



Ana Sofia Travessa Leal

Resposta Inflamatória no Contexto da Doença Inflamatória Intestinal

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Sofia Travessa Leal

Resposta Inflamatória no Contexto da Doença Inflamatória Intestinal

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Sofia Travessa Leal, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010143728, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, de de 2015.

(Ana Sofia Travessa Leal)

A Tutora,

Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva

(Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis)

A Aluna,

Ana Sofia Travessa Leal

(Ana Sofia Travessa Leal)

Agradecimentos

Neste que foi um dos últimos passos da minha vida académica, não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que contribuíram para a sua concretização, por isso um grande obrigada:

À minha orientadora, Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis, por todo o acompanhamento e disponibilidade.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio, confiança e paciência sempre presentes durante esta longa caminhada.

Aos meus amigos, por terem partilhado comigo momentos inesquecíveis e por estarem sempre presentes quando precisei.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por todo o percurso que tive o prazer de realizar nesta excelente instituição.

À grandiosa cidade de Coimbra, por todas as vivências que me proporcionou ao longo destes cinco anos.

Resumo

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) compreende duas formas possíveis: a Doença de Crohn e a Colite Ulcerosa, que afectam a mucosa intestinal de forma distinta. A DII representa um problema de saúde mundial que se encontra globalmente em mudança.

A etiologia da doença permanece por esclarecer, no entanto têm sido realizados grandes avanços na compreensão da patogénese da DII. Diversos factores podem estar na origem da doença entre os quais a susceptibilidade genética, a barreira intestinal e o meio ambiente. Presentemente estão identificados 163 loci de genes associados à DII, que afectam a resposta imunológica nos seus diferentes mecanismos. A alteração da barreira intestinal proporciona uma resposta imunológica anormal à microbiota intestinal, que também está alterada na doença. O ambiente envolvente dos doentes com DII apresenta, igualmente, grande impacto no desenvolvimento da patologia.

Embora tenham ocorrido avanços importantes no conhecimento da patogénese da DII, estes têm-se revelado insuficientes e, futuramente, são necessários mais estudos para esclarecer os diversos mecanismos implicados na doença.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal, Doença de Crohn, Colite Ulcerosa, Genes, Sistema Imunológico, Microbiota, Factores Ambientais.

Abstract

Crohn's Disease and Ulcerative Colitis are two main types of Inflammatory Bowel Disease (IBD), which affects the intestinal mucosa in different ways. The IBD represents a world health problem that is changing globally.

The etiology of this disease still remains unclear, although huge advances have been made in the comprehension of the pathogenesis of IBD. Many factors can be in the origin of this disease, among which the genetic susceptibility represents a main factor. Currently, there are 163 loci of genes associated to IBD that affects the immunologic response in its different mechanisms. The modification in the intestinal barrier leads to an abnormal immunologic response to the intestinal microbiotic, which is also changed in the disease. The environment in which the patients with IBD are also represents a huge factor in the development of this pathology.

Although important advances had occur in the knowledge of the pathogenesis of IBD, they are insufficient and, in the future, it will be necessary more studies to clarify the different mechanism involved in the disease.

Keywords: Inflammatory Bowel Disease, Cronh's Disease, Ulcerative Colitis, Genetics, Immune System, Microbiota, Environmental Factors.

Índice

Abreviaturas.....	8
1. Introdução	9
2. Genética da Doença Inflamatória Intestinal	10
3. Sistema imunológico.....	12
3.1 Barreira intestinal na Doença Inflamatória Intestinal	12
3.1.2 Epitélio intestinal	12
3.1.2 Peptídeos antimicrobianos	14
3.1.3 Camada de muco intestinal.....	15
3.2. Resposta imunológica inata	15
3.3. Resposta imunológica adaptativa.....	17
3.3.1 Células Th1 e Th2.....	18
3.3.2 Células Th17	18
3.3.3 Células T reguladoras.....	19
3.3.4 IL-23/células Th17	19
3.3 Citocinas pró-inflamatórias na Doença Inflamatória Intestinal	20
4. Microbiota e sistema imunológico intestinal na DII	21
5. Factores ambientais na DII.....	23
5.1 Tabagismo.....	23
5.2 Vitamina D.....	23
5.3 Fármacos.....	23
5.4 Stress	24
5.5 Poluição.....	24
5.6 Epigenética.....	24
6. Qualidade de vida na Doença Inflamatória Intestinal.....	25
7. Conclusão	26
8. Bibliografia.....	27

Abreviaturas

- AIEC** - *Escherichia coli* aderente-invasiva, do inglês *Adherent-invasive Escherichia coli*
- AINEs** - Anti-inflamatórios não esteróides
- AMPs** - Peptídeos antimicrobianos, do inglês *Antimicrobial peptides*
- APCs** - Células apresentadoras de antígenos, do inglês *Antigen-presenting cells*
- CARD15** - *Caspase activation recruitment domain family-15*
- CU** - Colite Ulcerosa
- DC** - Doença de Crohn
- DII** - Doença Inflamatória Intestinal
- GALT** - Tecido linfóide associados à mucosa do intestino, do inglês *Gut-associated lymphoid tissue*
- HBD** - β -defensina, do inglês *Human β -defensin*
- HD** - α -defensina, do inglês *Human defensin*
- IECs** - Células epiteliais do intestino, do inglês *Intestinal epithelial cells*
- IL** - Interleucina
- ILCs** - Células linfóides inatas, do inglês *Innate lymphoid cells*
- INF- γ** - *Interferon- γ*
- LTi** - Células indutoras do tecido linfóide, do inglês *Lymphoid tissue inducer cells*
- MDP** - *muramyl dipeptide*
- MMPs** - Metaloproteinases da matriz, do inglês *Metalloproteinases*
- NF- κ B** - Factor nuclear- κ B, do inglês *Nuclear factor- κ B*
- NK** - Células natural killer, do inglês *Natural Killer cells*
- NLM** - Nódulos linfáticos mesentéricos
- NLRs** - Receptores NOD-like, do inglês *NOD-like receptors*
- NOD2** - *Nucleotide-binding oligomerization domaincontaining 2*
- PP** - Placas de Peyer
- PRRs** - Receptores de reconhecimento padrão, do inglês *Patterns recognition receptors*
- STAT3** - *Signal transducer and activator of transcription*
- TGF- β** - *Transforming growth factor- β*
- Th** - Células T auxiliares, do inglês *T helper cells*
- TLRs** - Receptores Toll-like, do inglês *Toll-like receptors*
- TNF- α** - *Tumor necrosis factor- α*
- Tregs** - Células T reguladoras, do inglês *Regulatory T cells*

I. Introdução

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é um problema de saúde mundial e cuja incidência tem vindo a aumentar.⁽¹⁾ Trata-se de uma doença inflamatória crónica que compreende a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU).

A Doença de Crohn geralmente envolve o íleo e o cólon, mas pode afectar qualquer parte do tracto gastrointestinal, de forma descontínua. A Colite Ulcerosa envolve o recto e pode afectar parte do cólon ou a sua totalidade, de forma contínua. Na DC a inflamação é, frequentemente, transmural, enquanto que na CU está tipicamente limitada à mucosa. A DC pode estar associada a granulomas intestinais, estreitamento e fistulas, o que não se verifica na CU.⁽²⁾

A epidemiologia da doença inflamatória intestinal está globalmente em mudança. A incidência e a prevalência têm vindo a estabilizar em áreas de grande incidência como a América do Norte e o Norte da Europa, mas continuam a aumentar em áreas de baixa incidência como Europa Oriental, Ásia e muitos dos países em desenvolvimento.⁽³⁾ Na Europa a incidência da DC varia entre 0,5-10,6 casos por 100 000 pessoas/ano, enquanto que a incidência da CU varia entre 0,9-24,3 casos por 100 000 pessoas/ano. No que diz respeito à prevalência, no caso da DC varia entre 1,5-213 casos por 100 000 pessoas e no caso da CU varia entre 2,4-294 casos por 100 000 pessoas.⁽⁴⁾

Embora a etiologia da DII continue por explicar, têm sido realizados muitos estudos nesta área e acredita-se que a doença resulte de uma combinação de diversos factores. Estudos recentes indicam que a susceptibilidade genética, a resposta imunológica, a microbiota intestinal e os factores ambientais estão envolvidos e, funcionalmente, relacionados na patogénese da doença.^(5,6)

Esta monografia incide sobre os diferentes factores que estão na origem da resposta inflamatória na Doença Inflamatória Intestinal e o seu papel na patogénese da mesma. Inicialmente, será apresentado o contributo da genética para o desenvolvimento da doença, com o objectivo de integrar a susceptibilidade genética na desregulação do sistema imunológico intestinal. Em seguida, será realizada uma breve abordagem ao contributo da microbiota no desenvolvimento do sistema imunológico intestinal, bem como a influência que tem na resposta inflamatória. Por último, serão tratados os factores ambientais que interferem no desenvolvimento da DII e o impacto da doença na qualidade de vida dos doentes.

