

Sumario

EDITORIAL

Sumemos esfuerzos

5

HOMENAJE

Centenario del CIRCULO MEDICO DE CÓRDOBA
1910 - 2010

6

ARTICULOS ORIGINALES

El hígado como órgano inmunológico

The liver and immune organ

María Sol Renna, Carlos M Figueredo, Silvia G Correa y Claudia E Sotomayor.

8

Evaluación de marcadores bioquímicos e inflamatorios en pacientes
con alteraciones metabólicas

*Assessment of biochemical and immune markers in patients
with metabolic alterations*

Sabrina S. Neo, Carina Porporatto, Sandra M. Gomez, Silvia G. Correa

22

AAAIC INFORMA

30

COMITÉ EDITORIAL 2010

Editor:

Dra. Alejandra Vich

Co-Editor:

Dra. Marta Sancho

COMITE CONSULTIVO 2010

Dr. Norberto Gallino

Dr. Osvaldo E. Kahn

Prof. Dr. Guillermo E. Lucena

Dra. Gladi P. de Barrionuevo

Dr. Raimundo Camps

Dr. Luis A. Giraudó

Dr. Juan C. Muiño

Dr. Marcelo Garzón Duarte

Dr. Carlos E. Baena-Cagnani

Prof. Dr. Juan C. Copioli

Dr. Luis M. Cibils

Dr. Pedro Vucovich

Dr. Mauricio Reviglioni

Dr. Ricardo Setto

Dra. María C. Minervini

Dra. Cecilia M. Patiño

Dr. Jorge S. Alvarez

Dr. Ricardo J. Saranz

Dra. Silvana Corelli

Dra. Cristina Daraio

Dr. Julio Orellana

Dra. Dora Felipoff de Arab



Secretaría AAAIC

Círculo Médico de Córdoba

Ambrosio Olmos 820 (X5000JGQ)

Córdoba - Argentina - Tel: 54 351 4683134

e-mail: secretaria_aaaic@fullzero.com.ar

COMISIÓN DIRECTIVA AAAIC 2009/2010

Presidente:

Dr. Julio César Orellana

Vicepresidente:

Dr. Fernando Gambarte

Secretaría de Actas y Biblioteca:

Dra. Mónica Marocco

Secretaría Científica:

Dra. Olga Vázquez

Tesorería:

Dra. Alejandra Vich

Secretaría del Interior:

Dra. Perla Merovich

Secretaría de Prensa y Difusión:

Dra. Beatriz Amuchástegui

Vocales:

Dra. Marta Cavallo

Dra. Ma. Cristina Daraio

Dr. Juan Carlos Muiño

Comisión Revisora de Cuentas

TITULAR Dr. Denis Charles

TITULAR Dra. Dora Felipoff de Arab

SUPLENTE Dra. Teresita Barrera

Junta Electoral

TITULAR Dr. Juan Carlos Copioli

SUPLENTE Dra. Susana de Barayzarra

Esta revista se indexa para LILACS - Literatura Latinoamericana de Ciencias de la Salud, base de datos que contiene la producción bibliográfica en Salud, producida por todos los países de la Región de América Latina y el Caribe; esta indización se realiza por la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba y puede consultarse sin costo en <http://www.bvs.org.ar> y en <http://bireme.br> y en <http://www.fcm.unc.edu.ar/biblio/index.html>

ARTE Y DIAGRAMACIÓN

BUNKERCREATIVO
ESPACIO DE IDEAS

Cel: 155383167 / E-mail: camael13@hotmail.com

Edición Trimestral con un suplemento anual
Sociedad de Alergia e Inmunología de Córdoba
Tirada: 1.000 ejemplares

Editorial

Sumemos esfuerzos

Encarar hoy cualquier desafío en nuestro ámbito sin sostener desde un principio que la salud es un bien social, estaría siendo parcial e incompleto.

En una sociedad deteriorada, en un proceso de incertidumbre que genera angustias permanentes, nosotros los médicos, tenemos el rol fundamental de fortalecer el compromiso con la vida.

