



**UNIVERSITA POLITECNICA DELLE MARCHE**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**C.d.L. Scienze Biologiche**

**«ALTERAZIONI DELLE CELLULE T GAMMA-DELTA CD8<sup>+</sup> DELL'EPITELIO INTESTINALE DI PAZIENTI AFFETTI DA MORBO DI CROHN»**

**«CD8<sup>+</sup> GAMMA DELTA T CELLS ALTERATIONS IN INTESTINAL EPITHELIUM OF PATIENTS WITH CROHN DISEASE»**

**Tesi di laurea di:  
YASMINE KISSAYI**

**Docente referente:  
Prof.ssa MAURA BENEDETTI**

# ABSTRACT

Lo studio è stato condotto su pazienti affetti da malattia di Crohn presso l'ospedale Sir Run Run Shaw in Cina.

Il morbo di Crohn è una patologia autoimmune che colpisce il tratto gastro-intestinale, creando un'infiammazione cronica, per la quale ancora non vi è una cura definitiva.

Con lo studio fatto si è evidenziato quello che è il *ruolo* anti-infiammatorio delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup>

Inoltre lo studio si concentra sulla variazione della *concentrazione* delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup> e sulla loro *citotossicità* nei diversi casi di morbo di Crohn.

I dati ottenuti vengono poi elaborati da test statistici per avere delle basi per una *diagnosi* accurata e una *classificazione* in pazienti con malattia lieve o moderata.

# COS'E IL MORBO DI CROHN?

È una malattia autoimmune che può colpire la parete di tutto il tratto gastrointestinale.

È una patologia infiammatoria che va a lesionare l'epitelio creando ulcere e lesioni

Le cause della patologia sono multifattoriali tra cui anche una reazione immunologica abnorme ed anomala verso determinati antigeni.

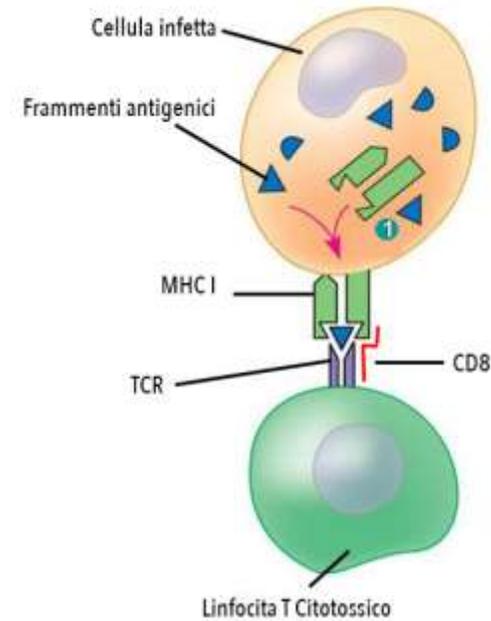
L'incidenza è maggiore nei paesi sviluppati.



# COSA SONO LE CELLULE GAMMA DELTA T CD8?

Sono dei linfociti T situati negli epiteli, importanti per le difese di prima linea. Presentano un RECETTORE detto TCR che è in grado di riconoscere e legare antigeni.

In particolare nei linfociti T a livello intestinale è presente la glicoproteina CD8<sup>+</sup> (co-recettore), capace di legare il dominio dell'MHC I presentante l'antigene.



