorpos que bloqueiam esta citocina tem vindo a ser analisada em diversos trabalhos.

A IL-12 é constituída por duas subunidades: IL-12 p40 e IL-12 p35. A primeira também é componente de outra importante citocina, a IL-23, com um papel chave na patogénese da DC, uma vez que activa as células Th17⁽⁷¹⁾. Assim, os anticorpos direccionados contra a IL-12 também actuam na inibição da IL-23⁽⁷⁰⁾.

Este tratamento é seguro e eficaz na indução da remissão da DC activa⁽⁷¹⁾. No entanto, no futuro, mais investigações serão necessárias.

1.3 Anticorpos anti-IFN- γ

O Fontolizumab é um anticorpo dirigido contra o IFN- γ . Alguns estudos demonstraram eficácia deste anticorpo na indução da remissão da DC moderada a severa, principalmente em doentes com elevadas concentrações de PCR, mas outros não obtiveram os mesmos resultados⁽⁷¹⁾. Este agente parece ser bem tolerado.

1.4 Anticorpos contra o receptor da IL-6

O Tocilizumab é um anticorpo monoclonal que inibe o receptor da IL-6, diminuindo a expressão de moléculas de adesão e múltiplas citocinas inflamatórias⁽⁶²⁾. Poderá ser eficaz na remissão clínica, embora sem grandes diferenças endoscópicas e

histológicas⁽⁶²⁾, é relativamente bem tolerado e, no futuro, poderá vir a ser benéfico na DC activa⁽⁷¹⁾.

2. Estimulação de citocinas anti-inflamatórias

A IL-10 é uma citocina com actividade anti-inflamatória. A sua utilização é bastante promissora.

3. Inibição das moléculas de adesão

As moléculas de adesão são importantes para a migração dos leucócitos para os locais de inflamação. Em alguns estudos, foram obtidas respostas clínicas com o natalizumab, um anticorpo IgG4 humanizado. No entanto, todos os trabalhos foram parados após terem sido registados casos de leucoencefalopatia multifocal progressiva em doentes que com esclerose múltipla que estavam a receber natalizumab⁽⁶⁴⁾. Existem outros agentes em estudo, tais como o MLN-02 (um anticorpo monoclonal anti-integrina), que no futuro poderão ser bastante promissores.

4. Outros tratamentos

Óleos de peixe – Os ácidos gordos n-3 encontrados em alguns óleos de peixe, diminuem a actividade das citocinas inflamatórias. No futuro, poderão ser benéficas na manutenção da remissão da DC.

Talidomida – Diminuiu a produção de diversas citocinas inflamatórias, nomeadamente a IL-12 e o TNF- α . A indução da remissão e descontinuação dos

corticóides foi observada em doentes com que receberam talidomida e que eram refractários à prednisona ou intolerantes à 6-MP e AZA⁽⁷⁰⁾.

Hormona do crescimento- Diminui a permeabilidade intestinal que está aumentada na DC. Foi demonstrado que após quatro meses o índice de actividade da DC diminuiu significativamente em doentes que receberam hormona do crescimento⁽⁷⁰⁾.

Terapêutica anti-micobacteriana – Como já referido, a DC tem sido associada ao MAP. Diversos estudos foram realizados no sentido de tentar estabelecer algum benefício com um tratamento anti-micobacteriano, mas os resultados são contraditórios.

Parasitas – Os helmintas diminuem as respostas imunitárias e a inflamação em modelos animais. Assim, em diversos estudos, helmintas não patogénicos foram utilizados como forma de tratamento em doentes com Crohn. Verificou-se que a ingestão de ovos de *Trichuris suis* melhora os sintomas⁽⁷⁰⁾. Aguardam-se novos trabalhos.

Transplante de medula óssea – Alguns estudos documentaram uma remissão da doença em indivíduos com DC severa que foram submetidos a transplante de medula óssea, o que significa que a desregulação imunitária tem um papel importante nesta doença e que, potencialmente poderá ser corrigida⁽⁷⁰⁾.

Terapêutica com células estaminais – Poderá ser benéfica devido à sua actividade imunomoduladora.

Leucoferése – a remoção do leucócitos da circulação periférica através de filtros extra-corporais parece ser bastante promissora, mas os benefícios permanecem incertos⁽⁷⁰⁾.

Fotoferése extracorporal – aprovada no tratamento do linfoma cutâneo das células T, utiliza a luz ultra-violeta para induzir apoptose dos leucócitos. Num estudo

realizado em doentes intolerantes ou refractários à terapêutica com imunossuppressores e/ou agentes anti-TNF, 50% demonstraram uma boa resposta aos 3 meses⁽⁷⁰⁾.

