

A bélnyálkahártyahám barrier- és autophagiás funkciózavarainak szerepe a Crohn-betegség patogenezisében

LAPIS KÁROLY DR.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

A Crohn-betegség a terminális ileumot és/vagy a colont érintő krónikus gyulladással járó szövőszövő betegség. Patogenezisében genetikai és környezeti tényezők játszanak szerepet. Újabban a molekuláris genetika, genotipizálási technológia, bioinformatika terén történt előrehaladás eredményeit kombináltan alkalmazzák az egész genomra kiterjedő analízis során. Az így feltárt genetikai alterációk betegséggel történő társulásának vizsgálata több mint 30, a Crohn-betegséggel társult fogékonysági gén és locus beazonosítását és korábban nem sejtett folyamatok Crohn-betegség patogenezisében játszott szerepének feltárását eredményezte. A betegség szorosan társul a mikrobiális molekuláris mintázatot felismerő receptorokat, főként a NOD2 proteint, valamint a Vnt jelű Tcf4 transzkripció faktorát (más néven TCFL2) és az autophagiát szabályozó ATG16L1 proteint kódoló géneket érintő polimorfizmusokkal. A szóban forgó polimorfizmusok csökkent defenzintermeléssel (defenzinélgtelenséggel) járnak, amely viszont a commensalis flóra összetételében változásokhoz, az intestinalis barrierfunkciók defektusához és a nyálkahártya bakteriális inváziójához vezet. A NOD2 és ATG16L1 proteineket kódoló géneket érintő polimorfizmusoknak másik, újabban felismert következménye, hogy a csökkent NOD2 protein képtelen az autophagia indukálására, továbbá ez a protein csak úgy, mint a mutáns ATG16L1 T300A protein, képtelen megcélozni és autophagosomába zárva feldolgozni, majd a sejtől kitakarítani a sejtekbe jutott mikrobákat. Következésképpen a tartósan fennmaradó alacsony szintű infekció miatt fellépő adaptív immunválasz-reakció révén krónikus gyulladás, szövetszövetkárosodás és a betegség klinikai tünetei alakulnak ki. Ezek fényében úgy tekinthető, hogy a Crohn-betegség kialakulását a genetikailag fogékony egyedekben a veleszületett immunvédekezés defektusa okozza vagy legalábbis az indítja el, amelyhez a bélhámsejtekbe jutott és ott perzisztáló intestinalis mikrobákkal szemben fellépő fokozott adaptív immunválasz-reakcióval kapcsolatos gyulladás társul. Ilyen körülmények között a terápiás célú intervenciónak feltehetően inkább a veleszületett immunválasz erősítésére, mintsem csak az adaptív immunválasz-reakciók elnyomására kellene irányulnia. Orv. Hetil., 2010, 40, 1645–1655.

Kulcsszavak: Crohn-betegség, intestinalis barrier, antimikrobiális peptidok, defenzinek, Paneth-sejtek, fogékonysági (hajlamosító) gének és locusok, autophagia

Barrier- and autophagic functions of the intestinal epithelia: role of disturbances in the pathogenesis of Crohn's disease

Crohn's disease is a widely known debilitating chronic inflammatory disease, mostly affecting terminal ileum and/or colon. Epidemiological, familial and twin studies suggest that genetic factors play an important role in susceptibility to the disease. Clinical observations suggest that ill-defined environmental factors also play a part. Advances in molecular genotyping technology, statistical methodologies, bioinformatics and the combined use of them in genome wide scanning and association studies resulted in the identification of more than 30 susceptibility genes and loci associated with Crohn's disease and revealed and highlighted a number of new previously unsuspected pathways playing a role in the pathogenesis of Crohn's disease. Close association of the disease with polymorphisms in the genes encoding the pattern recognition receptors particularly the NOD2 protein, the Wnt pathway transcription factor Tcf4 (also known as TCFL2) and the autophagic regulator ATG16L1 have been found. The polymorphisms involved are associated with decreased defensin production (defensin deficiency) which can lead to changes in the composition of the commensal microbial flora, defects in the intestinal barrier functions and bacterial invasion of the mucosa. Other recently recognized consequences of the polymorphisms involving the genes encoding NOD2 and ATG16L1 proteins are that the truncated NOD2 protein is unable to induce autophagy and this protein, just like the ATG16L1 T300A mutant protein, leads to failure adequately to destroy phagocytosed bacteria. The consequence is persisting low level infection, chronic intestinal inflammation, tissue injury

and the clinical symptoms of the disease. Thus, Crohn's disease can be seen to be caused by defects in the innate immune defense, in particular defects in bacterial processing and clearance. The accumulated evidence suggests that Crohn's disease is associated with an exaggerated adaptive immune response to the persisting intestinal microbes in genetically susceptible hosts. Intervention in these circumstances should probably be geared to strengthening of the innate immune responses rather than simple attempts to suppress adaptive immunity. *Orv. Hetil.*, 2010, 40, 1645–1655.

Keywords: Crohn's disease, intestinal barrier, antimicrobial peptides, defensin, Paneth-cells, susceptibility genes and loci, autophagy

(Beérkezett: 2010. június 7., elfogadva: 2010. augusztus 16.)

Rövidítések

AMP = antimikrobiális peptidek; ATG16L1 gén = autophagy related 16-like1 gene; CARD15 = caspase recruitment domain 15; CD = Crohn-betegség; GWA = genome wide association studies; HBD-1, HBD-2 és HBD-3 = humán β -defenzin -1, -2 és -3; HD-5 és HD-6 = humán α -defenzin-5 és humán α -defenzin-6; IRGM gén = immunity related guanosine triphosphatase gene; MAMP = microbial associated pattern; MDP = muramyl-dipeptid; mRNS = messenger RNS; NBS-LRR proteinek = nucleotide binding site and leucine-rich repeat proteinek; NF- α = tumornekrozis-faktor- α ; NLR = intracelluláris NOD-like receptors; NOD-2 = nucleotide-binding oligomerization domain 2; PAMP = pathogen associated pattern; Pc = Paneth-sejtek; PLA2 = group IIA phospholipase A2; PRR = pattern recognition receptors; SNP = single nucleotid polimorfizmus; TLR = transzmembrán toll like receptors; Wnt jelút = wingless type pathway

A Crohn-betegség (CD) – a tápcsatornát érintő idült gyulladásos folyamat által jellemzett, de olykor más szervi elváltozásoktól is kísért – rendszerint már fiatal korban fellépő és élethosszig tartó senyvesztő betegség. Az idült gyulladás leggyakrabban a terminális ileumot és/vagy a colont érinti [1].

Epidemiológiai, a megbetegedettek családtagjaira és ikrekre vonatkozó vizsgálatok eredményei szerint a betegség kialakulásának kockázatát mintegy 50%-ban genetikai tényezők határozzák meg [2, 3]. Különböző patogén mikrobák és a commensalis mikrobák patogenetikai szerepe is felmerült. Környezeti tényezők (stressz, diéta stb.) szerepére utaló adatok is rendelkezésre állnak [1, 4].

Az utóbbi néhány évben a betegség patogenezisére vonatkozó ismereteink lényegesen kibővültek. Új, korábban nem is sejttett mechanizmusok patogenezisben játszott fontos szerepére derült fény. Ez elsősorban annak köszönhető, hogy a molekuláris genetika fejlődése, az egész genom analízisére alkalmas új genotipizálási technológiák kifejlesztése s azok alkalmazásával észlelt genetikai alterációk, génpolimorfizmusok adott betegséggel való társulásának feltárását célzó tanulmányok „genome wide association studies” (GWA) révén nagyszámú, a Crohn-betegséggel szorosan társult, a betegség kialakulására hajlamosító, úgynevezett „fogékonysági gént”, illetve génvariáns ismerhettünk meg [5, 6]. Nem kis része volt azonban e betegség patogenezisére vonatkozó ismereteink gyarapodásában annak

is, hogy időközben jelentősen kibővültek az antimikrobiális peptidek (különösen a defenzinek) sokoldalú biológiai szerepére, s különösen az intestinalis homeosztázis fenntartásában játszott szerepére vonatkozó ismereteink is [7].

Jelen közlemény célja, hogy az irodalom tükrében bemutassa a Crohn-betegség patogenezisére vonatkozóan az utóbbi években feltárt, legfontosabbnak vélt ismereteket. Előtte azonban célszerűnek látszik a bélnyálkahártyahám sokoldalú szerepére, főként pedig barrierfunkciójára vonatkozó patofiziológiai ismeretek rövid összefoglalása, amely a Crohn-betegség patogenezisére vonatkozó újabb ismeretek megértését és a betegségről való integrált kép kialakítását is elősegítheti.