Compromiso que asumimos y defendemos. Pero que debemos de una vez por todas jerarquizar.

Ese bien social del que hablamos, se jerarquiza con la humanización cotidiana. Sin las recetas prescriptas por tecnócratas gélidos. Ese bien social por el que muchos de nuestro colegas dejaron su marca de sacrificio hoy clama por nosotros. Sus administradores. Los médicos.

Observemos de qué forma el mundo avanzado hoy nos sorprende con sus vuelcos. Económico, sociales, políticos, tecnológicos, etc. No permanezcamos ajenos. Somos nada más ni nada menos que los custodios de la salud; lo primero que se deteriora en una comunidad en crisis.

Es nuestro deber asumirmos como tales. No hay proyecto de desarrollo que se precie de tal, sino tiene edificados sus bases sobre la salud pública y desde allí que se expanda el resto.

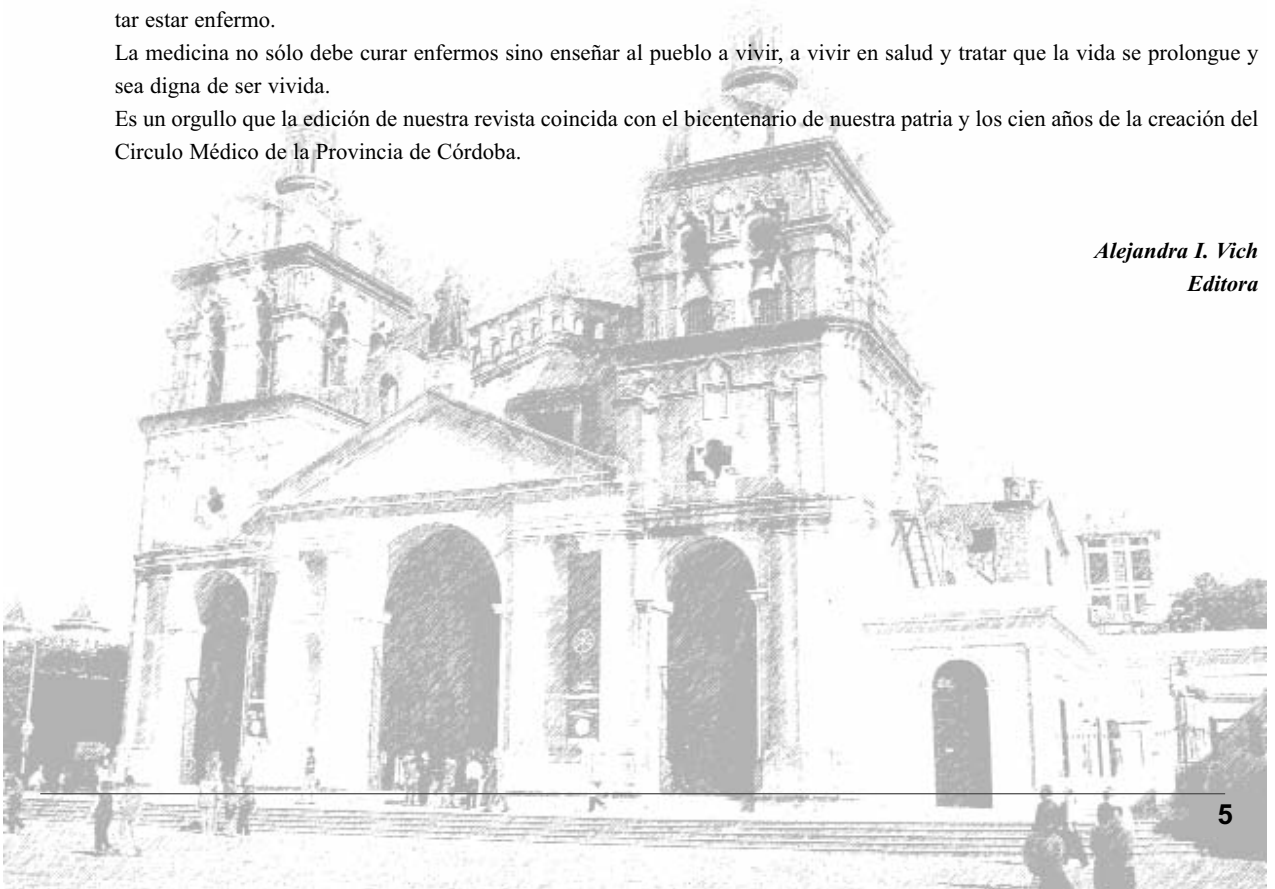
Sin dejar de trabajar para el futuro desde el presente que nos coloca los desafíos, recordemos aquellas frases de Ramón Carrillo, a la hora de opinar de nuestro arte de curar.

