

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE

Karine Andrade Oliveira Zanini

Avaliação do perfil de citocinas inflamatórias e do nível de atividade física em pacientes com doença de Crohn antes e após terapia com infliximabe

Juiz de Fora

2019

Karine Andrade Oliveira Zanini

Avaliação do perfil de citocinas inflamatórias e do nível de atividade física em pacientes com doença de Crohn antes e após terapia com infliximabe

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Saúde. Área de concentração: Saúde Brasileira.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli

Coorientadoras:

Profa. Dra. Carla Malaguti

Profa. Dra. Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro

Juiz de Fora

2019

Imprimir na parte inferior, no verso da folha de rosto a ficha disponível em:

<http://www.ufjf.br/biblioteca/servicos/usando-a-ficha-catalografica/>

Karine Andrade Oliveira Zanini

Avaliação do perfil de citocinas inflamatórias e do nível de atividade física em pacientes com doença de Crohn antes e após terapia com infliximabe

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Saúde. Área de concentração: Saúde Brasileira.

APROVADA EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. José Otávio do Amaral Corrêa
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Mauro Toledo Sirimarco
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Katia Valeria Bastos Dias Barbosa
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Suprema

Prof. Dr. Klaus Ruback Bertges
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora - Suprema

Dedico este momento, que coroa minha vida profissional, a todos os mestres que me fizeram chegar até aqui. Já dizia Newton, “Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”!

E a você Quinca Leopoldo! Quem “havera de dizer”, uma filha “doutora”! Esteja onde estiver, gosto de te imaginar todo orgulhoso! Poucas vezes te vi chorar pai; em meus sonhos, vejo lágrimas em teus olhos!

A você mãe amada, mulher guerreira, profissional dedicada, avó amorosa; nasci do teu ventre e, com tanto amor e sabedoria, me fez irmã de ideias! Cada passo meu tem tua assinatura, cada ação, teu exemplo!

Meu amado Léo, mais que irmãos de sangue, irmãos de alma! Como me inspiro e admiro você! Para sempre meu porto seguro!

Alexandre, meu amor! “Que sorte a minha, que num descuido, encontrei você”! Caminhar ao teu lado tem sido a maior das aventuras! Tantas conquistas desde então!

E é com a maior dessas conquistas, que encerro essa dedicatória! Que bom que vieram para mim! Elisa e Carolina, razão do meu viver, chegaram de mansinho e mudaram meu mundo! “Deixa eu dizer que te amo, Deixa eu pensar em vocês, Isso me acalma, Me acolhe a alma, Isso me ajuda a viver...”. Tudo é por vocês e para vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor, amigo e orientador Júlio Chebli por aceitar compartilhar comigo mais esse desafio, me acolhendo, novamente, como orientanda. Meus sinceros agradecimentos e gratidão eterna!

Carla Malaguti e José Otávio Corrêa, mais que Coorientadores! Vocês me socorreram em todas as mudanças de rota. Inspiro-me muito em vocês! Obrigada pelos ensinamentos, paciência e incentivo para a conclusão desse projeto!

Alexandre Zanini, marido, companheiro, professor, estatístico, colaborador e maior incentivador. Com você por perto me sinto invencível! Parafraseando meu conterrâneo, mestre e colega Guimarães Rosa, “Os outros eu conheci por ocioso acaso. A ti vim encontrar porque era preciso”!

Agradeço também a Andrea Cabalzar e Fernando Lucca por, gentilmente, dividirem comigo o fruto dessa pesquisa.

Aos membros da banca, agradeço pela disponibilidade e generosidade em participar das etapas de qualificação e defesa.

À Universidade Federal de Juiz de Fora, representada por seus professores e funcionários, berço histórico de lutas e conquistas, a quem devo todo o meu crescimento e conhecimento adquiridos nessa longa jornada pela ciência! Desde a graduação em 1996, passando pelo mestrado e doutorado, ainda ouço todas as vozes que fizeram parte dessa caminhada! Um agradecimento especial à universidade pública, gratuita e de qualidade, que representa uma das raras possibilidades de ascensão pessoal e profissional em um país tão desigual! Eu sou o fruto da sua árvore!

Às minhas queridas amigas, Cristiane Bechara e Lorena Nagme, pela compreensão, amizade e companheirismo.

A todos os amigos que sempre me incentivaram e, desta forma, não me deixaram desistir. Por fim, aos pacientes que voluntariamente participaram deste trabalho, e a tantos outros que emprestaram suas dores ao meu aprendizado, minha gratidão eterna!

Todo caminho da gente é resvaloso. Mas também, cair não prejudica demais – a gente levanta, a gente sobe, a gente volta!... O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: Esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. Ser capaz de ficar alegre e mais alegre no meio da alegria, e ainda mais alegre no meio da tristeza... (ROSA, 2019)

RESUMO

Pacientes com doença de Crohn (DC) apresentam menor nível de atividade física (AF). A terapia com infliximabe (IFX) pode induzir remissão clínica e favorecer o aumento da AF. Nós visamos avaliar a relação entre níveis de citocinas inflamatórias e AF em pacientes com DC moderada a grave, antes e após terapia com IFX. Quarenta e quatro pacientes com DC foram tratados com IFX durante 24 semanas. Dados clínicos, antropométricos, capacidade de exercício, força muscular, nível de AF (número de passos/dia [NP/dia] e tempo ativo [TA]) e níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (IFN- γ), interleucina (IL)-6 e IL-17 foram avaliados nas semanas zero e 24. Dados clínicos, antropométricos, capacidade de exercício e força muscular foram similares em pacientes com e sem melhora do nível de AF. Os pacientes em remissão clínica na 24^a semana (38/44; 86,4%), apresentaram diminuição significativa das citocinas, tanto nos pacientes que melhoraram AF quanto naqueles onde não houve incremento da AF. Por outro lado, no grupo sem remissão clínica houve aumento significativo da IL-6 e IL-17 nos pacientes com aumento do NP/dia e elevação da IL-6, IL-17 e TNF- α nos pacientes que aumentaram o TA. Os pacientes sem remissão e que não apresentaram melhora no NP/dia tiveram aumento do TNF- α . Conclui-se que, em pacientes com DC em remissão clínica induzida pelo IFX houve redução do nível sérico da IL-6, IL-17, TNF- α e IFN- γ , tanto nos que melhoraram, quanto naqueles que não obtiveram aumento da AF. Os pacientes que não responderam ao IFX, mas aumentaram a AF, tiveram aumento na IL-6 e IL-17.

Palavras-Chave: Doença de Crohn, Imunopatogênese, Interleucina, Anti-TNF, Infliximabe, Atividade física, Doenças inflamatórias intestinais

ABSTRACT

Patients with Crohn's disease (CD) have a lower level of physical activity (PA), and this behavior is determined in part by disease activity. Infliximab (IFX) therapy may induce clinical remission and, therefore, promote increased PA activity. However, the predictive factors of improvement of PA after clinical remission in CD are elusive. Therefore, we aimed to evaluate the profile of inflammatory cytokines and the possible increase of PA in patients with CD treated with IFX. In the cohort of 44 patients with CD who started treatment with IFX, 38 (86.4%) achieved clinical remission at the 24th week of treatment. Demographics, clinical, anthropometric, exercise capacity, muscle strength, PA level and serum levels of TNF- α (tumor necrosis factor alpha), IL-6 (interleukin), IL-17 and IFN- γ (interferon gamma) were evaluated at baseline and at week 24 in patients with and without improvement in PA level. Demographic, clinical and anthropometric data were similar in patients with and without improvement in the level of PA. All patients responding to IFX at the 24th week (n = 38 / 86.4%) presented a significant decrease in the cytokines evaluated. In the group without remission to IFX, a significant increase of IL-6 and IL-17 was observed in patients with increasing number of steps/day (NS/day), and elevation of IL-6, IL-17 and TNF- α in patients who increased your active time, measured by the accelerometer. Patients who did not respond to IFX, who did not show improvement in the NS/day, had only TNF- α increase. In conclusion, in patients with active CD in IFX-induced remission, the serum levels of IL-6, IL-17, TNF- α and IFN- γ were reduced and improvement in PA.

Palavras-Chave: Crohn's disease, Immunopathogenesis, Interleukin, Anti-TNF, Infliximab, Physical activity, Inflammatory bowel disease

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição Demográfica e Incidência das Doenças Inflamatórias Intestinais	16
Figura 2 – Fenótipo da Doença de Crohn	20
Figura 3 – Obstrução Intestinal por Cápsula Endoscópica em Paciente com Doença de Crohn Estenosante	24
Figura 4 – Fatores Ambientais na Patogênese da Doença de Crohn.....	31
Figura 5 – Hipótese Atual da Patogênese da Doença de Crohn.....	35
Figura 6 – Interação entre Microbiota Intestinal, Barreira Epitelial e Imunidade	38
Figura 7 – Distribuição dos Tecidos Linfoides	40
Figura 8 – Diferenciação das Células do Sistema Imune.....	41
Figura 9 – Células Linfoides Inatas	48
Figura 10 – Regulação da Morte Celular Epitelial pelo TNF- α	55
Figura 11 – Regulação da Sobrevivência e Proliferação Epitelial pelo TNF- α	56
Figura 12 – Regulação do Desenvolvimento de Tumores pelo TNF- α	57
Figura 13 – Regulação da Infecção Gastrointestinal pelo TNF- α	58
Figura 14 – Diferenciação dos Linfócitos T Auxiliares.....	67
Figura 15 – Abordagem Terapêutica com Anticorpos Monoclonais na Doença Inflamatória Intestinal	76
Figura 16 – Neutralização do TNF- α Transmembrana pelo anti-TNF- α	79
Figura 17 – Sinalização Reversa ou Outside-to-inside pelo anti-TNF- α	80
Figura 18 – Apoptose Direta pelo anti-TNF- α	81
Figura 19 – Apoptose Indireta pelo anti-TNF- α	81
Figura 20 – Apoptose Dependente de Fc pelo anti-TNF- α	82
Figura 21 – Modulação do Sistema Imune pelo anti-TNF- α	83
Figura 22 – Efeitos do Exercício Físico de Intensidade Moderada no Longo Prazo sobre Marcadores Inflamatórios e Mediadores Imunológicos	88
Figura 23 – Adaptação Imune ao Exercício	91
Figura 24 – Fluxograma do Desenho do Estudo.....	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diagnóstico da Doença de Crohn.....	20
Tabela 2 – Classificação de Montreal e Paris para a Doença de Crohn.....	26
Tabela 3 – Índice de Atividade Inflamatória da Doença de Crohn.....	27
Tabela 4 – Índice de Atividade Inflamatória de Harvey e Bradshaw na Doença de Crohn	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Atividade física
AFMV	Atividade física moderada a vigorosa
AHR	Hidrocarboneto de arilo, do inglês <i>aryl hydrocarbon receptor</i>
Anti-TNF	Anti fator de necrose tumoral, do inglês <i>anti-tumoral necrosis factor</i>
AP1	Proteína ativadora 1, do inglês <i>activating protein</i>
APCs	Células apresentadoras de antígenos, do inglês <i>antigen-presenting cells</i>
5-ASA	5 aminossalicilatos
ASCA	Anticorpos anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , do inglês <i>anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies</i>
CARD15	Domínio de recrutamento da caspase 15, do inglês <i>recruitment domain-containing protein 15</i>
CASPASE	Proteases dirigidas ao aspartato dependentes da cisteína, do inglês <i>cysteine-dependent aspartate-directed proteases</i>
CC / CCL	Ligantes de quimiocinas, do inglês <i>chemokine ligand</i>
CCR	Câncer colorretal
CD (CD4, CD8)	Diferenciação de cluster, do inglês <i>cluster of differentiation</i>
CDs	Células dendríticas
CSF	Fator estimulador de colônias, inglês <i>colony-stimulating factor</i>
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano, do inglês <i>damage-associated molecular patterns</i>
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DMO	Densidade mineral óssea
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>
dsRNA	Ácido ribonucleico de dupla fita, do inglês <i>double - stranded ribonucleic acid</i>
DSS	Modelo murino de indução à colite com dextran sulfato de sódio
Fab	Ligação de fragmento de antígeno, do inglês <i>fragment antigen-binding</i>
Fas L	Ligante Faz
Fc	Fragmento cristalizável, do inglês <i>crystallizable fragment</i>
GWAS	Estudos de associação genômica ampla, do inglês <i>genome-wide association studies</i>
HBI	Índice de Harvey-Bradshaw, do inglês <i>Bradshaw-Harvey Index</i>
IADC	Índice de Atividade da Doença de Crohn
IBDQ	Questionário de qualidade de vida da doença inflamatória intestinal, do inglês <i>Inflammatory Bowel Disease Questionnaire</i>

IECs	Células epiteliais intestinais, do inglês <i>intestinal epithelial cells</i>
IELs	Linfócitos intraepiteliais, do inglês <i>intraepithelial lymphocyte</i>
IFN	Interferon
IFX	Infliximabe
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
ILC	Células linfoides inatas, do inglês <i>Innate lymphoid cells</i>
IMC	Índice de massa corpórea
IMG	Índice de massa gorda
IMM	Índice de massa magra
ITF	Fator intestinal trefoil, do inglês <i>intestinal trefoil factor</i>
LB	Linfócitos B
LT	Linfócitos T
LTC	Linfócitos T citotóxicos, do inglês <i>cytotoxic T cells</i>
LTi	Células indutoras de tecido linfoide
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade, do inglês <i>major histocompatibility complex</i>
miRNA	microRNAs, ácido ribonucleico de cadeia curta
MG	Massa gorda
MM	Massa magra
mWAT	Tecido adiposo mesentérico branco, do inglês <i>mesenteric white adipose tissue</i>
NF-κB	Fator nuclear kappa B, do inglês <i>nuclear factor-k B</i>
NK	Células destruidoras naturais, do inglês <i>natural killer cells</i>
NOD2	Domínio de oligomerização de ligação ao nucleotídeo 2, do inglês <i>nucleotide-binding oligomerization domain 2</i>
NP	Número de passos
p-ANCA	Anticorpos citoplasmáticos antineutrófilos perinucleares, do inglês <i>perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies</i>
PAMPs	Padrões moleculares associados aos patógenos, do inglês <i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PCR	Proteína C-reativa
PRRs	Receptores intracelulares de reconhecimento de padrões, do inglês <i>intracellular pathogen-recognition receptor</i>
QV	Qualidade de vida
RCU	Retocolite ulcerativa
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>ribonucleic acid</i>

ROR γ t	Fator de transcrição do receptor órfão relacionado com o ácido retinóico, do inglês <i>RAR-related orphan receptor gamma</i>
ROS	Espécies reativas de oxigênio, do inglês <i>reactive oxygen species</i>
STAT	Transdutor de sinal e ativador da transcrição, do inglês <i>signal transducer and activator of transcription</i>
sTNF	Fator de necrose tumoral solúvel
SWT	Teste de caminhada de shuttle, do inglês <i>shuttle walking test</i>
T-BOX	Fator de transcrição da família T-BOX
T-bet	Fator de transcrição T-BOX em camundongos
TA	Tempo Ativo
TCR	Receptor de antígeno de células T, ou receptor de células T, do inglês <i>T-cell receptor</i>
T _{FH}	Células T auxiliares foliculares, do inglês <i>follicular T cells</i>
TGF	Fator transformador do crescimento, do inglês <i>transforming growth factor</i>
TGI	Trato gastrointestinal
T _H	Células T auxiliares, do inglês <i>T helper cells</i>
TI	Tempo Inativo
TLRs	Receptores semelhantes ao Toll, do inglês <i>toll-like receptors</i>
tmTNF	Fator de necrose tumoral transmembrana
TNF	Fator de necrose tumoral, do inglês <i>tumor necrosis factor</i>
Tnfa gene	Gene Tnfa
TNFR1 e 2	Receptor 1 e 2 do TNF, do inglês <i>tumor necrosis factor receptor 1 and 2</i>
T _{reg}	Células T reguladoras
TRADD	Domínio de morte associado ao TNFR, do inglês <i>TNFR-associate death domain</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

mg/l	Miligramas por litro
kg/m ²	Quilogramas por metro cuadrado
g/dl	Gramas por decilitro
mg/kg	Miligramas por quilo
cm	Centímetros
kg	Quilogramas
ml	Mililitros
rpm	Rotações por minuto
°C	Graus centígrados
nm	Nanômetros
p	Nível de significância estatística

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	16
1.2 HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA DE CROHN	19
2 IMUNOPATOGÊNESE DA DOENÇA DE CROHN	30
2.1 FATORES AMBIENTAIS.....	30
2.2 GENÉTICA	32
2.3 EPIGENÉTICA.....	34
2.4 MICROBIOTA INTESTINAL	35
2.5 BARREIRA EPITELIAL	36
2.6 INTERAÇÃO ENTRE MICROBIOTA INTESTINAL, BARREIRA EPITELIAL E IMUNIDADE.....	37
2.7 SISTEMA IMUNOLÓGICO	38
2.7.1 Respostas Imunes Inatas	42
2.7.1.1 <i>Barreiras Inatas de Proteção</i>	43
2.7.1.1.1 Barreiras Anatômicas	43
2.7.1.1.2 Barreiras Químicas.....	44
2.7.1.1.3 Barreiras Celulares	45
2.7.1.2 <i>Ponte entre os Sistemas Imunes Inato e Adquirido</i>	47
2.7.1.2.1 Linfócitos Intraepiteliais	47
2.7.1.2.2 Células Linfoides Inatas	47
2.7.1.3 <i>Células Apresentadoras de Antígenos</i>	49
2.7.1.4 <i>Reconhecimento de Patógenos</i>	49
2.7.1.5 <i>Mediadores Solúveis da Resposta Inflamatória</i>	51
2.7.1.5.1 Citocinas.....	52
2.7.1.5.2 Quimiocinas	61
2.7.2 Respostas Imunes Adaptativas	62
2.7.2.1 <i>Linfócitos B</i>	63
2.7.2.2 <i>Linfócitos T</i>	64
2.7.2.2.1 Linfócitos T Auxiliares	66
3 TERAPÊUTICA NA DOENÇA DE CROHN	73
3.1 TERAPIA CLÁSSICA	73
3.2 TERAPIA IMUNOBIOLOGICA.....	74
3.2.1 Terapia Anti-TNF	76
4 ATIVIDADE FÍSICA NA DOENÇA DE CROHN	84
4.1 ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE.....	85

4.2 ATIVIDADE FÍSICA E SISTEMA IMUNE	87
4.3 ATIVIDADE FÍSICA NA DOENÇA DE CROHN	91
5 JUSTIFICATIVA.....	97
6 OBJETIVO	98
7 MATERIAL E MÉTODOS.....	99
7.1 DEFINIÇÕES.....	99
7.2 AMOSTRA.....	99
7.3 DESENHO DO ESTUDO E SEGUIMENTO	100
7.4 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E DA FORÇA MUSCULAR PERIFÉRICA.....	101
7.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA NA VIDA DIÁRIA E DA CAPACIDADE DE EXERCÍCIO.....	102
7.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA	103
7.7 AVALIAÇÃO LABORATORIAL	103
7.8 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	103
7.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	104
8 RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
9 CONCLUSÃO	106
REFERÊNCIAS	107
APÊNDICE A – Artigo.....	115
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	116
APÊNDICE C – Protocolo de Pesquisa Médica	121
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP	123
ANEXO B – Versão em Português do “Inflammatory Bowel Disease Questionnaire” – IBQD.....	128
ANEXO C – Comprovante de Submissão do Artigo	136

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

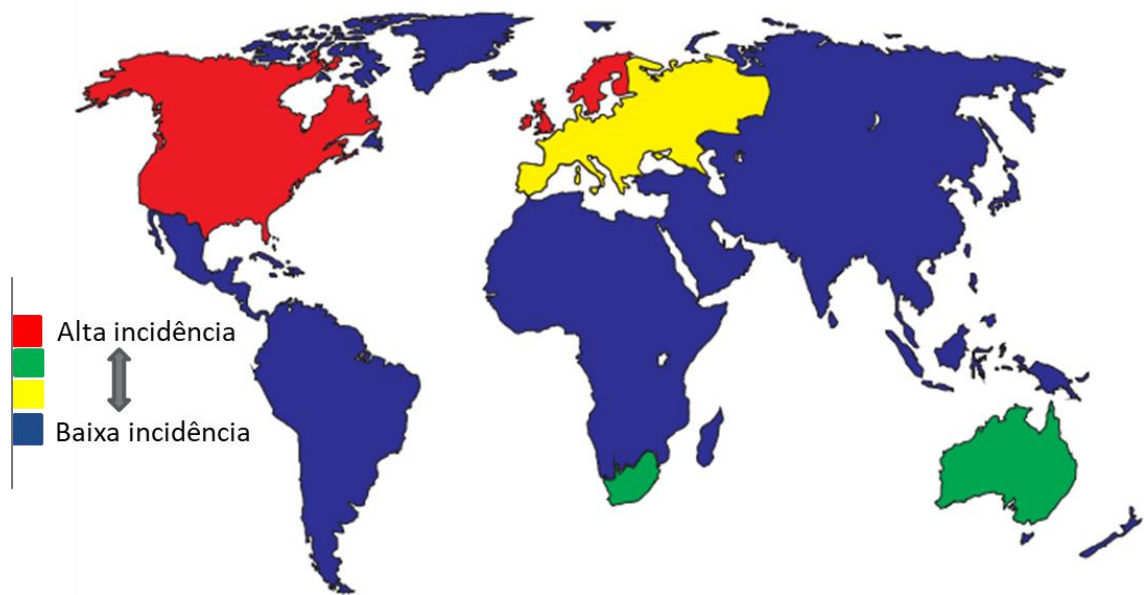
As doenças inflamatórias intestinais (DII) são condições complexas, idiopáticas e multissistêmicas que se apresentam com períodos de remissão e reagudização em seu curso clínico e vem desafiando a ciência desde tempos remotos. Em parte, devido à sua fisiopatologia, ainda não compreendida completamente; em parte, por também desafiar a cura, apesar de todos os avanços e pesquisas nos últimos anos (MULDER *et al.*, 2014).

O termo DII é, principalmente, usado para descrever as duas condições mais frequentes, que são a retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC). A principal diferença entre elas é que, enquanto a RCU compromete somente a mucosa do cólon e reto, na DC há comprometimento transmural, podendo afetar qualquer parte do trato gastrointestinal (TGI), da boca até o ânus (ROGLER, 2013).

Desde a última metade do século XX, tem-se observado um aumento progressivo das DII. A prevalência varia de 5 a 50 casos por 1000 habitantes, predominando entre caucasianos. A incidência das DII é maior em países industrializados e com alto poder socioeconômico, como Estados Unidos da América (EUA), Canadá, além do Norte da Europa. Nota-se, também, aumento da incidência, mais recentemente, no Leste da Europa, no Japão, e em alguns países da América do Sul (FREEMAN, 2014), sugerindo que a ocorrência de DII pode ser influenciada por fatores de risco ambientais e se correlacionam mais com o produto interno bruto dos países, do que com sua localização geográfica (BURISCH; MUNKHOLM, 2015; Figura 1). Na cidade de São Paulo, Brasil, há uma prevalência estimada em 14,8 casos por 1000 habitantes (SANTOS *et al.*, 2017).

Na maioria dos casos, estas alterações geram custos pessoais substanciais, devido aos sintomas flutuantes e imprevisíveis, absenteísmo ao trabalho, necessidade de medicações de alto custo, cirurgias e cuidados multidisciplinares. Esses fatores, associados à sua maior incidência em pessoas jovens e no ápice de suas atividades profissionais, ocasionam grande impacto econômico para a saúde pública no Brasil e no mundo (ANTUNES *et al.*, 2014).

Figura 1 – Distribuição Demográfica e Incidência das Doenças Inflamatórias Intestinais



Fonte: Elaborado pela autora

As maiores taxas de incidência de doenças inflamatórias intestinais (DII) são encontradas no norte da Europa e na América do Norte, sendo mais comum nos países industrializados do que nos não industrializados. Nas últimas duas décadas a incidência continua a aumentar em todo o mundo, especialmente em países recém-industrializados do Oriente Médio, Ásia e América do Sul (NG *et al.*, 2018).

A enfermidade que hoje conhecemos como DC, não é uma afecção nova. Mesmo antes de sua primeira descrição por Crohn, Ginzburg e Oppenheimer do Hospital Monte Sinai em Nova York, em 1932, já existiam relatos de sua existência. Da Grécia Antiga e Alexandria, onde foi descrita em livro por Soranus de Éfeso (170 d.C.), passando por relatos históricos de que o Rei Alfredo, O Grande (849 a 899 d.C.) da Inglaterra, sofria de uma enfermidade com sintomas semelhantes à DC, as características da doença foram sendo moldadas da forma como a conhecemos hoje (KISNER, 1988). Foi Giovanni Battista Morgagni (1682-1771), no entanto, o primeiro a fazer a primeira descrição completa da DC em necropsia realizada em um paciente de 20 anos, com sintomas de dor abdominal acompanhada de febre e diarreia sanguinolenta, que revelou perfurações e inflamação transmural com estenoses ulceradas em íleo terminal, além de linfadenopatia mesentérica e esplenomegalia. Nesse tempo, entretanto, não existiam conceitos sobre a fisiopatologia da doença e os sintomas eram confundidos com enterocolites causadas por doenças infecto-parasitárias (MULDER *et al.*, 2014).

O reconhecimento da enfermidade por Crohn *et al.*, foi seguido por vários outros relatos, o que contribuiu sobremaneira para que sua fisiopatologia começasse a ser entendida. Inicialmente chamada de Ileite Regional, ficou conhecida como DC, após o marco histórico da publicação de 1932. Após a Segunda Guerra Mundial, houve grande avanço nas pesquisas sobre a DC, com a compreensão de que se tratava de enfermidade que vinha aumentando de incidência e que prevalecia em países industrializados. Outra curiosidade sobre a doença, é que, em 1956, Eisenhower, então presidente dos EUA, foi submetido a uma cirurgia de urgência devido à obstrução intestinal por complicações da DC, o que despertou a curiosidade do público e coincidiu com o aumento do interesse científico por essa afecção, até então, pouco conhecida. Foi somente em 1960, entretanto, que Evelyn Lockhart-Mummery fez a distinção entre a RCU e a DC de cólon, o que despertou inicialmente grande resistência entre os pesquisadores, incluindo o Dr. Crohn, que não acreditava que a enfermidade afetasse o cólon (ROGLER, 2013).

Os últimos 50 anos, sobretudo, revolucionaram os conhecimentos que temos acerca da imunologia, genética e biologia molecular. Conquanto a etiopatogênese das DII não esteja completamente elucidada, já compreendemos alguns dos vários processos imunológicos relacionados a estas afecções e podemos até extrair benefícios terapêuticos desse conhecimento, como é o caso da terapia biológica. Contribuíram para a evolução dos conhecimentos das DII, os estudos da imunologia das doenças crônicas inflamatórias, tanto na espécie humana quanto, experimentalmente, em modelos animais e o avanço da genética e técnicas de biologia molecular, com uma maior interação entre a clínica e a ciência básica e, finalmente, a maior compreensão da microbiota intestinal e sua interação com as células imunológicas. (KUPKA *et al.*, 2018).

Apesar da DC permanecer uma afecção de caráter intrincado e heterogêneo, sua causa precisa ainda permanece um mistério. Entretanto, sua longa história natural tem permitido o desenvolvimento de tratamentos mais efetivos. Ultimamente, tanto clínicos quanto pesquisadores têm focado na descoberta da causa, com abordagens que podem oferecer a oportunidade de cura da enfermidade (VERSTOCKT; SMITH; LEE, 2018).

1.2 HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA DE CROHN

A DC é uma DII sistêmica e de caráter recidivante, sem cura até o presente momento, que afeta o TGI e pode cursar com manifestações extraintestinais e associação com distúrbios no sistema imune. Existe um consenso de que fatores genéticos tornam o indivíduo susceptível ao desenvolvimento da doença, e fatores ambientais são responsáveis por seu desencadeamento e sua modulação, incluindo a dieta, condições higiênicas, sanitárias e a composição da flora intestinal (CHOY; VISVANATHAN; DE CRUZ, 2017).

Caracteriza-se por focos de inflamação transmural que podem afetar qualquer segmento do TGI, desde a mucosa oral até o ânus e a região perianal, porém os locais mais afetados são o íleo terminal e o cólon proximal. É peculiar da doença o acometimento segmentar da inflamação, entremeada por áreas preservadas da mucosa. A lesão pode estender-se para todas as camadas da parede intestinal, desde a mucosa até a serosa, causando espessamento da parede e estreitamento da luz intestinal. Pode ser classificada de acordo com a localização (íleo terminal, ileocolônica, colônica, anorretal, gastrointestinal superior) ou pelo padrão de comportamento da doença (inflamatória, estenosante e fistulizante; Figura 2). É importante ressaltar que, durante a evolução da DC, pode haver mudança de um padrão para o outro, principalmente da forma inflamatória para a fistulizante ou estenosante, o que ocorre em 50 a 60% dos casos após 10 anos da doença (FREEMAN, 2014).

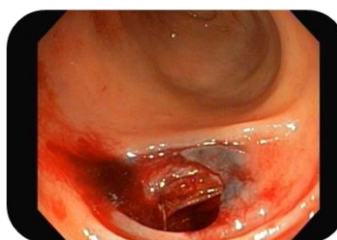
Figura 2 – Fenótipo da Doença de Crohn



Inflamatório



Estenosante



Fistulizante

Fonte: Elaborado pela autora

Pode evoluir com crises intermitentes, alternadas com fases de remissão de duração variável, ou como forma crônica progressiva e contínua. A apresentação clínica é largamente dependente da localização, da extensão das lesões e da presença de eventuais complicações (TORRES *et al.*, 2017). Em uma fase inicial, a extensão das lesões pode ser tão pequena que o paciente pode não apresentar sintomas, porém quando as lesões comprometem uma extensão maior no intestino delgado ou cólon, as manifestações podem ser intensas. A apresentação típica inclui o envolvimento de vários segmentos do TGI e, após 20 anos do diagnóstico, até metade dos pacientes pode desenvolver estenoses ou fístulas. Essas complicações, invariavelmente, exercem impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes (BAUMGART; SANDBORN, 2013).

O diagnóstico, portanto, é, principalmente, clínico, baseado na história do paciente e no exame físico e sustentado por achados de exames laboratoriais, sorológicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos. Não existe um marcador patognomônico para a DC, pois até mesmo os achados histopatológicos de granulomas nas biópsias são comuns a outras doenças (Tabela 1). O diagnóstico diferencial se dá com doenças infecciosas e outras que cursam com granulomatose crônica (FREEMAN, 2014).

Tabela 1 – Diagnóstico da Doença de Crohn

	Achados
História da doença (os sintomas precisam estar presentes por 4-6 semanas)	<p>Diarreia com sangue e/ou muco</p> <p>Diarreia noturna</p> <p>Sangramento retal oculto ou vivo</p> <p>Dor abdominal</p> <p>Perda de peso corporal</p> <p>Puberdade retardada, falha no crescimento (em crianças e adolescentes)</p> <p>História familiar de doença inflamatória intestinal</p> <p>Sintomas suspeitos de manifestações extraintestinais (articulações, olhos e pele)</p>
Exame físico	<p>Tensão abdominal</p> <p>Massa abdominal (sugestivo de infiltração ileocecal ou abscesso)</p> <p>Doença perianal (fissuras, fístula, abscesso perirretal e plicomas)</p> <p>Estomatite aftosa</p> <p>Granulomatose orofacial</p> <p>Sinais de doença extra intestinal (dor, edema, eritema ou rigidez articulares, eritema nodoso, eritema ocular)</p>
Achados laboratoriais	<p>PCR elevado</p> <p>VHS acelerado</p> <p>Anemia</p> <p>Ferritina baixa</p> <p>Deficiência de vitamina B12</p> <p>Trombocitose</p> <p>Hipoalbuminemia</p> <p>Calprotectina fecal elevada</p> <p>ASCA+</p> <p>Anticorpos Pancreáticos+</p> <p>Anticorpos anti-glicoproteína-2</p>
Estudos microbiológicos	<p>Exclusão de infecção intestinal</p>

Tabela 1 – Continuação: Diagnóstico da Doença de Crohn

	Achados
Imagem (Ultrassonografia e Enterografia por RNM)	<ul style="list-style-type: none"> • Achados entéricos: <ul style="list-style-type: none"> Infiltração e edema de parede Envolvimento do intestino delgado Ulcerações profundas (ulcerações precoces e superficiais não são detectáveis por enterografia por RNM) Estenoses Fístulas enteroentéricas ou enterocólicas Infiltração gordurosa da parede intestinal • Achados extraintestinais: <ul style="list-style-type: none"> Fístula enterocutânea Hipertrofia da gordura mesentérica Abscessos Linfadenite mesentérica
Achados endoscópicos	<ul style="list-style-type: none"> Padrão de inflamação descontínua (“<i>skip lesions</i>”) Pequenas fissuras ulceradas, aftosas e longitudinais Padrão de calçamento de pedras ou “<i>Cobblestone pattern</i>” (mucosa não ulcerada separada por úlceras) Estenoses
Achados histológicos (pelo menos 2 fragmentos de biópsia, pelo menos 5 segmentos colônicos, incluindo o íleo terminal)	<ul style="list-style-type: none"> Inflamação crônica focal (descontínua) Irregularidade arquitetural focal das criptas Granulomas Linfócitos intraepiteliais aumentados Metaplasia das glândulas pilóricas

Fonte: LAASS; ROGGENBUCK; CONRAD, 2014

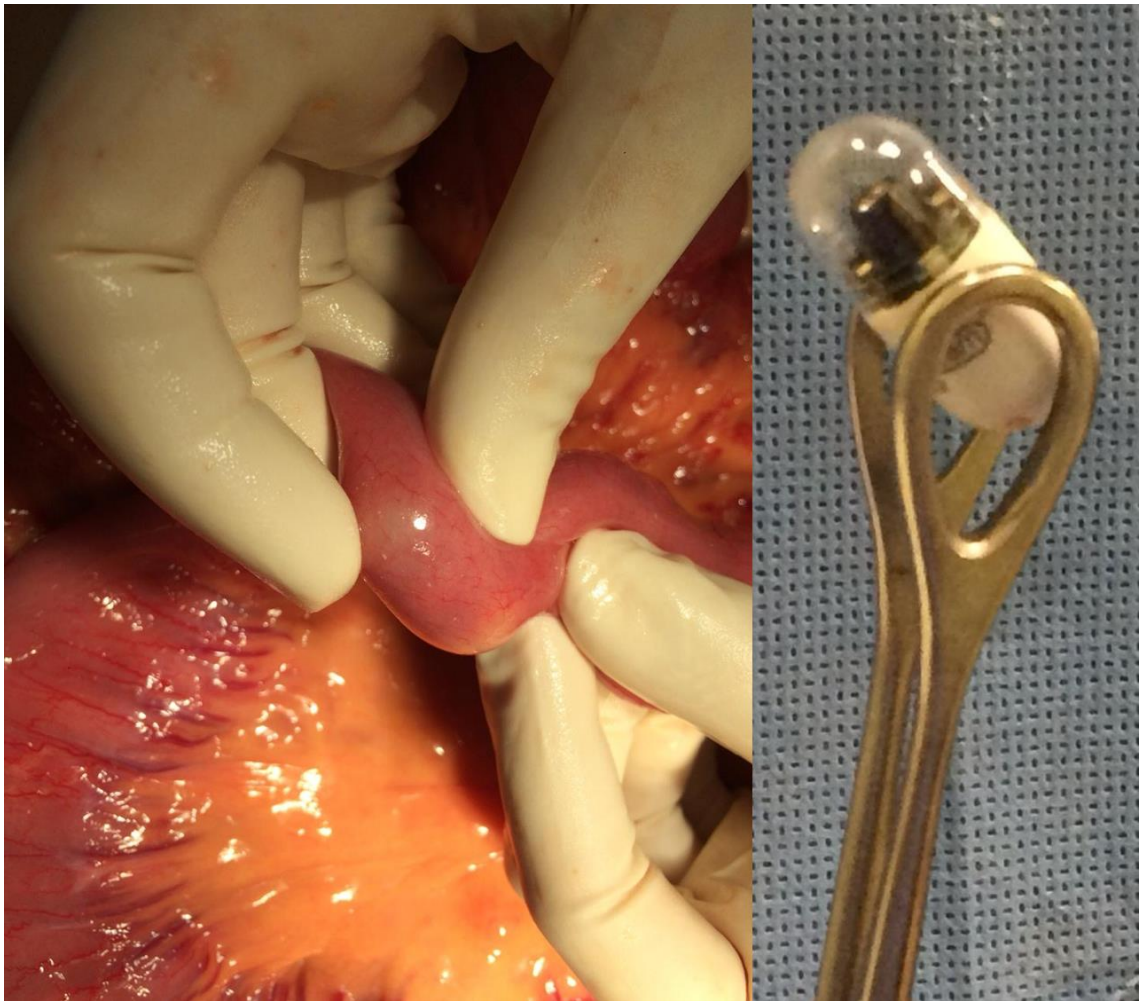
Abreviações: PCR: proteína C-reativa, VHS: velocidade de hemossedimentação, ASCA: anticorpo contra *Saccharomyces cerevisiae*, RNM: ressonância nuclear magnética.

