

El Microbioma Humano y la Patología Asociada

Francisco Castro Ramírez*

El tracto digestivo en los mamíferos está formado o recubierto por una extensa mucosa estructurada por células epiteliales. Esta mucosa nos provee de una interfase entre el medio ambiente y su huésped de aproximadamente 400 metros cuadrados con las vellosidades intestinales desplegadas; en ella se encuentra: el tejido linfoide, una red neuroendocrina, moduladores de la unión intercelular que la involucra en el control de la absorción, la motilidad y en la actividad neuroendocrina e inmunológica. También regula el tráfico molecular entre la luz intestinal y la submucosa a través del espacio para-celular⁽¹⁾.

A esta condición se suma la presencia o ausencia en la composición de la comunidad bacteriana del intestino, aproximadamente 100 billones de bacterias distribuidas entre 500 y 1000 de especies claves, capaces de efectuar respuestas específicas importantes para mantener la homeostasis. Los mecanismos por los cuales ejerce su influencia la microbiota, beneficiosos o perjudiciales, permanecen en gran medida sin identificar, pero incluyen elaboración de moléculas de señalización, reconocimientos de epitopos bacterianos por las células inmunes y epiteliales de la mucosa intestinal⁽²⁾.

En el año 400 a. C. Hipócrates aseveró que “la muerte se encuentra en las entrañas”, “la mala

digestión es la raíz de todo mal”. En las últimas décadas, la mayoría de las investigaciones se ha centrado en los estudios sobre gérmenes patógenos gastrointestinales. Sin embargo, recientemente ha habido un incremento en el estudio del efecto que estos comensales microbianos ejercen sobre el intestino de los mamíferos y su papel en la salud y enfermedad humana⁽³⁾. El objetivo de esta revisión es conocer la importancia de la microbiota gastrointestinal en la salud y en la enfermedad.

Prácticamente todos los organismos multicelulares viven en estrecha relación con los microbios en la luz intestinal, allí pululan un gran número de arqueas, virus y eucarióticas unicelulares, es lo que se ha llamado flora normal, microflora o microbiota.

La composición y funciones de estas bacterias que forman parte de esta comunidad se han estudiado en forma intensa en los últimos años.

El intestino humano contiene 100 millones de células, cuyo genoma colectivo, los microbiomas, reflejan la acción de las diferentes presiones y selección evolutiva que actúan sobre a nivel de las células del huésped y de las células microbianas. Las reglas ecológicas que rigen la diversidad microbiana en su medio intestinal, se aplican a mutualistas y patógenos que colonizan prácticamente todas las superficies del cuerpo humano expuesto al ambiente externo, piel, gastrointestinal, respiratorio, genitourinario. Se calcula que el colon contiene el 70% de todos los microbios contenidos en una persona, de esta variedad de cepas y familias bacterianas, dos variedades predominan en la microbiota de un adulto: los bacteroidetes y

* Médico Internista e Infectólogo, Ciudad Bolívar.

firmicutes, a estos se les agrega un miembro de las arqueas, la *Metanobrevibacter SWmithii*.

Joshua Lederberg enfatizó la importancia de tener un amplio enfoque ecológico de nuestra relación con los microbios; desde este punto de vista, nosotros podemos clasificarnos como un superorganismo, compuesto por una amalgama de Microbio y *Homo Sapiens*, en donde la sobrevivencia de microbio y humano es interdependiente.

El intestino es un laboratorio natural en donde se puede estudiar la macroevolución de los humanos; hoy se dispone de herramientas para la experimentación valiéndose del recurso de computadoras, de la biología molecular para hacer el estudio de los diferentes clones bacterianos y poder definir y descifrar el contenido de genes del microbioma, para explorar el metaboloma encriptado en esa enorme colección de genes microbianos, los cuales superan el número de nuestros propios genes humanos por al menos dos órdenes de magnitud.

Una enorme cantidad de las bacterias que colonizan nuestro cuerpo no se pueden aislar por los medios de cultivos que disponemos actualmente, de allí que la ingeniería genética a través de la secuenciación del ADN o de los diferentes tipos de genoma (Análisis Metagenómico) apoyados en el análisis del gen 16SARNr han logrado clasificar a dos grandes grupos bacterianos según la cantidad de genes en LGC, bajo contenido y alto contenido HGC⁽⁴⁾.

