



## L'immunogenetica del morbo di Whipple

Annalisa Schiepatti<sup>1</sup>, Alessandra Zilli<sup>1</sup>, Carla Badulli<sup>2</sup>, Fabio Garlaschelli<sup>2</sup>,  
Anna Luisa Cremaschi<sup>2</sup>, Federico Biagi<sup>1</sup>, Miryam Martinetti<sup>2</sup>, Gino Roberto Corazza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinica Medica I e <sup>2</sup>Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

---

### *L'immunogenetica nel morbo di Whipple*

**Introduzione:** Il morbo di Whipple (MW) è una rara patologia sistemica cronica, causata dal *Tropherima Whipplei*, un actinomicete Gram positivo, ampiamente diffuso nell'ambiente. Recenti acquisizioni sull'immunologia del WD, hanno dimostrato che il WD è caratterizzato da una risposta immunitaria sbilanciata in senso Th2/Treg nei confronti del *T. Whipplei*.

**Scopo:** Obiettivo primario del nostro studio è stato studiare se tale polarizzazione della risposta immunitaria in senso Th2/Treg abbia un *background* genetico, dal momento che è ben noto come i polimorfismi dei geni codificanti per citochine possano influenzare la suscettibilità individuale a patologie immuno-mediate.

**Metodi:** Il profilo genetico delle citochine Th1, Th2, Treg è stato studiato in 133 pazienti con MW. Usando la tecnica PCR-SSP è stato possibile studiare i polimorfismi di 13 geni codificanti per citochine in 111 pazienti tedeschi e 22 pazienti italiani affetti da MW. Le frequenze di genotipi, alplotipi e fenotipi funzionali sono state confrontate con quelle ottenute da 201 controlli tedeschi e 140 controlli italiani. Secondariamente, anche l'eterogeneità clinica è stata considerata.

**Risultati:** da un punto di vista funzionale i pazienti con WD possono essere considerati bassi produttori di TGFβ1, dal momento che in essi si riscontra con un'aumentata frequenza il genotipo TGF-β1 +869C/C, +915C/C (12.3% vs 3.81%, OR=4.131, p=0.0002) e alti secretori di IL-4 dal momento che sono portatori del genotipo IL-4 -590T/T (5.34% vs 1.17%, OR=5.09, p=0.0096). Non sono state trovate associazioni significative tra i polimorfismi dei geni codificanti citochine e la variabilità della presentazione clinica.

**Conclusioni:** Analogamente a quanto emerso dai recenti esperimenti sulla funzione T cellulare, abbiamo dimostrato che il profilo genetico delle citochine nel WD è sbilanciato verso una risposta di tipo Th2 e Treg. Questo è simile sia nella popolazione tedesca che in quella italiana. Tuttavia, le deviazioni significative nei confronti dei controlli sono minori rispetto a quanto atteso sulla base delle recenti scoperte cellulari.

### *Immunogenetics in Whipple disease*

**Background:** Whipple disease (WD) is a rare chronic systemic condition, caused by *Tropherima Whipplei*, a Gram positive actinomycete widely spread in the environment. Recent advances in the immunology of WD showed that WD is characterized by a dysregulated Treg/Th2 immune response versus *T. Whipplei*.

**Aim:** Aim of our study was to investigate whether this Treg/Th2 polarized immune response has a genetic background, since it is well known that cytokine gene polymorphisms may influence individual susceptibility to immune mediated diseases.

**Methods:** The genetic profile of Th1, Th2, Th17 and Treg cytokines was studied in 133 patients affected by WD. Using the PCR-SSP technique, 22 single nucleotide polymorphisms (SNPs) of 13 cytokine genes were analyzed in 111 German patients and 22 Italian patients with WD. The frequencies of the genotypes, haplotypes and functional phenotypes were compared with those obtained from 201 German and 140 Italian controls. Secondarily, clinical heterogeneity was also considered.

