

## Translocación de ADN bacteriano en la cirrosis y sus consecuencias inmunes

FRANCISCO UCEDA Y JOSÉ SUCH RONDA

Unidad de Hepatología. Servicio de Medicina Interna. Hospital General Universitario. Alicante. España.

De entre las diversas complicaciones que pueden desarrollar los pacientes con cirrosis, las infecciones bacterianas, especialmente las causadas por bacilos entéricos gramnegativos (BGN) son probablemente las más importantes, y la peritonitis bacteriana espontánea (PBE) la que más relevancia posee por su significado pronóstico<sup>1,2</sup>. La actual teoría patogénica de la PBE sugiere que bacterias de origen intestinal accederían a los nódulos linfáticos mesentéricos (NLM)<sup>3,4</sup> mediante un proceso sólo parcialmente conocido que se ha

denominado translocación bacteriana (TB)<sup>5</sup> (fig. 1). Las causas de este fenómeno son probablemente múltiples y entre ellas destacan las alteraciones de la motilidad intestinal, el sobrecrecimiento bacteriano intestinal y las alteraciones inmunes humorales y celulares. Desde los NLM, las bacterias colonizarían el torrente sanguíneo y el líquido ascítico (LA), dando lugar al hipotético desarrollo de bacteriemia y PBE en los casos en los que las defensas locales no fueran suficientes para eliminar las bacterias.

### Puntos clave

- La translocación bacteriana es un fenómeno frecuente y clave para el desarrollo de peritonitis bacteriana espontánea tanto en modelos animales de cirrosis como en humanos.
- La translocación de bacterias viables puede dar lugar al desarrollo de infecciones, pero las bacterias no viables pueden inducir una marcada respuesta inmunitaria.
- Aproximadamente el 30% de los pacientes con cirrosis grave muestran fragmentos de ADN bacteriano en sangre y líquido ascítico, que pueden persistir detectables en sangre durante períodos variables.
- El ADN bacteriano induce una respuesta inmune de tipo I al unirse a los receptores TLR-9 presentes en las células del sistema inmunitario innato.
- La población celular peritoneal en pacientes con cirrosis y presencia de ADN bacteriano muestran una marcada capacidad de liberación de óxido nítrico y de las citocinas implicadas en la respuesta de tipo I.

### Translocación bacteriana

El criterio de TB aceptado en la actualidad exige el aislamiento de bacterias viables en los NLM<sup>6</sup>. Sin embargo, recientemente se ha sugerido que este criterio debería ampliarse, para incluir junto a las bacterias viables a componentes de ellas, como la endotoxina<sup>7</sup>. Tanto la endotoxina como el ADN bacteriano (ADNbact) son componentes bacterianos capaces de inducir una respuesta inmune<sup>8,9</sup>, por lo que probablemente el concepto ampliado de TB debería incluir no sólo a la endotoxina, sino también al ADNbact, y quizá a otros productos de origen bacteriano que aún no se han determinado. Sin embargo, antes de admitir que la detección de ADNbact en sangre y LA en pacientes con cirrosis grave representa evidencias moleculares de TB, debemos comprobar si la detección de fragmentos genómicos de una determinada bacteria en sangre o LA es simultánea a su presencia en NLM.

### Capacidad inmunogénica del ADNbact

El ADNbact es un elemento lo suficientemente importante en la evolución de la especie humana como para que determinadas células del sistema inmunitario innato hayan desarrollado un receptor específico, el *Toll-like receptor 9* (TLR-

