



**FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

GRADO EN MEDICINA

**Influencia de la microbiota en la génesis de la enfermedad
inflamatoria intestinal**

**Influence of the microbiota in the genesis of inflammatory
bowel disease**

Autor: D^a Laura Cayón De La Hoz

**Director/es: D. Jesús Merino Pérez y D^a Esther Tamayo
Reuelta**

Junio, 2018

ÍNDICE

Resumen

Capítulos

1. PAPEL DE LA MICROBIOTA EN LA HOMEOSTASIS INMUNOLÓGICA	3
1.1. Microbiota y Sistema Inmunitario	3
1.2. Alteraciones en la microbiota (disbiosis) en la EII	4
2. RESPUESTA INMUNITARIA EN LAS MUCOSAS	7
2.1. Epitelio intestinal y sus factores solubles	8
2.1.1. Defensinas	9
2.1.2. Catelicidinas	9
2.1.3. Proteína bactericida que aumenta la permeabilidad	9
2.1.4. RegIIIγ	9
2.1.5. Células caliciformes	11
2.2. Tejido linfoide asociado a mucosas	11
2.2.1. Anatomía y composición celular del GALT	11
2.2.2. Respuesta inmune en la mucosa intestinal	15
2.3. Células y receptores de la RII en las mucosas	15
2.3.1. Fagocitos	15
2.3.2. Células dendríticas	16
2.3.3. Células Natural Killer (NK)	19
2.3.4. Células linfoides innatas (ILC)	19
2.3.5. Toll Like Receptors (TLRs)	22
2.3.6. Nod like Receptors (NLRs)	24
2.4. El sistema inmune adaptativo en las mucosas	25
2.4.1. Células T efectoras	25
2.4.1.1. Linfocitos Th1 y Th2	25
2.4.1.2. Linfocitos Th17	26
2.4.2. Linfocitos B productores de IgA	26
2.4.3. Células T reguladoras	28
3. ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL (EII)	30
3.1. Epidemiología	30
3.2. Etiología	31
3.2.1. Susceptibilidad genética	31
3.2.2. Factores ambientales	32
3.2.3. Respuesta inmunitaria alterada	32
3.3. Colitis ulcerosa (CU)	33
3.4. Enfermedad de Crohn (EC)	36
3.5. Perspectivas terapéuticas en EII: Trasplante fecal de microbiota (TFM)	39
Conclusiones	41
Bibliografía	42

Resumen

Existe un estado de armonía perfecto entre el individuo sano y la comunidad microbiana que lo coloniza. Ésta la componen millones de microorganismos agrupados en comunidades que sobreviven gracias al microambiente que les proporcionamos. Su caracterización a través de la secuenciación de su genoma (“microbioma”), ha revelado el importante papel patogénico de algunos de estos microorganismos en el desarrollo de enfermedades inflamatorias intestinales (EII), como son la Colitis Ulcerosa (CU) y la Enfermedad de Crohn (EC). Ello ha abierto una prometedora línea de investigación biomédica para desarrollar terapias dirigidas a manipular la microbiota para reestablecer la homeostasis intestinal.

Las técnicas de secuenciación genómica están mostrando ser ponderosas herramientas para conocer la precisa composición de la microbiota, haciendo posible el desarrollo de terapias dirigidas a reestablecer la homeostasis intestinal.

El objetivo general de este trabajo es describir cómo las alteraciones en la composición de la microbiota, denominadas “disbiosis”, repercuten en la homeostasis del sistema inmunológico, creando un ambiente susceptible a la inflamación. Para ello se ha recogido información de varias publicaciones, revisiones bibliográficas y artículos de investigación, publicados en los últimos 10 años.

En el primer capítulo se exponen las principales características de la microbiota humana, especialmente en la mucosa intestinal, y las alteraciones observadas en ella en pacientes con EII. Seguidamente se describe la organización celular y funcional de la respuesta inmunitaria en el tubo digestivo (epitelio intestinal y defensinas producidas; peculiaridades de las células de la respuesta inmune innata y de sus receptores para el reconocimiento de los patógenos; la respuesta inmune adaptativa). Finalmente se exponen las consecuencias de un mal funcionamiento de los elementos anteriormente expuestos, en el desencadenamiento de la EII.

Palabras Clave: Microbiota, Inmunidad, Enfermedad inflamatoria intestinal, Colitis Ulcerosa, Enfermedad de Crohn.

Abstract

There is a perfect harmonious condition between the healthy individual and the microbial community that colonizes it. Millions of microorganisms reside within the organism gathered in communities, which survive thanks to the microenvironment that they are provided. The discovery of the microbiome, whose study has revealed the importance of micro pathogens on inflammatory diseases development, such as ulcerative colitis and Crohn's disease, has opened a promising line of biomedical research.

Genomic sequencing techniques are revealing as going to be extremely helpful tools in order to know precisely the microbiota's composition, making it possible to develop targeted therapies, which could so to re-establish intestinal homeostasis.

This review is focused on how the alterations on microbiota's composition, known as *dysbiosis*, have an effect on the homeostasis of the immune system, leading to an environment susceptible to inflammation. To this aim, published information for the past ten years (including bibliographic reviews, reports and research articles) has been considered.

This work is organized into three sections. Along the first section, the most relevant characteristics of human microbiota are explained, with special emphasis on the intestinal mucosae and the alterations found in patients affected by IIB. In the second section, the organization of the immune response in the digestive tract is described (the intestinal epithelium characteristics and its produced defensines, immune cells responsible for the innate immune response and their receptors for the recognition of pathogens; the adaptive immune response). Finally, the consequences of a miss-functioning of elements previously mentioned, which results in the onset of inflammatory bowel disease, are presented.

Key words: Microbiota, Immunity, Inflammatory bowel disease, Ulcerative colitis, Crohn's disease.

1. PAPEL DE LA MICROBIOTA EN LA HOMEOSTASIS INMUNOLÓGICA.

1.1. Microbiota y Sistema Inmunitario.

Bajo el término microbiota incluimos el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, parásitos y virus) que se localizan de manera normal en distintas partes de un ser vivo pluricelular, generalmente sano, siendo el tubo gastrointestinal (TGI) su localización principal. Actualmente la microbiota se consideran un órgano más de nuestro organismo, estando implicada en multitud de tareas, como el metabolismo de nutrientes (p.ej. al fermentar y digerir carbohidratos) o la síntesis de vitaminas para llevar a cabo diversos procesos bioquímicos en el huésped. También participan en la regulación del sistema inmunitario, estimulando el desarrollo de los órganos linfoides, fundamentalmente aquellos asociados a las mucosas. Además, modulan la actividad funcional del sistema, generando tolerancia hacia antígenos inoocuos y favoreciendo la eliminación de patógenos mediante activación de los elementos efectoros de la inmunidad (Caballero S & Pamer EG, 2015).

Las bacterias intestinales protegen al organismo frente a diversas especies de patógenos, compitiendo con ellos por el hábitat o, incluso, produciendo compuestos antimicrobianos que inhiben su crecimiento (Hansen R & Thomson JM, 2010). Por todo ello, actualmente las microbiotas se consideran un componente más de la propia inmunidad innata en las barreras cutáneo-mucosas.

La microbiota tienen un papel crítico en el desarrollo del sistema inmunitario y, a su vez, el sistema inmune también influye sobre qué microorganismos van a formar parte de la microbiota. Así, las distintas especies bacterianas inducen la diferenciación de los distintos tipos celulares del sistema inmunitario hacia elementos pro-inflamatorios o anti-inflamatorios, por lo que este microbioma va a ser el responsable de que un individuo sea más susceptible o resistente a las enfermedades inflamatorias. o incluso frente a determinados tipos de cáncer. Esta relación bidireccional entre sistema inmune y microbiota es equilibrada en individuos sanos, pero se altera en individuos con ciertas patologías, como es el caso de las enfermedades inflamatorias intestinales o los síndromes metabólicos (Caballero S & Pamer EG, 2015; Kamada N & Núñez G, 2014).

La diversidad filogenética de la microbiota intestinal aumenta con el crecimiento y desarrollo, alcanzándose la estabilidad de la comunidad de microorganismos en torno a los tres años de vida. No obstante, la composición de la microbiota puede alterarse bajo diferentes situaciones como la dieta, el estrés, hábitos no saludables, así como la toma de probióticos y de antibióticos (Zhang M & Sun K, 2017).

El análisis genético molecular de la composición microbiana de muestras fecales y de mucosas, ha permitido la definición de 1.800 géneros y de entre 15.000 y 36.000 especies individuales. Firmicutes y Bacteroidetes son los Filum predominantes, representando un 90% de la microbiota. El número total de bacterias varía en los distintos segmentos del tubo gastrointestinal (TGI): hay menos bacterias en la parte alta y más en la parte baja (Swidsinski A & Weber J, 2005).

La carga microbiana total en el intestino se cifra en 10^{13} - 10^{14} microorganismos, con concentraciones crecientes desde la parte proximal del TGI, alcanzando una concentración, por gramo de materia fecal, de 10^7 - 10^8 en el íleon distal y de 10^{11} - 10^{12} en el colon. En condiciones normales, el intestino delgado no está muy poblado, siendo bajas tanto la concentración como la diversidad de las especies bacterianas (Chermesh I & Shamir R, 2009).

Las bacterias componentes de la microbiota del colon son fundamentales para mantener la integridad y buen funcionamiento de éste y para la digestión de nutrientes que no son absorbidos en el intestino delgado (Swidsinski A & Weber J, 2005).

El crecimiento bacteriano se ve favorecido por la peristalsis, que también ayuda a mantener la viscosidad y la temperatura. La forma de las bacterias (largas, espiroideas o cortas) es importante porque va a determinar su movimiento y esto va a condicionar también la viscosidad del medio en el que se encuentren (Swidsinski A & Weber J, 2005).

1.2. Alteraciones en la microbiota (disbiosis) en la EII.

La incidencia de la enfermedad inflamatoria intestinal ha aumentado en los últimos dos siglos. Cronológicamente, esto encaja tras la revolución industrial, época que trajo cambios en el estilo de vida y en los factores ambientales; por tanto, se puede relacionar el aumento de la incidencia con estos cambios. Ante esta situación de perturbaciones ambientales, nuestro organismo responde generando cambios adaptativos en la microbiota que pueden acabar siendo perjudiciales en aquellas situaciones en las que el microbioma no vuelva a su situación basal, de ausencia de factores estresantes (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

La disbiosis se define como una alteración en la composición y función de la microbiota secundaria a un conjunto de factores ambientales y relacionados con el huésped que alteran el ecosistema microbiano. La inflamación, la genética o la dieta pueden ser suficientes para provocar disbiosis de novo; y la microbiota alterada es suficiente para producir enfermedad (Maayan L & Aleksandra AK, 2017). Las disbiosis pueden producirse por diferentes mecanismos:

a) Expansión de Patobiontes: Los patobiontes son microorganismos pertenecientes a la flora comensal con capacidad para causar enfermedad. En condiciones normales, se encuentran en pequeñas cantidades, pero cuando se producen alteraciones en el ecosistema intestinal proliferan. Un ejemplo de esto es lo que ocurre con la familia de las *Enterobacteriaceae*, que no es infrecuente encontrarlo en situaciones de infección o inflamación entérica. La expansión de *Enterobacteriaceas* representa más una consecuencia de la inflamación que conduce a un remodelado del ecosistema intestinal (Stecher B, Maier L, 2013; Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

b) Pérdida de Comensales: Una disbiosis es frecuente que curse con reducción o pérdida completa de la flora normal. Puede ser consecuencia de la muerte de microorganismos o por un déficit de proliferación (Korem T, 2015).

c) Pérdida de Diversidad: Las personas afectadas por enfermedades asociadas a una disbiosis, como las EII, se acompañan de una reducción de la diversidad alfa. La diversidad alfa hace referencia a la riqueza de microorganismos por área, siendo éste un área pequeño y uniforme (Maayan L & Aleksandra AK, 2017; Norman JM, 2015).

El microbioma engloba el genoma eucariota del huésped y la colonización por microorganismos externos de distintas estructuras de nuestro cuerpo: piel, mucosas, tracto gastrointestinal, genitourinario (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

Estudios de metagenómica han demostrado que la diversidad microbiana y la estabilidad de ésta se encuentran disminuidas en pacientes con EII (Hansen R & Thomson JM, 2010).

Se ha comprobado que estos pacientes tienen un menor número de bacterias con efecto antiinflamatorio y/o más con propiedades pro-inflamatorias (Peterson DA & Frank DN, 2008; Mondot S & Kang S, 2011).

En la enfermedad inflamatoria intestinal, *Bacteroides fragillis* supone más de 50% de la flora, mientras que *Enterobacterium rectale* y *Faecalibacteriumprausnitzii* representan menos del 30% en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Swidsinski A & Weber J, 2005).

F. Prausnitzii se encarga de sintetizar ácidos grasos de cadena corta, más específicamente butirato, que posee propiedades anti-inflamatorias (Tedelind S & Westberg F, 2007) e impide la atrofia de la mucosa gastrointestinal (Machiels K & Joossens M, 2014; Maayan L & Aleksandra AK, 2017). Además, secreta metabolitos que impiden la activación de NFκB y la producción de IL-8. En consecuencia, los pacientes con EII, al tener descendida esta población, tienen un ambiente más pro-inflamatorio en su mucosa intestinal.

Sin embargo, la concentración de bacterias reductoras de sulfato está aumentada, lo que da lugar a un aumento de la producción de bisulfito sódico que resulta tóxico para las células del epitelio intestinal e induce la inflamación de la mucosa y el desarrollo de CU (Pitcher MC & Beatty ER, 2000).

En cuanto a los pacientes con colitis ulcerosa, esta menor diversidad de las bacterias intestinales se traduce en un aumento de Proteobacterias y Actinobacterias, junto con una reducción de Bacteroidetes (Lepage P & Häslér R, 2011).

Y además se ha visto que los hermanos de estos pacientes tenían igualmente una microbiota con menor diversidad, a pesar de no tener enfermedad, sugiriendo el posible componente hereditario, además de los factores ambientales antes comentados, potenciales desencadenantes de disbiosis (Lepage P & Häslér R, 2011).

De modo similar, en pacientes con enfermedad de Crohn se han visto alteraciones en la microbiota, tales como un descenso en el número de bacterias comensales aerobias, en relación con los episodios de inflamación intestinal, no relacionado con la presencia de la mutación NORD2/CARD15 que se relaciona con un error en el reconocimiento de la

Salmonella typhimurium y por tanto una incorrecta eliminación de este patógeno. Ello era debido fundamentalmente a un menor número de Firmicutes, especialmente de *Clostridium leptum* (Manichanh C & Rigottier-Gois L, 2006).

Dentro de los pacientes con EC hay diferencias en la microbiota entre aquellos que tienen afectación ileal y los que tienen afectación del colon. En los primeros se detectó una reducción en los grupos de bacterias: *Faecalibacterium* y *Roseburia*, junto a un aumento de *Enterobacteriaceae* y de *Romnococcus gnavus* (Willing BP & Dicksved J, 2010; Manichanh C & Rigottier-Gois L, 2006).

Dentro de las entrobacterias, *Escherichia coli* en particular se encuentra aumentado en EC de manera constante, más en las muestras fecales que en muestras obtenidas de las porciones superiores del aparato gastrointestinal. En concreto, se ha detectado un grupo patogénico de *E. coli*, denominado enteroinvasivo (AIEC), que se aparece específicamente en la mucosa ileal de pacientes con este cuadro inflamatorio. Se trata de un patógeno intracelular que es resistente a la bacteriólisis por macrófagos (Chassaing B & Rolhion N, 2011). *Campylobacter concisus* es una proteobacteria enteroinvasiva que también coloniza preferentemente a pacientes con EC (Man SM & Zhang L, 2010).

En condiciones patológicas, con alteración de la microbiota como ocurre en las enfermedades inflamatorias intestinales, las infecciones o en situación de sobrecrecimiento bacteriano, es común que haya una lesión en la barrera mucosa, perdiéndose la separación entre los gérmenes presentes en la luz intestinal y la mucosa, mantenida fundamentalmente por el moco producido por las células caliciformes. Ello hace que se los microorganismos se adhieran al epitelio y sean translocados a la lámina propia (Swidsinski & Loening-Baucke, 2005).

El aumento de bacterias patógenas que se adhieren al epitelio intestinal causa daños que provocan un aumento de la permeabilidad intestinal, lo cual comporta entonces una alteración en la diversidad y la composición de la microbiota. Ello induce una respuesta inflamatoria por inducción de genes codificantes de factores proinflamatorios, desembocando en la aparición de colitis (Ahmed I & Roy BC, 2016).

En ratones, la presencia del *Helicobacter hepaticus* se ha asociado al desarrollo de colitis, patología que puede mejorar con la administración de Polisacárido A producido por *Bacteroides fragillis* (Mazmanian SK & Round JL, 2008).

Sin embargo, la relación causal entre inflamación dirigida por disbiosis en la microbiota intestinal y el desarrollo de colitis está en discusión, ya que la propia inflamación intestinal da lugar también a un cambio en la microbiota. Así pues, estos cambios en la composición de la microbiota pueden ser la causa original de la enfermedad intestinal o simplemente ser secundarios al proceso inflamatorio (Kamada N & Núñez G, 2014).

Como conclusión, parece claro que las alteraciones en la composición de la microbiota juegan un papel clave en el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal. Esto indica que el trasplante fecal de microbiota de donante sano, podría ser una alternativa terapéutica, tal y como se discute en el último capítulo del presente trabajo.

2. LA RESPUESTA INMUNITARIA EN LAS MUCOSAS.

El sistema inmune está formado por una red de células que interactúan con microorganismos, con el medio que las rodea y con otras células del mismo sistema o de otros sistemas del cuerpo, a fin de proteger contra las infecciones.