Os principais achados à anamnese e ao exame físico incluem dor abdominal, diarreia, perda de peso corporal e febre. A anamnese deve incluir, além dos sintomas clínicos, dados da história familiar, pois parentes de primeiro grau de pacientes com DII tem 10 a 15 vezes maior risco de desenvolver estas enfermidades. Os pacientes pediátricos podem apresentar falha no crescimento e desenvolvimento, além de atraso na

puberdade. Manifestações extraintestinais como, artrite periférica primária, espondilite anquilosante, uveíte e eritema nodoso, são identificadas em até metade dos pacientes (YU; RODRIGUEZ, 2017).

A ileocolonoscopia e a endoscopia digestiva alta devem ser realizadas. São recomendadas biópsias de todos os segmentos possíveis do TGI para identificação de achados histológicos da doença. Na DC, há inflamação descontínua e transmural que envolve, muitas vezes, a região ileocecal. A investigação completa e adequada do intestino delgado deve ser realizada com o auxílio da ressonância nuclear magnética (RNM) e enterografia, e podem detectar inflamação transmural e complicações da doença, como obstruções, fístulas e abscessos. Devido ao risco de câncer por radiação ionizante, exames radiológicos convencionais e tomografia computadorizada (TC) devem ser substituídos por métodos alternativos, principalmente em crianças. A cápsula endoscópica pode visualizar a inflamação da mucosa, porém estenoses devem ser excluídas antes da realização do exame (LAASS; ROGGENBUCK; CONRAD, 2014; Figura 3).

Figura 3 – Obstrução Intestinal por Cápsula Endoscópica em Paciente com Doença de Crohn Estenosante



Fonte: Renato Campanati, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Entre os procedimentos não invasivos para o diagnóstico da DC, os melhores marcadores são a dosagem sérica da proteína C-reativa (PCR), assim como a calprotectina e a lactoferrina fecais. A presença da calprotectina nas fezes é diretamente proporcional à migração de neutrófilos para o TGI, sendo um marcador estável e resistente à degradação. Pode indicar atividade da doença e prever reagudizações, apresentando alta sensibilidade (87%), porém baixa especificidade (43%) para a DC (LAASS; ROGGENBUCK; CONRAD, 2014).

Os mais frequentes marcadores sorológicos estudados na DII são o anticorpo contra *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA, do inglês *anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*) e o anticorpo anticitoplasma de neutrófilos (p-ANCA, do inglês *perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*). A produção do autoanticorpo p-ANCA é

desencadeada por antígenos bacterianos e está presente em 65 a 70% dos pacientes com RCU, constituindo um dos poucos marcadores para essa doença. Já o anticorpo ASCA é expresso por 55 a 70% dos pacientes com DC (BAUMGART; SANDBORN, 2013). Para as duas combinações de p-ANCA-/ASCA+ e p-ANCA+/ASCA-, há especificidade de 92-97% para DC e 81-98% para RCU, quando obtidos na suspeita de DII. Muitos marcadores imunológicos novos têm sido descritos e futuros estudos, mostrando painéis sorológicos de múltiplos anticorpos, poderão ajudar no diagnóstico precoce, estratificação de pacientes de acordo com seu fenótipo e quanto ao risco de complicações (LAASS; ROGGENBUCK; CONRAD, 2014).

Após o diagnóstico da DC ser estabelecido, os pacientes são fenotipados de acordo com a Classificação de Montreal, além de rastreados para manifestações extraintestinais e associação a outras doenças autoimunes (SATSANGI *et al.*, 2006). A Classificação de Montreal (Tabela 2) tem sido muito relevante para a prática clínica e para as pesquisas na área. Leva em consideração a idade ao diagnóstico, além da localização e fenótipo da doença (GASCHE *et al.*, 2000; SPEKHORST *et al.*, 2014). Esta classificação carrega, em si, algumas ambiguidades, pois, não há consenso se a existência de inflamação microscópica em uma mucosa macroscopicamente normal constitui uma manifestação da doença; e se a doença ileal, com envolvimento cecal limitado, pertence a L1 ou L3. A modificação pediátrica da Classificação de Montreal, Classificação de Paris (Tabela 2), trata de superar esses problemas (LEVINE *et al.*, 2011). Em 5 a 10% dos pacientes, quando somente o cólon é afetado, o diagnóstico diferencial entre DC e RCU pode não ser realizado. Para estes casos, em particular, o termo colite indeterminada é utilizado (LAASS; ROGGENBUCK; CONRAD, 2014).

Estudos mostram que, mais da metade dos pacientes, são diagnosticados entre as idades de 17 e 40 anos (Categoria de Montreal A2). A DC está localizada no íleo terminal em 45% dos casos (L1), no cólon em 32% (L2), ileocolônica em 19% (L3) e TGI alto em 4% (L4). A maioria dos pacientes (81%) tem fenótipo não estenosante e não penetrante (B1), 5% estenosante (B2) e 14% penetrante (B3 ou B3p). Quase 20% dos pacientes progridem para um fenótipo mais agressivo da doença em 90 dias após o diagnóstico inicial e mais da metade (51%) em 20 anos, especialmente, se houver envolvimento ileal e perianal (fístulas) no momento do diagnóstico (VERMEIRE; VAN ASSCHE; RUTGEERTS, 2012).

Tabela 2 – Classificação de Montreal e Paris para a Doença de Crohn

	Classificação de Montreal	Classificação de Paris
Idade ao diagnóstico (A)	A1 abaixo de 17 anos ^a A2 entre 17 e 40 anos A3 acima de 40 anos	A1a abaixo de 10 anos A1b entre 10 e 16 anos A2 entre 17 e 40 anos A3 acima de 40 anos
Localização (L)	L1 Ileal L2 Colônica L3 Ileocolônica L4 doença gastrointestinal alta isolada ^a	L1 Ileal L2 Colônica L3 Ileocolônica L4a ^a Doença gastrointestinal alta proximal ao ligamento de Treitz L4b ^a Doença gastrointestinal alta distal ao ligamento de Treitz e proximal a 1/3 do íleo
Comportamento (B)	B1 Não estenosante e não penetrante B2 Estenosante B3 Penetrante ^b p Doença perianal ^c modificada	B1 Não estenosante e não penetrante B2 Estenosante B3 Penetrante ^b B2B3 Doença tanto penetrante quanto estenosante, no mesmo ou em diferentes momentos p Doença perianal ^c modificada
Growth		G0: sem atraso de crescimento G1: atraso de crescimento

Fonte: SATSANGI *et al.*, 2006; LEVINE *et al.*, 2011

^a L4 ou L4a/L4b são uma modificação que é adicionada a L1-L3 quando há presença de doença gastrointestinal alta.

^b Doença penetrante: perfuração intestinal, fístula intra-abdominal, massa inflamatória e/ou abscesso em qualquer tempo no curso da doença, e não secundariamente a complicações pós-operatórias (excluindo fístula perianal e retovaginal).

^c “p” é adicionado a B1-B3 quando há concomitância de doença perianal.

Não menos importante que a classificação, a adequada estratificação da apresentação é fundamental para o manuseio da doença, podendo agrupar a atividade da DC em leve, moderada e grave. O Índice de Atividade da Doença de Crohn (IADC) é um sistema de avaliação de gravidade que utiliza oito variáveis objetivas e subjetivas (frequência das evacuações, dor abdominal, sensação de bem-estar, presença de complicações e de massa abdominal, uso de antidiarreicos, hematócrito e perda de peso corporal). Em uma escala de pontuação de 0 a 600, é possível classificar entre resposta e remissão clínica (queda de 70 a 100 pontos sugere resposta clínica; valor total \leq 150 pontos, sugere remissão), atividade moderada (pontuação IADC $>$ 220) e grave (valor IADC $>$ 450) (BEST *et al.*, 1976; Tabela 3).

Tabela 3 – Índice de Atividade Inflamatória da Doença de Crohn

Características	Multiplicado por
Número de evacuações líquidas na última semana	2
Dor abdominal (ausente = 0; leve = 1; moderada = 2; grave = 3). Considerar a soma total dos dados individuais da última semana	5
Estado geral (ótimo = 0; bom = 1; regular = 2; mau = 3; péssimo = 4). Considerar a soma total dos dados individuais da última semana	7
Número de sintomas/sinais associados – listar por categorias: a) Artralgia/artrite; b) Irite/uveíte; c) Eritema nodoso/pioderma gangrenoso/aftas orais; d) Fissura anal, fístula ou abscesso; e) Outras fístulas; f) Febre	20 (valor máximo = 120)
Consumo de antidiarreico (não = 0; sim = 1)	30
Massa abdominal (ausente = 0; duvidosa = 2; bem definida = 5)	10
Déficit do hematócrito: homens: 47-Ht; mulheres: 42-Ht (diminuir em vez de somar no caso Ht de o paciente ser $>$ do que o padrão)	6
Peso*: porcentagem abaixo do esperado (diminuir em vez de somar se o peso do paciente for maior que o esperado)	1

Fonte: Best *et al.*, 1976

Abreviações: Ht: hematócrito

Soma total (IADC): $<$ 150 = Remissão; 150 a 250 = Leve; 250 a 350 = Moderada; $>$ 350 = Grave

*Peso esperado ou ideal = Altura (m)² x 25,5 = _____ kg (homens)

Altura (m)² x 22,5 = _____ kg (mulheres)

Em contraste com o IADC, o Índice de Harvey-Bradshaw (HBI) consiste apenas em parâmetros clínicos: sensação de bem-estar, dor abdominal, número de evacuações líquidas diárias, presença de massa abdominal, e complicações da DC (artralgia, uveíte/irite, eritema nodoso, úlceras aftoides orais, pioderma gangrenoso, fissuras anais, fístulas e abscessos) (HARVEY; BRADSHAW, 1980, Tabela 4).

Tabela 4 – Índice de Atividade Inflamatória de Harvey e Bradshaw na Doença de Crohn

Características	Pontuação
Estado geral (ótimo = 0; bom = 1; regular = 2; mau = 3; péssimo = 4)	0 – 4
Dor abdominal (ausente = 0; duvidosa = 1; moderada = 2; grave = 3)	0 – 3
Complicações: artralgia/artrite, uveíte/irite, eritema nodoso, aftas orais, pioderma gangrenoso, fissura anal, fístula, abscesso etc.	1 ponto cada

Fonte: HARVEY; BRADSHAW, 1980

< 8: inativa leve; 8 a 10: leve/moderada; > 10: moderada/grave

O IADC e o HBI são os sistemas mais utilizados mundialmente para avaliação da atividade inflamatória, sendo o IADC, considerado o padrão-ouro de avaliação, principalmente, nos ensaios clínicos. Entretanto, apresentam limitações, principalmente, por dar margens a diferentes interpretações, necessitar de tempo e não contemplar a doença fistulizante como sinal de atividade da doença, no caso do IADC, e pela subjetividade da análise com relação à intensidade de dor abdominal e sensação de bem-estar, no caso do HBI (GAJENDRANA *et al.*, 2018). Outros índices e escores, mais específicos também são utilizados. O Índice de atividade da doença perianal (IADP) avalia característica mensurada muito superficialmente nos índices descritos anteriormente; e também os índices que avaliam a atividade endoscópica da DC, como o Escore endoscópico da DC (ISED) (MARY; MODIGLIANI, 1989), o Escore endoscópico simples da DC (EESDC) (DAPERNO *et al.*, 2004), mais recente, já validado e mais fácil e rápido que o ISED, além do Escore de Rutgeerts que é utilizado para acompanhar a evolução da recorrência endoscópica pós-cirúrgica da DC ileal (RUTGEERTS *et al.*, 1990).

A avaliação da atividade da DC, associada ao fenótipo e aos achados endoscópicos, ajuda na estratificação dos pacientes, auxiliando na escolha do melhor regime terapêutico, sendo esses fatores, importantes preditores do curso da doença e de

suas possíveis complicações (BAUMGART; SANDBORN, 2013). Tentativas de reclassificação das DII baseadas nos recentes avanços da genética, sorologias e imunologia estão sendo feitas. Entretanto, necessitam ser confirmadas e transpostas para a prática clínica (VERMEIRE; VAN ASSCHE; RUTGEERTS, 2012). No futuro, provavelmente, as classificações e índices de atividade da DC, serão complementados e até mesmo, parcialmente, substituídos por classificações baseadas em marcadores sorológicos, genéticos e moleculares. Particularmente, ajudando a elucidar as diferentes expressões fenotípicas da DC, prever o risco de complicações, prognóstico e escolha inicial do tratamento para melhor resposta terapêutica (LOUIS; VAN KEMSEKE; REENAERS, 2011).

2 IMUNOPATOGÊNESE DA DOENÇA DE CROHN

A noção atual sobre a patogênese da DC é que indivíduos geneticamente suscetíveis desenvolvem intolerância à microflora intestinal desregulada (disbiose) e a inflamação crônica se desenvolve como resultado de fatores desencadeantes ambientais. O fator de risco mais forte para a DC, identificado até o momento, é a história familiar, sendo que até 15% dos pacientes apresentam relato familiar da doença (GAJENDRAN *et al.*, 2018).

A pesquisa atual no campo da DII concentra-se, principalmente, no estabelecimento do papel das variantes causais na expressão gênica, e várias vias patológicas já foram descobertas. No entanto, os *loci* de risco genético, identificados até o momento, explicam apenas uma pequena parte da variância genética no risco da doença e, mais fatores precisam ser levados em conta para a compreensão da patologia multifatorial da DC. A resposta imune alterada, em indivíduos geneticamente suscetíveis, como resultado de uma interação complexa entre a função de barreira intestinal prejudicada e as interações disfuncionais micróbio-hospedeiro, tem sido, portanto, sugerida como um grande pano de fundo etiológico unificador (ALEKSANDROVA; ROMERO-MOSQUERA; HERNANDEZ, 2017). Além disso, surge a possibilidade de que a epigenética possa explicar parcialmente a “hereditariedade oculta” na DII (VENTHAM *et al.*, 2013).

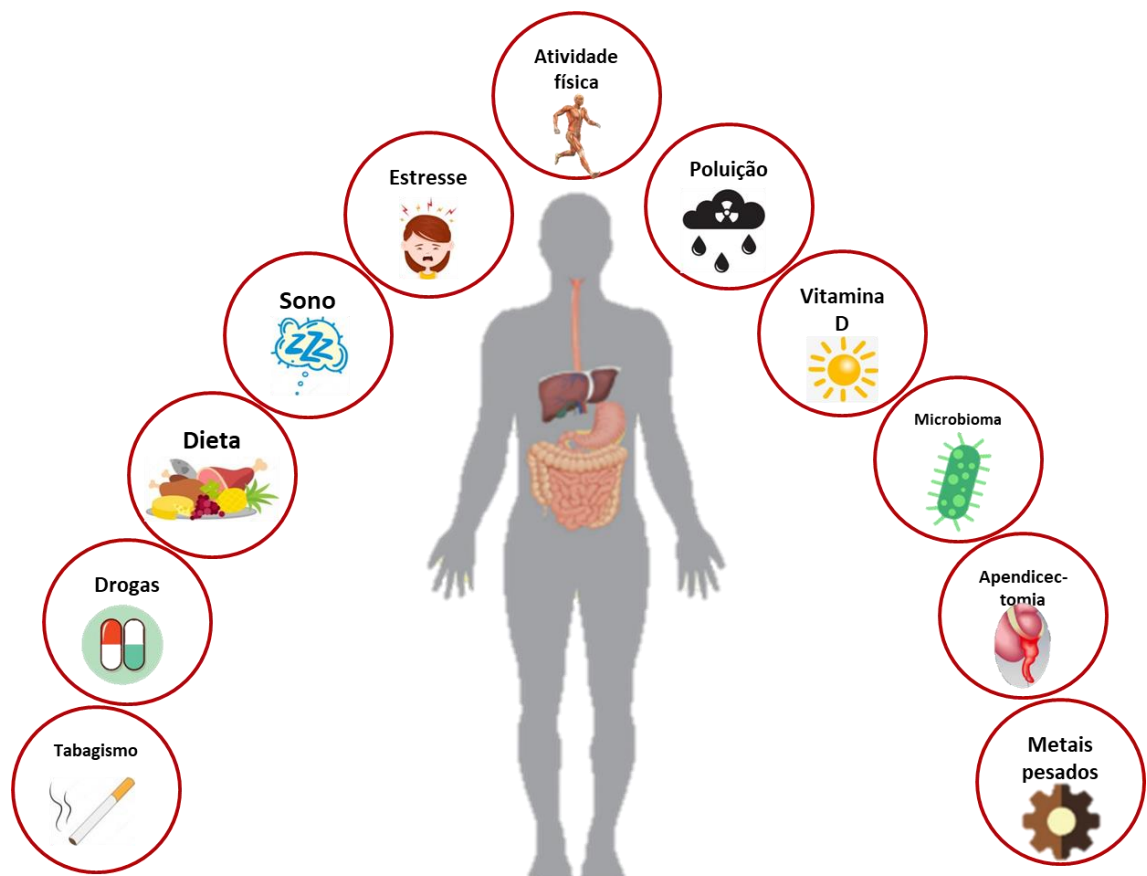
2.1 FATORES AMBIENTAIS

Apesar de a paisagem genética permanecer consideravelmente estável ao longo dos anos, a incidência de DII tem apresentado uma tendência crescente em todo o mundo, particularmente nos países em desenvolvimento, com industrialização e urbanização. Esse aumento é explicado, principalmente, pelos fatores ambientais, com acúmulo de evidências epidemiológicas, clínicas e laboratoriais (Figura 4). Por exemplo, estudos com gêmeos forneceram pistas importantes para identificar contribuições hereditárias e ambientais à DII. Curiosamente, houve um aumento significativo no risco e na incidência quando os imigrantes se mudaram de países com baixa incidência de DII para países com alta incidência, e o aumento foi mais aparente na segunda geração em comparação com a primeira geração. Além disso, as populações de alguns países como Japão, China e Índia,

anteriormente considerados áreas de baixo risco, estão testemunhando um aumento notável na incidência de DII. É improvável que tais mudanças drásticas, em curtos períodos de tempo, sejam devidas a fatores genéticos, pois enfatizam o papel fundamental do ambiente na patogênese da DII. Dos fatores ambientais, a microbiota intestinal, provavelmente, é o mais importante (ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2018).

O TGI está sob constante exposição ambiental. Embora vários fatores de risco ambientais tenham sido estudados, como status socioeconômico e dieta, nenhum explica, completamente, os determinantes da DII. Muitas questões ainda existem, tais como, se quaisquer fatores ambientais desconhecidos desempenham um papel na DII, ou se há uma reação desencadeadora comum compartilhada entre esses fatores (ROHR *et al.*, 2018).

Figura 4 – Fatores Ambientais na Patogênese da Doença de Crohn



Fonte: Elaborado pela autora
Adaptado de ZHOU *et al.*, 2017

2.2 GENÉTICA

Existe, há muito tempo, uma forte impressão no âmbito científico de que a genética desempenhe uma grande influência na origem das DII. Esse fato é ainda mais evidente nos estudos referentes à DC quando comparada à RCU (VENTHAM *et al.*, 2013). Evidências epidemiológicas desse papel vieram de estudos que demonstraram taxas mais altas de DC entre indivíduos da raça branca e judaica, agregação familiar da DC e maiores taxas de concordância entre gêmeos monozigóticos, comparados aos gêmeos dizigóticos. A busca por genes específicos de suscetibilidade à DC, entretanto, tem sido difícil devido à genética complexa, incluindo fatores como a falta de padrões mendelianos de herança simples, envolvimento de vários genes e a influência dos fatores ambientais e da microflora intestinal no desenvolvimento da doença (TSIANOS; KATSANOS; TSIANOS, 2012).

Com base em estudos genéticos e metanálises, os pesquisadores identificaram pelo menos 70 *loci* cromossômicos relacionados ao desenvolvimento da DC. Em 2001, dois grupos divulgaram, de forma independente, a associação de polimorfismos / variantes do gene Domínio de Oligomerização de Ligação ao Nucleotídeo 2 (NOD2, do inglês *nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*), também conhecido como Domínio de Recrutamento da Caspase 15 (CARD15, do inglês *caspase recruitment domain-containing protein 15*), com a maior probabilidade de desenvolver DC. Localizado na região pericentromérica do cromossomo 16 (16q12), essa região passou, então, a ser conhecida como o *locus* 1 da DII (IBD1, do inglês, *inflammatory bowel disease*). Uma região de susceptibilidade denominada IBD2 foi reconhecida no cromossomo 12 e parece relacionar-se com a RCU (ROGLER; BIEDERMANN; SCHARL, 2018).

O fator que verdadeiramente impulsionou a descoberta de novos genes relacionados às DII foi, sem dúvida, o desenvolvimento das técnicas que permitem o rastreamento em massa de centenas de milhares de genes em um curto espaço de tempo, denominadas “estudos de associação genômica ampla” (GWAS, do inglês *genome-wide association studies*). Aqui, um gene específico com interesse conhecido ou potencial para a doença é estudado. As frequências alélicas (no caso de estudo caso-controle) ou a transmissão de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, do inglês *single nucleotide polymorphisms*) para a prole afetada (no caso de trios) são analisadas e, as diferenças

entre pacientes e controles, ou a distorção de transmissão para as crianças afetadas são investigadas e apontam para a implicação do gene na patogênese da doença (WANG; PICCO, 2017). Estes estudos genéticos combinam bases de dados de um conjunto de variantes genéticas, em diferentes indivíduos, para verificar se alguma destas variantes está associada a uma característica. Reúnem milhares de pacientes com fenótipo de DC e RCU devidamente catalogados e têm revelado cada vez mais associações genéticas com essas doenças (VERSTOCKT; SMITH; LEE, 2018).

Os GWAS deram destaque a várias vias críticas subjacentes à suscetibilidade genética da DII, envolvendo a sinalização de células T, a imunidade inata e a função da barreira epitelial. O gene NOD2/CARD15 tem sido associado a envolvimento ileal, doença fibrostenótica, início em idade precoce e história familiar de DC (ALEKSANDROVA; ROMERO-MOSQUERA; HERNANDEZ, 2017). Estudos adicionais também identificaram que os genes LAMB1 e HNF4a16 poderiam explicar o comprometimento da função da barreira intestinal na DII. Os genes ATG4, ATG16L1 e IRGM estão relacionados à autofagia na resposta imune inata do hospedeiro na DC e os genes AHR, CCL20, CD28, LY75, NFATC1 e NFKBIZ poderiam regular as respostas das células T (VERSTOCKT; SMITH; LEE, 2018).

O detalhe mais interessante dessas descobertas genéticas é exatamente a forte correlação que existe entre as mutações já identificadas e a cascata inflamatória intestinal. A maioria dos polimorfismos genéticos descobertos tem alguma correlação com o controle da imunidade. Praticamente todos os genes encontrados codificam proteínas que regulam o sistema imune. As falhas presentes nos polimorfismos, em consequência, desencadeiam as alterações que são encontradas nas DII (ROGLER; BIEDERMANN; SCHARL, 2018). Além disso, outros estudos demonstraram associações genéticas com o início da doença e quais manifestações clínicas, comportamentos e desfechos clínicos são potencialmente importantes para as estratégias de tratamento e prognóstico. Também foi demonstrado como os marcadores genéticos atualmente identificados podem influenciar o comportamento e o desfecho clínico, a localização, a necessidade de cirurgia e a resposta à terapia, como ao anti-TNF (anti fator de necrose tumoral, do inglês *anti-tumor necrosis factor*) (WANG; PICCO, 2017).

Portanto, a genética desempenha um dos papéis mais importantes na imunopatologia da DC e as variantes genéticas associadas à doença contribuem para

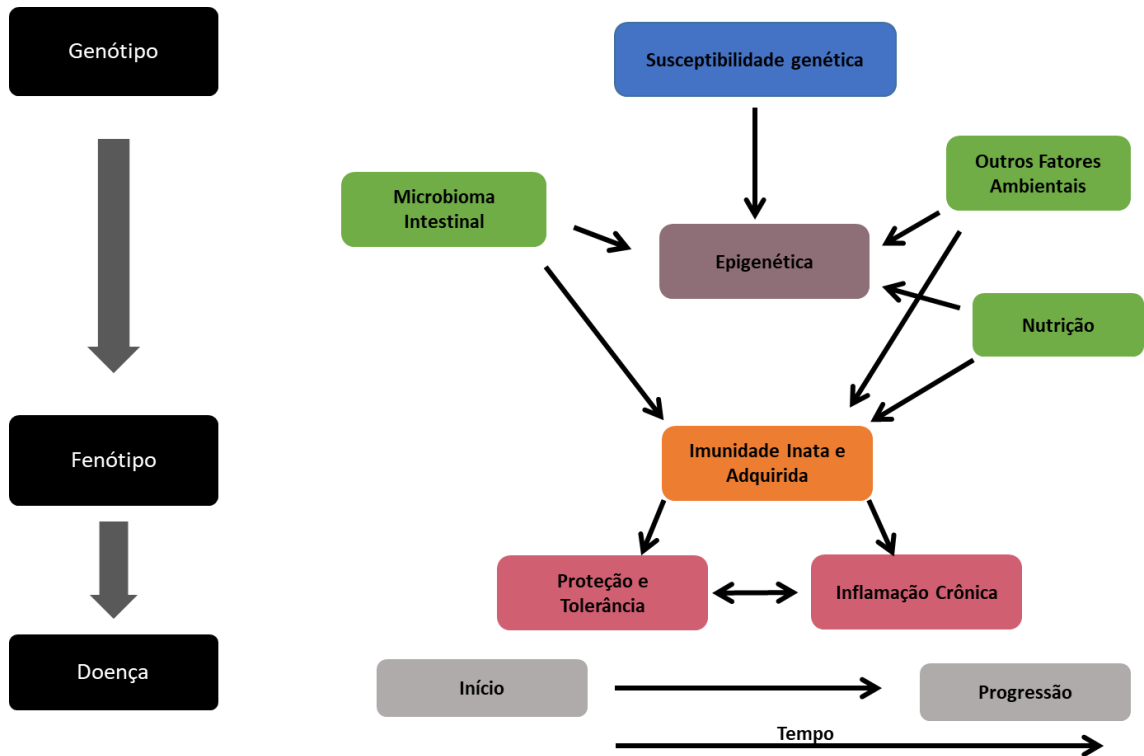
compreender sua fisiopatologia. Entretanto, a expressão do fenótipo da DC também é influenciada pelos fatores ambientais e, portanto, para determinar esse fenótipo, é necessária a aplicação de uma abordagem multifatorial, que inclua fatores ambientais, genéticos, epigenéticos, exposição a diferentes medicamentos, tabagismo e sintomas da doença (ALEKSANDROVA; ROMERO-MOSQUERA; HERNANDEZ, 2017).

2.3 EPIGENÉTICA

Evidências sugerem que todos os fatores genéticos identificados representam apenas uma pequena parte da variação da doença, ou seja, 8,2% para RCU e 13,1% para DC, respectivamente. Esses achados sugerem que fatores epigenéticos, agindo como mediadores do genoma e fatores ambientais possam desempenhar papéis significativos na patogênese da DII e afetar seu desenvolvimento e progressão (Figura 5). A epigenética é o estudo das alterações fenotípicas hereditárias que não envolvem alterações na sequência do DNA (ácido desoxirribonucleico, do inglês *desoxyribonucleic acid*), atuando como mediadores entre os fatores genéticos e os fatores ambientais (DEFILIPPIS *et al.*, 2016). São, portanto, alterações mitogenicamente hereditárias na função do gene, não explicadas por alterações na sequência do DNA. A expressão gênica pode ser transformada por alterações na estrutura e função da cromatina. Os principais mecanismos epigenéticos incluem a metilação do DNA, a modificação de histonas, a interferência do RNA (ácido ribonucleico, do inglês *ribonucleic acid*) e o posicionamento dos nucleossomos (ZHOU *et al.*, 2017).

Um exemplo dos estudos epigenéticos, mostrou que o butirato, um inibidor da histona desacetilase, formado durante a fermentação das fibras alimentares pela microbiota intestinal, e que participa da manutenção da função da barreira intestinal, pode aumentar a expressão de NOD2, promovendo a acetilação de histona em sua região promotora, demonstrando, com isso, uma estreita associação entre a acetilação de histonas e a inflamação intestinal. Portanto, como um novo campo emergente, os estudos de epigenética fornecem uma nova perspectiva na patogênese da DII (VENTHAM, 2013).

Figura 5 – Hipótese Atual da Patogênese da Doença de Crohn



Fonte: Elaborado pela autora

Adaptado de ZHOU *et al.*, 2017

A Epigenética poderia mediar o ambiente genético e os fatores ambientais para ajudar a determinar o fenótipo da doença inflamatória intestinal (DII). O paradigma clássico do genótipo que leva ao fenótipo e à doença foi expandido para abranger os principais fatores etiológicos da DII. A Epigenética pode interagir com os fatores genéticos e os fatores ambientais para afetar o sistema imunológico. A resposta imune subsequente tem consequências sobre se os insultos são tolerados ou se a inflamação crônica é iniciada e propagada.

2.4 MICROBIOTA INTESTINAL

O intestino humano abriga um complexo e vasto número de bactérias, bacteriófagos, fungos e vírus, coletivamente chamados de “microbiota intestinal”. Em condições normais, a microbiota intestinal é útil e, mais do que isso, vital para o ser humano. De fato, atuando sobre substratos alimentares, as bactérias geram ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato, que vão propiciar o metabolismo normal dos colonócitos. Ao mesmo tempo, o organismo tem um eficiente mecanismo de proteção contra bactérias patogênicas e seus produtos, por vezes não menos virulentos. *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, bactérias não patogênicas, produzem substâncias como as bacteriocinas, que inibem o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas como *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Klebsiella* (NISHIDA *et al.*, 2018).

Contudo, um dos aspectos mais importantes nesse contexto de proteção é o desenvolvimento da tolerância às bactérias e seus componentes antigênicos que compõem a microbiota intestinal normal ou própria do indivíduo. Na DII, há evidências de perda da tolerância às bactérias e aos antígenos da própria microbiota intestinal, o que faz com que o organismo reaja intensa e exageradamente a esses agentes antigênicos. Tal fato, acrescido do aumento da permeabilidade intestinal, acaba por hiperestimular o sistema imune da mucosa (ROGLER; BIEDERMANN; SCHARL, 2018). Além disso, uma série de estudos observou um aumento da carga de bactérias agressivas em pacientes com DC, associando claramente a DC à disbiose; entretanto, se essas alterações são a causa ou a consequência da doença, isso ainda precisa ser ilustrado em pesquisas posteriores (ALEKSANDROVA; ROMERO-MOSQUERA; HERNANDEZ, 2017).

2.5 BARREIRA EPITELIAL

O organismo protege-se de antígenos luminiais por meio de integrado sistema de defesa denominado, em conjunto, barreira intestinal. Dois componentes constituem a barreira intestinal: i) o componente não imunológico, representado pela acidez gástrica, secreções digestivas, motilidade gastrointestinal, microbiota intestinal, produção de defensinas pelas células de Paneth, células epiteliais intestinais (IECs, do inglês *intestinal epithelial cells*), camada aquosa e de mucina e fator trefoil ou trifólio (ITF, do inglês *Intestinal Trefoil Factor*); ii) o componente imunológico, representado pela produção de IgA (imunoglobulina A) secretora, pela imunidade inata (neutrófilos, células apresentadoras de antígenos – macrófagos e células dendríticas, e IECs) e pela imunidade adaptativa (linfócitos T e B) (FRITZ *et al.*, 2008)

A barreira epitelial intestinal promove uma interface para as trocas entre a microbiota intestinal e as células imunes da mucosa. As IECs localizadas, física e biologicamente, entre o sistema imune da mucosa e a flora comensal, podem desempenhar um papel central na patogênese da DII devido à sua interação com o sistema imune do hospedeiro, de um lado, e a microbiota intestinal, do outro (VAN KAER; OLIVARES-VILAGÓMEZ, 2018). A interrupção temporária da função da barreira epitelial resulta na invasão de bactérias comensais e no recrutamento e ativação de células imunes pró-inflamatórias, para iniciar uma inflamação intestinal aguda. Assim, a

perturbação permanente da função da barreira epitelial, seja causada por anormalidades genéticas, ou estimulação comensal contínua, leva, eventualmente, ao surgimento de inflamação intestinal crônica (FRITZ *et al.*, 2008).

De acordo com a literatura atual, alta frequência de apoptose epitelial foi observada em tecidos do cólon de pacientes com DC. Evidências sugerem que esta apoptose epitelial aberrante e a inflamação intestinal podem ser consequência da penetração anormal de bactérias comensais intestinais através da quebra da barreira epitelial, via aceleração da apoptose das IECs, e, subsequente hiperativação das células imunes da mucosa, para produzir condições inflamatórias patológicas (ZHOU *et al.*, 2017).

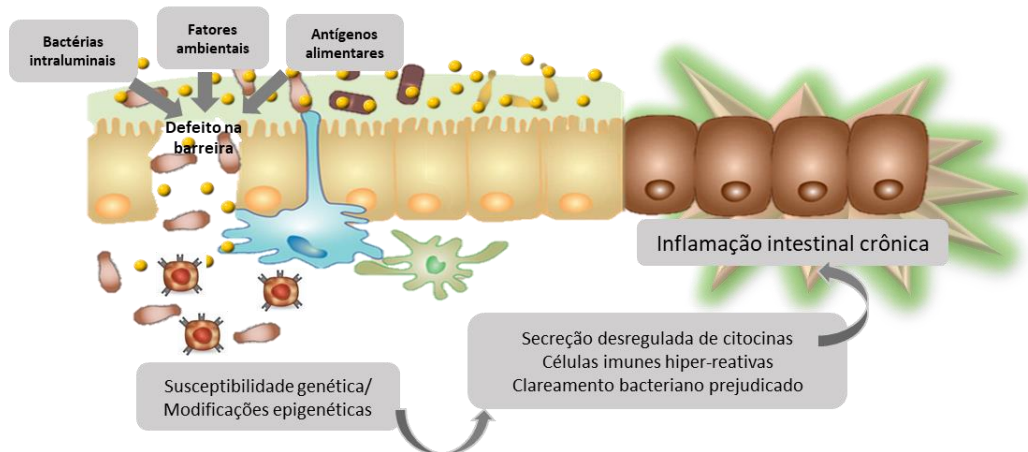
2.6 INTERAÇÃO ENTRE MICROBIOTA INTESTINAL, BARREIRA EPITELIAL E IMUNIDADE

Pacientes com DC, particularmente os com mutação no gene NOD2/CARD15, apresentam diminuição da produção de defensina, mucina e ITF pelas células caliciformes. O ITF está envolvido na restituição das IECs e na reparação da mucosa lesada, além de compor e incrementar a camada viscosa, em conjunto com a mucina (ZHOU *et al.*, 2017). A caderina e a queratina são proteínas do citoesqueleto que interligam as IECs e, quando diminuídas ou ausentes, contribuem para o desenvolvimento de colite e neoplasias, como adenomas e carcinomas (ROGLER; BIEDERMANN; SCHARL, 2018).

A diminuição da fonte energética do colonócitos (butirato) e o aumento da permeabilidade intestinal completam o quadro de disfunção e deficiência no sistema de proteção da barreira intestinal na DII. Além disso, pacientes com DC têm redução significativa da atuação do sistema imune inato com consequente hiperestimulação do sistema imune adaptativo, o que contribui para a amplificação do processo inflamatório (WALLACE *et al.*, 2014). Tanto a microbiota intestinal quanto a imunidade contribuem para a homeostase intestinal. Se por um lado, os produtos das células imunes (defensinas, muco e IgA) dominam o ecossistema microbiano intestinal, por outro lado, a imunidade

da mucosa pode ser regulada pela microbiota intestinal (VAN KAER; OLIVARES-VILAGÓMEZ; 2018; Figura 6).

Figura 6 – Interação entre Microbiota Intestinal, Barreira Epitelial e Imunidade



Adaptado de VAN KAER; OLIVARES-VILAGÓMEZ; 2018

Fonte: Elaborado pela autora

Microbiota intestinal, fatores ambientais e antígenos alimentares contribuem para causar um defeito ou penetram através de um defeito na barreira epitelial. No hospedeiro geneticamente susceptível, ocorrem modificações epigenéticas e desregulação da resposta imune inata e adaptativa, o que, finalmente, leva a uma inflamação intestinal.