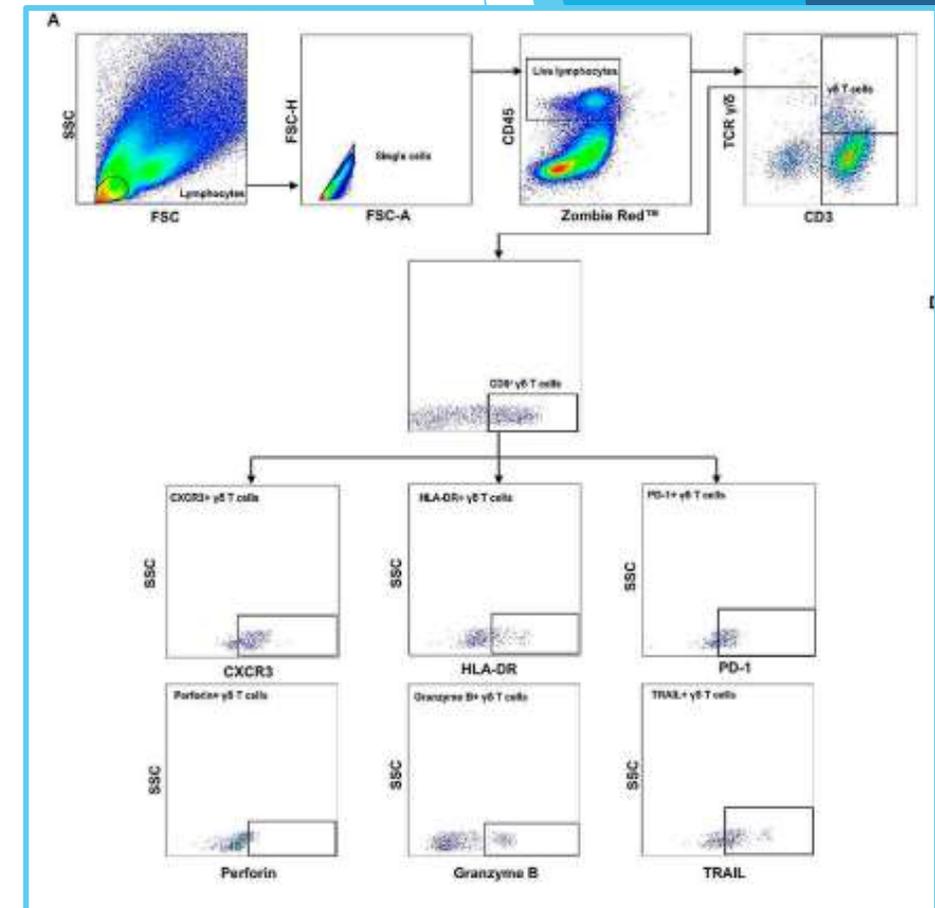
# MATERIALI E METODI

In questo studio vengono presi in esame due gruppi di individui: 12 controlli sani e 12 pazienti con morbo di Crohn in fase attiva e di diversa entità.

Dopo aver effettuato delle biopsie della mucosa intestinale.

I tessuti sono stati sottoposti a:

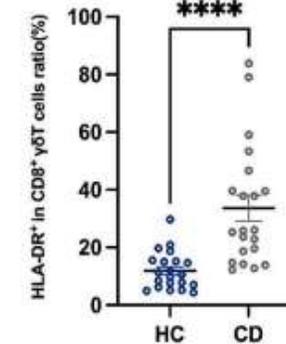
- Triturazione
- Incubazione in HBSS con DDT ed EDTA
- Digestione con COLLAGENASI e DNASI per 2 ore a 37°C
- Filtrazione della sospensione cellulare
- Lavaggio in PBS
- Colorazione delle cellule con fluorocromi coniugati ad anticorpi
- Citometria a flusso del campione



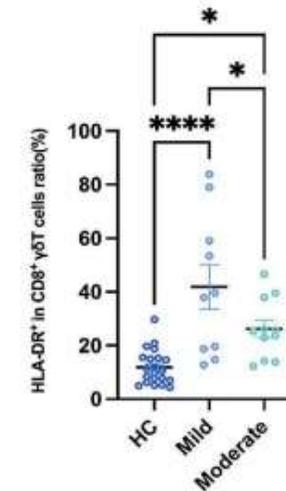
# RISULTATI OTTENUTI

- Si osserva una diminuzione significativa delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup> nei pazienti con malattia attiva, correlata al grado di attività della malattia.
- Andando a valutare l'espressione del marcatore di attivazione HLA-DR, si osserva un aumento di questa nei pazienti malati con malattia lieve rispetto ai controlli sani e rispetto ai pazienti più gravi.