En la interacción con los microorganismos hay un primer elemento que cumple una función de barrera físico-química: los epitelios y el moco que producen. Éste contiene múltiples factores solubles con efecto antimicrobiano, conocidos en su conjunto como “defensinas”, además de anticuerpos de tipo IgA producidos por las células B de la submucosa. Complementando a esta función barrera están los elementos del sistema inmunitario propiamente dicho, que se organizan funcionalmente siguiendo dos estrategias, denominadas respuesta inmune innata (RII) y adaptativa (RIA), para reconocer a los potenciales agentes patogénicos. La RII se activa cuando sus receptores (receptores de reconocimiento de patrón molecular, PRR) reconocen moléculas conservadas y ampliamente distribuidas en los microorganismos (Patrones Moleculares asociados a Microorganismos, PAMP). Ello se manifiesta como inflamación (Rajamuthiah R & Mylonakis E, 2014).

La RIA se caracteriza por reconocer a los patógenos a través de receptores (TCR y BCR) que se generan por recombinación genética y que se unen con alta afinidad y especificidad a antígenos microbianos (Netea MG & Latz E, 2015).

Para que un microorganismo pueda causar una infección tiene que atravesar las barreras físicas (piel y mucosas), químicas (péptidos antimicrobianos, ácidos grasos, enzimas, cambios de pH) y microbiológicas (microbiota comensal), que separan nuestro cuerpo del medio exterior. Las células de la RII (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, monocitos, macrófagos, células dendríticas y células NK) reconocen PAMP, factores de virulencia de los microorganismos patógenos y moléculas derivadas de los efectos de estos factores de virulencia sobre las células y tejidos del organismo (Patrones Moleculares Asociados a Peligro, DAMP). Los macrófagos y las células dendríticas (DC) además actúan como puente entre la respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa, ya que son células fagocíticas que presentan antígenos microbianos a los linfocitos T y B de la RIA (Ruiz Sánchez BP & Cruz Zareta D, 2017).

Los linfocitos T helper (Th) producen citocinas que activan a las células de la respuesta inmune innata. Los linfocitos T citotóxicos (Tc) causan la lisis de las células infectadas, mientras que los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas, especializadas en la secreción de anticuerpos específicos (Ruiz Sánchez BP & Cruz Zareta D, 2017).

2.1. El epitelio intestinal y sus factores solubles.

Los epitelios mucosos producen un armamento diverso de factores proteicos antimicrobianos (AMPs o péptidos antimicrobianos) que juegan papeles clave en la defensa del hospedador contra patógenos bacterianos y microflora comensal (Figura 1). Estos factores incluyen las alfa y beta defensinas, catelicidinas y proteínas neutralizadoras de LPS más grandes tales como la BPI (proteína bactericida que incrementa la permeabilidad).

Adicionalmente, muchas enzimas digestivas, incluyendo lisozimas, proteasas y fosfolipasas con especificidad para fosfolípidos microbianos, poseen actividad contra especies comensales y patogénicas.

2.1.1. Las Defensinas.

Las defensinas son moléculas con perfil efector de la inmunidad innata, producidas tanto por las células epiteliales como por los leucocitos. Actúan frente a multitud de microorganismos, por lo que son consideradas un elemento clave en la defensa de las mucosas y por ello son péptidos altamente conservados en la escala evolutiva. En los humanos podemos diferenciar dos tipos de defensinas de acuerdo con su patrón molecular: α -defensinas y β -defensinas.

- **α -defensinas:** Hay seis tipos de α -defensinas que pueden ser producidas por distintas células del sistema inmunitario. Cabe destacar que las α -defensinas 5 y 6 son producidas por las células de Paneth situadas en las criptas intestinales y por neutrófilos. También las criptidinas son sintetizadas en el intestino, en yeyuno e íleon. Las diferencias en la secuencia de cada péptido les confieren actividad específica frente a poblaciones microbianas específicas (Resino S, 2010; Castañeda-Casimiro J & Ortega-Roque JA, 2009).
- **β -defensinas:** Se han identificado 28 isotipos de β -defensinas en humanos, de las cuales 6 son expresadas fundamentalmente en las células epiteliales. La β -defensina 1 lo hace de forma constitutiva, mientras que otras como la 2 y la 3 lo hacen en respuesta a un estímulo externo como pueden ser bacterias, componentes bacterianos, virus o la presencia de citocinas con perfil pro-inflamatorio. (Resino S, 2010; Castañeda-Casimiro J & Ortega-Roque JA, 2009).

Tanto α -defensinas como β -defensinas se han encontrado en la leche materna, otorgando un beneficio más a la lactancia materna ya que protege al recién nacido frente a infecciones (Resino S, 2010).

Estas moléculas ejercen su acción interaccionando con los microorganismos, generando poros en las membranas exteriores de las bacterias lo que va a llevar a una desestabilización de las mismas provocando un aumento de permeabilidad y su posterior degradación. La interacción entre ambos se ve favorecida por la topología polar de las defensinas, cargadas positivamente, que les permite unirse a las membranas bacterianas ricas en fosfolípidos, con carga negativa. La función antimicrobiana es dosis dependiente y se ve favorecida cuando las concentraciones de sal y proteínas plasmáticas son bajas, como ocurre en la superficie de las mucosas.

Algunas defensinas tienen, además, actividad quimiotáctica, capaces de atraer leucocitos y células dendríticas inmaduras ante estímulos inflamatorios o infecciosos. También son capaces de estimular la producción de citocinas como TNF α , IL-1 y disminuir la producción de IL-10, lo que les confiere un papel inmunomodulador (Resino S, 2010).

2.1.2. Catelicidinas.

Las catelicidinas, como las defensinas anteriormente comentadas, son péptidos antimicrobianos de amplio espectro expresadas por neutrófilos y las células del epitelio intestinal. Además de su capacidad antimicrobiana también pueden reclutar células inmunitarias (Hosokawa I & Hosokawa Y, 2006).

A pH neutro, poseen carga positiva, lo cual facilita su unión a las superficies bacterianas cargadas negativamente. La gran mayoría de catelicidinas tienen efecto al actuar sobre la membrana de las bacterias, mientras que otras como son las batenecinas o las catelicidinas ricas en prolina, lo que hacen es generar defectos en el proceso de transcripción bacteriana (Agier J & Efenberger M, 2015).

2.1.3. Proteína Bactericida que aumenta la Permeabilidad (BPI).

La proteína bactericida que incrementa la permeabilidad (BPI) es expresada en neutrófilos y en las células que componen el epitelio gastrointestinal. Se diferencia de las anteriores en su tamaño y mecanismo de acción; La BPI, es más grande y actúa por medio de una proteína ligadora que se encarga de unir y neutralizar endotoxinas de la membrana externa de bacterias Gram negativas. Esta interacción produce una parada en el crecimiento de estas bacterias seguida de un efecto bactericida (Xu P & Bao B, 2005).

Además de proveer una defensa innata contra patógenos bacterianos comunes incluyendo *Salmonella*, *E. coli* patogénica y otras especies. La rápida neutralización de endotoxinas por esta proteína puede tener implicaciones inmunomoduladoras, limitando la respuesta inflamatoria local generada por la presencia de los lipopolisacáridos previamente desnaturalizados (LPS) desnaturalizados. Así, la BPI es un ejemplo de molécula bactericida innata capaz de modificar las respuestas posteriores de un sujeto a la infección. Esta actividad es propia del tracto gastrointestinal, proporcionando un mecanismo por el cual el huésped puede evitar la puesta en marcha de una respuesta inflamatoria contra organismos comensales (Xu P & Bao B, 2005).

2.1.4. RegIIIy.

RegIIIy es una lectina expresada predominantemente en el íleon distal, donde es producida por distintas células del linaje epitelial como los enterocitos o las células de Paneth. Esta lectina es esencial para mantener una zona de ~50 µm que separa físicamente la microbiota de la superficie epitelial del intestino. La pérdida de dicha separación huésped-bacteriana en ratones de RegIIIy^{-/-} se vio relacionada con un incremento de la colonización de la superficie del epitelio intestinal por bacterias Gram positivas, llevando a un aumento de la respuesta inmune. Además, se ha demostrado que esta lectina es fundamental para promover el mutualismo entre bacterias y huésped (Natividad JMM & Hayes CL, 2013).

2.1.5. Las células caliciformes.

Las células caliciformes o células de Goblet son células glandulares, que se encuentran dispersas entre las células epiteliales, responsables de secretar mucinas. Estas proteínas

forman una capa protectora que reviste este epitelio, impidiendo el paso de los microbios que habitan en la luz intestinal. El contacto directo de las bacterias con las células epiteliales puede producirse ante la ausencia de esta capa o por la capacidad de las bacterias de atravesarla (Caballero S & Pamer EG, 2015). Muc2 es la mucina predominante en la mucosa intestinal. Es una proteína glicosilada que forma enlaces disulfuro resistentes a la tripsina. Forma una capa densa en el colon que recubre al epitelio intestinal impidiendo la colonización. Se ha encontrado que ratones con déficit de esta glicoproteína, carecen de esta zona libre de bacterias y desarrollan inflamación intestinal espontánea.

Muc1 se encuentra en el estómago e intestino delgado y confiere resistencia frente a infecciones causadas por *Helicobacter pylori* y *Campylobacter jejuni*. Mientras que Muc2 proporciona resistencia frente a la enteritis causada por *Salmonella typhimurium* (Caballero S & Pamer EG, 2015).

En condiciones normales, el paso de bacterias a la capa interna de mucina está limitada por la densidad de la misma y por la asociación de la vía anti-microbiana mediante la lectina tipo C (Hansson GC & Johansson ME, 2010; Vaishnava S & Yamamoto M, 2011). Sin embargo, algunos patógenos y comensales pueden penetrarla mediante mecanismos de degradación proteolítica (Lidell ME & Moncada DM, 2006; Van der Post & Subramani, 2013).

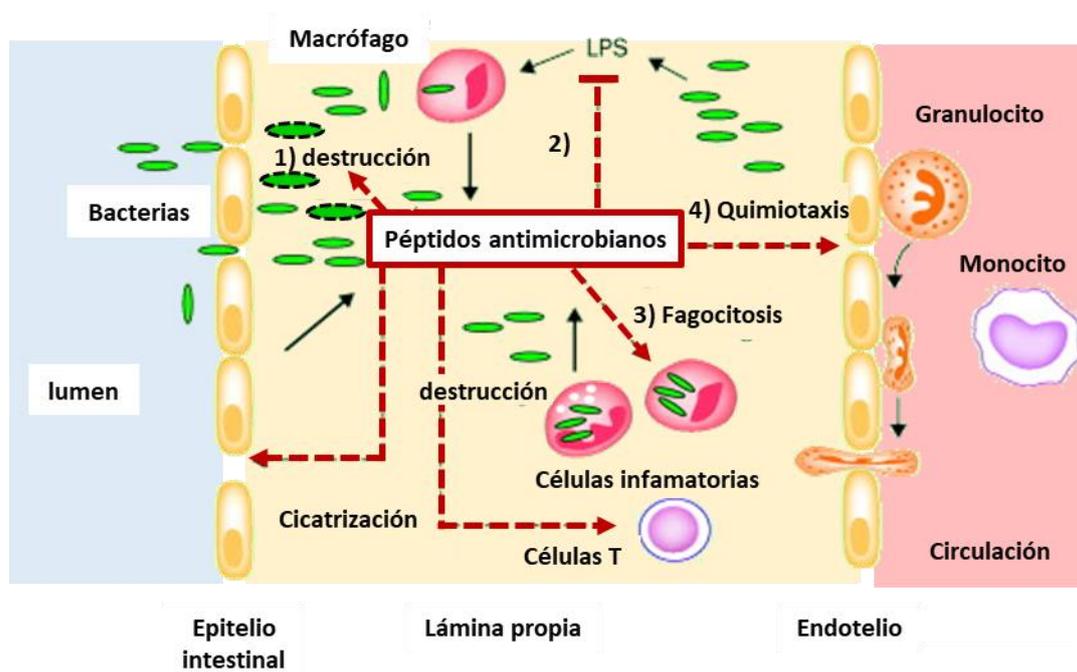


Figura 1. Mecanismos de acción de los AMPs secretados en el intestino.

Los AMPs producidos por las células epiteliales, las células de Paneth y algunas células de la inmunidad innata, ejercen su acción bactericida a través de múltiples mecanismos: 1) bien directamente al interactuar con la membrana bacteriana, abriendo poros en ella y permitiendo la entrada de AMPs que dañan el ADN o el ARN (inhibiendo así la síntesis proteica); o bien indirectamente al 2) bloquear la acción del LPS, 3) estimular la fagocitosis y destrucción de bacterias por los macrófagos, 4) estimular la entrada en la lámina propia de otras células de la respuesta inmune (granulocitos, monocitos, células T). Además, los AMPs contribuyen a la reparación del epitelio dañado.

Adaptada de Gemmel F et. al., 2009.

2.2. El Tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

Las mucosas de los tractos digestivo, respiratorio y urogenital suponen una enorme superficie (unos 400 m²) y constituyen el sitio preferente de entrada de numerosos patógenos al organismo. De hecho, las mucosas son los primeros sitios de entrada de antígenos cuando fallan las defensas innatas. Desde el punto de vista histológico, el MALT (*Mucosal-Associated Lymphoid Tissue*) consiste en tejidos que van desde acúmulos dispersos de linfocitos hasta estructuras organizadas, pero nunca rodeadas de cápsula. Los MALT intercambian células y anticuerpos con otros órganos linfoides. De hecho, las células plasmáticas alojadas allí son más numerosas que la suma de las células plasmáticas de bazo, ganglios y médula ósea.

El MALT localizado en el TGI se denomina GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*). Constituye la parte más extensa y compleja del sistema inmunitario y tiene un papel crucial en el mantenimiento de la tolerancia frente a antígenos inocuos, a la vez que es capaz de defendernos frente a patógenos invasivos. En efecto, el sistema inmunitario intestinal recibe diariamente una enorme carga antigénica y es capaz de distinguir entre patógenos invasivos y antígenos inocuos procedentes de los alimentos y de bacterias comensales. El intestino posee mecanismos de defensa tipo barrera que limitan el acceso de sustancias nocivas al organismo. Consisten en elementos como enzimas digestivas pancreáticas, el epitelio intestinal antes comentado y las bacterias que constituyen la flora intestinal. Sin embargo, la barrera más efectiva está constituida por el GALT. Para poder comprender cómo se desarrolla y se regula la respuesta inmunitaria en el intestino y cómo esta puede extenderse al resto de mucosas y del organismo, es importante conocer la composición y organización del GALT.

2.2.1. Anatomía y composición celular del GALT.

Anatómicamente el GALT se divide en dos compartimentos:

a) GALT *organizado*, compuesto por: folículos linfoides aislados, folículos linfoides asociados a enterocitos con células M intercaladas entre ellos, constituyendo las denominadas Placas de Peyer, los ganglios linfáticos mesentéricos y las amígdalas. Son sitios inductivos de respuesta inmune (Figura 2).

b) GALT *difuso* compuesto por poblaciones linfoides dispersas, en el entramado epitelial (*intraepithelial lymphocytes*, IEL) y en la lámina propia intestinal (*lamina propria lymphocytes*, LPL). Son efectores de la respuesta inmunitaria (Figura 2) (Mowat AM, 2003).

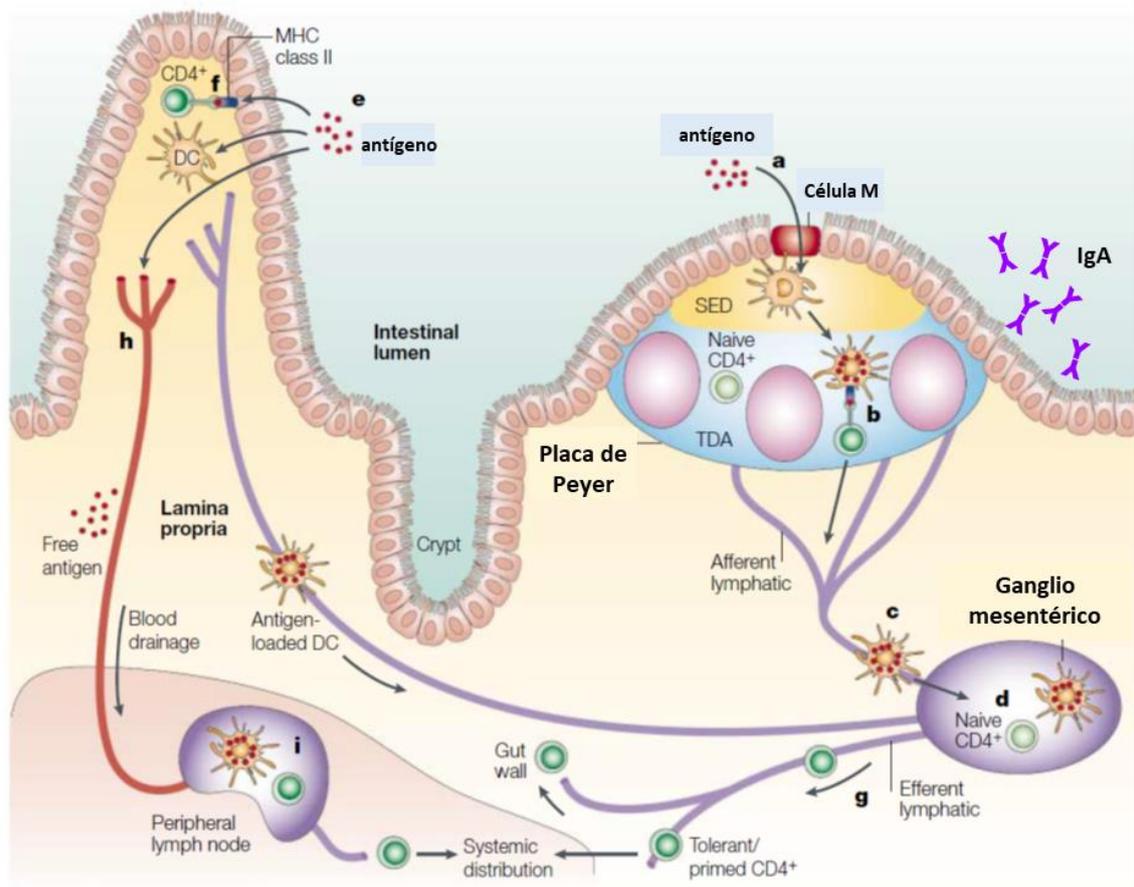


Figura 2. Representación de los elementos que integran el tejido linfático asociado a la mucosa intestinal y el tráfico de células y antígenos.