2.7 SISTEMA IMUNOLÓGICO

Além do papel clássico desempenhado nas doenças infecciosas e inflamatórias, o sistema imune tem, também, uma participação importante na vigilância e no controle de tumores, doenças metabólicas, neurológicas e degenerativas. A proteção contra patógenos depende de interações complexas entre os órgãos, tecidos, células e moléculas que compõem o sistema imunológico do corpo (KULKARNI *et al.*, 2016).

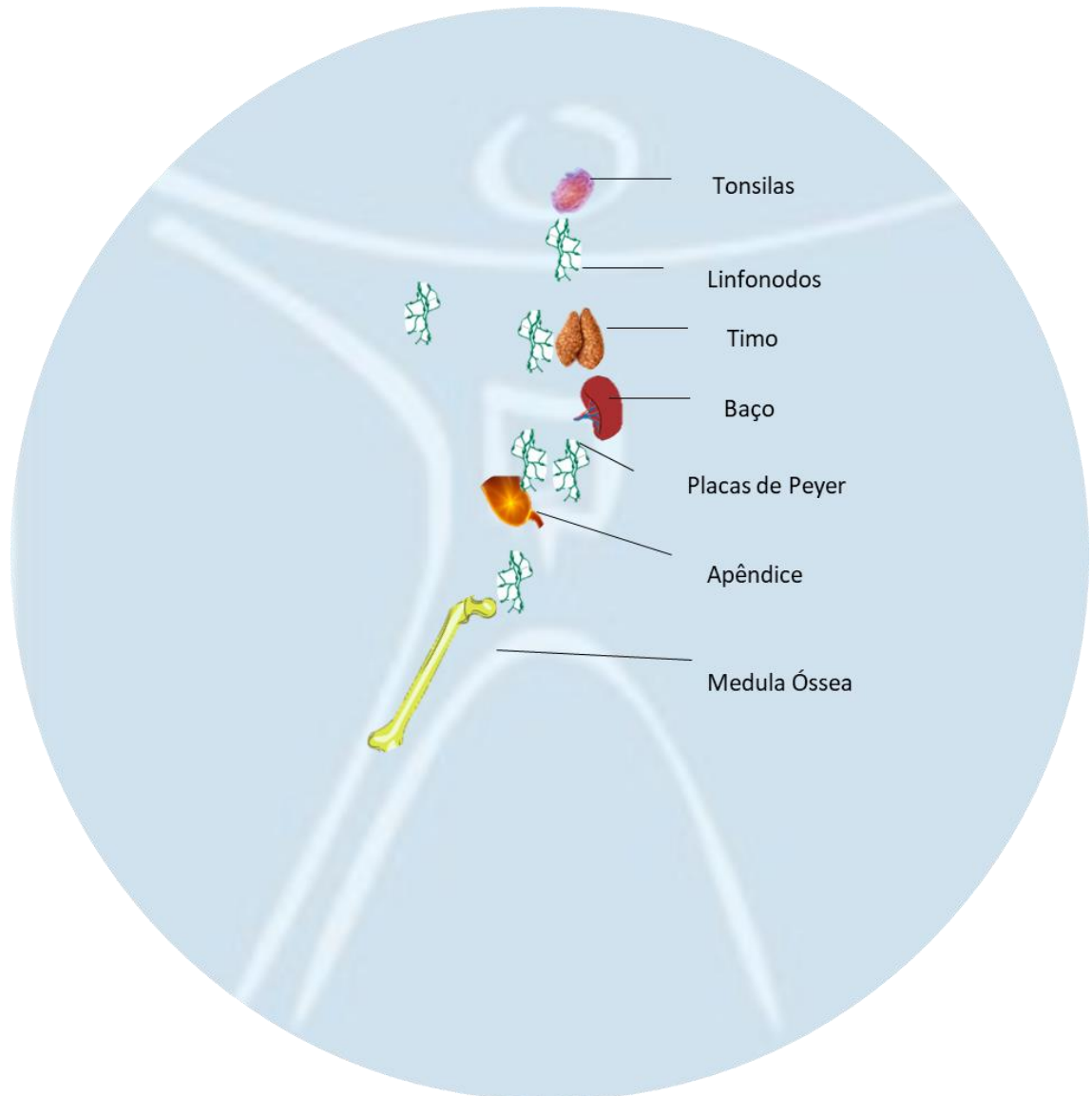
Um sistema imune eficaz deve ser capaz de interpretar as mudanças no ambiente ao seu redor e responder apropriadamente. O primeiro passo é detectar a presença de algum antígeno estranho ou de um estímulo imune entre tantos estímulos potenciais com origem no hospedeiro (autoantígenos), distinguindo o próprio (corpo) do não próprio (patógeno). Essa tarefa é realizada pelos leucócitos do sistema imune inato, os quais proporcionam uma resposta imediata, e pelos linfócitos do sistema imune adaptativo, cuja função é eliminar ou suprimir o reconhecimento de autoantígenos (CRONKITE; STRUTT, 2018).

Sendo assim, a ativação do grupo correto de células e mediadores imunes para tratar um estímulo nódico de forma rápida e eficiente, além de se adaptar de forma flexível a mudanças ambientais estranhas é fundamental no combate às infecções e ao câncer (XU; LARBI, 2018). Em seguida, o sistema imune interpreta e integra diversos sinais para calcular, entre seus diversos componentes e vias, quais precisam ser envolvidos no processo para controlar o agente desencadeador. A coordenação efetiva desses componentes é essencial para o sucesso e a eficiência na proteção do hospedeiro. Quando um patógeno penetra as defesas da pele e das mucosas e se estabelece dentro ou entre as células, ou quando, no processo de replicação, uma célula se transforma em câncer, esta ameaça deve ser eliminada através da apoptose ou morte celular. Existe, portanto, um equilíbrio delicado entre destruir a ameaça ou causar um grande dano ao hospedeiro (NICHOLSON, 2016).

A etapa final das respostas imunes normais é o retorno ao estado homeostático, logo após a eliminação ou controle da ameaça. Esse retorno ocorre através de mecanismos passivos, relacionados à ausência do agente desencadeador e por meio da supressão imune ativa, mediada por células e mediadores especiais, que se localizam nas ramificações reguladoras do sistema imune (ANTONELLI; KUSHNER, 2017). Além disso, uma das características mais importantes da resposta imune é sua capacidade de reter memória de infecções anteriores. Isso protege os indivíduos da reinfecção e limita a disseminação da infecção em uma comunidade. Células assassinas podem permanecer em guarda, onde as defesas imunológicas se quebraram no passado; alertas, mas não ativadas, prontas para atacar rapidamente se ocorrer uma reinfecção. Finalmente, algumas infecções têm um impacto tão profundo em uma espécie que a marca de patógenos individuais pode ser percebida na árvore da evolução. Se uma infecção é letal, apenas os indivíduos que possuem genes que codificam resistência sobreviverão para produzir a próxima geração (NICHOLSON, 2016).

O sistema imunológico é, portanto, constituído por uma intrincada rede de órgãos, células e moléculas e tem por finalidade manter a homeostase do organismo, combatendo as agressões em geral (Figura 7). A função imunológica é, conceitualmente, dividida em imunidade inata e imunidade adaptativa (SCHENTEN; MEDZHITOV, 2011).

Figura 7 – Distribuição dos Tecidos Linfoides



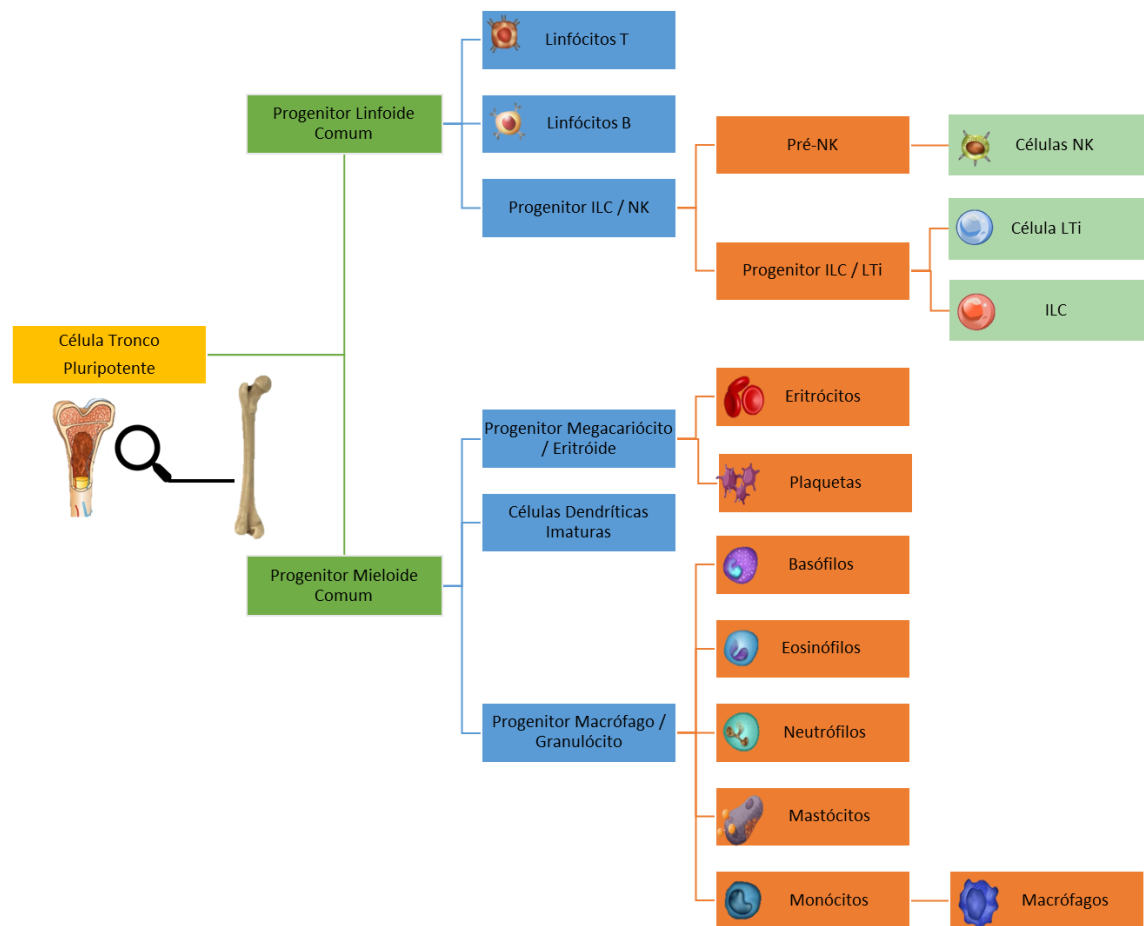
Fonte: Elaborado pela autora

A maioria dos patógenos entra no organismo pelas superfícies mucosas, que também estão expostas a uma grande quantidade de outros antígenos potenciais do ar, dos alimentos e da microbiota intestinal. As células responsáveis pelo sistema imune estão amplamente distribuídas pelo corpo. Os linfócitos são derivados das células-tronco da medula óssea e diferenciam-se nos órgãos linfoides centrais, medula óssea (células B) e timo (células T). Eles migram pela circulação sanguínea até os órgãos linfoides secundários. Estes incluem os linfonodos, o baço e os tecidos linfoides associados à mucosa, como as tonsilas, placas de Peyer e apêndice. Os linfonodos estão distribuídos por todo o corpo ao longo dos vasos linfáticos, podendo ser encontrados nas axilas, virilha, pescoço, tórax, abdome e principalmente no mesentério; consistindo, então, uma série de filtros em linha. Os órgãos linfoides secundários são os locais de ativação dos linfócitos pelo antígeno, produzindo células de memória e efetoras (CRONKITE; STRUTT, 2018).

A medula óssea é responsável pela hematopoiese, a partir de células-tronco pluripotentes que se diferenciam em linhagens particulares (Figura 8) (MOSER; LEO,

2010). As citocinas são responsáveis por estimular a expansão e o desenvolvimento das várias colônias celulares na medula óssea. É no timo, entretanto, que ocorrerá o desenvolvimento e a diferenciação dos linfócitos T (LT), além da remoção dos LT reativos contra os autoantígenos, importante para a indução da tolerância aos antígenos próprios (CRONKITE; STRUTT, 2018). O baço é o maior dos órgãos linfáticos e participa dos processos de hematopoiese, e hemocaterese. Tem importante função imunológica de produção de anticorpos e proliferação de linfócitos ativados, protegendo contra infecções (MOSER; LEO, 2010).

Figura 8 – Diferenciação das Células do Sistema Imune



Fonte: Elaborado pela autora

A diferenciação inicial das células-tronco pluripotentes resulta na produção das populações de células do progenitor linfoide comum ou do progenitor mieloide comum. A seguir, as células do progenitor linfoide comum diferenciam nos três tipos principais de linfócitos: linfócitos T, linfócitos B, progenitor de células linfoides inatas e células NK. A diferenciação das células do progenitor mieloide comum forma as células dendríticas imaturas, os progenitores de granulócitos/monócitos e as linhagens de progenitores de megacariócitos/eritrócitos. As plaquetas e os eritrócitos são produtos derivados dos progenitores de megacariócitos/eritrócitos. As principais populações de células imunes granulocitárias são os leucócitos e neutrófilos polimorfonucleares; já os eosinófilos, basófilos monócitos e mastócitos derivam de progenitores de granulócitos e macrófagos (MOSER; LEO, 2010).

Abreviações: Células NK: células *natural killer*, ILC: células linfoides inatas, LTi: células indutoras de tecido linfoide.

O sistema imune inato é um sistema intrínseco de defesa contra microrganismos, que está presente em todos os organismos multicelulares. É inespecífico e não confere imunidade duradoura. No entanto, é rápido e essencial na eliminação de 99,9% dos organismos patogênicos (CRONKITE; STRUTT, 2018). Em contrapartida, as respostas do sistema imune adaptativo levam dias, em vez de horas, para se desenvolver, com respostas altamente específicas aos antígenos. Os anticorpos e linfócitos ativados produzidos pela resposta imune adaptativa também podem proporcionar imunidade duradoura, permitindo uma resposta mais rápida e intensa a uma segunda exposição (IWASAKI; MEDZHITOV, 2015).

É importante observar que a maioria das respostas imunes, dos mediadores e das células imunes inatas e adaptativas, opera de forma simultânea e cooperativa no combate aos patógenos. As células imunes adaptativas dependem das células do sistema imune inato no processo de apresentação de antígenos para iniciar sua ativação. Por outro lado, as células imunes adaptativas direcionam as respostas das células imunes inatas e, às vezes, armam essas células com moléculas efetoras, que podem conferir um nível elevado de especificidade antigênica. No centro dessa regulação cruzada entre imunidade inata e adaptativa estão os mecanismos de processamento e de reconhecimento e os mecanismos altamente complexos da comunicação intercelular (KULKARNI *et al.*, 2016).

2.7.1 Respostas Imunes Inatas

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa contra as infecções microbianas, discriminando os componentes próprios e não próprios e representando uma resposta rápida e estereotipada a um número grande, mas limitado de estímulos. Está presente desde o nascimento, diferentemente da imunidade adquirida específica, que se desenvolve somente após o nascimento (DAVIES; ABREU, 2015).

No TGI, a imunidade inata é representada por barreiras anatômicas e fisiológicas, que incluem a mucosa, assim como parâmetros físicos como, a temperatura, pH e os níveis de oxigênio. Essas barreiras compreendem não apenas as células epiteliais na

superfície, mas também formas adicionais e inespecíficas de defesa, promovendo efetiva e rápida proteção, em termos de reconhecimento de antígenos, na forma de células fagocíticas e citotóxicas, bem como das moléculas solúveis, como enzimas, peptídeos microbianos e citocinas, presentes em todos os indivíduos, independentemente de contato prévio com imunógenos ou agentes agressores, e que não se alteram qualitativa ou quantitativamente após o contato (LIU; CAO, 2016).

Em geral, as ações do sistema imune inato são no sentido de garantir a morte e eliminação dos patógenos e a remoção dos tecidos danificados, bem como alertar, modular e ativar as células do sistema imune adaptativo. Disfunções do sistema imune inato podem resultar em maior susceptibilidade a patógenos ou causar inflamações e doenças autoimunes, como a DC (PELKA; De NARDO, 2018).

2.7.1.1 Barreiras Inatas de Proteção

2.7.1.1.1 Barreiras Anatômicas

A camada mucosa é a primeira barreira imediata à microbiota intestinal e aos antígenos alimentares e protege o epitélio intestinal. O muco é produzido por células caliciformes e possui uma camada interna e uma camada externa. A camada interna é firmemente aderente, estéril e rica em antimicrobianos. A camada externa é solta e tem mucina, antimicrobianos diluídos e bactérias comensais. A camada mucosa auxilia na prevenção de violações epiteliais e inflamação intestinal e a deficiência de mucina está associada ao câncer colorretal em modelos de ratos (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

A superfície luminal intestinal é coberta por uma única camada de IECs que possuem estrutura microscópica de vilosidades semelhantes a dedos, fornecendo ao intestino a maior área superficial epitelial do corpo humano. Essa vasta extensão permite ao epitélio intestinal exercer múltiplas funções, incluindo absorção, secreção e digestão. No entanto, tal superfície também está exposta a potenciais conteúdos luminiais incluindo antígenos e micróbios. Portanto, uma camada epitelial competente e discriminatória é crucial para manter a imunidade e a tolerância do intestino. O epitélio é formado pelos enterócitos, células caliciformes, células enteroendócrinas e células de Paneth. A

integridade da barreira é mantida pelas junções apertadas, junções aderentes e desmossomos (FRITZ *et al.*, 2008).

A camada de IECs é caracterizada por uma enorme capacidade de autorrenovação (a cada 4-5 dias). De modo a manter a barreira epitelial, as IECs no fundo da cripta dividem-se assimetricamente e originam novas células filhas, que se diferenciam das células da linhagem secretora e absorptiva ao longo do eixo cripta-vilos. Nas pontas das vilosidades do intestino delgado ou da superfície do cólon, IECs diferenciadas são expelidas no lúmen intestinal. Apenas as células de Paneth escapam dessa migração em direção à ponta da vilosidade. Um equilíbrio estrito entre a proliferação celular, na base da cripta, e a morte celular, na ponta da vilosidade, deve ser preservado, e é indispensável para manter a homeostase intestinal. A proliferação descontrolada pode culminar no desenvolvimento de tumor, enquanto o aumento da morte celular pode levar à desintegração da barreira epitelial, seguida por infiltração de bactérias e desenvolvimento de inflamação intestinal, como ocorre na DC (MONTALBAN-ARQUES *et al.*, 2018).

2.7.1.1.2 Barreiras Químicas

Sistema Complemento

O Sistema Complemento é constituído por uma família de mais de 20 glicoproteínas plasmáticas, sintetizadas principalmente no fígado, mas também por macrófagos e fibroblastos. Cada componente ativado no Sistema Complemento adquire atividade proteolítica, ativando os elementos seguintes em cascata. Ao longo do processo, ocorre a produção de diversos mediadores que alteram a permeabilidade vascular e contribuem para o desenvolvimento da resposta inflamatória. Finalmente, ocorre formação do complexo de ataque à membrana, que promove a lise osmótica da célula-alvo, favorecendo a eliminação do agente infeccioso (KÖHL, 2006).

Peptídeos Antimicrobianos

Os peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*) são secretados pelos linfócitos intraepiteliais (IELs, do inglês *intraepithelial lymphocytes*) para proteger e regular o equilíbrio entre as bactérias comensais e a mucosa do hospedeiro. Os AMPs incluem as defensinas α e β , o inibidor de protease de leucócitos secretórios, a elafina e a catelicidina 18. As defensinas são antibióticos endógenos que atuam contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. As defensinas podem romper diretamente a estrutura microbiana e também proteger contra a invasão dos agentes patogênicos bacterianos. Os AMPs são mais concentrados na camada mucosa interna que mantém sua esterilidade, em comparação com a camada mucosa externa que contém bactérias comensais (WALLACE *et al.*, 2014).

Complexo de Histocompatibilidade Principal

O complexo de histocompatibilidade principal humano (MHC, do inglês *human major histocompatibility complex*), é composto por um conjunto de genes altamente polimórficos, denominados complexo de antígeno leucocitário humano (HLA, do inglês *human leukocyte antigen*), e compreende mais de 120 genes funcionais, dos quais 20% estão associados à imunidade. A associação entre doenças autoimunes e genes do MHC reflete o importante papel dessas moléculas no direcionamento da resposta imune. Por seu papel na apresentação de antígenos, o MHC estabelece um elo entre a resposta inata e a resposta adaptativa. No homem, esses genes situam-se no cromossomo 6 e, tradicionalmente, são divididos em classes I, II e III. Apenas os genes de classes I e II estão envolvidos na apresentação de antígenos proteicos para os LT. As moléculas de classe I estão presentes na superfície de todas as células nucleadas, enquanto as de classe II são encontradas basicamente nas células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen-presenting cells* – macrófagos, DCs e Linfócitos B) (NICHOLSON, 2016).

2.7.1.1.3 Barreiras Celulares

Em adição aos órgãos linfoides organizados, a superfície mucosa contém grande quantidade de linfócitos e outros leucócitos dispersos ao longo do tecido. A maioria dos linfócitos dispersos tem a aparência de células que foram ativadas por antígenos e compreende as células T efectoras e células plasmáticas do sistema imune da mucosa. No

intestino, as células efetoras são encontradas em dois compartimentos principais: o epitélio e a lâmina própria. Esses tecidos são diferentes em termos imunológicos, sendo separados somente por uma fina camada de membrana basal. O epitélio é composto principalmente por LT efetores. A lâmina própria é mais heterogênea, com grande quantidade de células T efetoras, bem como células plasmáticas, compreendendo tanto as células residentes no tecido, como macrófagos e células dendríticas (CDs), quanto as células em movimento, como os neutrófilos, eosinófilos e monócitos, que patrulham o corpo através da circulação sanguínea e linfática e das células NK (do inglês, *natural killer cells*). Esses leucócitos podem ser recrutados rapidamente no local da infecção, proporcionando assim uma segunda linha de defesa contra patógenos invasores (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

O número total de linfócitos no epitélio e na lâmina própria provavelmente excede o número da maioria das outras partes do corpo (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017). Estas células identificam e eliminam os patógenos, atacando os maiores através de contato ou fagocitando e matando os microrganismos ou as células infectadas. As células inatas são também mediadores importantes na ativação do sistema imune adquirido, através das APCs (HUANG; CHEN, 2016).

Os neutrófilos e macrófagos são fagócitos que percorrem o corpo à procura de patógenos invasores. Os neutrófilos são raros no intestino saudável, apesar de sua quantidade aumentar rapidamente durante uma doença inflamatória ou infecção. As CDs são fagócitos que se encontram nos tecidos em contato com o ambiente externo, sobretudo na pele, nariz, pulmões, estômago e intestinos, atuando como ligação entre os tecidos corporais e os sistemas imunes, inato e adquirido, pois atuam como APCs, principalmente aos LT (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017). Os mastócitos estão alojados no tecido conjuntivo e nas mucosas, e são responsáveis pela regulação da resposta inflamatória. Células NK e células linfoides inatas (ILCs, do inglês *innate lymphoid cells*), embora se originem da linhagem linfocítica, não possuem receptores específicos de antígeno em sua superfície, sendo importantes mediadores da imunidade mediada por células. As células NK atacam e destroem células tumorais ou células infectadas por vírus (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

2.7.1.2 Ponte entre os Sistemas Imunes Inato e Adquirido

2.7.1.2.1 Linfócitos Intraepiteliais

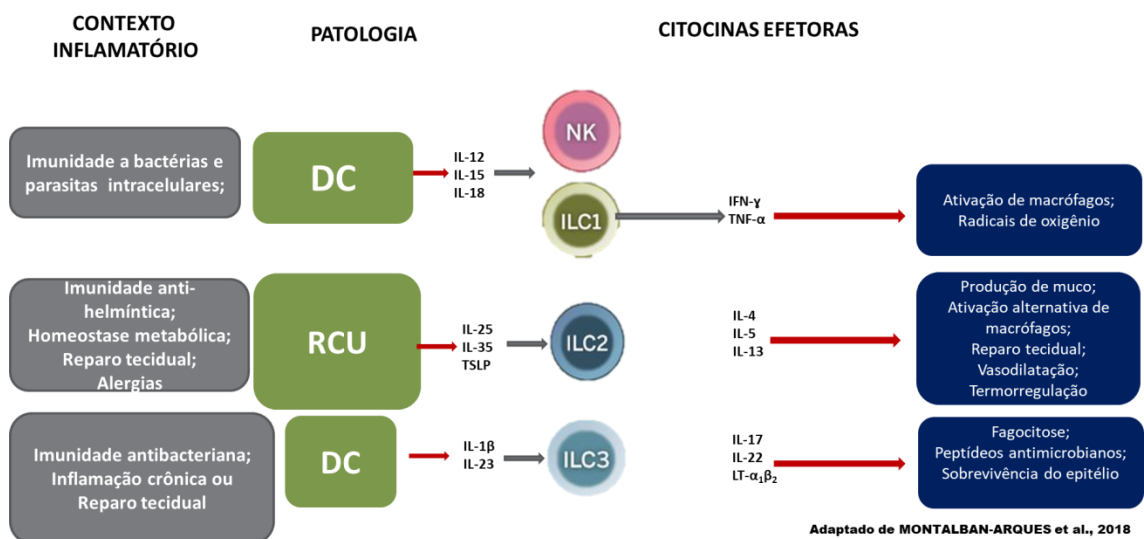
Os linfócitos encontrados na camada epitelial de tecidos mucosos e de barreira, linfócitos intraepiteliais (IELs, do inglês *Intraepithelial Lymphocyte*), são distintos da população de linfócitos do sistema imune sistêmico e, embora várias populações de leucócitos possam ser encontradas no epitélio, incluindo eosinófilos, ILCs e APCs, as células T compreendem a grande maioria deste compartimento. Existem entre 10 e 15 linfócitos para cada 100 IECs no delgado saudável. Dada a grande área de superfície da mucosa, os IELs constituem uma das maiores populações de linfócitos no organismo. Mais de 90% dos IELs do intestino delgado são células T, e cerca de 80% destes carregam CD8, em completo contraste com os linfócitos da lâmina própria. Os IELs também estão presentes no intestino grosso, embora em menor quantidade em relação ao número de IECs e em maior proporção de células T CD4 em comparação com o intestino delgado. As características marcantes dos IELs incluem a alta expressão de marcadores de ativação, integrinas de *homing* de tecidos, receptores tradicionalmente expressos em células NK e moléculas anti-inflamatórias e citotóxicas relacionadas aos LT (VAN KAER; OLIVARES-VILAGÓMEZ, 2018).

2.7.1.2.2 Células Linfoides Inatas

As células linfoides inatas (ILC) são os constituintes mais recentemente identificados do sistema imune inato, presentes na lâmina própria intestinal, e têm sido foco de intensa investigação nos últimos anos, destacando seu papel no controle da homeostase tecidual no contexto da infecção, na inflamação crônica, nas doenças metabólicas, na progressão tumoral e nos processos de cicatrização de feridas e reparo tecidual (ARTIS; SPITS, 2015). A família ILC engloba não apenas as células citotóxicas NK clássicas (descobertas em 1975 e envolvidas na proteção contra certos vírus e tumores) e as células indutoras de tecido linfóide (LTi) (descobertas em 1997, promovem a formação de órgãos linfoides secundários como as Placas de Peyer, durante a embriogênese), mas também as, recentemente, descritas populações de ILC não citotóxicas (WOJNO; ARTIS, 2016).

Análise recente das vias de desenvolvimento de membros da família ILC, indica que as células NK e as ILC auxiliares não citotóxicas provêm de linhagens separadas. As ILC não citotóxicas consistem em três grupos: grupo 1 das ILC (ILC1), grupo 2 das ILC (ILC2) e grupo 3 das ILC (ILC3), incluindo as células LTi (Figura 9) (PETERS *et al.*, 2016). Os subconjuntos de ILC não citotóxicas são definidos com base nos seus requisitos diferenciais para fatores de transcrição durante o desenvolvimento, seus padrões de expressão de citocinas efetoras e a aquisição de outras funções efetoras distintas e, surpreendentemente, exibem notável semelhança funcional com os subconjuntos de células T auxiliares (T_H , do inglês *T helper cells*) clássicas (T_H1 , T_H2 e T_H17 , respectivamente) em termos de expressão de citocinas e potencial função efetora, embora as ILC desempenhem suas diversas funções na ausência de especificidade antigênica (MONTALBAN-ARQUES *et al.*, 2018).

Figura 9 – Células Linfoides Inatas



Fonte: Elaborado pela autora

As ILC1 são dependentes do fator de transcrição T-box (T-bet em camundongos), são capazes de produzir IFN- γ e TNF- α , associados a T_H1 , e foram implicadas na imunidade a bactérias intracelulares e parasitas, tendo sido relacionadas à DC. Em contraste, as ILC2, que têm expressão do fator de transcrição GATA3, produzem citocinas associadas a T_H2 (incluindo IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13) e promovem a inflamação do tipo 2, necessária para a imunidade anti-helmíntica, inflamação alérgica, reparo tecidual e homeostase metabólica, promovendo sensibilidade à insulina, sendo relacionada à RCU. Finalmente, dependendo do estímulo, as ILC3, cujo fator de transcrição específico da linhagem é ROR γ t, produzem IL-17A, IL-17F, IL-22, GM-CSF e TNF- α , associadas a T_H17 , e podem promover imunidade antibacteriana, inflamação crônica ou reparação tecidual (MONTALBAN-ARQUES *et al.*, 2018).

Abreviações: DC: doença de Crohn, GM-CSF: fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos, IFN- γ : interferon gama, ILC: células linfoides inatas, GATA: fator de transcrição, IL: interleucina, NK: *natural killer*, RCU: retocolite ulcerativa, ROR γ t: fator de transcrição do

receptor órfão relacionado ao ácido retinoico, T-box: fator de transcrição T-box, T_H: T auxiliar, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, TSLP: linfopietina do estroma tímico.

Além de sua capacidade de promover a homeostase dos tecidos, as ILC podem também promover inflamação em superfícies mucosas e de barreira. Nesse contexto, a ativação crônica das ILC pode contribuir para a patologia em uma vasta gama de distúrbios inflamatórios como a DC (EBERL *et al.*, 2015).

2.7.1.3 Células Apresentadoras de Antígenos

As Células Apresentadoras de Antígenos (APCs, do inglês *antigen-presenting cells*) são compostas por CDs, macrófagos e células B. As APCs detectam os antígenos via receptores intracelulares de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês *Intracellular Pathogen-Recognition Receptor*) e são importantes no início e na modulação de respostas mediadas por células T. Na saúde, essas células normalmente existem em um estado tolerogênico e são cruciais para manter a homeostase (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

A função primária das CDs intestinais é a amostra de antígenos do lúmen intestinal. As CDs intestinais transportam esses antígenos para o tecido linfoide secundário, como os linfonodos mesentéricos e as placas de Peyer, para gerar respostas de células T específicas para o antígeno. Os macrófagos intestinais residem na lâmina própria e apresentam antígenos para as células T *in situ*. As células B têm uma infinidade de funções, incluindo a produção de anticorpos, a apresentação de antígenos e a geração de citocinas (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

2.7.1.4 Reconhecimento de Patógenos

Quando agentes infecciosos ultrapassam as barreiras epiteliais alcançando os tecidos subjacentes, entram em contato com populações de células da imunidade inata, como os macrófagos e as CDs residentes. A interação dessas células com os agentes infecciosos ocorre por intermédio dos PRRs que, por sua vez, reconhecem os padrões

moleculares associados aos patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*) (LIU; CAO, 2016). PAMPs são estruturas comumente encontradas na superfície de microrganismos, conservadas evolutivamente e essenciais para sua sobrevivência, tornando-os excelentes alvos para o reconhecimento porque não mudam (DAVIES; ABREU, 2015). Moléculas tais como lipopolissacáride (bactérias Gram negativas), peptidoglicano (bactérias Gram positivas), flagelina (componente do flagelo bacteriano), zimosan (componente da parede celular de fungos), ácido ribonucleico de dupla fita, (dsRNA, do inglês, do inglês *double - stranded ribonucleic acid*), e todas as estruturas de DNA, comumente encontrados na superfície de microorganismos, constituem os PAMPs e ativam a resposta imune inata (DAVIES; ABREU, 2015).

Os PRRs podem ser encontrados em diferentes populações celulares e estar presentes tanto na membrana plasmática ou endossomal, quanto no citoplasma. Quando ocorre a interação PAMP-PRR, há liberação de sinais intracelulares que culminam na indução da transcrição de genes importantes para a ativação celular ou a indução da fagocitose, liberação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do sistema complemento, bem como síntese de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas. Diferentes PRRs são expressos numa mesma célula, o que faz com que ela tenha capacidade de reconhecer várias classes de microrganismos (PELKA; De NARDO, 2018). Os PRRs permitem que o sistema imune distinga o “próprio” do “não próprio”, ativando e iniciando a imunidade adaptativa. Assim, os macrófagos são ativados para capturar os microrganismos e as CDs imaturas são provocadas para ativar os LT virgens. Esses receptores formam a interface entre a microbiota e o sistema imunológico (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

Os TLRs (receptores semelhantes ao Toll, do inglês *Toll-like receptors*) são PRRs não clonais, codificados pela linhagem germinativa, que fornecem especificidade contra uma ampla gama de patógenos microbianos (HUANG; CHEN, 2016). Dez tipos de TLRs foram encontrados em humanos. Destes, os TLRs 2, 3, 4 e 5 têm um papel importante no intestino (PELKA; De NARDO, 2018). Os receptores semelhantes a NOD (NLRs, do inglês *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*) funcionam como PRRs intracelulares e sua ativação é dependente da ativação inicial do TLR. Três mutações principais do gene NOD2 foram associadas à DC, particularmente à DC ileal (GEREMIA *et al.*, 2014).

Os inflamassomas são complexos multimoleculares que iniciam respostas imunes inatas em resposta a estímulos endógenos e microbianos para combater distúrbios na homeostase celular. Regulam enzimas que geram sinais de citocinas, iniciando a piroptose, uma forma de morte celular com características de apoptose clássica (ativação de caspases) e necrose, protegendo a integridade celular e controlando as interações entre o hospedeiro e a microbiota (DAVIES; ABREU, 2015). Micro RNAs (miRNAs) são RNAs de cadeia curta, simples, não-codificantes, que exercem importantes funções regulatórias na expressão gênica, silenciando genes através da degradação de RNAs alvo ou inibição da tradução, podendo estar envolvidos na patogênese da DII (PARK *et al.*, 2017).

A inflamação, especialmente quando crônica e grave como observada na DII, leva a danos teciduais e várias formas de morte celular (apoptose, necrose, necroptose e piroptose) com a liberação de múltiplos produtos citosólicos e nucleares com propriedades proinflamatórias intrínsecas. Esses produtos são agrupados sob a denominação de DAMPs (também chamados de alarminas), e se ligam ao TLR1, assim como a outros receptores. Os DAMPs causam inflamação em seu próprio direito e, independentemente de PAMPs, pela indução da chamada inflamação estéril (PARK *et al.*, 2017). Curiosamente, a calprotectina fecal, o marcador de atividade clínica da DII mais frequentemente utilizado e sensível, é um complexo de dois DAMPs prototípicos (PARK *et al.*, 2017).

2.7.1.5 Mediadores Solúveis da Resposta Inflamatória

Os mediadores da resposta inflamatória são variados e derivam de precursores plasmáticos e celulares, podendo ser classificados de acordo com suas propriedades bioquímicas em: aminas vasoativas, peptídeos vasoativos, produtos de clivagem do sistema complemento, mediadores lipídicos, citocinas, quimiocinas e enzimas proteolíticas (CRUVINEL *et al.*, 2010).

2.7.1.5.1 Citocinas

As citocinas têm como função regular a duração e a intensidade das respostas específicas; bem como recrutar células efetoras para as áreas onde se desenvolvem as respostas e induzir a geração e maturação de novas células a partir de precursores. As citocinas são produzidas durante as fases de ativação e efetora da imunidade para mediar e regular a resposta inflamatória e imunitária, tanto na saúde quanto na doença. Quando um antígeno é detectado, células do sistema imunológico como os monócitos, macrófagos e linfócitos produzem citocinas, que têm uma vida média curta e só estimulam as células com receptores específicos na membrana da célula alvo, além de apresentar uma ação extremamente potente (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).