2. Genética da Doença Inflamatória Intestinal

O papel da genética na manifestação da DII começou a ser demonstrado em 1980, baseado em estudos que mostravam o aumento de casos entre doentes da mesma família.⁽⁷⁾ Nas últimas décadas, verificaram-se grandes avanços na compreensão do contributo da genética na DII, graças aos desenvolvimentos tecnológicos para análise e sequenciação do DNA, que têm possibilitado a identificação de diversos genes associados à patogénese da DII. Estudos recentes identificaram 163 loci de genes associados à DII, dos quais 110 estão associados tanto à DC como à CU, 30 são específicos da DC e 23 específicos da CU, o que significa que muitos, mas não todos, dos mecanismos implicados na DC, também estão presentes na UC.^(6,7)

O gene *NOD2* foi o primeiro gene a ser descoberto que demonstrou estar relacionado com susceptibilidade para a DC. Este gene codifica a proteína *CARD15* (*caspase activation recruitment domain family-15*), uma proteína intracelular expressa na lâmina própria de macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células *Paneth*, e que desempenha um papel importante na imunidade inata e adaptativa do intestino. *CARD15* é um receptor intracelular que reconhece o MDP (*muramyl dipeptide*), o componente maior do peptidoglicano presente nas bactérias, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias que estão envolvidas na inflamação do intestino.⁽⁸⁻¹⁰⁾ Polimorfismos no gene *NOD2* representam uma perda de função que leva à redução da activação do factor nuclear- κ B (NF- κ B). Esta resposta inadequada resulta numa invasão microbiana patogénica.^(6,11)

Mutações no gene *NOD2*, assim como em genes que codificam outros receptores de reconhecimento, limitam a capacidade do sistema imunológico da mucosa intestinal de detectar os microorganismos levando a uma deficiente clearance microbiana, o que resulta numa persistente estimulação antigénica. Consequentemente, a mucosa intestinal apresenta uma inflamação persistente devido à perda da regulação das vias pró-inflamatórias, o que possibilita o desenvolvimento da DII.⁽⁵⁾

Análises genéticas têm demonstrado que a autofagia desempenha um papel importante nas respostas imunológicas na Doença Inflamatória Intestinal e foram identificados dois genes relacionados com este processo: *ATG16L1* e *IRGM*.⁽⁸⁻¹⁰⁾ A autofagia é um processo que contribui para a homeostasia intracelular, uma vez que é responsável pela degradação e reciclagem de componentes do citoplasma e organelos, assim como, pela resistência a infecções e pela remoção de microorganismos intracelulares. Alterações nestes genes estão associadas à patogénese da DC, uma vez que causam alterações no processamento intracelular de bactérias.^(8,9) A estimulação imunológica via receptores Toll-like tem mostrado activar a autofagia, no entanto, recentemente, existem estudos que

demonstram que o gene *NOD2* está relacionado com a indução da autofagia. Verificou-se que variantes dos genes *NOD2* e *ATG16L1* levam a alterações na autofagia e na apresentação de antígenos realizada pelas células dendríticas.^(5,11)

Intimamente relacionada com a autofagia e com a imunidade inata, a desregulação da resposta a proteínas mal-enoveladas, também, pode contribuir para a patogénese da DII. A resposta a estas proteínas é induzida pela acumulação das proteínas disfuncionais no retículo endoplasmático. Polimorfismos no gene *XBP1*, que está relacionado com esta resposta, é visto como factor de risco tanto para a DC como para a CU.^(12,11)

Um outro exemplo de susceptibilidade genética para desenvolver DC e CU é o gene que codifica a IL-10. A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória sintetizada por monócitos e linfócitos, que inibe a síntese, de citocinas pró-inflamatórias, por macrófagos e pelas células T auxiliares (Th) 1 e inibe a actividade das células apresentadoras de antígenos (APCs). Polimorfismos nos genes que codificam a IL-10 e o receptor da IL-10 estão associados a doentes com DII.⁽⁷⁾

A susceptibilidade genética está na origem da imunopatologia da Doença Inflamatória Intestinal, uma vez que muitos dos genes identificados estão implicados na desregulação da resposta imunológica característica dos doentes com DII. Estes genes podem estar associados à função de barreira do epitélio intestinal, à resposta imunológica (por ex. via IL-23/Th17), assim como à resposta celular (por ex. autofagia).⁽¹³⁾ Os principais genes implicados na patogénese da DII estão resumidos na Figura 1.

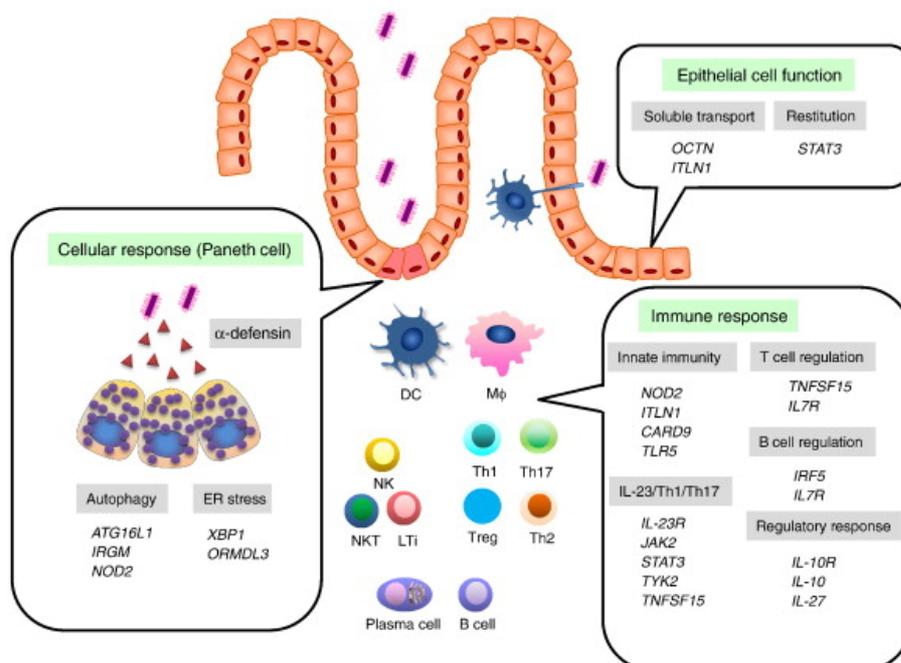


Figura 1 – Susceptibilidade genética na imunopatogénese da DII. Os genes implicados na patogénese da DII podem estar associados à função de barreira do epitélio intestinal, à resposta imunológica e à resposta celular.⁽¹³⁾

3. Sistema imunológico

O sistema imunológico é responsável pela protecção contra uma grande variedade de agentes infecciosos. Nos vertebrados, o sistema imunológico é constituído por dois tipos de imunidade: a imunidade inata e a imunidade adaptativa. A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa, é responsável pela protecção imediata contra infecções e, também, ajuda a iniciar a resposta imunológica adaptativa. A resposta imunológica inata é inespecífica e não confere uma imunidade duradoura. O sistema imunológico inato é composto pela barreira epitelial, macrófagos, monócitos, neutrófilos, células dendríticas, células natural killer (NK), eosinófilos e basófilos. Estas células actuam em conjunto para desencadear uma resposta inflamatória pela segregação de citocinas, quimiocinas e agentes antimicrobianos, o que leva à fagocitose de células infectadas e microorganismos, apresentação de antígenos e activação do sistema imunológico adaptativo. Contrariamente à imunidade inata, a resposta imunológica adaptativa é altamente específica e confere imunidade a longo prazo. O sistema imunológico adaptativo é formado pelos linfócitos (células T e B) que, quando activados, sintetizam citocinas e anticorpos.⁽⁵⁾