La medicina moderna tiende a ocuparse de la salud y de los sanos y el objetivo principal es ya no curar al enfermo sino evitar estar enfermo.

La medicina no sólo debe curar enfermos sino enseñar al pueblo a vivir, a vivir en salud y tratar que la vida se prolongue y sea digna de ser vivida.

Es un orgullo que la edición de nuestra revista coincida con el bicentenario de nuestra patria y los cien años de la creación del Círculo Médico de la Provincia de Córdoba.

Alejandra I. Vich
Editora



Centenario del CIRCULO MEDICO DE CÓRDOBA 1910 - 2010

El 27 de junio de 1910, en el ámbito de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, un grupo de prestigiosos profesionales médicos de nuestro medio, vieron la necesidad de crear una entidad que se dedicara a la promoción del estudio y la investigación científica. De este modo, con el objetivo de lograr un mayor conocimiento del desarrollo y de los continuos progresos de la medicina fundaron el Círculo Médico de Córdoba.

En aquella primera reunión surgieron la redacción de normas y estatutos, en el mes de octubre del año siguiente a través del gobierno de Córdoba, la flamante entidad recibía personería jurídica. Entre los destacados médicos que iniciaron la actividad del Círculo Médico de Córdoba recordamos a los Dres. Luis María Allende, Juan M. Albarenque, Juan F. Cafferata, José María Escalera, Benjamín Galíndez, Ignacio Garayzabal, Tomas Garzón, Clemente Lascano, León S. Morra, Juan Orrico, Ricardo Pederera, Arturo Pitt, José M. Pizarro, Benigno Portela, Guillermo San Román, y Aquiles Villalba.

La entidad hoy nos obliga a destacar la estrecha vinculación que mantiene con las Universidades Nacional y Católica de Córdoba, como así también, con instituciones públicas vinculadas al sector de la salud en la actividad científica y de formación continua de los médicos a través de las distintas Sociedades Médicas Filiales y Huéspedes con que cuenta el Círculo.

La destacada trayectoria del Círculo Médico ha sido posible por el esfuerzo desinteresado de sus socios y en especial, por quienes se desempeñaron en las diferentes Comisiones Directivas de las Sociedades Filiales - Huéspedes, Comisiones Directivas del Círculo Médico y los presidentes de la entidad. Entre ellos, vale destacar a los doctores Juan Cafferata, Tomás Garzón, Antonio Nores, Arturo Pitt, Ramón Gil Barros, José M. Pizarro, Benjamín Galíndez, José C. Lascano, Heriberto Walker, Juan M. Albarenque, Benito Soría, Enrique Martínez, Ramón Brandán, Luis Lezama, Ernesto Romagosa, Antenor Tey, Jorge Orgaz, Carlos Brandán Caraffa, Oscar Orias, Agustín Caeiro, Severo Amuchástegui, Luis Argüello Pitt, Julio C. Pereira, Tomás de Villafañe Lastra, Antonio Juaneda, Juan M. Allende, Eduardo Cafferata, Alfredo Martínez Marull, Julio Frontera Vaca y Carlos A. Remonda, Fernando Cafferata, José Nores Bodereau, Adolfo Moyano Crespo, Miguel Chiappe.