Tomada de Mowat AM, 2003.

Las placas de Peyer se componen de agregados linfoides macroscópicos situados en la cara antimesentérica de la mucosa intestinal. El tejido linfático se separa de la luz intestinal por una capa celular compuesta por FAE, células epiteliales columnares, células M, linfocitos intraepiteliales y células de Globet secretoras de mucina. Las células M están especializadas en la captación de antígenos y lo hacen de forma rápida (Figura 2.a). Estas células tienen propiedades específicas que les permiten llevar a cabo su importante papel en la inmunidad de las mucosas, como es la ausencia de glucocálix lo cual favorece la endocitosis de los elementos que contactan con ellas, la presencia de microvilli característicos, su disposición, en contacto con células dendríticas, macrófagos y linfocitos así como su baja capacidad endocítica, lo cual hace que no se produzcan cambios en el material que ha sido endocitado (Ramiro-Puig E & Pérez Cano FJ, 2008).

Por debajo del FAE se encuentra la cúpula subepitelial (*subepithelial dome, SED*), integrada por células dendríticas y macrófagos. Las áreas interfoliculares están compuestas por linfocitos T, tipo colaborador o *helper* (Th) predominantemente, células dendríticas maduras y macrófagos (Figura 2.b). Inmersos en la placa de Peyer se

encuentran multitud de folículos integrados por linfocitos B IgM⁺, que darán lugar a células plasmáticas productoras de IgA y en los centros germinales de estos folículos se generan linfocitos B IgA⁺ memoria Ramiro-Puig E & Pérez Cano FJ, 2008).

Los ganglios linfáticos mesentéricos se localizan en el mesenterio intestinal y se dividen, estructuralmente, en tres regiones: corteza, paracorteza y médula. La corteza contiene folículos primarios y secundarios ricos en linfocitos B y células dendríticas. La paracorteza presenta una elevada proporción de linfocitos T y células dendríticas y La médula, que es la región más interna del ganglio, está integrada por linfocitos T y B y células plasmáticas (Crivellato E & Vacca A, 2004).

Los linfocitos T vírgenes circulantes llegan al ganglio por las vénulas endoteliales altas. El paso de linfocitos T a la paracorteza está dirigido por quimiocinas que se unen a los receptores de la célula T virgen y que son producidas por células del endotelio, estromales y células dendríticas (Crivellato E & Vacca A, 2004).

En la corteza, las células dendríticas internalizan y procesan los antígenos que llegan por la linfa (Figura 2.c). Las células dendríticas maduras posteriormente migran hacia la paracorteza donde van a presentar el antígeno a los linfocitos Th o T citotóxicos (Tc) vírgenes (Figura 2.d) y de esta forma se generan células T especializadas y se pone en marcha la respuesta inmunitaria adaptativa (Crivellato E & Vacca A,2004).

Los linfocitos efectores abandonan los ganglios linfáticos y migran hacia los tejidos no linfoides (Fig.ura 2.g), algunos linfocitos Th permanecen en el ganglio como células memoria o se dirigen hacia los centros germinales de los folículos para promover el proceso final de diferenciación de los linfocitos B (Crivellato E & Vacca A,2004).

Los IEL residen en los espacios intraepiteliales de los enterocitos, bajo las uniones estrechas y por encima de la membrana basal. Teniendo en cuenta la gran superficie de la mucosa intestinal y su proporción respecto a células epiteliales, 1:4-9, los IEL representan una población muy abundante de células inmunocompetentes (Kunisawa J & Kiyono H, 2005). Aunque representan una población muy heterogénea, la mayor parte presenta un fenotipo supresor o citotóxico atípico y específico del compartimento mucosal (linfocitos T $\alpha\beta^+$ CD8 $\alpha\beta^+$), que difiere del resto de órganos linfoides donde predominan otros fenotipos más convencionales (linfocitos T, CD4⁺ $\alpha\beta^+$ y CD8 $\alpha\beta^+$) (Haday A & Theodoridis E, 2001). Estas células presentan un fenotipo activado, típico de células efectoras/memoria, con capacidad inmunorreguladora, llevando a cabo una respuesta inmediata y muy efectiva sobre células epiteliales infectadas. El conjunto de los IEL desempeña un papel esencial en la prevención de la sensibilización a antígenos luminales, es decir, son mediadores del proceso de tolerancia oral (Cheroutre H, 2005).

Por otra parte, la lámina propia, situada entre el epitelio y la muscularis mucosa, contiene células plasmáticas maduras productoras de IgA, linfocitos T $\alpha\beta^+$ (principalmente Th), macrófagos, células dendríticas y mastocitos. Estas poblaciones se encuentran en estado continuo de migración, diferenciación y renovación (Shanahan F, 1994).

Las células del componente efector de GALT, IEL y LPL, se encuentran bajo la influencia de bacterias comensales de la flora intestinal, las cuales contribuyen al desarrollo de su

función inmunitaria; la microbiota intestinal promueve la expansión y adquisición de la actividad citotóxica de los linfocitos del epitelio intestinal y desarrolla un papel fundamental en la inducción y mantenimiento de la tolerancia oral frente a antígenos presentes en la dieta, potenciando la producción de IgA por parte de los LPL. Los microorganismos comensales interactúan también con células presentadoras de antígeno (APC) del epitelio y lámina propia, favoreciendo una interacción diferente en los linfocitos Th provocando la activación de células reguladoras y con ello se desarrolla la tolerancia ante estos microorganismos (Figura 3) (Ramiro-Puig E & Pérez Cano FJ, 2008).

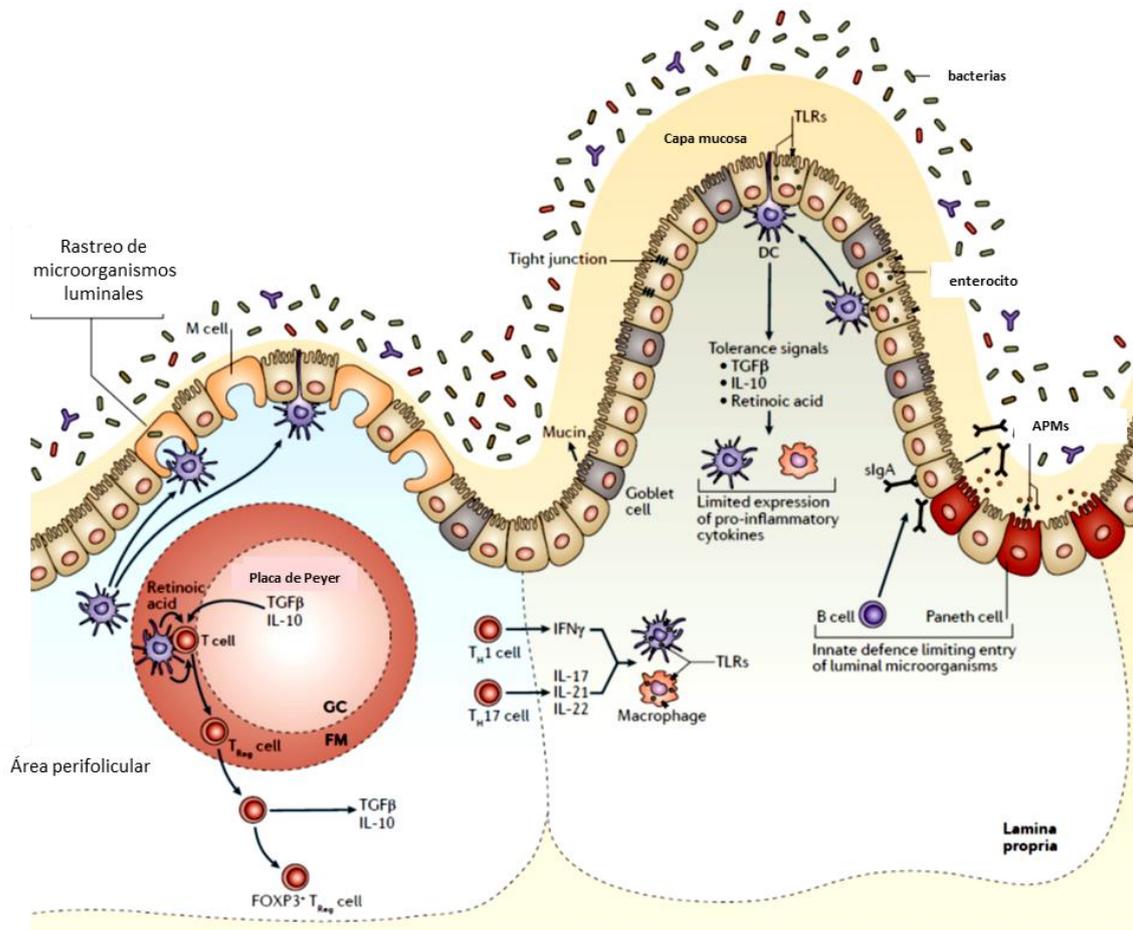


Figura 3. Mecanismos de defensa y tolerancia frente a microorganismos.

Tomada de Bron PA et. al., 2012.

2.2.2. Respuesta inmunitaria en la mucosa intestinal.

Los antígenos lumbales pueden penetrar en la mucosa intestinal y alcanzar el GALT a través de distintas vías. La entrada a través de células M localizadas en el FAE sobre las placas de Peyer constituye una de las vías más importantes (Figura. 2.a). La membrana de las células M están diseñada para favorecer la adhesión y captación de antígenos lumbales (Frey A & Kraehenbuhl JP, 1996). Estas células también pueden captar proteínas alimentarias e IgA. Posteriormente a la captación se inicia el proceso de transcitosis: las células M internalizan los antígenos lumbales y los transportan a través de sus vesículas hacia la membrana basolateral, donde son liberados al espacio extracelular. La membrana basolateral de las células M presenta una profunda invaginación o *bolsillo* intraepitelial (*intraepithelial pocket*) por medio del cual contacta con células dendríticas y macrófagos, encargados de procesar los antígenos para la presentación a los linfocitos T (Frey A & Kraehenbuhl JP, 1996).

Los enterocitos constituyen una segunda posible vía de entrada de antígenos (Figura. 2. e). Son menos específicos y confieren menor accesibilidad que las células M debido a su recubrimiento externo de glicocálix rico en enzimas hidrolíticas, hecho que impide la entrada de agregados macromoleculares y microorganismos. Los enterocitos además de captar antígenos también son capaces de procesarlos y presentarlos a los linfocitos T (Hershberg RM & Mayer LF, 2000).

La captación de antígenos lumbales también puede llevarse a cabo mediante un mecanismo paracelular, a través de los espacios entre enterocitos, donde células dendríticas proyectan sus dendritas gracias a la expresión de proteínas asociadas a las uniones estrechas, captan el antígeno y se retraen nuevamente (Figura. 2. e) (Frey A & Kraehenbuhl JP, 1996).

Los antígenos lumbales que han sido captados son liberados hacia las células presentadoras de antígenos o CPA (células dendríticas, macrófagos), situadas en la cúpula de las placas de Peyer. Las CPA interiorizan y procesan estos antígenos hasta péptidos antigénicos que serán expresados en la membrana plasmática asociados a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) para ser reconocidos por el receptor de antígeno de las células T (TCR). Las CPA activadas pueden interactuar con linfocitos T de las áreas interfoliculares de la placa de Peyer (Figura 2.b) o migrar hacia los ganglios linfáticos mesentéricos a través de vasos linfáticos (Figura 2.c) (Ramiro-Puig E & Pérez Cano FJ, 2018).

2.3. Células y receptores de la RII en las mucosas.

2.3.1. Los Fagocitos.

Los fagocitos de la lámina propia, como son los macrófagos y los neutrófilos, protegen de las infecciones bacterianas, incluyendo las del tracto gastrointestinal. En los macrófagos intestinales, la microbiota regula la producción y secreción de IL-1 β , implicada en la eliminación de patógenos, a partir del precursor pro-IL1 β . Todo este proceso no se pone en marcha hasta que el SI de las mucosas no entra en contacto con patógenos, como *Salmonella typhi* o *Pseudomonas aeruginosa*.

A diferencia de los microorganismos comensales, los patógenos inyectan flagelina al citosol de la célula infectada, activando un tipo de PRR del que se hablará más adelante, los receptores tipo Nod (NLR). Algunos de estos forman plataformas moleculares citosólicas, denominadas “inflamomas”, que activan la caspasa-1 para el procesamiento de la pro-IL1 β y la pro-IL18 (Franchi L & Kamada N, 2012).

En condiciones normales (ausencia de infección o daño en el TGI), la microbiota también contribuye al desarrollo de una respuesta anti-inflamatoria por parte de los macrófagos intestinales, induciéndole a producir IL-10, importante para mantener la homeostasis gastrointestinal (Rivollier A & He J, 2012; Kamada N & Nuñez G, 2014).

Al mismo tiempo, esta microbiota participa en la defensa. Así, por ejemplo, las bacterias intestinales generan ácidos grasos de cadena corta que activan directamente a los neutrófilos e incrementan su actividad bactericida (Maslowski KM & Vieira AT, 2009); moléculas de peptidoglicano derivadas de las bacterias intestinales pueden alcanzar incluso a los neutrófilos de la circulación sistémica e impulsar su capacidad bactericida por la vía NOD-1, que protege frente a la infección por *Streptococcus pneumoniae* (Clarke TB & Davis KM, 2010).

La importancia de la microbiota en la regulación de la respuesta defensiva ha quedado también evidenciada en estudios llevados a cabo en ratones libres de gérmenes. Estos desarrollan una hiporrespuesta inmunitaria ante estimulación bacteriana, debido a la pérdida de la regulación de genes de respuesta inmune innata, inducida por la microbiota, en los fagocitos mononucleares (Ganal SC & Sanos SL, 2012).

2.3.2. Las Células Dendríticas (DCs).

Las DCs son células originadas de precursores en la médula ósea y son las máximas responsables de la presentación de antígenos a las células T. Pueden dividirse en dos subpoblaciones de acuerdo con los marcadores de superficie que expresan, su origen y su localización tisular: las DCs “residentes/linfoides” y las DCs “migratorias/ tisulares/ no linfoides” (Figura 4). Ambos tipos juegan distintos papeles en las respuestas inmunitarias. Los tejidos linfoides secundarios (nódulos linfáticos, bazo, acúmulos linfoides organizados del MALT) contienen tanto DCs residentes, derivadas directamente de precursores hematopoyéticos, como DCs migratorias, que viajan en la circulación desde los tejidos periféricos. En condiciones no inflamatorias, las DCs migratorias tienen una habilidad superior para inducir células T reguladoras (Tregs) y juegan un importante papel en el mantenimiento de la tolerancia frente a autoantígenos (Stagg A, 2015).

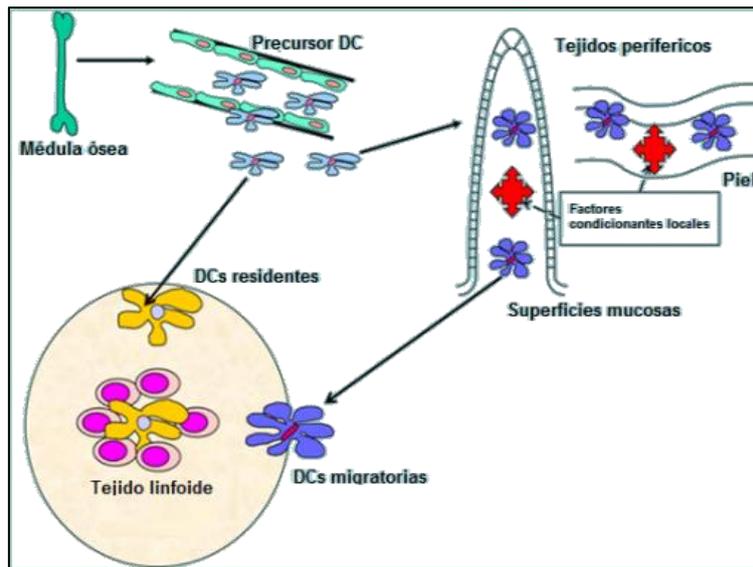


Figura 4. Distintas rutas de diferenciación de las células dendríticas.

Tomada de Stagg A, 2005.

Propiedades tejido-específicas de DCs de las mucosas:

Las superficies mucosas suponen un reto especial para el sistema inmunitario ya que, como se ha comentado anteriormente, son los sitios de mayor exposición tanto a antígenos dañinos como propios e inocuos. En la mucosa intestinal sana, las células dendríticas migratorias positivas para la integrina CD103 están especializadas en la inducción de Tregs, que limitan las respuestas a bacterias comensales y antígenos de la dieta. Las DCs CD103⁺ producen ácido trans-retinoico (ATR) y TGF- β , que actúan conjuntamente para incrementar la generación de Tregs y su entrada en el intestino. La habilidad para producir ATR está restringida a las DCs intestinales. Además de ATR, las DCs generan TGF- β activado tras la ruptura mediada por integrinas de su precursor inactivo. En el intestino sano, las DCs de las placas de Peyer producen IL-10 para contribuir al desarrollo de respuestas reguladoras (ver Figura 5)(Stagg, 2015).

La microbiota activa MyD88, mediador de la señalización por TLRs, en las DCs de la lámina propia, dando lugar a la expresión de ácido retinoico, TGF β , TNF α , NO, Factor activador de células B y se genera IgA por unión del ligando (Kamada N & Nuñez G, 2014).

En respuesta a la estimulación microbiana, las células dendríticas de las placas de Peyer, secretan TGF- β , CXCL-13 y factor activador de células B (de la familia del TNF), el cual estimula el cambio de subclase de inmunoglobulina y la producción de IgA (Suzuki K & Maruya M, 2010).