São moléculas pleiotrópicas, podendo atuar sobre muitos tipos celulares diferentes. São também redundantes, ou seja, várias citocinas podem efetuar as mesmas ações. As citocinas podem induzir efeitos diferentes sobre as mesmas células alvo de forma separada no tempo ou simultaneamente. A listagem de "proinflamatórias" e "anti-inflamatórias" é útil, mas não inteiramente direta, dado que a mesma citocina pode ter efeitos divergentes sobre uma função imune específica, dependendo do contexto analisado. Podem também influir na ação de outras citocinas de forma antagônica ou sinérgica. As diferentes citocinas podem ser enquadradas em diversas categorias, como interferons (IFN), interleucinas (IL), fator estimulador de colônias (CSF, inglês *Colony-Stimulating Factor*), fator de necrose tumoral (TNF, do inglês *tumor necrosis factor*), e fator transformador de crescimento (TGF, *transforming growth factor*) (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).

A IL-10 é uma citocina imunossupressora típica que pode ter valor terapêutico para o tratamento da DII crônica. Embora a IL-10 seja uma citocina anti-inflamatória, existem inconsistências sobre suas concentrações na DII. Um estudo mostrou que os níveis de expressão da IL-10 no intestino eram iguais ou mais altos, em pacientes com DII do que em controles normais. Está bem documentado que a expressão do gene da IL-10 é maior nas células T da mucosa de pacientes com RCU do que nos controles normais. Além disso, os níveis séricos de IL-10 estão aumentados nos pacientes com DC. Também está bem documentado que a regulação negativa da IL-10 promove a progressão da doença em pacientes com DC (GUAN; ZHANG, 2017). O TGF- β tem atividades duais

na patogênese da DII. Estimula a compensação epitelial e a fibrose e induz tolerância e homeostase através de sua função imunorreguladora (GUAN; ZHANG, 2017).

Fator de Necrose Tumoral (TNF)

O TNF é uma citocina pleiotrópica, produzida por monócitos, macrófagos e linfócitos T, que desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase intestinal. Acredita-se que exerça funções centrais durante condições fisiológicas e fisiopatológicas no intestino. Inicialmente, é produzido como uma proteína transmembrana (tmTNF), que pode ser clivada pela enzima conversora de TNF- α (TACE, do inglês *TNF- α converting enzyme*), transformando-se em sua forma solúvel, o sTNF. O TNF- α tem uma função significativa na patogênese da DII, pois as expressões das IL-1 β , IL-6 e IL-33 podem ser aumentadas pela sua ação. Além disso, a gravidade clínica da RCU e da DC foi correlacionada com os níveis de TNF- α no soro de pacientes com DII (CHEN; SUNDRUD, 2016).

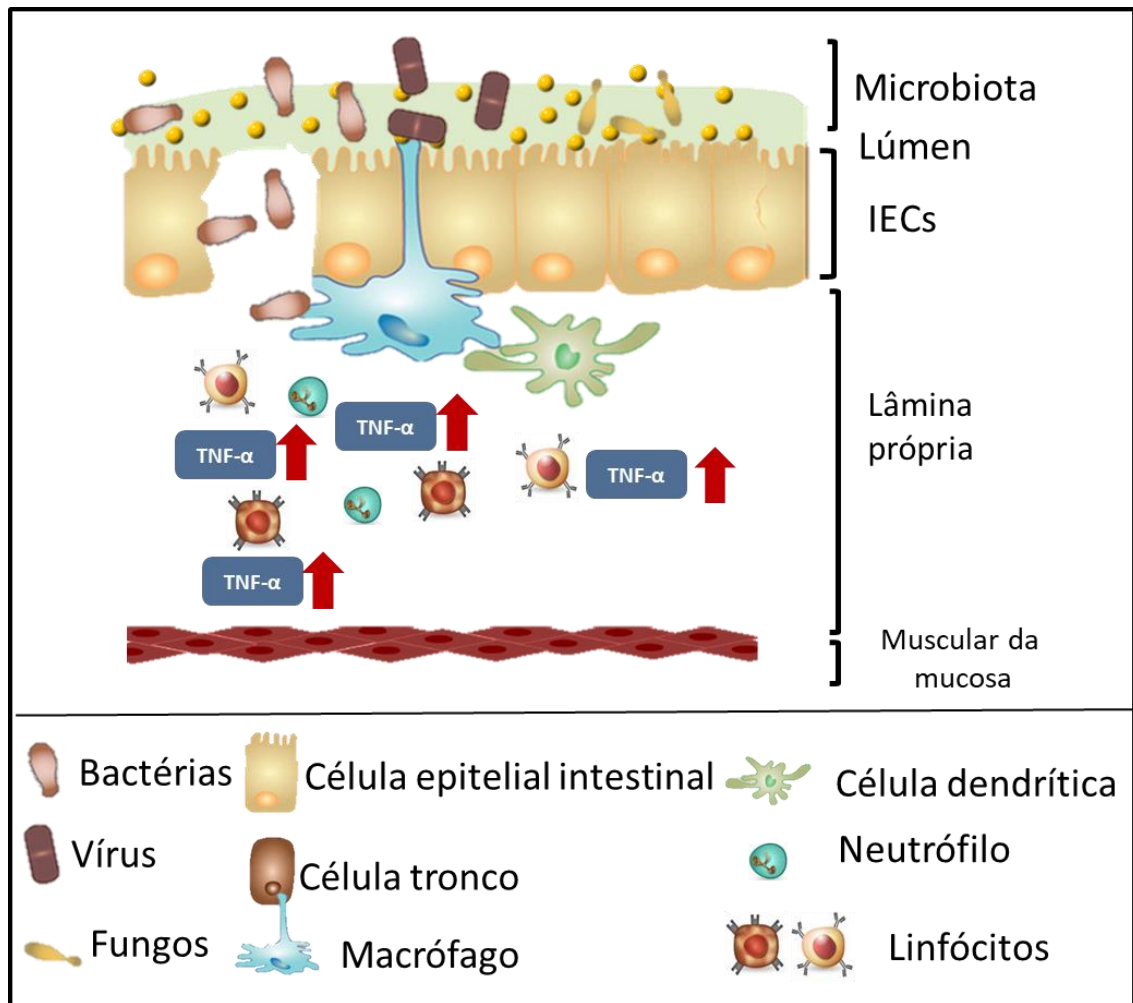
Tanto o sTNF- α quanto o tmTNF- α realizam suas funções através de dois receptores distintos, o TNFR1 e o TNFR2. Esses receptores são diferencialmente expressos em vários tipos de células, em tecidos saudáveis e doentes e, uma vez ativados, têm efeitos biológicos distintos. A ativação do TNFR1 pelo TNF induz uma cascata de sinalização intracelular com efeitos pleiotrópicos envolvendo apoptose, proliferação celular ou secreção de citocinas (SLEVIN; EGAN, 2015).

Para os efeitos biológicos do TNF- α é fundamental a ativação do fator de transcrição proinflamatório e antiapoptótico, NF- κ B (fator nuclear kappa B, do inglês *nuclear factor kappa B*). Na DII, há uma forte indução de NF- κ B no intestino inflamado, causando produção desregulada de citocinas e mecanismos de sinalização. Isso faz com que os macrófagos da mucosa tenham uma capacidade aumentada de produzir e secretar TNF- α , IL-1 e IL-6. O TNF- α , portanto, é uma citocina pleiotrópica potente, que é capaz de regular a sobrevivência celular mediada pelo NF- κ B, mas também a morte celular, independente e dependente de caspases, através de dois receptores diferentes e várias vias e complexos proteicos (SLEVIN; EGAN, 2015).

Em condições de homeostase, durante a renovação do epitélio intestinal, as IECs são derramadas no lúmen, na ponta da vilosidade. Historicamente, o desprendimento de IECs foi considerado um efeito passivo, onde IECs envelhecidas simplesmente caem da ponta da vilosidade. No entanto, vários estudos recentes mostraram que esse processo de

eliminação epitelial é regulado por complexos de proteína de junção, que rapidamente fecham as lacunas entre os enterócitos, durante o derramamento fisiológico, para preservar a integridade da barreira epitelial intestinal. Curiosamente, níveis elevados de TNF- α mostraram dirigir excreção maciça de IECs na ponta das vilosidades e alterar a biologia da junção estreita e a permeabilidade intestinal. A desregulação das IECs e a biologia da junção estreita alterada são características que também são vistas nos pacientes com DII. Este fenótipo é mediado pela sinalização do TNFR1, mostrando que níveis aumentados de TNF- α podem induzir ou contribuir para defeitos de barreira, devido ao aumento da apoptose, que constitui um ponto de entrada para invasão de bactérias prejudiciais no tecido intestinal, desencadeando ou perpetuando a inflamação. Em conjunto, estes estudos mostram que o TNF- α pode desempenhar um papel importante na regulação da morte celular por apoptose, sendo assim, uma regulação rigorosa do TNF- α é importante para manter a integridade da barreira epitelial (Figura 10) (BILLMEIER *et al.*, 2016).

Figura 10 – Regulação da Morte Celular Epitelial pelo TNF- α



Adaptado de RUDER, ATREYA, BECKER, 2019

Fonte: Elaborado pela autora

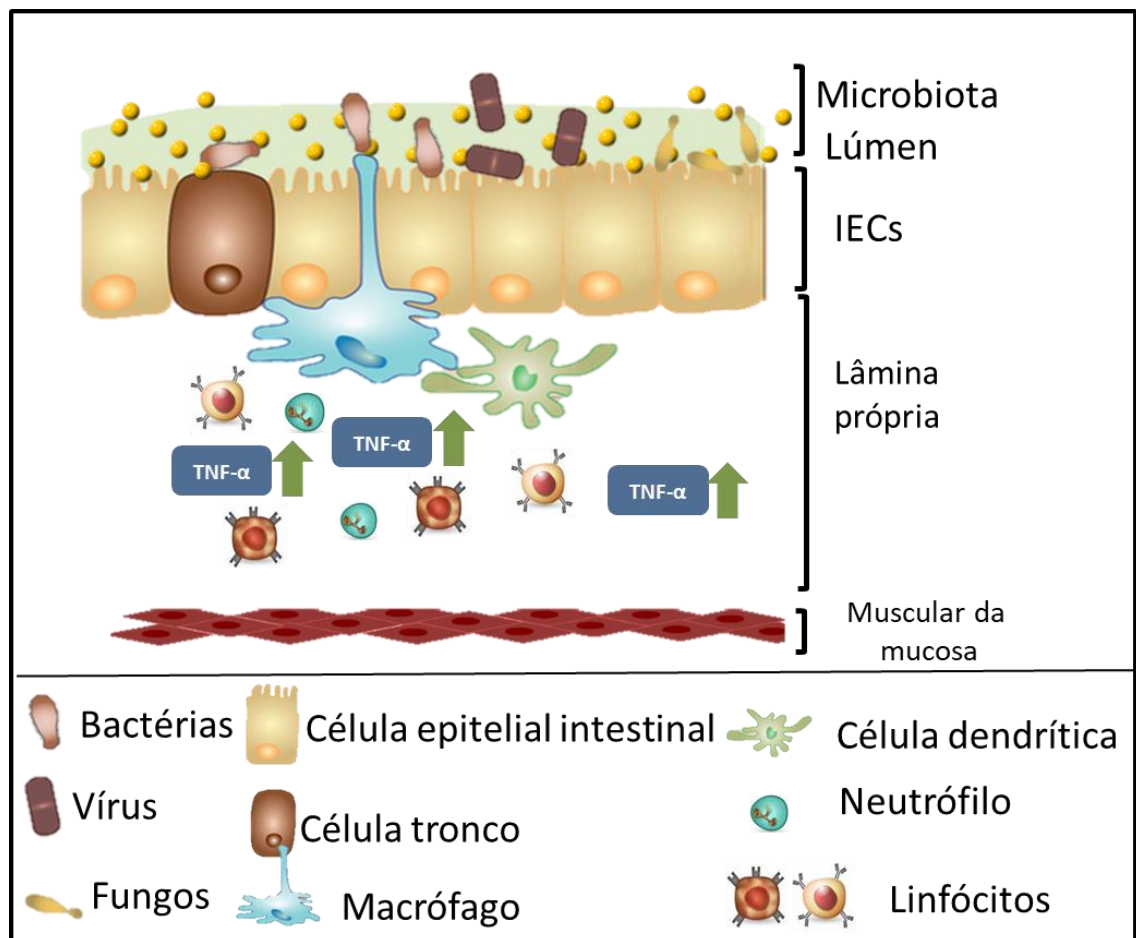
O aumento dos níveis de TNF- α pode desencadear a morte de células epiteliais intestinais, o que potencialmente leva a defeitos de barreira e invasão de patógenos nocivos. No total, isso pode desencadear ou perpetuar o desenvolvimento da inflamação intestinal.

Abreviações: TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Além da liberação de IECs e da regulação da morte celular, a sinalização mediada por TNF- α também desempenha um papel importante na manutenção da barreira epitelial colônica e na cicatrização de feridas. Após a ruptura do epitélio da superfície intestinal, durante a restituição epitelial, as IECs próximas à lesão formam estruturas semelhantes à pseudópodes, migram para a borda da ferida e cobrem a área destruída. Depois, as células-tronco epiteliais na base da cripta proliferam para compensar as células perdidas durante a lesão. Para reconstruir uma camada de células funcionais no local lesado do epitélio, essas células recém-geradas finalmente amadurecem e diferenciam-se nos diferentes tipos

de células do epitélio. Em um modelo murino de fechamento de feridas, baixas quantidades de TNF- α promoveram o fechamento da ferida, enquanto uma dose maior não conseguiu fazê-lo. Coletivamente, estes estudos demonstram que a sinalização do TNF- α desempenha um papel importante na promoção da migração de IECs e reparação da mucosa durante a inflamação intestinal (Figura 11) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 11 – Regulação da Sobrevivência e Proliferação Epitelial pelo TNF- α .



Adaptado de RUDER, ATREYA, BECKER, 2019

Fonte: Elaborado pela autora

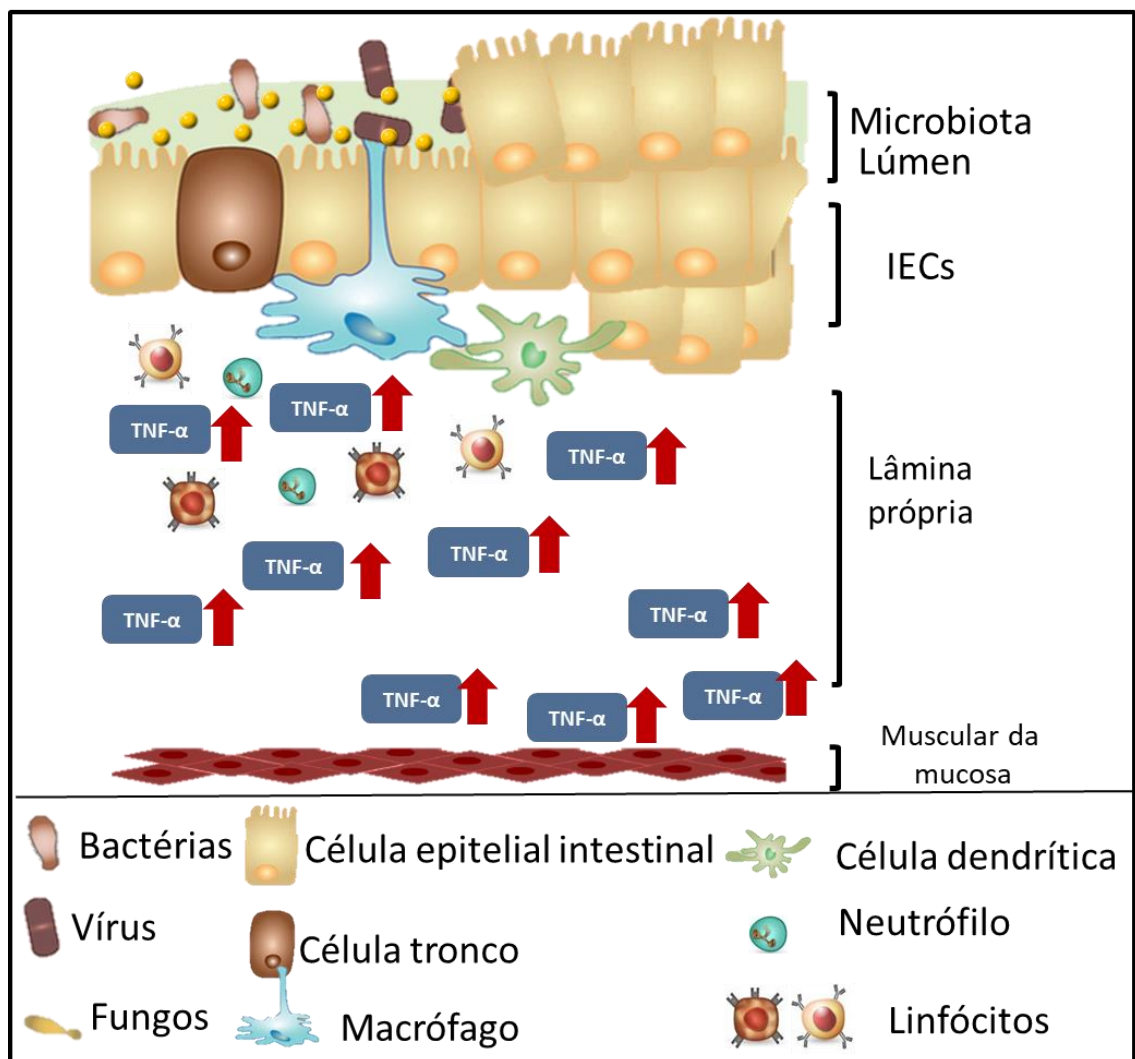
O aumento dos níveis de TNF- α no intestino pode impulsionar a sobrevivência e a proliferação das células epiteliais intestinais, levando a uma melhor cicatrização e reparo da mucosa após lesão ou durante a colite crônica.

Abreviações: TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Curiosamente, o TNF- α foi inicialmente descrito como um fator liberado pelas células do hospedeiro para induzir necrose tumoral, regulando o desenvolvimento e o crescimento tumorais. Como mencionado acima, o TNF- α em doses baixas mostrou

induzir a proliferação de IECs, enquanto que, em doses mais altas, a proliferação de IECs foi inibida, implicando que, altas doses de TNF- α contrabalançam os efeitos proliferativos. No entanto, surpreendentemente, em um estudo transversal de colonoscopia, os níveis circulantes de TNF- α foram positivamente correlacionados com a ocorrência de adenomas colorretais. Além disso, níveis séricos de TNF- α , significativamente aumentados, foram observados em pacientes com câncer colorretal (CCR), sendo a expressão do gene *Tnfa* significativamente maior, em comparação com os tecidos colorretais normais adjacentes. Além disso, pacientes com baixos níveis de TNF- α sérico foram caracterizados por uma maior taxa de sobrevida, em comparação com pacientes com níveis elevados de TNF- α no sangue (Figura 12) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 12 – Regulação do Desenvolvimento de Tumores pelo TNF- α



Adaptado de RUDER, ATREYA, BECKER, 2019

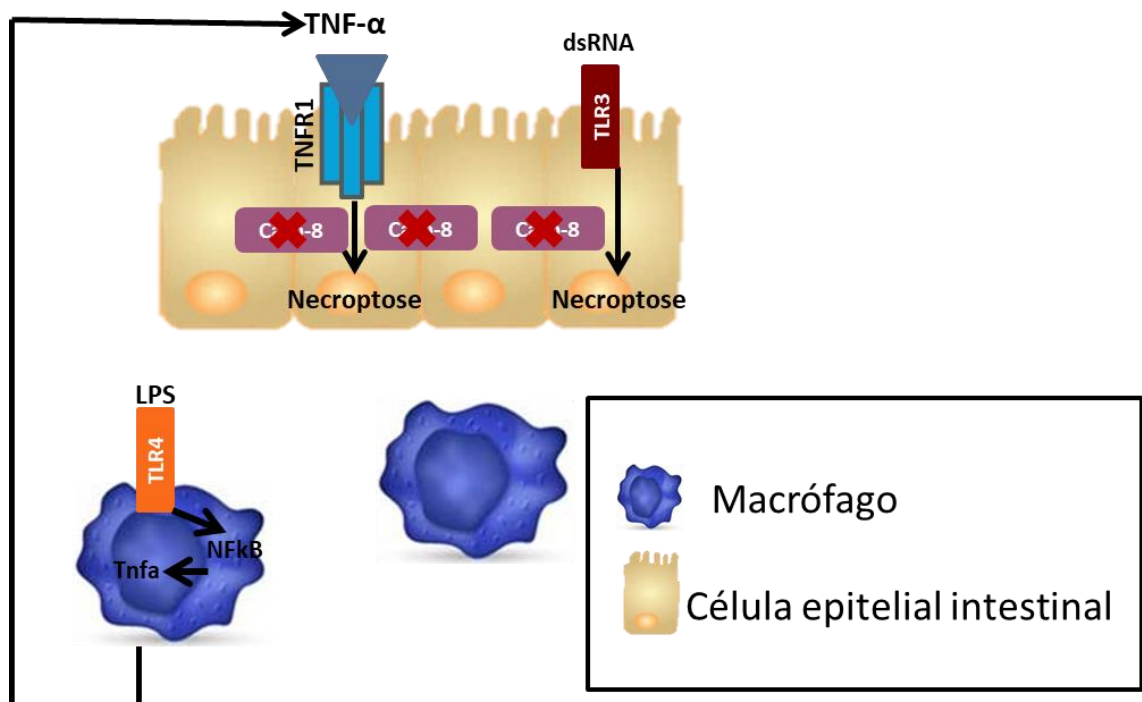
Fonte: Elaborado pela autora

Apesar de sua descoberta como fator de necrose tumoral, a sinalização elevada do TNF- α pode exercer funções bastante prejudiciais durante o desenvolvimento do CCR e do CCR associado à colite.

Abreviações: TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Durante a infecção bacteriana, o aumento da sinalização do TNF- α pode exercer funções prejudiciais nas IECs. Como resposta à infecção, o hospedeiro pode ativar programas de morte celular para limitar a disseminação de novos patógenos. Muitos patógenos também, evolutivamente, neutralizam essa indução da morte da célula hospedeira pela expressão de inibidores da apoptose (Figura 13) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 13 – Regulação da Infecção Gastrointestinal pelo TNF- α



Adaptado de RUDER; ATREYA; BECKER, 2019

Fonte: Elaborado pela autora

O bloqueio da apoptose por proteínas virais pode levar à indução de morte celular necroptótica, independente de caspase. A administração de lipopolissacáride pode ativar a sinalização de TLR4 em células imunitárias, para induzir NF- κ B e, subsequentemente, a expressão gênica do *Tnfa*, que, por sua vez, medeia a morte celular epitelial dirigida por TNFR1. O dsRNA pode se ligar diretamente ao TLR3 nas células epiteliais intestinais para desencadear a morte celular, independentemente da sinalização do TNFR1.

Abreviações: dsRNA: ácido ribonucleico de dupla fita, LPS: lipopolissacáride, NF κ B: fator nuclear kappa B, TLR: *toll-like receptors*, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, TNFR1: receptor 1 do TNF.

Interleucina 17

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória que estimula uma forte resposta inflamatória imune crônica. Assim, a IL-17 é crítica na patogênese da DII. De fato, os níveis de miRNA da IL-17 estão aumentados na mucosa inflamada de pacientes com DII, tanto na RCU quanto na DC. A IL-17 tem muitas isoformas, incluindo a IL-17A (também conhecida como IL-17), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (também conhecida como IL-25) e IL-17F. Embora a inibição da IL-17A possa atenuar a resposta inflamatória, ainda é controverso se ela tem mesmo um papel patogênico na DII. (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).

Nas IECs, a sinalização da IL-17 promove a defesa do hospedeiro contra patógenos extracelulares, induzindo inflamação. Porém, em muitos estudos, a IL-17 desempenha papel protetor. Recentemente, estudos mostraram que a produção aguda de IL-17 pelas células $T\gamma\delta$ é necessária para o correto funcionamento das junções estreitas das IECs e para a integridade da barreira mucosa. Além disso, a IL-17 mostrou sinergismo com o fator de crescimento de fibroblastos para estimular o reparo em um modelo de colite por dano tecidual em ratos (FRAGOULIS; SIEBERT; MCINNES, 2016).

Essas funções de barreira e reparo da IL-17 no intestino podem explicar porque ensaios clínicos de um anticorpo anti-IL-17A (Secukinumabe) falharam na DC, apesar de mostrarem boa eficácia na psoríase, outra doença inflamatória crônica ligada à função T_H17 (*T helper 17*) (FRAGOULIS; SIEBERT; MCINNES, 2016). Esses resultados aparentemente paradoxais do Secukinumabe na psoríase e na DC podem ser explicados pela função diferencial que a IL-17A exerce no intestino e na pele. As células T_H17 não são a única linhagem celular imune que expressa a IL-17A; outros linfócitos (células $T\gamma\delta$) e tecidos linfoides (ILC3) estão presentes nas barreiras mucosa e expressam IL-17A, IL-17F e IL-22, sendo que, as respostas funcionais das IECs e dos queratinócitos da pele à sinalização da IL-17A precisam ser consideradas. Nos queratinócitos, a IL-17A é sinérgica com o TNF- α para direcionar respostas pró-inflamatórias. Em contraste, nas IECs, a IL-17A promove a expressão de genes envolvidos na formação das junções apertadas. Portanto, embora a IL-17 tenha potencial para causar inflamação crônica prejudicial, também é essencial para o controle da microbiota comensal e patogênica, sendo a interação entre a inflamação e a proteção uma linha tênue (CHEN; SUNDRUD, 2016).

Interleucina 6

A IL-6 é uma citocina liberada por macrófagos e células T, além de várias outras células. Apresenta múltiplas funções, sendo caracterizada como uma citocina pleiotrópica. Pesquisas sugerem que, após a atividade física, a IL-6, uma citocina proinflamatória e miocina anti-inflamatória, apresenta um aumento sérico de até 100 vezes, quando comparada à linha de base (MONTEIRO JUNIOR *et al.*, 2017). É importante notar que essa elevação ocorre sem sinais de lesão muscular, e não é precedida pela produção de TNF- α , como comumente ocorre em condições inflamatórias. Agindo como uma miocina, a IL-6 induz a liberação do antagonista do receptor da IL-1 (IL-1RA) e da IL-10. Tal ajuste, cronicamente, constitui um componente anti-inflamatório e uma resposta ao aumento da IL-6 circulante, induzida pelo exercício. Atuando como uma citocina proinflamatória, a IL-6 promove a proliferação e ativação de células T e a diferenciação de células B em células plasmáticas produtoras de anticorpos (PAL; FEBBRAIO; WHITHAM, 2014).

Diversos estudos revelaram que, em resposta às contrações musculares, tanto as fibras musculares do tipo I, quanto do tipo II, expressam a miocina IL-6, que subsequentemente exerce seus efeitos, tanto localmente dentro do músculo, quanto em vários órgãos de maneira semelhante à hormonal. Até recentemente, era aceito que o aumento observado no nível de IL-6 durante o exercício era uma consequência da resposta imune ao dano local. Hoje, sabe-se que o músculo é único em sua capacidade de produzir IL-6 durante a contração, de um modo completamente independente do TGF β , o que sugere um envolvimento maior dessa citocina na regulação do metabolismo, não sendo considerado, na forma de miocina IL-6, um mediador inflamatório (BILSKI *et al.*, 2013).

Além do efeito local, a IL-6 pode exercer a oxidação da gordura, aumentar a captação de glicose, estimulada pela insulina, e mediar um *crosstalk* entre órgãos, como o fígado, pâncreas e tecido adiposo. Sendo assim, os músculos sintetizam e liberam miocinas que podem neutralizar os efeitos nocivos das adipocinas proinflamatórias (LEAL; LOPES; BATISTA JR, 2018). A IL-6 tem uma importante função na resposta inflamatória, estando aumentada em pacientes com RCU e DC, além de exercer papel fundamental na patogênese da RCU e na carcinogênese dos CCRs relacionados à RCU (GUAN, ZHANG, 2017).

Interferon gama

O IFN- γ , secretado pelas células T_{H1} e pelas células NK, é uma importante citocina inflamatória, que ativa uma ampla gama de células imunocompetentes, incluindo macrófagos, linfócitos e células endoteliais. O IFN- γ também promove a apresentação de antígenos por macrófagos, faz com que as IECs expressem moléculas do MHC classe II, promove adesão e ligação necessárias para a migração de leucócitos e a atividade das células NK. Além disso, o IFN- γ age diminuindo a função da barreira epitelial, suprimindo a atividade das células T_{H2}. Em vários modelos de colite experimental, mediados por T_{H1}, os níveis de IFN- γ na mucosa estão aumentados. Na DC humana, também foram encontrados níveis aumentados de IFN- γ na mucosa inflamada. Portanto, drogas direcionadas ao IFN- γ podem ser eficazes para pacientes com DC. O fontolizumabe é um anticorpo monoclonal IgG1 humanizado recombinante contra o IFN- γ , liga-se ao IFN- γ humano natural e interrompe a cascata de citocinas. Vários estudos que avaliaram os efeitos do fontolizumabe em pacientes com DC mostraram resultados inconsistentes (CAPOBIANCHI *et al.*, 2015).

2.7.1.5.2 Quimiocinas

As quimiocinas constituem uma grande família de citocinas estruturalmente homólogas, responsáveis pela orquestração e movimentação dos leucócitos, inclusive sua migração para locais de inflamação tecidual a partir do sangue, contribuindo tanto para o desenvolvimento da homeostase quanto da inflamação. As quimiocinas não só guiam as células efetoras do sistema imune até os sítios inflamatórios ou de infecção, como também coordenam a interação entre suas diferentes células. Para isso, promovem a interação entre os sistemas imunes, inato e adaptativo, modulando e promovendo o contexto necessário para o desenvolvimento da resposta imune adaptativa (SOKOL; LUSTER, 2015).

Cerca de 50 quimiocinas diferentes já foram identificadas, sendo classificadas em famílias pelo número e a localização dos resíduos de cisteína N-terminais. Os receptores de quimiocinas são expressos em leucócitos, CDs e células de Langherans. A maior variedade de receptores é observada nos LT e sua expressão pode definir o padrão migratório e até mesmo facilitar a identificação de certos subtipos de LT. São

classificadas de acordo com o tipo de quimiocina em 4 grupos: XCR, CCR, CXCR e CX3CR (SORIANI *et al.*, 2018). A ligação quimiocina-receptor inicia uma complexa cascata de sinalização que gera respostas quimiotáticas, degranulação, liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive Oxygen species*) e alteração na afinidade das integrinas presentes na superfície celular (SOKOL; LUSTER, 2015).

É bem conhecido que a produção de IL-8, um quimioatratante de neutrófilos que induz sua migração do sangue periférico para o tecido inflamado, está aumentada no tecido de pacientes com RCU. Além disso, outras quimiocinas estão elevadas e são reguladas positivamente na mucosa de pacientes com DII (SORIANI *et al.*, 2018).

2.7.2 Respostas Imunes Adaptativas

Em contraposição à resposta inata, a resposta imune adaptativa depende da ativação de células especializadas, os linfócitos, e da subsequente ativação e expansão clonal dessas células, carregando os receptores antígeno-específicos. As principais características da resposta adquirida são: especificidade e diversidade de reconhecimento, memória, especialização de resposta, autolimitação e tolerância aos componentes do próprio organismo (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

Os linfócitos são os componentes celulares mais importantes do sistema imune adaptativo, não apresentando atividade funcional até que encontrem seu antígeno específico. Os linfócitos que ainda não foram ativados pelo antígeno são conhecidos como linfócitos virgens. Os linfócitos, que já encontraram seu antígeno, tornam-se ativados, e diferenciam-se em linfócitos totalmente funcionais, conhecidos como linfócitos efetores. Classificam-se em linfócitos T (LT), com base na maturação no timo, ou em linfócitos B (LB), pela capacidade de produzir anticorpos solúveis altamente específicos. Podem, ainda, ser subdivididos em subgrupos baseados nos marcadores de superfície e em sua função. Os LB são os anticorpos da resposta imune humoral, e também tem a função de APCs para os LT auxiliares (NICHOLSON, 2016).

Este último grupo, os LT, podem ser considerados os orquestradores da resposta específica, e tem a missão de secretar as várias citocinas e moléculas solúveis da resposta imune. A DII é fortemente mediada por LT e, anormalmente, essas células T ativadas

levam à inflamação através da liberação excessiva de citocinas e quimiocinas, que têm efeitos adicionais no sistema imune inato e adaptativo (KENNEDY, 2010).

2.7.2.1 Linfócitos B

Os LB são responsáveis pela imunidade humoral que se caracteriza pela produção e liberação de anticorpos capazes de neutralizar, ou até mesmo destruir, os antígenos contra os quais foram gerados. Também, tem sido destacado, o potencial dos LB em desempenhar suas funções após ativação de outros receptores relacionados à imunidade inata, tais como os TLRs (DAVIES, ABREU, 2015).

O primeiro contato com um antígeno, por exposição natural ou vacinação, leva à ativação de LB virgens, que se diferenciam em plasmócitos produtores de anticorpos específicos contra o antígeno indutor. Após o início da resposta, observa-se uma fase de aumento exponencial dos níveis de anticorpos, seguida por uma fase denominada platô, na qual os níveis não se alteram. Segue-se a última fase da resposta primária, a fase de declínio, na qual ocorre uma diminuição progressiva dos anticorpos específicos circulantes. Ao entrar em contato com o antígeno pela segunda vez, já existe uma população de LB capazes de reconhecer esses antígenos devido à expansão clonal e células de memória geradas na resposta primária (CRUVINEL *et al.*, 2010).

A resposta secundária difere da primária nos seguintes aspectos: a dose de antígeno necessária para induzir a resposta é menor; a fase de latência é mais curta e a fase exponencial é mais acentuada; a produção de anticorpos é mais rápida e são atingidos níveis mais elevados; a fase de platô é alcançada mais rapidamente e é mais duradoura e a fase de declínio é mais lenta e persistente. Nos dois tipos de resposta, primária e secundária, há a produção dos isotipos IgM e IgG, porém, na resposta primária, a IgM é a principal imunoglobulina, e a produção de IgG é menor e mais tardia. Na resposta secundária, a IgG é a imunoglobulina predominante. Nas duas respostas, a concentração de IgM sérica diminui rapidamente, de maneira que, após uma ou duas semanas, observa-se queda acentuada, enquanto a produção de IgG é persistente (NICHOLSON, 2016).

Uma ativação geral da resposta imune humoral é encontrada, tanto na DC, como na RCU, manifestada por várias alterações na produção de subclasses de

imunoglobulinas. Um autoantígeno do epitélio colônico humano reconhecido por anticorpos IgG ligados ao tecido na RCU, mas não na DC, tem sido descrito. Curiosamente, este autoantígeno também está presente na pele, nos ductos biliares, nos olhos e nas articulações; locais típicos das manifestações extraintestinais da RCU, sugerindo que uma resposta imune mediada por anticorpos poderia ser responsável, tanto pela patologia intestinal, como extraintestinal, em pacientes com RCU. A importância dessas observações ainda não está clara, além disso, faltam evidências de que fenômenos autoimunes clássicos estejam envolvidos na patogênese da DII (SOUZA; FIOCCHI, 2016).

Os anticorpos citoplasmáticos antineutrófilos (p-ANCA) estão presentes no soro de pacientes com RCU, com prevalência variando de 50 a 90%; sendo usados, na prática clínica como marcadores não invasivos da doença. Os pacientes com DC têm uma propensão distinta para desenvolver anticorpos contra uma variedade de antígenos microbianos. Tais anticorpos séricos são dirigidos contra o fungo *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), o antígeno bacteriano flagelina (CBir1), a proteína C37 da membrana externa da *Escherichia coli* e contra glicanos, componente de algumas células e microrganismos. De maneira análoga ao p-ANCA na RCU, o ASCA é usado como marcador da DC. Até agora, nenhum dos anticorpos descritos na DC ou na RCU demonstrou ter potencial patogênico, mas estudos da resposta imune humoral produziram duas preciosas informações: a primeira é mostrar que, quanto mais numerosos e quanto mais altos os títulos dos anticorpos antibacterianos, mais grave é o curso clínico; o segundo é para apoiar ainda mais a noção de que os antígenos microbianos estão envolvidos na patogênese da DII. Entretanto, os estudos realizados até o momento mostram que a DC resulta principalmente de inflamação crônica de LT, especialmente células T CD4. Com base nos estudos conhecidos até o momento, como células mediadoras da imunidade humoral, os LB não participam da ocorrência e desenvolvimento da DC (SOUZA; FIOCCHI, 2016).

