

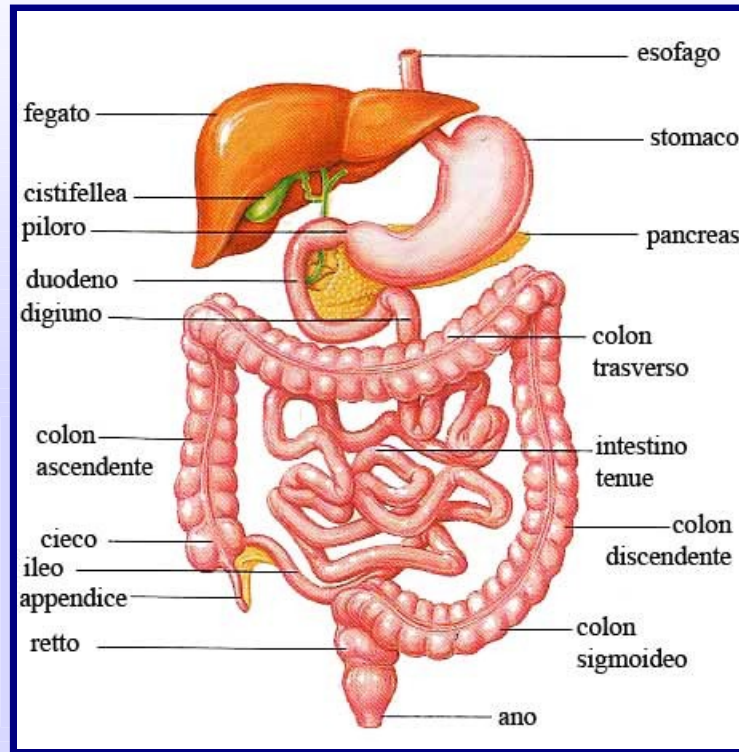


***Morbo di Crohn :***  
***bas i immunitarie e meccanismi***  
***patogenetici***

Fiorito Veronica

Biotechnologie Molecolari

Anno Accademico



www.chron.it

Intestino tenue:

- duodeno
- digiuno
- ileo

Intestino crasso:

- cieco
- colon
- retto

Definizione [1]

Fa parte, insieme alla "colite ulcerosa", delle IBDs (inflammatory bowel diseases)

E' caratterizzato da:

- infiammazione lungo lo spessore della parete intestinale (soprattutto dell'ileo)
- ulcere all'intestino

Soggetti colpiti [2,3]

Il morbo di Crohn è diffuso in tutto il mondo, ma difficilmente compare in soggetti africani, e in Europa colpisce più le popolazioni del Nord rispetto a quelle del Sud.

Non esistono conferme certe che la malattia possa essere tramandata. Tuttavia, studi su gemelli e valutazioni sulla storia familiare di numerosi pazienti suggeriscono una certa componente ereditaria nella predisposizione alla malattia.

Un ruolo chiave nella comparsa della malattia è comunque rivestito anche da fattori ambientali.

Sintomi [1]

Dolore addominale

Diarrea

Emorragie a livello del retto

Perdita di peso

Febbre

Fatica

Restringimento di alcuni tratti dell'intestino

Formazione di fistole fra -tratti diversi dell'intestino

-intestino ed epidermide

-intestino ed altri organi



[www.gastronet.it](http://www.gastronet.it)