A bélnyálkahártyahám barrierfunkciója és a fenntartásában szerepet játszó tényezők

A bélnyálkahártya hámja határfelületet képez a külvilág és a gazdaszervezet között, és igen nagy felületen (300–400 m²) folyamatosan szembesül a beleket benépesítő, igen komplex összetételű és összetételében dinamikusan változó, a gazdaszervezettel egyfajta – mindkét fél számára előnyökkel is járó – szimbiózisban élő, úgynevezett „commensalis” mikrobapopulációval, valamint az időnként bekerülő patogén mikrobákkal. Infekció ennek ellenére viszonylag ritkán lép fel. A bélnyálkahártya hámja ugyanis – amellett, hogy biztosítja a tápanyagok folyamatos felszívódását – fiziológiás körülmények között jól működő és hatékony védőgátat, „barriert” képez e mikrobák inváziós törekvéseivel szemben [8, 9]. A bélnyálkahártya hámja fizikai védőgát, amelynek összetevői: a nyálkahártya felszínét borító nyál-, mucinréteg (glycocalix), a hámsejtek apicalis felszíne, valamint a hámsejtek közötti réseket lezáró, a sejtek apicalis pólusa közelében elhelyezkedő „tight junction”-ként ismert sejtkapcsoló struktúrák. A nyálkahártya hámja azonban nem pusztán egy egyszerű mechanikus gát. A hámsejtek rendelkeznek a mikrobákra jellemző molekuláris mintázatokat („microbial associated pattern” – MAMP, más néven „pathogen associated pattern” – PAMP) igen érzékenyen érzékelő, felismerő és a jelzéseket továbbító receptorokkal („pattern rec-

ognition receptors” – PRR). Ilyenek a transzmembrán toll like receptorok (TLR) és intracelluláris NOD-like receptorok (NLR). A hámsejtek emellett hatékony biokémiai és immunvédekezési mechanizmusokkal is rendelkeznek, tehát valóban igen komplex barriert jelentenek [8, 9].

Az intestinalis epithelsejtek a bennük expresszált, a MAMP-okat érzékelő receptorok jelútjai révén az intestinalis immunrendszerrel is szoros kapcsolatban állnak, és ezáltal annak mintegy részét képezik. Emellett az intestinalis immunrendszer subepithelialisan – a lamina propriában – elhelyezkedő dendritikus sejtjei a hámot penetráló periszkópszerű nyúlványaikon át történő mintavétel révén közvetlenül is tesztelik a bértartalommbeli mikrobiális antigéneket. A béllyákhártyahám és az intestinalis immunrendszer számára az igazán nagy kihívást az jelenti, hogy egyidejűleg kell toleranciát fenntartani a megszokott bélbéli mikrobaközösség iránt és azonnali válaszreakciót kifejteni annak összetételében fellépő változásokkal, illetve az esetleges inváziós törekvésekkel szemben. A nyálkahártyahám alkotta komplex barrier folyamatos és jól szabályozott működésével egyidejűleg biztosítja a beleket benépesítő mikrobaflóra homeosztázisát, a béllyákhártyahám integritásának megőrzését, valamint a commensalis és patogén mikrobák inváziós törekvéseinek elhárítását [8, 9].

A béllyákhártyahám ezen komplex barrierfunkciójában a nyálkahártya hámsejtjeiben expresszált, a mikrobákat, mikrobatermékeket érzékelő mintázatfelismerő receptorok mellett alapvető s nélkülözhetetlen szerepe van a nyálkahártyahám specializált (Paneth-sejtek) és nem specializált sejtjei, az egyszerű enterocyták által konstitutív módon, állandóan termelt vagy csak a mikrobák indukciós hatására termelődő antimikrobiális peptidok (AMP) népes seregének. A belek antimikrobiális hatású termékeinek arzenálja több peptid- és proteincsaládot foglal magában. Ilyenek a különböző defenzinek, a cathelicidinek és a C típusú lektinek. Jelen ismereteink szerint a vékonybélben az antimikrobiális peptidok arzenáljának legfontosabb tagjait az ileumnyálkahártya cryptáinak mélyén, az őssejtek szomszédságában helyet foglaló Paneth-sejtek (Pc) által termelt, s a sejtek szekréciós granulumaiban propeptidok formájában tárolt α -defenzinek (HD-5 és HD-6), a vastagbélben pedig az enterocyták által termelt β -defenzinek (HBD-1, HBD-2 és HBD-3) képezik. A megtermelt és kiválasztott defenzinek zömében a glyocalixban halmozódnak fel, ezáltal is gátolva azt, hogy a bélbéli mikrobák az intestinalis hámsejtekkel közvetlen érintkezésbe kerüljenek [8, 9]. E defenzinek a veleszületett immunrendszer első vonalban bevetett fegyverei, végrehajtó molekulái, amelyek amellet, hogy széles spektrumú antimikrobiális aktivitással rendelkeznek a veleszületett immunválasz-reakciók kiváltásában, annak szabályozásában, sőt, az adaptív immunválasz-reakciók beindításában és modulálásában is fontos szerepet ját-

szanak [10, 11]. A defenzintermelés bármely okból történő csökkenése meggyengíti a béllyákhártya barrierfunkcióját és megnöveli annak permeabilitását, s elősegíti a hám mikrobák által történő invázióját. Ez és minden más, a barrierfunkció integritásának és a homeosztázis fenntartásában szerepet játszó tényezőt, folyamatot érintő károsodás, szabályozási hiba viszont a commensalis mikrobákkal szemben is fokozott, „non tolerogen” immunválasz-reakció fellépéséhez és krónikus bélgyulladás kialakulásához vezethet. Ezekről részletesebben kitűnő, review közleményekben olvashatunk [4, 10].

A Crohn-betegség ileumra lokalizált formájának patogenezisére vonatkozó újabb ismeretek

Crohn-betegségben és ulceratív colitisben szenvedő betegeknel a beleket benépesítő mikrobaközösség összetételében és funkcióiban kóros változásokat írtak le [12], amelyet e mikrobaközösségre vonatkozóan molekuláris technikákkal végzett újabb vizsgálatok eredményei is megerősítettek [13]. A legtöbb tanulmány szerint csökkent a mikrobiális diverzitás, csökkent a *Clostridiumok* koncentrációja, és megnőtt a mikrobiális közösségben az *Enterobacteriaceae*-k, köztük pedig különösen az adherens/invazív *E. coli* baktériumok aránya. A mikrobaközösség összetételét érintő változás funkcionális változással is jár, amely elsősorban abban nyilvánul meg, hogy a felszaporodott adherens/invazív *E. coli* baktériumok, áthatolva a hámot fedő nyákrétegen, kolonizálják Crohn-betegekben az ileumnyálkahártya hámsejtjeit [12, 13]. E megfigyelések vezettek ahhoz a hipotézishez, hogy az intestinalis antibakteriális védekezésben lehet az elsődleges hiba, amely a commensalis mikrobaközösség összetételét érintő változásokhoz, az intestinalis homeosztázis megbomlásához s ennek kapcsán a Crohn-betegségre jellemző krónikus bélgyulladás kialakulásához vezet.

Wehkamp és munkatársai [14, 15] kimutatták, hogy ilealis Crohn-betegségben szenvedők intestinalis nyálkahártya-extraktuma csökkent antimikrobiális aktivitással rendelkezik, és náluk a Paneth-sejtek α -defenzineinek (HD-5 és HD-6) expressziója is csökkentnek bizonyult, miközben a Paneth-sejtek egyéb termékeinek [lysozyme, group IIA phospholipase A2 (PLA2), TNF- α] expressziója a kontrollokban észlelthez képest változatlan maradt vagy éppen emelkedett. A szerzők hangsúlyozták, hogy az α -defenzinek expressziójának specifikus csökkenése független volt a belet érintő gyulladás mértékétől és az sem colitis ulcerosában, sem pouchitisben, sem a Crohn-betegség colonra lokalizált formájában szenvedő betegeknel nem volt megfigyelhető [16, 17]. A csökkent α -defenzin-expresszió funkcionális következményeit *Wehkamp és mtsai* transzgenikus egérmodellben is vizsgálat tárgyává tették. Azt

tapasztalták, hogy ha azokban a HD-5-nek megfelelő egér- α -defenzin, a kriptidin szintje a HD-5-nek a Crohn-betegekben észlelt expressziójának szintjére csökkent, az egerek bélflórájában alapvető változások következtek be. E peptidek alacsony szintje pedig a mikrobák glyocalixon való átjutását is elősegítette, ami viszont a gyulladásos vezető folyamatok erős indukcióját eredményezte. Azt is megfigyelték, hogy az ilyen egerek fokozottan fogékonyak a *Lysteria monocytogenes* és a Gram-pozitív patogén baktériumok iránt. Az ileumot érintő Crohn-betegségben a bélbeli mikrobapopuláció összetételét emberben is kórosnak találták, különösen az *E. coli* fokozott virulenciája volt igen szembevetendő [12, 13].