Las propiedades de las DCs en los tejidos mucosos no están predefinidas, sino que se ven influenciadas por señales producidas por las células epiteliales, expresadas constitutivamente o en respuesta a estímulos microbianos. Las propiedades tolerogénicas que caracterizan a las DCs intestinales pueden inducirse mediante factores liberados por las células del epitelio, incluyendo ATR y TGF- β . La linfopoyetina estromal tímica (LET) producida por las células del epitelio intestinal, inhibe la

producción de la citocina IL-12 pro-inflamatoria por las DCs y facilita la generación de respuestas Th2 en infecciones parasitarias. La pérdida de estas señales puede provocar un fallo en las DCs para inducir tolerancia, lo que se traduce en la aparición de respuestas inflamatorias. De este modo, las DCs dentro de los tejidos son funcionalmente plásticas, con propiedades que pueden tomar una u otra forma mediante interacciones específicas (Stagg A, 2015).

Las células dendríticas mayoritarias de la lámina propia (CD103⁺CD11b⁺) expresan receptores tipo TLR-5 y son las mayores productoras de IL-23 tras la administración de flagelina o tras la infección por *Citrobacter rodentium* (Caballero S & Pamer EG, 2015). La activación de TLR-5 en las células de la RII, facilita el desarrollo de los linfocitos Th17 y la producción de IgA. Así, la administración sistémica de flagelina, ligando microbiano de TLR-5, induce la expresión de RegIII γ por las células del epitelio intestinal a lo largo de todo el intestino delgado y confiere protección frente a la colonización por enterococos resistentes a vancomicina y a la infección por *Clostridium Difficile*. En las dendríticas CD103⁺CD11b⁺ situadas en la lámina propia provoca la expresión de IL-23, estimulando a las células linfoides innatas tipo 3 a producir de IL-22 la cual, a su vez, induce expresión de RegIII γ por las células del epitelio intestinal (Caballero S & Pamer EG, 2015).

El subtipo de DCs menos frecuente en el intestino Batf-3⁺CD103⁺, se ha visto implicado en el desarrollo de linfocitos T CD8 y en la estimulación de la producción de IgG antígeno dependiente tras la activación de los TLR (Fujimoto K & Karuppuchamy T, 2011; Cerovic V & Bain CC, 2014; Bekiaris V & Persson EK, 2014).

Un grupo minoritario de DCs en el intestino, son las plasmacitoides CD11c⁺. Tienen la capacidad de secretar gran cantidad de interferones de tipo I (IFN β e IFN α) ante infecciones virales o bacterianas. También inhiben la producción de Th17 a través de la estimulación de TLR-2, p.ej. tras el contacto con *Bacteroides fragillis* (Caballero S & Pamer EG, 2015). Esto podría jugar un papel en el mantenimiento de la homeostasis intestinal ya que, en estudios realizados con ratones se ha visto que los ratones deficientes en TLR2 (TLR2^{-/-}) tienen mayor susceptibilidad a padecer colitis (Dasgupta S & Erturk-Hasdemir D, 2014).

El grupo de Atarashi y cols encontró que el ATP generado por las bacterias intestinales promueve el desarrollo de linfocitos Th17 mediante la activación de las DCs de la lámina propia. Sin embargo, las bacterias filamentosas segmentadas (SFB) pueden favorecer el desarrollo de éstas independientemente del ATP. Las SFB promueven la producción de proteína sérica amiloide (PSA) en las células del epitelio intestinal y parece que esto es lo que estimula la generación de células efectoras Th17 (Ivanov II & Atarashi K, 2009).

Las SFB inducen una amplia respuesta frente a antígenos codificados por varias SFB y esto depende de las moléculas de histocompatibilidad presentadas por las DCs de la lámina propia (Goto Y & Panea C, 2014).

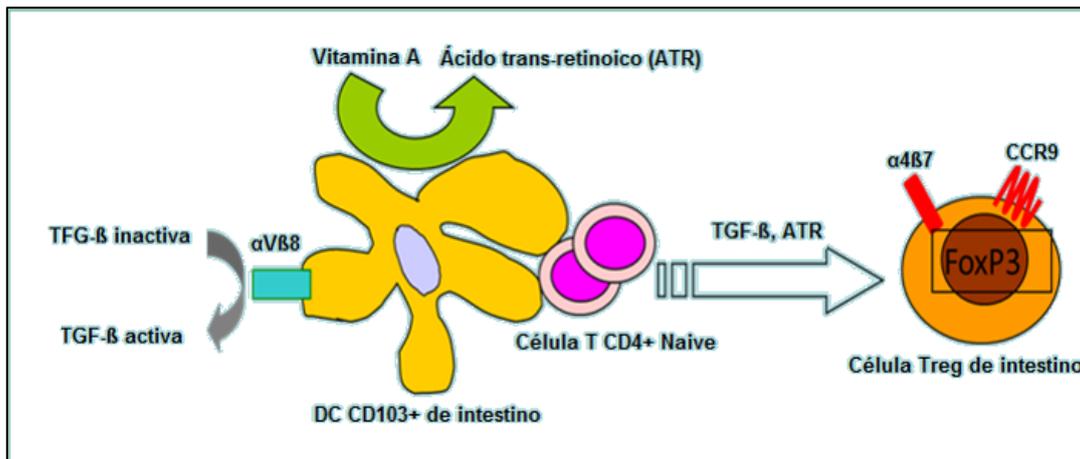


Figura 5. Inducción de células Treg mediada por células dendríticas CD103⁺. Las señales de las células epiteliales influyen en la función de las DCs de tejido.

Tomada de Stagg A, 2005.

2.3.3. Las células Natural Killer (NK).

Las células NK son células con morfología linfocítica que pertenecen a la respuesta inmune innata al carecer de receptores generados por recombinación genética (TCR, BCR). Las células NK suponen el equivalente funcional de los linfocitos T-CD8⁺ en la RII (Ruiz Sánchez BP & Cruz Zareta D, 2017).

Las células NK expresan los factores de transcripción T-bet y Eomes y sus marcadores característicos son NK1-1, CD16 y CD56. Tienen actividad citotóxica y poseen receptores activadores e inhibidores, que reconocen moléculas asociadas con el estrés celular y moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MHC-I) en la superficie de células dañadas, tumorales o infectadas. Lo hacen a través de receptores de citotoxicidad natural (NCR) como NKG2D, NKp44 y NKp46; También se activan si sus receptores inhibidores (KIR en humanos, Ly49 en ratones) detectan la ausencia de moléculas del MHC-I en la superficie de células tumorales o infectadas con virus (Timothy KE & Laurent B, 2016).

Así pues, las células NK eliminan principalmente células infectadas por virus y células malignas. Inducen la apoptosis de sus células blanco a través de la liberación de perforina y granzimas, o bien de forma directa mediante la molécula Fas-L (Montel AH & Bochan MR, 1995).

Las células NK también se activan en respuesta a las citocinas IL-12 e IL-15, y producen citocinas pro-inflamatorias, principalmente IFN γ (Ruiz Sánchez BP & Cruz Zareta D, 2017).

2.3.4. Las células linfoides innatas (ILCs).

Las células linfoides innatas (ILCs) comparten semejanza con los linfocitos "convencionales" en cuanto a su morfología y a su origen a partir del precursor linfocítico

común en la médula ósea. Sin embargo, carecen del receptor “clonotípico” para el reconocimiento de antígenos que caracteriza a los linfocitos T y B, dado que no expresan las recombinasas Rag1 y Rag2 durante su desarrollo. Las ILC son células CD45⁺ linaje⁻, es decir, carecen de marcadores asociados con otros linajes celulares como CD3 (linfocitos T), CD19 (linfocitos B), CD14 (monocitos) y CD16 (células NK), mientras que expresan los receptores de 2 citocinas necesarias para su diferenciación, proliferación y supervivencia: el receptor de IL-7 (CD127) y la cadena α del receptor de IL-2 (CD25). Al igual que otras células de la RI innata las ILCs se activan mediante receptores PRR, junto a señales de distintas citocinas. También se activan por alarminas o DAMPs liberadas por tejidos dañados, neuropéptidos, hormonas y eicosanoides; así como en procesos inflamatorios asociados con diversas patologías (Ruiz Sánchez BP & Cruz Zareta D, 2017).

Las ILCs se localizan preferentemente en las mucosas, y participan en la respuesta inmune contra infecciones y en la patogenia de enfermedades inflamatorias. Actualmente se reconocen tres tipos funcionales de ILC, denominados ILC-1, ILC-2 e ILC-3, que comparten funciones análogas a las de los linfocitos T-CD4⁺ de la respuesta inmune adaptativa Th1, Th2 y Th17, respectivamente (Tabla 1).

Las ILCs organizan el desarrollo del tejido inmune innato y más directamente nos defienden frente a microbios mediante la producción de linfotóxina alfa y beta. La linfotóxina alfa, soluble, facilita la producción de IgA dependiente de células T, mientras que la linfotóxina beta promueve la producción de IgA independiente de la interacción de las células B con las células T (Kruglov AA, 2013).

Clasificación de las ILC.

Las ILC se dividen en 3 grupos, según la expresión de factores de transcripción y de moléculas de superficie y el perfil de citocinas que secretan:

ILC-1: expresan el factor de transcripción T-bet y dependen de IL-7. Se activan en respuesta a IL-12, IL-15 e IL-18, y producen IFN γ y TNF α , citocinas pro-inflamatorias que a su vez activan linfocitos Th1, linfocitos T citotóxicos y células NK. Las ILC-1 expresan en su superficie CD11b, CD43, KLRG1 y algunos NCR característicos de las células NK (Spits H & Bernink JH, 2016).

ILC-2: expresan el factor de transcripción GATA-3 y responden a IL-25, IL-33 y TSLP. Producen IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 y anfirregulina, miembro de la familia de factores de crecimiento epidérmico. Además, las ILC-2 humanas tienen el receptor de IL-25 (IL-25R), el receptor de IL-33 (ST2), el receptor de prostaglandina D₂ (CRTH2) y el receptor 1 de cistenil-leucotrienos (CysLT1R) (Doherty TA & Khorram N, 2013). En consecuencia, la actividad de las ILC-2 está regulada por citocinas que funcionan como alarminas (IL-25 e IL-33) y por lípidos derivados del ácido araquidónico (en particular prostaglandina D₂, leucotrieno D₄ y lipoxina A₄). Las ILC-2 también expresan moléculas MHC-II y las moléculas de coestimulación CD80 y CD86, por lo que pueden activar y regular la respuesta inmune adaptativa (Ruiz Sanchez BP, Cruz Zareta.D, 2017).

ILC-3: expresan el factor de transcripción ROR γ t y responden a IL-1 β , IL-6 e IL-23 con producción de IL-17 e IL-22. Las ILC-3 son CD117⁺ y se pueden clasificar según su expresión del receptor de quimiocinas CCR6 y de NCR: las ILC-3 que expresan CCR6 y

carecen de NCR se conocen como células LTi (*lymphoid tissue inducers*) y secretan IL-22. Las ILC-3 que no expresan CCR6 también son productoras de citocinas y se clasifican en NCR⁻ y NCR⁺: las ILC-3 CCR6⁻NCR⁻ producen IL-17, pero también pueden secretar IL-22 y TNF α y, en menor cantidad, IFN γ y granzima B al ser estimuladas con IL-6, TGF β e IL-23. Las ILC-3 CCR6⁻NCR⁺ son importantes para la homeostasis intestinal, ya que expresan al receptor de arilhidrocarburos (AhR), cuyos ligandos incluyen metabolitos bacterianos como el triptófano. La administración de catabolitos de triptófano, incrementa la producción de IL-22 por las ILCs, lo cual resulta beneficioso, protege frente a la infección por hongos y frente a la colitis inducida por sulfato de dextrano (Zelante T & Iannitti RG, 2013; Ruiz Sánchez BP, Cruz Zareta D, 2017; Kamada N & Núñez G, 2014).

Las ILC-3, contribuyen a la formación de RegIII γ , mediante la producción de IL-22. La depleción de esta interleuquina favorece la diseminación de comensales como *Alcaligenes xylosoxidans*, que causa daño intestinal e inflamación sistémica (Sonnenberg GF & Monticelli LA, 2012).

	EXPRESA	PRODUCE	PROTEGE
ILC-1	T-bet	IFN γ	<ul style="list-style-type: none"> - Infecciones intracelulares. - Relación con la inmunopatología de la EII.
ILC-2	GATA-3	IL-4, IL-5, IL-13, Anfirregulina	<ul style="list-style-type: none"> - Infecciones parasitarias. - Relación con la inmunopatología del asma y la obesidad.
ILC-3	ROR γ t	IL-17, IL-22	<ul style="list-style-type: none"> - Infecciones por hongos. - Participan en la tolerancia la microbiota intestinal. - Relación con la inmunopatología de la EII y la psoriasis.

Tabla 1. Características principales de las diferentes poblaciones de ILCs.

Los distintos grupos de ILC presentan un alto grado de plasticidad; es decir, el fenotipo de las ILC no es estable y puede cambiar bajo la influencia del medio.

Las ILC como sensores, integradores y efectores de la inflamación.

La inflamación crónica contribuye a la patogénesis y progresión de diversas enfermedades como la obesidad, la enfermedad inflamatoria intestinal, la psoriasis, las alergias, el asma y el cáncer. Las ILC se activan directamente en respuesta a Patrones Moleculares asociados a Microbiota o *MAMP* a través de PRRs, pero también se activan en respuesta a diversas citocinas, aún en ausencia de contacto directo con los microorganismos, lo cual indica que pueden contribuir con la inflamación inicial y actuar como integradoras de las señales que producen las células de los tejidos y otras células del sistema inmune (Sonnenberg GF & Artis D, 2015).

Las ILCs participan en la homeostasis del tejido intestinal con la microbiota comensal. La “tolerancia intestinal” se demostró en un modelo en ratones, en donde la ausencia de ILC-3 causa incremento en la proliferación de linfocitos Th1 específicos para antígenos intestinales provenientes de la microbiota. Estos linfocitos Th1 secretan IFN γ y TNF α , lo que promueve la inflamación y contribuye al prolapso rectal, a la elongación intestinal y a la pérdida de la arquitectura del tejido; estos signos mejoran tras la administración de antibióticos, lo que sugiere que la microbiota comensal, en ausencia de ILC-3, contribuye a la activación de dichos linfocitos (Hepworth MR & Fung TC, 2015).

Las ILC-3 NCR+ están aumentadas en la sangre periférica de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, y diversos genes asociados con la susceptibilidad a esta enfermedad participan en el eje IL-17/IL-23, del cual dependen las ILC-3. Las ILC-1 están aumentadas en pacientes con enfermedad de Crohn y las citocinas pro-inflamatorias que producen perpetúan la activación de otras células de la respuesta inmune, como sucede con las ILC-3 productoras de GM-CSF, que favorecen el reclutamiento de monocitos y su diferenciación a macrófagos M1, “clásicos” o inflamatorios (Van-Der-Gracht E, Zahner S, 2016).

Así pues, alteraciones en el número o función de las ILC llevan a la pérdida de la homeostasis en los tejidos, generalmente en el contexto de enfermedades asociadas con inflamación crónica.

2.3.5. Receptores TLR.

Los receptores tipo Toll (TLR) se conocen clásicamente por su expresión en las células presentadoras de antígeno (APC) donde participan en el reconocimiento de estructuras moleculares asociadas a los patógenos (PAMP) que no están presentes en las células del huésped y de señales de alarma o peligro liberadas por los tejidos lesionados (DAMP).

Son los PRR mejor caracterizados hasta el momento. Pueden encontrarse en la superficie celular para reconocer PAMPs y DAMPs del medio extracelular (TLR-1, -2, -4, -5, -6 y -11) o en el interior de endosomas (TLR-3, -7, -8, -9 y -13) para reconocer signos de daño o infección en la célula.

Además del reconocimiento de patógenos y daño celular, la activación celular a través de TLRs participa en diversas funciones inmunitarias como la maduración de las DCs, el inicio de la activación de la respuesta inmune antígeno-específica (al actuar de puente entre la RII y la RIA) y el mantenimiento de la homeostasis tisular.

En el caso del epitelio intestinal, expuesto al mayor reservorio de microorganismos del cuerpo humano, contribuye activamente en la respuesta inmune en las mucosas. Muchos compuestos microbianos llegan a la mucosa intestinal por la ingestión de alimentos contaminados. Ante este reto microbiano, las células del epitelio intestinal deben tener mecanismos de tolerancia y a la vez conservar latente la capacidad de respuesta a los patógenos. El reconocimiento de las bacterias comensales y de los patógenos en el epitelio intestinal involucra la participación de los TLR. Parece que otro mecanismo potencial para establecer tolerancia a la flora comensal en el intestino es la ubicación de los TLR en las células epiteliales. El epitelio intestinal expresa receptores del sistema inmune innato; la posición de estos minimiza la activación innecesaria que

producirían las bacterias comensales inofensivas; mientras que ante la ruptura de la barrera mucosa se establece una rápida respuesta defensiva. Los receptores TLR-5 reconocen la flagelina de bacterias. No se expresan en el borde apical del epitelio intestinal porque es donde las concentraciones de flagelina son mayores (Carrión Caballo M, 2013; Caballero S & Pamer EG, 2015).

Además, la compartimentación de los TLR en el epitelio gastrointestinal también se presenta a nivel celular; por ejemplo, se ha observado que TLR4 se concentra en el aparato de Golgi y que el TLR5 se ubica preferencialmente en la cara basolateral de la célula; esta ubicación puede ser otra estrategia para ocultar los TLR a la flora comensal y hacer más restrictiva la activación de la respuesta inflamatoria. La importancia de la regulación de TLR4 en el epitelio intestinal se hace evidente en condiciones como la enfermedad inflamatoria del intestino en la que se observa inflamación crónica en ausencia de patógenos acompañada de una elevada expresión de TLR4 (Carrion Caballo M, 2013).