## Restrizioni Alimentari [16]

Ad ogni paziente viene indicata una dieta specifica

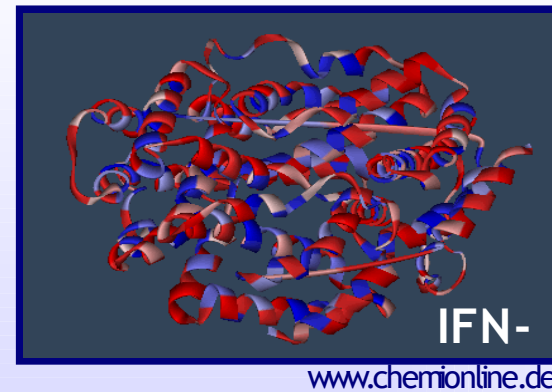
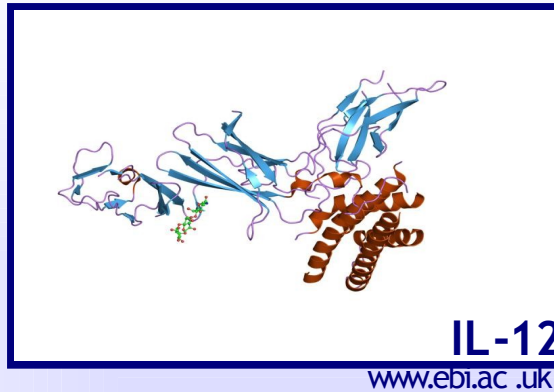
Esistono, tuttavia, cibi che normalmente vengono sconsigliati a tutti i pazienti, vale a dire:

- latticini (latte burro, yogurt, formaggi)
- legumi e verdura in generale (soprattutto patate)
- frutta (consentiti solo succhi o frutta frullata)
- prodotti integrali
- carni grasse, cacciagione, insaccati (tranne alcuni)
- dolci (tranne marmellata e biscotti secchi)

E' generalmente consentito ai pazienti, invece, il consumo di:

- paste di piccolo formato, riso, semolini
- pane bianco tostato
- carne magra sminuzzata o tritata, pesce
- uova
- marmellata e biscotti secchi

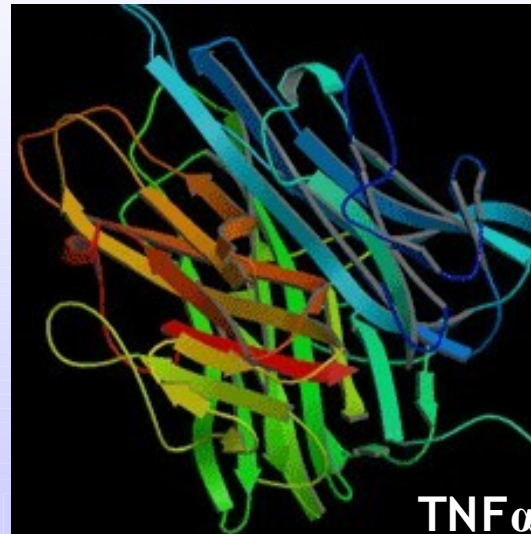




Cause [1,4]

Eccessiva produzione di:

- IL-12 -citochina prodotta da macrofagi attivati e cellule dendritiche
  - lega il suo recettore presente su linfociti T e cellule NK
  - fa attivare (insieme al  $TNF\alpha$ ) i linfociti T in senso Th1 i Th1 sono quelli capaci di produrre IL-2,  $TNF\alpha$  e IFN- $\gamma$
- fa aumentare la produzione di IFN- $\gamma$  in linfociti Th1
- IFN- $\gamma$  -citochina prodotta dai linfociti Th1, cellule NK e CTL (linfociti T citotossici)
  - potenzia l'azione citotossica dei macrofagi
  - promuove la diapedesi delle cellule immunitarie



[www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)

- TNF $\alpha$  -citochina prodotta dai macrofagi, linfociti Th1, cellule NK...
- l' IFN- (prodotto dai linfociti Th1) ne stimola la produzione da parte dei macrofagi
- induce le cellule endoteliali ad esprimere molecole di adesione per favorire la diapedesi di cellule immunitarie (soprattutto neutrofilo, che rilasciano ROS ed enzimi proteolitici dannosi per i tessuti)
- è responsabile di infiammazione e danno tissutale



Yamamoto-Furusho JK et al., Crohn's disease: innate immunodeficiency, World J Gastroenterol, 12:6751, 2006

### Teorie alla base della malattia [1]

Difetto nel sistema immunitario

Difetto nella microflora intestinale



Difetto nel sistema immunitario [1,5,6,7,8,9]

In modo anomalo, una popolazione di linfociti T nella mucosa intestinale reagisce esageratamente contro la microflora