Leleteik alapján *Wehkamp és munkatársai* arra a következtetésre jutottak, hogy a Paneth-sejt-eredetű α -defenzinek ilealis Crohn-betegségben észlelt specifikus elégtelensége az elsődleges és meghatározó tényező a betegség ileumra lokalizált formájának kialakulásában [14, 16, 17]. Ez ugyanis nemcsak az intestinalis nyálkahártya és a commensalis bélflóra között kialakult homeosztázis felborulásával, a nyálkahártya-mikrobák és mikrobatermékek számára való átjárhatóságának, permeabilitásának fokozódásával, hanem e defenzinek immunreguláló szerepének zavarával is jár, ami a behatoló mikrobákkal, mikrobatermékekkel szemben fellépő – a homeosztázist fenntartó szabályozott immunválasz helyett – a kontroll alól kiszabadult immunválasz-reakciók fellépéséhez, s idült gyulladás kialakulásához vezet [16, 17]. Azt, hogy ilealis Crohn-betegségben szenvedőknél csökkent az α -defenzin-termelés, *Elphick és mtsai* [18] is megerősítették. Vizsgálataik szerint az ilealis Crohn-betegségben szenvedők ileostomás folyadékában a HD-5 szintje lényegesen alacsonyabbnak bizonyult [átlagban: 7,9 $\mu\text{g/ml}$ (5,5–35 $\mu\text{g/ml}$)], mint annak a kontrollokéban észlelt szintje [10,5 $\mu\text{g/ml}$ (6,0–30,4 $\mu\text{g/ml}$) $p = 0,05$]. Emellett a szerzők egy másik lényeges különbségre is rámutattak, nevezetesen arra, hogy míg a kontrolloknál az ileostomás folyadékban a HD-5 csaknem kizárólag érett, aktív formában van jelen, addig az ilealis Crohn-betegségben szenvedők ileostomás folyadéka a HD-5 prekursor és érett formáját vegyesen tartalmazza, és annak többsége tripszinnel, kimotripszinogénnel alkotott komplex formában volt jelen [18], ami szintén hozzájárul a nyálkahártya kémiai barrierjének meggyengüléséhez.

A patogenezisre vonatkozó kutatások terén áttörést, az ismeretek terén pedig jelentős előrehaladást hozott az első, Crohn-betegségre hajlamosító fogékonysági locus azonosítása a 16-os kromoszómán, amelyet IBD1-nek, majd NOD2/CARD15 génnek neveztek [19, 20]. Megállapították, hogy e gén a nucleotide-binding oligomerization domain 2-t, vagyis a mikrobiális mintázatokat (MAMP) érzékelő NOD2 proteint és a caspase recruitment domain 15-öt (CARD15) kódolja (elnevezése is innen ered). A NOD2/CARD15

azon géncsaládba tartozik, amelynek tagjai a mikrobák és termékeik intracelluláris felismerésében szerepet játszó, az NBS-LRR proteineket (nucleotide binding site and leucine-rich repeat) kódolják. Ezeknek a veleszületett immunvédekezés hatékony működésében is fontos szerepe van. A nagy áttörést pedig az jelentette, hogy felderítették: e gént érintő frame-shift mutációkkal Crohn-betegségre való fokozott fogékonyság társul [21]. Megállapították, hogy e gént érintő, funkcióvesztéssel járó mutációk a Crohn-betegségben szenvedők közel egyharmadánál figyelhetők meg, továbbá, hogy ezek a NOD2/CARD15 mutációk specifikusan csak a vékonybélre, az ileumra lokalizált Crohn-betegséggel társultak, a colonra lokalizált Crohn-betegséggel és az ulceratív colitisszel nem. A NOD2/CARD15 génnek három, a Crohn-betegséggel független társulást mutató mutációs variánsát azonosították, ezek az R702W (Arg702Trp), a G908R (Gly908Arg) és a 1007fs (Leu1007fs) variánsok [1, 6, 22].

A NOD2/CARD15 gén által kódolt NOD2 protein az intestinalis epithelsejtekben – a Paneth-sejtekben pedig különösen – erősen expresszált. Fokozatosan fény derült e gén és termékének sokféle funkcióira is. Közülük a legfontosabbak az NF- κ B aktiválása, az α -defenzinek szintézisének szabályozása, az apoptózis-indukció, valamint a TLR-mediált jelátviteli utakkal való interferálás [23]. Kimutatták, hogy a NOD2 protein a baktériumok falából származó peptidoglikánok, különösen a muramildipeptiddel (MDP) való kötődés hatására aktiválja az NF- κ B transzkripció faktort [23]. A NOD2-mediált NF- κ B-aktiváció pedig a defenzinek termelésének fokozása mellett gyulladáskeltő citokinek (TNF- α – tumornekrozis-faktor- α , interleukin-1 β és IL-6) termelésének indukciójával is jár. Utóbbiak kontrollált expressziója a korai védekezőmechanizmus fontos komponense, és alapvető fontosságú az intestinalis nyálkahártya barrierfunkciójának megőrzése és a mikrobainvázio prevenciója szempontjából. Azt is megállapították azonban, hogy ezen akut védekezési reakcióban fellépő bármilyen defektus krónikus gyulladás kialakulásával jár [9, 10]. A Crohn-betegséggel társult mutációs variánsok (az Arg702Trp, Gly908Arg és a Leu1007fsinsC) megváltozott funkcióképességű proteineket, peptidek képzésével és következményes funkciózavarokkal járnak. Szignifikánsan csökken a mutáns NOD2-variánsok mintázatfelismerő képessége, MDP-re adott válaszadó képessége, és csökkent a defenzintermelésre kifejtett indukciós hatása [2, 6, 21]. A mutáns NOD2-vel rendelkező egyedek esetében a HD-5 és HD-6 expressziója igen nagy mértékben csökkent, s a csökkenés a transzkriptek szintjén is megmutatkozott [21, 22]. Ezzel szemben a legtöbb egyéb Paneth-sejt-eredetű antimikrobiális termék esetében nem találtak szignifikáns változást, ami az α -defenzin-termelés specifikus defektusára utal. A mutáns NOD2 ugyanakkor nagymértékben fokozza a gyulladásos vezető jelátvivő rendszerben kulcsszerepet játszó transzkripció

faktor, az NF- κ B expresszióját, ami viszont jelentősen fokozza a proinflammatorikus citokinek, mint a TNF- α , IL-1 α és az IL-8 termelését, és ezáltal elindíthatja a krónikus gyulladásos vezető folyamatot [8, 9, 16, 17, 23].

A vázolt megfigyelések, leletek értékelése alapján egyre határozottabban az a nézet alakult ki, hogy az ilealis Crohn-betegség kialakulását genetikailag fogékony egyénekben a defenzin-égtelenség miatt összetételében és funkciójában megváltozott, „patogénne” vált intestinalis mikrobaközösség, „pathogen community” indítja el, amit nagymértékben elősegít a nyálkahártya barrierfunkciójának ugyancsak a defenzin-égtelenség által okozott károsodása, permeabilitásának fokozódása [1, 8, 9, 17]. A defenzinek szerepét a betegség patogenezisében közvetve magyar szerzők vizsgálatai is alátámasztják [24].