En cuanto a la señalización a través del ligamiento de TLR, se pueden diferenciar dos vías distintas (Figura 6):

- *Dependiente de la proteína adaptadora MyD88*: Todos los TLRs menos TLR-3, señalizan por esta vía. Cuando el TLR se reconoce a su ligando, se activa su dominio intracelular y se une a él MyD88, que a su vez recluta a quinasas IRAK y a factores TRAF-6, que forman un complejo que une y activa a la quinasa TAK1. TAK1 podrá entonces desencadenar la translocación al núcleo de factores de transcripción como NF- κ B (mediante la activación de complejos IKK), CREB (a través de la activación de la MAPK p38) o AP-1 (por activación de la MAPK JNK). Allí estos factores dirigirán la transcripción de genes codificantes para citocinas inflamatorias como IL-1, IL-8, TNF α e IL-12. MyD88 unido al TLR-7 o TLR-9 también puede desencadenar la translocación al núcleo del factor de transcripción IRF-7, induciéndose la producción de interferones (IFN) de tipo I (α y β). (Reuven EM & Fink A, 2014)

- *Independiente de MyD88*. Empleada en la señalización de TLR-3 y TLR-4, involucra el adaptador TRIF, que también contiene un dominio TIR. Como MyD88, TRIF activa TRAF-6 y así promueve la producción del factor de transcripción NF κ B. Además, TRIF también puede activar a TRAF-3, lo que induce la entrada en el núcleo de IRF-3, factor para la transcripción de IFN- β (Reuven EM & Fink A, 2014).

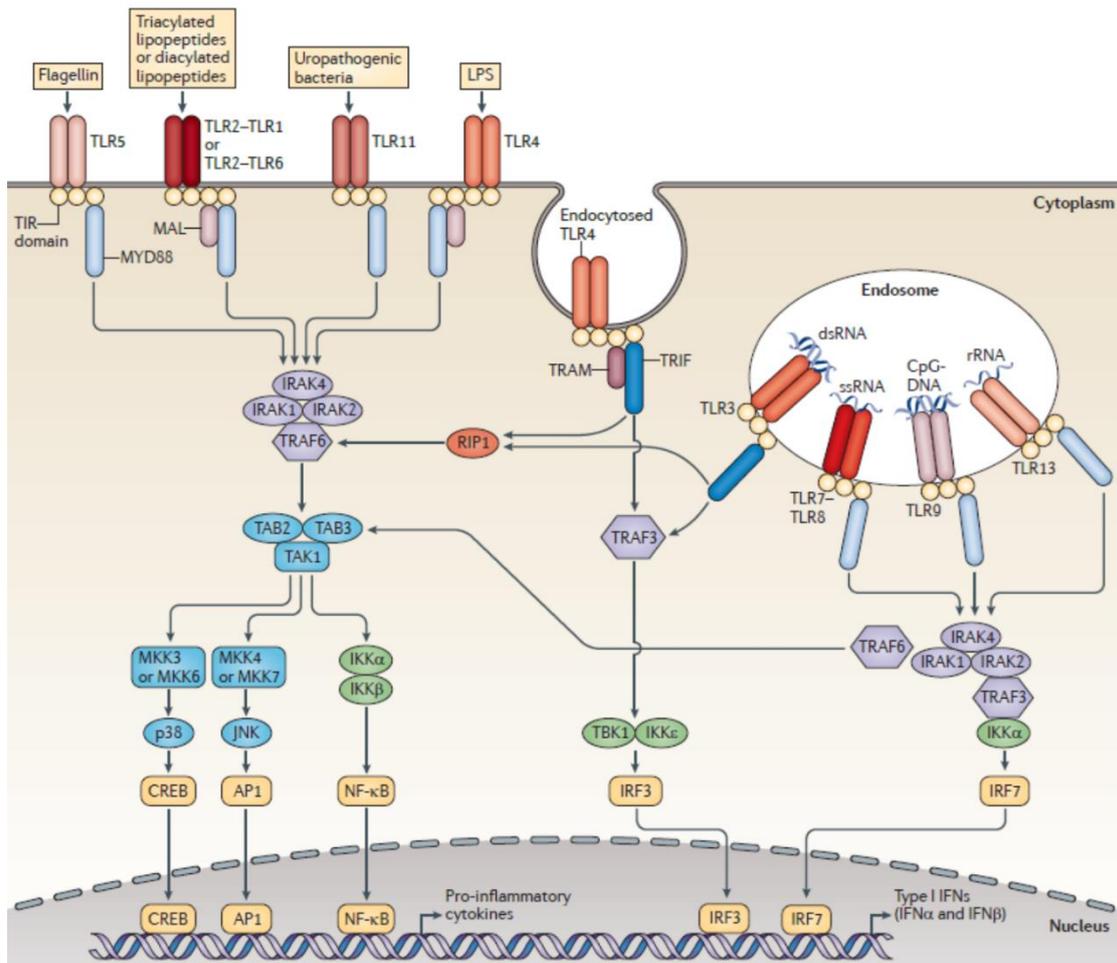


Figura 6. Rutas de señalización por TLRs dependientes e independientes de MyD88.

Tomada de O'Neill LAJ et.al, 2013.

2.3.6. Receptores NOD-like (NLRs).

Los NLRs son proteínas citoplásmicas tipo NOD, que pueden tener una variedad de funciones en la regulación tanto de respuestas inflamatorias como de la apoptosis.

NOD1: Tiene la capacidad de reconocer peptidoglicanos de las bacterias Gram negativas; en ausencia de este receptor este grupo de bacterias se expande y esto supone un aumento de comensales como *Clostridios*, *Bacteroides spp.* *SFB* y *Enterobacteriaceae* (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

NOD2: Su expresión depende de la presencia de bacterias comensales, además se sugiere que se lleva a cabo un feed back negativo entre ambos. Los receptores NOD2 reconocen fundamentalmente el muramil dipéptido de las bacterias Gram negativas (Inohara N & Ogura Y, 2003).

Como resultado del déficit de NOD2 ocurre una ruptura de la homeostasis intestinal, dando lugar al desarrollo de disbiosis. Se produce un aumento en la proporción de

bacterias intestinales asociadas a mucosa, que predisponen a la inflamación intestinal y al cáncer colorrectal (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

NLRP6: Tiene un papel fundamental en el mantenimiento de una microbiota intestinal estable. Es importante en la regulación de la actividad de la caspasa-1 y de NF-KB. Se trata de un componente del inflamasoma expresado por las células del epitelio intestinal, que induce la producción de IL-18, lo cual puede causar cambios en la composición de la flora intestinal. Ratones con déficit de NLRP6 desarrollan una disbiosis intestinal, confiriéndoles una susceptibilidad aumentada a padecer colitis (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

También está implicado en la regulación de las defensinas. La pérdida de IKKB en el epitelio intestinal impide la activación de NF-KB. Este hallazgo se relaciona con la presencia de células dendríticas defectuosas en la lámina propia. Esto da lugar a una reducción de células Th2 frente a parásitos intestinales y a un aumento de la respuesta inflamatoria a través de células Th1 (Kamada N & Nuñez G, 2014).

2.4. El sistema inmune adaptativo en las mucosas.

2.4.1. Células T efectoras.

2.4.1.1. Linfocitos Th1 y Th2.

Las células Th1 son responsables de la activación de fagocitos y juegan un papel importante en la protección frente a patógenos intracelulares. Se caracterizan por expresar el factor de transcripción T-bet y por la producción de IFN γ , TNF α y linfotoxina. La principal citocina producida por estas células es el IFN γ , una citocina proinflamatoria que incrementa la expresión de TLRs por las células de la inmunidad innata. IFN γ aumenta la presentación de antígenos a través de MHC tipo I y II e induce la secreción de quimiocinas, la activación de macrófagos y el aumento de la fagocitosis (Bautista Caro MB, 2015).

Las células Th2 se caracterizan por su papel en la defensa contra parásitos y su implicación en alergias y enfermedades atópicas. El factor de transcripción característico de este tipo celular es GATA3 y se van a caracterizar por la producción de IL-4, IL-5 e IL-13. De todas ellas, la principal citoquina producida es la IL-4, una citoquina multifuncional y pleiotrópica que promueve la diferenciación de las células Th2, pero a inhibe la de otros tipos celulares como las células Th1 ejerciendo así propiedades anti-inflamatorias. Además, esta citoquina estimula la maduración y diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas, induciendo el cambio de clase de las inmunoglobulinas (Bautista Caro MB, 2015).

2.4.1.2. Linfocitos Th17.

Para que se lleve a cabo la diferenciación de los linfocitos T-CD4 en efectoras Th17, se ha visto que son necesarios el factor TGF- β e IL-6 o IL-21, mientras que, para la expansión, dependen de IL-23.

Sin embargo, estas células se pueden desarrollar en ratones con deficiencia de estos

componentes, por lo que parece que otros factores también están implicados en el desarrollo. Ratones con déficit de IL-1 β o del receptor para IL-1, tienen un menor número de células Th17. La producción de IL-1 β está disminuida en ratones sin microbiota, lo que demuestra que la microbiota juega un papel fundamental en la producción de esta citocina, indispensable para el desarrollo de las células Th17. Además, se vio que la administración exógena de IL-1 β es suficiente para restituir esta función. El mecanismo por el cual la flora comensal promueve la formación de esta interleuquina es vía TLR- MyD88. Los ratones deficientes en MyD88 muestran menor unión de IL-1 e IL-18 y por tanto producen menos IL-1 β y menos células efectoras Th17 (Ivanov II & Frutos RdeL, 2008; Kamada N & Nuñez G, 2014).

El grupo Ivanov II et al. encontró que el ATP generado por las bacterias intestinales promueve el desarrollo de linfocitos Th17, mediante la activación de las células dendríticas de la lámina propia; sin embargo, las SFB pueden favorecer el desarrollo de células Th17 independientemente de ATP. Las SFB promueven la producción de proteína sérica amiloide en las células del epitelio intestinal y esto sería lo que estimularía la generación de células efectoras Th17 (Ivanov II & Atarashi K, 2009).

Por otro lado, las SFB parece que tienen una capacidad exclusiva para penetrar la capa mucosa del intestino delgado y contactar directamente con la superficie del epitelio, por lo esta característica probablemente contribuye a la diferenciación hacia células Th17 en la lámina propia intestinal (Caballero S & Pamer EG, 2015).

La secuenciación genómica de las SFB ha demostrado que la variedad de estos microorganismos es menor que la de otros Clostridios, lo cual depende de los aminoácidos exógenos, sugiriendo que estos microorganismos están altamente adaptados al huésped mamífero (Caballero S & Pamer EG, 2015).

Además de estimular a los enterocitos y DCs, la microbiota intestinal, incluyendo a los SFB, estimula a los macrófagos intestinales y estos generan IL-1, β que se uniría a su receptor presente en las células T-CD4 promoviendo su diferenciación en linfocitos Th17 (Kamada N & Nuñez G, 2015).

El factor de transcripción NFIL3, implicado en el ciclo circadiano, reprime la expresión de ROR γ t, uniéndose a su promotor. Así, se ha visto que ratones deficientes en NFIL3 generan más células Th17. Por otro lado, polimorfismos en el gen NFIL3 humano están asociados con EII. Estos hallazgos plantean que alteraciones en el sueño o cambios frecuentes en el ritmo circadiano aumenta la probabilidad de padecer enfermedades inflamatorias (Yu X & Rollins D, 2013).

2.4.2. Linfocitos B productores de IgA.

Las células B son fundamentales en el mantenimiento de la homeostasis intestinal a través de la producción de IgA. Las IgA secretadas hacia el lumen intestinal se dirigen preferentemente frente a bacterias que colonizan la mucosa proximal y las que tienen potencial colitogénico (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

En ratones libres de gérmenes (Germ Free, GF) la cantidad de IgA secretada por las células B está disminuida, sin embargo, el número de células B es el mismo que en ratones colonizados (Hapfelmeier S & Lawson MA, 2010).

En ausencia de IgA la cantidad de ADN microbiano en la luz intestinal es normal, aunque las concentraciones de lipopolisacárido (LPS) son mayores que las encontradas en su presencia. También se han observado algunos cambios en la composición de la microbiota en ausencia de estos anticuerpos (Maayan L & Aleksandra AK, 2017).

La IgA proporciona defensa frente a patógenos intestinales y su ausencia se ha visto implicada en la expansión de alguna población bacteriana comensal como las SFB. Estudios recientes han demostrado que las SFB actúan sobre las placas de Peyer induciendo el desarrollo y secreción de IgA (Caballero S & Pamer EG, 2015).

Hay muchas formas por las cuales la microbiota regula la producción de IgA. Una de ellas involucra la señalización a través de MyD88. Los ratones con déficit de MyD88 tienen menos número de células CD11b⁺IgA⁺ pero no de CD11b⁻IgA⁺. Las bacterias comensales activan la señalización de MyD88 en las células dendríticas foliculares y de la lámina propia, dando lugar a la expresión de ácido retinoico, TGF- β , TNF- α , NO, Factor activador de células B y promoviendo así la producción de IgA por las células B. La microbiota activa MyD88 en las células dendríticas de la lámina propia (Caballero S & Pamer EG, 2015).

La monocolonización de ratones GF con SFB, puede promover la formación de IgA, sin embargo, los niveles de IgA alcanzados son menores que los presentados en condiciones normales, lo cual indica que otras especies o la mezcla de otras son necesarias para la adecuada producción de IgA (Umesaki Y & Setoyama H, 1999).

En cambio, en ratones la colonización transitoria con una cepa mutante de E. coli, que es incapaz de proliferar in vivo, induce la producción de grandes cantidades de IgA, en comparación con las observadas tras la colonización con múltiples bacterias comensales. Aunque esta IgA secundaria a la colonización con E. coli mutante es específica para esta bacteria, la exposición a diferentes bacterias, limita su persistencia. (Hapfelmeier S & Lawson MA, 2010).

La estimulación continua hace que se genere gran variedad de IgA para todo tipo de bacterias, con las que se ha entrado en contacto. Anticuerpos específicos pueden ser secretados durante largos períodos de tiempo, pero hay que saber que la génesis de éstos es dinámica y las nuevas generaciones de IgA son producidas siguiendo los cambios de composición de la microbiota intestinal (Kamada N & Núñez G, 2014).

Por otro lado, el receptor PD-1 (receptor inhibidor de caspasa 1) es altamente expresado en los linfocitos T helper foliculares (T_{FH}) parece tener un papel en el control del microbioma y la producción de IgA intestinal. Su ausencia produce precursores de células secretoras de IgA con una afinidad menor por las bacterias intestinales (Maayan L & Aleksandra AK, 2017; Kawamoto S & Tran TH, 2012).

El déficit de PD1 resulta en una disminución de la opsonización bacteriana por la IgA y en una alteración de la composición de bacterias que conforman la microbiota. Aunque

el número total de bacterias es el mismo que en presencia de PD1, se observa un descenso de especies de *Bifidobacterium* y un aumento de las *Enterobacteriaceae* (Kawamoto S & Tran TH, 2012).

2.4.3. Las células T reguladoras (Treg).

Las células T reguladoras, también llamadas Treg, son linfocitos T que regulan o suprimen a otros elementos celulares del sistema inmunitario. Las Treg controlan las respuestas inmunitarias frente a antígenos extraños o propios, ayudando a prevenir el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Existen dos tipos fundamentalmente: las producidas en el timo (Tregs “naturales” – nTreg o Tregs del timo, -tTreg) y aquellas que surgen a partir de células T activadas en la periferia (Tregs “adaptativas o inducidas” – iTreg) (Panduro M & Benoist C, 2016).

Las células Treg con fenotipo CD4⁺CD25, caracterizado por la expresión del correceptor de célula T CD4 y de CD25, cadena α del receptor de IL-2, tienen además expresión específica del factor de transcripción Forkhead box P3 (FoxP3). FoxP3 está implicado en el desarrollo y la función de estas células en humanos y ratones. FoxP3 es vital para mantener la supresión del sistema inmunitario. Algunas mutaciones espontáneas en este gen pueden dar lugar a linfocitos autorreactivos que en humanos causan trastornos autoinmunes o linfoproliferativos severos y en ratones el fenotipo *scurfy* (González Parias, Duque Giraldo, & Velásquez-Lopera, 2010; Panduro M & Benoist C, 2016).

Las células Treg suprimen la activación, proliferación y producción de citocinas por parte de las células T CD4⁺ y T CD8⁺ y pueden suprimir también a los linfocitos B y a las células dendríticas. Para ello las células Treg pueden generar elementos solubles con función inmunosupresora, lo que incluye TGF- β , IL-10 y adenosina, o bien competir con los linfocitos efectores por moléculas MHC o por moléculas coestimuladoras (B7) (Figura 7).

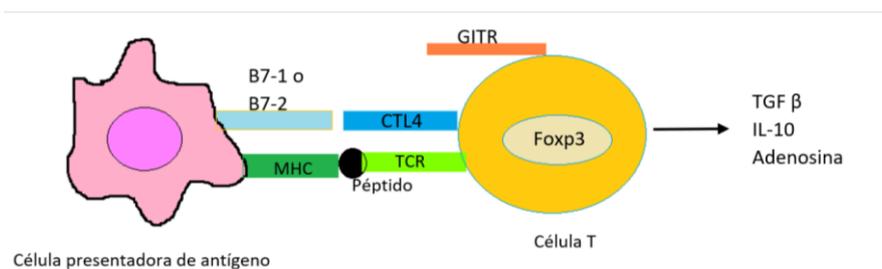


Figura 7. Representación de la sinapsis inmunológica entre la CPA y el linfocito T reg.

Las células T, sin capacidad reguladora específica, pueden sin embargo competir con linfocitos efectores por recursos como factores de crecimiento (IL-2), estimulación por el MHC de clase II y así adoptar un papel “regulador” a través de este mecanismo (Panduro M & Benoist C, 2016).

Un mecanismo por el cual las células T reg son inducidas, involucra a Uhrf1, que a su vez está regulado por la microbiota. Uhrf1 metila el inhibidor p21CDK y además inhibe su transcripción, lo que promueve la proliferación de células de reguladoras (Obata Y & Furusawa Y, 2014).

El tráfico de las células T reguladoras hacia la lámina propia, depende de receptores unidos a proteínas G cuya expresión es modulada por la microbiota intestinal (Caballero S & Pamer EG, 2015).