Ciò è dovuto alla presenza, nelle cellule dendritiche, di mutazioni sul gene CARD15 (proteina NOD2), localizzato sul cromosoma 16

NOD2 mutata provoca un rischio 40 volte> di contrarre il morbo di Crohn

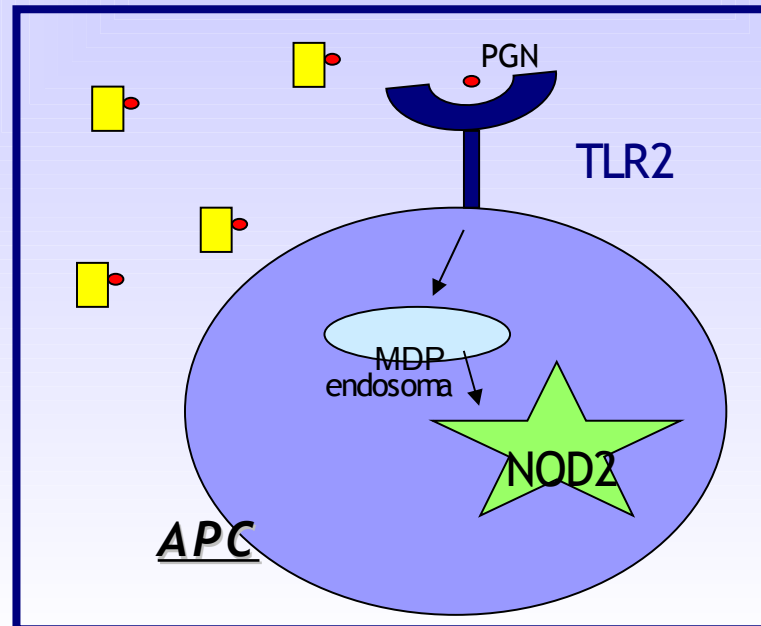
il 20% o più dei pazienti presenta NOD2 mutata

NOD2 è una proteina “caterpillar” espressa intracellulamente in

- APCs
- neutrofilii
- cell. di Paneth
- cell. epiteliali intestinali

NOD2 lega l'MDP (muramyl dipeptide), un componente dei PGN (peptidoglicani) della parete batterica

Il PGN intero è invece riconosciuto dal TLR2, espresso sulla membrana delle APCs



NOD2 ha un duplice ruolo:

- quando viene stimolato da solo (in vitro) attiva la chinasi RICK la quale, tramite un certo tipo di effettori, attiva NF-kB
- quando viene stimolato insieme al TLR2 (in vivo) accade che
  - >TLR2, tramite una propria via di segnalazione, attiva NF-kB
  - >NOD2, tramite RICK ma effettori diversi da quelli già citati, riduce l'attivazione di NF-kB da parte di TLR2

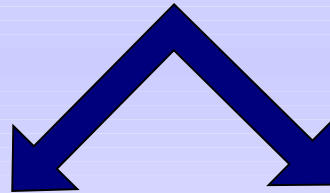
In un sistema fisiologico la situazione che si verifica è sempre la seconda, cioè **NOD2 è un modulatore negativo del segnale di TLR2**

In un *individuo sano* l'attivazione di NF- $\kappa$ B da parte di TLR2 è limitata dall'azione di NOD2

In un *individuo affetto da morbo di Crohn* NOD2 non esercita la sua funzione modulatrice, quindi TLR2 induce un'eccessiva attivazione di NF- $\kappa$ B