A luminális mikrobák Crohn-betegség patogenezisében játszott szerepét klinikai megfigyelések is megerősítik. Megfigyelték, hogy a béltartalom útjának sebési beavatkozással történő elterelése esetén a beavatkozás helyétől aboralis bélszakaszokban gyógyulnak vagy lényegesen enyhülnek a Crohn-betegséggel kapcsolatos gyulladásos elváltozások. Az a tény, hogy a gyulladásos folyamatok olykor antibiotikus kezelésre is enyhülnek, szintén a mikrobák patogenezisben játszott szerepe mellett szól. A bélflóra mikrobáinak patogenezisben játszott szerepét illetően azonban a leglátványosabb s egyben legközvetlenebb bizonyítéknak azt a megfigyelést tekintik, hogy a Crohn-betegségben szenvedők belének nyálkahártyáját valóságosan beborítja az *Escherichia coli* törzs tagjai, míg az egészségesek vékonybelének nyálkahártyája rendszerint teljesen mentes azoktól [12, 16, 17]. Az ilealis Crohn-betegség patogenezisére vonatkozó, előzőekben vázolt nézetet azonban nem mindenki fogadja el. Újabban egy másik munkacsoport is vizsgálat tárgyává tette a Crohn-betegeknél az α -defenzin-expresszió és a NOD2-mutációk kapcsolatát [25]. A szerzők ugyan szintén azt találták, hogy a CD-betegeknél a HD-5 és HD-6 szintje 1,9, illetve 2,2-szer alacsonyabb volt a gyulladásos mucosában, mint a gyulladásmentes kontrollmintákban. Ellentétben azonban a *Wehkamp-munkacsoport* [14, 16, 17, 26] korábbi tanulmányokban közölt leleteivel, nem találtak szignifikáns összefüggést az α -defenzin-expresszió és a NOD2 genotípusa között. Ezért úgy vélik, hogy az α -defenzin-expresszió független a NOD2-státustól, és annak csökkenése sokkal inkább a gyulladás okozta felszíni hámvessztéssel kapcsolatos következmény, mint hogy az a gyulladás kialakulását elindító ok lenne. A két szerzőcsoport között kialakult vitával kapcsolatos cikkek [26, 27] a *Gastroenterology* hasábjain jelentek meg. A cikkekben foglalt érvelések részletes ismertetésére itt nem kerülhet sor. Lényeg azonban az, hogy mindkét szerzőcsoport megmaradt eredeti állításainál.

Magyar szerzők is vizsgálták a NOD2-mutációs variánsok Crohn-betegséggel való társulását. Az egyik [28]

tanulmány szerint a társulás gyermekeknél sokkal gyakoribb volt (52,6%), mint a felnőtt betegek (34,5%) esetében, és a mutációs profil is eltérő volt a két betegpopulációban. Figyelemre méltó viszont az is, hogy az egészséges kontrollok 14,8%-ánál szintén kimutatható volt valamelyik mutációs variáns jelenléte. A másik tanulmány [29] szerint pedig magyar populációban a NOD1G97A (E266K) -mutáció hordozása növeli meg jelentősen a Crohn-betegség iránti fogékonyságot. Szintén hazai szerzőcsoport [30] vizsgálatai pedig a mikrobiális komponensek elleni szerológiai reaktivitás, a NOD2/CARD15 genotípus és a betegség fenotípusa közötti összefüggésekre mutattak rá.

A *Wehkamp-munkacsoportnak* azonban szembesülnie kellett azzal a ténnyel, hogy az ilealis Crohn-betegségben szenvedőknek csak mintegy egyharmadánál áll fenn a szóban forgó mutációs variánsokkal való társulás még a nyugati országokban is, a japán Crohn-betegek körében pedig kifejezetten ritkán fordul elő ez a társulás. Ugyanakkor az intestinalis nyálkahártya-extraktum antimikrobiális aktivitásának csökkent volta, különösen pedig a Paneth-sejt-eredetű α -defenzinek elégtelensége az ilealis Crohn-betegségben szenvedők többségében demonstrálható volt. Az sem volt figyelmen kívül hagyható jelenség, hogy a nem mutált, vad típusú NOD2-vel rendelkező CD-betegeknél is közel 50%-kal alacsonyabbnak bizonyult a HD5 és HD6 α -defenzinek expressziója a kontrollokban észlelt expressziójukhoz viszonyítva [9, 17, 26]. Ezek sarkallták a munkacsoportot további kutatásokra, hogy magyarázatot találjanak a vad típusú NOD2-vel rendelkező ilealis Crohn-betegeknél is észlelt α -defenzin-égtelenség okára. Újabb vizsgálati eredményeik szerint az ilealis Crohn-betegek nagyobb hányadánál a Paneth-sejt-eredetű α -defenzin-égtelenség okát a Paneth-sejtek differenciálódását szabályozó és így az α -defenzinek expresszióját is befolyásoló Wnt (wingless type) jelátvivő út Tcf-4 nevű transzkripciósfaktorának csökkent expressziója képezi, amely a Paneth-sejt-eredetű α -defenzinek termelésének csökkenésével jár, függetlenül attól, hogy NOD2 génjük szenvedett-e mutációt vagy sem [31, 32].

A Wnt jelút, illetve jelzés a Paneth-sejtek differenciálódásának, érésének szabályozásában vesz részt. Egerekben specifikusan a kriptidinek (a humán Paneth-sejt-eredetű α -defenzineknek megfelelő eger- α -defenzinek) expresszióját szabályozza. A Tcf-4 faktor csökkent expressziója és a Paneth-sejtek csökkent α -defenzin-termelése között oki kapcsolatot a Tcf-4 faktort kódoló géntől megfosztott „knock out” Tcf 4-/- egerekben demonstrálták. Azt is kimutatták, hogy e faktort kódoló gén vonatkozásában heterozigóta (+/-) egerekben mutatkozó Tcf-4-csökkenés is elégséges ahhoz, hogy a Paneth-sejt-eredetű α -defenzin-szint és a baktériumölő képesség szignifikáns csökkenését idézze elő.

Ezen megfigyelések és adatok együttesen alátámasztják a szerzők [31, 32] azon hipotézisét, hogy a Tcf-4-

elégtelenség a Paneth-sejt-eredetű α -defenzinek csökkent expressziójához vezet, amely meggyengíti az intestinalis nyálkahártyai antimikrobiális védekezést, és ez felboríthatja a gazda- és mikrobapopuláció között kialakult homeosztázist. Újabban ugyanez a munkacsoport a Tcf-4 promotor régióját érintő polimorfizmusoknak ilealis Crohn-betegséggel való társulását demonstrálta. Crohn-betegeknél és megfelelő számú kontrollnál a Tcf-4 5' szárnyrégiójának 2,1 kb kiterjedésű szakaszát szekvenálták és az észlelt 8 single nucleotid polimorfizmus (SNP) közül hármat az ilealis Crohn-betegeknél sokkal gyakrabban észlelték. Ezt követően több ezer Crohn-betegnél (akik a betegség csak ileumot vagy csak colont érintő formájában szenvedtek) és több mint ezer egészséges kontrollegyednél elvégezték ezen SNP-k nagy hatásfokú (high throughput) analízisét. Kimutatták, hogy az rs3814570 SNP kizárólag ilealis Crohn-betegséggel társultan fordult elő. Ez a társulás független volt a NOD2-státustól, ezért levonható az a következtetés, miszerint a Tcf-4-et érintő alterációk, polimorfizmusok képezik a másik genetikai alapját a Paneth-sejt-eredetű α -defenzin-elégtelenségnek a NOD2-mutációk mellett az ilealis Crohn-betegségben szenvedőknél. A szerzők szerint ez egyben azt is bizonyítja, hogy a Paneth-sejt-eredetű α -defenzinek csökkenése ténylegesen az elsődleges fontosságú tényezőt képezi e betegség patogenezisében. Mivel pedig az α -defenzinek nemcsak peptid-antibiotikumként, hanem immunmodulátorként is működnek, a vékonybélben való csökkent termelődésük a vesézületett intestinalis immunitás defenzinelégtelenség okozta károsodása mellett az adaptív immunválaszok szabályozási zavarait is eredményezhetik [10, 31, 32].

Az autophagia zavarainak szerepe a Crohn-betegség patogenezisében

A molekuláris genetika és az egész genomot érintő alterációk, illetve SNP-k gyors kimutatására alkalmas módszerek kifejlesztése és elterjedése lehetővé tette, hogy a fenotípust illetően jól jellemzett nagy betegcsoportokon vizsgálják az adott betegség ilyen génpolimorfizmusokkal való esetleges társulását. Az ilyen egész genomra kiterjedő genotipizálási vizsgálatok során észlelt polimorfizmusok valamely betegséggel való társulásának feltárását célzó tanulmányok (genome wide association studies, GWA) a Crohn-betegség és az ulceratív colitis egyre nagyobb számú génnel, illetve génvariánsal való társulását derítették fel. Újabb vizsgálatok eredményei szerint a Crohn-betegség iránti fogékonyság több mint harminc gén kontrollja alatt áll [2, 3, 5, 6].

A Crohn-betegséggel kapcsolatos GWA-vizsgálatok meglepő és váratlan eredményt képezik azok a leletek, amelyek e betegség autophagia génekkal, illetve génvariánsokkal való társulását tárták fel. Az autophagia folyamatát sok gén szabályozza. Közülük különösen két génnel, illetve azok variánsaival kapcsolatban fi-

gyelték meg a Crohn-betegség szoros társulását, illetve a betegség kialakulásának fokozott kockázatát több tanulmányban. Ezek: az „autophagy related” 16-like 1 (ATG16L1) és az „immunity related guanosine triphosphatase gene” (IRGM) gének [5, 6, 33].