Existe una gran heterogeneidad longitudinal y latitudinal en la composición de la microbiota. El epitelio intestinal está separado de la luz del intestino por una capa de moco espeso físic-químicamente complejo, de tal manera que la microbiota presente en el lumen intestinal se diferencia significativamente de la microbiota incrustada en la capa del moco, así como la microbiota presente en la proximidad inmediata del epitelio. Por lo tanto, muchas de las especies bacterianas presentes en el lumen intestinal no acceden a la capa del moco y criptas epiteliales. El colon proximal y distal difiere desde el punto de vista funcional con respecto a la flora intestinal; se comportan como órganos diferentes, un biorreactor y

un dispositivo de segregación. La flora colónica altamente organizada, su específica actividad fisiológica en cada uno de los segmentos del colon y su respuesta especializada a estímulos inflamatorios, indican que la flora intestinal es una parte de la inmunidad innata del huésped que esta bajo un control muy complejo⁽⁵⁾.

Desde el punto de vista inmunológico, es preciso recordar que la inmunidad innata es la respuesta antigua del huésped a los diferentes agentes infecciosos estrechamente relacionada con la evolución. Esto lo diferencia de los vertebrados, en los anticuerpos y los subconjuntos de células T, que dependen de mutaciones somáticas; los participantes moleculares de la inmunidad innata son codificados en el genoma. Pese a su herencia, muchas de las moléculas centinelas de la inmunidad innata, como las del control de transcripción intracelular y moléculas efectoras, participan en la patogénesis de numerosas enfermedades humanas⁽⁶⁾.

Las células centinelas (células dendríticas, macrófagos) tienen receptores, nombrados como Receptores de Reconocimiento de Patógenos, que identifican o reconocen un repertorio invariable de los constituyentes moleculares de los agentes infecciosos: estas partículas se nombran Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) y ninguna se encuentra en el huésped. Las estructuras PAMP son esenciales para la fisiología y supervivencia de los microbios invasores. De esta manera, la orientación de patrones moleculares esenciales, más comúnmente azúcares, lípidos o lipopolisacáridos, maximiza la eficacia defensiva de la respuesta del huésped, debido a que la Inmunidad Innata se ha desarrollado durante millones de años de evolución y la acerca a la perfección⁽⁷⁾.

La metagenómica es un método, una técnica, que nos permite aproximarnos a la respuesta de una determinada población de microorganismos en presencia de elementos de su hábitat y las respuestas, modificaciones del conjunto de genomas de esa población bacteriana a la estimulación provocadas por los diferentes estímulos en su medio ambiente natural y sin necesidad de ser aisladas *in vitro*.

Se ha determinado que el microbioma puede anidar un código de señales que ajusta el funcionamiento y maduración del aparato digestivo, sistema inmune y otros órganos del cuerpo. Se han descubierto diversas moléculas elaboradas en el microbioma digestivo con acción inmunomoduladora, como ácidos nucleicos, oligonucleótidos, bacterianos, proteínas, péptidos y polisacáridos.

Los receptores innatos o preformados que detectan los componentes estructurales comunes a bacterias, virus, hongos y parásitos; lipoproteínas, peptidoglicanos, ácido lipoteicoico de la pared celular bacteriana, zymosan de la pared celular de los hongos, ARN viral, LPS bacterianos, flagelina, están ubicados en la luz intestinal, ellos transmiten las señales a las células inmunocompetentes del tejido subyacente. Esta acción se ejecuta en el medio extracelular mediante los Toll-Likereceptors (TLR) de la membrana celular expresadas en los monocitos, macrófagos tisulares y en el medio intracelular, mediante proteínas tipo NOD un receptor del citosol, que, activados por productos de patógenos microbianos, activan las células para generar nuevos genes y de esta manera llega la información desde la superficie celular hasta el núcleo⁽⁸⁾.

La activación de estos sensores por invasión bacteriana activan genes en las células epiteliales intestinales que son genes Diana del factor de transcripción NF-KappaBeta los cuales convergen en la migración de estos factores al núcleo celular y allí activan la expresión de genes responsables de la síntesis de proteínas proinflamatorias: citoquinas, enzimas inducibles con capacidad de generar mediadores inflamatorios, como quimoquinas e interferones. Estos TLR se encuentran en las células del sistema inmune innato como son los monocitos, y macrófagos tisulares, pero también se encuentran en el sistema inmune adaptativo expresados en linfocitos B, linfocitos T, células dendríticas, en células epiteliales y endoteliales, en los adipocitos y en las células parenquimatosas de algunos órganos⁽⁹⁾.