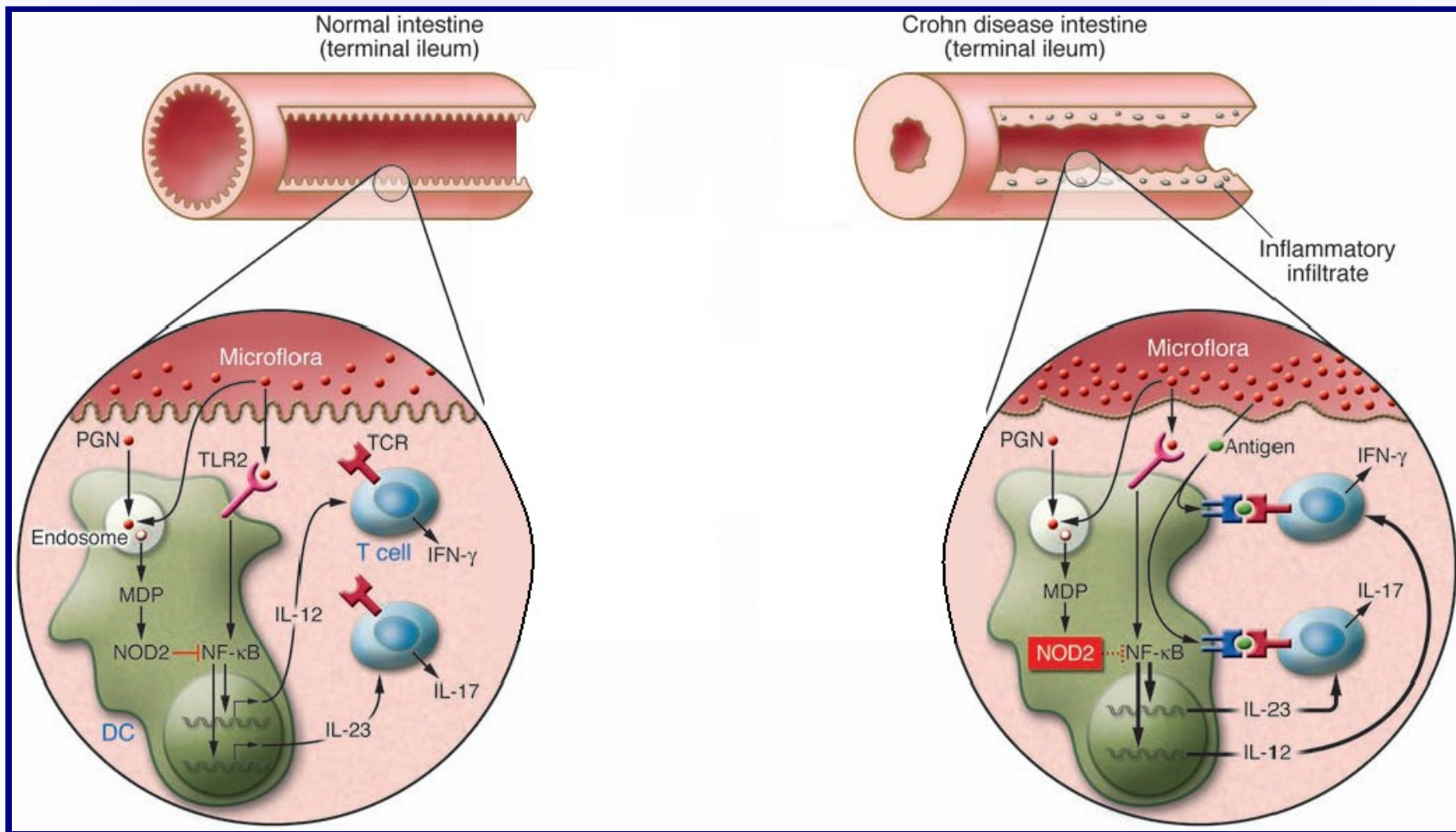


NF- $\kappa$ B fa aumentare nell'APC la trascrizione di IL-12  
e di IL-23 (un membro della famiglia di IL-12)



L'IL-12 secreto dall'APC viene percepito dall'IL-12R del linfocita Th1, il quale aumenta il rilascio di IFN-

L'IL-23 secreto dall'APC induce i linfociti T memoria a differenziare in senso Th17, cioè in una popolazione capace di rilasciare IL-17 e coinvolta nella risposta ai batteri, oltre che in processi infiammatori cronici e in alcune malattie autoimmuni



Strober et al., The fundamental basis of inflammatory bowel disease, J. Clin. Invest.,117:514, 2007,MODIFICATA

Nel morbo di Crohn le mutazioni che interessano la proteina NOD2 sono fundamentalmente di tre tipi:

- la sostituzione aminoacidica R702W

- la sostituzione aminoacidica G908R

- la formazione di una proteina tronca a causa dell'inserzione di una singola base nel gene CARD15, che dà origine ad uno stop codon

Ciascuna di queste mutazioni è più propriamente definita "risk allele"(RA), perché chi la possiede ha una maggiore predisposizione alla malattia, ma non necessariamente arriverà a svilupparla.

