

Sistema inmunitario inflamatorio en la cirrosis. Relevancia de la translocación bacteriana

A. Albillos Martínez^{a,b}, L. Muñoz Zamarrón^b, M. Nieto González^b, M. Ubeda Cantera^b, A. de la Hera Martínez^b
y M. Álvarez-Mon Soto^b

^aServicio de Gastroenterología. Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá. Madrid.

^bLaboratorio de Enfermedades del Sistema Inmune. Unidad I+D asociada al Centro Nacional de Biotecnología (CSIC). Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Madrid. España.

INTRODUCCIÓN

Clásicamente se ha considerado que la participación del sistema inmunitario en la cirrosis se restringía a 2 aspectos: la etiopatogenia de la necrosis hepatocitaria y la hiper-gammaglobulinemia y la elevada predisposición a infecciones bacterianas que presentan algunos de estos pacientes. Por ello, los estudios realizados se centraron en analizar las bases celulares de la alteración del sistema inmunitario en esta enfermedad. Se observó que las células T presentaban diferentes patrones de secreción de citocinas que favorecían la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de distintos isotipos de inmunoglobulinas en función de la etiología de la cirrosis¹. Otros grupos encontraron una reducida capacidad fagocítica en los monocitos de los pacientes más susceptibles a las infecciones, una sensibilidad aumentada de estos monocitos al estímulo con componentes de la pared bacteriana y alteraciones en la actividad citotóxica de las células *natural killer* (NK) de estos pacientes. También se realizaron diversos estudios encaminados a analizar descriptivamente parámetros inmunológicos tales como la distribución de subpoblaciones linfocitarias, la activación leucocitaria y la expresión de moléculas de adhesión detectada en la sangre periférica o los valores séricos de mediadores solubles.

En los últimos años, este concepto de cirrosis se ha modificado y ampliado, y se ha pasado a considerar que las alteraciones del sistema inmunitario observadas en los pacientes con cirrosis no son sólo una consecuencia del daño hepático, sino que también participan en la etiopatogenia, la progresión y las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En este sentido se ha demostrado que, inclu-

so cuando ya se encuentra establecida, la cirrosis es un proceso dinámico en el que el sistema inmunitario se encuentra sometido a una estimulación anormal que pudiera favorecer su participación en la elevada predisposición a infecciones bacterianas, en las alteraciones hemodinámicas o en la respuesta inflamatoria del hígado y de otros órganos.

Desde un punto de vista teórico, varios son los mecanismos etiopatogénicos potencialmente implicados en la alteración del sistema inmunitario en la cirrosis. Entre ellos: *a*) la intolerancia a antígenos propios, esto es, una respuesta autoinmunitaria; *b*) la modificación de los propios antígenos hepáticos por virus hepatotropos o tóxicos; o *c*) por las alteraciones del medio interno debidas a anomalías metabólicas y neuroendocrinas propias de la insuficiencia hepática y, por último, *d*) agentes o productos bacterianos que hayan accedido al organismo del paciente cirrótico. En la cirrosis existe una tasa elevada de translocación bacteriana a los ganglios linfáticos mesentéricos y un aumento de la permeabilidad intestinal^{2,3}, por lo que nos centramos en el potencial impacto del acceso de los gérmenes entéricos al organismo y de su interacción con el sistema inmunitario del paciente con cirrosis.

TRANSLOCACIÓN BACTERIANA EN LA CIRROSIS

La cirrosis avanzada, experimental y humana, se caracteriza por una alta tasa de translocación bacteriana a los ganglios linfáticos mesentéricos secundaria al daño en la barrera intestinal²⁻⁴. Se ha constatado en cirrosis experimental y humana el sobrecrecimiento de los microorganismos de la luz intestinal, una elevada permeabilidad de la barrera intestinal y un sistema inmunitario alterado en el territorio esplácnico.