Para lograr una homeostasis óptima, el sistema inmune debe diferenciar entre: **1)** patógenos, **2)** patógenos potenciales y **3)** de los microbios comen-

sales en simbiosis con el anfitrión. Para lograr 1 y 2 el organismo debe adquirir de un sistema de defensa adecuado y, en el caso 3, el anfitrión u hospedero de ser tolerante para beneficiarse de la simbiosis.

El reconocimiento de componentes microbianos a través de PRRs tales como los TLRs es el paso inicial por el cual el SI (sistema inmunológico) informa a las células inmuno -competentes para que respondan en forma adecuada a cada estímulo ambiental.

Cuando una de las PMAPs interacciona con su TLRs se produce una disociación de un complejo formado entre FN-kB y su proteína reguladora que lo inhibe IKB (inhibidor de KB), se transloca el NF-kB desde el citoplasma al interior del núcleo e induce la regulación de genes involucrados en la expresión de mediadores inflamatorios. TNF-a, IL-1B, IL-6 e IL-12 e involucra quimiotaxis, fagocitosis, especies reactivas del O2 y polarización de de la respuesta Th1/Th2 a predominio de la primera por la influencia de IL-12.

Existe la propuesta de que la discriminación entre patógenos y comensales es altamente dependiente del rasgo bacteriano reconocido por los PRRs (receptores de patrones reconocimiento asociados a patógenos). A diferencia de los patógenos, las bacterias comensales conviven con su hospedero porque sólo promueven una activación transitoria de los FN-KB.Y, pues son capaces de suprimir su activación mediante la exportación del FN-KB desde el núcleo al citosol, regulación de TLR e inducción de citoquinas antiinflamatorias tipo IL-10⁽¹⁰⁾.

Miembros del receptor (TLR) de la familia Toll-like son reguladores clave de ambos, la respuesta inmune innata y adaptativa. La función de TLRs en diversas enfermedades humanas ha sido investigada por comparación de la incidencia de la enfermedad entre las personas que tienen diferentes polimorfismos en genes que participan en la señalización de TLR. Estos estudios han demostrado que la función TLR afecta a varias enfermedades, incluyendo sepsis, inmunodeficiencias, la aterosclerosis y el asma. Como este cuerpo de datos crece, proporcionará nuevos

conocimientos sobre la patogénesis de la enfermedad, así como información valiosa sobre los méritos de las distintas opciones terapéuticas⁽¹¹⁾.

Las células T reguladoras son vitales para mantener el sistema inmune en control ayudando a evitar la patología asociada a procesos inmunológicos o inmuno mediadas y la expansión sin restricciones de las células T efectoras. Las células T reguladoras se manifiestan por sus funciones en una serie de enfermedades como autoinmunidad, alergia, infección microbiana y cáncer.

Los estudios realizados hasta ahora, ofrecen un panorama actualizado de la evolución, fenotipo y funciones de las células T reguladoras, en particular los subconjuntos que expresan el factor de transcripción *forkhead* como P3 (FOXP3)⁽¹²⁾.

Las células T reguladoras (Treg) constituyen un contrapeso esencial para la respuesta inmune adaptativa. El no mantener un número adecuado de células Treg puede conducir a condiciones autoinmune, malignas e inmunodeficiencias. En los procesos homeostáticos dinámicos conservan el número de *forkhead* P3-expresión (FOXP3+) dentro de un rango saludable, con altas tasas de división celular que se compensan con apoptosis en condiciones de estado estacionario. Estudios recientes han demostrado que las células Treg se especializan en diferentes contextos ambientales, adaptando sus funciones y propiedades homeostáticas a una amplia gama de tejidos y condiciones inmunes.

El medio local o ambiente molecular diferente, hace que los controles moleculares que mantienen homeostasis estable de las células Treg y las señales que conducen a la adaptación de ellas a la inflamación y medios diferentes, podrían conducir o precipitar enfermedades, cuando hay una restitución o desregularización defectuosa⁽¹³⁾.

Hoy, se ha dilucidado que las bacterias comensales en el tracto digestivo, proveen funciones que impactan de una manera muy significativa en la fisiología y en la patogénesis de las enfermedades en el hospedero. Un ejemplo es, como se ha descrito, que algunos miembros simbióticos del

microbioma alojado en el tracto digestivo humano suministran nutrientes a su huésped, inducen o desencadenan respuestas protectoras en el epitelio intestinal e influyen en el normal desarrollo del sistema inmune de la mucosa intestinal.