Probabilmente la presenza di queste mutazioni sulla proteina NOD2 porta allo sviluppo della malattia solo se unita ad altri fattori genetici (legati alla razza... ) ed ambientali.

Questo spiega perché un difetto a NOD2 (in tutte le cellule dendritiche,..):

- può ripercuotersi in un individuo anche solo a livello intestinale

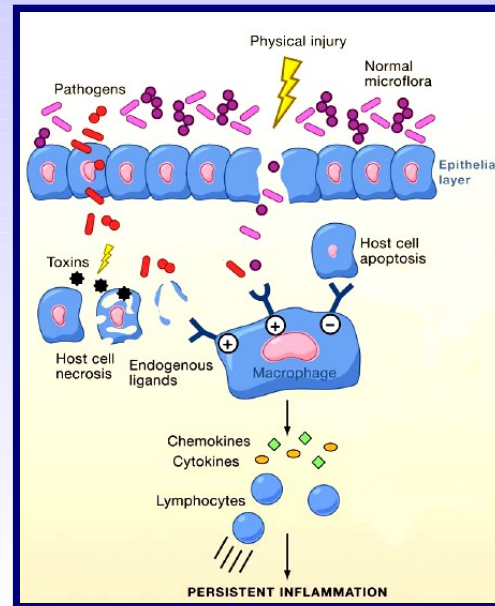
- può dare origine a malattie diverse dal morbo di Crohn, che interessano l'intestino ma anche altre zone del corpo

- in alcuni individui può risultare innocuo

Difetto nella microflora intestinale [1,4,10,11,12]

2 ipotesi: -comparsa, fra i microorganismi che normalmente costituiscono la nostra flora intestinale, di organismi patogeni inducono risposta immune che si ripercuote su tutta la microflora

-aumento della microflora unita a presenza di una barriera epiteliale difettosa favoriscono l'incontro fra microflora e cellule del sistema immunitario collocate nella mucosa intestinale



Karin et al., Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer, *Cell*, 124:823, 2006, MODIFICATA

L'ipotesi della comparsa di organismi patogeni è sostenuta da Darfeuille-Michaud et al.[11]



presenza di una forma patogena di E.Coli nella mucosa ileale di molti pazienti

L'ipotesi di un favorito incontro fra microflora e elementi del sistema immunitario è sostenuta da alcune evidenze [4,12]



bassi livelli di  $\alpha$ -defensine(peptidi antibatterici) nei pazienti, che favoriscono l'aumento della microflora, uniti alla presenza di una barriera epiteliale intestinale alterata (per azione del TNF $\alpha$ ...) consentono un facile incontro fra microflora e cellule immunitarie della mucosa