**Results:** functionally, patients affected by WD may be considered low producers of TGF- $\beta$ 1, having an increased frequency of the genotype TGF- $\beta$ 1 +869C/C, +915C/C (12.3% vs 3.81%, OR=4.131, p=0.0002), and high secretors of IL-4, carrying the genotype IL-4 -590T/T (5.34% vs 1.17%, OR=5.09, p=0.0096). No significant association was found between cytokine genes polymorphisms and clinical variability.

**Conclusions:** analogously to the recent experiments on T cell function, we showed that the cytokine genetic profile in WD patients is skewed towards a Th2 and Treg response. This is similar in both the German and Italian populations. However, the significant deviations versus the controls are poorer than expected on the basis of recent cellular findings.

---

## Introduzione

Il morbo di Whipple (MW) è una patologia sistemica, ad andamento cronico-ricorrente, che interessa principalmente l'intestino tenue, le articolazioni ed il SNC [1-2]. Si tratta di una malattia molto rara (incidenza <1 caso/1 milione) che caratteristicamente colpisce pazienti caucasici adulti di sesso maschile [2]. È ben noto che l'agente etiologico del WD è il *Tropheryma Whipplei*, un actinomicete Gram positivo che si riscontra nei tessuti affetti. Questo patogeno è ampiamente diffuso nell'ambiente ed è caratterizzato da una vasta eterogeneità genetica [3-7]. Per cercare di spiegare come mai un patogeno pressoché ubiquitario possa essere la causa di una malattia tanto rara, bisogna tenere in considerazione i fattori predisponenti dell'ospite. Numerosi elementi suggeriscono che una predisposizione genetica possa giocare un ruolo nel WD. A parte le caratteristiche epidemiologiche [2], è stato recentemente dimostrato che il WD è associato agli alleli HLA DRB1\*13 e DQB1\*06 [8] e sono stati descritti anche alcuni casi famigliari di WD [9-11]. La caratteristica fisiopatologica più tipica del WD è data dal riscontro nei tessuti affetti e nella lamina propria dell'intestino tenue di un massiccio infiltrato di macrofagi con citoplasma schiumoso PAS+. Sebbene i macrofagi dei pazienti affetti da WD siano in grado di fagocitare normalmente i *T. Whipplei*, essi non sono però in grado di distruggerli completamente. Questa evidenza suggerisce che un'alterata funzione macrofagica possa giocare un ruolo non marginale nella patogenesi della malattia [12]. L'importanza della disfunzione macrofagica è anche sostenuta dal riscontro, sia nelle biopsie duodenali che nel sangue periferico di pazienti affetti da WD, di macrofagi M2/alternativamente attivati che inducono un *milieu* antinfiammatorio che facilita la persistenza del *T. Whipplei* nell'organismo [13-15]. La dimostrazione classica che i macrofagi M2/alternativamente attivati siano responsabili di una polarizzazione della risposta immunitaria in senso Th2 concorda perfettamente con le più recenti acquisizioni cellulari, che mostrano una risposta immunitaria sbilanciata in senso Th2/Treg nei pazienti con WD [16-19].

È ben noto che le citochine svolgono un ruolo fondamentale nella regolazione della risposta immunitaria. La loro importanza è sostenuta dal fatto che i loro geni sono poco polimorfici, ridondanti e pleiotropici. La caratteristica peculiare e distintiva delle citochine è quella di agire coordinatamente. I linfociti T CD4+ attivati si differenziano in Th1, Th2, Treg e Th17 a seconda del *milieu* citochinico. I linfociti Th1 partecipano all'immunità cellulo-mediata e sono essenziali nel controllo dei patogeni intracellulari attraverso l'azione dei linfociti T citotossici. I linfociti Th2 aiutano i linfociti B a controllare i patogeni extra-

cellulari attraverso la risposta umorale. Le cellule Th17 costituiscono una popolazione pro infiammatoria e sono attivamente implicate nella difesa delle mucose dalle infezioni [20]. L'attivazione delle popolazioni linfocitarie Th1, Th2, Th17 può essere soppressa dai Treg attraverso la secrezione di citochine regolatorie come il TGF $\beta$ 1 o l'IL-10. I linfociti Treg giocano un ruolo importante nella modulazione dell'allorreattività locale e nell'induzione della tolleranza [21-22]. Recentemente è stata dimostrata la presenza di un eccesso di linfociti Treg attivati nelle cellule periferiche ed intestinali dei pazienti con WD [19]. È noto come i polimorfismi nelle regioni codificanti dei geni per le citochine possano modularne la produzione e dunque influenzare la suscettibilità individuale a malattie immuno-mediate [23].