2.7.2.2 Linfócitos T

Embora as respostas humorais alteradas resultantes da ativação distorcida de LB na mucosa inflamada dos pacientes com DII tenham sido as primeiras descritas, as respostas celulares imunes desreguladas parecem ser, principalmente, responsáveis pelo

início e desenvolvimento da inflamação na lâmina própria do intestino. Essas respostas celulares adaptativas envolvem a ativação de células T auxiliares (T_H , do inglês *helper T cells*) e supressão da atividade de células T reguladoras (T_{reg}) e, as interações entre estes e outros tipos de células, presentes na mucosa inflamada, são mediadas pela ação de várias citocinas produzidas localmente (SOUZA; FIOCCHI, 2016).

As células pré-T entram no córtex tímico pelas artérias e, durante o processo de seleção e maturação, migram em direção à medula óssea, de onde saem para a circulação. O processo de maturação dos LT envolve a expressão de um receptor de células T funcional, o TCR (receptor de antígenos de células T, do inglês *T-cell receptor*) e dos correceptores CD4 e/ou CD8 (KENNEDY, 2010). Os LT só reconhecem antígenos processados, apresentados por moléculas MHC na superfície de uma APC. A apresentação de antígenos aos LT inicia-se com o processamento antigênico pelas APCs. O processamento consiste na captura do antígeno, sua degradação proteolítica a fragmentos menores, transporte e acomodação dos peptídeos antigênicos na fenda das moléculas do MHC e, finalmente, transposição do complexo MHC-peptídeo para a superfície celular, para reconhecimento pelo TCR. Os LT reconhecem o complexo MHC-peptídeo via TCR, independente do compartimento celular onde esse antígeno foi captado. Normalmente os antígenos exógenos, fagocitados ou endocitados, são acomodados em moléculas MHC classe II, que interagem com o TCR e o correceptor CD4 na superfície celular do LT (figura 12) (BEDOYA *et al.*, 2013).

As respostas imunes adaptativas são iniciadas quando os antígenos ou as APCs, principalmente as CDs portadoras de antígenos capturados nos locais de infecção, atingem os órgãos linfoides secundários. Como os neutrófilos e os macrófagos, as CDs têm PRRs que reconhecem os PAMPs comuns aos microrganismos. Os componentes microbianos ligam-se a esses receptores e estimulam as CDs imaturas a capturar os patógenos e degradá-los intracelularmente. As CDs imaturas também capturam material extracelular, incluindo partículas virais e bactérias, por meio de macropinocitose, independente de receptor, e assim internalizam e degradam os patógenos que seus receptores de superfície celular não detectaram. Além de apresentar os antígenos que ativam os receptores de antígeno dos linfócitos, as CDs maduras também expressam proteínas de superfície celular denominadas moléculas coestimuladoras, as quais fornecem os sinais que atuam juntamente com o antígeno para estimular a proliferação e

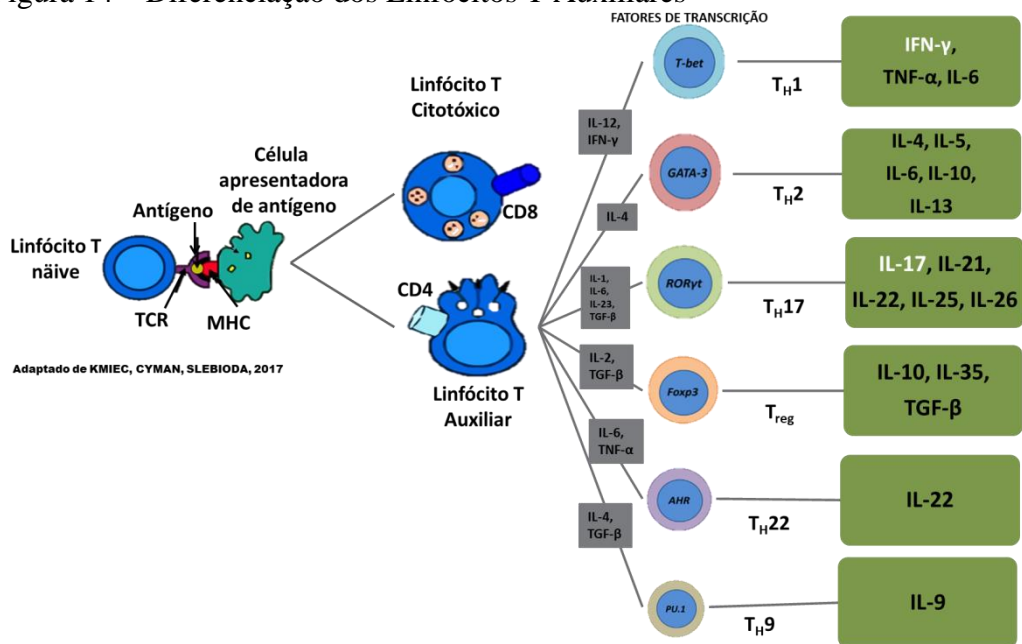
a diferenciação dos LT em sua forma final e plenamente funcional, os linfócitos efetores (Figura 12) (BEDOYA *et al.*, 2013).

Portanto, a ativação dos LT virgens é o primeiro estágio essencial de quase todas as respostas imunes adaptativas (INOUE *et al.*, 2018). Existem diversos subtipos de LT efetores. Classicamente os dois principais subtipos são os LT_H e os linfócitos T citotóxicos (LTC, do inglês *cytotoxic T cells*), que apresentam um receptor TCR e as moléculas correceptoras, CD4 ou CD8, respectivamente. Os LT CD4 ou LT_H são responsáveis por orquestrar outras células da resposta imune na erradicação de patógenos e também são muito importantes na ativação dos LB, macrófagos ou mesmo LT CD8 ou LTC. Os LTC estão envolvidos, principalmente, nas respostas antivirais e também possuem atividade antitumoral, sendo considerados os assassinos da resposta imune. Eles visam, especificamente, células que já foram alteradas, como por uma invasão microbiana, induzindo apoptose nas células alvo, removendo, assim, o fator microbiano (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

2.7.2.2.1 Linfócitos T Auxiliares

Os LT_H ainda podem ser subdivididos funcionalmente, baseado na direção de respostas das células T_H, após a estimulação antigênica. Sendo assim, durante o estímulo fornecido por uma APC, um LT_H precursor pode se tornar um linfócito T_H1, T_H2, T_H17, T_H9, T_H22, T_{FH} (LT foliculares) ou T reguladores (LT_{reg}) na dependência do ambiente de citocinas presente (Figura 14). Embora, morfológicamente indistinguíveis, essas células apresentam distintos padrões de citocinas secretadas e, conseqüentemente, diferentes respostas efetoras (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

Figura 14 – Diferenciação dos Linfócitos T Auxiliares



Fonte: Elaborado pela autora

a) O IFN- γ , secretado pelas APCs, atua na transdução do sinal da célula T_H virgem e no STAT1. O STAT1 transloca-se em núcleos para ativar o fator de transcrição específico da linhagem, T-bet, e estimula a diferenciação das células T_H virgens em células T_H1 . As células T_H1 secretam várias citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ . b) A IL-4, secretada por APCs, atua nos receptores de superfície dos LT_H virgens, ativando o STAT-6. O STAT-6 move-se para os núcleos para ativar um fator de ativação de transcrição específico, o GATA3, que induz a expressão e promove a transformação de LT_H virgens em células T_H2 . A IL-13, juntamente com o TNF- α , atua no receptor da IL-13 na superfície das células T_H2 , ativa o STAT6 e promove a proliferação de células T_H2 . c) A IL-23 atua nos receptores de IL-23, na superfície da célula T_H virgem e ativa a transdução do sinal citoplasmático e o fator de ativação STAT3 na presença de TGF- β , IL-6 ou IL-21 e na ausência de IL-4 e IL-12 (estas citocinas promovem respostas T_H2 ou T_H1 , respectivamente). O STAT3 transfere-se para o núcleo e ativa o fator de transcrição ROR γ t, resultando na diferenciação das células T_H virgens em células T_H17 . As células T_H17 produzem as citocinas IL-22, IL-26 e as citocinas da família IL-17. d) Os LT_{reg} secretam as citocinas inibidoras IL-10, IL-35 e TGF- β , inibindo outras células T_H , tais como T_H1 , T_H2 e T_H17 ; e a expressão do fator de transcrição FOXP3 é crítica para o desenvolvimento, compromisso de linhagem e funções regulatórias das T_{reg} . e) Os fatores de transcrição GATA3, IRF-4 e PU.1 são importantes para a expressão da IL-9 nas células T_H e para o desenvolvimento da linhagem T_H9 . f) O desenvolvimento das células T_H22 é promovido pela IL-6 e TNF- α , que induzem o STAT3 e o AHR. As células T_H22 secretam a citocina assinatura IL-22, IL-13, fator de crescimento de fibroblastos, quimiocinas e TNF- α .

Abreviações: AHR: receptor de hidrocarboneto de arilo, APCs: células apresentadoras de antígeno, FOXP3: fator de transcrição *forkhead box P3*, IFN- γ : interferon gama, IRF-4: fator regulador de IFN, GATA: fator de transcrição, IL: interleucina, MHC: complexo principal de histocompatibilidade, PU.1: fator de transcrição PU.1, ROR γ t: fator de transcrição do receptor órfão relacionado ao ácido retinoico, STAT: fatores transdutores de sinais e de ativação da transcrição, T-bet: fator de transcrição T-box em camundongos, TCR: receptor de célula T, TGF- β : fator de crescimento transformador beta, T_H : T auxiliar, TLR: *toll-like receptors*, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, T_{reg} : T reguladores.

As células T_H1 produzem grandes quantidades de IL-2, que induz a proliferação de LT (incluindo os próprios LT CD4 de maneira autócrina) e também induz a proliferação e aumenta a capacidade citotóxica dos LTC. O IFN- γ , uma citocina muito importante na ativação de macrófagos infectados com patógenos intracelulares, como micobactérias, protozoários e fungos, apresenta também um papel relevante na ativação dos LTC. Os pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*), em que o receptor de IFN- γ está ausente, sofrem infecções graves por micobactérias (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

Existe um ciclo de retroalimentação positiva na ação do IFN- γ sobre outros LT_H virgens, induzindo sua polarização para a via de diferenciação T_H1 e inibindo a via T_H2 . A resposta T_H1 é essencial para o controle de patógenos intracelulares, sendo, potencialmente, proinflamatória e contribuindo para a patogênese da DC. Existem muitas citocinas T_H1 , como TNF- α , IL-12 e IL-18, na mucosa intestinal de pacientes com DC. A IL-18 promove a diferenciação de células T_H1 através das vias da proteína de ativação 1 (AP-1, do inglês *activating protein*) e NF- κ B, demonstrando que as células T_H1 desempenham papéis importantes na patogênese da DC (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).

A segunda população T_H muito importante nas respostas imunes humorais é a T_H2 , que produz IL-4, IL-5, IL-13, IL-21 e IL-25, favorecendo a produção de anticorpos. As respostas T_H2 protegem o corpo humano contra parasitas nocivos e ajustam as reações alérgicas, uma vez que a IL-4 induz a troca de classe de imunoglobulinas nos LB para IgE e a IL-5 induz a produção de eosinófilos. A expressão da IL-5 e IL-13 está aumentada nos tecidos inflamatórios em pacientes com RCU, portanto, pode-se inferir que as células T_H2 estão associadas à patogênese da RCU (LI;SHI, 2018).

De forma análoga ao IFN- γ , a IL-4, IL-10 e IL-13 também promovem retroalimentação positiva para a via T_H2 e suprimem a via T_H1 . Em situações de hipersensibilidade imediata, como nas doenças alérgicas, a terapia visa dessensibilização imune T_H2 e indução de respostas T_H1 , alérgeno-específicas. Já em doenças sabidamente causadas pela via T_H1 , como a DC, as citocinas T_H2 têm sido consideradas protetoras, portanto, a busca pela alteração no padrão de resposta imune de T_H1 para T_H2 tem sido muito estudada, visando à melhora ou restabelecimento da tolerância imunológica (GIUFFRIDA; CORAZZA; Di SABATINO, 2018).

Entretanto, este paradigma bipolar foi reformulado, na primeira década desse século, em função do reconhecimento de novos subtipos de LT_H , principalmente as células T_H17 , que também têm sido responsabilizadas pelo processo fisiopatológico da DC. Estudos em camundongos transgênicos, deficientes de IFN- γ ou de seu receptor, demonstram que a perda da sinalização associada ao IFN- γ não confere resistência ao desenvolvimento da autoimunidade. Ao contrário, esses animais se apresentam até mais susceptíveis. Uma vez que o IFN- γ é uma das citocinas das células T_H1 , essas observações levaram ao questionamento do papel exclusivo das células T_H1 na fisiopatologia de doenças autoimunes, abrindo perspectivas para a busca de outro subtipo de LT, distinto da subpopulação T_H1 , capaz de induzir inflamação tecidual e autoimunidade (UENO *et al.*, 2018).

As células T_H17 são importantes na proteção contra infecções fúngicas nas superfícies mucosas. Foram originalmente descritas em modelos experimentais de doenças autoimunes, como encefalite autoimune e artrite induzida por colágeno, que antes se acreditava serem mediadas, predominantemente, por células T_H1 . Esta nova via de diferenciação T_H17 começou a ser elucidada com a descoberta da citocina IL-23 que, juntamente com IL-1 e IL-6, pode levar ao desenvolvimento de doenças autoimunes em modelos murinos, por seu importante papel pró-inflamatório e indutor de diferenciação e ativação da via T_H17 (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).

As células T_H17 são relevantes para a patogênese da DC porque são fundamentalmente plásticas para a provocação do estado circundante. As células T_H17 , liberando IL-17, são um forte fator pró-inflamatório na DII. A IL-17 induz a transferência de células imunes para os tecidos periféricos e a ligação com os receptores da IL-17, e, então, ativa o NF- κ B, promovendo a liberação de uma variedade de fatores pró-inflamatórios. Estudos clínicos descobriram que a mucosa intestinal inflamatória de pacientes com DC e RCU contém um nível muito mais alto de células T_H17 e IL-17 do que as normais. As células T_H17 distribuem-se, principalmente, na lâmina própria da mucosa intestinal de pacientes com RCU; enquanto, se distribuem na mucosa e submucosa de pacientes com DC. A IL-17 sérica e a expressão de miRNA da IL-17A e IL-17F estão significativamente aumentadas em pacientes com DC, demonstrando que as células T_H17 desempenham um papel importante na patogênese desta doença (CăTANĂ *et al.*, 2015).

Além disso, as varreduras de associação genômica ampla mostraram que vários genes de suscetibilidade à RCU e DC, como o STAT3 (transdutor de sinal e ativador da transcrição, do inglês *signal transducer and activator of transcription*), estavam relacionados aos genes T_H17 . Embora seja sabido que as células T_H17 desempenham um papel na patogênese da DII, um modelo de colite induzida por DSS (modelo murino de indução à colite com dextran sulfato de sódio) mostrou que a IL-17A e IL-17F têm papéis contrastantes. Estudos utilizando este modelo descobriram que a supressão da proteína IL-17A, mediada por anticorpos, e o *knockout* genético causavam inflamação excessiva e danos ao epitélio intestinal. Por outro lado, em camundongos com colite induzida por DSS, foi demonstrado que a IL-17F também pode ter um papel protetor (UHLIG; POWRIE, 2018).

As células com função imunorreguladora, T_{reg} , apresentam, como característica básica, a capacidade de produção de citocinas imunossupressoras, como IL-4, IL-10 e TGF- β e promovem reparo tecidual. Os quatro principais mecanismos da atividade supressora das células T_{reg} , secreção de citocinas, sinalização de moléculas de superfície, citólise e controle metabólico, já foram caracterizados. Sua atuação na supressão das respostas imunes e na manutenção da tolerância periférica previne as doenças autoimunes e limita as doenças inflamatórias crônicas (FONSECA-CAMARILLO; YAMAMOTO-FURUSHO, 2015).

As células T_{reg} estão constitutivamente presentes na mucosa intestinal, e controlam a homeostase da mucosa, principalmente, através da secreção da IL-10. Também foi demonstrado que a diferenciação e a função das T_{reg} são moduladas pela microbiota intestinal. Acredita-se que, a ativação das células T_{reg} iniba a resposta inflamatória às bactérias comensais e seja central para a tolerância da mucosa. Embora raras, as mutações de perda de função no receptor da IL-10 em humanos resultam em manifestações clínicas da DC, no entanto, o papel das T_{reg} na DII ainda não foi definido satisfatoriamente. O número de células T_{reg} , no tecido inflamado e não inflamado de pacientes com DII, é maior do que em controles saudáveis e elas estão localizadas na lâmina própria, muscular da mucosa e serosa e acumuladas em granulomas (LI; SHI, 2018).

As células T_H17 e T_{reg} estão em equilíbrio dinâmico em circunstâncias normais. O equilíbrio é quebrado com o aumento excessivo das células T_H17 e da imunogenicidade

e a diminuição ou o funcionamento anormal das células T_{reg} , causando danos à mucosa intestinal. As células T virgens diferenciam-se em células T_{H17} , quando as concentrações de TGF- β são baixas, com a presença da IL-6 e inibem a geração de células T_{reg} . A produção de células T_{H17} é inibida, quando o TGF- β está em alta concentração e, ao mesmo tempo, a geração de células T_{reg} é promovida. Embora as células T_{reg} , efetivamente, reparem a mucosa intestinal inflamada de pacientes com DII, elas se transformam em células T_{H17} patogênicas, com a presença da IL-6 e/ou IL-23. Não há relatos encontrados, sobre células T_{H17} transformando-se em células T_{reg} , indicando que as conversões de células T_{reg} em células T_{H17} são irreversíveis. A proporção de T_{H17}/T_{reg} é significativamente maior no sangue periférico de pacientes com DII, sugerindo que o desequilíbrio de transformação de T_{H17}/T_{reg} desempenha um papel importante na patogênese dessas doenças (HUANG; CHEN, 2016).

As células T_{H9} fornecem proteção contra infecções intestinais por helmintos e, possivelmente, câncer. Seu desenvolvimento é semelhante ao das células T_{H2} , no entanto, eles exigem não apenas a IL-4, mas também TGF- β para a maturação. As células T_{H9} secretam sua citocina assinatura, IL-9 e também a IL-10. O papel das células T_{H9} na saúde e nas doenças humanas ainda não está bem estabelecido. No entanto, os pacientes alérgicos têm um número aumentado de células T_{H9} no sangue, e a IL-9 pode atuar como uma citocina proinflamatória ativando as células T_{H17} (CHOY; VISVANATHAN; De CRUZ, 2017).

As células T_{H22} participam do reparo de feridas e da proteção contra infecções bacterianas, virais e fúngicas nas superfícies epiteliais, incluindo a pele e o TGI. São células T CD4 que, fenotipicamente e funcionalmente, estão relacionadas às células T_{H17} . No entanto, em contraste com as células T_{H17} , elas mostram baixo nível do fator de transcrição do receptor órfão ROR γ t (do inglês *RAR-related orphan receptor gamma*), cuja expressão é essencial para o desenvolvimento de T_{H17} . Além disso, o TGF- β , importante para a geração de células T_{H17} , inibe a expressão da IL-22. A IL-22 também é produzida pelas células T_{H1} e T_{H17} , no entanto, as células T_{H22} podem produzir a IL-22 na ausência de IFN- γ ou IL-17 (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

As células T_{FH} foram recentemente estabelecidas como uma linhagem T_H independente. As células T_{FH} representam um subconjunto heterogêneo de células T CD4 que induzem a diferenciação de células B, em células plasmáticas e células de memória.

Encontram-se dentro e na proximidade de centros germinativos, em órgãos linfóides secundários, e seu compartimento de memória também circula no sangue. Em humanos, o TGF- β é uma citocina chave para a diferenciação de células T_{FH} (KMIEC; CYMAN; SLEBIODA, 2017).

Os LTC são os assassinos da resposta imune, reconhecendo antígenos intracitoplasmáticos apresentados por moléculas do MHC de classe I, que são expressas por, praticamente todas as células nucleadas. As células infectadas por vírus e células tumorais, normalmente, são reconhecidas pelos LTC. Após adesão às células alvo, apresentando um antígeno associado ao MHC e coestímulo adequado, os LTC proliferam e, em um encontro subsequente, podem eliminar, por citotoxicidade, qualquer célula que apresente esse antígeno específico, independente da presença de moléculas coestimulatórias. Os LTC induzem a via de apoptose na célula alvo, pela ação de perforinas e granzimas e, também podem levar à apoptose, pela excreção do ligante do receptor Fas L (Fas L) que interage com a molécula Fas nas células alvo (SOUZA; FIOCCHI, 2016).

3 TERAPÊUTICA NA DOENÇA DE CROHN

3.1 TERAPIA CLÁSSICA

A abordagem convencional para tratar pacientes com DII é induzir e manter a remissão clínica, com foco na cicatrização da mucosa e prevenção de complicações no longo prazo, a fim de alcançar a melhor qualidade de vida possível para os pacientes. A escolha da terapia depende de vários fatores, incluindo a gravidade e a localização da doença, bem como a resposta clínica do paciente e os efeitos colaterais experimentados anteriormente (AHLUWALIAA *et al.*, 2018).

Existem duas categorias principais de terapêutica para o tratamento da DII: (1) os anti-inflamatórios e/ou os agentes imunossupressores e (2) os agentes biológicos. Classicamente, os anti-inflamatórios, como os 5 aminossalicilatos (5-ASA), são usados para tratar a RCU. O 5-ASA é eficaz para a manutenção da remissão na RCU e, também, reduz o desenvolvimento dos tumores relacionados a essa DII, inibindo a síntese de prostaglandinas, reduzindo os níveis de citocinas próinflamatórias, bloqueando a atração de neutrófilos e ativando mastócitos, com a inibição do NF- κ B nas células imunológicas e promovendo a expressão do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PPAR- γ , do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*) e a translocação nuclear. Infelizmente, o 5-ASA tem pouca eficácia em pacientes com DC (TORRES *et al.*, 2017).

Os corticosteroides também são usados para indução de remissão em pacientes com RCU e DC. Os glicocorticoides inativam o NF- κ B, a proteína AP1 e previnem a produção de citocinas inflamatórias como a IL-1 e IL-6 (TORRES *et al.*, 2017).

Azatioprina, metotrexate, 6-mercaptopurina e ciclosporina-A são drogas imunossupressoras clássicas usadas na terapia da DII. O metotrexate é usado para a manutenção da remissão na DC, enquanto a ciclosporina-A induz remissão na RCU, já a azatioprina e a 6-mercaptopurina têm eficácia tanto na DC quanto na RCU. A ciclosporina-A e o metotrexate suprimem a secreção de citocinas próinflamatórias e induzem a apoptose. A ciclosporina-A suprime a produção de IL-22 e TNF- α pelas ILC3. A azatioprina é rapidamente convertida em 6-mercaptopurina nos eritrócitos, sendo potente imunossupressor, inibindo a atividade de LT, LB e células NK, além de também

induzir apoptose celular. Azatioprina e 6-mercaptopurina são os imunomoduladores mais estudados na DII. (TORRES *et al.*, 2017).

O TNF- α é o principal fator patogênico produzido por células imunes e não imunes no intestino de pacientes com DII. Os agentes anti-TNF- α , incluindo infliximabe (IFX), adalimumabe e golimumabe, são terapias clássicas para a DII. A terapia combinada com infliximabe e azatioprina é muito eficaz na manutenção da remissão, tanto na DC, quanto na RCU (LEE; KWON; CHO; 2018; TORRES *et al.*, 2017).

3.2 TERAPIA IMUNOBiolÓGICA

Embora a exata etiopatogenia da DII permaneça desconhecida, o advento de técnicas mais avançadas de biologia molecular e celular contribuiu muito para melhorar nossa compreensão das vias inflamatórias que levam ao dano tecidual nesses distúrbios. Essas descobertas, por sua vez, levaram a tratamentos farmacológicos mais específicos e direcionados à doença e, assim, as terapias anti-TNF- α revolucionaram a abordagem da DII (AHLUWALIAA *et al.*, 2018).

A terapia anti-TNF- α demonstrou ser poupadora de esteroides, reduzindo as hospitalizações e cirurgias relacionadas à DII, induzindo a cicatrização da mucosa e melhorando a qualidade de vida dos pacientes. No entanto, até 30% dos pacientes não apresentam benefício clínico após a terapia de indução (não respondedores primários), e outros 30-40% perdem a resposta durante o primeiro ano de tratamento, exigindo aumento da dose ou mudança para outro biológico. Um estudo recente mostrou que, aproximadamente, 40 e 75% dos pacientes necessitaram de hospitalização, cirurgia ou aumento de dose dentro de um a cinco anos, respectivamente, após a terapia anti-TNF- α (OSAMURA; SUZUKI, 2018).

Estes resultados terapêuticos não desejados devem-se a questões farmacocinéticas, caracterizadas por um aumento da depuração do fármaco, principalmente devido à imunogenicidade e desenvolvimento de anticorpos antidroga, ou questões farmacodinâmicas, caracterizadas por inflamação induzida por vias não-TNF. Além disso, embora o perfil geral de segurança do anti-TNF- α seja satisfatório, existem algumas preocupações em relação às reações no local da infusão / injeção, infecções e algumas malignidades raras, como melanoma e linfoma. Assim, é crucial, o

desenvolvimento de novas terapias biológicas com diferentes mecanismos de ação, perfis de segurança e eficácia equivalentes ou ainda melhores (SLEVIN; EGAN, 2015).

Os principais avanços do conhecimento na imunologia e fisiopatologia dos processos inflamatórios intestinais ajudaram a identificar novos alvos moleculares para drogas, e potenciais novas abordagens terapêuticas para o tratamento da DII. Atualmente, existem três biológicos não anti-TNF- α aprovados para o tratamento da DII; o natalizumabe (anticorpo IgG4 monoclonal humanizado recombinante contra a subunidade $\alpha 4$ da integrina), o vedolizumabe (anticorpo monoclonal humanizado IgG1 que bloqueia, seletivamente, a integrina $\alpha 4\beta 7$) e o ustekinumabe (anticorpo monoclonal IgG1 totalmente humano dirigido contra a subunidade p40 compartilhada da IL12 e IL23). Além disso, existem vários novos produtos biológicos atualmente em desenvolvimento, que devem atingir o mercado farmacêutico no futuro próximo. Estes agentes incluem inibidores de moléculas antiaderência (anti-integrinas) e fármacos anti-inteleucinas, bem como moléculas pequenas, tais como Janus quinases (JAK) e inibidores do receptor da esfingosina-1-fosfatase (S1P, do inglês *sphingosine-1-phosphate*) (KATSANOS *et al.*, 2018).

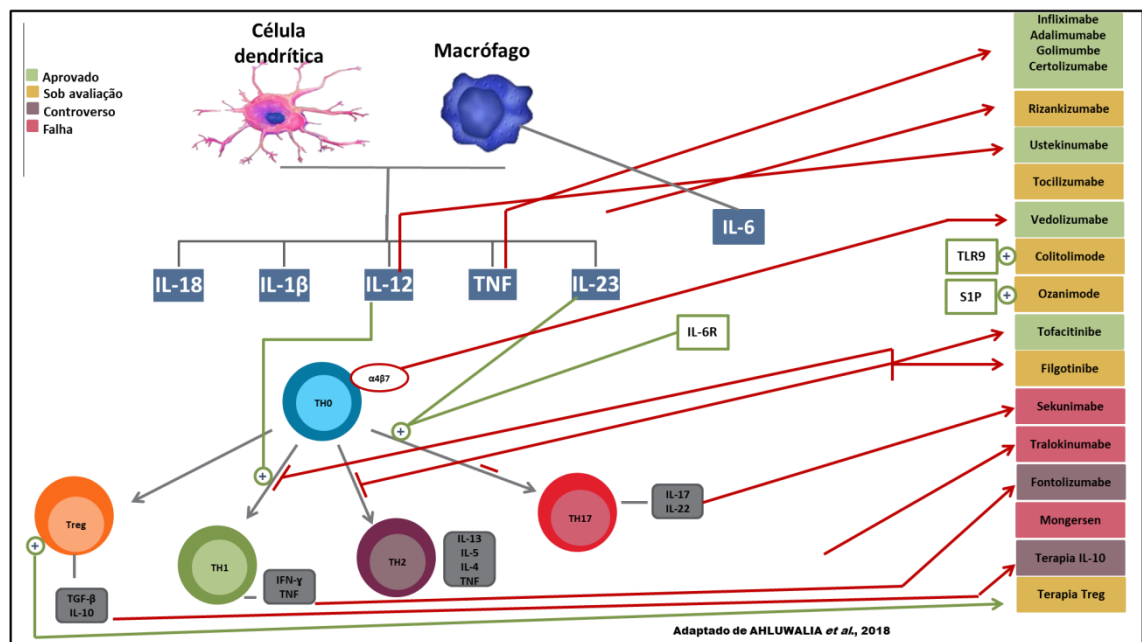
Esses agentes não anti-TNF podem, potencialmente, fornecer valiosas opções de tratamento para pacientes que não respondem à terapia anti-TNF- α . Embora a posição dos novos agentes imunobiológicos no arsenal clínico ainda seja desconhecida, é provável que muitos deles encontrem seu lugar no algoritmo de tratamento da DII nos próximos anos. Será de grande importância clínica ser capaz de identificar marcadores genéticos, sorológicos ou de tecidos que prevejam a resposta / remissão para esses agentes e melhor personalizem a terapia (DUIJVESTEN *et al.*, 2018).

Quando os anticorpos monoclonais empregados são da classe IgG, recebem o sufixo “mab”, derivado do termo *monoclonal antibody*. De acordo com a constituição da porção não variável do anticorpo monoclonal, esse sufixo sofre variações; ou seja, “omab” se for de constituição murina (edrecolomabe); “ximab”, se quimérica, ou seja, com aproximadamente 30% de origem murina e 70% humana (infliximabe); “zumab”, se humanizado, com menos de 10% de origem murina (epratuzumabe); e, “umab”, se totalmente humano (adalimumabe). O sufixo é denominado “cept”, se anticorpos recombinantes compostos pelos receptores solúveis de citocinas associados à fração do

fragmento cristalizável (Fc, do inglês *crystallizable fragment*) da IgG1 (etanercepte) (CRUVINEL *et al.*, 2010).

A figura 15 resume a terapia imunobiológica aplicada a mediadores solúveis da resposta imune, empregada principalmente nas DII.

Figura 15 – Abordagem Terapêutica com Anticorpos Monoclonais na Doença Inflamatória Intestinal



Fonte: Elaborado pela autora

A imunomodulação terapêutica para DII pode ocorrer em vários estágios da cascata inflamatória. a) As terapias atualmente aprovadas foram bem-sucedidas no direcionamento do TNF, com o uso do infliximabe, adalimumabe, certolizumabe pegol e golimumabe; e de adesinas, com o uso do vedolizumabe bloqueando a integrina $\alpha 4\beta 7$. b) Medicamentos recentemente aprovados, o inibidor de JAK, tofacitinibe e o bloqueador da subunidade p40 da IL-12/23, ustekinumabe, interferem na diferenciação das células T efectoras. c) Estratégias terapêuticas em fase de aprovação incluem as terapias baseadas em citocinas, como o , inibidor da subunidade p19 da IL-19, risankizumabe; o antagonista do receptor da IL-6, tocilizumabe; o modulador de *homing* de linfócitos, ozanimode; o inibidor seletivo de JAK1, filgotinibe; o agonista de TLR9, cobitolimode; e as terapias a base de células T_{reg}. d) Terapias controversas incluem a neutralização do IFN- γ com fontolizumabe e a terapia com IL-10 humana recombinante. e) Por último, abordagens falhas para direcionar a IL-17A com o secukinumabe; a IL-13 com o tralokinumabe; e a SMAD7 com o mongersen.

Abreviações: DII: doença inflamatória intestinal, IFN- γ : interferon gama, IL: interleucina, JAK: proteína janus quinase, S1P: receptor da esfingosina-1-fosfatase, SMAD7: proteína SMAD7, TGF- β : fator de crescimento transformador beta, T_H: T auxiliar, TLR: *toll-like receptors*, TNF: fator de necrose tumoral alfa, T_{reg}: T reguladores.
+: agonistas ou intensificadores de atividade.

3.2.1 Terapia Anti-TNF

A abordagem dos pacientes com DII mudou notavelmente ao longo da última década com o conceito de tratar a doença mais precocemente, com o uso de imunomoduladores e terapia anti-TNF- α com o objetivo de alterar o curso progressivo e destrutivo, frequentemente observado na DII. De fato, a evidência acumulada sugere que os agentes anti-TNF- α , promovendo a cicatrização da mucosa, podem potencialmente modificar o curso natural da doença, diminuindo a necessidade de cirurgia e reduzindo as taxas de hospitalização, assim como prolongando as remissões clínicas livres de esteroides (CHEBLI *et al.*, 2014).

A seleção adequada, o aconselhamento e a educação dos pacientes são questões importantes para o sucesso do uso da terapia anti-TNF- α em portadores de DII. A avaliação precisa da atividade da doença é essencial, antes de iniciar os biológicos, além da exclusão dos mimetizadores da doença, como a síndrome do intestino irritável e a superinfecção por *Clostridium difficile*. Antes da terapia anti-TNF- α , os pacientes precisam ser criteriosamente avaliados e rastreados para tuberculose latente, infecção pelo vírus das hepatites B e C e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*). No momento do diagnóstico de DII, deve ser feito um histórico de vacinação, e os pacientes devem receber todas as vacinas regularmente agendadas, exceto para pacientes em tratamento com imunossupressores, que não devem receber vacinas vivas. Além disso, pacientes que recebem vacinas de vírus vivos não devem receber a terapia biológica por três meses. Em última análise, os benefícios dos agentes anti-TNF- α geralmente superam os riscos, mas isso deve ser avaliado e discutido caso a caso (CHEBLI *et al.*, 2014).

Dentre os biológicos anti-TNF- α , o infliximabe - IFX (Remicade®) foi o primeiro anticorpo visando o TNF- α a ser aprovado pelo *Food and Drug Association* (FDA) nos EUA, para o tratamento da DC e, posteriormente, para o tratamento da RCU. É um anticorpo monoclonal quimérico com 25% de sequências murinas e 75% humanas. A terapia com IFX é iniciada por via intravenosa nas semanas 0, 2 e 6 e depois, aplicada a cada 8 semanas, para manutenção da remissão. A concentração inicial para DC e RCU é de 5 mg/kg (SLEVIN; EGAN, 2015).

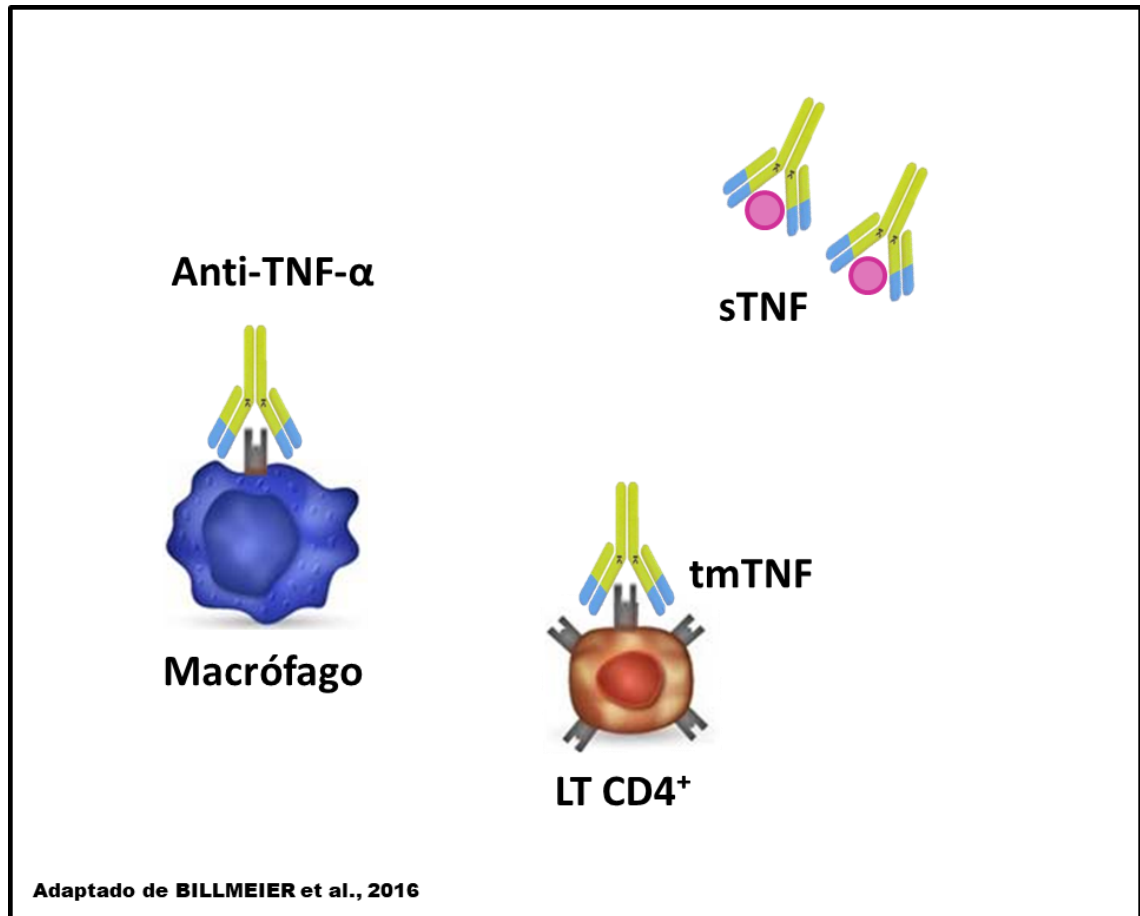
Ainda, entre os anti-TNF- α , o IFX biossimilar CT-P13 (Remsima®, Inflectra®) foi aprovado na Europa para o tratamento da DC e RCU, com base em exercício de comparabilidade não clínica abrangente e extrapolação de dados clínicos de dois estudos

com pacientes com artrite reumatoide (LEE, KWON, CHO, 2018). O adalimumabe (Humira®) é um anticorpo monoclonal humano produzido por células de ovário de hamster chinês (CHO, do inglês *chinese hamster ovary cells*). É aprovado para o tratamento da DC e da RCU, sendo que, este biológico, foi o primeiro anticorpo monoclonal totalmente humanizado a ser aprovado pelo FDA. O adalimumabe é administrado por via subcutânea e pode ser injetado pelo próprio paciente (SLEVIN; EGAN, 2015).