Para além destes tratamentos em investigação, a inibição das moléculas co-estimuladoras essenciais para activação das células TCD4+ efectoras, assim como a modificação da expressão genética do NOD2 e dos TLR, o aumento da barreira epitelial e produção de defensinas com a utilização dos probióticos poderá também ser importante no futuro.

A figura seguinte apresenta um resumo de vários alvos terapêuticos na DC

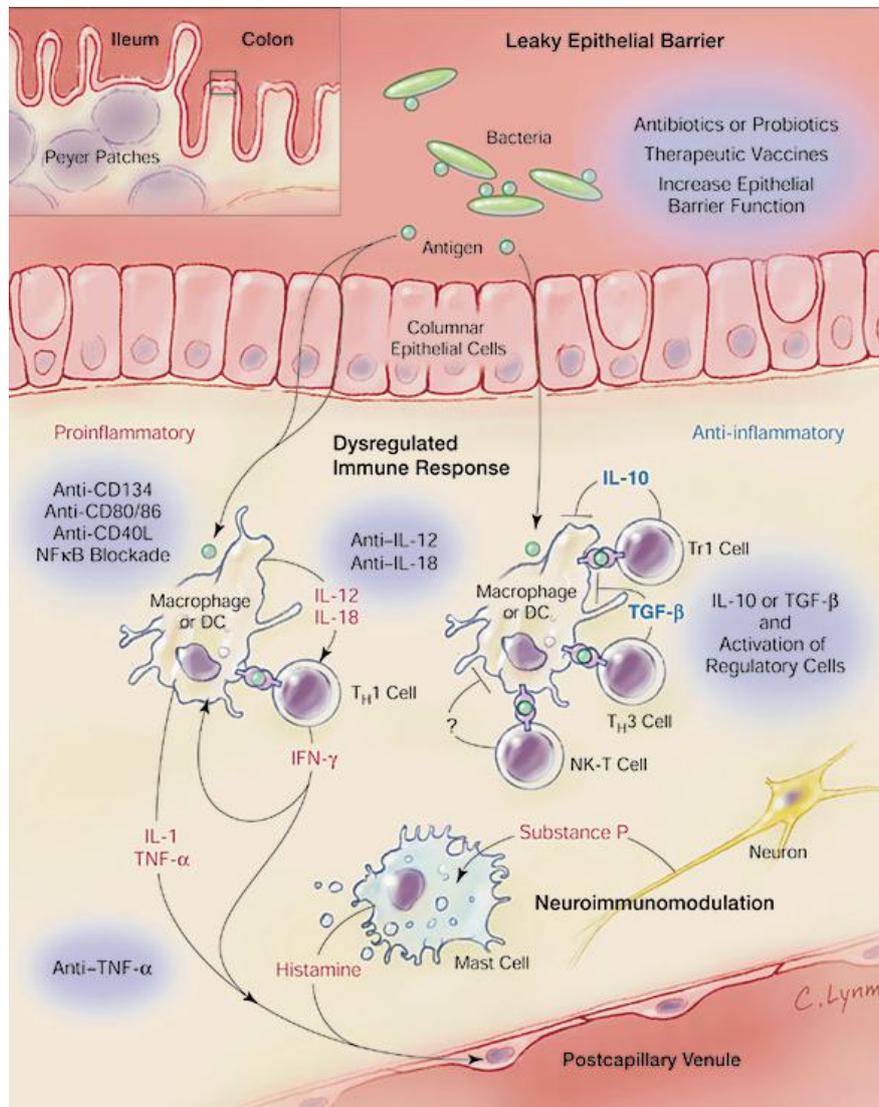


Figura 22 – Alvos terapêuticos futuros na DC
 Fonte: www.bio.davidson.edu/

Conclusões

A DC é uma doença inflamatória crónica progressiva, cuja incidência tem vindo a aumentar em todo o mundo. Apesar da etiologia e patogénese permanecerem desconhecidas, grandes avanços foram feitos e hoje sabe-se que, muito provavelmente, esta é uma doença multifactorial que resulta da interacção da genética e ambiente com os microorganismos, sistema imunitário e epitélio intestinal.

Em indivíduos geneticamente predispostos, uma lesão da mucosa intestinal desencadeada, por exemplo, por factores ambientais, origina rapidamente uma inflamação crónica e uma activação contínua e excessiva das respostas imunitárias efectoras, porque há uma incapacidade para remover as bactérias e reparar os defeitos epiteliais.