## Scopo del lavoro

Ci siamo proposti di valutare se la disregolazione della risposta immunitaria T cellulare nei pazienti con WD non fosse geneticamente determinata. Un paziente alto produttore (*high producer*) di citochine di tipo Th2 o basso produttore (*low producer*) di citochine di tipo Th17 costituirebbe un riscontro in accordo con le attuali conoscenze sul WD.

## Materiali e metodi

### *Pazienti e controlli*

Grazie alla Gruppo di Studio sul MW finanziato dall'Unione Europea (QLG1-CT-2002-01049) i polimorfismi dei geni delle citochine sono stati analizzati in 111 pazienti tedeschi (24 F, età media 56.5 $\pm$ 12.3 anni) e 22 pazienti italiani (4 F, età media 56 $\pm$ 5.5 anni) affetti da WD. In tutti i pazienti la diagnosi di WD è stata posta identificando le tipiche lesioni istologiche sulle biopsie duodenali e/o mediante riscontro di PCR positiva per TW su tessuti non gastroenterici.

I dati clinici erano disponibili per 84 pazienti. Sulla base della classificazione di Fenollar [1], è stato possibile stabilire che 43 pazienti erano affetti da una forma classica di WD, 2 da WD neurologico e 16 da una forma con interessamento cardiaco. Undici pazienti hanno avuto una recidiva di malattia e 8 hanno sviluppato una sindrome infiammatoria da ricostituzione immunitaria (*Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome*, IRIS) [24]. Le genotipizzazioni citochiniche di 201 soggetti sani di nazionalità tedesca e 140 di nazionalità italiana sono state utilizzate come controlli.

### *Metodi*

Sono stati studiati 22 polimorfismi di singolo nucleotide (SNPs) biallelici, distribuiti in 13 geni codificanti per citochine e recettori citochinici. In particolare abbiamo analizzato il polimorfismo localizzato alla regione del promotore dei seguenti geni: IL-1  $\alpha$  -889C/T, IL-1 $\beta$ -511C/T, *tumour necrosis factor* (TNF)  $\alpha$  -308G/A e -238G/A, IL-2-330T/G, IL-4-1098T/G,-590T/C e -33 T/C, IL-6-174G/C, IL-10-1082G/A,-819C/T e -592C/A, IL-12-1188C/A. Abbiamo inoltre definito il polimorfismo localizzato nella regione codificante dei seguenti geni: IL-1Ra mspa111100T/C, IL-1 $\beta$  +3962T/C, IL-2 +166G/T, *interferon* (IFN) $\gamma$  +874A/T, TGF- $\beta$ 1 +869C/T (codone 10) e +915G/C (codone 25), IL-6 +565G/A. Inoltre abbiamo studiato i SNPs nei geni dei seguenti recettori: IL-1R pst11970C/T and IL-4Ra +1902G/A. È stato possibile eseguire la genotipizzazione mediante reazione a catena della polimerasi con *primers* sequenza specifica (PCR-SSP) utilizzando il seguente kit (Cytokine Typing Tray kit, University of Heidelberg, Heidelberg, Germany), come già descritto [25]. Nella maggior parte dei casi questo metodo con-

sente di definire gli aplotipi ed i genotipi dietro agli alleli. I prodotti amplificati sono stati visualizzati su gel di agarosio al 2% e colorati con 0.5µg/ml di bromuro di etidio usando E-Gel® pre-cast Agarose Electrophoresis System by Invitrogen Life Technologies (Paisley PA4 9RF, UK). Il sistema essenzialmente contiene tutti gli elementi necessari per eseguire un'elettroforesi del DNA in un *ready to go format*. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo.