Bacterias que han demostrado ser capaces de poner en marcha la generación de células T reguladoras son: *Bacteroides caccae*, *B. Thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. Massiliensis* y *Parabacteroides distasonis*. Otros estudios han revelado que los microbios fecales que pertenecen a los clusters de *Clostridium IV* y *XIVa* conducen el desarrollo de células T reguladoras en el intestino; en parte por la producción de TGF β por las células del epitelio intestinal. El desarrollo óptimo de estas células es mediante la colonización con 17 cepas derivadas de humanos, pertenecientes a los Clostridia (Caballero S & Pamer EG, 2015).

La colonización del intestino murino por *Bacteroides fragillis* y la producción de polisacárido A por éste, aumenta el desarrollo de las células T reguladoras, su diferenciación y la producción de IL-10 (Caballero S & Pamer EG, 2015).

En ausencia de células T reguladoras, los procesos inflamatorios que incluyen el intestino, ocurren rápidamente y pueden ser letales. La colonización de ratones libres de gérmenes con flora Schaedler (8 especies bacterianas diferentes) promueven la generación de células T reguladoras colónicas y previene a los ratones de la colitis (Caballero S & Pamer EG, 2015).

En la Figura 8 se resumen las principales interacciones que se establecen entre la microbiota y los diferentes componentes del sistema inmune intestinal, a fin de lograr la homeostasis. En el siguiente capítulo se describe cómo la pérdida de este equilibrio lleva a la aparición de enfermedades inflamatorias intestinales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn.

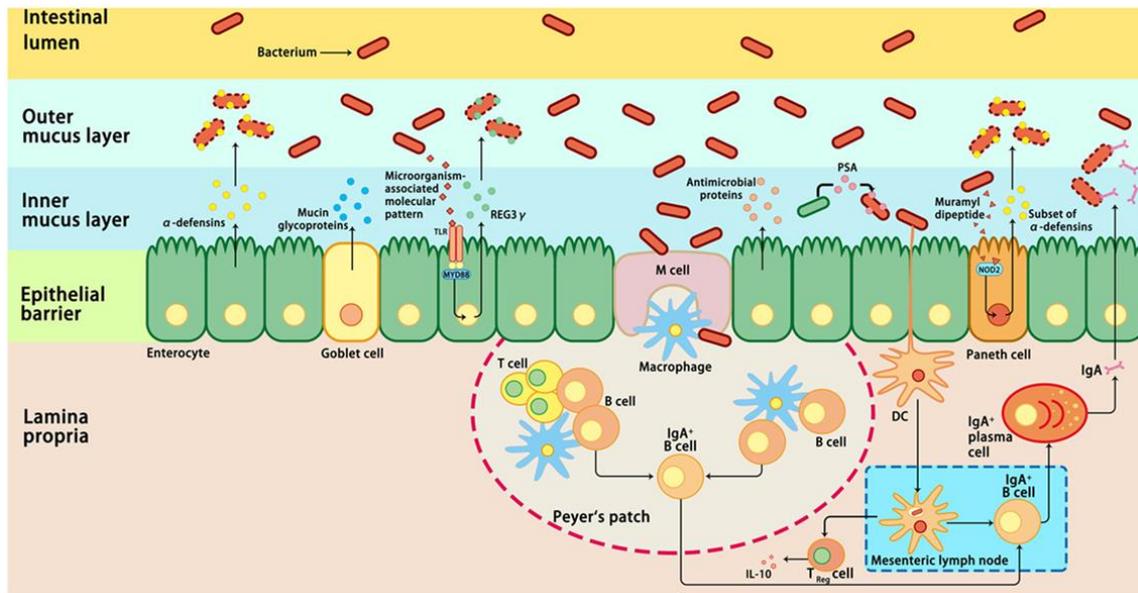


Figura 8. Interacciones entre el sistema inmunitario y la microbiota para controlar la homeostasis intestinal. En el epitelio los enterocitos estimulados a través de TLRs o NLRs por la microbiota secretan PAMs, las células de Goblet secretan mucinas, las células M y las DCs capturan microorganismos del lumen hacia la lámina propia. Las DCs se dirigen a las placas de Peyer y ganglios mesentéricos para presentar antígenos microbianos a las células T. Las células Th a su vez, cooperarán con las células B para que se diferencien en células plasmáticas productoras de IgA, que es translocada en forma dimérica hacia el lumen. En ausencia de estímulo inflamatorio, las DCs además inducen la generación de células Treg, las cuales controlan la actividad efectora de los linfocitos a través de la producción de IL-10.

Tomada de Zhang M, et. al., 2017.

3. LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL (EII).

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII), que comprende la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU), es una alteración inflamatoria, recurrente-remitente y crónica del tracto digestivo. La EC y la CU varían en la región del intestino que afectan, la extensión de la inflamación, la lesión tisular resultante y los síntomas asociados (Maloy KJ & Powrie F, 2011).

3.1 Epidemiología.

En nuestro medio la CU es la entidad más frecuente, si bien la incidencia de la EC ha ascendido de forma particularmente importante en muchas áreas de España en los últimos años, como se había descrito anteriormente en otros países desarrollados. Estas enfermedades suelen debutar en la juventud, sobre todo entre los 15 y los 30 años, pero se observan casos nuevos a cualquier edad, y llama la atención la incidencia en la infancia, sobre todo en el caso de la EC (Khor B & Gardet A, 2011).

3.2 Etiología.

Las EII son entidades de naturaleza poligénica, en las que interaccionan factores genéticos y ambientales (Figura 9). En la EC existe evidencia de que diversas alteraciones genéticas puntuales influyen no sólo en su aparición, sino además en su fenotipo clínico, y en otras variables como la respuesta a determinados tratamientos (Khor B & Gardet A, 2011).

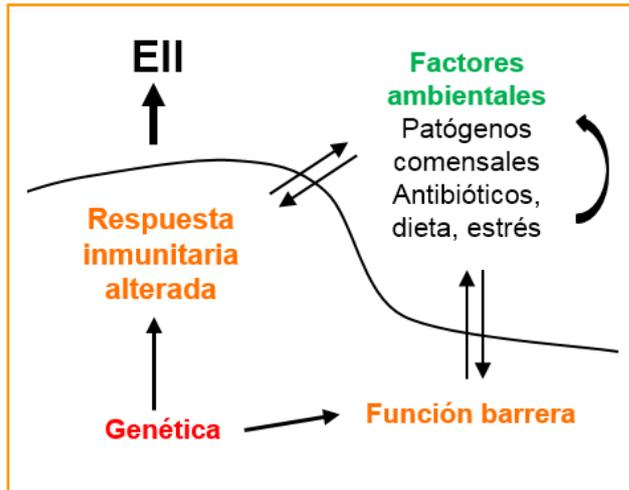


Figura 9. Factores genéticos y ambientales involucrados en el desarrollo de EII.

Adaptada de Maloy KJ & Powrie F, 2011.

3.2.1. Susceptibilidad genética.

Estudios de asociación del genoma completo (GWAS) han identificado un número de loci genéticos asociados a la EII, incluyendo genes específicos para la EC o la CU y algunos comunes a ambas (Maloy KJ & Powrie F, 2011).

Entre los genes identificados hasta la fecha (Figura 10) queremos destacar en primer lugar el NOD2/CARD15. Se han identificado tres mutaciones presentes en este gen, que codifica una proteína que está implicada en la respuesta inmunológica innata a las bacterias, que son mucho más frecuentes en los pacientes con EC que en la población general, particularmente en las poblaciones de origen caucásico. Su asociación con la EC es muy clara, e incluso cuantitativa: el riesgo es mayor para los homocigotos para una alteración y los heterocigotos compuestos, que en los heterocigotos simples. Las mutaciones del gen NOD2/CARD15 son específicas de la EC, y no se observan en la CU. En la mayoría de las ocasiones, las mutaciones y alteraciones identificadas sólo parecen ser factores contribuyentes, pero en algún caso particular, la mutación puede ser determinante. Un cambio en la funcionalidad de la IL-10 por una alteración genética puntual determinaba una enfermedad que apareció en el primer año de vida, muy agresiva, sin respuesta a los tratamientos convencionales (Khor B & Gardet A, 2011).

Puede darse el caso de que la EII solo ocurra cuando las múltiples variantes genéticas asociadas a la enfermedad estén presentes. Otra posibilidad es que se requieran los factores ambientales para desencadenar el inicio de la enfermedad, en personas genéticamente susceptibles (Maloy KJ & Powrie F, 2011).

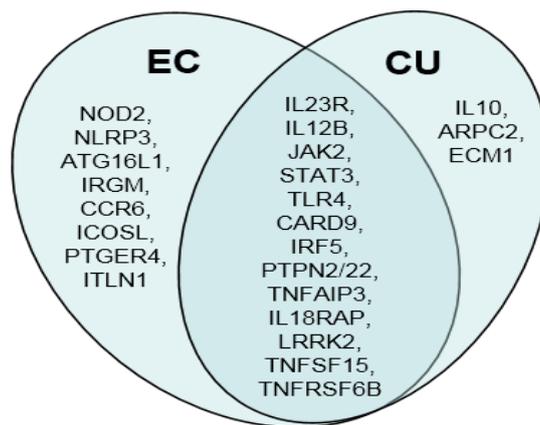


Figura 10. Genes asociados con la enfermedad de Crohn (EC), colitis ulcerosa (CU) o con ambas EII, descubiertos mediante estudios GWAS y su posterior meta-análisis.

Tomada de Maloy KJ & Powrie F, 2011.

3.2.2. Factores ambientales.

Se piensa que factores ambientales como la microflora comensal, infecciones por patógenos y factores metabólicos juegan un papel en el desarrollo y persistencia de la EII. La microbiota intestinal, dominada por bacterias, pero que incluye asimismo virus, hongos y protozoos, es crucial para el desarrollo del sistema inmunitario del huésped, pero también parece ser la diana de la respuesta inflamatoria en el transcurso de la EII. La composición de la microbiota intestinal parece estar alterada durante la enfermedad, aunque no queda claro si esto es la causa o el resultado. El efecto que puedan tener sobre la EII los antibióticos, las infecciones por patógenos y la dieta, podría explicarse por su impacto sobre la microflora comensal (Maloy KJ & Powrie F, 2011).

Relevante es también el papel del tabaquismo, que constituye un factor de riesgo doble, aumenta su incidencia y empeora el curso clínico de la EC; sin embargo, disminuye la incidencia y mejora la evolución de la CU. El modelo etiopatogénico de las enfermedades inflamatorias intestinales es de gran relevancia conceptual para toda la medicina porque ejemplifica las complejas relaciones entre genética y ambiente (Khor B & Gardet A, 2011).

3.3. Respuesta inmunitaria alterada en la EII.

La EII es una enfermedad mediada por el sistema inmunitario, pero no se considera una patología de naturaleza autoinmune sino de naturaleza autoinflamatoria. El intestino contiene una enorme carga antigénica derivada de la dieta y la flora intestinal. De las aproximadamente 10^{14} bacterias en el intestino, la mayoría son comensales, que benefician nuestra salud de muchas maneras, ayudando en la digestión y previniendo la colonización por especies patógenas. El sistema inmunitario intestinal está separado del lumen por una única capa de células epiteliales y debe iniciar una respuesta apropiada – tolerancia o inmunidad protectora – ante la exposición a cada antígeno. Se cree que

la EII aparece cuando se produce una respuesta anómala frente a bacterias comensales. Los resultados experimentales y de GWASs han mostrado distintos mecanismos de alteración del sistema inmunitario, por ejemplo: vías pro-inflamatorias dirigidas por la IL-23, disminución de mecanismos reguladores de la inmunidad y un defecto en la función de barrera del epitelio intestinal. El bloqueo de la citocina pro-inflamatoria TNF α mediante anticuerpos monoclonales, es muy efectivo en la reducción de enfermedad en muchos casos, resaltando el papel crucial de esta molécula en la inflamación intestinal (Maloy KJ & Powrie F, 2011).

3.4. Colitis Ulcerosa (CU).

La colitis ulcerosa (CU) es una enfermedad inflamatoria intestinal crónica que afecta a la mucosa del colon. La afectación se inicia en el recto y avanza de forma continua, puede alcanzar una extensión variable en sentido proximal hasta el ciego. Típicamente, cursa en brotes de actividad inflamatoria durante los cuales el paciente presenta la sintomatología clásica de la enfermedad caracterizada por: diarrea, rectorragia y dolor abdominal, que puede acompañarse o no de síntomas sistémicos, dependiendo de la extensión de la CU y de la gravedad del brote, y/o de manifestaciones extraintestinales. Estos periodos de actividad se siguen de períodos de remisión en los cuales los pacientes están asintomáticos. No existe ningún síntoma ni hallazgo en las exploraciones complementarias que sea patognomónico o exclusivo de la CU, por lo tanto, para llegar a un diagnóstico definitivo suele ser necesaria la combinación de hallazgos clínicos, biológicos, endoscópicos, radiológicos (Figura 13) e histológicos sugestivos de la entidad. Los criterios más comúnmente utilizados son los de Lennard-Jones indicados abajo (Satsangi J & Siverberg, MS, 2006; Lennard-Jones JE, 1989).

Criterios de Lennard-Jones:

Criterios clínicos:

- Rectorragia.
- Diarrea Crónica, en un 10% de los casos puede haber estrechamiento.
- Dolor abdominal.
- Manifestaciones extraintestinales.

Criterios endoscópicos:

- Mucosa eritematosa granular, edematosa y/o friable.
- Exudados o ulceraciones.
- Friabilidad espontánea al roce.
- Pseudopólipos y pólipos.
- Lesiones continuas y con afectación prácticamente constante del recto.

Criterios radiológicos:

- Cambios mucosos: mucosa granular, úlceras espiculares o en botón de camisa, pseudopólipos.
- Cambios de calibre, aumento del espacio recto-sacro.
- Acortamiento del colon.
- Pérdida de haustración.

Criterios histológicos:

- Mayores: Inflamación exclusiva de la mucosa, úlceras superficiales, distorsión de las criptas, microabscesos, depleción de células caliciformes.
- Menores: Infiltrado inflamatorio crónico difuso, aumento de la vascularización mucosa, metaplasia de células de Paneth, atrofia mucosa, hipertrofia linfoide.

El cuadro clínico depende de la extensión de la enfermedad y del grado de actividad. El síntoma más característico es la diarrea con sangre. Aunque la instauración lenta e insidiosa es característica de la CU, también puede presentarse como un cuadro de instauración aguda simulando una colitis infecciosa. El número de deposiciones se incrementa y su volumen disminuye en la mayoría de los pacientes debido a la inflamación del recto. Cuando la afectación rectal es intensa se produce la emisión frecuente de pequeñas cantidades de sangre y moco, aisladas o junto a pequeña cantidad de heces líquidas. Estos pacientes pueden presentar el denominado “síndrome rectal”, que incluye urgencia, incontinencia y tenesmo rectal. Algunos pacientes con colitis izquierda presentan estreñimiento en lugar de diarrea durante los brotes. Se piensa, en estos casos, que la actividad inflamatoria provoca un estado de espasticidad que enlentece el tránsito. La falta de especificidad de las alteraciones analíticas que se pueden presentar en la CU, hace que los estudios de laboratorio no sean herramientas muy útiles a la hora de establecer el diagnóstico de esta enfermedad, pero sí para valorar la actividad clínica de la misma. Así, mientras los pacientes que debutan con una enfermedad leve no suelen mostrar alteraciones en los valores de laboratorio, aquellos que presentan brotes moderados o graves pueden cursar con anemia de mayor o menor intensidad, así como hipoalbuminemia y elevación de reactantes de fase aguda. La colonoscopia con toma de biopsias es la exploración complementaria que permite confirmar el diagnóstico de CU (Satsangi J & Siverberg MS, 2006).

La afectación macroscópica de la mucosa es difusa y continua, afectando desde el recto en sentido proximal. Las lesiones varían en función de la gravedad del brote. En los casos más leves aparece disminución o desaparición del patrón vascular, edema y eritema mientras que en casos más graves aparecen úlceras de diversos tamaños y sangrado espontáneo al roce (Figura 11). El examen histológico permite obtener datos de gran valor para el diagnóstico de CU. Sin embargo, los hallazgos no son exclusivos de esta entidad y están en estrecha relación con el grado de actividad inflamatoria. En los brotes agudos la mucosa presenta un importante infiltrado inflamatorio compuesto por linfocitos y células plasmáticas, junto a neutrófilos que aparecen predominantemente en las criptas, formando abscesos crípticos muy característicos, pero no patognomónicos. Durante las fases de remisión desaparece el infiltrado inflamatorio y los abscesos crípticos; no obstante, las criptas permanecen distorsionadas (Figura 12) (Satsangi J & Siverberg MS, 2006).



Figura 11. Pieza anatómica de una colectomía por CU.

Tomada de Collia Avila K, 2017.

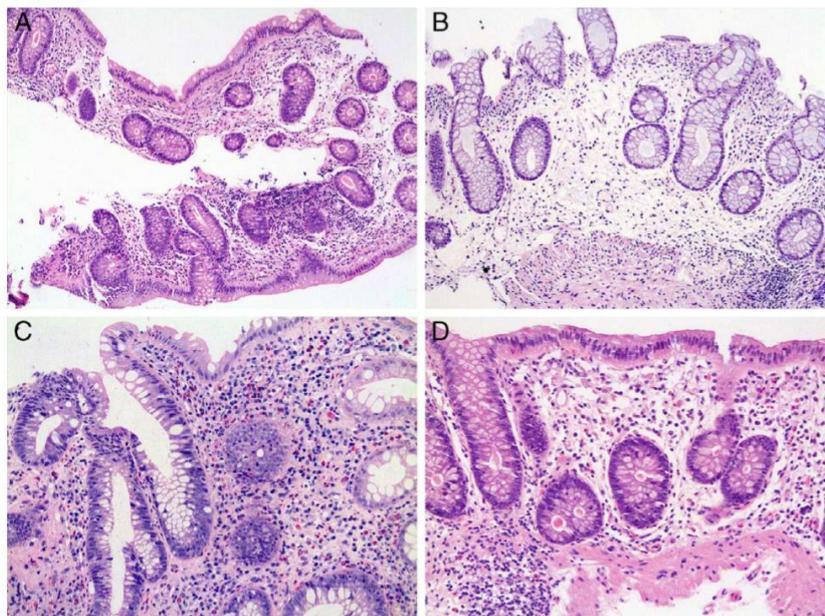


Figura 12. Lesiones histológicas CU.