Apesar de terem sido dados grandes passos no conhecimento da etiologia e patogénese da DC, ainda muito necessita ser feito e há perguntas cujas respostas são especulativas:

- ❖ Quais são, efectivamente, os factores ambientais e qual a sua importância para o desenvolvimento da doença?
- ❖ Como é que as mutações no gene NOD2/CARD15 e TLR contribuem para a DC?
- ❖ Será que as bactérias comensais são importantes para a patogénese da doença?
- ❖ Existe algum microorganismo patogénico específico responsável pela DC?
- ❖ Quais os mecanismos que contribuem para a desregulação imunitária?
- ❖ Quais os factores que contribuem para a perda da integridade do epitélio intestinal?

Estes aspectos são essenciais para a abordagem terapêutica, pois só com um conhecimento completo da etiologia e patogénese da doença se conseguirá progredir no sentido da cura.

Assim sendo, trabalhos futuros deviam apostar na identificação dos factores de risco ambientais, na caracterização dos microorganismos presentes no lúmen intestinal, na contribuição dos factores genéticos para o desencadeamento da resposta imunitária, identificação de todas as citocinas envolvidas no processo inflamatório e dos mecanismos responsáveis pela alteração da barreira epitelial.

Os grandes avanços na área da imunologia e no conhecimento da patogénese da doença, permitiram o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que poderão ser importantes no futuro da DC: inibição das citocinas inflamatórias, estimulação de citocinas anti-inflamatórias, inibição das moléculas de adesão, entre outras.

Assim, embora nas últimas décadas uma série de novos agentes tenham vindo a ser desenvolvidos, há ainda uma grande necessidade de novas terapêuticas farmacológicas para combater a doença refractária e ajudar a melhorar a qualidade de vida daqueles que todos os dias têm de lidar com as múltiplas complicações de uma doença que ainda não tem cura, mas que pode ser atenuada. Mais uma vez, isto só será possível quando se conseguir estabelecer com certeza qual a etiologia e os mecanismos envolvidos na DC e com a utilização de um tratamento multifactorial.

Se considerarmos o caminho já percorrido até agora no que diz respeito ao desenvolvimento científico e tecnológico, é bem possível que, no futuro, possamos dizer a todos os doentes que são encaminhados para uma consulta especializada da DII, que esta é uma doença curável medicamente num curto espaço de tempo.

BIBLIOGRAFIA

Bibliografia

1. Arnott IDR, Satsangi J. Disease behaviour in Crohn's disease is dynamic and not stable over time. *Gut* 2003;52:460-61.
2. Kirsner JB. The Historical Basis of the Idiopathic Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 1995;1:2-26.
3. Grupo de estudo da Doença Inflamatória Intestinal. *Terapêutica Farmacológica na Doença Inflamatória Intestinal*. Medisa; 2007.
4. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 17th ed. New York: McGraw Hill, Health; Professions Division; 2008.
5. Hanauer, *Inflammatory Bowel Disease: Epidemiology, Pathogenesis, and Therapeutic Opportunities*. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12(1):3-9.
6. Aldhous MC, Drummond HE, Anderson N, Smith LA, Arnott IDR, Satsangi J, Phil D. Does Cigarette Smoking Influence the Phenotype of Crohn's Disease? Analysis Using the Montreal Classification. *Am J Gastroenterol* 2007;102:577-88.
7. Podolsky DK, Xavier RJ. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007 Jul 26;448:427-34.
8. Lakatos PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down?. *World J Gastroenterol* 2006 October 14;12(38):6102-08.
9. Braun J, Wei B. Body Traffic: Ecology, Genetics, and Immunity in Inflammatory Bowel Disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2007;2:401-29
10. Sartor RB. Bacteria in Crohn Disease: mechanisms of inflammation and therapeutics implications. *J Clin Gastroenterol* 2007 May/Jun;41:37-43.
11. Sartor RB. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature* 2006 Jul;3(7): 390-407.
12. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis.* 2000 Feb;6(1):8-15.
13. Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006 Aug 14;12(30):4807-12.
14. Koloski NA, Bret L, Radford-Smith Graham. Hygiene hypothesis in inflammatory bowel disease: A critical review of the literature. *World J Gastroenterol* 2008 Jan 14;14(2):165-73.
15. Ardizzone S, Porro GB. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs* 2005;65 (16): 2253-86.
16. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: Good, bad or ugly? *World J Gastroenterol* 2007 December 14;13(46): 6134-39
17. Aldhous MC, Drummond HE, Anderson N, Smith LA, Arnott IDR, Satsangi J, et al. Does Cigarette Smoking Influence the Phenotype of Crohn's Disease? Analysis Using the Montreal Classification. *Am J Gastroenterol* 2007;102:577-88