### ***Analisi statistica***

Il confronto tra le frequenze della citochine trovate nei pazienti con WD e nei controlli, ed ottenute separatamente nelle due popolazioni tedesca ed italiana, è stato determinato usando il test del Chi quadrato o il test di Fisher, come appropriato. Le due popolazioni di pazienti sono state considerate separatamente perché ciascuna aveva bisogno di un gruppo di controllo geograficamente appropriato. L'*odds ratio* cumulativo (ORs) e il grado di eterogeneità del Chi quadrato sono stati calcolati attraverso il test di Mantel-Haenszel, come precedentemente descritto [8].

## **Risultati**

### ***Genotipi citochinici***

La tabella 1 riassume i risultati significativi e concordanti trovati in entrambe le popolazioni. Un aumento statisticamente significativo delle frequenze genotipiche del TGF-β1+869C/C (codone 10), TGF-β1 +915C/C (codone 25) e IL-4 -590T/T è stato osservato nei pazienti tedeschi con WD rispetto ai controlli tedeschi. Allo stesso modo, tutti questi genotipi erano sovra rappresentati nel gruppo italiano, sebbene questo risultato non fosse statisticamente significativo. Raggruppando insieme i pazienti tedeschi e quelli italiani, anche le differenze si sono rafforzate in termini statistici. Il genotipo non comune IL-4 -590T/T è riportato come un alto secretore di IL-4.

### ***Aplotipi citochinici***

La tabella 2 riassume tutti i risultati significativi trovati livello aplotipico. Nei pazienti tedeschi abbiamo osservato un aumento significativo degli aplotipi TGF-β1 +869C/+915C e IL-4 -1098T/-590T/-33C rispetto ai controlli. Lo stesso risultato è stato osservato nei pazienti italiani con WD rispetto ai controlli. Considerando insieme questi risultati, il trend statistico si rafforza.

### ***Fenotipi citochinici funzionali***

Per quanto concerne la funzione, abbiamo notato un incremento dei pazienti portatori del fenotipo TGF-β1 +869C/C, +915C/C, bassi produttori di TGF-β1, in entrambe le popolazioni, se confrontate con i rispettivi controlli (Tabella 3). La significatività statistica di questo risultato è stata mantenuta e rafforzata quando tutti i pazienti sono stati considerati insieme.

### ***Trans-interazione tra fenotipi citochinici funzionali***

Dopo aver suddiviso i pazienti in bassi, intermedi e alti produttori di citochine di tipo Th1 e bassi e alti produttori di citochine di tipo Th2, abbiamo incrociato i fenotipi produttori di citochine Th1 e Th2 (Tabella 4). La distribuzione delle 6 trans-interazioni Th1/th2 non è risultata significativamente differente nelle due popolazioni, dopo averle considerate sia separatamente che insieme. I dati potrebbero essere cumulati, dal momento che il test di omogeneità ha mostrato che non emergevano differenze significative tra controlli tedeschi ed italiani (OR= 1.13, p=0.29).

Nella tabella 5 abbiamo incrociato i fenotipi produttori di citochine Treg e Th17. Considerando TGF- $\beta$ 1 e IL-10 di derivazione Treg, mentre TNF $\alpha$  e IL-6 di derivazione Th17, abbiamo trovato una differente distribuzione tra fenotipi specificatamente combinati nei pazienti con WD rispetto ai controlli. In particolare il profilo basso produttore Treg/Th17 è significativamente associato alla malattia (36.1% vs 23.8%,  $p=0.02$ ). Quando raggruppati insieme, questa osservazione viene rafforzata. Non sono emerse associazioni significative tra i polimorfismi citochinici e la variabilità della presentazione clinica.