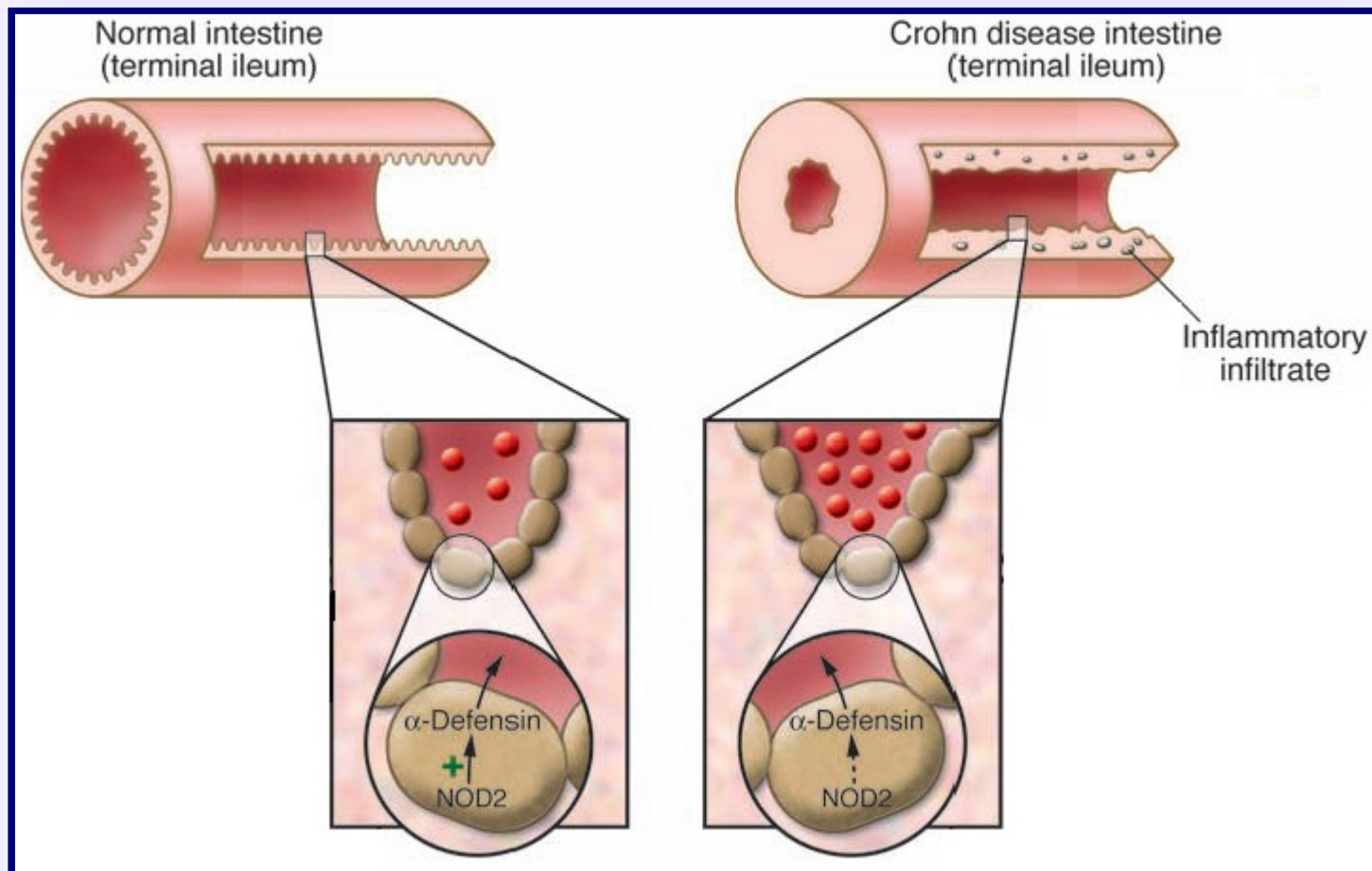
Riassumendo... [6,12]

La teoria del difetto al sistema immune e quella del difetto alla microflora possono essere conciliate alla luce degli studi di Wehkamp et al. [12] e di Kobayashi et al. [6]