3.1 Barreira intestinal na Doença Inflamatória Intestinal

A homeostasia intestinal em indivíduos saudáveis é assegurada por um sistema complexo denominado barreira intestinal, uma estrutura dinâmica que separa o conteúdo intestinal dos tecidos do hospedeiro, regula a absorção de nutrientes e permite a interacção entre a microbiota e o sistema imunológico da mucosa intestinal. A barreira intestinal é composta por uma espessa camada de muco, que contém peptídeos antimicrobianos (AMPs), uma monocamada de células epiteliais do intestino (IECs) e um conjunto de células subjacentes. (Figura 2) Diversas alterações na barreira intestinal têm vindo a ser observadas na DII, tais como: alterações na camada do muco, deficiente produção de peptídeos antimicrobianos e aumento da permeabilidade.⁽¹⁴⁾

3.1.2 Epitélio intestinal

O epitélio intestinal é maioritariamente constituído por enterócitos. Para além dos enterócitos, estão presentes três tipos diferentes de células com funções secretoras específicas, nomeadamente as células *Goblet*, as células enteroendócrinas e as células *Paneth*. As células *Goblet* são especializadas na secreção de constituintes do muco e as células enteroendócrinas secretam hormonas peptídicas que participam, por exemplo, na reparação dos tecidos e diferenciação dos enterócitos.

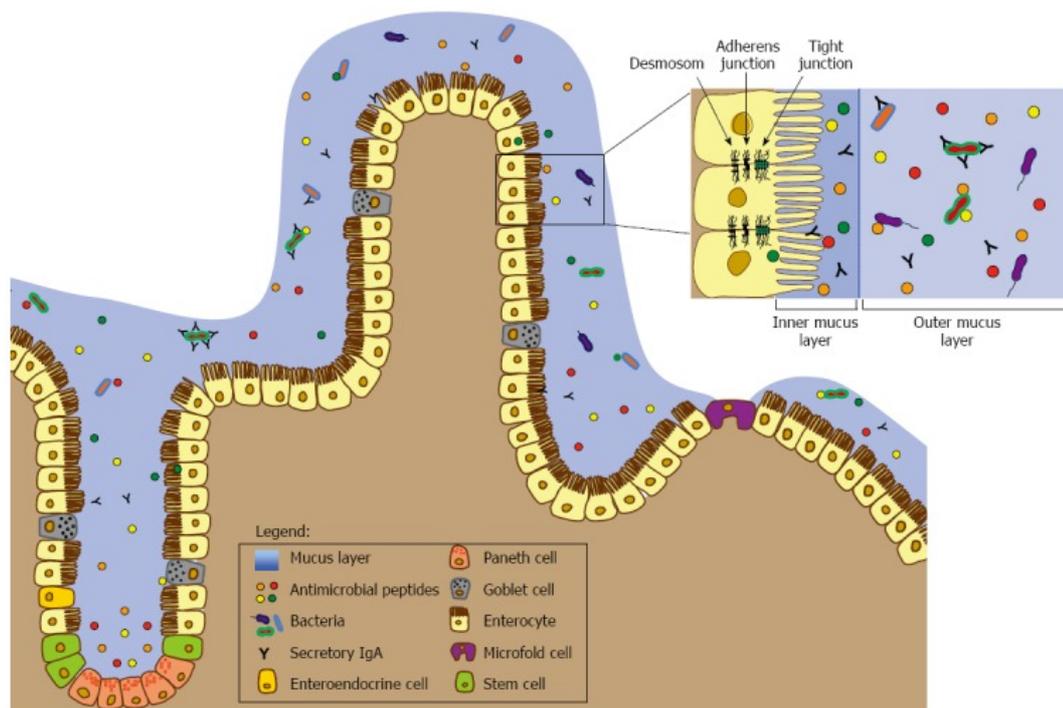


Figura 2 – Mecanismos de defesa da barreira intestinal. Para prevenir a adesão prejudicial e a invasão de microorganismos, a mucosa intestinal é constituída por diversos tipos de células que apresentam diferentes características e desempenham funções específicas na barreira intestinal.⁽¹⁵⁾

O terceiro tipo de células secretoras do epitélio intestinal são as células *Paneth*, normalmente presentes apenas no intestino delgado e responsáveis pela síntese de diversos peptídeos antimicrobianos, dos quais podemos destacar a β -defensiva por ser a mais abundante. No epitélio intestinal estão ainda presentes as células M (*microfold*) que realizam o transporte de bactérias e antígenos do lúmen intestinal para as células imunológicas subjacentes. Estas células epiteliais do intestino encontram-se sobre o tecido linfóide associado à mucosa do intestino (GALT), localizado imediatamente abaixo do epitélio da mucosa e inclui as Placas de Peyer (PP) e os folículos linfóides isolados.⁽¹²⁾

O epitélio intestinal proporciona uma barreira com permeabilidade selectiva, permitindo a passagem de água, electrólitos e nutrientes, mas impede a entrada de antígenos estranhos, de microorganismos e das suas toxinas. As células do epitélio intestinal estão intimamente interligadas por diferentes complexos proteicos, tais como as junções apertadas (*tight*), fundamentais para estabilizarem a coesão mecânica das células, definir as regiões apical e basolateral da membrana e para a regulação da permeabilidade paracelular.⁽¹⁵⁾

O reconhecimento dos microorganismos e, conseqüente, iniciação de uma resposta imunológica apropriada é realizado pelos receptores de reconhecimento padrão (PRRs), que são expressos por diferentes tipos de células no tracto gastrointestinal, incluindo as células epiteliais e as células do sistema imunológico. Os receptores de reconhecimento padrão

podem ser de dois tipos: receptores NOD-like (NLRs) intracelulares e os receptores Toll-like (TLRs) localizados na membrana celular. Estes receptores são capazes de detectar microorganismos pelo reconhecimento dos padrões moleculares associados a agentes patogénicos, que são estruturas conservadas características dos microorganismos.^(14,15) A ligação aos PRRs desencadeia uma cascata de sinalização que leva à activação de moléculas de sinalização, como o NF- κ B, e à expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e peptídeos antimicrobianos.⁽¹⁵⁾

Tanto em doentes com DC, como com CU, tem sido observada uma anormal barreira epitelial e um aumento da permeabilidade intestinal; no entanto permanece por esclarecer se estas alterações representam uma causa ou uma consequência da inflamação crónica.⁽¹¹⁾

3.1.2 Peptídeos antimicrobianos

A mucosa intestinal secreta diversos agentes bactericidas entre os quais os peptídeos antimicrobianos, que incluem as defensas. Os AMPs contribuem para a manutenção da imunidade do hospedeiro e protegem contra a flora intestinal patogénica.⁽¹⁴⁾ As defensas podem ser divididas em dois grupos: α -defensas e β -defensas. No intestino saudável as α -defensas (HD), especialmente a HD5 e a HD6, são sintetizadas em grande quantidade pelas células *Paneth*. Estas células estão, normalmente, restritas ao intestino delgado e a expressão das α -defensas está ausente no cólon saudável. Contudo, na DII pode ocorrer o desenvolvimento de células *Paneth* metaplásticas no intestino grosso e, conseqüentemente, expressão de α -defensas.^(12,16) As β -defensas (HBD) são, maioritariamente, de origem epitelial e têm sido identificadas em vários epitélios, incluindo o do tracto intestinal.⁽¹⁵⁾ A deficiente expressão dos peptídeos antimicrobianos tem vindo a ser observada em doentes com DC. Uma indução reduzida das β -defensas HBD2, HBD3 e HBD4 tem sido encontrada no cólon de doentes com DC, quando comparados com UC. Doentes com DC que afecta o íleo, também apresentam um decréscimo da expressão das α -defensas HD5 e HD6.⁽¹¹⁾ A causa da deficiente produção de defensas não está claramente determinada mas acredita-se que a via de sinalização NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domaincontaining 2*) está envolvida.⁽¹⁵⁾ As células *Paneth* expressam grande quantidade de receptores NOD2 e polimorfismos no gene *NOD2* têm vindo a ser associados à reduzida expressão de HD5 e HD6, tendo em conta que esta redução se tem demonstrado mais pronunciada em doentes portadores da mutação.^(11,15)