## Discussione

Dopo aver identificato nel *T. Whipplei* l'agente etiologico del WD [26], negli ultimi 20 anni notevoli progressi sono stati compiuti circa la conoscenza di questa malattia. Si è capito che i fattori dell'ospite devono avere un ruolo patogenetico non marginale, altrimenti risulterebbe oltremodo difficile spiegare la discrepanza tra l'ampia diffusione del batterio nell'ambiente e la rarità della malattia. Da un punto di vista biologico abbiamo realizzato che i macrofagi sono M2/alternativamente attivati e dunque incapaci di eliminare i *T. Whipplei* intracellulari [13-15]. Le recenti acquisizioni riguardanti un'aumentata attivazione delle cellule Treg nei pazienti con WD non trattato e la conseguente produzione di un *milieu* citochinico non efficace nel risolvere/debellare l'infezione [19] hanno costituito un ulteriore passo avanti nella comprensione della peculiare tolleranza immunitaria verso il *T. Whipplei*. Questo scenario ci ha indotti a ricercare un *background* genetico. Di particolare interesse è stato osservare che l'immunodeficienza dei pazienti era specifica per il *T. Whipplei*, mentre la risposta immunitaria era normale nei confronti di altri agenti immunogeni [27]. Quindi ci siamo domandati se questa tolleranza ristretta al *T. Whipplei* non fosse indotta da un particolare polimorfismo genetico nei geni codificanti per citochine. Da notare come un numero significativamente più alto di pazienti costitutivamente bassi secretori di TGF- $\beta$ 1 ed alti produttori di IL-4 sia stato trovato nei pazienti con WD rispetto ai soggetti sani. *In vivo* queste due citochine interagiscono secondo un meccanismo a *feedback* negativo in modo che una bassa secrezione serica di TGF- $\beta$ 1 sia associata con un'elevata secrezione di IL-4 [28]. Questo è un *pathway* preferenziale nei pazienti con WD, determinato dal loro *background* genetico citochinico.

Il coinvolgimento, per quanto modesto, del polimorfismo del gene per il TGF- $\beta$ 1, ha fatto sì che il nostro interesse si spostasse verso le cellule CD4<sup>+</sup> Treg e Th17, particolari *subset* di linfociti T che sono stati recentemente studiati nella malattia [19]. Entrambe queste popolazioni linfocitarie sono considerate essenziali nella regolazione della risposta immunitaria ed entrambe sono stimulate dal TGF- $\beta$ 1. Abbiamo notato un incremento significativo nei pazienti con WD dei bassi produttori di citochine correlate al genotipo Treg e Th17 (Tabella 5). Questa condizione virtualmente implicherebbe un basso stato di attivazione di questo *subset* di cellule T, cosa che è parzialmente in contrasto con l'elevata attivazione dei Treg dimostrata dagli alti livelli di IL-10 e TGF- $\beta$ 1 riscontrati nella mucosa duodenale e nel sangue periferico di pazienti non trattati [19]. Non va però dimenticato che anche una ridotta responsività dei Th17 è stata dimostrata in seguito a stimolazione *in vitro* con enterotossine batteriche. Tale risultato è in accordo con la presente osservazione dei bassi produttori costitutivi delle citochine Th17 in un sottogruppo di pazienti.

Dobbiamo, tuttavia, ammettere che abbiamo fallito nell'associare strettamente specifici polimorfismi dei geni citochinici alla suscettibilità al WD o alla sua eterogeneità clinica. Solo un modesto *signature* genetico è stato osservato per il TGF- $\beta$ 1 e IL-4, risultato che è in contrasto con le robuste evidenze ottenute dagli studi funzionali. D'altro canto, questo potrebbe derivare dalla complessità del sistema genetico citochinico, nonché dal *setting* clinico che abbiamo studiato. Quest'ultimo si compone di due popolazioni di pazienti e controlli etnicamente distinte, sei differenti variabili cliniche, 13 geni per citochine, 22 difformismi SNPs, più di 100 parametri in 133 pazienti e più di 1700 *p-values*. Tutto questo è molto più che