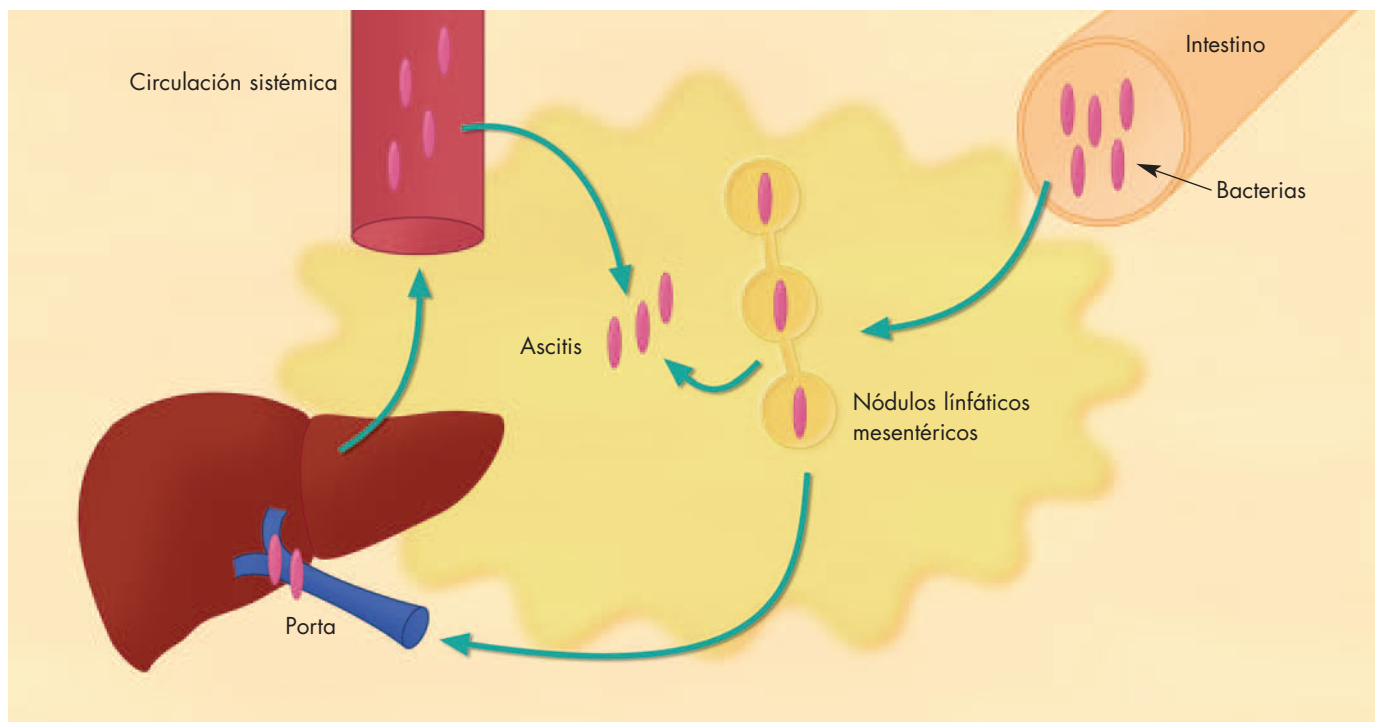


Figura 1. Esquema de la patogenia de la peritonitis bacteriana espontánea.

9) para su detección. El ADN<sub>bact</sub> incluye una serie de motivos CpG no metilados, y que tras su unión al receptor TLR-9 induce una marcada respuesta inmunológica celular<sup>10,11</sup> con la consiguiente producción de citocinas proinflamatorias y otras moléculas efectoras. Por ejemplo, la unión de ADN<sub>bact</sub> a las células *natural killer* induce la liberación de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), y esto, a su vez, aumenta la toxicidad de otras moléculas, como la endotoxina<sup>12</sup>, y es capaz de potenciar la liberación de óxido nítrico (ON) mediante la activación de la óxido nítrico sintasa inducible<sup>13</sup>. Toda esta secuencia de acontecimientos adquiere relevancia clínica si consideramos que el ON es una molécula efectora con capacidad bactericida mediada por los macrófagos<sup>14</sup>.

## Demostración de la presencia de ADN<sub>bact</sub> en pacientes con cirrosis

Las razones del estudio del ADN<sub>bact</sub> en nuestro caso son fácilmente comprensibles: buscábamos la evidencia de la presencia de bacterias o sus productos en pacientes con cirrosis grave, ya que éstos son los que desarrollan episodios de PBE con mayor frecuencia. Sin embargo, entonces no había, ni tampoco ahora, métodos comerciales para su detección, por lo que en nuestro grupo de trabajo desarrollamos la metodología necesaria basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Rubén Francés. Tesis Doctoral. Universidad Miguel Hernández, 2001). Mediante la aplicación de este método pudimos demostrar que entre el 30 y el 40% de los pacientes con cirrosis y ascitis ingresados en un centro hospitalario presentan fragmentos de ADN<sub>bact</sub> de forma simultánea en sangre y LA, y que además, los fragmentos detectados corresponden a las bacterias que habitualmente producen