Outro anti-TNF- α , o golimumabe (Simponi®), um anticorpo monoclonal totalmente humano, foi aprovado para o tratamento da RCU, desde 2013. Como o adalimumabe, é administrado por via subcutânea. O certolizumabe pegol (Cimzia®), um fragmento de ligação ao antígeno (Fab, do inglês *fragment antigen-binding*) humanizado, peguilhado, é aprovado para o tratamento da DC nos EUA e na Suíça, mas não pela Agência Europeia de Medicamentos. Em contraste com os outros anticorpos anti-TNF- α , este agente não possui um fragmento Fc e, portanto, não é reconhecido pelos receptores Fc. E, por fim, o etanercepte (Enbrel®) é uma proteína de fusão quimérica, que consiste na porção p75 do TNFR2 e um domínio Fc da IgG1 humana. Apesar de sua eficácia, quando em combinação com o metotrexate, ser semelhante ao IFX e ao adalimumabe, na terapia da artrite reumatoide, não conseguiu ser eficaz em um estudo clínico com pacientes com DC (SLEVIN; EGAN, 2015).

Embora os anticorpos anti-TNF- α sejam aprovados para a terapia da DII e de outras doenças inflamatórias por muitos anos, o mecanismo de ação ainda é uma questão controversa. Inicialmente, foi sugerido que os agentes anti-TNF inativam a citocina proinflamatória TNF- α pela neutralização direta, resultando na supressão da inflamação. Dada à complexidade da sinalização do TNF- α , muitos estudos indicam que os anticorpos anti-TNF- α exercem funções mais complexas além do simples bloqueio. Estudos indicam que a neutralização do tmTNF, em vez do sTNF, é crucial na terapia da DII, como mostra a Figura 16 (SLEVIN; EGAN, 2015).

Figura 16 – Neutralização do TNF- α Transmembrana pelo anti-TNF- α

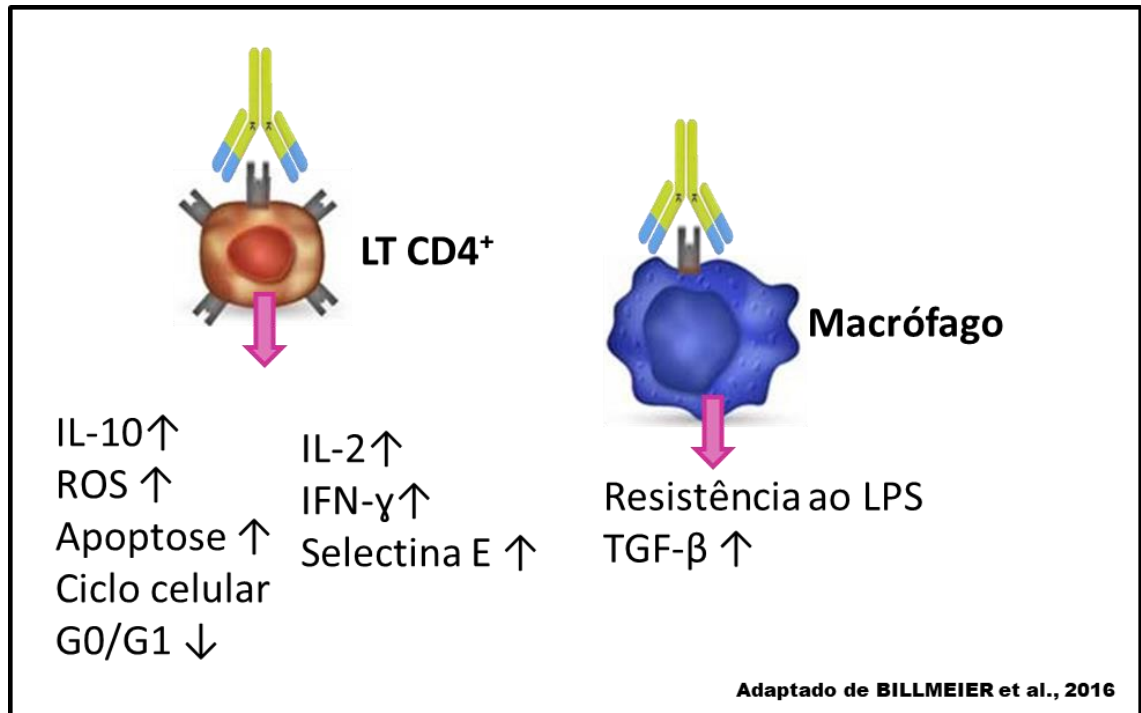


Fonte: Elaborado pela autora

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, LT CD4⁺: linfócito T auxiliar, sTNF: fator de necrose tumoral solúvel, tmTNF: fator de necrose tumoral transmembrana.

Outro mecanismo de ação dos anticorpos anti-TNF- α é a sinalização reversa pelo tmTNF em monócitos / macrófagos, que confere resistência ao lipopolissacáride bacteriano, representando um sinal silenciador (Figura 17) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 17 – Sinalização Reversa ou *Outside-to-inside* pelo anti-TNF- α



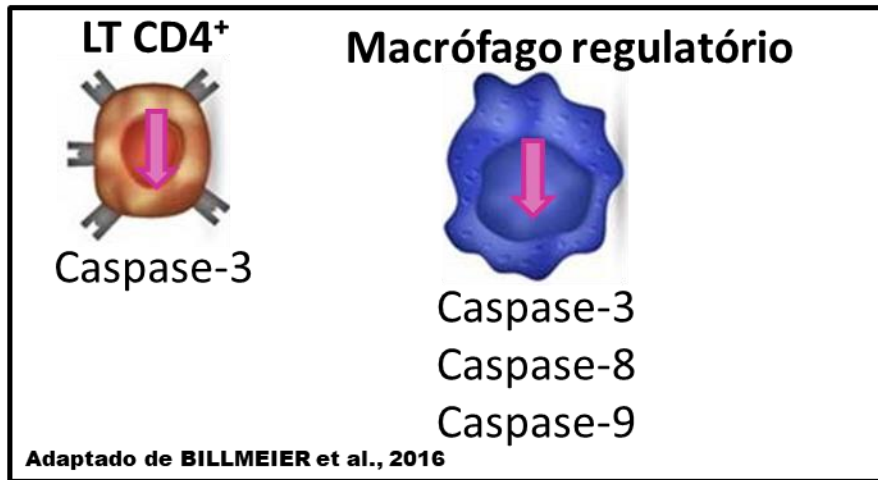
Fonte: Elaborado pela autora

O efeito imunossupressor do tmTNF após a estimulação do lipopolissacáride em macrófagos é mediado pelo TGF- β . O infliximabe induz aumento na secreção de IL-2 e IFN- γ , expressão positiva da selectina E e da citocina anti-inflamatória IL-10, ativação da acumulação de ROS e apoptose. Também induz ainda mais a parada do ciclo celular G0 / G1.

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, IFN- γ : interferon gama, IL: interleucina, LPS: lipopolissacáride, LT CD4⁺: linfócito T auxiliar, ROS: espécies reativas de oxigênio, TGF- β : fator transformador do crescimento beta, tmTNF: fator de necrose tumoral transmembrana.

A morte celular programada das células imunes é um mecanismo fundamental de resolução da inflamação. A apoptose de células imunes inflamatórias como consequência do tratamento anti-TNF- α tem sido discutida como um mecanismo de ação importante, que explica o rápido início dos efeitos terapêuticos após o sucesso da terapia. Assim, a morte celular induzida de monócitos / macrófagos ou células T foi abordada por vários grupos. Portanto, a indução de apoptose pode ser direta (Figura 18) ou indireta (Figura 19), como efeito colateral da sinalização do TNF- α . Além disso, a apoptose pode ser induzida pela região Fc de anticorpos anti-TNF- α envolvendo o complemento (CDC) ou pode ser uma consequência da ativação de células NK pelo próprio TNF- α por ligação ao anticorpo (ADCC) (Figura 20) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 18 – Apoptose Direta pelo anti-TNF- α

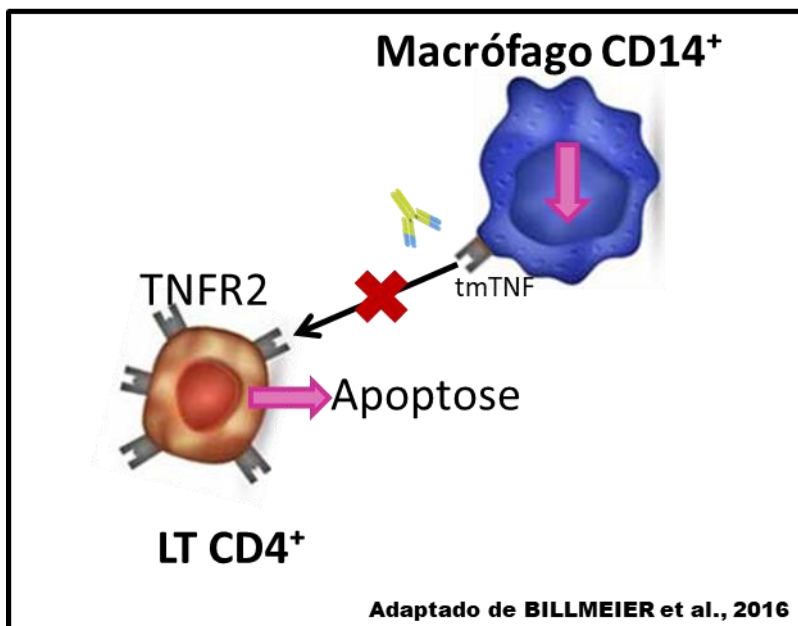


Fonte: Elaborado pela autora

A apoptose de monócitos induzida pelo infliximabe em pacientes com doença de Crohn exige a ativação de membros da família caspase, como as caspase-3, 8 e 9.

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, LT CD4⁺: linfócito T auxiliar.

Figura 19 – Apoptose Indireta pelo anti-TNF- α

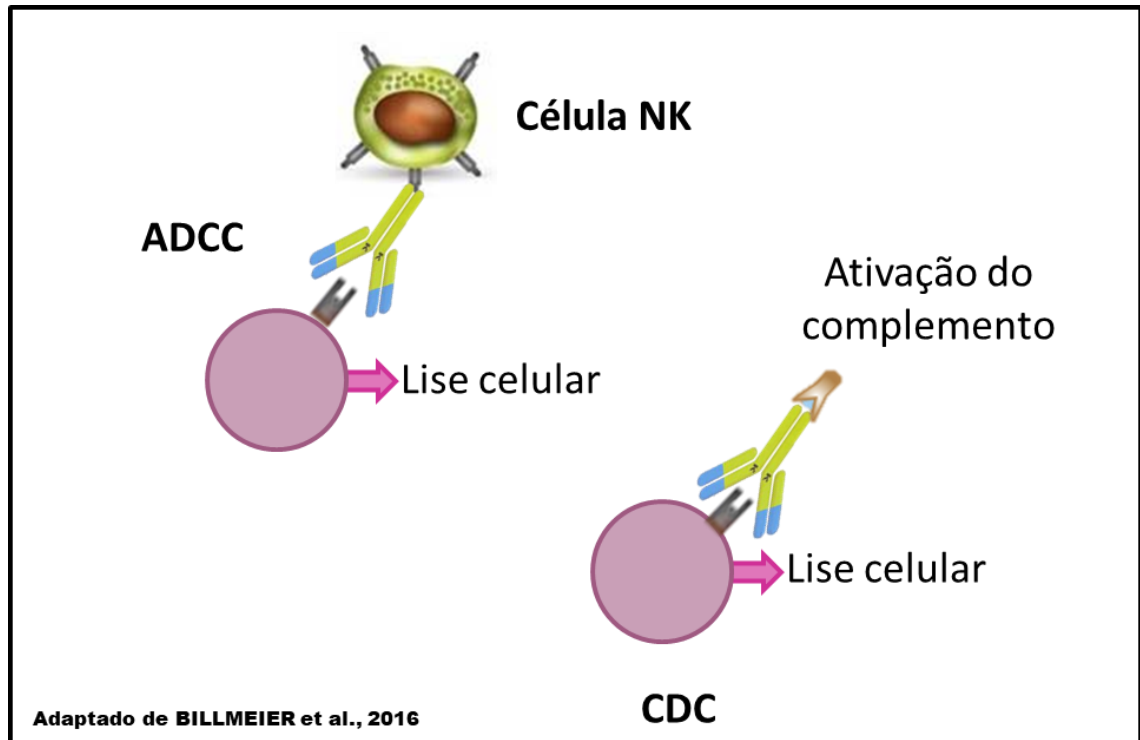


Fonte: Elaborado pela autora

Este conceito propõe uma indução indireta de apoptose neutralizando o lado de ligação do tmTNF ao TNFR2 pelo tratamento com anticorpo anti-TNF- α , resultando em apoptose de células T que expressam o TNFR2.

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, LT CD4⁺: linfócito T auxiliar, tmTNF: fator de necrose tumoral transmembrana, TNFR2: receptor 2 do fator de necrose tumoral.

Figura 20 – Apoptose Dependente de Fc pelo anti-TNF- α



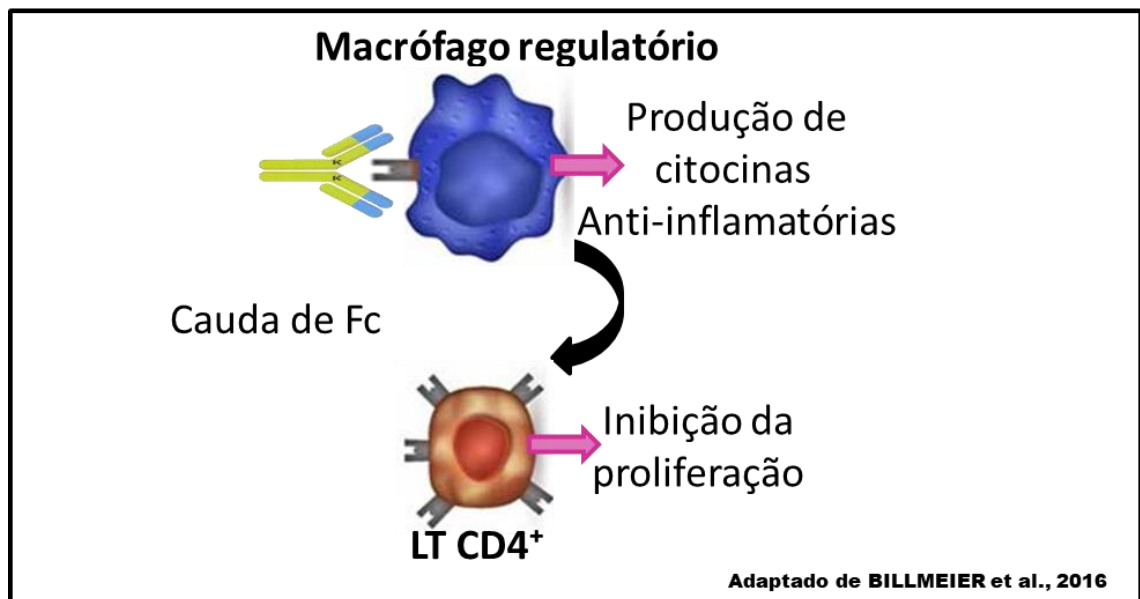
Fonte: Elaborado pela autora

a) ADCC é um mecanismo do sistema imune adaptativo para matar células-alvo marcadas com anticorpos, por exemplo, células infectadas. Portanto, após a ligação de um anticorpo a sua célula-alvo, o domínio Fc é reconhecido pelo receptor Fc das células imunes efectoras, tipicamente células NK. A célula NK libera proteínas citotóxicas, como perforinas e granzimas, que, subsequentemente, resultam em lise da célula-alvo. O ADCC é um mecanismo de ação de anticorpos anti-TNF- α que possuem um domínio Fc. b) CDC: a ligação de anticorpos a uma célula alvo pode resultar na ativação do complemento. O complemento consiste em várias proteínas diferentes que atuam como uma cascata que, finalmente, leva à formação de um complexo que ataca a membrana, induzindo um poro dentro da célula e a subsequente morte celular.

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, ADCC: citotoxicidade celular dependente de anticorpos, CDC: citotoxicidade dependente do complemento, Fc: fragmento cristalizável do anticorpo, NK: *natural killer*.

Vários estudos têm demonstrado que os anti-TNF- α são capazes de modular o sistema imune, inibindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias, além de impulsionar a secreção de grandes quantidades da citocina anti-inflamatória IL-10. O mesmo grupo, mais tarde, mostrou que os macrófagos reguladores foram induzidos em pacientes com DII, com cicatrização da mucosa, após o tratamento com IFX e, funcionalmente, esses macrófagos tiveram a capacidade de induzir a cicatrização de feridas *in vitro* (Figura 21) (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Figura 21 – Modulação do Sistema Imune pelo anti-TNF- α



Fonte: Elaborado pela autora

Após o uso do anti-TNF- α , citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL-13, IL-17A, TNF- α e granzima A foram inibidas. Além disso, o infliximabe não apenas suprimiu a ativação de células T CD4⁺, mas também reduziu a expressão da IL-21 pelas células T CD4⁺ da mucosa e, conseqüentemente, inibindo a diferenciação de T_H17. A inibição da proliferação foi impulsionada por macrófagos imunossupressores que secretaram IL-10 e foram ativados pela região Fc dos anticorpos.

Abreviações: anti-TNF- α : anti-fator de necrose tumoral alfa, Fc: fragmento cristalizável do anticorpo, IFN- γ : interferon gama, IL: interleucina, LT CD4⁺: linfócito T auxiliar, T_H17: células T auxiliares 17, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Em resumo, vários efeitos dos anticorpos anti-TNF- α no sistema imune foram descritos. A redução de subconjuntos de células T pró-inflamatórias, por um lado, e a indução de células T_{reg}, por outro lado, contribuem claramente para a resolução da inflamação. Além disso, a indução de macrófagos reguladores e efeitos na cicatrização da mucosa também foram sugeridos (RUDER; ATREYA; BECKER, 2019).

Com a abundância de opções terapêuticas disponíveis e emergentes, uma questão crucial é como identificar e combinar cada paciente, individualmente, com a opção terapêutica mais adequada. Para tanto, descobrir o papel exato de todas as vias celulares e moleculares, envolvidas, nos vários estágios da resposta imune, pode ajudar a entender as funções do sistema imunológico na saúde e na doença, delimitando o papel de cada um desses possíveis fatores patogênicos na manutenção da inflamação crônica na DC, para, assim, vislumbrar a possibilidade de um futuro controle e/ou cura da doença. Nesse sentido, também são necessários biomarcadores que possam prever a resposta terapêutica,

para oferecer o tratamento certo, ao paciente certo, e minimizar a exposição desnecessária a terapias ineficientes e eventos adversos. Embora a caixa de ferramentas terapêuticas para pacientes com DC tenha melhorado nos últimos anos, ainda há uma grande necessidade de se desenvolver novas opções de terapias biológicas mais eficazes para a doença (AHLUWALIAA *et al.*, 2018).

4 ATIVIDADE FÍSICA NA DOENÇA DE CROHN

4.1 ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE

O conceito de treinamento físico pode cobrir intervenções heterogêneas que diferem no tipo, intensidade, frequência e duração. A atividade física (AF) é definida como qualquer movimento corporal por contrações musculares esqueléticas, resultando em aumento das despesas de energia (WARBURTON; BREDIN, 2017).

Os benefícios da AF e do exercício para a saúde são irrefutáveis, havendo evidências contundentes na literatura sobre esse fato. É sabido que o exercício diminui a mortalidade por todas as causas, independente do índice de massa corporal (IMC), provavelmente através de uma redução nas doenças cardiovasculares e no risco de câncer. O exercício demonstrou efeitos benéficos na densidade mineral óssea (DMO), massa muscular e capacidade funcional. Isso também é de particular interesse no campo da DII, já que, estes pacientes, sofrem com problemas como baixa DMO e massa muscular, devido aos efeitos colaterais dos medicamentos, e do próprio processo da doença (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

Há evidências que mostram que 37% das mortes por doença coronariana podem ser atribuídas à inatividade física, em comparação com 19% e 13% para tabagismo e hipertensão, respectivamente. Além disso, uma redução de 40% no risco de síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 foi relatada com a AF moderada. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a inatividade física é o quarto principal fator de risco para a mortalidade global, sendo responsável por aproximadamente 3,2 milhões de mortes por ano. A prevalência e o risco atribuível populacional da inatividade física são semelhantes, e, muitas vezes, maiores do que todos os outros fatores de risco (WARBURTON; BREDIN, 2016).

As evidências disponíveis indicam, ainda, uma clara relação dose-resposta entre AF e saúde, com reduções de risco de 20 a 30% para mortalidade prematura e doenças crônicas, frequentemente observadas naqueles que atendem ou excedem as recomendações internacionais atuais. Reduções de risco ainda maiores são observadas, quando medidas objetivas de aptidão física, relacionadas à saúde, são tomadas (ALLEN; SUN; WOODS, 2015).

A maioria das diretrizes internacionais de AF recomenda o cumprimento da meta de 150 min/semana de AF de intensidade moderada a vigorosa (AFMV). As mais recentes diretrizes conjuntas da American Heart Association e da Academia Americana de Medicina Esportiva recomendam: 1) exercício aeróbico de intensidade moderada, por um mínimo de 30 minutos, cinco dias por semana ou 2) AF de intensidade vigorosa, por 20 minutos, três dias por semana. Estas recomendações são para todas as pessoas com idades entre 18 e 65 anos, a fim de promover e manter a saúde; e essa meta também foi incorporada às diretrizes para populações clínicas particulares, como aquelas com diabetes (FISHMAN *et al.*, 2016). Caminhada, corrida, natação e ciclismo são exemplos de atividades aeróbicas. Destacam-se entre as AFMV a realização de caminhada rápida, dança, jardinagem e hidroginástica; e de AF intensa, corrida, natação rápida, pular corda e jogar futebol (DE LIMA; LEVY; LUIZ ODO, 2014).

Coletivamente, os estudos reforçam a importância da participação regular em alguma AF e/ou exercício. Entretanto, os adultos mais velhos e as populações especiais que vivem com deficiências e/ou doenças crônicas, que podem limitar a mobilidade e/ou a resistência física também podem se beneficiar da prática de um estilo de vida mais ativo fisicamente, geralmente aumentando a atividade ambulatorial. Por esse motivo, muitos pesquisadores têm questionado se, limiares tão restritivos de AF, são necessários (isto é, 150 min/semana de AFMV) para promover mudanças de saúde efetivas e sustentáveis, nos níveis individual e populacional. Nesse sentido, algumas revisões sistemáticas da literatura e metanálises recentes demonstraram que um volume de AF de metade (ou até menos) da recomendação internacional atual pode levar a benefícios para a saúde (WARBURTON; BREDIN, 2016).

Do ponto de vista da tradução do conhecimento, é importante destacar que, aumentos relativamente menores na AF em indivíduos inativos, levarão a reduções acentuadas no risco de doença crônica e mortalidade, em indivíduos aparentemente saudáveis e também em pessoas que vivem com condições médicas crônicas. Além disso, importante, também, é a evidência associada de que o tempo sedentário (em particular o tempo sentado) tem seu próprio risco para a saúde, mesmo para pessoas fisicamente ativas (WARBURTON; BREDIN, 2016).

Neste sentido, Tudor-Locke *et al.* (2011a), demonstraram que 30 minutos por dia de AFMV, em pacientes idosos e em populações especiais, pode ser descrita como 7.500

passos por dia, podendo, assim, definir os pacientes como fisicamente ativos ou inativos. Outro estudo mostrou ainda que, um incremento de 1.000 passos por dia, já apresenta relevância clínica em portadores de doenças crônicas (DWYER *et al.*, 2011).

Com o objetivo de obter uma medida direta da AF e também devido à necessidade de associar movimentação física ao gasto energético iniciou-se a utilização de sensores de movimento denominados de pedômetros e acelerômetros na avaliação do exercício (BARREIRA; HARRINGTON; KATZMARZYK, 2014). Os acelerômetros apresentam uma maior acurácia na detecção do movimento por terem maior sensibilidade para movimentos de baixa força e também ao movimento bípede do ser humano. Fornecem também o número de passos e o tempo gasto sentado, em pé ou em caminhada, permitindo também calcular o gasto energético despendido ao longo das atividades (TUDOR-LOCKE *et al.*, 2011b).

Dessa forma, garantir que a maioria da sociedade contemporânea seja capaz de perceber os benefícios da AF de rotina é uma importante política de saúde pública. Além disso, a promoção da AF não deve ser feita isoladamente, mas sim como parte de uma promoção maior da importância de se engajar em comportamentos saudáveis no estilo de vida, como cessação do tabagismo, nutrição saudável, controle do estresse, sono adequado e consumo limitado de álcool (WARBURTON; BREDIN, 2017).

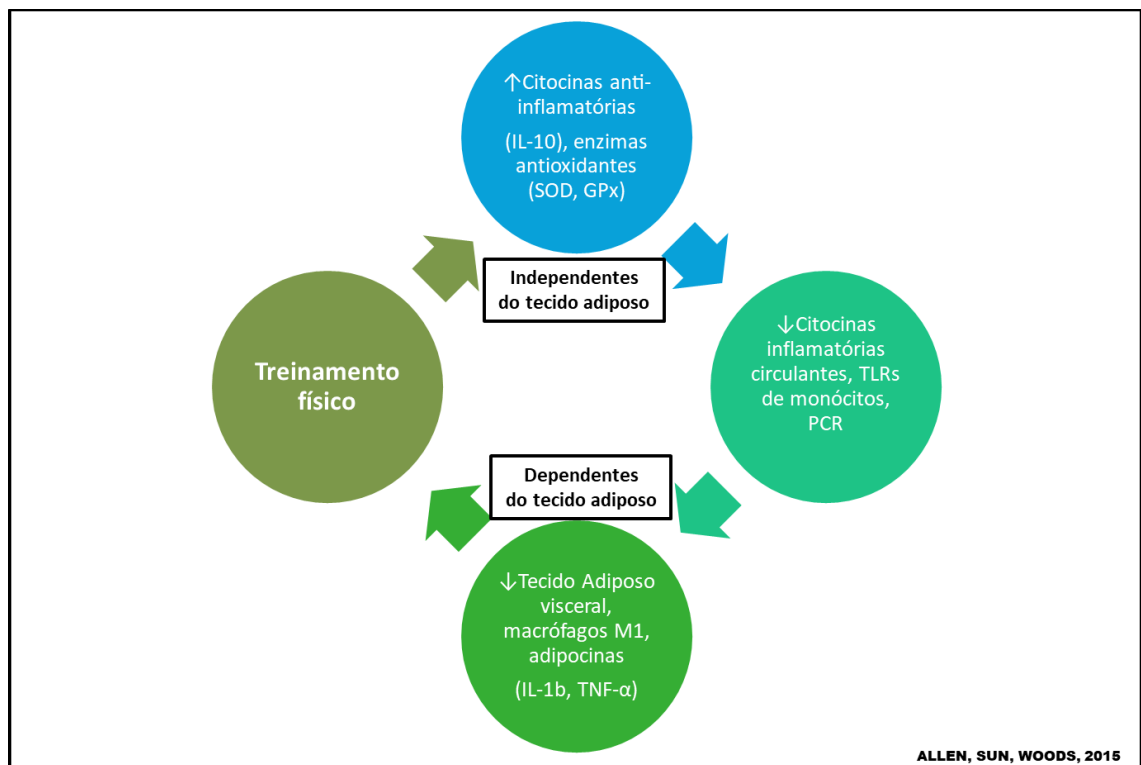
4.2 ATIVIDADE FÍSICA E SISTEMA IMUNE

O exercício inicia uma cascata de eventos inflamatórios, que acabam por levar a efeitos na saúde humana no longo prazo. Durante e após o exercício agudo no músculo esquelético, interações entre células imunes, citocinas e outros componentes intracelulares, criam um meio inflamatório responsável pela recuperação e adaptação ao exercício. Na circulação sistêmica, as citocinas liberadas do músculo (miocinas) mediam processos metabólicos e inflamatórios. O treinamento moderado resulta em melhorias na inflamação sistêmica, evidenciadas por reduções nas proteínas de fase aguda (CRONIN *et al.*, 2017).

O treinamento físico, ao longo do tempo, exerce ações anti-inflamatórias por meio de diversos mecanismos distintos que incluem ações dependentes e independentes de

alterações na massa de tecido adiposo. Além da redução da gordura visceral, esses mecanismos incluem aumento da produção e secreção de citocinas anti-inflamatórias advinda da contração muscular, regulação negativa dos TLRs em monócitos e macrófagos e adaptações na geração intracelular de ROS (Figura 22) (ALLEN; SUN; WOODS, 2015).

Figura 22 – Efeitos do Exercício Físico de Intensidade Moderada no Longo Prazo sobre Marcadores Inflamatórios e Mediadores Imunológicos



Fonte: Elaborado pela autora

Os efeitos anti-inflamatórios podem se manifestar por mecanismos dependentes ou independentes do tecido adiposo.

Abreviações: IL: interleucina, SOD: superóxido dismutase, GPx: glutaciona peroxidase.

Grande parte do trabalho com foco nos mecanismos, pelos quais o exercício reduz a inflamação, tem implicado o tecido adiposo. O pensamento atual é que a inatividade física e a alta ingestão calórica resultam em aumento do tecido adiposo e hipertrofia dos adipócitos, que acabam por sofrer um estresse hipóxico que leva à necrose e morte celular devido à dificuldade para difusão de oxigênio. A necrose é um estímulo potente para respostas inflamatórias, pois o sistema imune inato inicia uma resposta adaptativa e reparadora no tecido adiposo inflamado. Este efeito é particularmente prejudicial no tecido adiposo visceral, que parece ter um elevado potencial inflamatório em relação à

gordura subcutânea. Exercício, criando um desequilíbrio calórico e mobilizando a gordura do tecido adiposo, reduz o tamanho dos adipócitos, reduzindo assim o estresse hipóxico e a inflamação (ALLEN; SUN; WOODS, 2015).

Entretanto, exercício e atividade física também podem invocar ações anti-inflamatórias independentes de alterações na massa gorda. Os mediadores inflamatórios que regulam esta resposta atuam sobre vários tecidos, principalmente, o músculo esquelético. A cascata inflamatória é caracterizada por uma resposta proinflamatória inicial (1.5 a 24 horas após o exercício), seguida por uma resposta regenerativa muscular anti-inflamatória (24 a 72 horas após o exercício) (ALLEN; SUN; WOODS, 2015). O conhecimento atual indica que o dano muscular é iniciado quando as miofibrilas são alongadas durante a contração. Uma resposta imediata à lesão muscular é a liberação de uma vasta gama de DAMPs, que são liberados no ambiente extracelular, em resposta ao trauma. O resultado é a ruptura da integridade dentro do miócito, que pode levar a eventos proteolíticos ou inflamatórios, com aumento de agentes e citocinas inflamatórias, que promovem, então, a migração de efetores imunitários inatos (macrófagos e neutrófilos) para a área danificada. A promoção de ROS e DAMPs por exercício pode e tem sido vista como uma resposta deletéria. No entanto, há evidências crescentes, de que, muitos dos processos prooxidativos e proinflamatórios que ocorrem após o exercício agudo, podem ser vitais para as respostas adaptativas de longo prazo e que iniciam a adaptação metabólica e o reparo tecidual no músculo esquelético (Figura 23) (ALLEN; SUN; WOODS, 2015).

Durante o processo de reparação do tecido, ocorre uma polarização dinâmica de macrófagos. A mudança de um fenótipo proinflamatório M1 inicial, 24 horas após o exercício excêntrico, para um fenótipo anti-inflamatório M2, 48 a 72 horas após o exercício, mostra a importância do processo inflamatório no início do processo, sendo que, o recrutamento inicial de macrófagos M1, é vital para a fagocitose de células necróticas, bem como a proliferação de células miogênicas. As moléculas efetoras, como ROS, espécies reativas de nitrogênio (RNS, do inglês *reactive nitrogen species*) e as citocinas inflamatórias (IL-1 β , TNF- α e IL-6), produzidas pelos macrófagos M1, promovem esses processos necróticos e inflamatórios. A indução subsequente de macrófagos M2 é vital para a reparação e regeneração muscular (Figura 23) (CRONIN *et al.*, 2017).

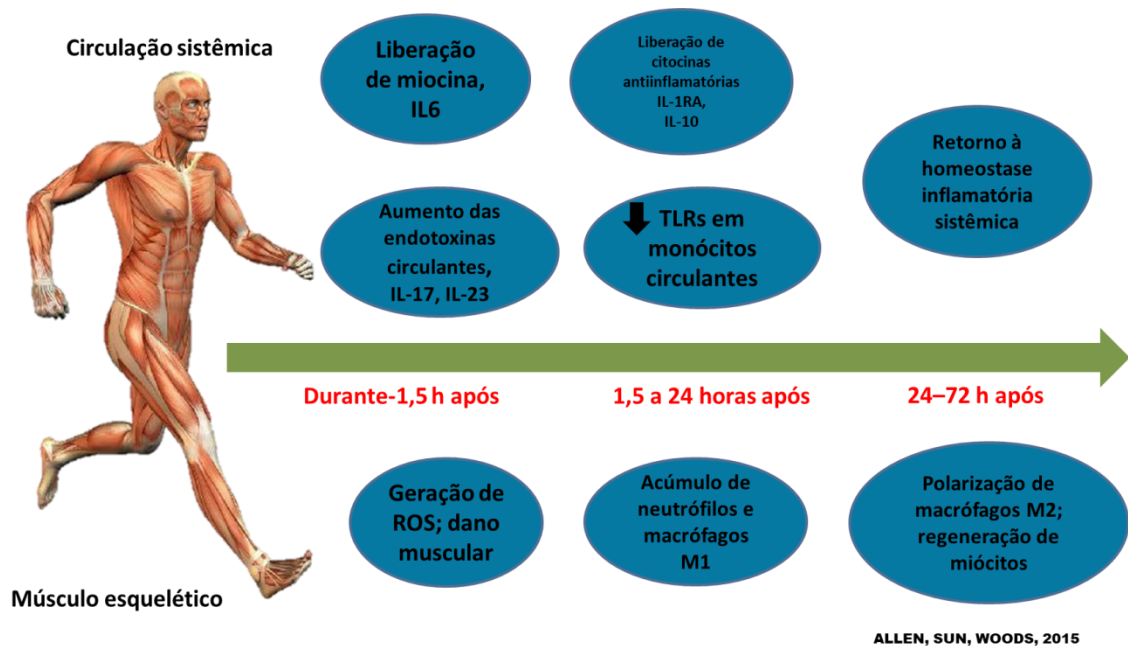
O exercício agudo também inicia processos “inflamatórios” na circulação sistêmica, em áreas muito além do músculo esquelético, evidenciadas pelas alterações maciças das citocinas circulantes, liberadas diretamente do músculo esquelético e, portanto, denominadas “miocinas”. Uma dessas miocinas, a IL-6, tem efeitos proinflamatórios na função imune sistêmica. Entretanto, no contexto do exercício, elevações transitórias na IL-6, proveniente do músculo esquelético, de fato atuam de maneira anti-inflamatória pela indução de citocinas anti-inflamatórias, tais como o antagonista do receptor da IL-1 (IL-1RA) e a IL-10. A IL-1RA associa-se ao receptor da IL-1 (IL-1R), que inibe os efeitos potentes e deletérios das citocinas proinflamatórias, IL-1 β e IL-1 α . A IL-6 também estimula a liberação de cortisol, que é um hormônio anti-inflamatório (ALLEN; SUN; WOODS, 2015). Já a IL-10 exerce efeitos anti-inflamatórios numa variedade de células imunitárias, além de, também, regular negativamente as citocinas proinflamatórias, as células T e outras células efetoras, limitando assim, a capacidade dessas células em manter uma resposta inflamatória prolongada (Figura 23) (CRONIN *et al.*, 2017).