osare anche per un'analisi esplorativa e i risultati dovrebbero essere interpretati con grande cautela. Inoltre, i nostri risultati non possono spiegare l'intera storia di un paziente affetto da WD. Più in particolare, essi non spiegano come mai i pazienti con WD sono infettati solo dal *T. Whipplei* e non da altri patogeni. È stato recentemente dimostrato che il *T. Whipplei* è in grado di stimolare il rilascio di IL-16, una citochina che induce apoptosi dei macrofagi e favorisce la proliferazione e la sopravvivenza del *T. Whipplei* stesso [29]. È questo il motivo per cui i pazienti con WD sono sensibili solo al *T. Whipplei*? Dal momento che è già stato dimostrato che i polimorfismi dell'IL-16 sono associati con differenti condizioni [30-32], il prossimo *step* necessario sembra essere quello di studiare se essi sono anche associati con il WD. In conclusione, quello che emerge da questo lavoro è il contributo inferiore all'atteso delle mutazioni dei geni per citochine nel WD. Tutti i *p-value* che sono stati trovati significativi, scompaiono dopo correzione per il grande numero di osservazioni (>1700). Tuttavia è degno di nota che un *subset* di pazienti, provenienti da paesi differenti, condividano la stessa mutazione, negli stessi geni, allo stesso sito nucleotidico. Inoltre, il profilo genetico per le citochine è in accordo con le alterazioni immunologiche descritte nei pazienti con WD nei saggi cellulari per almeno due genotipi, vale a dire IL-4-590T/T, un alto produttore di IL-4 che *down-regola* la secrezione di IL-12 e IFN $\gamma$  [33] e TGF- $\beta$ 1 +869C/C, +915C/C, basso produttore di TGF- $\beta$ 1 che potrebbe spiegare lo stato di bassa attivazione dei Th17 emerso dai recenti esperimenti [19].

## Tabelle e figure

**Tabella 1. Genotipi citochinici e relative frequenze nei pazienti con WD e nei rispettivi controlli.**

	TGF- $\beta$ 1 +869C/C (codone 10)				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	<i>p-value</i>
TEDESCHI	26 (12.9%)	25 (22.6%)	1.96	1.06-3.61	<b>0.029</b>
ITALIANI	39 (27.9%)	8 (36.4%)	1.48	0.57-3.82	ns
TEDESCHI + ITALIANI	65 (19.06%)	33 (24.81%)	1.8	1.08-3.01	<b>0.022</b>
	TGF- $\beta$ 1 +915C/C (codone 25)				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	<i>p-value</i>
TEDESCHI	0	3 (2.7%)	$\infty$		<b>0.02</b>
ITALIANI	4 (2.9%)	1 (4.5%)	1.62	0.17-15.32	ns
TEDESCHI + ITALIANI	4 (1.17%)	4 (3.01%)	5.35	0.86-33.38	<b>0.04</b>
	IL-4 -590T/T				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	<i>p-value</i>
TEDESCHI	2 (1.0%)	6 (5.5%)	5.79	1.13-29.75	<b>0.02</b>
ITALIANI	2 (1.4%)	1 (4.6%)	3.29	0.28-38.43	ns
TEDESCHI+ ITALIANI	4 (1.17%)	7 (5.34%)	5.09	1.29-20.08	<b>0.0096</b>

**Tabella 2. Aplotipi citochinici e relative frequenze nei pazienti con WD e nei rispettivi controlli.**

	TGF- $\beta$ 1 +869C/C (codone 10)				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	<i>p-value</i>
TEDESCHI	30 (7.5%)	29 (13.1%)	1.86	1.08-3.20	<b>0.022</b>
ITALIANI	23 (8.2%)	8 (18.2%)	2.48	1.03-6.01	<b>0.037</b>
TEDESCHI + ITALIANI	53 (7.77%)	37 (13.9%)	1.99	1.26-3.17	<b>0.0028</b>
	TGF- $\beta$ 1 +915C/C (codone 25)				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	<i>p-value</i>
TEDESCHI	0	4 (1.8%)	$\infty$		<b>0.0065</b>
ITALIANI	2 (0.7%)	2 (4.5%)	6.62	0.89-49.10	<b>0.033</b>
TEDESCHI + ITALIANI	2 (0.29%)	6 (2.29%)	16.62	1.89-145.93	<b>0.0005</b>