18. Mahid SS, Minor KS, Stromberg AJ, Galandiuk S. Active and passive smoking in childhood is related to the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13:431-38
19. Madretsma S, Wolters LM, van Dijk JP, Tak CJ, Feyerabend C, Wilson JH, et al. In-vivo effect of nicotine on cytokine production by human non-adherent mononuclear cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1996 Oct;8(10):1017-20.
20. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002 Aug 8;347(6):417-29.
21. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379: 821-23
22. Cario E. Bacterial interactions with cells of intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. *Gut* 2005 Apr 19;54:1182-93.
23. Bamias G, Cominelli F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Curr Opin Gastroenterol* 2007;23:365-69.
24. Yamamoto-Furusho JK, Podolsky DK. Innate immunity in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007 Nov 14;13(42):5577-80.
25. Lakatos PL, Fisher S, Lakatos L, Gat I, Papp J. Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel disease-crosstalk between genetic and microbial factors: Pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take "toll"? *World J Gastroenterol* 2006 Mar 28;12(12):1829-41.
26. Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008 Jan 21;14(3):390-400.
27. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004 Jul 23;118:229-41.
28. Gewirtz AT, Navas TA, Lyons S, Godowski PJ, Madara JL. Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J Immunol.* 2001 Aug 15;167(4):1882-5.
29. Cario E, Brown D, McKee M, Lynch-Devaney K, Gerken G, Podolsky DK. Commensal associated molecular patterns induce selective Toll-like receptor trafficking from apical membrane to cytoplasmic compartments in polarized intestinal epithelium. *AJP* 2002 Jan;160(1):165-73.
30. Cario E, Podolsky DK. Differential Alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3(TLR3) e TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infection and Immunity* 2000 Dec;68(12):7010-17.
31. Torres MI, Ríos A. Current view of the immunopathogenesis in inflammatory bowel disease and its implications for therapy. *World J Gastroenterol* 2008 Apr 7;14(13):1972-80.
32. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO* 2006 Feb 23;7:688-93.
33. Kucharzik T, Maaser C, Luger A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. Recent understanding of pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2006 Nov;12(11):1068-1083.

34. Sandborn WJ, Hanauer SB. Antitumor Necrosis Factor Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Review of Agents, Pharmacology, Clinical Results, and Safety. *Inflamm Bowel Dis* 1999 Feb 4; 5(2):119-133.
35. Noguchi M, Hiwatashi N, Liu Z, Toyota T. Secretion imbalance between tumour necrosis factor and its inhibitor in inflammatory bowel disease. *Gut*. 1998 Aug;43(2):203-9.
36. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby J. *Immunology*. New York: WH Freeman and Company; 2003.
37. Kolls JK, Linde A. Interleukin-17 Family Members and Inflammation. *Immunity* Oct 2004;21:467-76.
38. Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest* 2006; 116:1310-16.
39. Ina K, Itoh J, Fukushima K, Kusugami K, Yamaguchi T, Kyokane K, et al. Resistance of Crohn's disease T cells to multiple apoptotic signals is associated with a Bcl-2/Bax mucosal imbalance. *J Immunol*. 1999 Jul 15;163(2):1081-90
40. Kelsall BL. Innate and adaptive mechanisms to control pathological intestinal inflammation. *J Pathol* 2008; 214:242-59.
41. Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon- α and Tumor Necrosis Factor- α Synergize to Induce Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction by Up-Regulating Myosin Light Chain Kinase Expression. *Am J Pathol*. 2005 Feb;166(2):409-19.
42. Zeissig S, Bürgel N, Günzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*. 2007 Jan;56(1):61-72.
43. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol* 2008;134:577-94.
44. Kelly D, Campbell JI, King TP, Grant G, Jansson EA, Coutts AG, et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR- γ and RelA. *Nat Immunol* 2000;5: 104–112.
45. Ishikawa H, Tanaka K, Maeda Y, Aiba Y, Hata A, Tsuji NM, Koga Y, Matsumoto T. Effect of intestinal microbiota on the induction of regulatory CD25+ CD4+ T cells. *Clin Exp Immunol*. 2008 Jul;153(1):127-35.
46. Madara J. Building an intestine – architectural contributions of commensal bacteria. *N Engl J Med* 2004 Oct 14;351(16): 1685-86
47. Takaishi H, Matsuki T, Nakazawa A, Takada T, Kado S, Asahara T, et al. Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol*. 2008 Jul;298(5-6):463-72.
48. Hertogh G, Aerssens J, Geboes KP, Geboes K. Evidence for the involvement of infectious agents in the pathogenesis of crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2008 Feb 14;14(6):845-52.
49. Sartor RB. Does Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? *Gut* 2005;54:896-98.