Al celebrarse el 100º aniversario de su fundación el Círculo Médico de Córdoba, continúa empeñado en la labor inicial, promoviendo la educación médica continua, bregando por una medicina actualizada y luchando por profesionales médicos capaces, humanos y honestos, respetuosos de la intimidad y del dolor de sus enfermos.

Las modificaciones realizadas en los estatutos permitieron el ingreso como socios adherentes a profesionales universitarios vinculados al área de la salud, poniendo al Círculo en iguales condiciones que otras instituciones similares a nivel nacional e internacional, modernizando de esta, formas sus estructuras en beneficio del saber.

Actos Conmemorativos

En homenaje a este Centenario, las autoridades del Círculo Médico de Córdoba invitan a socios y amigos a concurrir a las "Jornadas Centenario del Círculo Médico de Córdoba", que se realizarán entre los días 28 del corriente mes hasta el día 2 de Julio de 2010, en horarios matutino y vespertino, con la participación de la mayoría de las Sociedades Filiales - Huéspedes que integran el Círculo Médico, siendo la sede principal el propio Círculo Médico de Córdoba, sito en la calle Ambrosio Olmos 820, Córdoba - Capital. Estas Jornadas han sido declaradas de Interés: MUNICIPAL, PROVINCIAL, UNIVERSITARIO (UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA) - y cuentan con las siguientes ADHESIONES INTITUCIONALES: ACADEMIA ARGENTINA DE CIRUGÍA - ACADEMIA DE CIENCIAS MÉDICAS DE CÓRDOBA - ACADEMIA NACIONAL DE CIENCIAS MORALES Y POLÍTICAS - ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA - ASOCIACIÓN ARGENTINA DE CIRUGÍA - ASOCIACION DE JUBILADOS Y PENSIONADOS DE LOS PROFESIONALES DE LA SALUD DE LA PROVINCIA DE CORDOBA -- ASOCIACION MEDICA ARGENTINA - ASOCIACION MUTUAL DEL MEDICO DE CORDOBA - HOSPITAL PEDIÁTRICO DE NIÑO JESÚS DE CÓRDOBA - HOSPITAL PRIVADO DE CÓRDOBA - MINISTERIO DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA - MUNICIPALIDAD DE CÓRDOBA - FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA - PRENSA MEDICA ARGENTINA- UNIVERSIDAD NACIONAL DE



BUENOS AIRES (UBA).

Los actos de las Jornadas Centenario del Círculo Médico de Córdoba se iniciarán el día **domingo 27 de junio de 2010** con el siguiente programa:

10:30 Hs. Catedral de Córdoba.

Misa Oficiada por el Sr. Arzobispo S.E.R. Monseñor Carlos Nañez.

11:30 Hs. Plaza San Martín.

Ofrenda Floral. Autoridades Provinciales, Municipales y Universitarias.

Palabras del Presidente del Círculo Médico de Córdoba Dr. Jorge Álvarez.

19:30Hs. Teatro Gral. San Martín.

Opera "Lin Cale!" a cargo de la Orquesta Sinfónica de la Provincia y Coro Polifónico de la Provincia de Córdoba.

Continuando el día **28 de Junio**, fecha de inicio de las Jornadas Científicas y del Acto Inaugural, con el siguiente temario:

a las 19:00 Hs.

■ Apertura del Acto: Dr. Jorge Alvarez. Presidente del Círculo Médico de Córdoba.

■ Palabras del Dr. Elías Hurtado Hoyo. Presidente de la Asociación Médica Argentina.

■ "Evocación del centenario del Círculo Médico de Córdoba"

A cargo del Presidente Honorario del Círculo Médico de Córdoba Dr. Alfredo Martínez Marull.

■ Post Conferencia se descubrirá una Placa Recordatoria Ofrendada por la Asociación Médica Argentina, en Homenaje al Centenario del Círculo Médico de Córdoba.

■ Cocktail inaugural

También estarán presentes muestras culturales.