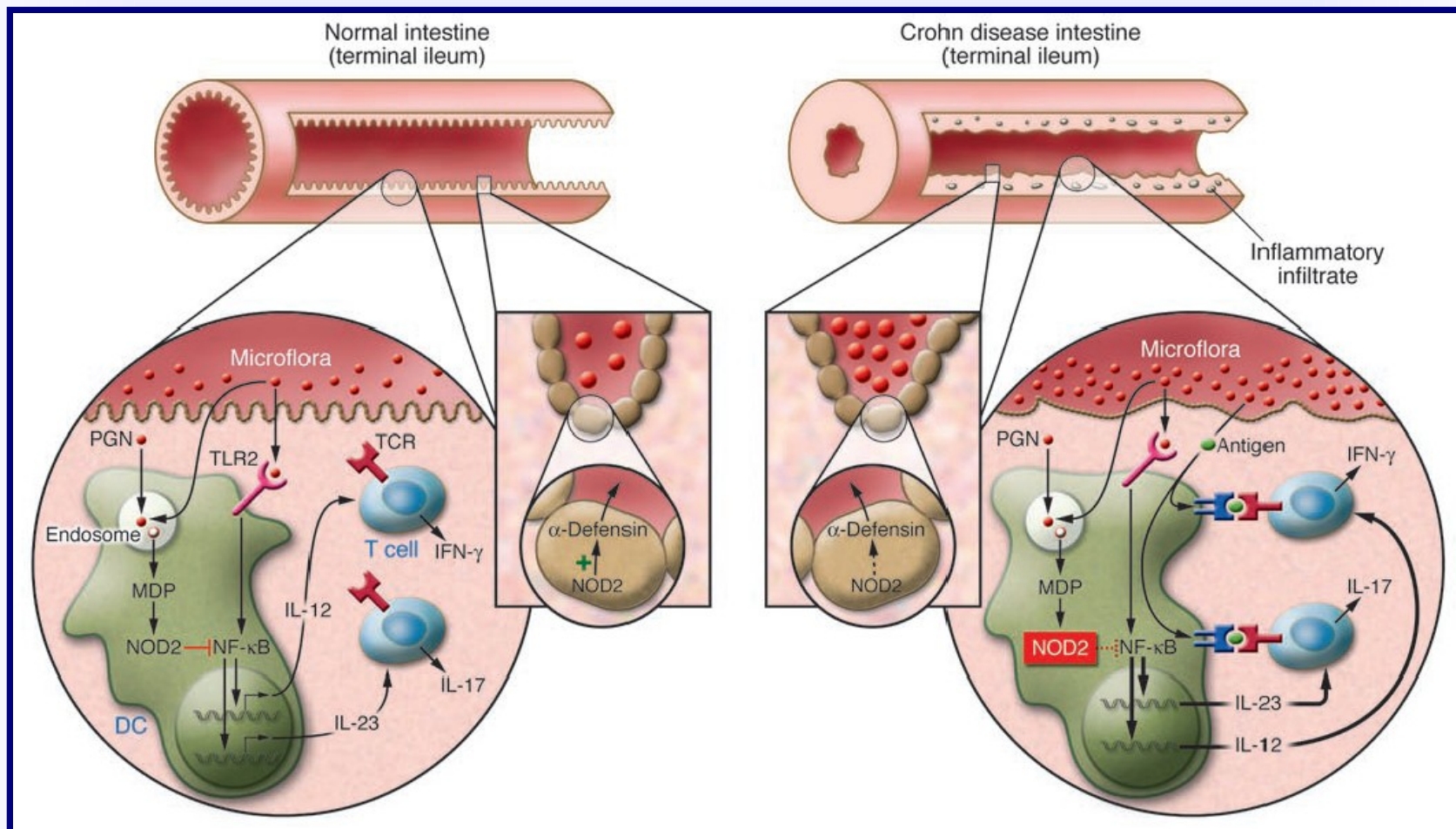
NOD2, oltre ad essere modulatore del segnale del TLR2, ha anche il compito di attivare la produzione di  $\alpha$ -defensine nelle cellule di Paneth (nelle cripte alla base dei villi)

Mutazioni su NOD2 (morbo di Crohn) provocano

- diminuita produzione di  $\alpha$ -defensine
- aumento della microflora intestinale
- attivazione del sistema immunitario (già più sensibile per la mancata modulazione di TLR2)



Strober et al., The fundamental basis of inflammatory bowel disease, J. Clin. Invest., 117:514, 2007, MODIFICATA



Strober et al., The fundamental basis of inflammatory bowel disease, J. Clin. Invest., 117:514, 2007

Terapie [13,14,15]

Terapia farmacologica [13,14] basata su antiinfiammatori e immunosoppressori come

- corticosteroidi
- farmaci 5-ASA e budesonide
- azathioprine e methotrexate
- ciprofloxacina
- ...

Terapia con MoAb [13,14]

- MoAb anti-IL-12 in esame
- MoAb anti-TNF $\alpha$  infliximab
- ...