3.1.3 Camada de muco intestinal

A camada de muco que reveste o epitélio intestinal representa a primeira barreira física de protecção contra a invasão patogénica do intestino. O muco é composto por uma complexa variedade de moléculas, sendo a mucina a glicoproteína mais representativa. As células *Goblet*, presentes no intestino delgado e intestino grosso, são responsáveis pela secreção de mucina, glicoproteína codificada pelo gene *MUC2*.⁽¹⁴⁾ No intestino grosso, o muco está dividido em duas camadas com características diferentes. Em indivíduos saudáveis, a camada interna é estéril e previne, de forma eficaz, o contacto directo do epitélio com os microrganismos presentes no lúmen intestinal, por outro lado a camada externa é colonizada pelas bactérias comensais.⁽¹⁵⁾ A importância do muco na inflamação intestinal tem sido comprovada por estudos em murinos com mutação no gene *MUC2*, uma vez que estes desenvolvem colite e apresentam um risco aumento de cancro colorectal devido à presença de bactérias em contacto directo com o epitélio.^(11,15) Variações na camada de muco intestinal no que diz respeito à espessura, continuidade e composição têm sido detectadas na DII, principalmente na CU. Estas variações afectam as propriedades de protecção e, consequentemente, aumentam a vulnerabilidade do epitélio à invasão bacteriana. A camada de muco tem-se comprovado ser mais fina e menos contínua em doentes com CU,⁽¹⁵⁾ devido à redução da expressão do gene *MUC2* e à diminuição do número de células *Goblet*.^(14,17)

3.2. Resposta imunológica inata

A resposta imunológica inata é iniciada pelo reconhecimento dos antígenos microbianos pelas células imunológicas inatas, nomeadamente os macrófagos e células dendríticas, assim como pelas células epiteliais. (Figura 3) Este reconhecimento é feito através dos receptores de reconhecimento padrão, os TRLs na superfície das células e os NRLs no citoplasma, desencadeando uma rápida resposta inflamatória mediada pela secreção de citocinas pro-inflamatórias, quimiocinas e pelo recrutamento de células inflamatórias. A estimulação dos PRRs leva também à maturação das células apresentadoras de antígenos responsáveis pela activação das células T, desempenhando um papel importante na interligação das respostas imunológicas inata e adaptativa.⁽¹¹⁾ Estudos recentes têm demonstrado que o comportamento das células mediadoras da imunidade inata e a função das proteínas TRLs e NRLs estão, significativamente, alterados em indivíduos com DII.⁽⁶⁾ Mutações nos genes que codificam estes receptores têm sido associadas à susceptibilidade genética para as DII.⁽⁵⁾ Diversos polimorfismos nos TLRs têm vindo a ser associados à DII, mais especificamente nos: TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 e TLR9. Contudo, os efeitos funcionais destas variantes ainda não estão bem definidos. Demonstrou-se que na DII as

células epiteliais do intestino apresentavam uma produção anormal de certos subtipos de TLRs, existindo uma expressão aumentada de TLR2 e TLR4 na mucosa inflamada.⁽¹⁴⁾ Alguns estudos sugerem que a perda de função no receptor NOD2 pode resultar num bloqueio da inibição da estimulação de TLR2, levando à activação de vias inflamatórias e a uma resposta Th1 excessiva.^(6,11)

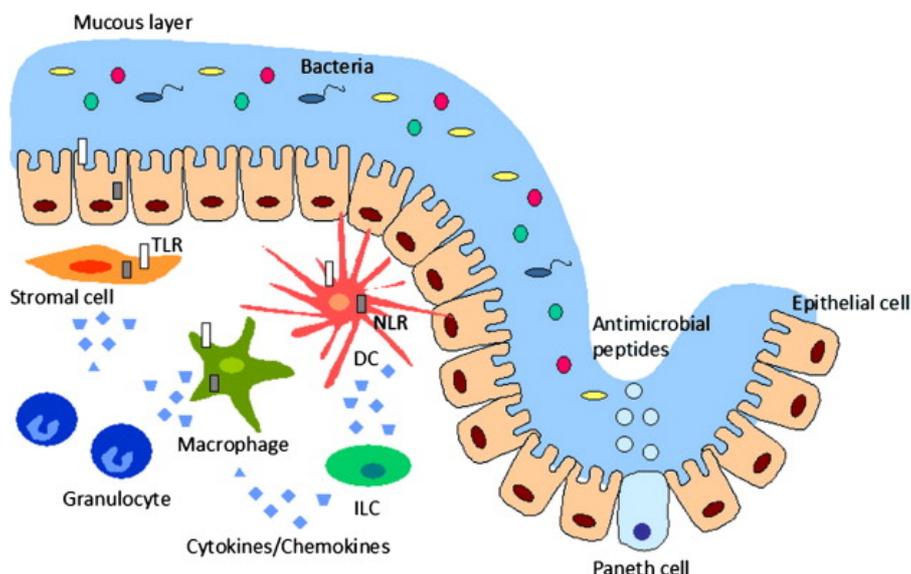


Figura 3 – Resposta inata no intestino. A camada de muco e o epitélio intestinal representam a primeira linha de defesa contra a invasão bacteriana. As células *Paneth* e outras células epiteliais sintetizam peptídeos antimicrobianos que limitam o crescimento e invasão bacteriana. As células epiteliais e as células do sistema imunológico (por ex. macrófagos e células dendríticas) reconhecem os antígenos intestinais e iniciam uma resposta inflamatória. As células linfóides inatas também se encontram na lâmina própria e contribuem para a resposta imunológica inata.⁽¹¹⁾

Recentemente foi identificado outro tipo de células de imunidade inata – células linfóides inatas (ILCs). Estas células são encontradas na lâmina própria, onde contribuem para a síntese de citocinas e recrutamento de células inflamatórias.⁽¹⁰⁾ Estudos recentes têm demonstrado a importância das ILCs nas respostas imunológicas e foram identificados diferentes grupos de ILCs, com características e funções distintas. Todas as ILCs derivam de uma célula progenitora, que expressa o factor de transcrição Id2, e são classificadas tendo em conta o seu fenótipo e características funcionais. As ILCs podem ser classificadas em três grupos: grupo 1, composto pelas ILCs1 e células NK; grupo 2, constituídos pelas ILCs2; e grupo 3, composto pelas ILCs3 e células indutoras do tecido linfóide (LTi). Para o seu desenvolvimento, as células NK requerem a presença de IL-15; todas as restantes requerem a presença de IL-7. Contudo, para além da presença de interleucinas, o desenvolvimento dos diferentes tipos de células linfóides inatas está condicionado pela presença de diversos factores de transcrição.⁽⁵⁾ (Figura 4)