50. Sechi LA, Gazouli M, Ikonopoulou J, Lukas JC, Scanu AM, Ahmed N. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, genetic susceptibility to Crohn's disease, and Sardinians: the way ahead. *J Clin Microbiol*. 2005 Oct;43(10):5275-77.
51. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, Collins MT. Population-Based Case Control Study of Seroprevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in Patients with Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *J. Clin Microbiol* 2004;42(3):1129-35
52. Chambrun GP, Colombel JF, Poulain D, Darfeuille-Michaud A. Pathogenic agents in inflammatory bowel diseases. *Current opinion in gastroenterology* 2008; 24:440-47
53. Quirke P. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* is a cause of Crohn's disease. *Gut* 2001;49:755-60
54. Boudeau J, Glasser AL, Masseret E, Joly B, Darfeuille-Michaud A. Invasive ability of an *Escherichia coli* strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. *Infect Immun*. 1999 Sep;67(9):4499-509.
55. Glasser AL, Boudeau J, Barnich N, Perruchot MH, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect Immun*. 2001 Sep;69(9):5529-37
56. Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Role of bacteria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007 Nov 14;13(42):5571-6.
57. Lamps LW, Madhusudhan KT, Havens JM, Greenson JK, Bronner MP, Chiles MC, Dean PJ, Scott MA. Pathogenic *Yersinia* DNA is detected in bowel and mesenteric lymph nodes from patients with Crohn's disease. *Am J Surg Pathol*. 2003 Feb;27(2):220-7.
58. Wakefield AJ, Pittilo RM, Sim R, Cosby SL, Stephenson JR, Dhillon AP, et al. Evidence of persistent measles virus infection in Crohn's disease. *J Med Virol*. 1993 Apr;39(4):345-53.
59. Lavy A, Broide E, Reif S, Keter D, Niv Y, Odes S, et al. Measles is more prevalent in Crohn's disease patients. A multicentre Israeli study. *Dig Liver Dis*. 2001 Aug-Sep;33(6):472-76
60. Thompson NP, Montgomery SM, Pounder RE, Wakefield AJ. Is measles vaccination a risk factor for inflammatory bowel disease? *Lancet*. 1995 Apr 29;345(8957):1071-74
61. Bernstein CN, Rawsthorne P, Blanchard JF. Population-based case-control study of measles, mumps, and rubella and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007 Jun;13(6):759-62
62. Kozuck PL, Stephen BH. Treatment of inflammatory bowel disease: A review of medical therapy. *World J Gastroenterol* 2008 Jan 21;14(3):354-77.
63. Lichtenstein GR, Abreu MT, Cohen R, Tremain W. American Gastroenterological Association Institute Medical Position Statement on Corticosteroids, Immunomodulators, and Infliximab in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol* 2006 Mar; 130(935):935-39
64. Kuhbacher T, Folsch UR. Practical guidelines for the treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007 Feb 28;13(8):1149-55.
65. Sartor RB. Probiotics for gastrointestinal disease [Online] 2008 Jan; Available from: URL: www.uptodate.com.

66. Gionchetti P, Rizzello F, Lammers KM, Morselli C, Sollazzi L, Davies S, et al. Antibiotics and probiotics in treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006 June 7; 12(21): 3306-13
67. Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of Probiotic Action: Implications for Therapeutic Applications in Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1585–96.
68. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Oct 18;(4):CD004826
69. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids* 2001 Sep;36(9):1007-24.
70. Korzenik JR. Investigational therapies in the medical management of Crohn's disease [Online] 2008 Jan; Available from: URL: www.uptodate.com.
71. Nakamura K, Honda K, Mizutani T, Akiho H, Harada N. Novel strategies for the treatment of inflammatory bowel disease: Selective inhibition of cytokines and adhesion molecules. *World J Gastroenterol* 2006 August 7; 12(29): 4628-35
72. Penner RM, Fedorak RN. Adalimumab for treatment of Crohn's disease in adults. [Online] 2008 Jan; Available from: URL: www.uptodate.com.