Pronta a celebrar el 100º aniversario de la fundación del Círculo Médico de Córdoba, la institución continúa trabajando intensamente con Sociedades Filiales - Huéspedes y entidades Asociadas, dictando, conferencias, reuniones científicas de las diferentes Sociedades, cursos anuales, bienales, trienales, ciclos de conferencias, cursos de capacitación y de especialización en diferentes disciplinas; con la participación de relatores, locales, nacionales e internacionales.

Siendo para mí un verdadero honor Presidir esta Centenaria y Prestigiosa Institución habiendo trabajado previamente durante años, en la también Prestigiosa Asociación de Alergia Asma e Inmunología de Córdoba.

Dr. Jorge S. Alvarez

Presidente

Círculo Médico de Córdoba



El hígado como órgano inmunológico

The liver and immune organ

María Sol Renna, Carlos M Figueredo, Silvia G Correa y Claudia E Sotomayor

■ Resumen

La prevalencia de enfermedades hepáticas a nivel mundial registra cifras alarmantes. Sólo la infección por malaria afecta a 500 millones de personas por año a nivel mundial. Enfermedades de etiología viral como hepatitis B y C, contribuyen al aumento de la casuística, y por su carácter de patologías de tipo crónico evolucionan a formas severas como la fibrosis o los procesos neoplásicos. La relevancia del hígado como órgano central en la maquinaria metabólica del organismo y como clave participe de la respuesta inflamatoria sistémica, indican la necesidad de preservar sus capacidades funcionales. Durante los últimos años nuevas corrientes de investigación han aportado evidencia sobre los mecanismos inmunológicos intrahepáticos y el delicado equilibrio entre la inducción local de tolerancia vs inmunidad. En el presente artículo se discuten algunos de estos aspectos que permiten entender la complejidad de este sistema y que promueven interrogantes sobre posibles estrategias de manipulación que intenten modificar el curso de las patologías que comprometen la integridad y función hepática.

■ Para citar este artículo:

María Sol Renna, Carlos M Figueredo, Silvia G Correa y Claudia E Sotomayor. El hígado como órgano inmunológico. *Alerg Immunol Clin* 2010; 28 (1-2):8-20.

Inmunología Dpto. Bioquímica Clínica- CIBICI-CONICET
Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

■ Palabras Clave:

Hígado, poblaciones linfoides intrahepáticas, Células de Kupffer, Células hepáticas sinusoidales, Tolerancia intrahepática, Infección por *Candida albicans*.

Introducción

El hígado es el mayor órgano sólido del organismo, dotado de un doble sistema de circulación sanguínea, cumple relevantes funciones metabólicas y de detoxificación. La sangre del tracto gastrointestinal ingresa al hígado por la vena porta y la sangre oxigenada proveniente del sistema circulatorio lo hace a través de la arteria hepática; ambas pasan a través de una red de sinusoides hepáticos para luego dejar el parénquima por medio de la vena hepática central. De esta manera las células del hígado están expuestas a una mezcla productos bacterianos, compuestos tóxicos circulantes y antígenos dietarios

y a un elevado tránsito de células leucocitarias (1, 2). Cerca del 30 % de la sangre total del organismo pasa a través del hígado en un minuto, permitiendo que aproximadamente 108 linfocitos de sangre periférica atraviesen el órgano en 24 h, de modo que células inmunes con diferentes estados de activación recorren constantemente al órgano. A la luz del conocimiento de las nuevas moléculas y mediadores vinculados a la función inmune, la relevancia de los mecanismos inmunológicos clásicos llevados a cabo por este órgano, magnifica su importancia y vislumbra la aparición de nuevos actores en este complejo escenario. Múltiples mecanismos innatos locales, la presencia de células presentadoras de antígeno (CPA) residentes, linfocitos innatos y de memoria, asociados a su particular sistema de circulación, evidencian la capacidad de este órgano de desempeñar funciones inmunológicas relevantes y no sólo asociadas a la detoxificación. En este sentido, la evidencia acumulada evidencia la capacidad del hígado de actuar como órgano linfoide.