Trapianto con cellule staminali ematopoietiche [15]

Intervento chirurgico di asporto di tratti dell'intestino [13]



[www.informationhospitaliere.com](http://www.informationhospitaliere.com)

Terapia farmacologica convenzionale [13]

In forme moderate di morbo di Crohn

Farmaci 5-ASA, cioè

- Sulfasalazine -in pazienti dove il morbo colpisce solo il colon
  - efficace
  - molti effetti collaterali (nausea, mal di testa, vomito, dolori addominali... )  
nel 50% dei pazienti
- Mesalamine -in pazienti dove il morbo colpisce vari tratti dell'intestino
  - poco efficace
  - effetti collaterali limitati
  - preferito al sulfasalazine

Budesonide -in pazienti dove il morbo colpisce la parte terminale dell'ileo o il retto

- più efficace della mesalamine
- effetti collaterali limitati (acne, malumore, osteoporosi... )

*In forme gravi di morbo di Crohn (oppure in pazienti refrattari ai farmaci 5-ASA o al budesonide)*

Corticosteroidi -molto efficaci (inducono remissione nel 70% dei pazienti)

-agiscono velocemente

-alcuni effetti collaterali (ipertensione...)

Per il mantenimento della remissione

Azathioprine -è un immunosoppressore

-agisce lentamente (effetti compaiono dopo mesi)

-alcuni effetti collaterali (nausea, malessere, pancreatite... )

-utilizzabile in combinazione con l'Infliximab

Methotrexate -usato anche per la cura di casi cronici

-alcuni effetti collaterali (nausea, diarrea, dolori addominali... )

***In caso di complicazioni dovute a infezioni***

Ciprofloxacina -è un antibiotico

-ha pochi effetti collaterali



## Bibliografia

1. Strober et al., The fundamental basis of inflammatory bowel disease, *J. Clin. Invest.*, 117:514, 2007
2. Cavanaugh, NOD2: ethnic and geographic differences, *World J Gastroenterol*, 12:3673, 2006
3. Halme et al., Family and twin studies in inflammatory bowel disease, *World J Gastroenterol*, 12:3668, 2006
4. Sanders, Mucosal integrity and barrier function in the pathogenesis of early lesions in Crohn's disease, *J. Clin. Pathol.*, 58:568, 2005
5. Watanabe et al., NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses, *Nature Immunol*, 5:800, 2004
6. Kobayashi et al., NOD2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract, *Science*, 307:731, 2005
7. Yamamoto-Furusho JK et al., Crohn's disease: innate immunodeficiency, *World J Gastroenterol*, 12:6751, 2006
8. van Beelen et al., Stimulation of the intracellular bacterial sensor NOD2 programs dendritic cells to promote interleukin-17 production in human memory T cells, *Immunity*, 27:660, 2007
9. Stetson and Medzhitov, T Helper 17 cells get the NOD, *Immunity*, 27:546, 2007
10. Karin et al., Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer, *Cell*, 124:823, 2006
11. Darfeuille-Michaud et al., High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease, *Gastroenterology*, 127:412, 2004
12. Wehkamp et al., Reduced Paneth cell  $\alpha$ -defensins in ileal Crohn's disease, *Proc Natl Acad Sci USA*, 102:18129, 2005

1. Büning and Lochs, Conventional therapy for Crohn's disease, World J Gastroenterol, 12:4794, 2006
3. Vermeire et al., Altering the natural history of Crohn's disease: evidence for and against current therapies, Aliment Pharmacol Ther, 25:3, 2006
6. Leung et al., Hematopoietic cell transplantation for Crohn's disease; is it time?, World J Gastroenterol, 12:6665, 2006
8. Sito [www.humanitasalute.it](http://www.humanitasalute.it)
9. Sito [www.chron.it](http://www.chron.it)
10. Sito [www.gastronet.it](http://www.gastronet.it)
11. Sito [www.det.it/pdf/novembre/chron.pdf](http://www.det.it/pdf/novembre/chron.pdf)
12. Sito [www.chemionline.de](http://www.chemionline.de)
13. Sito [www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)
14. Sito [www.informationhospitaliere.com](http://www.informationhospitaliere.com)