A: CU con arquitectura atípica alterada con bifurcaciones. B: Anomalías crípticas compatibles con CU crónica. C: Colitis crónica inactiva, bifurcaciones cortadas longitudinalmente. D: Bifurcaciones cortadas transversalmente.

Tomada de Colina F et. al., 2014.

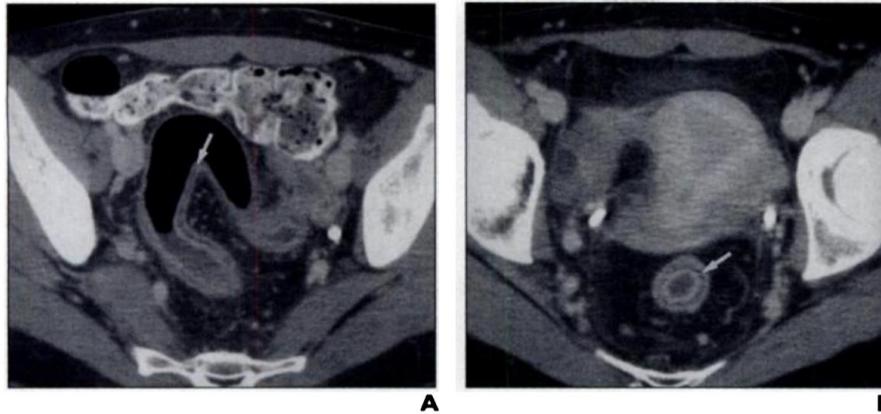


Figura 13. Imágenes obtenidas por TC de Colitis Ulcerosa.

A. Sección de TC que muestra recto y sigma. Se aprecia inflamación difusa y engrosamiento mucoso. Prominentes vasos sanguíneos y ganglios linfáticos en mesocolon sigmoide.

B. Estratificación típica de la CU. Imagen obtenida por TC en la que se ven dos imágenes en anillo atenuadas que se corresponden con las capas mucosa y muscularis propia, separadas por submucosa edematosa.

Tomada de Gore RM et. al., 1996.

4.5. Enfermedad de Crohn (EC).

En la EC, la clínica es muy variable, puesto que, aunque la diarrea y el dolor abdominal son muy frecuentes, ambos pueden ser variables y atípicos. El dolor, en concreto, puede ser de localizaciones y características diversas, de patrón inflamatorio u obstructivo. La localización más frecuente, fosa ilíaca derecha lo cual facilita la sospecha, pero en los cuadros agudos iniciales complica sustancialmente el diagnóstico diferencial con cuadros comunes como la apendicitis aguda y la enfermedad inflamatoria pélvica. La aparición de un dolor abdominal tipo cólico, entre 60-90 minutos de duración después de la ingesta y que alivia tras una fase de expulsión de gases o la defecación puede sugerir la presencia de una estenosis en el íleon, una de las complicaciones más comunes en la EC. Ésta puede deberse al edema de la mucosa, a la fibrosis consecutiva a la reparación cicatricial o a la compresión extrínseca de un asa intestinal por una masa inflamatoria o un absceso. Con relativa frecuencia la estenosis es la consecuencia de una combinación de varios factores. La diarrea también puede ser variable no sólo por las distintas localizaciones en las que puede asentar el proceso, sino porque puede deberse a malabsorción, sobrecrecimiento bacteriano, por la propia inflamación, trastornos motores y/o malabsorción de sales biliares. No es rara la fiebre, y casi un tercio de los pacientes presenta manifestaciones “perianales”, concepto que incluye fisuras, fístulas, abscesos, estenosis anales y otras complicaciones. La rectorragia no es tan frecuente como en la CU, pero no es excepcional (Khor B & Gardet A, 2011).

Diagnóstico.

Los objetivos que debe cumplir el proceso diagnóstico son (Van Assche G & Dignass A, 2010):

1. Excluir las enfermedades infecciosas.
2. Obtener datos que tengan un valor predictivo (positivo o negativo) para respectivamente confirmar o excluir una EII.
3. Valorar la extensión y la gravedad de la EII, caso de estar presente, además de excluir complicaciones. En el caso de un brote de EC, por ejemplo, a menudo es primordial excluir el absceso. Sin todos estos datos, la aproximación terapéutica será siempre difícil e incluso arriesgada.
4. Evaluar factores de riesgo individuales que pueden predisponer a una mayor toxicidad del tratamiento, con especial énfasis en la prevención de algunas complicaciones infecciosas.

Ante la sospecha de una EC, en la gran mayoría de los casos el estudio se inicia con una colonoscopia que incluye a ser posible el estudio del íleon, y la toma correspondiente de biopsias. Es obligatorio, estudiar el intestino delgado, inicialmente mediante un estudio radiológico, tanto para establecer el diagnóstico en los casos de afección exclusiva del intestino delgado, como para valorar la extensión en los casos con afección baja. La cápsula endoscópica es claramente superior al tránsito intestinal en la evaluación del intestino delgado. Para evaluar morfológicamente el intestino delgado, la enterorresonancia juega un papel muy relevante puesto que: a) permite valorar las lesiones lumbinales y la actividad inflamatoria, b) valorar de forma simultánea las lesiones extralumbinales, y c) no emite radiación al paciente. Si hay sintomatología de tubo digestivo alto, se debe realizar una gastroscopia, en la que se tomarán biopsias de estómago y duodeno para su análisis histológico (Figura 14), incluso cuando macroscópicamente no se evidencien lesiones. En muchas ocasiones, y de forma casi obligatoria en los brotes graves, está indicado hacer una TC (Figura 15). Esta permite detectar lesiones extraintestinales, y, sobre todo identificar abscesos. En el caso de la enfermedad perianal, es necesario realizar adicionalmente a la exploración física ecografía endoanal y RMN (Khor B & Gardet A, 2011).

Desde el punto de vista práctico, cabe señalar que, si bien el valor predictivo positivo de la presencia de alteraciones típicas en la colonoscopia es muy grande, el valor predictivo negativo es bajo cuando la enfermedad de Crohn afecta al intestino delgado. No se puede descartar una EC sin un estudio adecuado del intestino delgado, que en algunos casos puede hacerse con enterorresonancia, y en otros requiere del uso de la cápsula endoscópica (Khor B & Gardet A, 2011).

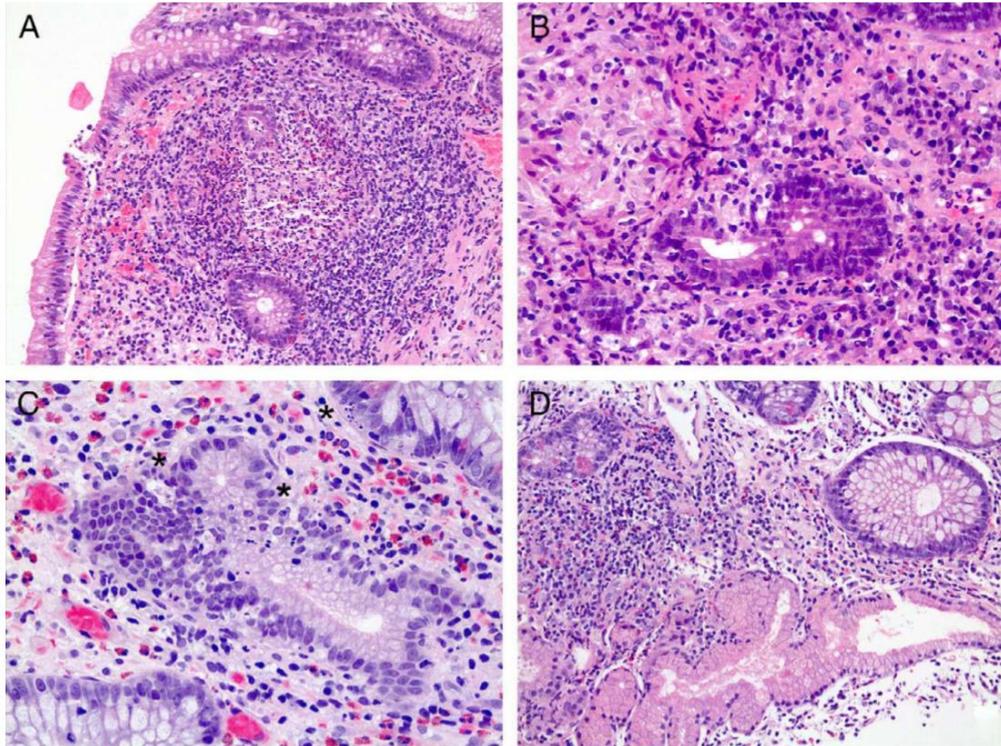


Figura 14. Lesiones histológicas en enfermedad de Crohn.

A. Afta histológica; B. Granuloma desestructurando una cripta en EC; C. Cariorrexis y apoptosis en cripta de íleon distal; D. Ileitis con metaplasias pilórica en EC.

Tomada de Colina F et. al., 2014.

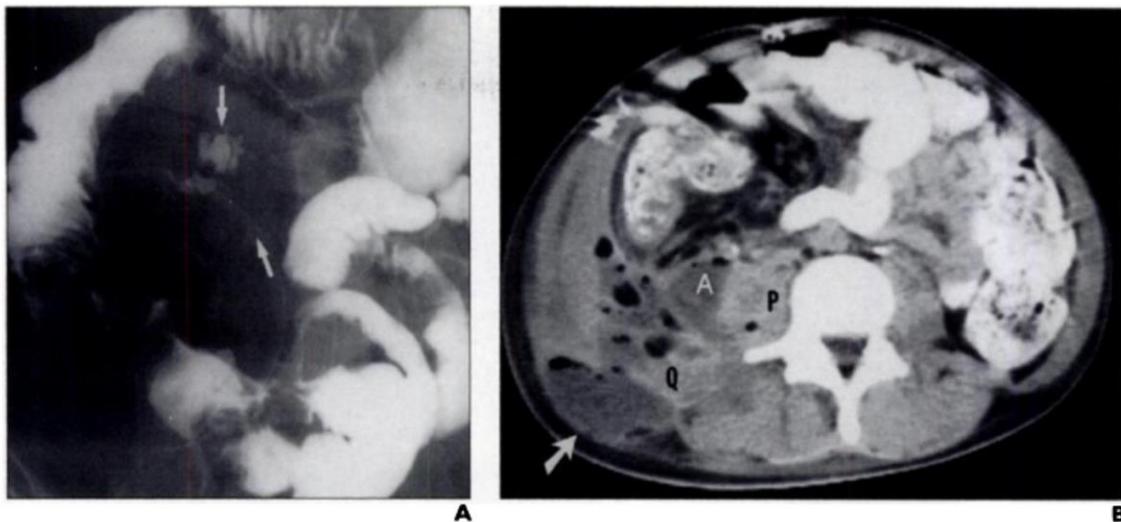


Figura 15. Imágenes obtenidas por TC de enfermedad de Crohn.

A) Deformidad y engosamiento en la redión ileocecal, fistulizada, se observa bario extraluminal.

B) A. Absceso en retroperitoneo que invade la musculatura adyacente (p. psoas, q. músculo cuadrado lumbar) y se extiende a extraperitoneo afectando partes blandas y flanco derecho.

Tomada de Gore RM et. al., 1996.



Figura 16. Pieza anatómica de una colectomía por EC.

Tomada de Collia Avila K, 2017.

3.6. Perspectivas terapéuticas en la EII: Trasplante de microbiota fecal (TFM).

El trasplante de microbiota fecal (TFM) es una intervención terapéutica que consiste en transferir muestras fecales de donantes sanos a los enfermos de EII, con el objetivo de hacer una recolonización del microbioma a fin de restaurar la homeostasis intestinal (Krish P & Ameer P, 2018).

Inicialmente esta técnica fue utilizada para tratar la infección recurrente por *Clostridium difficile* y desde entonces, el interés por esta técnica ha aumentado, con vista a ser utilizada como medida terapéutica en la EII, síndrome del intestino irritable y enfermedades metabólicas como son la diabetes melitus tipo 2 (DM2) y la obesidad (Krish P & Ameer P, 2018).

Estudios recientes sobre el trasplante fecal de microbiota en pacientes con colitis ulcerosa han obtenido resultados muy diversos con tasas de remisión que van desde 0 al 100%.

Hasta la fecha hay dos estudios publicados, randomizados y controlados sobre el empleo de TFM en pacientes con colitis ulcerosa activa.

Moayyedi y colaboradores evalúan las tasas de remisión de CU a las seis semanas tras la intervención con TFM a través de un enema transrectal, una vez a la semana durante seis semanas. En la evaluación se incluyen 75 pacientes, de los cuales 38 son tratados con TFM y 37 con placebo, a las seis semanas la remisión en los pacientes tratados con TFM era del 24% (9/38) y en el grupo control 5% (2/37) (Moayyedi P & Surette MG, 2015).

Rossen y colaboradores evalúan la tasa de remisión en pacientes con CU activa a las 12 semanas tras la realización de TFM mediante una sonda nasoduodenal. En el análisis de datos se observa que, de los 48 pacientes incluidos en el estudio, 23 tratados con TFM y 25 en el grupo control, las tasas de remisión son las siguientes: 30,4% (9/38) en los que recibieron TFM y 20% (5/25) en el grupo control (Rossen NG & Fuentes S, 2015).

Las diferencias obtenidas en los resultados entre ambos estudios pueden explicarse por las diferencias que hay entre ambos.

Los primeros procedimientos en los que se realizaban TFM de manera recurrente en un periodo corto de tiempo, se obtenían unas cifras de remisión mayores que las que se obtenían en aquellos pacientes en los que se alargaba el empleo de esta terapia (Rossen NG & Fuentes S, 2015).

El estudio de Moayedi planteó como una de las conclusiones, que los pacientes con terapia inmunosupresora y aquellos que llevaban menos tiempo con la enfermedad, tenían una mejor respuesta a la intervención. Además, los pacientes que recibían TFM con muestras fecales de donante, obtenían mejores resultados, lo cual indica que la composición de la muestra donada es importante para el éxito de la respuesta terapéutica. Esto es apoyado por otro estudio, que revela que el empleo de enemas generados por la combinación de muestras de entre tres y siete donantes aumentan las posibilidades de éxito de un TFM (Moayyedi P & Surette MG, 2015).

El empleo de esta técnica en los pacientes con EC no está tan estudiado. El estudio de Cui y Feng es el más largo realizado en pacientes con EC refractaria que reciben tratamiento con TFM, se lleva a cabo una sola vez, mediante gastroscopia en el duodeno. Las tasas de remisión obtenidas fueron del 70 % a los tres meses, que cayeron al 60% en los siguientes tres (Cui B & Feng Q, 2015).

Hay muy poca experiencia en torno al TFM especialmente en el tratamiento de la EC. Es muy importante tener en cuenta los efectos secundarios que estas terapias pueden tener, ya que se trata de reestablecer un microbioma el cual aún no conocemos con exactitud.

Conclusiones

El término microbiota hace referencia a un conjunto de microorganismos que se encuentran de manera fisiológica en los organismos pluricelulares. La microbiota ha pasado a considerarse un órgano más ya que esta participa en tareas fundamentales para el correcto funcionamiento del organismo como son el metabolismo y el desarrollo correcto del sistema inmunitario. Una de las microbiotas más importantes es la del tracto gastrointestinal. Alteraciones en su composición, conocidas como *disbiosis*, pueden interferir en la homeostasis gastrointestinal, aumentando la susceptibilidad de padecer enfermedades inflamatorias o incluso cáncer (Figura 17).

La mucosa intestinal tiene un papel clave en el desarrollo de la respuesta inmunitaria. Está formada por un conjunto de células epiteliales bañadas por una capa mucosa que contiene factores solubles antimicrobianos. Además de la función de barrera, es capaz de distinguir entre antígenos inocuos procedentes de los alimentos o bacterias comensales y los procedentes de los patógenos. Sólo cuando la mucosa se pone en contacto con un patógeno se activa la respuesta inmunitaria que puede innata y adquirida. Alteraciones en los mecanismos de tolerancia a antígenos propios están relacionados con la génesis de enfermedades autoinflamatorias.

En vista de la relación existente entre las alteraciones en la microbiota intestinal con el desarrollo de enfermedad inflamatoria intestinal, resultaría de suma relevancia llegar a completar el estudio del microbioma sano mediante técnicas de secuenciación, para poder desarrollar terapias dirigidas al restablecimiento de esta comunidad microbiológica y así poder dejar de lado los tratamientos crónicos como son los corticoides, anti-TNF y otros inmunosupresores que generan iatrogenia al paciente; mayor riesgo de infecciones y tumores, así como las necesidades que tienen estos enfermos de depender de fármacos de por vida y todo lo que esto conlleva.

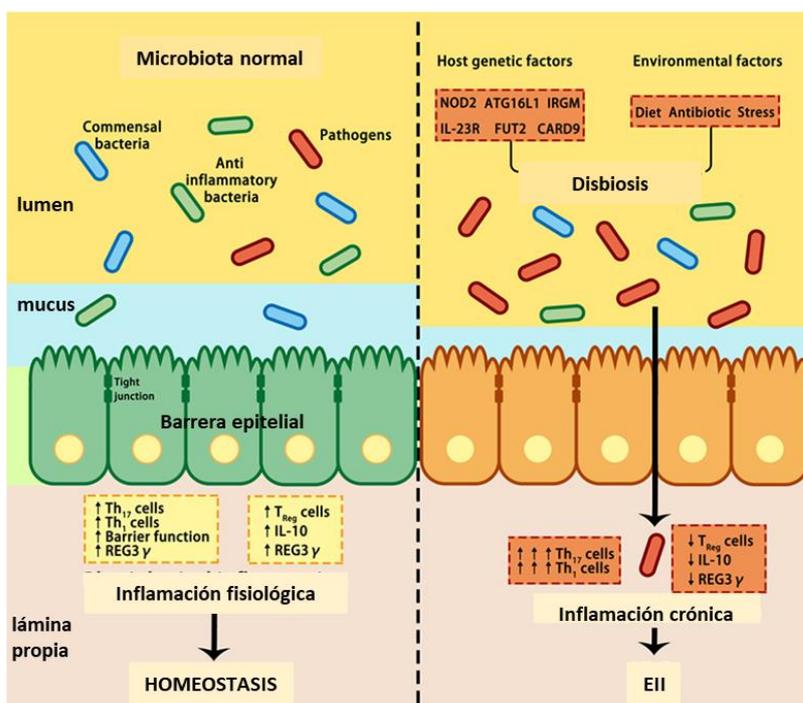


Figura 17. Pérdida de homeostasis intestinal en el desarrollo de EII.