Tanto los pacientes como los modelos experimentales de cirrosis presentan alteraciones en la función motriz coordinada del intestino delgado, probablemente por una elevada actividad adrenérgica, lo que genera un retraso en el

Correspondencia: Dr. A. Albillos Martínez.
Servicio de Gastroenterología. Hospital Ramón y Cajal.
Ctra. de Colmenar, km 9,100. 28034 Madrid. España.
Correo electrónico: aalbillosm@meditex.es

tránsito intestinal y favorece el sobrecrecimiento de las enterobacterias en la luz del intestino². Se ha propuesto que el estrés oxidativo en la pared intestinal, la elevada actividad del sistema nervioso simpático y la elevada producción de óxido nítrico son algunos de los factores que podrían favorecer la dismotilidad intestinal en la cirrosis. La cirrosis también se asocia con alteraciones estructurales y funcionales de la mucosa intestinal que podrían incrementar la permeabilidad del intestino. No existen evidencias experimentales claras que confirmen si la congestión de la mucosa, la inflamación de la submucosa o el edema que se producen en la pared intestinal en la cirrosis son la causa o el resultado de la translocación bacteriana. Estudios en modelos experimentales de cirrosis han determinado que se produce un estrés oxidativo en la mucosa del intestino delgado caracterizado por una elevada actividad xantina oxidasa y un estado antioxidante alterado, una incrementada peroxidación lipídica del borde en cepillo y un transporte intestinal anormal⁵, que son cambios similares a los observados en otros modelos experimentales con elevadas frecuencias de translocación bacteriana.

El concurso de estos 2 mecanismos, sobrecrecimiento bacteriano y aumento de la permeabilidad intestinal, en un individuo inmunocompetente no es suficiente para el establecimiento de la translocación bacteriana, dado que el sistema inmunitario es capaz de captar las bacterias y transportarlas al ganglio linfático mesentérico de drenaje, donde se activa una respuesta inmunitaria local que aclara los microorganismos y evita su proliferación y su posterior entrada en la circulación. Sin embargo, la reducida capacidad bacteriostática y opsónica en el suero, así como el defecto en la capacidad fagocítica de los neutrófilos y en la efectora de otras células inmunocompetentes que presentan tanto los pacientes como los modelos experimentales de cirrosis, podría favorecer la llegada de estas bacterias al ganglio linfático mesentérico y su paso a la circulación. Estudios en modelos experimentales han demostrado reducidas cantidades de las proteínas del complemento en el suero de ratas cirróticas con ascitis, lo que deterioraría la capacidad fagocítica y opsónica del sistema inmunitario. Esto también se ha detectado en pacientes cirróticos, en los que, además, se correlacionaba con una reducida capacidad de síntesis de proteínas del hígado. Asimismo, la hiperemia esplácnica que acompaña a la hipertensión portal en la cirrosis altera el rodamiento, la adherencia y la migración de las células fagocíticas, lo que dificulta aún más el aclaramiento de las bacterias.

FUNDAMENTOS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA CONTRA LOS PATÓGENOS

Hay numerosos indicios de que los productos bacterianos entéricos podrían promover la activación del sistema inmunitario en la cirrosis. En este sentido se ha demostrado la relación entre la activación del sistema inmunitario y la translocación de bacterias a los ganglios linfáticos mesentéricos, la reducción de este estado de activación tras la descontaminación intestinal con antibióticos y su asocia-

ción con un elevado riesgo de infecciones bacterianas espontáneas en los pacientes con elevada concentración plasmática de proteína de unión al lipopolisacárido (*lipopolysaccharide binding protein*, LBP)⁶⁻¹⁰.