Os TLRs são proteínas transmembrana que desempenham um papel importante na detecção de PAMPs e DAMPs, como aqueles induzidos por danos nos tecidos. A ativação de TLRs resulta na produção de citocinas proinflamatórias. O exercício agudo pode reduzir a expressão de TLRs nos monócitos do sangue, o que dessensibiliza essas células a estímulos inflamatórios, contribuindo assim com um efeito anti-inflamatório (ALLEN; SUN; WOODS, 2015).

A resposta inflamatória após uma sessão de exercício também pode iniciar respostas proinflamatórias e de morte celular, dentro das células do sistema imunológico e do tecido afetado, mas isso depende, em grande parte, da modalidade e da intensidade do exercício. A IL-17, também liberada após o exercício, pode iniciar uma resposta inflamatória através da ativação e recrutamento de neutrófilos, com subsequente dano muscular. A inflamação sistêmica após o exercício, também pode depender de outros eventos únicos que ocorrem após o exercício, como a endotoxemia, ou seja, a liberação de bactérias entéricas Gram-negativas e/ou seus componentes de membrana celular associados, que, em última análise, leva a uma resposta inflamatória sistêmica, através da ativação de PRRs em vários tipos de células e uma diminuição significativa na expressão do TLR em monócitos circulantes, 1,5 hora após exercícios de resistência intensiva. A

liberação de bactérias entéricas na circulação foi ligada a uma perda de integridade da barreira mucosa no TGI, causada por hipoperfusão esplâncnica, uma adaptação evolutiva conservada para melhorar a perfusão sanguínea nos tecidos necessários para o movimento e a respiração (Figura 23) (PEAKE *et al.*, 2017).

Figura 23 – Adaptação Imune ao Exercício



Fonte: Elaborado pela autora

Abreviações: IL: interleucina; TLR: “*toll like receptors*”; ROS: espécies reativas a oxigênio

4.3 ATIVIDADE FÍSICA NA DOENÇA DE CROHN

Como exposto acima, já é conhecido que o exercício intenso, como a corrida de longa distância e o triatlo, pode causar náusea, azia, diarreia ou até sangramento gastrointestinal, e que, corredores de maratona, sofrem da “colite isquêmica do corredor”, envolvendo diarreia sanguinolenta, fadiga e febre (BILSKI *et al.*, 2013).

Entretanto, o exercício tem benefícios bem estabelecidos nas doenças gastrointestinais, sendo que, a AFMV, tem sido associada a uma diminuição do risco de constipação, doença diverticular e colelitíase. O exercício moderado também está associado a um menor risco de CCR, com uma redução média de risco de 20% a 25%. Essa pode ser uma consideração importante em pacientes com DII, com história de

inflamação do cólon de longa data, que apresentam maior risco de desenvolvimento de displasia colorretal. Curiosamente, a força da evidência para essa redução de risco, na população em geral, é mais forte para o CCR, do que para qualquer outro tipo de câncer. Além disso, o exercício melhora a qualidade de vida e a capacidade funcional em pacientes com CCR. Finalmente, estudos prospectivos também sugeriram que a AF de intensidade moderada tem um efeito benéfico, tanto na sobrevida global, quanto na sobrevida livre de progressão, em pacientes com CCR (BILSKI *et al.*, 2014).

Apesar dos inúmeros benefícios potenciais da AF, há evidências de que uma grande parte da população com DII é fisicamente inativa e também é menos ativa do que aquelas sem a doença. Embora as razões para isso não sejam claras, pesquisas recentes demonstraram que, muitos pacientes, embora com a doença em remissão, citam limitações à AF, devido a fatores relacionados à DII, como fadiga e dores articulares e abdominais. Ainda que a maioria desses sintomas desapareça com a remissão da doença, eles ainda evitam fazê-lo por medo, vergonha ou insegurança pela falta de acesso ao banheiro. Há também evidências de que, os sintomas e transtornos depressivos, podem ter um impacto adverso sobre os comportamentos de autogestão, como a AF (TEW; JONES; MIKOCKA-WALUS, 2016).

Estudos em populações não-DII demonstraram que o exercício de baixa a moderada intensidade melhora a função imunológica. Foi hipotetizado que o exercício de intensidade moderada exerce um efeito anti-inflamatório, tanto pela diminuição da gordura visceral, como pela subsequente liberação de citocinas pró-inflamatórias e de miocinas, como a IL-6, em cada sessão de exercícios. A IL-6, liberada durante o exercício, demonstrou aumentar a liberação de peptídeos do tipo glucagon, que são fatores tróficos associados ao reparo da mucosa intestinal danificada. Estudos em modelos animais de colite demonstraram que o exercício diminui a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α e a IL-1 β , aumenta a expressão da IL-6 e da citocina anti-inflamatória IL-10, além de atenuar o estresse e a disfunção da barreira mucosa e melhorar a colite. Por meio desses mecanismos, o exercício pode ter benefícios, tanto no desenvolvimento, como no curso da DII (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

A contração de músculos esqueléticos libera miocinas como a IL-15 com efeitos endócrinos, mediando efeitos anti-inflamatórios diretos e/ou efeitos específicos sobre a gordura visceral. O possível papel de uma nova miocina, a irisina, que é secretada durante

o exercício e atua sobre as células de gordura branca, ainda é estudado. Pesquisas recentes sugerem que, a hipertrofia do tecido adiposo branco mesentérico ou “gordura rasteira” (mWAT, do inglês *mesenteric white adipose tissue*), localizado ao redor das partes inflamadas do intestino, em pacientes com DC, contribui ativamente para a gravidade da doença e pode influenciar o início das complicações. Evidências acumuladas sugerem que o mWAT, composto não apenas de gordura, mas também de macrófagos e linfócitos T, desempenha um papel importante como fonte de inflamação e libera vários fatores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas (BILSKI *et al.*, 2016).

Essa gordura mesentérica, presente desde o início da doença, está associada à superexpressão de TNF- α , leptina e outras adipocinas e se correlaciona com a gravidade da inflamação intestinal e lesão tecidual, sugerindo um importante papel do mWAT no processo inflamatório intestinal na DC. Uma superexpressão de miRNA da leptina no mWAT, uma citocina proinflamatória produzida por adipócitos, está aumentada na DC e pode regular positivamente a expressão de NF- κ B nas IECs, regulando diretamente a produção de várias citocinas, particularmente aquelas liberadas pelas células T, como a IL-2 e o IFN- γ , enquanto diminui os níveis da IL-4 (ZIELINSKA *et al.*, 2019).

A produção maciça de citocinas no cólon inflamado, além de bactérias translocadas, poderia induzir ainda mais a produção de mediadores proinflamatórios no tecido adiposo adjacente, induzindo um ciclo vicioso, no qual as condições inflamatórias no intestino e no mWAT se sustentam. A superprodução de citocinas e, particularmente, a leptina pela gordura mesentérica podem levar à anorexia, outra característica presente na DC (ZIELINSKA *et al.*, 2019).

Durante a última década ocorreu um aumento significativo no número de publicações investigando a AF na DII (ELIA; KANE, 2018). Existem dados objetivos que apoiam a percepção de que a DII pode limitar a capacidade de um indivíduo de se exercitar. Marcadores objetivos de capacidade de exercício são reduzidos na população de pacientes com DII quando comparados a controles saudáveis. O limiar anaeróbio, a força muscular e a recuperação da frequência cardíaca são menores nas populações com DII, embora o mecanismo não esteja claro. Outros fatores, como a anemia relacionada à doença, também podem desempenhar um papel na redução da capacidade de exercício (BILSKI *et al.*, 2016).

No entanto, do conhecimento atual sobre o exercício em relação às funções imunológicas e à rede de citocinas e, em particular, sobre o papel secretório da contração dos músculos, conclui-se que, uma atenção relativamente pequena tem sido abordada acerca dos mecanismos de ação da AF regular em pacientes com DII como a DC, na qual a resposta imune é prejudicada. A maioria dos estudos examinou os efeitos benéficos do exercício, em termos de qualidade de vida e aptidão geral, mas, relativamente, poucos estudaram os efeitos do treinamento na patogênese da doença e medidas de inflamação (BILSKI *et al.*, 2014).

Houve apenas um conjunto de diretrizes publicadas para o exercício em pacientes com DII. Essas diretrizes foram baseadas em dados de exercícios de indivíduos saudáveis, não em dados específicos de pacientes com DII. Essa falta de validação em uma subpopulação com DII questiona a aplicabilidade dessas diretrizes (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

O primeiro estudo de coorte a examinar o papel do exercício no desenvolvimento da DII foi realizado por Sonnenberg (1990). Ele realizou uma revisão retrospectiva, de 12.014 pacientes em um banco de dados de seguridade social de trabalhadores alemães e descobriu que, ocupações anteriores à doença realizadas ao ar livre e que envolviam AF, eram protetoras contra o desenvolvimento de DII, quando comparadas a ocupações mais sedentárias e internas.

Os resultados agrupados de estudos posteriores aos de Sonnenberg, também demonstram que níveis mais altos de exercícios estão associados a um risco reduzido de DC, em comparação com aqueles com baixa AF. Não houve associação entre o exercício e o desenvolvimento da RCU. No entanto, parece haver uma associação significativa entre baixos níveis de AF e o início da DC, mas não da RCU. Uma explicação para esses achados poderia ser que o exercício resulta em um ambiente anti-inflamatório, que diminui o aparecimento da DC. Alternativamente, pacientes que se exercitam regularmente são mais propensos a ter outros hábitos saudáveis, que podem diminuir o aparecimento da DC. Tais fatores podem incluir uma dieta mais saudável, diminuição das taxas de tabagismo, melhora do sono e diminuição do estresse (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

Até o momento, poucos estudos prospectivos ou retrospectivos examinaram se o curso da DII é afetado pelo exercício. Os estudos disponíveis também se concentraram em medidas de resultados variáveis (ENGELS; CROSS; LONG, 2018). Pacientes com DII têm taxas mais elevadas de osteoporose do que a população em geral, provavelmente devido a uma combinação de inflamação, má absorção e medicamentos como corticosteroides. A AF também mostrou ser uma intervenção eficaz quando parte de um programa de bem-estar multifacetado, e parece melhorar a qualidade de vida. Além disso, os participantes relataram que o exercício contribui para melhorar o bem-estar, a confiança, aumentar os níveis de energia, sentir-se mais em forma ou mais saudável, controlar o peso e melhorar o sono (ELIA; KANE, 2018). Outro estudo demonstrou uma tendência significativa para melhora nos escores de fadiga física e cognitiva em pacientes que instituíram um programa regular de exercício (VAN LANGENBERG; GIBSON, 2014).

Um recente estudo prospectivo de pacientes com DC e RCU em remissão clínica utilizando uma coorte baseada na Internet, investigou os efeitos independentes do exercício sobre o risco de recaída após seis meses. O risco de DC ativa no seguimento foi reduzido naqueles com níveis mais altos de exercício na análise multivariada para DC e RCU (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

Estudos prospectivos demonstraram baixo risco de exacerbação dos sintomas, com aumentos semelhantes nas células do sistema imunológico, fatores de crescimento e citocinas inflamatórias em ambos, controles saudáveis e pacientes com DC, mostrando que o exercício não tem efeitos prejudiciais nestes pacientes, com os marcadores inflamatórios retornando à linha de base, dentro de, um máximo, de 60 minutos após a cessação do exercício. A natureza transitória dessas elevações sugere que há pouco risco de exacerbação dos sintomas com o exercício em pacientes com DII (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

Tampouco, nenhuma complicação no longo prazo foi associada à AF em pacientes com DII. Não houve aumento dos sintomas gastrointestinais, alterações na permeabilidade intestinal ou piora do tempo de trânsito, em pacientes com DC em remissão clínica. Estes estudos também não demonstraram efeitos adversos sérios em regimes de exercício de baixa intensidade e nenhum agravamento dos escores de atividade da doença (JONES *et al.*, 2015).

Dados recentes limitados sugerem que mesmo esportes de resistência, de alta intensidade podem ser seguros em alguns pacientes com DII, sendo que, os pacientes desse estudo, não apresentaram alterações nos níveis de calprotectina nas fezes, nos sintomas ou nos escores de atividade da doença (TEW *et al.*, 2019).

Um recente estudo, conduzido com este mesmo grupo de pacientes, mostrou que a remissão clínica induzida por IFX, seguida de terapia de manutenção, é eficaz para aumentar os níveis de AF na vida diária, em pacientes com DC ativa com indicação de terapia anti-TNF (LUCCA *et al.*, 2018).

A AF, portanto, pode desempenhar um papel importante como fator modificável, tanto no desenvolvimento, quanto no curso da DII. Os dados sugerem que as taxas de exercício estão inversamente relacionadas à atividade atual da doença. A AF também pode desempenhar um papel preventivo, juntamente com outros fatores, no desenvolvimento da DII. Embora existam algumas preocupações quanto às barreiras ao exercício em pacientes com DII, a AF de intensidade moderada demonstrou segurança e benefícios potenciais para pacientes com doença não grave (ELIA; KANE, 2018).

Além disso, a AF pode fornecer benefícios adicionais, como a melhora do sono, humor e DMO em pacientes com DC. Mais estudos são necessários para orientar recomendações específicas sobre a intensidade, frequência e tipos de exercícios que podem ser mais benéficos para pacientes com DII (ENGELS; CROSS; LONG, 2018).

5 JUSTIFICATIVA

Os dados da literatura demonstram que a atividade física (AF) aumenta a qualidade de vida e reduz a mortalidade por todas as causas, mesmo em pacientes com doenças crônicas, sendo um preditor de qualidade da saúde pública. A AF também tem um impacto na função imune, e há a hipótese de que possa estar relacionado ao seu efeito anti-inflamatório, diminuindo o tecido adiposo visceral e liberando citocinas / miocinas proinflamatórias e anti-inflamatórias. Os pacientes com DC apresentam menor nível de AF e este comportamento é, em parte, determinado pela atividade da doença. A terapia com infliximabe (IFX) pode induzir a remissão clínica e, portanto, favorecer o aumento da AF. Entretanto, os fatores preditivos de melhora da AF após remissão clínica na DC são elusivos. Portanto, nós visamos avaliar o perfil de citocinas inflamatórias e o possível incremento de AF em pacientes com DC tratados com IFX.

6 OBJETIVOS

Avaliar a relação entre níveis séricos das citocinas inflamatórias, TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-17 e o nível de atividade física em portadores de doença de Crohn moderada a grave tratados com infliximabe.

Avaliar os possíveis fatores clínicos associados à melhora da atividade física em portadores de doença de Crohn moderada a grave tratados com infliximabe.

7 MATERIAL E MÉTODOS

7.1 DEFINIÇÕES

Este estudo longitudinal prospectivo, antes e após intervenção, foi realizado entre março de 2014 e junho de 2017, em pacientes ambulatoriais adultos com DC ativa do Centro de Doenças Inflamatórias Intestinais do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Brasil. O protocolo do estudo foi definido de acordo com a declaração de Helsinque e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do UFJF (parecer número 1.891.460). Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes de serem admitidos na investigação.

7.2 AMOSTRA

Foram incluídos pacientes com DC, com idades entre 18 anos e 65 anos, com história de doença ativa há 3 meses, definida como pontuação no índice Harvey-Bradshaw (HBI) (HARVEY; BRADSAW, 1980) igual ou superior a 5 e nível sérico de proteína C-reativa (PCR) superior a 3,0 mg/l, com indicação para terapia anti-TNF- α , ou seja, doença refratária que não responde a terapias convencionais ou dependentes de esteroides e aqueles que apresentam doença agressiva ou características de prognóstico ruim, como doença extensa, doença fistulizante complexa ou lesão endoscópica grave, conforme definido pela presença de úlceras profundas e extensas.

Os critérios de exclusão foram: doença grave que requer hospitalização ou cirurgia imediata, história de cirurgia recente (últimos seis meses), tratamento prévio com agente anti-TNF ou outra terapia biológica, síndrome do intestino curto, ostomia, obesidade classe II ou III – IMC (índice de massa corporal) ≥ 35 kg/m², doença hepática grave, síndromes de imunodeficiência, doença renal terminal, doenças neuromusculares, malignidade (exceto câncer de pele não melanoma), nível de hemoglobina abaixo de 11 g/dl no início do estudo, participação em programa formal de treinamento físico nos seis meses anteriores, gestantes e nutrízes.

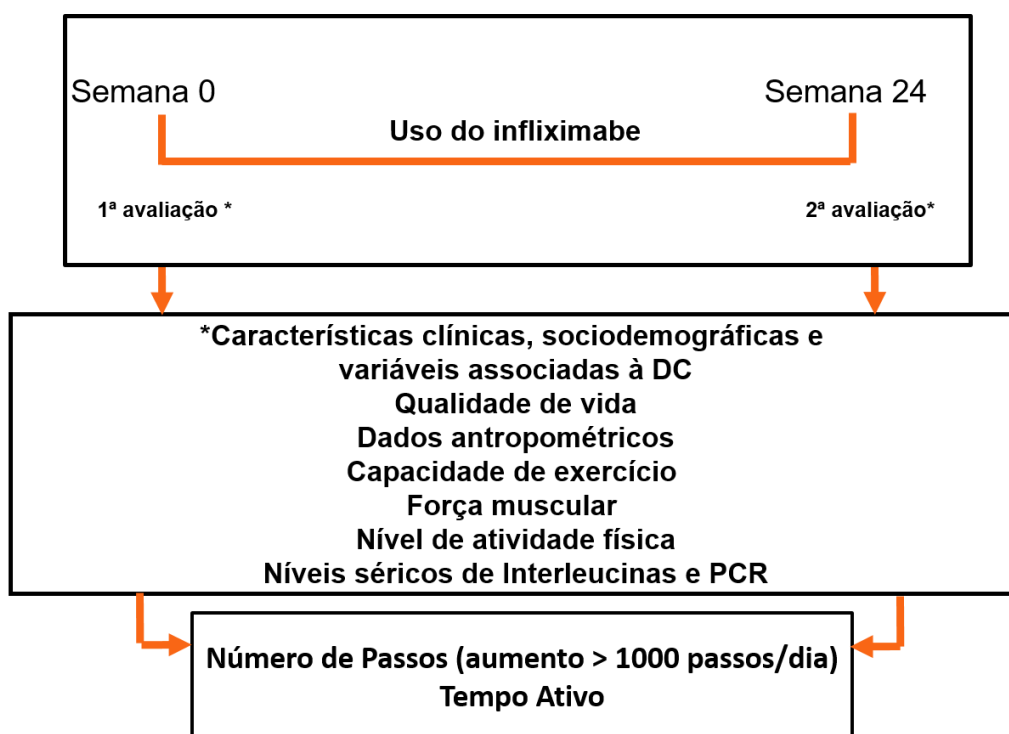
7.3 DESENHO DO ESTUDO E SEGUIMENTO

Cada um dos pacientes foi avaliado em dois momentos diferentes: na semana zero, antes da administração do infliximabe (IFX) e na 24ª semana após o tratamento com IFX. Foram coletados os dados clínicos, sociodemográficos e antropométricos. Também foram obtidas variáveis associadas à doença, incluindo duração, localização e fenótipo da DC, de acordo com a classificação de Montreal (SATSANGI *et al.*, 2006) e atividade da doença, medida de acordo com o escore HBI (HARVEY; BRADSHAW, 1980), estabelecido por ileocolonoscopia e tomografia computadorizada, realizadas até seis meses antes da entrada no estudo. Os níveis séricos de IL-6, IL-17, IFN- γ , TNF- α e PCR, atividade física na vida diária, capacidade de exercício, força muscular periférica e qualidade de vida foram avaliados em todos os pacientes.

Para quantificar a atividade da DC, foi assumido como doença ativa, escore HBI ≥ 5 , enquanto remissão após a terapia com IFX foi definida por HBI menor que 5 e normalização do nível da PCR ($<3,0$ mg/l). Para fins práticos, os pacientes foram categorizados em não respondedores à terapia com IFX, se foi registrada falha em alcançar a remissão clínica (exemplo, HBI ≥ 5) e / ou a normalização do nível da PCR a partir da linha de base, após a terapia anti-TNF, avaliada 24 semanas após as infusões iniciais. A Figura 24 demonstra o fluxograma do desenho do estudo.

Os pacientes elegíveis receberam terapia de indução, consistindo em injeções intravenosas de 5 mg/kg de IFX nas semanas 0, 2 e 6, seguidas de infusão de manutenção (5 mg/kg) nas semanas 14 e 22. Os participantes foram acompanhados até a 24ª semana. As doses das medicações concomitantes foram mantidas constantes, exceto aqueles em uso de esteroides, para os quais a dose poderia ser reduzida, se necessário.

Figura 24 – Fluxograma do Desenho do Estudo



Fonte: Elaborado pela autora

Abreviações: IBDQ: *Inflammatory Bowel Disease Questionnaire*, IMM: índice de massa magra, IMG: índice de massa gorda, PCR: proteína C-reativa

7.4 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E DA FORÇA MUSCULAR PERIFÉRICA

Os pacientes deveriam usar roupas leves e estar descalços para a avaliação dos dados antropométricos. A estatura foi medida em centímetros (cm), arredondada para 0,5 cm mais próximo; o peso foi medido em quilogramas (kg), arredondado para 0,1 kg mais próximo, sendo calculado o IMC. As medidas de massa magra (MM) e massa gorda (MG) foram obtidas por bioimpedância elétrica (Quantum BIA-101Q, Detroit, MI). As medidas de impedância foram realizadas no lado direito, com o paciente em decúbito dorsal e os membros afastados um do outro. Utilizamos uma equação de regressão previamente validada para analisar a MM (BARBOSA-SILVA *et al.*, 2005). O índice de massa magra (IMM) e o índice de massa gorda (IMG) foram calculados dividindo-se a MM e MG pela altura ao quadrado, respectivamente.

A força de apreensão manual (*Handgrip*) é um teste simples e objetivo, que avalia a função do músculo esquelético. O teste foi realizado com um dinamômetro hidráulico (SAEHAN[®], Coreia), de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Terapeutas da Mão (FESS 1992). Os pacientes ficaram sentados em uma cadeira sem braços, com os pés apoiados no chão, segurando o dinamômetro com a mão, com o cotovelo a 90 graus de flexão entre o punho e o antebraço, realizando a sua apreensão, com o máximo de força, após um comando de voz. Três valores foram obtidos com a mão dominante, e o valor mais alto foi comparado à tabela de normalidade com base no sexo e idade (ANGST *et al.*, 2010).

7.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA NA VIDA DIÁRIA E DA CAPACIDADE DE EXERCÍCIO

A AF na vida diária foi monitorada pelo Monitor de Atividade DynaPort[™] (McRoberts BV, Haia, Holanda), um acelerômetro triaxial que mede o tempo gasto em atividades e posições distintas (em pé, andando, deitado e sentado) e o número de passos. Os pacientes foram instruídos a colocar o acelerômetro na cintura e usá-lo durante a vigília (12 horas/dia) por quatro dias consecutivos, exceto durante o banho e atividades aquáticas. Durante esse período de quatro dias, foram registrados o número total de passos/dia (NP/dia), o Tempo Ativo (TA) e o Tempo Inativo (TI). Para análise do NP/dia foi utilizado, como valor de corte, um aumento \geq a 1000 passos ao dia (DWYER *et al.*, 2011). O TA foi definido como o tempo total diário gasto andando e de pé; o TI foi obtido pela soma do tempo sentado e deitado. O valor médio de cada dia foi utilizado para análise estatística. A acurácia do monitor e as especificações técnicas foram fornecidas pelo fabricante (WELK; MCCLAIN; AINSWORTH, 2012). Todos os participantes foram instruídos a manter suas atividades habituais da vida diária enquanto utilizavam o dispositivo. Todas as análises dos valores obtidos no acelerômetro foram revisadas pelo mesmo pesquisador, que desconhecia os detalhes clínicos dos pacientes.

A capacidade de exercício foi avaliada pelo teste da caminhada de shuttle (SWT, do inglês *shuttle walking test*) (SINGH *et al.*). No SWT, o paciente é ordenado a ir e voltar em um percurso de 10 metros, separado por cones. Um sinal de áudio determina a velocidade com que o paciente deve andar. A cada minuto a velocidade de caminhada é

incrementada. O teste é interrompido quando o paciente se sente incapaz de manter a velocidade necessária ou se surgirem sintomas limitantes. A distância total percorrida indica a capacidade de exercício.

7.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA

A qualidade de vida (QV) foi avaliada pelo *Inflammatory Bowel Disease Questionnaire* (IBDQ), que foi traduzido e validado anteriormente no Brasil (PONTES *et al.*, 2004). O IBDQ é um questionário projetado especificamente para avaliar a QV em pacientes com DII (MITCHELL, A. *et al.*, 1988). É composto por 32 questões que avaliam diferentes aspectos da qualidade da saúde, reunidos em quatro domínios: sintomas intestinais, sintomas sistêmicos, funções sociais e emocionais. O escore é baseado na escala Likert que varia de 1 a 7, sendo 1 o pior estado e 7 a melhor QV. Todos os domínios são agrupados e resumidos, fornecendo a escala global.

7.7 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Os tubos de 5 ml de sangue, sem anticoagulante foram coletados por punção venosa, na semana zero, antes da primeira infusão do IFX, e na semana 24, com o paciente em jejum de, pelo menos, 8 horas; e foram centrifugados à 3500 rpm, por 10 minutos. As amostras de soro coletadas foram armazenadas em freezer à -86°C, para posterior determinação da PCR e das citocinas. A PCR ultrasensível foi determinada utilizando o método imunoturbidimétrico com látex em aparelho analisador BT 3000 plus (Wiener lab Group). As citocinas TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-17 foram dosadas pelo método de ELISA.

As amostras foram quantificadas por comparação com as curvas padrões recombinantes e as concentrações dos anticorpos e recombinantes foram realizadas de acordo com recomendações do fabricante (PeProtech Inc, New Jersey). A densidade óptica foi medida a 405 nm com um espectrofotômetro (TP Reader NM:Thermoplate).

7.8 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Para fins de cálculo da amostra, foi selecionado, arbitrariamente, um ponto de corte de 20%, para definir uma diferença substancial no NP dados pelos pacientes, antes e após a remissão induzida pelo IFX. Para detectar essa diferença de 20% no NP, com 90% de poder e nível de significância de 5%, o tamanho necessário da amostra foi de, pelo menos, 40 pacientes, considerando uma taxa de remissão por IFX, em 24 semanas, de 70%. O número de pacientes foi aumentado para 44, para compensar uma taxa de *dropout*, antecipada, de 10%.

7.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado o *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Chicago, IL, USA), na versão 13.0. Após testada a normalidade das variáveis, estas foram apresentadas como média e desvio padrão, frequência ou por mediana e quartis.

Na análise das interleucinas e do PCR, para as comparações antes e após o uso do IFX, foi utilizado o teste *t* para amostras pareadas. Ou o teste de Wilcoxon, de acordo com a normalidade.

Para se comparar as variáveis métricas com o desfecho NP/dia e TA foi utilizado o teste *t* para amostras independentes; ou o teste de Kruskal-Wallis, de acordo com a normalidade. Foi realizado ainda o teste qui-quadrado para verificar a associação entre as variáveis categóricas e o desfecho NP/dia e TA. O nível de significância estatística foi definido como $p \leq 0.05$ para todos os testes.

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão são apresentados no formato de artigo científico, de acordo com o regimento do Programa de Pós-Graduação em Saúde (Apêndice A). Este artigo foi submetido a um jornal indexado, International Journal of Clinical Pharmacy (Qualis B2/ Fator de impacto 1.692) e o comprovante de submissão consta no Anexo C.

9 CONCLUSÕES

Nossos resultados indicaram que em pacientes com DC, em remissão clínica após uso de IFX, houve redução nos níveis séricos das citocinas IL-6, IL-17, TNF- α e IFN- γ , tanto nos que incrementaram o nível de atividade física, quanto naqueles que não obtiveram esse aumento, mostrando a influência do tratamento no nível sérico destas citocinas. Em particular, pacientes que não responderam ao IFX, mas aumentaram o nível de AF apresentaram incremento na IL-6 e IL-17. Entretanto, ainda não está claro se este achado reflete a presença de uma via inflamatória independente da sinalização do TNF- α ou até mesmo o aumento da AF por si. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os fatores clínicos, demográficos, antropométricos, de capacidade física e qualidade de vida com as variações nos níveis de atividade física em pacientes com DC em remissão após uso do IFX. É fundamental que as abordagens terapêuticas para a DC, além da terapia imunobiológica, estejam associadas à promoção da AF e ao engajamento em comportamentos saudáveis no estilo de vida, como parte das estratégias de tratamento para essa população de pacientes.

REFERÊNCIAS

- AHLUWALIAA, B. *et al.* Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. **Scand J Gastroenterol**, v. 53, p. 379-389, Apr 2018.
- ALEKSANDROVA, K.; ROMERO-MOSQUERA, B.; HERNANDEZ, V. Diet, Gut Microbiome and Epigenetics: Emerging Links with Inflammatory Bowel Disease and Prospects for Management and Prevention. **Nutrients**, v. 9, p. 962, 2017.
- ALLEN, J.; SUN, Y.; WOODS, J. A. Exercise and the Regulation of Inflammatory Responses. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 135, p. 337-54, 2015.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N. *et al.* Environmental triggers in IBD: a review of progress and evidence. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 15, p. 39-49, Jan 2018.
- ANGST, F. *et al.* Prediction of grip and key pinch strength in 978 healthy subjects. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 19, p. 11-94, 2010.
- ANTONELLI, M.; KUSHNER, I. It's time to redefine inflammation. **The FASEB Journal**, v. 31, p. 1787-1791, May 2017.
- ANTUNES, C. V. A. *et al.* Anemia in inflammatory bowel disease outpatients: Prevalence, risk factors, and etiology. **Biomed Res Int**, 728925, 2015.
- ARTIS, D.; SPITS, H. The biology of innate lymphoid cells. **Nature**, v. 517, p. 293-301, Jan 2015.
- BARBOSA-SILVA, M. C. G. *et al.* Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. **Am J Clin Nutr**, v. 82, p. 49-52, 2005.
- BARREIRA, T. V.; HARRINGTON, D. M.; KATZMARZYK, P. T. Cardiovascular health metrics and accelerometer-measured physical activity levels: National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2006. **Mayo Clin Proc**, v. 89, n. 1, p. 81-6, Jan 2014.
- BAUMGART, D. C.; SANDBORN, W. J. Crohn's Disease. **Lancet**, v. 380, p. 1590-1605, 2013.
- BEDOYA, S. K. *et al.* Th17 cells in immunity and autoimmunity. **Clin Dev Immunol**, v. 2013, p. 986789, 2013.
- BEST, W. R. *et al.* Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. **Gastroenterology**, v. 70, p. 439-444, Mar 1976.
- BEVIVINO, G.; MONTELEONE, G. Advances in understanding the role of cytokines in inflammatory bowel disease. **Expert Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 12, p. 907-915, 2018.
- BILLMEIER, U *et al.* Molecular mechanism of action of anti-tumor necrosis factor antibodies in inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 22 (42), p. 9300-9313, 2016.

- BILSKI, J. *et al.* The role of physical exercise in inflammatory bowel disease. **BioMed Res Int**, v. 2014, p. 14 pages, 2014.
- BILSKI, J. *et al.* Can exercise affect the course of inflammatory bowel disease? Experimental and clinical evidence. **Pharmacol Rep**, v. 68, p. 827-36, Aug 2016.
- BILSKI, J. *et al.* The impact of physical activity and nutrition on inflammatory bowel disease: the potential role of cross talk between adipose tissue and skeletal muscle. **J Physiol Pharmacol.**, v. 64, p. 143-155, 2013.
- BURISCH, P; MUNKHOLM, P. The epidemiology of inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**, v. 50, p. 942–951, 2015.
- CAPOBIANCHI, M. R. *et al.* Type I IFN family members: similarity, differences and interaction. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 26 (2), p. 103-11, 2015.
- CăTANĂ, C.-S. *et al.* Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 21, p. 5823-583, May 2015.
- CHEBLI, J. M. F. *et al.* A guide to preparation of patients with inflammatory bowel diseases for anti-TNF-alfa therapy. **Med Sci Monit**, v. 20, p. 487-498, 2014.
- CHEN, M. L.; SUNDRUD, M. S. Cytokine Networks and T-Cell Subsets in Inflammatory Bowel Diseases. **Inflamm Bowel Dis**, v. 22, p. 1157–1167, 2016.
- CHOY, M. C.; VISVANATHAN, K.; De CRUZ, P. An Overview of the Innate and Adaptive Immune System in Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 23, p. 2-13, Jan 2017.
- CRONIN, O. *et al.* The effect of exercise interventions on inflammatory biomarkers in healthy, physically inactive subjects: a systematic review. **QJM**, v. 110, p. 629-637, Oct 2017.
- CRONKITE, D. A.; STRUTT, T. M. The Regulation of Inflammation by Innate and Adaptive Lymphocytes. **J Immunol Res**, v. Volume 2018, p. 14 pages, Jun 2018.
- CRUVINEL, W. M. *et al.* Immune system - part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, p. 434-61, 2010.
- DAPERNO, M. *et al.* Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. **Gastrointest Endosc**, v. 60, p. 505-512, 2004.
- DAVIES, J. M.; ABREU, M. T. The innate immune system and inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**, v. 50, p. 24–33, 2015.
- DEFILIPPIS, E. M. *et al.* Crohn's Disease: Evolution, Epigenetics, and the Emerging Role of Microbiome-Targeted Therapies. **Curr Gastroenterol Rep**, v. 18, p. 13, 2016.

DE LIMA, D. F.; LEVY, R. B.; LUIZ ODO, C. Recommendations for physical activity and health: consensus, controversies, and ambiguities. **Rev Panam Salud Publica**, v. 36, n. 3, p. 164-70, Sep 2014.

DUIJVESTEN, M. *et al.* Novel Therapies and Treatment Strategies for Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Curr Treat Options Gastro**, v. 16, p. 129-146, Mar 2018.

DWYER, T. *et al.* Association of change in daily step count over five years with insulin sensitivity and adiposity: population based cohort study. **BMJ.**, v. 13, p. 342:c7249, Jan 2011.

EBERL, G. *et al.* Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. **Science**, v. 348, p. aaa6566, May 2015.

ELIA, J.; KANE, S. Adult Inflammatory Bowel Disease, Physical Rehabilitation, and Structured Exercise. **Inflamm Bowel Dis**, v. 24, p. 2543-2549, Nov 2018.

ENGELS, M.; CROSS, R. K.; LONG, M. D. Exercise in patients with inflammatory bowel diseases: current perspectives. **Clin Exp Gastroenterol**, v. 11, p. 1-11, 2018.

FESS, E. E. Grip strength. In: **Casanova JS**, editor. Clinical Assessment Recommendations. 2nd ed. Chicago: American Society of Hand Therapists; 1992.

FISHMAN, E. I. *et al.* Association between Objectively Measured Physical Activity and Mortality in NHANES. **Med Sci Sports Exerc**, v. 48, p. 1303-11, 2016.

FONSECA-CAMARILLO, G.; YAMAMOTO-FURUSHO, J. K. Immunoregulatory Pathways Involved in Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 21, p. 2188–2193, 2015.

FRAGOULIS, G. E.; SIEBERT, S.; MCINNES, I. B. Therapeutic Targeting of IL-17 and IL-23 Cytokines in Immune-Mediated Diseases. **Annu Rev Med**, V. 67, P. 337–53, 2016.

FREEMAN, H. J. Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease. **World J Gastroenterol**, v. 20, p. 31-36, January 2014.

FRITZ, J. H. *et al.* Innate immune recognition at the epithelial barrier drives adaptive immunity: APCs take the back seat. **Trends Immunol**, v. 29, n. 1, p. 41-9, Jan 2008.

GAJENDRAN, M. *et al.* A comprehensive review and update on Crohn's Disease. **Dis Mon**, v. 64, p. 20-57, Feb 2018.