Az autophagia jelensége ősi, minden eukaryotasejtben meglévő, az evolúció során jól megőrzött öntisztító képesség, illetve folyamat, amely a sejtműködés során keletkező salakanyagok, károsodott sejtorganellumok, előregedett fehérjék sejttesttől való elkülönítését, szekvesztrálását, kettős membránnal rendelkező hólyagcsákba, az autophagosomákba zárását, majd azoknak a lysosomákkal való fúziója révén történő emésztését, illetve a sejtből való eltávolítását szolgálja. Ily módon tehát az autophagiának minden sejt, így az intestinalis epithelium homeosztázisának fenntartásában is meghatározó szerepe van. Még fontosabb azonban az, hogy az autophagiának a sejtekbe jutott, tehát az intracelluláris mikrobák autophagosomákba történő zárásában, majd a sejtekből történő eltávolításában is nélkülözhetetlen szerepe van. Ezt xenophagiának is nevezik az irodalomban. Az autophagia tehát része azon mechanizmusok arsenáljának is, amelyek védik a gazdaszervezetet a mikrobiális infekciókkal szemben. Az autophagia szerepe emellett mind a vesézületett, természetes, mind az adaptív immunitásban is bizonyított [11, 34]. Több, autophagiával kapcsolatos protein ismeretes, amelyek szükségesek az autophagiás folyamat (program) végrehajtásához. Ilyen az ATG16L1 is, amely az autophagiás folyamat alapvető modulátora. Utóbbi szerepét mi sem bizonyítja jobban, mint az, hogy az ATG16L1 deficiens egerek születésük után az első napokban elpusztulnak. Az ATG16L1-hiányos sejtekre pedig az jellemző, hogy nem képesek az ATG5-ATG12 proteinkomplext a szekvesztráció, az autophagosoma izolációs membránjának kialakulási helyére toborozni, s ezáltal az egész autophagiás folyamat károsodást szenved [34]. Ami az ATG16L1 és a Crohn-betegség kapcsolatát illeti, az rs2241880 SNP G alléljáról több tanulmányban kimutatták, hogy a génvariáns hordozása a Crohn-betegség kialakulásának fokozott kockázatával jár. Ez az SNP az ATG16L1 génnek gyakori kódoló variánsa, amely specifikusan az ATG16L1 protein 300. aminosavának helyén a treonin-alaninnal való helyettesítést eredményezi, és hibás működésű T300A protein képződésével jár. Ez egy csökkent stabilitású protein s nem képes az autophagiás gépezetet megfelelően a behatoló mikrobák felé irányítani [11, 34].

Az ATG16L1 protein Paneth-sejtek biológiájában játszott szerepét Cadwell és mtsai [35] állatkísérletekben igen meggyőzően demonstrálták, megvilágítva, hogy mi lehet a mechanizmusa annak, hogy az ATG16L1-polimorfizmus a CD-kialakulás fokozott kockázatával társul. A szerzők génmanipulációs eljárással (gene trap vector beillesztésével) az ATG16L1 proteint alacsony szinten expresszáló ATGL16^{HM} ege-

reket hoztak létre és azokon vizsgálták, hogy az ATG16L1 alacsony expressziója hogyan befolyásolja az autophagia folyamatát a bélben. Az ilyen egerek Paneth-sejtjeiben szembevetendő, az AMP- ket , köztük az α -defenzinokat tartalmazó granulumokat és azok exocytosisát érintő morfológiai rendellenességeket észleltek. A kockázatnövelő ATG16L1 allélra nézve homozigóta Crohn-betegek ileumának Paneth-sejtjeiben is észleltek ugyanezen elváltozásokat [35]. E változások ATG16L1 fehérjét alacsony szinten expresszáló, „hypomorph” egerekben lényegében azzal járnak, hogy a Paneth-sejtek elvesztik azon képességüket, hogy a kémiai barrier kielégítő működésének biztosításához megfelelő mennyiségű antimikrobiális peptidet válasszanak ki a juttassanak a bél lumenébe. Ez egyben arra is utal, hogy az autophagia molekuláris gépezetének defektusa nemcsak az intracelluláris mikrobák eltakarítására való képtelenség előidézésé révén, hanem azáltal is hozzájárul a Crohn-betegség kialakulásához, hogy a Paneth-sejtek legfontosabb fiziológiai funkcióját is alapvetően megzavarja, ellehetetleníti [35]. Ez a génmódosított egerekben, csakúgy mint az ATG16L1 betegséggel társult variánsára (T300A) homozigóta betegekben, az intestinális gyulladás kialakulásában szerepet játszó leptin, adiponectin és adipocytokinek fokozott expressziójával járt [35]. A Paneth-sejtek biológiájában az autophagiazavar miatt fellépő defektus az intestinális flóra összetételét és a szervezetnek a megváltozott flórára adott válaszreakcióját is befolyásolja. Az intracelluláris mikrobáknak a veleszületett immunvédekezés eszközeivel történő kitakarításának hibás volta a commensalis flórával szemben nem megfelelően kontrollált adaptív immunválasz fellépéséhez vezet [5, 11, 34, 35, 36].

A Crohn-betegség kialakulásában az ATG16L1-variáns szerepének megítélése szempontjából figyelmet érdemel az a megfigyelés is, miszerint a fentebb ismertetett módon létrehozott ATG16L1 hypomorph egerek belében felnőttkorukra olyan szövettani rendellenességek alakulnak ki, amelyek erősen emlékeztetnek azon Crohn-betegek ileumában mutatkozó elváltozásokra, akik homozigóták a mutáns, a T300A ATG16L1 proteint kódoló allél vonatkozásában. *Cadwell és mtsainak* [35] más kísérleti megfigyelése is alátámasztja az ATG16L1-funkció hibás volta és az intestinális gyulladás kialakulása közti kapcsolatot.

A GWA tanulmány során a másik autophagiagén, az IRGM gén Crohn-betegséggel való specifikus társulását is kimutatták. Több ezer Crohn-betegről és egészséges kontrollra kiterjedő GWA vizsgálat során az IRGM gént érintő két SNP (rs1000113 és rs4958847) Crohn-betegséggel való szoros társulását figyelték meg. Ez bizonyítja, hogy az IRGM specifikusan a Crohn-betegségre hajlamosító fogékonyági locus. A két ismertebb autophagiagénre (ATG16L1, IRGM) vonatkozó tanulmányok tehát egybehangzóan arra mutatnak, hogy az

autophagia, illetve az azt érintő zavarok kulcsszerepet játszanak a Crohn-betegség patogenezisében [34, 36].

A NOD mintázatfelismerő proteinek és az autophagia kapcsolata, valamint Crohn-betegségben játszott együttes szerepük

Az autophagia-génpolimorfizmusok szerepére vonatkozó leletnél nem kevésbé váratlan és izgalmas összefüggéseket tártak fel az autophagia és NOD receptorok között, s így a Crohn-betegség patogenezisével kapcsolatban is. *Travassos és munkatársainak* [37, 38] vizsgálatai kimutatták, hogy az intracelluláris mikrobákat és a baktériumok sejtfalából származó peptidoglikánokat, mindenekelőtt a muramil-dipeptidet (MDP) érzékelő NOD1 és NOD2 proteinek fontos, ha nem meghatározó szerepet játszanak az intestinális hám invazív mikrobákkal szemben fiziológiásan fellépő autophagiás (xenophagiás) válaszreakciójának kiváltásában is. Teszik ezt azáltal, hogy – egyelőre nem tisztázott jelúton át – a normális NOD proteinek az ATG16L1 autophagiaproteint a plazmamembránba, a mikrobainvázio helyére toborozva beindítják az intracelluláris mikrobák szekvesztrálását szolgáló autophagiás folyamatot, mégpedig anélkül, hogy közben a gyulladás kiváltásához vezető NF- κ B transzkripció faktort aktiválnák. A plazmamembránba transzlokált ATG16L1 autophagiaprotein, a behatoló mikrobák autophagosomákba történő becsomagolásához, majd a lysosomákhoz való szállításához szükséges és nélkülözhetetlen.

A szerzők [37, 38] a Crohn-betegséggel leggyakrabban társult, a NOD2/CARD15 gént érintő NOD2 L1007insC polimorfizmus által okozott (NOD₂) frameshift mutációt illetően homozigóta sejtek tenyésztésén végzett vizsgálatokban azt is kimutatták, hogy a mutált gén által kódolt, csontolt NOD2 protein nem képes az ATG16L1 autophagiaproteint a plazmamembránba toborozni, sőt, maga is a citoszolban marad, és így a behatoló mikrobák autophagosomákba történő becsomagolása, szekvesztrálása is károsodást szenved. Az autophagia pedig kulcseleme az intracelluláris baktériumok elleni veleszületett immunválasz-reakciónak.