Una vez que las bacterias atraviesan la pared intestinal, son detectadas por las células de la estirpe monocito-dendrítica localizadas en la lámina propia de la mucosa del intestino, que se activan y fagocitan los microorganismos¹¹. Pero no sólo las bacterias son capaces de provocar la activación de las células fagocíticas, también los productos bacterianos son capaces de generar una respuesta innata local¹². Esta activación de la respuesta innata depende del reconocimiento específico de moléculas altamente conservadas en la superficie de los patógenos, denominadas «patrones moleculares asociados a patógenos» (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMP), entre los que se encuentra, por ejemplo, el lipopolisacárido (LPS, endotoxina) bacteriano, que la mayor parte de las células mononucleares reconocen por medio de receptores de reconocimiento de patrón policlonales¹³. De éstos, existe una familia de 11 receptores identificados recientemente que reciben el nombre de receptores de tipo Toll (*Toll like receptors*, TLR), de los cuales los TLR 2, 4 y 9 son los más relevantes. El LPS, componente de la pared celular de bacterias gramnegativas transportado en plasma por el LBP, se une al receptor CD14 que expresan los monocitos, lo que, a su vez, facilita la posterior interacción de ambas moléculas con el TLR 4 en la superficie de estas células. La señalización por esta vía induce en los monocitos la activación del factor de transcripción NF- κ B, lo que desemboca en la liberación de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF) α , la interleucina (IL) 1 β y la IL-6, y de quimiocinas, la liberación del dominio extracelular del receptor CD14 y la expresión de moléculas coestimuladoras como el CD80 y el CD86 y de moléculas de MHC I y II.

Tras la activación y fagocitosis de las bacterias por las células de la estirpe monocito-dendrítica, éstas migran al ganglio linfático mesentérico local, donde presentan los péptidos proteicos de las enterobacterias ya procesados a las células T vírgenes, que se encuentran continuamente recirculando por los órganos linfoides secundarios. Si las células T cooperadoras reconocen su antígeno específico, se activan. También las células B dejan de recircular por los ganglios linfáticos cuando encuentran su antígeno específico, y quedan allí retenidas. La interacción con las células T cooperadoras activadas favorece la activación de las células B, y se establece así lo que se conoce como un foco primario de expansión clonal, en el que ambos tipos de linfocitos proliferan. Parte de las células T cooperadoras activadas quedan retenidas en el ganglio linfático mesentérico, mientras que otras salen a la circulación para desde allí, guiadas por quimiocinas y moléculas de adhesión recién expresadas, alcanzar el tejido periférico inflamado de donde procedía el antígeno que las activó¹⁴. Una de las citocinas liberadas como consecuencia de la presentación antigénica en el ganglio linfático mesentérico es el TNF α . El TNF α posee una función reguladora en la superficie de las células accesorias, los linfocitos T, B

y NK, y las células polimorfonucleares. Esta citocina, además, es capaz de producir estrés y daño en las células parenquimatosas que causan la generación de reactantes inflamatorios. El TNF α también ejerce una acción morfogénica en los ganglios linfáticos, que favorece la cooperación entre células accesorias, macrófagos y linfocitos. Por lo tanto, la liberación local de esta citocina participa en la defensa del tejido infectado. Sin embargo, si las bacterias consiguen burlar los sistemas de defensa y alcanzan la sangre, los mismos mecanismos por los que el TNF α contiene la infección local de forma tan eficaz pueden ser letales a nivel sistémico. La sepsis se acompaña de la liberación masiva de TNF α y de otras citocinas proinflamatorias en el bazo, el hígado y otras localizaciones, lo que ocasiona la vasodilatación y la pérdida de volumen plasmático por aumento de la permeabilidad vascular que conducen, en última instancia, al shock.

CONTRIBUCIÓN DE LAS BACTERIAS ENTÉRICAS A LAS ALTERACIONES DE LOS MEDIADORES SOLUBLES DEL SISTEMA INMUNITARIO EN LA CIRROSIS

En la cirrosis, principalmente en sus fases más avanzadas, se ha objetivado un aumento de citocinas proinflamatorias, en particular TNF α ^{6-8,10,15-17}. Las ratas cirróticas con translocación bacteriana muestran mayor concentración sérica de esta citocina que aquellas sin traslocación⁶. Asimismo, los pacientes cirróticos con más TNF α en los ganglios mesentéricos son los que también presentan mayor concentración circulante de esta citocina⁸. Estas relaciones indican que la producción mesentérica de TNF α contribuye a incrementar su cantidad circulante en la cirrosis y señalan la relevancia patogénica que en este aumento desempeñan las bacterias entéricas.