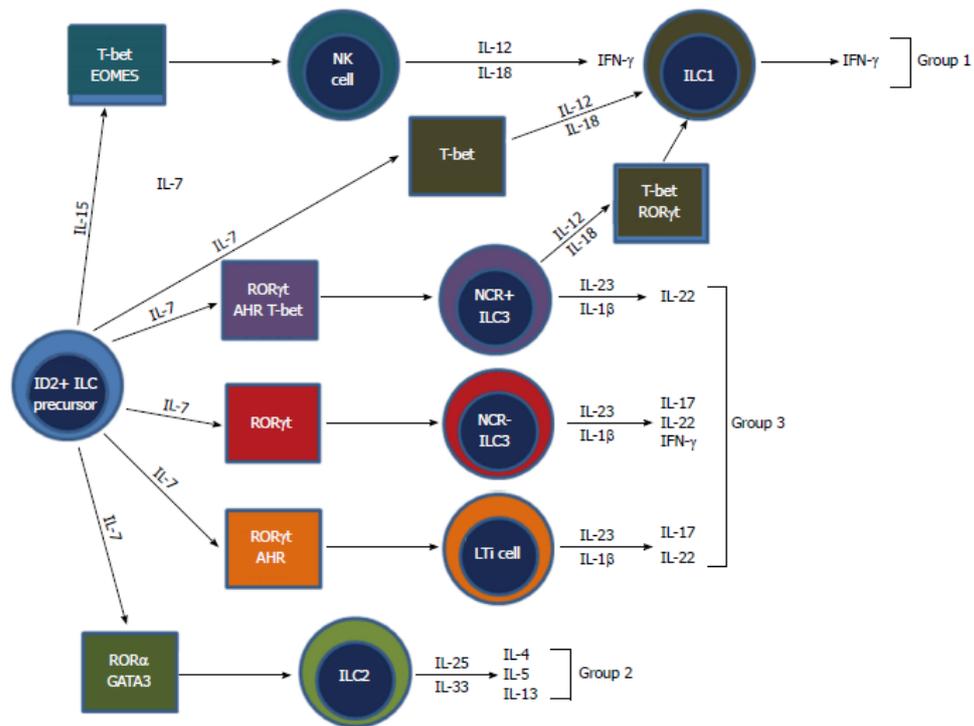


Figura 4 – Desenvolvimento e classificação das células linfóides inatas. As ILCs derivam todas de uma célula progenitora comum e requerem a presença de diversos factores de transcrição para o seu desenvolvimento. Podem ser classificadas em três grupos (ILCs do grupo 1, 2 e 3) de acordo com o seu fenótipo e características funcionais.⁽⁵⁾

As principais citocinas secretadas pelas ILCs são semelhantes às sintetizadas pelas células Th do sistema imunológico adaptativo, por isso as ILCs podem ser vistas como células do sistema imunológico inato homólogas às células Th. As ILCs do grupo 1 sintetizam IFN-γ, citocina associada às células Th1. As ILCs do grupo 2 são responsáveis pela produção de citocinas similares às sintetizadas pelas células Th2, nomeadamente IL-5 e IL-13. Por último, as ILCs do grupo 3 sintetizam IL-17 e IL-22, citocinas características das células Th17.⁽⁵⁾ As ILCs do grupo 3 têm demonstrado estar envolvidas no desenvolvimento da DII, desempenhando um papel importante na homeostasia intestinal. A IL-23, para além da sua actividade nas células Th17, que será explicada mais à frente, actua no sistema imunológico inato através da estimulação da síntese das citocinas pelas ILCs do grupo 3, o que contribui para a inflamação intestinal.^(5,6)

3.3. Resposta imunológica adaptativa

O sistema imunológico adaptativo tem demonstrado estar amplamente envolvido na patogénese da DII. As células Th são responsáveis pelo desenrolar da resposta imunológica adaptativa da mucosa intestinal e o seu envolvimento na patogénese da DII é demonstrado

não só pelo aumento das citocinas pró-inflamatórias sintetizadas pelos diferentes tipos de células Th, mas também pela desregulação da função anti-inflamatória das células T reguladoras (Tregs). As células T *naive* quando activadas podem diferenciar-se em células Th1, Th2 e Th17.⁽⁵⁾

3.3.1 Células Th1 e Th2

Tendo por base os níveis das citocinas sintetizadas pelas células Th detectados na mucosa intestinal na DII, diversos estudos têm associado a patogénese da DC e da UC a diferentes subtipos de células Th. As células Th1, induzidas pela IL-12, produzem quantidades elevadas de IFN- γ , TNF- α e IL-2⁽⁹⁾; já as células Th2 sintetizam IL-4, IL-5 e IL-13.⁽¹¹⁾

Uma resposta imunológica anormal das células Th1 é vista como causadora da inflamação intestinal na DC, e tem sido observado que as células Th da mucosa de doentes com DC produzem uma maior quantidade de IL-2 e IFN- γ do que as células Th da mucosa de doentes com CU.^(5,6,11) Para além disso, tem sido demonstrado que os doentes com CU produzem quantidades elevadas de IL-5^(5,11) e têm células T *natural killer* atípicas que sintetizam quantidades mais elevadas de IL-13 em comparação com os doentes com DC. Deste modo, a DC tem sido associada à resposta imunológica das células Th1, enquanto que se considera que CU é mediada pela resposta imunológica das células Th2.^(5,6,11)

Contudo, existem observações diferentes das expostas anteriormente sobre as citocinas produzidas pelas células Th1 e Th2 presentes na mucosa na DII. Estudos recentes demonstraram níveis altos e comparáveis de IFN- γ tanto na DC como na CU, no entanto foram detectados níveis baixos de IL-13 em doentes com CU quando comparados com doentes com DC.^(5,6,11) Dados de um estudo experimental recente sugerem que a IL-13 tem um efeito anti-inflamatório no intestino. Estas observações levam a que seja reconsiderada a associação entre as células Th1/Th2 e a DC e CU, dado que a ideia de que a UC é mediada pelas células Th2 permanece controversa.^(6,11)

3.3.2 Células Th17

As células Th17 são outro dos subtipos das células Th e caracterizam-se por produzirem quantidades elevadas de IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22. A diferenciação destas células é induzida pela combinação de IL-6 e de TGF- β e a sua expansão é induzida pela IL-23.^(5,6,11) O envolvimento das células Th17, particularmente da IL-17A, na inflamação intestinal tem sido largamente estudada e foram detectados níveis altos de IL-17A tanto na DC com na CU em comparação com o intestino normal. Para além disso, as células Th17 são uma

fonte importante de IL-21, citocina que está aumentada na mucosa inflamada na DII e é capaz de induzir resposta imunológica das células Th1 e Th17.^(6,11)

3.3.3 Células T reguladoras

Existe ainda outro tipo de células T que apresentam um papel importante na DII: as células T reguladoras. As células Treg caracterizam-se por expressar Foxp3 e são capazes de suprimir a proliferação das células T *naive*. Estas células estão envolvidas na manutenção da homeostasia da mucosa intestinal, sendo responsáveis por controlar uma resposta imunológica anormal contra a flora comensal ou os antígenos da dieta.

As células Treg sintetizam citocinas anti-inflamatórias, IL-10 e TGF- β , que actuam na prevenção tanto da activação como da função das células T. Tem sido observado que a estimulação das células Treg pela IL-6 pode inibir a expressão de Foxp3 e levar à expressão de IL-17, adquirindo assim o fenótipo de células Th17. Esta conversão tem demonstrado ser irreversível, uma vez que transformação de células Th17 em células Treg não tem sido observada. Esta alteração de fenótipo poderá ter um papel importante no início da inflamação crónica intestinal.⁽¹¹⁾

3.3.4 IL-23/células Th17

A IL-23 é uma citocina chave na interligação da imunidade inata e adaptativa, sendo essencial no desencadear da resposta contra microorganismos.^(6,11) Diversos estudos genéticos demonstraram que estão presentes mutações nos diferentes genes envolvidos na via IL-23/Th17 em doentes com Doença Inflamatória Intestinal e contribuem para a desregulação da homeostasia intestinal. A IL-23 estimula a diferenciação das células Th17 e também é importante na sua expansão e estabilização. Esta citocina é composta pelas subunidades p19 (IL-23A) e p40 (IL-12B). Na DII têm sido detectadas alterações no gene *IL-12B*, que codifica a subunidade p40 da IL-23. Polimorfismos no gene *IL-23R*, que codifica a subunidade IL-23R do receptor da IL-23 estão associados tanto à DC como à CU. Os genes *STAT3* e *JAK2* codificam proteínas envolvidas na transdução do sinal dado pela IL-23. O *STAT3* (*Signal transducer and activator of transcription*) é um factor de transcrição essencial mas não específico de diversas citocinas pró e anti-inflamatórias. Para além disso, o *STAT3* é um factor de transcrição essencial na diferenciação das células Th17, induzindo a expressão do receptor da IL-23. Alterações no gene *STAT3* são características da DII. Outro gene envolvido na via IL-23/Th17 que se pode encontrar alterado na DII é o gene *CCR6*, que codifica um receptor de quimiocinas expresso pelas células Th17, importante no desenvolvimento da resposta imunológica no epitélio intestinal.⁽¹⁸⁾ (Figura 5)