GASCHE, C. *et al.* A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World. **Inflamm Bowel Dis**, v. 6, p. 8-15, 2000.

GEREMIA, A. *et al.* Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. **Autoimmun Rev**, v. 13, p. 3-10, Jan 2014.

GIUFFRIDA, P.; CORAZZA, G. R.; Di SABATINO, A. Old and New Lymphocyte Players in Inflammatory Bowel Disease. **Dig Dis Sci**, v. 63, p. 277-288, Feb 2018.

GUAN, Q.; ZHANG, J. Recent Advances: The Imbalance of Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. **Mediators Inflamm**, v. ID 4810258, p. 8 pages, 2017.

HARVEY, R. F.; BRADSHAW, J. M. A simple index of Crohn's-disease activity. **Lancet**, p. (8167):514, Mar 1980.

HUANG, Y.; CHEN, Z. Inflammatory bowel disease related innate immunity and adaptive immunity. **Am J Transl Res**, v. 8, p. 2490-2497, 2016.

INOUE, T. *et al.* Generation of memory B cells and their reactivation. **Immunol Rev**, v. 283, p. 138–149, 2018.

IWASAKI, A.; MEDZHITOV, R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. **Nat Immunol**, v. 16, p. 343-53, Apr 2015.

JONES, P. D. *et al.* Exercise decreases risk of future active disease in patients with inflammatory bowel disease in remission. **Inflamm Bowel Dis**, v. 21, p. 1063-71, May 2015.

KATSANOS, K. H. *et al.* Biological therapies in inflammatory bowel disease: Beyond anti-TNF therapies. **Clin Immunol**, v. 6616, p. 30901-4, 2018.

KENNEDY, M. A. A brief review of the basics of immunology: the innate and adaptive response. **Vet Clin Small Anim**, v. 40, p. 369–379, 2010.

KIRSNER, JB. Historical aspects of inflammatory bowel disease. **J Clin Gastroenterol**, v. 10, p. 286-297, 1988.

KMIEC, Z.; CYMAN, M.; SLEBIODA, T. J. Cells of the innate and adaptive immunity and their interactions in inflammatory bowel disease. **Adv Med Sci**, v. 62, p. 1–16, 2017.

KÖHL, J. Self, non-self, and danger: a complementary view. **Adv Exp Med Biol**, v. 586, p. 71-94, 2006.

KULKARNI, O. P. *et al.* The Immune System in Tissue Environments Regaining Homeostasis after Injury: Is "Inflammation" Always Inflammation? **Mediators Inflamm**, v. 2016, n. Article ID 2856213, p. 9 pages, 2016.

KUPKA, T. *et al.* Crohn's disease - genetic factors and progress of the disease. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, 162(2):139-143, 2018.

LAASS, M. W.; ROGGENBUCK, D.; CONRAD, K. Diagnosis and classification of Crohn's disease. **Autoimmun Rev**, v. 13, p. 467-471, 2014.

LEAL, L. G.; LOPES, M. A.; BATISTA, M. L. JR. Physical Exercise-Induced Myokines and Muscle-Adipose Tissue Crosstalk: A Review of Current Knowledge and the Implications for Health and Metabolic Diseases. **Front Physiol**, v. 9, p. 1307, 2018.

LEE, SEUNG H.; KWON, J.; CHO, M.-L. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Intest Res**, v. 16, p. 26-42, 2018.

LEVINE, A. *et al.* Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. **Inflamm Bowel Dis**, v. 17, p. 1314–1321, 2011.

LI, N.; SHI, R.-H. Updated review on immune factors in pathogenesis of Crohn's disease. **World J Gastroenterol**, v. 24, p. 15-22, January 2018.

LIU, J.; CAO, X. Cellular and molecular regulation of innate inflammatory responses. **Cell Mol Immunol**, v. 13, p. 711-721, Nov 2016.

LOUIS, E.; VAN KEMSEKE, C.; REENAERS, C. Necessity of phenotypic classification of inflammatory bowel disease. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v. 25, p. S2-S7, 2011.

LUCCA, F. A. *et al.* Effect of anti-TNF α therapy with daily physical activity in patients with Crohn's disease. **J Crohns Colitis**, v. 10, p. S344-S344, 2016.

MARY, J. Y.; MODIGLIANI, R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). **Gut**, v. 30, p. 983-989, 1989.

MITCHELL, A. *et al.* Quality of life in patients with inflammatory bowel disease. **J Clin Gastroenterol**, v. 10, p. 306-10, 1988.

MONTALBAN-ARQUES, A. *et al.* The Innate Immune System in the Gastrointestinal Tract: Role of Intraepithelial Lymphocytes and Lamina Propria Innate Lymphoid Cells in Intestinal Inflammation. **Inflamm Bowel Dis**, v. 24, p. 1649-1659, Jul 2018.

MONTEIRO JUNIOR, R. S. *et al.* Effect of Exercise on Inflammatory Profile of Older Persons: Systematic Review and Meta-Analyses. **J Phys Act Health**, v. 15 (1), p. 64-71, 2017.

MOSER, M.; LEO, O. Key concepts in immunology. **Vaccine**, v. 28, p. C2-13, Aug 2010.

MULDER, D. J. *et al.* A tale of two diseases: The history of inflammatory bowel disease. **J Crohns Colitis**, v. 8, p. 341-348, 2014.

NICHOLSON, L. B. The immune system. **Essays Biochem**, v. 60, p. 275–301, 2016.

NG, S. C. *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. **Lancet**, 390 (10114): 2769-2778, 2018.

NISHIDA, A. *et al.* Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Clin J Gastroenterol**, v. 11, p. 1-10, Feb 2018.

OSAMURA, A.; SUZUKI, Y. Fourteen-Year Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease Patients: Clinical Characteristics and Predictive Factors. **Dig Dis Sci**, v. 63, p. 204-208, 2018.

PAL, M.; FEBBRAIO, M. A.; WHITHAM, M. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. **Immunol Cell Biol**, v. 92, p. 331–339, 2014.

- PARK, J. H. *et al.* IBD immunopathogenesis: a comprehensive review of inflammatory molecules. **Autoimmun Rev**, v. 16, p. 416-426, Apr 2017.
- PEAKE, J. M. *et al.* Recovery of the immune system after exercise. **J Appl Physiol**, v. 122, p. 1077–1087, 2017.
- PELKA, K.; De NARDO, D. Emerging Concepts in Innate Immunity. **Methods Mol Biol**, v. 1714, p. 1-18, 2018.
- PETERS, C. P. *et al.* Innate lymphoid cells in inflammatory bowel diseases. **Immunol Lett**, v. 172, p. 124-31, Apr 2016.
- PONTES, R. M. A. *et al.* Qualidade de vida em pacientes portadores de Doença Inflamatória Intestinal: tradução para o português e validação do questionário "Inflammatory Bowel Disease Questionnaire" (IBQD). **Arq Gastroenterol**, v. 41, p. 137-143, 2004.
- ROGLER, G.; BIEDERMANN, L.; SCHARL, M. New insights into the pathophysiology of inflammatory bowel disease: microbiota, epigenetics and common signalling pathways. **Swiss Med Wkly**, v. 148, p. 14599, Mar 2018.
- ROGLER, G. The history and philosophy of inflammatory bowel disease. **Dig Dis**, v. 31, p. 270-277, 2013.
- ROHR, M. *et al.* Inflammatory Diseases of the Gut. **J Med Food**, v. 21 (2), p. 1–14, 2018.
- ROSA, J. G. **Grande Sertão Veredas**. Rio de Janeiro: Companhia Das Letras, 2019
- RUDER, B.; ATREYA, R.; BECKER, C. Tumour Necrosis Factor Alpha in Intestinal Homeostasis and Gut Related Diseases. **Int J Mol Sci**, v. 20 (8), p. 1887, 2019.
- RUTGEERTS, P. *et al.* Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. **Gastroenterology**, v. 99, p. 956-963, 1990.
- SANTOS, J. C. *et al.* Impact of biological therapy on body compositions of patients with Crohn's disease. **Rev Assoc Med Bras**, v. 65, p. 407-413, 2017.
- SATSANGI, J. *et al.* The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. **Gut**, v. 55, p. 749-753, 2006.
- SCHENTEN, D.; MEDZHITOV, R. The control of adaptive immune responses by the innate immune system. **Adv Immunol**, v. 109, p. 87-124, 2011.
- SINGH, S. J. *et al.* Development of a shuttle walking test of disability in patients with chronic airways obstruction. **Thorax**, 47: 1019-24, 1992.
- SLEVIN, S. M.; EGAN, L. J. New Insights into the Mechanisms of Action of Anti-Tumor Necrosis Factor- α Monoclonal Antibodies in Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 21, p. 2909–2920, 2015.

SOKOL, C. L.; LUSTER, A. D. The chemokine system in innate immunity. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 29, p. pii: a016303, 2015.

SONNENBERG, A. Occupational distribution of inflammatory bowel disease among German employees. **Gut**, v. 31, p. 1037-1040, 1990.

SORIANI, A. *et al.* Chemokine regulation of innate lymphoid cell tissue distribution and function. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 55, p. 42:47, Aug 2018.

SOUZA, H. S. P.; FIOCCHI, C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 13, p. 13-27, Jan 2016.

SPEKHORST, L. M. *et al.* Performance of the Montreal classification for inflammatory bowel diseases. **World J Gastroenterol**, v. 41, p. 15374-15381, 2014.

TEW, G. A.; JONES, K.; MIKOCCA-WALUS, A. Physical Activity Habits, Limitations, and Predictors in People with Inflammatory Bowel Disease: A Large Cross-sectional Online Survey. **Inflamm Bowel Dis**, v. 22, p. 2933-2942, Dec 2016.

TEW, G. A. *et al.* High-intensity interval training and moderate-intensity continuous training in adults with Crohn's disease: a pilot randomised controlled trial. **BMC Gastroenterol**, v. 19, p. 19, Jan 2019.

TORRES, J. *et al.* Crohn's disease. **Lancet**, v. 389, p. 1741-1755, Apr 2017.

TSIANOS, E. V.; KATSANOS, K. H.; TSIANOS, V. E. Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. **World J Gastroenterol**, v. 18, p. 105-118, Jan 2012.

TUDOR-LOCKE, C. *et al.* How many steps/day are enough? For older adults and special populations. **Int J Behav Nutr Phys Act**, v. 28, p. 8:80, Jul 2011.

TUDOR-LOCKE, C. *et al.* Accelerometer steps/day translation of moderate-to-vigorous activity. **Prev Med**, v. 53, n. 1-2, p. 31-3, Jul-Aug 2011.

UENO, A. *et al.* Th17 plasticity and its relevance to inflammatory bowel disease. **J Autoimmun**, v. 87, p. 38-49, Feb 2018.

UHLIG, H. H.; POWRIE, F. Translating Immunology into Therapeutic Concepts for Inflammatory Bowel Disease. **Annu Rev Immunol**, v. 36, p. 755-81, 2018.

VAN KAER, L.; OLIVARES-VILAGÓMEZ, D. Development, Homeostasis, and Functions of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes. **J Immunol**, v. 200, p. 2235-2244, Apr 2018.

VAN LANGENBERG, D. R.; GIBSON, P. R. Factors associated with physical and cognitive fatigue in patients with Crohn's disease: a cross-sectional and longitudinal study. **Inflamm Bowel Dis**, v. 20, p. 115-25, 2014.

VENTHAM, N. T. *et al.* Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: the emerging role of epigenetics. **Gastroenterology**, v. 145, p. 293-308, 2013.

VERMEIRE, S.; VAN ASSCHE, G.; RUTGEERTS, P. Classification of Inflammatory bowel disease: the old and the new. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 28, p. 321-326, 2012.

VERSTOCKT, B.; SMITH, K. G. C.; LEE, J. C. Genome-wide association studies in Crohn's disease: Past, present and future. **Clin Transl Immunology**, v. 7, p. e1001, 2018.

WALLACE, K. L. *et al.* Immunopathology of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 1, p. 6-21, January 2014.

WANG, M-H.; PICCO, M. F. Crohn's Disease: Genetics Update. **Gastroenterol Clin N Am**, v. 46, p. 449-461, 2017.

WARBURTON, D. E. R.; BREDIN, S. S. D. Health benefits of physical activity: a systematic review of current systematic reviews. **Curr Opin Cardiol**, v. 32, p. 541-556, 2017.

WARBURTON, D. E. R.; BREDIN, S. S. D. Reflections on Physical Activity and Health: What Should We Recommend? **Can J Cardiol**, v. 32, p. 495-504, Apr 2016.

WELK, G. J.; MCCLAIN, J.; AINSWORTH, B. E. Protocols for evaluating equivalency of accelerometer-based activity monitors. **Med Sci Sport Exerc**, 44: 39-49, 2012.

WOJNO, E. D. T.; ARTIS, D. Emerging concepts and future challenges in innate lymphoid cell biology. **J. Exp. Med**, v. 213, p. 2229–2248, 2016.

XU, W.; LARBI, A. Immunity and Inflammation: From Jekyll to Hyde. **Exp Gerontol**, v. 107, p. 98-101, Jul 2018.

YU, Y. R.; RODRIGUEZ, J. R. Clinical presentation of Crohn's disease, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. **Semin Pediatr Surg**, v. 26, p. 349-355, 2017.

ZHOU, M. *et al.* New Frontiers in Genetics, Gut Microbiota, and Immunity: A Rosetta Stone for the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. **Biomed Res Int**, v. 2017, p. 17, 2017.

ZIELINSKA, A. *et al.* The role of adipose tissue in the pathogenesis of Crohn's disease. **Pharmacol Rep**, v. 71, p. 105-111, Feb 2019.

APÊNDICE A – Artigo

Evaluating the Inflammatory Cytokine and Physical Activity Level Profiles of Crohn's Disease Patients Before and After Infliximab Therapy Application

Abstract

Background: Crohn's disease (CD) patients present low physical activity (PA) level. Infliximab (IFX) therapy can induce clinical remission and help increasing PA level in this population. The aim of the current study is to evaluate the association between inflammatory cytokine levels and PA in patients with moderate-to-severe CD, before and after IFX therapy application.

Material and Methods: Forty-four CD patients were treated with IFX for 24 weeks. Clinical, anthropometric, exercise capacity and muscle strength data, as well as PA (number of steps/day [NS/day], active time [AT]), serum tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interferon gamma (IFN- γ) and interleukins (IL)-6 and 17 levels, were evaluated at baseline and at the 24th treatment week.

Results: Clinical, anthropometric, exercise capacity and muscle strength data were similar in patients with, and without, improved PA level. Significant cytokine decrease was recorded for patients in clinical remission at the 24th week (38/44; 86.4%) regardless of whether they improved, or not, PA level. On the other hand, the group without clinical remission recorded significantly increased IL-6 and IL-17 levels for patients who increased NS/day, as well as increased IL-6, IL-17 and TNF- α levels for patients who increased AT. Patients without clinical remission who did not show improved NS/day presented increased TNF- α level.

Conclusion: CD patients undergoing clinical remission induced by IFX recorded reduced serum IL-6, IL-17, TNF- α and IFN- γ levels, regardless of whether they improved, or not, PA level. Patients who did not respond to IFX therapy, but who increased PA level, recorded increased IL-6 and IL-17 levels.

MeSH Keywords: Crohn's Disease, Immunopathogenesis, Interleukin, Anti-TNF, Infliximab, Physical Activity, Inflammatory Bowel Diseases

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

CEP - 36036-110 - JUIZ DE FORA - MG - BRASIL

FORA

Iniciais do Paciente: _____ no. do Paciente: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Nível de atividade física, estrutura e função muscular em portadores de formas moderadas e graves da Doença de Crohn: efeito do tratamento com infliximabe.”

Prezado paciente,

Você está sendo convidado a participar de um estudo clínico. Sua participação é voluntária e não implicará em nenhum custo adicional para você. Após receber todas as informações abaixo relacionadas pelo seu médico, ele lhe perguntará se você deseja participar deste estudo clínico. Caso você aceite participar, você deverá fornecer o seu consentimento por escrito. Uma via deste consentimento será entregue a você.

O estudo e seus objetivos

Você pertence a um grupo de pacientes portadores da Doença de Crohn. Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade física dos pacientes portadores da doença, antes e após o tratamento com uma medicação específica, chamada infliximabe.

Descrição dos Procedimentos do Estudo

Para verificar o estado de saúde e o nível de atividade física, você será avaliado por um médico, que após a entrevista e o exame físico, realizará os seguintes procedimentos:

- **Avaliação clínica e laboratorial:** será realizada uma entrevista clínica com exame físico e coletado exames laboratoriais de sangue;
- **Avaliação da capacidade de exercício e nível de atividade física:** você será submetido ao teste de caminhada de seis minutos, no qual você caminhará o mais rápido que você conseguir durante seis minutos no corredor do hospital. Para avaliar sua capacidade física, você receberá um aparelho colocado em um cinto que deverá ficar em sua cintura por um período de cinco dias consecutivos, apenas durante o dia e não sendo necessário durante a noite. Ele coletará informações sobre o movimento realizado pelo seu corpo. Após os cinco dias você devolverá este equipamento para os responsáveis. Também para avaliar o nível de atividade física, você responderá a um questionário no momento de colocação do aparelho.

- **Avaliação da qualidade de vida:** para avaliar sua qualidade de vida será aplicado um questionário específico e outro de avaliação geral para este fim.
- **Avaliação da força muscular periférica:** você realizara a medição da força de preensão da mão sendo convidado a apertar um aparelho chamado dinamômetro. Para avaliar a força dos membros inferiores, será realizado o teste de levantar e sentar de uma cadeira.
- **Avaliação da composição corporal:** Neste mesmo dia, você vai realizar um exame chamado de “bioimpedância” que é um exame sobre a pele. Ele nos mostrará a sua composição corporal em termos de gordura, músculo e água no corpo. Na bioimpedância será colocado um eletrodo adesivo em cada braço e perna, você ficará deitado numa cama enquanto avaliamos. Você não sentirá nada e este exame demora, no máximo, 15 minutos.

A sua participação não envolverá nenhum risco e os pesquisadores não interferirão no seu tratamento. Antes de iniciar qualquer procedimento, você será informado sobre todas as instruções de como realizá-lo. Uma equipe treinada que estará alerta a qualquer alteração que possa sugerir a interrupção de um teste.

Benefícios

Os benefícios de participar deste estudo são: você terá suas condições de saúde e capacidade de exercícios avaliados adequadamente, bem como identificado fatores que possam estar levando a um maior sedentarismo (falta de exercício físico), o que pode ser prejudicial para sua saúde. Não haverá custo para você participar do estudo.

Aspectos Éticos do Estudo

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas deste hospital. Se você decidir participar, você deverá primeiramente assinar este Termo de Consentimento Informado declarando seu acordo em participar espontaneamente, e confirmando que você leu e entendeu todas as informações fornecidas neste termo.

Para sua segurança, você não deve ter participado de nenhum estudo 30 dias antes de iniciar este estudo e não deve participar de outro estudo ao mesmo tempo.

É garantida a sua liberdade de se retirar deste estudo a qualquer hora que você desejar, sem causar nenhum prejuízo à continuidade do seu tratamento nesta instituição. Seu médico também poderá decidir retirá-lo do estudo caso você não siga todas as orientações para participação neste estudo, ou por razões médicas ou por outras razões.

Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa e terá o direito de fazer qualquer pergunta ao seu médico sobre o estudo. Ele responderá de forma compreensível para que você não tenha nenhuma dúvida e lhe informará imediatamente caso surjam informações novas que possam afetar a sua decisão sobre a participação no estudo.

Você deverá carregar esse cartão com você, durante todo o período de estudo, para poder contatar o seu médico em caso de emergência durante 24 horas inclusive sábado e domingo.

O pesquisador principal deste estudo é o **Dr. Fernando**, que pode ser encontrado na:

Av. Rio Branco 2872 sala 912 – Centro – CEP: 36016-311 – Juiz de Fora, MG.

Telefone: (32) 3216-8441 (32) 9977-5617 **E-mail:** falucca@uai.com.br

Orientador - **Dr. Júlio M. Fonseca Chebli**

Colaboradores:

Prof. Dr. Bruno do Valle Pinheiro

Prof^a. Dr^a Carla Malaguti.

Prof. Dr. Maycon Reboredo

Pesquisador/orientado: **Fernando de Azevedo Lucca - 32 3216-8441 - cel.: 32 99775617;**

Se você tiver alguma dúvida ou consideração sobre a ética desta pesquisa, entre em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisas (CEP)

Catulo Breviglieri, s/n.

Juiz de Fora / MG CEP: 36036 – 110 - Telefone: (32) 4009-5205

Direito de Confidencialidade

Todos os registros identificando você serão mantidos de modo confidencial e sua identidade será conhecida apenas por seu médico e as pessoas envolvidas neste estudo. As informações obtidas sobre você serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente, mesmo com a publicação dos resultados.

O pesquisador compromete-se a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. Todos os dados coletados serão armazenados de acordo com os requerimentos legais e considerando as regulamentações nacionais para proteção de dados.

Você não terá despesas e compensação financeira pela sua participação no estudo. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo, você terá direito a tratamento médico na instituição.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Centro e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo

“Nível de atividade física, estrutura e função muscular em portadores de formas

moderadas e graves da Doença de Crohn: efeito do tratamento com infliximabe”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20 ____.

Nome	Assinatura participante	Data
------	-------------------------	------

Nome	Assinatura pesquisador	Data
------	------------------------	------

Nome	Assinatura testemunha	Data
------	-----------------------	------

APÊNDICE C – Protocolo de Pesquisa Médica

Protocolo de Pesquisa Médica

IMPACTO DA REMISSÃO CLÍNICA INDUZIDA PELO INFLIXIMABE NOS NÍVEIS DE ATIVIDADE FÍSICA EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN EM ATIVIDADE.

Nome: _____ Data Nascimento: __/__/____
 Sexo: ____ Idade: ____ anos Prontuário: _____ Data da avaliação: __/__/____
 Endereço: _____
 Telefones para contato: _____ Escolaridade: _____
 Aposentado: () sim () não Atividade laborativa informal: () sim () não

Diagnóstico da Doença de Crohn:

Data do diagnóstico inicial: _____ Idade no diagnóstico _____ anos

Tempo estimado sem tratamento: _____

Medicamentos:

Uso de imunossupressores: _____

Data de início do uso de imunossupressores: _____

Uso de corticoides: () não () uso atual e dose: _____

Tempo de uso de corticoides: _____

Tabagismo: () não () sim – tempo de uso ____ anos N° cigarros/dia ____ Parou há _____

Localização das lesões:

() íleo terminal, incluindo ou não o ceco () Cólon (apenas) () íleocólica () TGI superior

Forma: () estenosante () fistulizante () inflamatória

Indicação anti-TNF: () fístula () cura mucosa () falha clínica () outro: _____

Colonoscopia: (__/__/__): _____

Histologia: _____

Outros: _____

Complicações:

Cirurgias prévias: _____

Fístulas: () intra-abdominais () perianais () outras _____

() Abscessos () Massa palpável () Úlceras profundas () Suboclusão ou oclusão

Classificação de fístulas: _____

Harvey-Bradshaw: _____

Altura: _____ Peso: _____

REAVALIACÕES:

DATA: __/__/__

Harvey-Bradshaw: _____ Altura: _____ Peso: _____

Colonoscopia de controle:

(__/__/__): _____

Controle do uso da medicação (infiximabe):

1ª dose: Data: (__/__/____) 2ª dose: Data: (__/__/____) 3ª dose: Data: (__/__/____)

*Doses seguintes: _____

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP



UFJF - UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA - MG

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Nível de atividade física, estrutura e função muscular e qualidade de vida de pacientes com Doença de Crohn em remissão.

Pesquisador: Carla Malaguti

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 59786214.9.0000.5147

Instituição Proponente: FACULDADE DE MEDICINA - UFJF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.891.460

Apresentação do Projeto:

Este será um estudo observacional transversal, composto por uma amostra (n=50) consecutiva de pacientes com DC em fase de remissão, em acompanhamento no Ambulatório de Gastroenterologia de um Hospital público em Juiz de Fora, com diagnósticos clínico, endoscópico e histopatológico confirmados pelos critérios definidos da DC. Apresentação do projeto está clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, item III.

Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar o nível de atividade física e comparar a um grupo controle de indivíduos saudáveis pareado por idade, sexo e condição sócio econômica. O Objetivo da pesquisa está bem delineado, apresenta clareza e compatibilidade com a proposta, tendo adequação da metodologia aos objetivos pretendido, de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013, item 3.4.1 - 4.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em riscos mínimos como dor ou tontura durante a coleta de sangue; cansaço físico ao fazer os testes de exercício como caminhar rápido/correr e fazer força com a mão. Como resposta normal ao esforço, a pressão arterial e frequência cardíaca podem subir, mas estas serão cuidadosamente monitorizadas dentro de limites seguros, ou seja, o examinador poderá interromper os testes caso ameace a segurança do participante. No entanto, o paciente também poderá interromper os testes caso

se sinta desconfortável. Além disso, antes de iniciar qualquer procedimento, o paciente/voluntário será informado sobre todas as instruções de como realizá-lo. A pesquisa contribuirá para identificar o nível de atividade física, a musculatura e a qualidade de vida de pacientes com Doença de Crohn em remissão e de voluntários saudáveis, o que poderá fornecer embasamento para futuros estudos e programas de treinamento muscular e aeróbico voltados para este grupo de pacientes. O risco que o projeto apresenta é caracterizado como risco mínimo e estão adequadamente descritos, considerando que os indivíduos não sofrerão qualquer dano ou sofrerão prejuízo pela participação ou pela negação de participação na pesquisa e benefícios esperados adequadamente descritos. A avaliação dos Riscos e Benefícios estão de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, itens III; III.2 e V.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO em linguagem clara para compreensão dos participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação do participante, descreve de forma suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será entregue aos participantes, assegura a liberdade do participante recusar ou retirar o consentimento sem penalidades, garante sigilo e anonimato, explicita riscos e desconfortos esperados, indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466 de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a, b, d, e, f, g e h; IV. 5 letra d e XI. 2 letra f. Apresenta o INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS de forma pertinente aos objetivos delineados e preserva os participantes da pesquisa. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPEs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido nas Resoluções 466/12 e 441/11 CNS;

com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS e com a Portaria 2201/11 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: Dezembro de 2017.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas nas Resoluções 466/12 e 441/11 CNS; com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS e com a Portaria 2201/11 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_425816.pdf	08/01/2017 20:51:34		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CONTROLE.pdf	08/01/2017 20:50:42	Carla Malaguti	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CASO.pdf	08/01/2017 20:47:21	Carla Malaguti	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_FINAL.pdf	08/01/2017 20:46:30	Carla Malaguti	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_atualizada.pdf	11/10/2016 10:10:19	Carla Malaguti	Aceito

Outros	Instrumentos_de_coleta_de_dados.pdf	11/10/2016 09:24:24	Carla Malaguti	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Fernando_Lucca.pdf	11/10/2016 09:18:17	Carla Malaguti	Aceito
Outros	Registro_equipe.pdf	09/09/2016 07:48:43	Carla Malaguti	Aceito
Outros	Registro_pesquisador.pdf	09/09/2016 07:44:43	Carla Malaguti	Aceito
Outros	Registro_projeto.pdf	09/09/2016 07:41:21	Carla Malaguti	Aceito
Declaração de Manuseio Material	Declaracao_Biorrepositorio.pdf	09/09/2016 07:39:19	Carla Malaguti	Aceito

Biológico / Biorepositório / Biobanco				
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Fabio.pdf	09/09/2016 07:35:27	Carla Malaguti	Aceito
Orçamento	Declaracao_viabilidade_economica.pdf	09/09/2016 07:34:14	Carla Malaguti	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_laboratorio.pdf	09/09/2016 07:31:17	Carla Malaguti	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 16 de Janeiro de 2017

**Assinado por:
Vânia Lúcia Silva
(Coordenador)**

ANEXO B – Versão em Português do “Inflammatory Bowel Disease Questionnaire” – IBDQ

VERSÃO EM PORTUGUÊS DO IBDQ

1- Com que frequência você tem evacuado nas duas últimas semanas? Por favor, indique com que frequência tem evacuado nas últimas duas semanas, escolhendo uma das seguintes opções:

1. Mais frequente do que nunca
2. Extremamente frequente
3. Muito frequente
4. Moderado aumento na frequência
5. Pouco aumento
6. Pequeno aumento
7. Normal, sem aumento na frequência das evacuações

2- Com que frequência se sentiu cansado, fatigado e exausto, nas últimas duas semanas?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

3- Com que frequência, nas últimas duas semanas, você se sentiu frustrado, impaciente ou inquieto?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

4- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você não foi capaz de ir à escola ou ao seu trabalho, por causa do seu problema intestinal?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

5- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você teve diarreia?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

6- Quanta disposição física você sentiu que tinha, nas últimas duas semanas?

1. Absolutamente sem energia
2. Muito pouca energia

3. Pouca energia
4. Alguma energia
5. Uma moderada quantidade de energia
6. Bastante energia
7. Cheio de energia

7- Com que frequência, nas últimas duas semanas, você se sentiu preocupado com a possibilidade de precisar de uma cirurgia, por causa do seu problema intestinal?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

8- Com que frequência, nas últimas duas semanas, você teve que atrasar ou cancelar um compromisso social por causa de seu problema intestinal?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

9- Com que frequência, nas últimas duas semanas, você teve cólicas na barriga?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

10- Com que frequência, nas últimas duas semanas, você sentiu mal estar?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

11- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você teve problemas por medo de não achar um banheiro?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

12- Quanta dificuldade você teve para praticar esportes ou se divertir como você gostaria de ter feito, por causa dos seus problemas intestinais, nas duas últimas semanas?

1. Grande dificuldade, sendo impossível fazer estas atividades
2. Grande dificuldade
3. Moderada dificuldade
4. Alguma dificuldade
5. Pouca dificuldade
6. Raramente alguma dificuldade
7. Nenhuma dificuldade

13- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você foi incomodado por dores na barriga?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

14- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você teve problemas para ter uma boa noite de sono ou por acordar durante a noite? (Pelo problema intestinal)

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

15- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você se sentiu deprimido e sem coragem?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

16- Com que frequência, nas duas últimas semanas, você evitou ir a lugares que não tivessem banheiros (privada) bem próximos?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

17- De uma maneira geral, nas últimas duas semanas, quanto problema você teve com a eliminação de grande quantidade de gases?

1. O principal problema
2. Um grande problema

3. Um importante problema
4. Algum problema
5. Pouco problema
6. Raramente foi um problema
7. Nenhum problema

18- De uma maneira geral, nas duas últimas semanas, quanto problema você teve para manter o seu peso como você gostaria que fosse?

1. O principal problema
2. Um grande problema
3. Um significativo problema
4. Algum problema
5. Pouco problema
6. Raramente foi um problema
7. Nenhum problema

19- Muitos pacientes com problemas intestinais, com frequência têm preocupações e ficam ansiosos com sua doença. Isto inclui preocupações com câncer, preocupações de nunca se sentir melhor novamente, preocupação em ter uma piora. Com que frequência, nas duas últimas semanas, você se sentiu preocupado ou ansioso?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

20- Quanto tempo, nas últimas duas semanas, você sentiu inchaço na barriga?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

21- Quanto tempo, nas últimas duas semanas, você se sentiu tranquilo e relaxado?

1. Nunca
2. Raramente
3. Bem poucas vezes
4. Poucas vezes
5. Muitas vezes
6. Quase sempre
7. Sempre

22- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você teve problemas de sangramento retal com suas evacuações?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes

6. Raramente
7. Nunca

23- Quanto do tempo, nas duas últimas semanas, você sentiu vergonha por causa do seu problema intestinal?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

24- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você foi incomodado por ter que ir ao banheiro evacuar e não conseguiu, apesar do esforço?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

25- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você sentiu vontade de chorar?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

26- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você foi incomodado por evacuar acidentalmente nas suas calças?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

27- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você sentiu raiva por causa do seu problema intestinal?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

28- Quanto diminuiu sua atividade sexual, nas duas últimas semanas, por causa do seu problema intestinal?

1. Absolutamente sem sexo

2. Grande limitação
3. Moderada limitação
4. Alguma limitação
5. Pouca limitação
6. Raramente limitação
7. Sem limitação alguma

29- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você se sentiu enjoado?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

30- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você se sentiu irritado?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

31- Quanto tempo, nas duas últimas semanas, você sentiu falta de compreensão por parte das outras pessoas?

1. Sempre
2. Quase sempre
3. Muitas vezes
4. Poucas vezes
5. Bem poucas vezes
6. Raramente
7. Nunca

32- Quanto satisfeito, feliz ou agradecido você se sentiu com sua vida pessoal, nas duas últimas semanas?

1. Muito insatisfeito, infeliz a maioria do tempo
2. Geralmente insatisfeito, infeliz
3. Um pouco insatisfeito, infeliz
4. Geralmente satisfeito, agradecido
5. Satisfeito a maior parte do tempo, feliz
6. Muito satisfeito a maior parte do tempo, feliz
7. Extremamente satisfeito, não poderia estar mais feliz ou agradecido

PONTUAÇÃO DO IBDQ

As questões que compõem cada domínio apresentam-se no questionário de maneira não ordenada, para que sejam evitados vieses nas respostas.

Cada questão dentro de cada um dos domínios aferidos tem sete alternativas de respostas. Cada opção de resposta vale seu próprio número em pontos, sendo 1 pior qualidade de vida e 7 a melhor, somando-se o total de pontos obtidos em cada domínio. A soma simples de todos os domínios resultará no escore total obtido pelo paciente.

Abaixo são relacionadas os domínios e suas respectivas questões:

- 1- **Questões do componente sintomas intestinais:** 01, 05, 09, 13, 17, 20, 22, 24, 26, 29 (Escores podem variar de 10 a 70 pontos).
- 2- **Questões do componente sintomas sistêmicos:** 02, 06, 10, 14, 18 (Escores podem variar de 5 a 35 pontos).
- 3- **Questões do componente aspectos sociais:** 04, 08, 12, 16, 28 (Escores podem variar de 5 a 35 pontos).
- 4- **Questões do componente aspectos emocionais:** 03, 07, 11, 15, 19, 21, 23, 25, 27, 30, 31, 32 (Escores podem variar de 12 a 84 pontos)

ANEXO C – Comprovante de Submissão do Artigo

International Journal of Clinical Pharmacy

Evaluation the Inflammatory Cytokine and Physical Activity Level Profiles of Crohn's Disease Patients Before and After Infliximab Therapy Application

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	IJCP-D-19-00851	
Full Title:	Evaluation the Inflammatory Cytokine and Physical Activity Level Profiles of Crohn's Disease Patients Before and After Infliximab Therapy Application	
Article Type:	Research Article	
Keywords:	Crohn's Disease; Immunopathogenesis; Interleukin; Anti-TNF; Infliximab; Physical Activity; Inflammatory Bowel Diseases	
Corresponding Author:	KARINE ANDRADE OLIVEIRA ZANINI Andrade Oliveira ZANINI, MD University of Juiz de Fora School of Medicine JUIZ DE FORA, MG BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	University of Juiz de Fora School of Medicine	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	KARINE ANDRADE OLIVEIRA ZANINI Andrade Oliveira ZANINI, MD	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	KARINE ANDRADE OLIVEIRA ZANINI Andrade Oliveira ZANINI, MD	
	Fernando de Azevedo Lucca, PhD	
	Andrea Lemos Calbazar, Master Degree	
	Tarsila da Rocha Campanha Ribeiro, PhD	
	Alexandre Zanini, PhD	
	José Otávio do Amaral Corrêa, PhD	
	Carla Malaguti, PhD	
	Julio Maria Fonseca Chebli, PhD	
Order of Authors Secondary Information:		
Funding Information:	FAPEMIG (CDS APQ 02753/16; CDS APQ 04335/17)	MD José Otávio do Amaral Corrêa

November 5, 2019

To Editor-in-Chief**International Journal of Clinical Pharmacy**

Please find enclosed the manuscript entitled "*Evaluating the Inflammatory Cytokine and Physical Activity Level Profiles of Crohn's Disease Patients Before and After Infliximab Therapy Application*" submitted as an original article. We transfer the copyright to International Journal of Clinical Pharmacy. Also, there is no conflict of interest of any authors that might bias their work. All authors contributed in all stages of the study and read and approved the final version of the manuscript. The study was approved by the Institutional Ethics Committee, and all patients gave written informed consent prior to inclusion in the study. The authors declare there is no conflict of interest or source of funding in this research.

We state that this is an original work that has not been published, or is under consideration for publication in another journal.

Yours sincerely,

Karine Andrade Oliveira Zanini, MD., MSc.

Rua São Sebastião, 1161/801

Santa Helena

Juiz de Fora – MG Brazil

Zip code: 36.015-410

Tel: +55 32 98832-4111