Otros miembros denominados patobióticos, tienen la capacidad de inducir en hospederos susceptibles y condiciones ambientales específicas algunas patologías. Uno de los ejemplos que más evidencia sobre este tema, es el rol que desempeñan las bacterias comensales en la patogenia de la enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa), diabetes, síndrome metabólico, dislipidemia, obesidad, enfermedades autoinmune, etc⁽¹⁴⁾.

En lo referente a la diabetes, tanto los factores genéticos como los ambientales son fundamentales para la inducción de diabetes tipo 1. Posibles factores diabetogénicos ambientales son productos dietéticos e infecciones virales, bacterianas, que pueden conducir a una cascada inmune las cuales pueden evolucionar hacia un proceso autoinmune, típico en este tipo de diabetes I⁽¹⁵⁾.

Estudios de cepas de ratones endogámicos, también han demostrado que la microbiota intestinal puede tener un papel activo en el desarrollo de un metabolismo complejo, cuyas anomalías, tales como la susceptibilidad, resistencia a la insulina, el hígado graso no alcohólico, crean vínculo entre los fosfolípidos y el riesgo de la aterosclerosis a través de la generación de metabolitos pro-ateroscleróticos, patologías estas, en que la disbiosis intestinal juega un papel fundamental. Existen numerosos trabajos sobre el mecanismo metabólico en el desencadenamiento de muchas enfermedades⁽¹⁶⁾.

Referencias

1. Fasano A, Clinical Reviews in Allergy & Immunology Leaky Gut and Autoimmune Diseases. [Online] 23 November 2011.
2. Sekirov I, Russell SL, Antunes CM, Finlay B. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Review* 90: 850-904, 2010.
3. Abeyesuriya V, Deen KI, Wijesuriya T, Salgado SS. Microbiology of gallbladder bile in uncomplicated symptomatic cholelithiasis. *Hepatobiliary Pancreatic Dis Int.* 2008; 7(6)
4. Ley Re L, Peterson DA, Gordon JI: Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in human intestine. *Cell* 2006, 124:837-848.
5. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatialo

- Organization of bacterial flora in normal and inflamed Intestine. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(8):1131-1140
6. Janeway C, Travers P, Walpor M, et al. *The immune system in Health and Disease.* Immunobiology 5 ed. New York, NY: Garland Press: 25-137
 7. Schuster JM and Nelson P. Toll receptors: an expanding role in our understanding of human disease. *Journal of Leukocyte Biology.* Vol 67, June 2000.
 8. Aderem A & Ulevitch RToll-Like receptors in the induction of innate immune response. *Nature* 406,782-787
 9. Bose S, Kar N, Maitra R, DiDonato JA & Banerjee AK. Temporal activation of NF- κ B regulates an interferon-independent innate antiviral response against cytoplasmic RNA virus. *PNAS*, Sep 16, 2003, vol 100, N $^{\circ}$ 19:10890-10895
 10. Collado V.M. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2008; 2(1): 1-16.
 11. Donald N Cook DN, Pisetsky DS & Schwartz DA, *Nature Immunology* 5, 975 - 979 (2004) [Online]: 28 September 2004 | doi: 10.1038/ni1116
 12. Liston A & Gray DHD. Homeostatic control of regulatory T cell diversity. *Nature Review Immunology* 2014;14:154-165.
 13. Chervosky: Autoimmunity and microbiota. *Journal of Translational Medicine.* 2011;9 (sup 2):113
 14. Sapone A, I, Magistris L, Pietzak M., Zonulin M Up regulation is Associated With Increased Gut Permeability in Subjects With Type 1 Diabetes and Their Relatives. *Diabetes*, Vol. 55, May 2006
 15. Scott FW. Environmental control of gut immunity, β -cell health and type 1 autoimmune diabetes (T1D) [Online] <http://www.ohri.ca/profile/FWSCOTT/publications>
 16. Wang Z, Klipfell E , Bennett BJ, Koeth R ., Levison BS, DuGar B, Feldstein AE, Britt B , Fu X, Chung YM, Wu Y , Schauer P ., Smith JD, Allayee H , Tang WH, DiDonato JA, J. Lusis AJ& Stanley. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular diseases. *Nature* | 2011;472
 17. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, P. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 13780–13785.