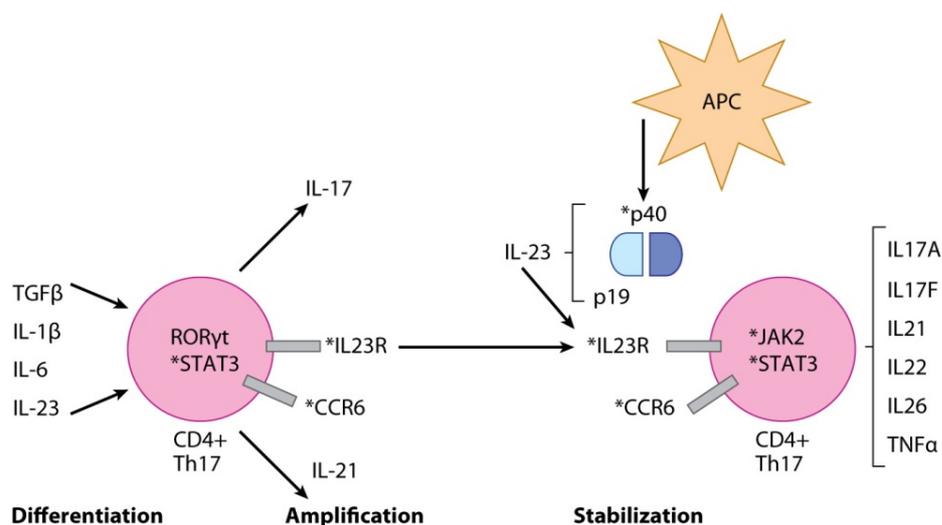


Figura 5 – Representação esquemática da via IL-23/Th17. O TGF- β e as citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 e a IL-6, desempenham um papel essencial no início da diferenciação das células Th17. A IL-23 está envolvida em múltiplas fases do desenvolvimento das células Th17, incluindo a diferenciação, expansão e estabilização.⁽¹⁸⁾

3.3 Citocinas pró-inflamatórias na Doença Inflamatória Intestinal

As citocinas pró-inflamatórias sintetizadas pelos diferentes tipos de células Th são responsáveis pelas lesões na mucosa inflamada dos doentes com DII. O IFN- γ sintetizado pelas células Th1 induz a apoptose dos enterócitos e a produção de TNF- α por macrófagos ativado presentes na mucosa, tal como representado na Figura 6. As células Th1 são também uma fonte de TNF- α , citocina que estimula a diferenciação de células do estroma em miofibroblastos e leva a que estes sintetizem metaloproteinases designadas metaloproteinases da matriz (MMPs). As MMPs são uma classe de enzimas que degradam a matriz extracelular e também induzem apoptose dos enterócitos devido à degradação da membrana basal. Desta forma, o TNF- α faz uma interligação entre a resposta imune inata e adaptativa e tem uma grande importância na patogénese da DII. A importância da resposta Th2 na DII não está esclarecida; contudo, a IL-13 sintetizada pelas células Th2 pode aumentar a permeabilidade intestinal, induzir a diferenciação de enterócitos e a apoptose. A IL-17A secretada pelas células Th17 estimula o recrutamento de neutrófilos para o local da inflamação e a síntese de diversas moléculas inflamatórias. A IL-21 também induz a produção de MMPs pelas células do estroma.^(5,11)

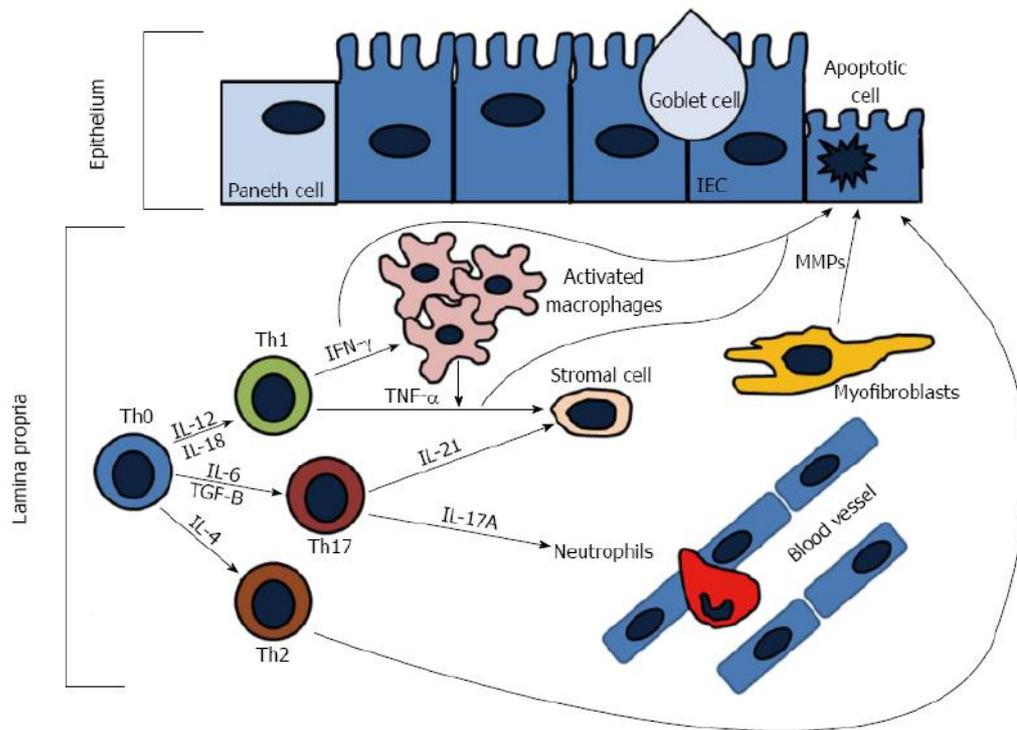


Figura 6 – Resposta adaptativa no intestino. Durante o processo inflamatório intestinal as células T *naive* (Th0) diferenciam-se nos três tipos de células Th: células Th1, Th2 e Th17; através da estimulação por diferentes citocinas. As células Th vão sintetizar citocinas pró-inflamatórias responsáveis pelas lesões na mucosa inflamada dos doentes com DII.⁽⁵⁾

4. Microbiota e sistema imunológico intestinal na DII

O constante dinamismo do intestino humano inclui interações activas e variáveis entre a microbiota e o hospedeiro. No entanto, as constantes variações na composição da microbiota, em conjunto com o grande número de células bacterianas e a sua elevada proximidade com o tecido epitelial, constituem um enorme desafio à imunidade do hospedeiro. Apesar de representar um desafio à imunidade, a microbiota intestinal desempenha um papel importante no desenvolvimento e na expansão dos tecidos linfóides e na manutenção e regulação da imunidade intestinal. Durante a vida fetal, as células LTi são responsáveis pelo desenvolvimento do GALT, onde se incluem as Placas de Peyer e os nódulos linfáticos mesentéricos (NLM). Após o nascimento, ocorre a maturação do GALT, uma vez que o intestino do recém-nascido começa a ser colonizado, sendo que a maturação depende da colonização microbiana. Esta acção é sugerida por estudos realizados em ratinhos *germfree*. Nestes estudos, verificou-se que a mucosa intestinal dos ratinhos *germfree* apresentava um menor número de células B, T e células dendríticas e uma imaturidade nos NLM, sendo as Placas de Peyer pequenas e imaturas. Aquando da colonização destes animais por microrganismos comensais, verificou-se o desenvolvimento de todas as estruturas associadas ao sistema imunológico, fundamental para a protecção do hospedeiro. A indução

de tolerância imunológica no intestino é fundamental para evitar respostas inflamatórias indesejáveis contra proteínas alimentares, ou contra a própria microbiota intestinal. A bactéria gram-negativa *Bacteroides fragilis*, presente num intestino normal, induz a diferenciação de células T em células Treg, levando à produção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e o TGF- β , anulando a resposta pró-inflamatória das células Th17. Por sua vez, bactérias segmentadas filamentosas, após contacto com APCs, demonstraram induzir células pró-inflamatórias, como as células Th17.⁽¹⁹⁾