Características y particularidades

La unidad morfofuncional básica del hígado es el lóbulo hepático que se encuentra rodeado de una fina capa de tejido conectivo y que posee en su centro a la vena hepática central. La tríada portal de cada lóbulo está constituida por una rama de la arteria hepática, una rama de la vena porta, el conducto biliar y los vasos linfáticos; en esta organización estructural la circulación es de tipo centrípeta (Figura 1). Los hepatocitos (Hp) son las células parenquimales y constituyen el 80% del volumen total del órgano. El Hp cumple funciones importantes en el metabolismo de los aminoácidos, carbohidratos, ácidos grasos, lipoproteínas, proteínas plasmáticas y vitaminas. Para realizar estas funciones, el Hp debe extraer eficientemente nutrientes y desechar productos tóxicos que provienen de la sangre y que circulan a través de los sinusoides hepáticos (2). Dada la relevancia de sus funciones la integridad del Hp debe ser celosamente preservada. La continua exposición a productos tóxicos y a los antígenos extraños que provienen del tracto gastrointestinal y las respuestas de tipo inflamatorio están rigurosamente controladas. El paso de los antígenos por el hígado no es ignorado por el Sistema Inmune, sino por el contrario, se activan poderosos mecanismos de "tolerancia periférica". Se observó que antígenos provenientes de intestino y aloantígenos provenientes de órganos transplantados, inducen en el hígado tolerancia específica de antígeno previniendo el desarrollo de respuesta de hipersensibilidad de tipo demorada (DTH) luego del desafío con el antígeno, o el rechazo del alotransplante respectivamente (4,5). Estos ejemplos ilustran claramente la presencia de una regulación activa de la respuesta inmune en el hígado, favoreciendo el desarrollo de la tolerancia periférica o "no respuesta activa". Sin embargo, ante situaciones de peligro como la presencia de infecciones intrahepáticas por microorganismos patogénicos, es necesaria la activación de mecanismos inmunes protectivos a fin de generar una respuesta efectiva capaz de controlar la infección y prevenir el desarrollo de enfermedad crónica (6).

De acuerdo a estas evidencias el hígado presenta una función dual que consiste en la eliminación de antígenos y microorganismos patogénicos por un lado, y evitar una respuesta inmune contra esos antígenos por el otro. Este fenó-

meno requiere por lo tanto de un delicado balance entre inmunidad y tolerancia. De este modo, es necesario que se desarrolle tolerancia específica para evitar una respuesta inmune innecesaria contra antígenos "inofensivos" que se están eliminando, pero también es necesario el desarrollo de una respuesta inmune eficiente contra patógenos que sí son "peligrosos". Se sabe que la presentación antigénica que realizan las células macrofágicas hepáticas como las Células de Kupffer (CK) y las células endoteliales sinusoidales hepáticas (CES), es críticamente responsable tanto de la inducción de la respuesta inmune local, como así también la inducción de tolerancia (1,2,3). Varios mecanismos de tolerancia pueden operar simultáneamente en el hígado, como el control de la presentación antigénica (ignorancia inmune), delección clonal y la desviación inmune. Una característica de la tolerancia periférica inducida por el hígado es su habilidad de transferir tolerancia desde un ratón tolerizado a uno normal mediante la transferencia adoptiva de leucocitos (5).