**A** HLA-DR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> γδT cells



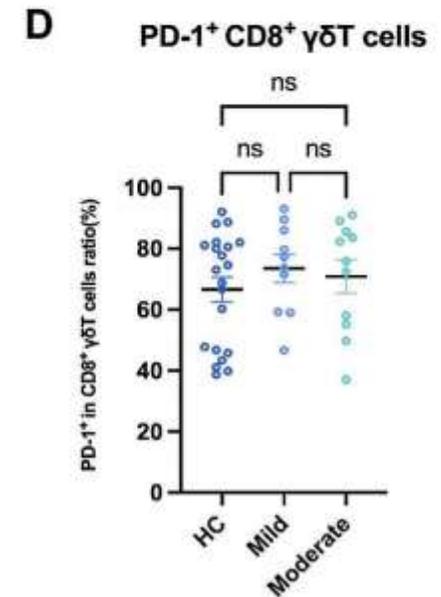
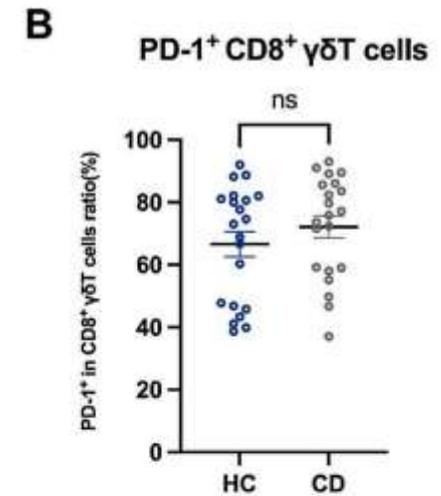
**C** HLA-DR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> γδT cells



# RISULTATI OTTENUTI

L'espressione del recettore CXCR3 per le chemochine per osservare se il potenziale migratorio delle cellule T delta gamma CD8<sup>+</sup> fosse diverso da quello dei controlli sani: si riscontra che i livelli di espressione di questo non sono diversi tra controlli sani e individui malati.

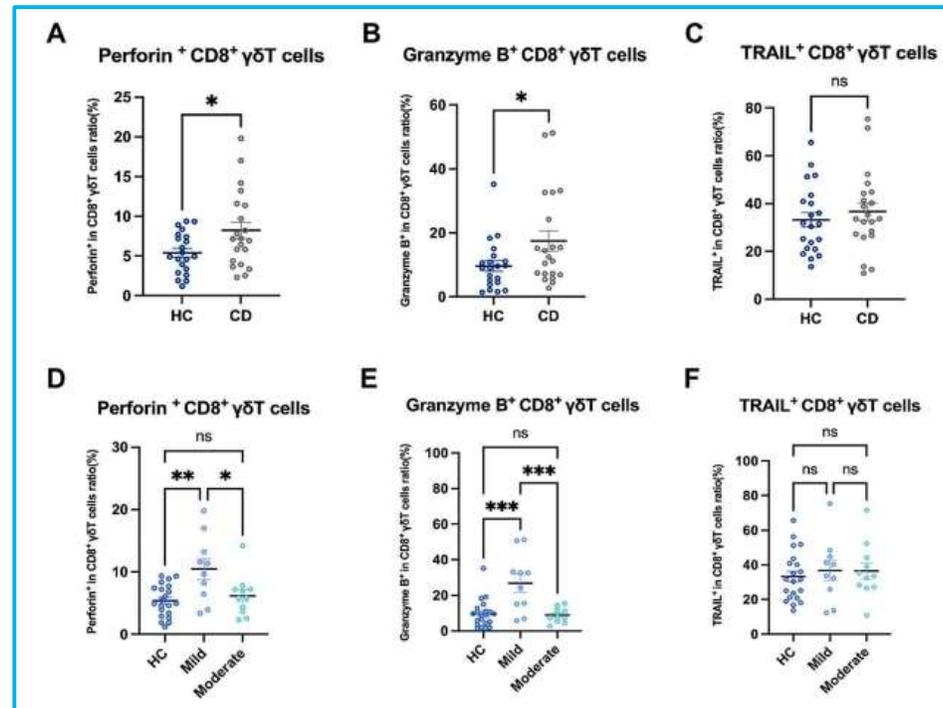
Si osserva la medesima situazione per quella che è la concentrazione della proteina immunosoppressiva PD1