Travassos és munkatársainak [37, 38] vizsgálati eredményei tehát eddig ismeretlen kapcsolatot tártak fel a mikrobákat, mikrobatermékeket érzékelő NOD proteinek és az autophagia folyamatának kiváltása, indukciója között, vagyis funkcionális kapcsolatot tártak fel a Crohn-betegséggel leggyakrabban társult – jelen ismereteink szerint – két legfontosabb gén, a NOD2/CARD15 és az ATG16L1, valamint az általuk kódolt proteinek és a szóban forgó gének által irányított folyamatok között. A szerzők [37, 38] tehát kapcsolatot tártak fel a veleszületett immunitás fontos elemei (NOD receptorok és az autophagiás folyamat legfontosabb molekuláris modulátora, az ATG16L1 protein) között, kimu-

tatva, hogy azok között szoros együttműködés van a bakteriális invázió elleni védekezésben. Leleteik fényében a NOD2-ATG16L1 tengely egy olyan egységes jelútszernak bizonyult, amelynek zavara központi szerepet játszik a Crohn-betegség patogenezisében, és amelynek ezért terápiás vonatkozásai is lehetnek.

A colonra lokalizált Crohn-betegség

Kisszámban ugyan, de a vastagbélben is vannak Paneth-sejtek, az α -defenzinek (HD-5 és HD-6) vastagbélbeli expressziója azonban gyenge, s azoknak fiziológiás körülmények között a vastagbélbeli antimikrobiális védekezésben csekély szerepe van. Ilyen szerepe a colonban elsősorban a β -defenzineknek van. A β -defenzinek multifunkcionális proteinek, amelyek igen fontos és sokoldalú szerepet játszanak a veleszületett immunvédekezésben [10]. Az emberi bélben négy β -defenzin expresszálódik. Közülük a HBD-1 konstitutív módon expresszált [39], a másik három bakteriális és gyulladásos stimulusok hatására fejeződik ki. Közülük a HBD-2 indukcióját, expresszióját a NOD2/CARD15 protein közvetíti. A HBD-2 expressziója gyulladásmentes colonban alig észlelhető [40], mRNS-szinten azonban az, valamint a HBD-3 és HBD-4 is expresszált a normális vékony- és vastagbél epithelialis sejtjeiben. Gyulladás esetén általában a HBD-2 és HBD-3 termelődése indukálódik, s expressziójuk mRNS- és proteinszinten is megnő. Crohn-betegségben azonban – a súlyos gyulladásos válaszreakció ellenére – gyakorlatilag nincs HBD-2-indukció, és a HBD-3 indukciója és expressziója is jóval alacsonyabb, mint ulceratív colitis esetében, függetlenül a gyulladás mértékétől. Crohn-colitis betegeknek a HBD-2-expresszió elégtelenségét immunhisztokémiai vizsgálatok leletei is megerősítették [40]. A HBD-4 expressziója pedig a Crohn-colitis betegeknek egyáltalán nem emelkedett a kontrollok colinhámsejtjeiben észlelt szintjéhez képes. Mindez jelzi, hogy a veleszületett mucosális védekezés válaszreakciója e két betegség (a Crohn-colitis, illetve colitis ulcerosa) esetében alapvetően eltérő [40]. E megfigyelések szolgáltak alapul *Webkamp és mtsai* [40] azon megállapításának, miszerint a colont érintő Crohn-betegségre – ellentétben az ulceratív colitisszel – a HBD-2 és HBD-3 károsodott indukciója jellemző, továbbá, hogy a colont érintő Crohn-betegség az enterocytákban a β -defenzinek csökkent expressziójával társult. Így feltételezhető, hogy a csökkent defenzinszint az intestinalis barrierfunkció intestinalis mikrobákkal szembeni meggyengüléséhez vezet. Éppen ez, nevezetesen a β -defenzinek alacsony szintű indukciója a kulcsfontosságú jellegzetessége a colonra lokalizálódó Crohn-betegségnek.

Fellerman és mtsai [41] pedig azt találták, hogy a HBD-2 kódolásáért felelős DEFB4 gén kópiaszáma a colonra lokalizált Crohn-betegségben szenvedőknél alacsonyabb, mint a kontrollokban (4 helyett 3). A szer-

zők ebből azt a következtetést vonták le, hogy a β -defenzin locusban (kromoszóma 8p23.1) észlelt alacsonyabb génkópiaszám kulcsfontosságú hajlamosító tényező lehet a colont érintő Crohn-betegség patogenezisében [41].

Ez a felfogás úgyszólván általános elfogadásra talált. A múlt évben azonban *Bentley és mtsai* [42] nagyobb számú betegen és kontrollon végzett vizsgálata a génkópiaszámot illetően homlokegyenest ellenkező eredményhez vezetett. A szerzők nemcsak a colonra lokalizált, hanem az ilealis Crohn-betegségben szenvedőknél is magasabb DEFB4 génkópiaszámot találtak, mint a kontrollokban. Leleteik alapján – szemben az eddigi nézettel – arra a következtetésre jutottak, hogy nem a csökkent, hanem az emelkedett génkópiaszám a Crohn-betegségre hajlamosító kockázati tényező, mégpedig annak bármely bélszakaszt érintő formája esetében. Ismert azonban, hogy a nyolcas kromoszómán (8p23.1) elhelyezkedő, a DEFB4-et is magában foglaló β -defenzin clusterben a génkópiaszám igen variábilis, diploid genom esetében is 2–12 között lehet, és az egyedek többsége (>90%) 2–6 kópiával rendelkezik. Így érthető, hogy az ellentétes leletek kapcsán vezető szaklapban megjelent szerkesztőségi közlemény hangsúlyozza ugyan a *Bentley és mtsai* által végzett tanulmány értékét, nevezetesen azt, hogy az rámutatott, hogy kétes az alacsony DEFB4 génkópiaszám Crohn-betegséggel való társulása. Ugyanakkor óva int attól is, hogy az ellenkezőjét bizonyítottak tekintsük, utalva a génkópiaszám pontos meghatározásának jelenlegi metodikai nehézségeire. A szerkesztőségi közlemény a kérdés tisztázásához további, nagyobb számú betegre és kontrollra kiterjedő vizsgálatokat lát szükségesnek [43].

Colonra lokalizált Crohn-betegség esetében a β -defenzinekhez hasonlóan más antimikrobiális peptidek, mint az elafin, SLPI és LL-37 indukáltsága is csökkenőbb, mint az ulceratív colitisben szenvedőknél. Azt, hogy a β -defenzinek és a fentebb említett többi antimikrobiális peptidek csökkent(ebb) expressziója a Crohn-betegeknek a colonnyálkahártya antimikrobiális (kémiai) barrierjének defektusával jár, úgy is bizonyították, hogy Crohn-colitis és colitis ulcerosás betegekben és egészséges kontrollok vastagbélből vett biopsziás minták extraktumának baktériumölő képességét összehasonlították. A colonra lokalizált Crohn-betegségben szenvedők biopsziás anyaga extraktumának baktériumölő képessége a másik kettőéhez viszonyítva szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult [15, 17].

Tekintettel arra, hogy a HBD-1 a vastagbél-nyálkahártyában konstitutív módon expresszált, magyar szerzők [44] azt vizsgálták, hogy megfigyelhető-e ennek génjét (DEFB1) érintő SNP-polimorfizmusok valamelyikének Crohn-betegséggel való társulása. Leleteik szerint a DEFB1 gént érintő három vizsgált SNP közül kettő, a DEFB1 G20A (rs 11362) és a DEFB1 C-44G (rs 1800972) igen erős társulást mutatott a Crohn-betegség colonra és ileocolonra lokalizált formáival.

A szerzők szerint a DEFB1 szóban forgó variánsai a Crohn-betegség kialakulásának kockázatával járnak s azok a betegség fenotípusát (a colonra való lokalizációt) is meghatározhatják.

Másik magyar szerzőcsoport [45] pedig a gyulladásos bélbetegségekre hajlamosító fontosabb fogékonysági allélek kölcsönhatását vizsgálta Crohn-betegekben. Leleteik szerint a fogékonysági allélek mindegyike függetlenül hozzájárul a betegségkockázathoz. Két különböző kockázati gént hordozó betegekben azok kumulatív hatásuk lehetnek.

Korábban említést nyert, hogy Paneth-sejtek a colonnyálkahártyában csak elszórtan és kis számban találhatók. Crohn- és colitis ulcerosás betegeknel viszont gyakori jelenség az úgynevezett Paneth-sejt-metaplasia a colonban a gyulladásos folyamat regeneratív fázisával kapcsolatban. A metaplasztikus Paneth-sejtek száma a colonban enormisan, akár 300-szorosára is megnövekedhet, s azokban a HD-5-expresszált. Felszaporodásuk erősíti a mucosalis veleszületett immunvédekezést [46]. Ezt szolgálhatják a colon lamina propriájában felszaporodott specifikus markerekkel kimutatott plazmasejtek is, amelyek HBD-2-t expresszálnak.