Los pacientes cirróticos en los que el paso a la circulación de LPS y de productos bacterianos es más frecuente son los que presentan concentraciones séricas más elevadas de TNF α , IL-6 y otras citocinas proinflamatorias y las anomalías hemodinámicas más acentuadas. Estos pacientes se identifican por un aumento de LBP circulante o por la presencia en sangre de ADN bacteriano^{7,17-19}. De hecho, los pacientes cirróticos con ascitis en los que se encuentra aumentada la concentración sérica de LBP presentan más citocinas proinflamatorias circulantes⁷. La descontaminación intestinal con norfloxacin en pacientes cirróticos normaliza la concentración sérica de LBP y reduce la circulación de citocinas, lo que sustenta la importancia de las bacterias entéricas en la patogenia de estas alteraciones⁷.

Otros mediadores solubles que se encuentran elevados en la cirrosis, incluso en ausencia de infección bacteriana clínicamente evidente, son la IL-1 β , la IL-8, el interferón (IFN) γ , la IL-12 y la IL-18, receptores solubles como el sTNFR1 y el sTNFR2, el receptor de la IL-1 β y el de la IL-6 y citocinas antiinflamatorias como la IL-10^{7,15,16}. Diversas evidencias clínicas y experimentales señalan que las elevadas concentraciones de estos mediadores solubles pueden contribuir al mantenimiento o incluso al progreso de la enfermedad, y con ello al desarrollo de sus

manifestaciones más características, como el síndrome de circulación hiperdinámica y la ascitis.

Es importante reseñar que los pacientes y los modelos experimentales de cirrosis con un estado proinflamatorio sistémico más acentuado son los que muestran un mayor deterioro hemodinámico^{6,7}. El nexo entre ambas alteraciones probablemente sea la capacidad del TNF α y de otras citocinas proinflamatorias de estimular la síntesis endotelial de óxido nítrico, lo que contribuye a agravar la vasodilatación sistémica y el estado circulatorio hiperdinámico en la cirrosis. A su vez, demuestra la relación de las bacterias entéricas con estas alteraciones el hecho de que la administración de norfloxacin reduce la translocación de bacterias gramnegativas a ganglios linfáticos mesentéricos, la concentración sérica de TNF α y la actividad de la óxido nítrico sintetasa endotelial e inducible de la aorta en ratas cirróticas²⁰, y disminuye la concentración sérica de nitratos y nitritos y atenúa el estado circulatorio hiperdinámico en pacientes con cirrosis^{7,21}.

CONTRIBUCIÓN DE LAS BACTERIAS ENTÉRICAS A LAS ALTERACIONES DE LOS ELEMENTOS CELULARES DEL SISTEMA INMUNITARIO EN LA CIRROSIS

Una profunda alteración en la distribución y el estado de activación de las células inmunitarias subyace en el aumento de mediadores solubles del sistema inmunitario inflamatorio observado en pacientes y en modelos experimentales de cirrosis^{10,17}. Dicha alteración se caracteriza por la polarización Th1 de las células T circulantes a la producción de IFN γ , y la activación de los monocitos a la secreción de TNF α . La población de monocitos circulantes se encuentra significativamente expandida y exhibe una mayor expresión de moléculas de MHC de clase II, así como de moléculas de membrana implicadas en la activación de los linfocitos T y en la regulación del tráfico sanguíneo y de la distribución celular. El compartimento de células T circulantes se encuentra retraído. En el caso de las células Th, esta disminución ocurre principalmente a expensas de las células vírgenes y en el de las células T citotóxicas, a expensas tanto de las células vírgenes como de las activadas/memoria^{10,17}.

Este estado de activación del sistema inmunitario inflamatorio a nivel sistémico se inicia en el territorio esplácnico como consecuencia de la interacción de las células inmunitarias del ganglio linfático mesentérico con las bacterias o productos bacterianos de origen entérico que se translocan¹⁰. Ello produce una respuesta de los brazos innato y adquirido del sistema inmunitario entérico, tal y como lo demuestra la intensa expansión y activación de las células T y B y los monocitos. Posteriormente, la recirculación de estas células inmunitarias activadas extiende la inflamación a la circulación sistémica. Esta afirmación se sustenta en la ausencia de signos de activación de las células del sistema inmunitario en los ganglios linfáticos periféricos, como los axilares, carentes de relación de drenaje con el lecho esplácnico; en los perfiles inmunofenotípicos de las células T de los ganglios linfáticos me-