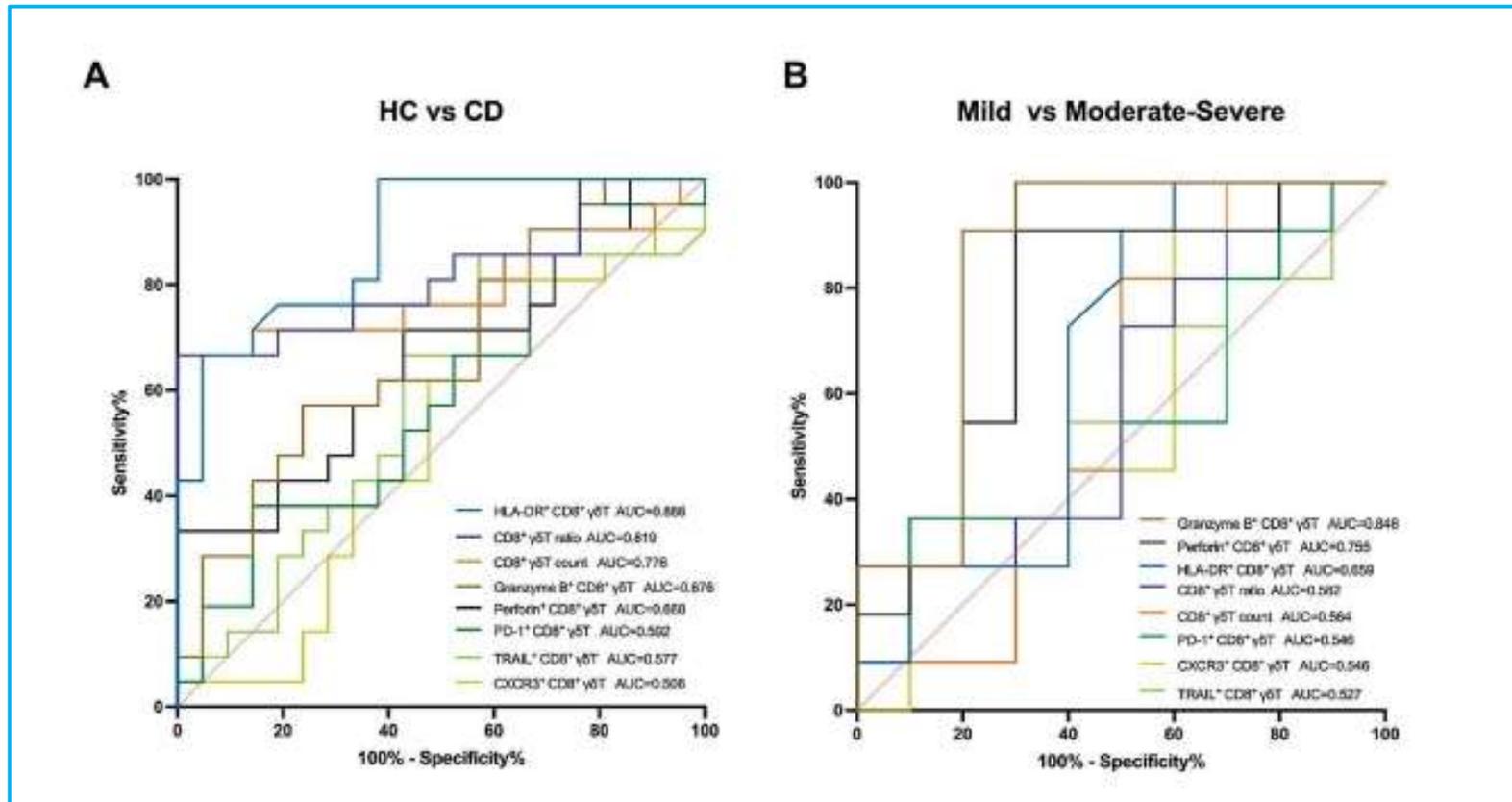
# RISULTATI OTTENUTI

È stato visto che l'attività delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup> è più marcata nei pazienti con malattia di grado lieve rispetto a quelli con malattia grave.