Megbeszélés és következtetés

Napjainkban a Crohn-betegséget multifaktoriális kórképnek tekintik, amelyben genetikai és környezeti tényezők összjátékának van meghatározó szerepe [1, 3]. A leírtakból láthatjuk, hogy a betegség patogenezise rendkívül komplex és teljes mértékben máig sem tisztázott [1, 6]. Az viszont az irodalom tükrében bizonyítottnak látszik, hogy a betegségre jellemző bélgyulladás kialakulásához vezető folyamat közvetlen elindítója a bélnyálkahártyahám kémiai barrierjének elégtelenné válása, amely a betegség mindkét fenotípusa esetében a defenzinek csökkent expressziójával kapcsolatos, a defenzinelégtelenség következménye [8, 14, 15, 16, 17, 26]. Jelen ismereteink szerint az elégtelen defenzintermelés a betegség ileumot érintő formájában alapvetően a Paneth-sejtek differenciálódását szabályozó Wnt jelátviteli út transzkripciós faktorának (Tcf-4) génjét érintő, s a betegséggel társult polimorfizmusok által okozott differenciációs zavar következménye az esetek nagyobb hányadában [31, 32]. Az esetek közel egyharmadában pedig a mutáns NOD2 protein hibás funkciója, a defenzintermelésre gyakorolt csökkent indukciós hatása felelős a defenzinelégtelenség kialakulásáért [20, 21, 22, 26]. A Crohn-betegség colonra lokalizált formájában pedig a 8-as kromoszómán elhelyezkedő β -defenzin locusban fellépő rendellenes (nem eldöntött, hogy alacsonyabb vagy magasabb) génkópiaszám áll a defenzintermelés elégtelenségének hátterében [41, 42, 43]. A defenzintermelés elégtelensége a bél mikrobiotájában változásokhoz vezet, fokozottan adherens és invazív tulajdonságú baktériumok felszaporodásával s azoknak a

bélnyálkahártyához való tömeges kitapadásával, a homeosztázis felborulásával jár. Ez és a nyálkahártya kémiai barrierfunkciójának defenzinelégtelenség okozta defektusa, a nyálkahártyahám permeabilitásának fokozódása az intestinalis epithel bakteriális invázióját eredményezheti [4, 7, 12]. A mikrobiális invázió során a hámsejtekbe jutott mikrobákat, mikrobatermékeket a sejtek az autophagia (xenophagia) révén igyekeznek elemészteni és magukból eltávolítani. Az autophagia folyamatának beindításában szerepet játszó NOD2 proteint, valamint az autophagiás folyamat legfontosabb modulátoraiként ismert ATG16L1 és IRGM proteineket kódoló géneket érintő mutáció vagy SNP-k viszont az autophagiás folyamat súlyos zavarát eredményezik, elvész az intestinalis epithelsejtek azon képessége, hogy az intracelluláris mikrobákat, mikrobatermékeket magukból kitakarítsák [33, 34, 37, 38].

A mikrobák és mikrobatermékek intracelluláris perzisztálása a veleszületett immunvédekezés elégtelenségét jelzi, s adaptív immunválasz-reakciók fellépéséhez és krónikus gyulladás kialakulásához vezet [5, 47]. A mikrobákat, mikrobiális mintázatokat érzékelő TLR és NOD receptorok, a kémiai barrier fenntartását szolgáló defenzinek és egyéb antimikrobiális peptidek, csakúgy, mint az intracelluláris mikrobák és mikrobatermékek kiküszöbölését szolgáló autophagia (xenophagia), a veleszületett intestinalis immunvédekezés kulcselemei [11, 34]. Az őket érintő mutációk, polimorfizmusok és egyéb defektusok pedig fontos tényezői, elsődleges szereplői a Crohn-betegség kialakulásához vezető folyamatnak. Joggal levonható tehát az irodalomban ezen újabb ismeretek fényében egyre gyakrabban megfogalmazott következtetés, miszerint a betegség kialakulásához vezető elsődleges defektusok – szemben az eddig uralkodó nézettel – sokkal inkább a veleszületett intestinalis immunvédekezést, mintsem az adaptív immunválaszt érintik. A betegség patogenezisére vonatkozó ezen új megismerések fényében új terápiás stratégia kialakításának lehetősége, sőt, talán szükségessége is felmerül. Úgy tűnik, a Crohn-betegség esetében az új terápiás stratégiának sokkal inkább az intestinalis barrierfunkció megerősítésére, az intestinalis homeosztázis, a gazda- és mikrobapopuláció közötti egyensúly helyreállítására, a veleszületett intestinalis immunvédekezés stimulálására kell irányulnia, mint az adaptív immunválasz-reakciók elnyomására, elfojtására [48, 49], amely még opportunistafertőzések fellépésének veszélyével is jár. Az új terápiás stratégia eszközei és módjai még feltáratlanok. Ilyen lehet a defenzinek pótlása vagy fokozott termelődésük művi indukciója, vagy akár az autophagiás folyamat manipulálása, erősítése. Említésre méltó talán ezzel kapcsolatban, hogy az autophagia indukálására kiterjedten használt rapamycinrel kezelt Crohn-betegeknel tartós javulásról számoltak be [50].