**Tabella 3. Fenotipo funzionale del TGFβ-1 nei pazienti con WD e nei rispettivi controlli.**

	Bassi produttori di TGF-β1				
	CONTROLLI	WHIPPLE	OR	95% CI	p-value
<b>TEDESCHI</b>	6 (3.0%)	11 (9.9%)	3.57	1.27-10.08	<b>0.0098</b>
<b>ITALIANI</b>	7(5.0%)	5 (22.7%)	5.59	1.53-20.36	<b>0.003</b>
<b>TEDESCHI + ITALIANI</b>	13 (3.81%)	16 (12.0%)	4.13	1.83-9.30	<b>0.0002</b>

**Tabella 4. Trans-interazione tra fenotipi citochinici funzionali Th1 e Th2.**

Th1	Th2			
	Bassi produttori		Alti produttori	
	WHIPPLE N=133	CONTROLLI N=341	WHIPPLE N=133	CONTROLLI N=341
<b>Bassi produttori</b>	11 (8.3%)	30 (8.8%)	16 (12.0%)	52 (15.2%)
<b>Produttori intermedi</b>	23 (17.3%)	55 (16.2%)	49 (36.8%)	129 (37.8%)
<b>Alti produttori</b>	20 (15.0%)	26 (7.6%)	14 (10.6%)	49 (14.4%)

**Tabella 5. Trans-interazione tra fenotipi citochinici funzionali di Th17 e Treg.**

Treg	Th17			
	Bassi produttori		Alti produttori	
	WHIPPLE N=133	CONTROLLI N=341	WHIPPLE N=133	CONTROLLI N=341
<b>Bassi produttori</b>	48 (36.1%)	81 (23.8%)	10 (7.5%)	25 (7.3%)
<b>Alti produttori</b>	61 (45.9%)	190 (55.7%)	14 (10.5%)	45 (13.2%)

### Bibliografia

1. Fenollar F, Puéchal X, Raoult D. Whipple's disease. *N Engl J Med* 2007;356:55-66.
2. Schneider T, Moos V, Loddenkemper C et al. Whipple's disease: new aspects of pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis* 2008;8:179-190.
3. Maiwald M, Schuhmacher F, Ditton HJ et al. Environmental occurrence of the Whipple's disease bacterium (*Tropheryma whippelii*). *Appl Environ Microbiol* 1998;64:760-762.
4. Zinkernagel AS, Gmür R, Fenner L et al. Marginal and subgingival plaque - a natural habitat of *Tropheryma whippelii*? *Infection* 2003;31:86-91.
5. Schöniger-Hekele M, Petermann D, Weber B et al. *Tropheryma whippelii* in the environment: survey of sewage plant inlets and sewage plant workers. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:2033-2035.
6. Fenollar F, Trani M, Davoust B et al. Prevalence of asymptomatic *Tropheryma whippelii* carriage among humans and nonhuman primates. *J Infect Dis* 2008;197:880-887.
7. Li W, Fenollar F, Rolain J-M et al. Genotyping reveals a wide heterogeneity of *Tropheryma whippelii*. *Microbiology* 2008;154:521-527.
8. Fenollar F, Mediannikov O, Socolovschi C et al. *Tropheryma whippelii* bacteremia during fever in rural West Africa. *Clin Infect Dis* 2010;51:515-521.
9. Raoult D, Fenollar F, Rolain JM et al. *Tropheryma whippelii* in children with gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* 2010;16:776-782.
10. Martinetti M, Biagi F, Badulli C et al. The HLA alleles DRB1\*13 and DQB1\*06 are associated to Whipple's disease. *Gastroenterology* 2009;136:2289-2294.
11. Ponz de Leon M, Borghi A, Ferrara F et al. Whipple's disease in a father-son pair. *Intern Emerg Med* 2006;1:254-256.
12. Dykman DD, Cuccherini BA, Fuss IJ et al. Whipple's disease in a father-daughter pair. *Dig Dis Sci* 1999;44:2542-2544.
13. Gross JB, Wollaeger EE, Sauer WG et al. Whipple's disease; report of four cases, including two in brothers, with observations on pathologic physiology, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology* 1959;36:65-93.
14. Desnues B, Ihrig M, Raoult D et al. Whipple's disease: a macrophage disease. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:170-178.
15. Moos V, Schmidt C, Geelhaar A et al. Impaired immune functions of monocytes and macrophages in Whipple's disease. *Gastroenterology* 2010;138:210-220.
16. Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol* 2008;181:3733-3739.