Adaptada de Zhang M, et. al., 2017.

Bibliografía

- Agier J, Efenberger M, Brzezińska-Blaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Cent Eur J Immunol.* 40: 225-235. 2015.
- Ahmed I, Roy BC, Khan SA, Septer S, Umar S. Microbiome, metabolome and inflammatory bowel disease. *Microorganisms* 4: 1-19. 2016.
- Bekiaris V, Persson EK, Agace WW. Intestinal dendritic cells in the regulation of mucosal immunity. *Immunol Rev.* 260: 86-101. 2014.
- Bautista Caro M.B. Estudio sobre la biología de las células Th17 y Tfh en espondiloartritis. Tesis Doctoral. 29-30. 2015.
- Bron PA, van Baarlen P & Kleerebezem M. *Nat Rev Microbiol.* 10: 66-78. 2012.
- Caballero S, Pamer EG. Microbiota mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. *Annu Rev Immunol.* 33: 227-256. 2015.
- Carrion Caballo M. Contribución del sinoviocito fibroblástico a la respuesta inmune articular en artritis reumatoide y artrosis: estudio del efecto modulador del VIP. Tesis Doctoral UCM. 63-70. 2013.
- Castañeda Casimiro J, Ortega Roque JA, Venegas Medina AM, Aquino-Andrade A, Serafín López J, Estrada Parra S. Péptidos antimicrobianos: péptidos con múltiples funciones. *Asma, Alergia e Inmunología Pediátricas.* 18: 16-29. 2009.
- Cerovic V, Bain CC, Mowat AM, Milling SW. Intestinal macrophages and dendritic cells: what's the difference? *Trends Immunol.* 35: 270-277. 2014.
- Chassaing B, Rolhion N, De Vallée A, Salim SY, Prorok-Hamon M, Neut C, Campbell BJ, Söderholm JD, Hugot JP, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Crohn disease – associated adherent-invasive E. coli bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. *J Clin Invest.* 121: 966-975. 2011.
- Chermesh I, Shamir R. *Ann. Nestlé.* 67: 27-38. 2009.
- Cheroutre H. IELs: enforcing law and order in the court of the intestinal epithelium. *Immunol Rev.* 206: 114-131. 2005.
- Clarke TB, Davis KM, Lysenko ES, Zhou AY, Yu Y, Weiser JN. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by NOD1 enhances systemic innate immunity. *Nat Med.* 16: 228-231. 2010.
- Colina F, Ibarrola C, Salamanca J, Alonso GL, & Gil YR. Guía para la interpretación de biopsias endoscópicas con sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática. *Revista Española de Patología,* 47; 161-177. 2014.
- Collia Avila K. Colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. *Rev Argent Coloproct.* 28: 1-3. 2017.

Crivellato E, Vacca A, Ribatti D. Setting the stage: an anatomist's view of the immune system. *Trends Immunol.* 25: 210-217. 2004

Cui B, Feng Q, Wang H, Wang M, Peng Z, Li P, Huang G, Liu Z, Wu P, Fan Z, Ji G, Wang X, Wu K, Fan D, Zhang F. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. *J Gastroenterol Hepatol.* 30: 51-58. 2015.

Dasgupta S, Erturk-Hasdemir D, Ochoa-Reparaz J, Reinecker HC, Kasper DL. Plasmacytoid dendritic cells mediate anti-inflammatory responses to a gut commensal molecule via both innate and adaptive mechanisms. *Cell Host Microbe.* 15: 413-423. 2014.

Doherty TA, Khorram N, Lund S, Mehta AK, Croft M, Broide DH. Lung type 2 innate lymphoid cells express cysteinyl leukotriene receptor 1, which regulates TH2 cytokine production. *J Allergy Clin Immunol.* 132:205-213. 2013.

Timothy KE & Laurent B. Phenotype and functions of conventional and non-conventional NK cells. *Curr Opin Immunol.* 38: 67-74. 2016.

Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, Burberry A, Kuffa P, Suzuki S, Shaw MH, Kim YG, Nuñez G. NLR4-driven production of Il-1beta discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nat Immunol.* 13: 449-456. 2012.

Frey A, Kraehenbuhl JP. Epithelial M cells: gateways for mucosal infection and immunization. *Cell.* 86: 345-348. 1996.

Fujimoto K, Karupuchamy T, Takemura N, Shimohigoshi M, Machida T, Haseda Y, Aoshi T, Ishii KJ, Akira S, Uematsu S. A new subset of CD103⁺CD8 α ⁻ dendritic cells in the small intestine expresses TLR3, TLR7, and TLR9 and induces Th1 response and CTL activity. *J Immunol.* 186: 6287-6295. 2011.

Ganal SC, Sanos SL, Kallfass C, Oberle K, Johner C, Kirschning C, Lienenklaus S, Weiss S, Staeheli P, Aichele P, Diefenbach A. Priming of natural killer cells by nonmucosal mononuclear phagocytes requires instructive signals from commensal microbiota. *Immunity.* 37: 171-186. 2012.

Gemmel F, Dumarey N, Welling M. Future Diagnostic Agents. *Semin Nucl Med.* 39: 11-26, 2009.

González-Parias JL, Duque Giraldo VE, Velásquez-Lopera MM. FOXP3: Controlador maestro de la generación y función de las células reguladoras naturales. *Inmunología.* 29: 74-84. 2010.

Gore RM, Balthazar EJ, Ghahremani GG. & Miller FH. CT features of ulcerative colitis and Crohn's disease. *AJR. Am J Roentgen.* 167: 3-15. 1996.

Goto Y, Panea C, Nakato G, Cebula A, Lee C, Diez MG, Laufer TM, Ignatowicz L, Ivanov II. Segmented filamentous bacteria antigens presented by intestinal dendritic cells drive mucosal Th17 cell differentiation. *Immunity*. 40: 594-607. 2014.

Hadady A, Theodoridis E, Ramsburg E, Shires J. Intraepithelial lymphocytes: exploring the third way in immunology. *Nat Immunol* 2: 997-1003. 2001.

Hansen R, Thomson JM, El-Omar EM, Hold GL. The role of infection in the aetiology of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. 45: 266-276. 2010.

Hansson GC, Johansson ME. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Gut Microbes*. 1: 51-54. 2010.

Hapfelmeier S, Lawson MA, Slack E, Kirundi JK, Stoel M, Heikenwalder M, Cahenzli J, Velykoredko Y, Balmer ML, Endt K, Geuking MB, Curtiss R3rd, McCoy KD, Macpherson AJ. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of Iga immune responses. *Science*. 328: 1705-1709. 2010.

Hepworth MR, Fung TC, Masur SH, Kelsen JR, McConnell FM, Dubrot J, Withers DR, Hugues S, Farrar MA, Reith W, Eberl G, Baldassano RN, Laufer TM, Elson CO, Sonnenberg GF. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4+ T cells. *Science*. 348: 1031-1035. 2015.

Hershberg RM, Mayer LF. Antigen processing and presentation by intestinal epithelial cells -polarity and complexity. *Immunol Today* 21: 123-128. 2000.

Hosokawa I, Hosokawa Y, Komatsuzawa H, Goncalves RB, Karimbux N, Napimoga MH, Seki M, Ouhara K, Sugai M, Taubman MA, Kawai T. Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clin Exp Immunol*. 146: 218-225. 2006.

Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nuñez G.. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through nod2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem*. 278: 5509-5512. 2003.

Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, Finlay BB, Littman DR. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe*. 4: 337-349. 2008.

Ivanov, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, Wei D, Goldfarb KC, Santee CA, Lynch SV, Tanoue T, Imaoka A, Itoh K, Takeda K, Umesaki Y, Honda K, Littman DR. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. 139: 485-498. 2009.

Kamada N, Nuñez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology*. 146: 1477-1488. 2014.

Kawamoto S, Tran TH, Maruya M, Suzuki K, Doi Y, Tsutsui Y, Kato LM, Fagarasan S. et al. The inhibitory receptor PD-1 regulates IgA selection and bacterial composition in the gut. *Science*. 336: 485-489. 2012.

Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 474: 307-317. 2011.

Korem T, Zeevi D, Suez J, Weinberger A, Avnit-Sagi T, Pompan-Lotan M, Matot E, Jona G, Harmelin A, Cohen N, Sirota-Madi A, Thaiss CA, Pevsner-Fischer M, Sorek R, Xavier R, Elinav E, Segal E. Growth dynamics of gut microbiota in health and disease inferred from single metagenomic samples. *Science*. 349: 1101-1106. 2015

Kruglov AA, Grivennikov SI, Kuprash DV, Winsauer C, Prepens S, et al. Nonredundant function of soluble LT α produced by innate lymphoid cells in intestinal homeostasis. *Science*. 342: 1243-1246. 2013.

Kunisawa J, Kiyono H. A marvel of mucosal T cells and secretory antibodies for the creation of first lines of defence. *Cell Mol Life Sci*. 62: 1308-21. 2005.

Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 170: 2-6. 1989.

Lepage P, Häslér R, Spehlmann ME, Rehman A, Zvirbliene A, Begun A, Ott S, Kupcinkas L, Doré J, Raedler A, Schreiber S. et al. Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 141: 227-236. 2011.

Lidell ME, Moncada DM, Chadee K, Hansson GC. Entamoeba histolytica cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel. *PNAS*. 103: 9298-9303. 2016.

Maayan I, Aleksandra AK, Christoph AT, Eran E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol*. 17: 219-230. 2017.

Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijs I, Eeckhaut V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, Ferrante M, Verhaegen J, Rutgeerts P, Vermeire S. A decrease of the butyrate producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 63: 1275-1283. 2014.

Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*. 474: 298-306. 2011.

Man SM, Zhang L, Day AS, Leach ST, Lemberg DA, Mitchell H. *Campylobacter concisus* and other campylobacter species in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Inflam Bowel Dis* 16: 1008-1016. 2010.

Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, Nalin R, Jarrin C, Chardon P, Marteau P, Roca J, Dore J. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut*. 55: 205-211. 2006.

Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, Schilter HC, Rolph MS, Mackay F, Artis D, Xavier RJ, Teixeira MM, Mackay CR. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*. 461: 1282-1286. 2009.

Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 453: 620-625. 2008.

Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 149: 102-109. 2015.

Mondot S, Kang S, Furet JP, Aguirre de Carcer D, McSweeney C, Morrison M, Marteau P, Doré J, Leclerc M.. Highlighting new phylogenetic specificities of crohn's disease microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 17: 185-192. 2011.

Montel AH, Bochan MR, Hobbs JA, Lynch DH, Brahmi Z. Fas involvement in cytotoxicity mediated by human NK cells. *Cell Immunol*. 166: 236-246. 1995.

Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*. 3: 331-341. 2003.

Natividad JMM, Hayes CL, Motta, JP, Jury J, Galipeau, HJ, Philip V, Garcia-Rodenas CL, Kiyama H, Bercik P, Verdu EF. Differential induction of antimicrobial RegIII by the intestinal microbiota and *Bifidobacterium breve* NCC2950. *Appl Environ Microbiol*. 79: 7745-7754. 2013.

Netea MG, Latz E, Mills KH, O'Neill LA. Innate immune memory: a paradigm shift in understanding host defense. *Nat Immunol*. 16: 675-679. 2015.

Norman JM, Handley SA, Baldrige MT, Droit L, Liu CY, Keller BC, Kambal A, Monaco CL, Zhao G, Fleshner P, Stappenbeck TS, McGovern DP, Keshavarzian A, Mutlu EA, Sauk J, Gevers D, Xavier RJ, Wang D, Parkes M, Virgin HW. Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*. 160: 447-460. 2015.

Obata Y, Furusawa Y, Endo TA, Sharif J, Takahashi D, Atarashi K, Nakayama M, Onawa S, Fujimura Y, Takahashi M, Ikawa T, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Tajima S, Masumoto H, Ohara O, Honda K, Hori S, Ohno H, Seki H, Hase K. The epigenetic regulator *uhrf1* facilitates the proliferation and maturation of colonic regulatory T cells. *Nat Immunol*. 15: 571-579. 2014.

O'Neill LA, Golenbock D & Bowie AG. The history of Toll-like receptors — redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 13: 453-460. 2013.

Panduro M, Benoist C, Mathis D. Tissue Tregs. *Annu Rev Immunol.* 34: 609-633. 2016.

Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell host microbe.* 3: 417-427. 2008.

Pitcher MC, Beatty ER, Cummings JH. The contribution of sulphate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulphide in patients with ulcerative colitis. *Gut.* 46: 64-72. 2000.

Rajamuthiah R, Mylonakis E. Effector triggered immunity. *Virulence.* 5: 697-702. 2014.

Ramiro-Puig E., Pérez-Cano, FJ. Castellote, C, Franch A, Castell M. El intestino: pieza clave del sistema inmunitario. *Rev.esp.enferm.dig.* 100: 29-34. 2008.

Resino.S. Defensinas. *Epidemiología molecular de enfermedades infecciosas (EMEI)* 2010. <http://epidemiologiamolecular.com/defensinas/>.

Reuven EM, Fink A, Shai Y. Regulation of innate immune responses by transmembrane interactions: lessons from the TLR family. *Biochim Biophys Acta.* 1838: 1586-1593. 2014.

Rivollier A, He J, Kole A, Valatas V, Kelsall BL. Inflammation switches the differentiation program of Ly6chi monocytes from antiinflammatory macrophages to inflammatory dendritic cells in the colon. *J Exp Med.* 209: 139-355. 2012.

Rossen NG, Fuentes S, Van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JH, Duflou A, Löwenberg M, Van den Brink GR, Mathus-Vliegen EM, de Vos WM, Zoetendal EG2, D'Haens GR, Ponsioen CY. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 149: 110-118. 2015.

Ruiz Sanchez BP, Cruz Zareta D, Estrada Garcia I, Wong Baeza I. Las células linfoides innatas y su papel en la regulación de la respuesta inmune. *Rev Alerg Mex.* 64: 347-363. 2017.

Satsangi J, Siverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut,* 55: 1-15. 2006

Shanahan F. The intestinal immune system. In: Johnson Jr, editor. *Physiology of the gastrointestinal tract.* New York: Raven Press. 643-684. 1994.

Sonnenberg GF, Monticelli LA, Alenghat T, Fung TC, Hutnick NA, et al. Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria. *Science*. 336: 1321-1325. 2012.

Sonnenberg GF, Artis D. Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation. *Nat Med*. 21: 698-708. 2015.

Spits H, Bernink JH, Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: Partners in host defense. *Nat Immunol*. 17: 758-764. 2016.

Stangg A. Dendritic cells tissue specific. British society for immunology. <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/dendritic-cells-tissue-specific>. 2015.

Stecher B, Maier I, Hardt WD. 'Blooming' in the gut: How dysbiosis might contribute to pathogen evolution. *Nat Rev Microbiol* 11: 277-284. 2013.

Suzuki K, Maruya M, Kawamoto S, Sitnik K, Kitamura H, Agace WW, Fagarasan S. The sensing of environmental stimuli by follicular dendritic cells promotes immunoglobulin a generation in the gut. *Immunity*. 33: 71-83. 2010.

Swidsinski A, Weber J, Loening-Baucke V, Hale LP, Lochs H. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol*. 43: 3380-3389. 2005.

Tedelind S, Westberg F, Kjerrulf M, Vidal A. Antiinflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 13: 2826-2832. 2017.

Umesaki Y, Setoyama H, Matsumoto S, Imaoka A, Itoh K. Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system. *Infect Immun*. 67: 3504-3511. 1999.

Vaishnava S, Yamamoto M, Severson KM, Ruhn KA, Yu X, Koren O, Ley R, Wakeland EK, Hooper LV. The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science*. 334: 255-258. 2011.

Van Assche G, Dignass A, Panés J, Beaugerie L, Karagiannis J, Allez M et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 4: 7-27. 2010.

Van-der-Gracht E, Zahner S, Kronenberg M. When insult is added to injury: cross talk between ILCs and intestinal epithelium in IBD. *Mediators Inflamm*. 2016: 1-11. 2016.

Van-der-Post S, Subramani DB, Backstrom M, Johansson ME, Vester-Christensen MB, et al. Sitespecific O-glycosylation on the MUC2 mucin protein inhibits cleavage by the *Porphyromonas gingivalis* secreted cysteine protease (RgpB). *J Biol Chem*. 288: 14636-14646. 2013.

Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, Andersson AF, Lucio M, Zheng Z, Järnerot G, Tysk C, Jansson JK, Engstrand L. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterology*. 139: 1844-1854. 2010.

Xu.P, Bao.B,He.Q ,Peatman.E ,He. C, Liu.Z. Characterization and expression analysis of bactericidal permeability-increasing protein (bpi) antimicrobial peptide gene from channel catfish *Ictalurus Punctatus*. *Develop Comp Immunol*. 29: 865-878. 2005.

Yu X, Rollins D, Ruhn KA, Stubblefield JJ, Green CB, Kashiwada M, Rothman PB, Takahashi JS, Hooper LV. Th17 cell differentiation is regulated by the circadian clock. *Science*. 342: 727-730. 2013.

Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De luca A, Giovannini G, Pieraccini G, Zecchi R, D'Angelo C, Massi-Benedetti C, Fallarino F, Carvalho A, Puccetti P, Romani I. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity*. 39: 372-385. 2013.

Zhang M, Sun K , Wu Y, Yang Y, Tso P, Whu Z. Interactions between intestinal microbiota and host immune response in inflammatory bowel disease. *Front Immunol*. 8: 1-8. 2017.