A Doença Inflamatória Intestinal pode resultar de uma desregulação da resposta imunológica à microbiota intestinal; as bactérias presentes no lúmen promovem a estimulação de uma resposta inflamatória que leva à lesão da mucosa. A perda da tolerância à microbiota em doentes com DII pode ser o resultado de uma susceptibilidade genética que conduz à desregulação do sistema imunológica da mucosa, originando uma resposta imunológica excessiva à flora normal. Por outro lado, um desequilíbrio na composição da microbiota também pode originar uma resposta patológica do sistema imunológico da mucosa conduzindo à DII.⁽⁵⁾

Na flora intestinal dos adultos predominam os filos Firmicutes e Bacteroidetes, enquanto os filos Proteobacteria e Actinobacteria estão presentes em menor percentagem. Embora estes organismos colonizem a maioria dos indivíduos, há sempre variações nas proporções e nas espécies existentes. Diversos estudos têm examinado a flora intestinal na DC e na CU, e mostraram uma significativa redução da biodiversidade da microbiota na DII. Num estudo realizado em gémeos verificou-se que, gémeos com UC apresentavam menos microrganismos do filo Bacteroidetes e mais do Actinobacteria e Proteobacteria, quando comparados com gémeos saudáveis.⁽⁵⁾ Na DC verifica-se uma redução do número de microrganismos dos filos Bacteroidetes e Firmicutes e um aumento das enterobactérias. A alteração na diversidade por si só não é a causa da DC, no entanto associada a uma susceptibilidade genética pode conduzir ao aparecimento da doença.⁽⁶⁾ A DC parece estar relacionada com espécies da microbiota, especificamente a *Escherichia coli* aderente-invasiva (AIEC). Em doentes com DC verificou-se um aumento desta bactéria nas fezes, nomeadamente quando a doença está activa. A AIEC é capaz de invadir as células epiteliais, sobreviver e replicar-se nos macrófagos, não sendo eliminada, o que representa um deficiente processo de autofagia.⁽⁵⁾

5. Factores ambientais na DII

Os factores ambientais desempenham um papel muito importante na patogénese da DII. Existe um grande número de factores ambientais que são considerados factores de risco para a DII, incluindo: o tabagismo, a vitamina D, os fármacos, o *stress* e a poluição.

5.1 Tabagismo

O tabagismo é o factor de risco mais estudado e afecta a Doença de Crohn e a Colite Ulcerosa de forma distinta. Diversos estudos têm descrito, desde 1982, uma associação inversa entre o tabagismo e a Colite Ulcerosa, e tem vindo a ser confirmado o efeito protector do tabaco no desenvolvimento da doença. Contrariamente ao efeito verificado na CU, o tabagismo aumenta o risco de desenvolver Doença de Crohn e está associado a elevadas taxas da doença no pós-operatório. Os efeitos prejudiciais do tabagismo na DC podem estar relacionados com diferentes mecanismos, tais como o aumento da síntese de radicais livres de oxigénio, danos funcionais nos monócitos e redução da expressão de receptores NOD2 nas células epiteliais do intestino, causados pelo fumo do cigarro.^(6,7)

5.2 Vitamina D

Nas últimas décadas tem-se verificado que a vitamina D, para além dos seus efeitos na absorção do cálcio e mineralização óssea, influencia tanto o sistema imunológico inato como o adaptativo, o que pode explicar a sua influência na patogénese da DII. A vitamina D é necessária, por exemplo, para a activação das respostas antibacterianas via TLRs e tem um papel importante na regulação da autofagia. Esta vitamina também é capaz de modificar a função dos linfócitos T e B. Neste sentido, verificou-se que uma deficiência em vitamina D é comum no diagnóstico da DII, pelo que níveis baixo da vitamina contribuem para o aumento do risco de DII. Estas observações demonstram a importância de manter os níveis óptimos de vitamina D na DII.^(6,7)

5.3 Fármacos

Alguns grupos de fármacos estão identificados por contribuírem para o desenvolvimento e originarem recidivas na DII. Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são um dos grupos de fármacos envolvidos na patogénese da DII. Diversos estudos têm comprovado uma associação entre o uso de AINEs e o desenvolvimento de DC e UC. Este grupo de fármacos é largamente prescrito, sendo essencial considerar os riscos que apresenta em doentes com DII. Os AINEs inibem a enzima cicloxigenase, diminuindo assim a

síntese das prostaglandinas, que contribuem para a integridade e função normal da mucosa. Podem, também, alterar a microcirculação da mucosa e causar dano directo no epitélio, resultando num aumento da permeabilidade. No entanto, os dados clínicos e experimentais existentes não são suficientes e a prescrição de AINEs em doentes com DII é sugerida com precaução.^(6,7,20) O uso de antibióticos é um importante factor ambiental, influenciando o risco de DII dado o seu efeito na alteração da microbiota intestinal. O uso de antibióticos no primeiro ano de vida está associado ao aumento do risco de DII na infância.⁽²¹⁾ Além disso, diversos estudos em doentes adultos estabelecem uma associação entre o tratamento com antibióticos nos 2-5 anos antes do diagnóstico e o aparecimento da DII. Embora estes dados mostrem que o aumento do uso de antibióticos precede o diagnóstico da DII, a ligação causal pode ser questionada.^(6,7,20) Os contraceptivos orais podem conduzir à DII devido às propriedades pró-inflamatórias dos estrogénios e os seus efeitos na microcirculação da mucosa. Existem diferentes estudos que suportam o aumento do risco de DII nas mulheres que utilizam contraceptivos orais. A terapêutica hormonal pós-menopausa, também, tem sido associada com o aparecimento da DC e da CU. Contudo, os resultados revelam-se insuficientes e controversos, por isso o uso de contraceptivos orais continua a ser aceite na DII.^(7,20)

5.4 Stress

O *stress* é outro dos factores de risco a que tem sido atribuído um papel importante na patogénese da DC e da CU. Diversos estudos concluíram que a ansiedade e a depressão são comuns nos doentes com DII, outros sugerem que indivíduos com níveis baixos de *stress* apresentam um risco reduzido de aparecimento da doença.^(6,7,21)

5.5 Poluição

Estudos ecológicos e epidemiológicos recentes sugerem que a poluição do ar pode contribuir para o risco de DC e CU. O aumento da incidência da DC e da CU em países em desenvolvimento acompanha o desenvolvimento da industrialização.⁽⁶⁾

5.6 Epigenética

Os factores ambientais podem levar ao desenvolvimento de DII pelos vários mecanismos que acabaram de ser apresentados. Contudo, mais recentemente, existe uma nova área de pesquisa, que estabelece uma associação entre os factores ambientais e a genética na DII, denominada epigenética. A epigenética descreve as modificações mitoticamente hereditárias na expressão genética, que não são explicadas por alterações na

sequência de DNA. Mecanismos importantes na epigenética são, por exemplo: a metilação do DNA, a modificação das histonas, o RNA de interferência e o posicionamentos dos nucleossomas. As alterações epigenéticas são susceptíveis de acontecer no período pré-natal e no início do pós-natal; estudos em animais têm mostrado que a metilação do DNA associada à nutrição influencia a modificação permanente do fenótipo. Um estudo desenvolvido em doentes com DC que afecta o íleo conclui que vários dos loci dos genes associados ao risco de DC apresentam metilações quando comparados com o grupo controlo. Mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos da epigenética e avaliar o seu papel na patogénese da DII.^(7,22)

6. Qualidade de vida na Doença Inflamatória Intestinal

A Doença Inflamatória Intestinal caracteriza-se clinicamente por dor abdominal, diarreia, hematoquézias, presença de fístulas frequentemente associadas a emagrecimento e astenia, com repercussão no estado geral dos doentes. Muitas vezes, apresentam alterações psicológicas, que podem estar associadas ao início dos sintomas normalmente na idade adulta jovem. Dada a natureza crónica destas doenças, com recidivas, internamentos hospitalares e cirurgias e, com alguma frequência, efeitos secundários relacionados com o tratamento, os doentes apresentam uma considerável redução da qualidade de vida.