Irodalom

- [1] Abraham, C. I., Cho, J.: Inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361, 2066–2078. Review
- [2] Zhang, H., Massey, D., Tremelling, M. és *mtsa*: Genetics of inflammatory bowel disease: clues to pathogenesis. *Br. Med. Bull.*, 2008, 87, 17–30.
- [3] Cooney, R., Jewell, D.: The genetic basis of inflammatory bowel disease. *Dig. Dis.*, 2009, 27, 428–442.
- [4] Neish, A. S.: Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 2009, 136, 65–80.
- [5] Melum, E., Franke, A., Karlsen, T. H.: Genome-wide association studies – A summary for the clinical gastroenterologist. *World J. Gastroenterol.*, 2009, 15, 5377–5396.
- [6] Fiocchi, C.: Susceptibility genes and overall pathogenesis of inflammatory bowel disease: Where do we stand? *Dig. Dis.*, 2009, 27, 226–235.
- [7] Shi, J.: Defensins and Paneth cells in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2007, 10, 1284–1292. Review.
- [8] Shen, L., Su, L., Tuner, J. R.: Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects. *Dig. Dis.*, 2009, 27, 443–449.
- [9] Menzel, K., Rogler, G.: Defective barrier – therapeutic implications? In: *Intestinal disorders (Falk Symposium 164)*. Eds: Tulasay, Z. et al. Springer and Falk Foundation e.V., 2009, 57–70.
- [10] Dos, M., White, M. R., Têcle, T. és *mtsa*: Human defensins and LL-37 in mucosal immunity. *J. Leuk. Biol.*, 2010, 87, 79–92.
- [11] Dolgado, M., Singh, S., De Haro, S. és *mtsa*: Autophagy and pattern recognition receptors in innate immunity. *Immunological Reviews*, 2009, 27, 189–202.
- [12] Banich, N., Darfeuille-Michaud, A.: Adherent invasive Escherichi coli and Crohn's disease. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2007, 23, 16–20.
- [13] Baumgart, M., Dogan, B., Rishniw, M. és *mtsa*: Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive Escherichi coli of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. *ISME J.*, 2007, 1, 403–418.
- [14] Fellermann, K., Wehkamp, J., Herrlinger, K. R. és *mtsa*: Crohn's disease: a defensin deficiency syndrome? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2003, 15, 627–634.
- [15] Nudling, S., Fellermann, K., Wehkamp, J. és *mtsa*: Reduced mucosal antimicrobial activity in Crohn's disease of the colon. *Gut*, 2007, 56, 1240–1247.
- [16] Wehkamp, J., Fellermann, K., Herrlinger, K. R. és *mtsa*: Mechanisms of disease: defensins in gastrointestinal diseases. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005, 2, 406–415.
- [17] Gersemann, M., Wehkamp, J., Fellermann, K. és *mtsa*: Crohn's disease – defect in innate defence. *World J. Gastroenterol.*, 2008, 14, 5499–5503. Review.
- [18] Elphick, D., Liddell, S., Mahida, Y. R.: Impaired luminal processing of human defensin-5 in Crohn's disease: persistence in a complex with chymotrypsinogen and trypsin. *Am. J. Pathol.*, 2008, 172, 702–713.
- [19] Hugot, J. P., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C. és *mtsa*: Mapping of susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature*, 1996, 379, 821–823.
- [20] Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H. és *mtsa*: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 2001, 411, 603–606.
- [21] Wehkamp, J., Harder, J., Weichenthal, M. és *mtsa*: NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished alpha-defensin expression. *Gut*, 2004, 53, 1658–1664.
- [22] Vignal, C., Singer, A., Peyrin-Biroulet, L. és *mtsa*: How NOD2 mutations predispose to Crohn's disease. *Microbes and Infections*, 2007, 9, 658–663.
- [23] Wullaert, A.: Role of NF- κ B activation in intestinal immune homeostasis. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2010, 300, 49–56.
- [24] Lakatos, P. L., Altorjay, I., Mándi, Y. és *mtsa*: Interaction between seroreactivity to microbial antigens and genetics in Crohn's disease: is there a role for defensins? *Tissue Antigens*, 2008, 71, 552–559.
- [25] Simms, L. A., Doecke, J. D., Walsh, M. D. és *mtsa*: Reduced alpha-defensin expression is associated with inflammation and not NOD2 mutation status in ileal Crohn's disease. *Gut*, 2008, 57, 903–910.
- [26] Bevins, C. L., Stange, E. F., Wehkamp, J.: Decreased Paneth cell defensin expression in ileal Crohn's disease is independent of inflammation, but linked to the NOD21007fs genotype. *Gut*, 2009, 58, 882–883.
- [27] Simms, L. A., Doecke, J. D., Radford-Smith, G. L.: Authors' reply. *Gut*, 2009, 58, 883–884.
- [28] Bene, J., Maggyari, L., Talián, G. és *mtsa*: Prevalence of SLC22A4, SLC22A5 and CARD15 gene mutations in Hungarian pediatric patients with Crohn's disease. *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, 5550–5553.
- [29] Molnár, T., Hofner, P., Nagy, E. és *mtsa*: NOD1 gene E266K polymorphism is associated with disease susceptibility but not with disease phenotype or NOD2/CARD15 in Hungarian patients with Crohn's disease. *Dig. Liver Disease*, 2007, 39, 1064–1070.
- [30] Papp, M., Altorjay, I., Norman, G. L.: Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease. Behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2007, 13, 984–992.
- [31] Wehkamp, J., Wang, G., Kübler, I. és *mtsa*: The Paneth cell alpha-defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4. *J. Immunol.*, 2007, 179, 3109–3118.
- [32] Koslowski, M. J., Kübler, I., Chamaillard, M. és *mtsa*: Genetic variants of Wnt transcription factor TCF-4 (TCF7L2) putative promoter region are associated with small intestinal Crohn's disease. *PLoS ONE*, 2009, 4, e4496. Epub 2009 Feb 16. PubMed PMID: 19221600; PubMed Central PMCID: PMC2637978
- [33] Parkes, M., Barrett, J. C., Prescott, N. J. és *mtsa*: Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat. Genet.*, 2007, 39, 830–832.
- [34] Deretic, V.: Links between autophagy, innate immunity, inflammation and Crohn's disease. *Dig. Dis.*, 2009, 27, 246–251.
- [35] Cadwell, K., Stappenbeck, T. S., Virgin, H. W.: Role of autophagy and autophagy genes in inflammatory bowel disease. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2009, 335, 141–167.
- [36] Klionsky, D. J.: Crohn's disease, autophagy, and the Paneth cell. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 360, 1785–1786.
- [37] Travassos, L. H., Carneiro, L. A. M., Ramjeet, M. és *mtsa*: NOD1 and NOD2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nature Immunol.*, 2010, 11, 55–63.
- [38] Travassos, L. H., Carneiro, L. A. M., Girardin, S. és *mtsa*: Nod proteins link bacterial sensing and autophagy. *Autophagy*, 2010, 3, 409–411.
- [39] O'Neil, D. A., Porter, E. M., Elewaut, D. és *mtsa*: Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J. Immunol.*, 1999, 163, 6718–6724.
- [40] Wehkamp, J., Fellermann, K., Stange, E. F.: Human defensins in Crohn disease. *Chem. Immunol. Allergy*, 2005, 86, 42–54.
- [41] Fellermann, K., Stange, D. E., Schaeffeler, E. és *mtsa*: A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. *Am. J. Hum. Genet.*, 2006, 79, 439–448.
- [42] Bentley, R. W., Pearson, J., Gearry, R. B. és *mtsa*: Association of higher DEFB4 genomic copy number with Crohn's disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2010, 105, 354–359.
- [43] Hollox, E. J.: β -defensins and Crohn's disease: Confusion from counting copies. *Am. J. Gastroenterol.*, 2010, 105, 360–362.

- [44] Kocsis, A. K., Lakatos, P. L., Somogyvári, F. és mtsai: Association of beta-defensin 1 single nucleotide polymorphisms with Crohn's disease. *Scand J. Gastroenterol.*, 2008, 43, 299–307.
- [45] Csöngei, V., Járomi, L., Sáfrány, E. és mtsai: Interaction of the major inflammatory bowel disease susceptibility alleles in Crohn's disease patients. *World J. Gastroenterol.*, 2010, 16, 176–183.
- [46] Cunliffe, R. N.: Alpha-defensins in the gastrointestinal tract. *Mol. Immunol.*, 2003, 40, 463–467. Review.
- [47] Blumberg, R. S.: Inflammation in the intestinal tract: pathogenesis and treatment. *Dig. Dis.*, 2009, 27, 455–464.
- [48] Hering, N. A., Schulzke, J.-G.: Therapeutic options to modulate barrier defects in inflammatory bowel disease. *Dig. Dis.*, 2009, 27, 450–454.
- [49] Cario, E., Podolsky, D. K.: The innate immune system as a therapeutic target in inflammatory bowel diseases. In: *Intestinal disorders (Falk Symposium 164)*. Eds: Tulassay, Z. et al. Springer and Falk Foundation e.V., 2009, 71–76.
- [50] Massey, D. C. O., Bredin, F., Parkes, M.: Use of sirolimus (rapamycin) to treat refractory Crohn's disease. *Gut*, 2008, 57, 1294–1296.

(Lapis Károly dr.,
e-mail: lapkar@t-online.hu)

A Magyar Gasztroenterológiai Társaság Háziorvosi Szekciója és a Semmelweis Egyetem

II. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikája

„Áldott állapot!?” címmel közös rendezvényt tart.

Az interdiszciplináris fórumon a várandós állapot betegségeinek kivizsgálásáról és kezeléséről tartanak előadást az érintett szakterületek elismert képviselői. A szimpóziumra elsősorban *családorvosokat, belgyógyászokat, szülész-nőgyógyászokat, védőnőket, szülésznőket, illetve érdeklődő egyetemi hallgatókat* várunk.

Időpont: 2010. november 6. (szombat) 9 óra

Helyszín: Aesculap Akadémia – 1115 Budapest, Halmi u. 20–22.

Moderátorok: Prof. Dr. Pajor Atilla, Dr. Bálint Levente, Dr. Langmár Zoltán

Az előadások témakörei és előadói:

Prof. Dr. Urbancsek János:	A meddőség belgyógyászati okai
Dr. Baranyi Éva:	A diabetes és a várandósság
Prof. Dr. Szabolcs István:	Az endokrinológiai betegségek kivizsgálása és gondozása a várandós időszakban
Dr. Rosztóczy András:	A gasztroenterológiai betegségek és kezelésük áldott állapotban A motilitászavarok és a várandósság (GERD, IBS, obstipáció)
Dr. Miheller Pál:	Az IBD kezelése és gondozása
Dr. Bálint Levente:	A májbetegségek és a terhesség a háziorvosi praxisban
Dr. Taller András:	Vizsgálóeljárások (endoscopos vizsgálatok) áldott állapotban
Bakó Angelika:	A probiotikumok szerepe várandósoknál
Prof. Dr. Pajor Atilla:	A hipertonia és a cardiovascularis betegségek kezelése a várandósság során A trombofiliák és az antitrombotikus terápia
Dr. Kiss Emese:	Az autoimmun kórképek és a várandósság
Dr. Kulcsár Andrea:	A terhesség és a védőoltások
Dr. Prinz Gyula:	Infekciók a terhesség során
Dr. Bánhidó Ferenc:	A gyógyszeres kezelés dilemmái a várandós időszak alatt
Dr. Langmár Zoltán:	Onkológiai kórképek és kezelésük várandós állapotban
Dr. Csomai Zita:	A vitaminok és a nyomelemek szerepe a várandósság alatt

További információ: drbalintlevente@gmail.com

A szimpózium akkreditációja folyamatban van.

A részvétel ingyenes!