Si può osservare infatti un aumento della citotossicità delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup> che porta ad un rilascio di molecole come perforina e granzima B. Anche qui vi è una correlazione con il grado di attività della malattia.



I dati ottenuti attraverso la citofluorimetria a flusso sono stati poi analizzati dal punto di vista statistico con GraphPad, applicando test U di Mann-Whitney e ANOVA. Di seguito le curve ROC



# CONCLUSIONI E TERAPIE

In seguito a questi studi, e a studi effettuati su diversi modelli animali si evidenzia:

- Ruolo importante delle cellule gamma delta T CD8<sup>+</sup> nel contrastare l'infiammazione;
- Applicabilità dei parametri appena discussi per fare una diagnosi clinica;
- Applicabilità dei parametri appena discussi per fare conoscere il grado di attività della patologia ;
- Possibilità di sviluppare nuovi approcci terapeutici

È stato osservato che nei pazienti in cura con anti-tn $\alpha$  non vi sono significative differenze rispetto ai controlli sani.

# BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- **ARTICOLO PRINCIPALE:** Tao Zhu, Linlin Zhu, Caixia Sheng, Danju Wu, Qianru Gu, Zhinong Jiang, Jiaqi Xu, Guoxiang Fu & Yujie Jiang «Hyperactivation and enhanced cytotoxicity of reduced CD8+ gamma delta T cells in the intestine of patients with Crohn's disease correlates with disease activity» BMC Immunology volume 25, Article number: 15 (2024)
  - (<https://doi.org/10.1186/s12865-024-00606-2>)
- **SITI CONSULTATI:**
  - [https://bioeticaliceoscarpa.altervista.org/progetto\\_bioetica/percorso-quinte/vaccini/il-sistema-immunitario/immunita-acquisita-specifica/risposta-mirata-allantigene/risposta-cellulare-cellulo-mediata/](https://bioeticaliceoscarpa.altervista.org/progetto_bioetica/percorso-quinte/vaccini/il-sistema-immunitario/immunita-acquisita-specifica/risposta-mirata-allantigene/risposta-cellulare-cellulo-mediata/)
  - [https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/disturbi-gastrointestinali/malattia-intestinale-infiammatoria/morbo-di-crohn#Trattamento\\_v894517\\_it](https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/disturbi-gastrointestinali/malattia-intestinale-infiammatoria/morbo-di-crohn#Trattamento_v894517_it)
  - [https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/immunologia-malattie-allergiche/biologia-del-sistema-immunitario/componenti-cellulari-del-sistema-immunitario#Leucociti-polimorfonucleati\\_v28603600\\_it](https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/immunologia-malattie-allergiche/biologia-del-sistema-immunitario/componenti-cellulari-del-sistema-immunitario#Leucociti-polimorfonucleati_v28603600_it)
  - [https://it.wikipedia.org/wiki/Linfocita\\_T](https://it.wikipedia.org/wiki/Linfocita_T)
- **IMMAGINI UTILIZZATE:**
  - <https://doi.org/10.1186/s12865-024-00606-2>
  - [https://bioeticaliceoscarpa.altervista.org/progetto\\_bioetica/percorso-quinte/vaccini/il-sistema-immunitario/immunita-acquisita-specifica/risposta-mirata-allantigene/risposta-cellulare-cellulo-mediata/](https://bioeticaliceoscarpa.altervista.org/progetto_bioetica/percorso-quinte/vaccini/il-sistema-immunitario/immunita-acquisita-specifica/risposta-mirata-allantigene/risposta-cellulare-cellulo-mediata/)
  - <https://www.omni-biotic.com/it-it/blog/il-morbo-di-crohn-molto-di-piu-di-una-semplice-diarrea/>
  - <https://www.pngall.com/it/dna-png/download/89486>



GRAZIE PER  
L'ATTENZIONE!