17. Desnues B, Lepidi H, Raoult D et al. Whipple disease: intestinal infiltrating cells exhibit a transcriptional pattern of M2/alternatively activated macrophages. *J Infect Dis* 2005;192:1642-1646.
18. Marth T, Neurath M, Cuccherini BA et al. Defects of monocyte interleukin 12 production and humoral immunity in Whipple's disease. *Gastroenterology* 1997;113:442-448.
19. Marth T, Kleen N, Stallmach A et al. Dysregulated peripheral and mucosal Th1/Th2 response in Whipple's disease. *Gastroenterology* 2002;123:1468-1477.
20. Moos V, Kunkel D, Marth T et al. Reduced peripheral and mucosal Tropheryma whipplei-specific Th1 response in patients with Whipple's disease. *J Immunol* 2006;177:2015-2022.
21. Schinnerling K, Moos V, Geelhaar A et al. Regulatory T Cells in patients with Whipple's Disease. *J Immunol* 2011;18:4061-4067.
22. Blaschitz C, Raffatellu M. Th17 cytokines and the gut mucosal barrier. *J Clin Immunol* 2010;30:196-203.
23. Peck A, Mellins ED. Plasticity of T-cell phenotype and function: the T helper type17 example. *Immunology* 2010;129:147-153.
24. Savage ND, de Boer T, Walburg KV et al. Human anti-inflammatory macrophages induce Foxp3+ GITR+ CD25+ regulatory T cells which suppress via membrane-bound TGF- $\beta$ 1. *J Immunol* 2008;181:2220-2226.
25. Ollier WE. Cytokine genes and disease susceptibility. *Cytokine* 2004; 28:174-178.
26. Feurle GE, Moos V, Schinnerling K et al. The immune reconstitution inflammatory syndrome in Whipple disease. A cohort study. *Ann Intern Med* 2010;153:710-717.
27. Ubaldi de Capei MU, Dametto E et al. Genotyping for cytokine polymorphisms: allele frequencies in the Italian population. *Eur J Immunogenet* 2003;30:5-10.
28. Relman DA, Schmidt TM, MacDermott RP et al. Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1992;327:293-301.
29. Deriban G, Marth T. Current concepts of immunopathogenesis, diagnosis and therapy in Whipple's disease. *Curr Med Chem.* 2006;13:2921-2926.
30. Mantel PY, Schmidt-Weber CB. Transforming growth factor-beta: recent advances on its role in immune tolerance. *Methods Mol Biol* 2011;677:303-338.
31. Desnues B, Raoult D, Mege JL. IL-16 is critical for Tropheryma whipplei replication in Whipple's disease. *J Immunol* 2005;175:4575-4582.
32. Xue H, Gao L, Wu Y et al. The IL-16 gene polymorphisms and the risk of the systemic lupus erythematosus. *Clin Chim Acta* 2009;403:223-225.
33. Gan XL, Lin YH, Zhang Y et al. Association of an interleukin-16 gene polymorphism with the risk and pain phenotype of endometriosis. *DNA Cell Biol* 2010;29:663-667.
34. Gao LB, Liang WB, Xue H et al. Genetic polymorphism of interleukin-16 and risk of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chim Acta* 2009;409:132-135.
35. Marth T, Neurath M, Cuccherini BA et al. Defects of monocyte interleukin 12 production and humoral immunity in Whipple's disease. *Gastroenterology* 1997;11:442-448.