sentéricos y de sangre periférica, y en la mayor intensidad de la activación de las células inmunitarias en el ganglio mesentérico que en la circulación periférica. La descontaminación intestinal con antibióticos atenúa estas alteraciones en la distribución y el estado de activación de las células del sistema inmunitario mesentérico y sistémico, lo que indica la relevancia del estímulo bacteriano de origen entérico en su patogenia^{10,17}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Girón JA, Álvarez-Mon M, Menéndez-Caro JL, et al. Increased spontaneous and lymphokine-conditioned IgA and IgG synthesis by B cells from alcoholic cirrhotic patients. *Hepatology*. 1992;16:664-70.
2. Pérez-Paramo M, Muñoz J, Albillos A, et al. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *Hepatology*. 2000;31:43-8.
3. Albillos A, De la Hera A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis: working out the role of probiotics and antioxidants. *J Hepatol*. 2002;37:523-6.
4. Cílera I, Bauer TM, Navasa M, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2001;34:32-7.
5. Chiva M, Guarner C, Peralta C, et al. Intestinal mucosal oxidative damage and bacterial translocation in cirrhotic rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15:145-50.
6. Wiest R, Das S, Cadelina G, et al. Bacterial translocation in cirrhotic rats stimulates eNOS-derived NO production and impairs mesenteric vascular contractility. *J Clin Invest*. 1999;104:1223-33.
7. Albillos A, De la Hera A, González M, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology*. 2003;37:208-17.
8. Genesca J, Martí R, Rojo F, Campos F, Peribañez V, González A, et al. Increased tumour necrosis factor alpha production in mesenteric lymph nodes of cirrhotic patients with ascites. *Gut*. 2003;52:1054-9.
9. Albillos A, De la Hera A, Álvarez-Mon M. Serum lipopolysaccharide-binding protein prediction of severe bacterial infection in cirrhotic patients with ascites. *Lancet*. 2004;363:1608-10.
10. Muñoz L, Albillos A, Nieto M, et al. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF-alpha production: first steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. *Hepatology*. 2005;42:411-9.
11. Turnbull E, MacPherson G. Immunobiology of dendritic cells in the rat. *Immunol Rev*. 2001;184:58-68.
12. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*. 2001;2:675-80.
13. Dobrovolskaia MA, Vogel SN. Toll receptors, CD14, and macrophage activation and deactivation by LPS. *Microbes Infect*. 2002;4:903-14.
14. Young AJ. The physiology of lymphocyte migration through the single lymph node in vivo. *Semin Immunol*. 1999;11:73-83.
15. Tilg H, Wilmer A, Vogel W, et al. Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. *Gastroenterology*. 1992;103:264-74.
16. Genesca J, Gonzalez A, Segura R, et al. Interleukin-6, nitric oxide, and the clinical and hemodynamic alterations of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 1999;94:169-77.
17. Albillos A, De la Hera A, Reyes E, et al. Tumour necrosis factor-alpha expression by activated monocytes and altered T-cell homeostasis in ascitic alcoholic cirrhosis: amelioration with norfloxacin. *J Hepatol*. 2004;40:624-31.
18. Frances R, Benlloch S, Zapater P, et al. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. *Hepatology*. 2004;39:484-91.
19. Such J, Muñoz C, Zapater P, et al. Bacterial DNA induces a proinflammatory immune response in patients with decompensated cirrhosis. *Gut*. 2005;54:1500.
20. Tazi KA, Moreau R, Herve P, et al. Norfloxacin reduces aortic NO synthases and proinflammatory cytokine up-regulation in cirrhotic rats: role of Akt signaling. *Gastroenterology*. 2005;129:303-14.
21. Chin-Dusting JP, Rasaratnam B, Jennings GL, et al. Effect of fluoroquinolone on the enhanced nitric oxide-induced peripheral vasodilation seen in cirrhosis. *Ann Intern Med*. 1997;127:985-8.