episodios de PBE<sup>15</sup>. En un trabajo posterior pudimos comprobar que la presencia de estos fragmentos genómicos bacterianos se mantenían en sangre durante un período variable, que podía llegar hasta 64 horas<sup>16</sup>. Los datos obtenidos sugerían que la presencia prolongada de fragmentos bacterianos en sangre no era consecuencia de un defecto de la capacidad de aclaración hepático, sino de repetidos episodios de TB de una única especie bacteriana.

## Consecuencias inmunes de la presencia de ADN<sub>bact</sub>

Es fácil imaginar que aquellos medios biológicos celulares en los que la presencia de ADN<sub>bact</sub> se convierta en un acontecimiento frecuente presentarán una marcada respuesta inflamatoria, que si bien puede teóricamente contribuir a evitar el desarrollo de infecciones, podría, también en teoría, deteriorar el estado general del paciente. Hay evidencias en otros campos de la patología infecciosa en los que una excesiva respuesta inmune puede ser perjudicial para el huésped<sup>17</sup>.

Para comprobar las consecuencias inmunes que pudiera tener el ADN<sub>bact</sub> en pacientes con cirrosis y ascitis, estudiamos el comportamiento de los macrófagos obtenidos del LA en pacientes con y sin fragmentos genómicos bacterianos, y comprobamos que su presencia se asociaba a marcadas diferencias no sólo en los valores basales de citocinas relacionadas con la respuesta inmune de tipo I (IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , factor de necrosis tumoral alfa [TNF- $\alpha$ ]) y de ON, sino en también en la capacidad de síntesis en cultivo no estimulado<sup>18</sup>. Es decir, la presencia de ADN<sub>bact</sub> y su posterior unión a los receptores TLR-9 de las células del sistema inmune innato induce una marcada actividad de celular, que se refleja tanto en la producción de citocinas<sup>19</sup> como en su liberación al medio<sup>18</sup>.

## Conclusión

La teoría patogénica de la TB indica que el tránsito de bacterias viables desde la luz intestinal puede inducir el desarrollo de episodios infecciosos en pacientes con cirrosis grave y, concretamente, PBE. La detección del tránsito de bacterias por la circulación sistémica en pacientes asintomáticos es infrecuente, pero entre el 30 y el 40% de estos pacientes muestran fragmentos de ADNbact circulantes, que pueden persistir en sangre al menos hasta 64 horas en nuestra experiencia. La presencia de estos fragmentos no es un acontecimiento menor, a pesar de que puedan corresponder a bacterias no viables, sino que inducen una marcada respuesta inmune. En la actualidad se desconoce si esta respuesta es protectora para el huésped frente a la eventual llegada posterior de bacterias o si, por el contrario, lo deteriora progresivamente, favoreciendo el futuro desarrollo de infecciones. Parece claro que la detección de ADNbact identifica a un nuevo subgrupo de pacientes con cirrosis y ascitis, y resultados preliminares de nuestro grupo sugieren que la presencia de ADNbact podría asociarse a un peor pronóstico. Se requiere la realización de nuevos estudios, probablemente multicéntricos, para conocer con exactitud el significado clínico, inmunitario y pronóstico que conlleva la presencia de ADNbact en pacientes con cirrosis grave descompensada.

## Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

- Such J, Runyon BA. Spontaneous bacterial peritonitis. Clin Infect Dis. 1998;27: 669-74.
- Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. Hepatology. 2002;35:140-8.
- Guarnier C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. J Hepatol. 1997;26:1372-8.
- Cirera I, Bauer TM, Navasa M, Vila J, Grande L, Taura P, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. J Hepatol. 2001; 34:32-7.
- Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. J Med. 1992;23:217-44.
- Runyon BA, Squier S, Borzio M. Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis. J Hepatol. 1994;21:792-6.
- Albillos A, De La HA, Álvarez-Mon M. Consecuencias patogénicas de la traslocación bacteriana en la cirrosis hepática. Gastroenterol Hepatol. 2001;24:450-3.
- Sweet MJ, Hume DA. Endotoxin signal transduction in macrophages. J Leukoc Biol. 1996;60:8-26.
- Krieg AM. CpG motifs: the active ingredient in bacterial extracts? Nat Med. 2003;9:831-5.
- Wagner H. Interactions between bacterial CpG-DNA and TLR9 bridge innate and adaptive immunity. Curr Opin Microbiol. 2002;5:62-9.
- Cowdery JS, Chace JH, Yi AK, Krieg AM. Bacterial DNA induces NK cells to produce IFN-gamma in vivo and increases the toxicity of lipopolysaccharides. J Immunol. 1996;156:4570-5.

- Sweet MJ, Stacey KJ, Kakuda DK, Markovich D, Hume DA. IFN-gamma primes macrophage responses to bacterial DNA. J Interferon Cytokine Res. 1998;18:263-71.
- Gao JJ, Zuvanich EG, Xue Q, Horn DL, Silverstein R, Morrison DC. Cutting edge: bacterial DNA and LPS act in synergy in inducing nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. J Immunol. 1999;163:4095-9.
- Fang FC. Perspectives series: host/pathogen interactions. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. J Clin Invest. 1997;99:2818-25.
- Such J, Frances R, Muñoz C, Zapater P, Casellas JA, Cifuentes A, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. Hepatology. 2002;36:135-41.
- Frances R, Benlloch S, Zapater P, González JM, Lozano B, Muñoz C, et al. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. Hepatology. 2004;39:484-91.
- Kwiatkowski D, Bate CAW, Scragg IG, Beattie P, Udalo I, Knight JC. The malarial fever response - pathogenesis, polymorphism and prospects for intervention. Ann Trop Med Parasitol. 1997;91:533-42.
- Frances R, Muñoz C, Zapater P, Uceda F, Gascon I, Pascual S, et al. Bacterial DNA activates cell mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. Gut. 2004;53:860-4.
- Frances R, Rodríguez E, Muñoz C, Zapater P, De la Sen M, Ndongo M, et al. Intracellular cytokine expression in monocyte/macrophages from ascitic fluid of patients with cirrhosis and presence of bacterial DNA. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2005;17:45-51.

## Bibliografía recomendada

Runyon BA, Squier S, Borzio M. Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis. J Hepatol. 1994;21:792-6.

*Este estudio demuestra la relación entre la translocación bacteriana a ganglios linfáticos mesentéricos y el desarrollo de episodios de peritonitis bacteriana espontánea en un modelo experimental de cirrosis.*

Cirera I, Bauer TM, Navasa M, Vila J, Grande L, Taura P, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. J Hepatol. 2001;34:32-7.

*La translocación bacteriana no sólo se ha demostrado en modelos animales, sino también en pacientes con cirrosis grave, durante el curso de cirugía abdominal por trasplante hepático o para resección de hepatocarcinomas. Por tanto, valida indirectamente el modelo animal para el estudio de la translocación.*

Such J, Frances R, Muñoz C, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. Hepatology. 2002;36:135-41.

*Este artículo demuestra la presencia simultánea en sangre y líquido ascítico de fragmentos de ADNbact en pacientes con cirrosis descompensada. Identifica las bacterias origen de los fragmentos genómicos, y comprueba que en su mayoría son E. coli, que a su vez son las que con mayor frecuencia causan episodios de peritonitis bacteriana espontánea.*

Wagner H. Interactions between bacterial CpG-DNA and TLR9 bridge innate and adaptive immunity. Curr Opin Microbiol. 2002;5:62-9.

*Demostración de las interacciones entre los fragmentos de ADNbact y TLR-9 en la activación de reacciones inmunes.*

Frances R, Muñoz C, Zapater P, Uceda F, Gascón I, Pascual S, et al. Bacterial DNA activates cell mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. Gut. 2004;53:860-4.

*Los fragmentos genómicos bacterianos inducen una marcada activación celular, no sólo en modelos experimentales, sino también en humanos, representado en este trabajo por la presencia de valores elevados de citocinas implicadas en la reacción inmune de tipo I.*