No passado, a terapêutica da DII estava focada principalmente nos efeitos do tratamento sobre a morbilidade e a mortalidade, mas a melhoria da terapêutica farmacológica e cirúrgica da DII levou a uma apreciável melhoria da esperança de vida.

Actualmente, a melhoria da qualidade de vida é um objectivo terapêutico importante nestes doentes. O tratamento com corticosteróides é útil no tratamento a curto prazo, mas a corticorresistência e a corticodependência, pelos seus efeitos secundários, vão piorar a qualidade de vida. A introdução de corticosteróides que apresentam menos efeitos secundários, o tratamento com imunomoduladores e, mais recentemente, a terapêutica biológica vieram melhorar significativamente a qualidade de vida dos doentes com DII.⁽²³⁾

7. Conclusão

A Doença Inflamatória Intestinal tem sido e continua a ser alvo de numerosos estudos que têm contribuído para o conhecimento da etiologia da doença, no entanto a causa exacta mantém-se, ainda, desconhecida. Dada a multiplicidade de factores que podem desencadear e contribuir para o desenvolvimento da DII, a compreensão da patogénese da doença tem demonstrado uma enorme complexidade.

Os avanços tecnológicos a que assistimos nos últimos anos tornam possível o acesso a informação mais detalhada, sobre a forma como alterações genéticas e da composição da flora intestinal afectam a resposta imunológica inata e adaptativa. O sistema imunológico intestinal encontra-se comprometido a diversos níveis o que conduz a uma perpetuação da inflamação característica da DII. A variedade de factores ambientais que podem despoletar a doença e a forma como se inter-relacionam requerem um maior conhecimento, para que possam ser tomadas medidas preventivas.

O farmacêutico, sendo um profissional de saúde que se encontra numa posição privilegiada de proximidade com os doentes, tem a oportunidade de realizar um acompanhamento dos doentes com DII. Revela-se de extrema importância a consciencialização e educação destes doentes para a adopção de um estilo de vida saudável, com a realização de uma alimentação equilibrada, como meio de prevenção da ocorrência de recidivas da doença. Estes doentes muitas vezes apresentam carências nutricionais que podem ser monitorizadas com acompanhamento farmacêutico. Neste sentido, o farmacêutico poderá participar na educação nutricional e alertar para a importância dos doentes realizarem uma modificação na dieta, ou caso seja necessário uma suplementação vitamínica, de forma a manterem um estado nutricional saudável.

Outro dos pontos cruciais onde o farmacêutico deve intervir é na promoção da adesão à terapêutica, dado que os tratamentos da DII são realizados por longos períodos de tempo, de forma crónica, o que conduz a um abandono da terapêutica.

A realização de futuros estudos será determinante no melhor conhecimento dos mecanismos envolvidos na patogénese da DII e, desta forma, possibilitar o desenvolvimento de novas terapêuticas para o tratamento da doença. O farmacêutico pode ter um papel activo na pesquisa das alterações patológicas presentes na DII, contribuindo para avanços tanto ao nível do diagnóstico como da terapêutica.

8. Bibliografia

1. XAVIER, R. J., PODOLSKY, D. K. - **Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** *Nature.* 448 (2007) 427–34.
2. ABRAHAM, C., CHO J. H. - **Inflammatory Bowel Disease.** *The New England Journal Medical.* 361:21 (2009) 2066-78.
3. NG, S. C. - **Epidemiology of inflammatory bowel disease: Focus on Asia.** *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 28:3 (2014) 363-72.
4. BURISCH, J., JESS, T., MARTINATO, M., Lakatos P. L. - **The burden of inflammatory bowel disease in Europe.** *Journal of Crohn's and Colitis.* 7:4 (2013) 322-37.
5. WALLACE, K. L., ZHENG, L., KANAZAWA, Y., SHIH D. Q. - **Immunopathology of inflammatory bowel disease.** *World Journal of Gastroenterology.* 20:1 (2014) 6-21.
6. ZHANG, Y., LI, Y. - **Inflammatory bowel disease: Pathogenesis.** *World Journal of Gastroenterology.* 20:1 (2014) 91-99.
7. ANNAHÁZI, A., MOLNÁR, T. - **Pathogenesis of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease: Similarities, Differences and a Lot of Things We Do Not Know Yet.** *Journal of Clinical & Cellular Immunology.* 5:253 (2014). doi: 10.4172/2155-9899.1000253
8. KHOR, B., GARDET, A., XAVIER, R. J. - **Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease.** *Nature.* 474:7351 (2011) 307-17.
9. SABATINO, A., ROVEDATTI, L., VIDALI, F., MACDONALD, T. T., CORAZZA, G. R. - **Recent advances in understanding Crohn's disease.** *Internal and Emergency Medicine.* 8:2 (2013) 101-13.
10. LIMBERGEN, J. V., RADFORD-SMITH, G., SATSANGI, J. - **Advances in IBD genetics.** *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 11:6 (2014) 372-85.
11. GEREMIA, A., BIANCHERI, P., CORAZZA, G. R., SABATINO, A. - **Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease.** *Autoimmunity Reviews.* 13:1 (2014) 3-10.
12. PETERSON, L. W., ARTIS, D. - **Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis.** *Nature Reviews Immunology.* 14:3 (2014) 141-53.
13. HISAMATSU, T., KANAI, Y., MIKAMI, Y., MATSUOKA, K., HIBI, T. - **Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** *Pharmacology & Therapeutics.* 137:3 (2013) 283-97.

14. RODA, G., SARTINI, A., ZAMBON, E., CALAFIORE, A., MAROCCHI, M., CAPONI, A., BELLUZZI, A., RODA, E. - **Intestinal epithelial cells in inflammatory bowel diseases.** World Journal of Gastroenterology. 16:34 (2010) 4264-71.
15. ANTONI, L., NUDING, S., WEHKAMP, J., STANGE, E. F. - **Intestinal barrier in inflammatory bowel disease.** World Journal of Gastroenterology. 20:5 (2014) 1165-79.
16. KIM, J. M. - **Antimicrobial proteins in intestine and inflammatory bowel diseases.** Intestinal Research. Intestinal Research.12:1 (2014) 20-33.
17. XU, X., LIU, C., FENG, B., LIU, Z. - **Dysregulation of mucosal immune response in pathogenesis of inflammatory bowel disease.** World Journal of Gastroenterology. 20:12 (2014) 3255-64.
18. ABRAHAM, C., CHO, J. H. - **IL-23 and autoimmunity: new insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** Annual Review of Medicine. 60 (2009) 97-110.
19. SOMMER, F., BACKHED, F. - **The gut microbiota - masters of host development and physiology.** Nature Review Microbiology. 11:4 (2013) 227-38.
20. O'TOOLE, A., KORZENIK, J. - **Environmental Triggers for IBD.** Current Gastroenterology Reports. 16 (2014) 396.
21. NEUMAN, M. G., NANAU, R. M. - **Inflammatory bowel disease: Role of diet, microbiota, life style.** Translational Research. 160:1 (2012) 29-44.
22. VENTHAM, N. T., KENNEDY, N. A., NIMMO, E. R., SATSANGI, J. - **Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: The emerging role of epigenetics.** Gastroenterology. 145:2 (2013) 293-308.
23. PEIXE, B., MONTEIRO, E., MAGRO, F., PORTELA, F., CREMERS, I., DEUS, J. R., COTTER, J., TAVARES, L., CRAVO, M., LAGO, P., MINISTRO, P., SANTOS, P. M., CALDEIRA, P. - **Terapêutica Farmacológica na Doença Inflamatória Intestinal.** 1ª Edição, GEDII – Grupo de Estudos da Doença Inflamatória Intestinal, (2007).