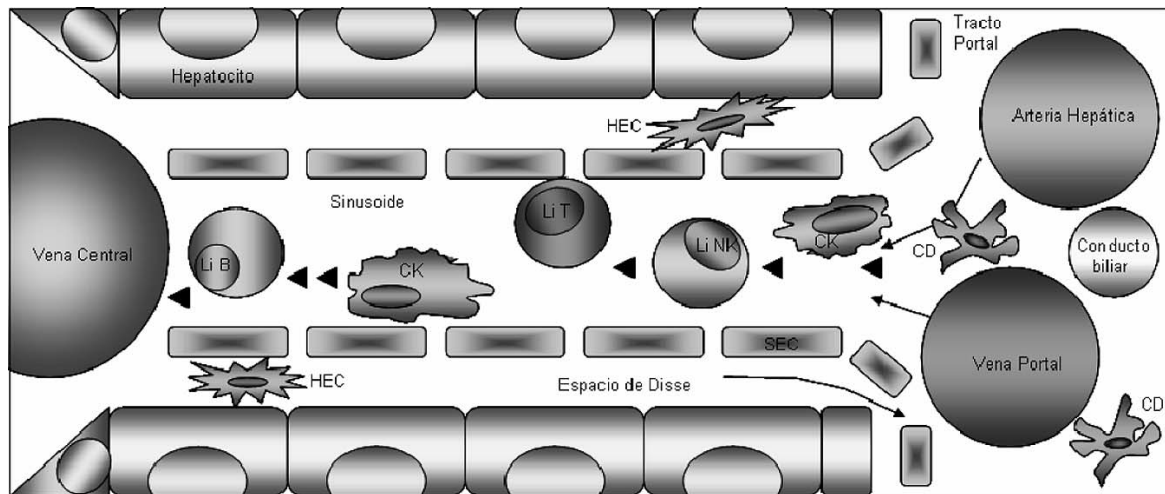
Micro anatomía funcional en el hígado

Además de los hepatocitos, que constituyen el parénquima hepático y representan cerca de los dos tercios (2/3) de la población celular total, el hígado contiene otras poblaciones celulares no parenquimatosas, tales como: CES, las cuales constituyen la pared de los sinusoides hepáticos, CK, consideradas los macrófagos residentes de hígado, células estrelladas (también llamadas Ito o células almacenadoras de grasa), células epiteliales biliares, células dendríticas (CD) y la población linfoide intrahepática (figura 1) (1).

Compartimiento linfoide

Los **linfocitos intrahepáticos** (LIH) se diseminan a lo largo de todo el parénquima hepático y del tracto portal. El hígado humano contiene aproximadamente 10^{10} linfocitos, entre ellos, las células del sistema inmune innato, como los linfocitos NKT y NK y los del sistema inmune adaptativo, como los linfocitos T y B. Dentro de las **células T convencionales** se encuentran los linfocitos T CD4 positivos (LiT CD4+) y T CD8 positivos (LiT CD8+). Ambos constituyen un repertorio diverso de células T con un TCR $\alpha\beta$ (Receptor de la célula T formado por una cadena α y otra

Figura 1: Microanatomía del sinusoide hepático. Dibujo esquemático que muestra la microarquitectura del hígado con las posiciones relativas de las células que lo componen. Modificado de Racenelli y col.2006.



cadena) que reconocen antígenos presentados en el contexto de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) tipo II (para el LiT CD4+) o CMH tipo I (para el LiT CD8+). A nivel local el número de Li T CD8+, exceden en número a los Li T CD4+, y en relación a su función, la frecuencia de células efectoras y de memoria en este órgano es mayor que en la sangre periférica (2,7).

La población de **células T no convencionales** comprende a varios tipos celulares que se pueden clasificar en dos grandes grupos: aquellas células que expresan marcadores para células NK, también llamadas células NKT, y aquellas que no lo expresan. La población de **células NKT** denominadas **NKT clásicas o invariantes** proviene del timo, expresan un repertorio de TCR muy restringido y reconocen antígenos en el contexto de moléculas del CMH no clásico, no polimórfico como es la molécula CD1d. Estas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad se caracterizan por la presentación de antígenos lipídicos y glicolipídicos y se expresan en forma constitutiva en la superficie de los Hp, células dendríticas y células Ito, pudiendo estas poblaciones residentes funcionar como CPA para este linaje de linfocitos innatos. Las células NKT pueden expresar sobre su membrana a la molécula CD4 (CD4+) o carecer de la expresión de las moléculas CD4 y CD8 (dobles negativas). Son más abundantes en hígado que en otros órganos, representando el

30% de la población de linfocitos intrahepáticos (LIH) totales. La mayoría de las células NKT clásicas tienen capacidad citolítica, ejercida a través de dos mecanismos efectoros diferentes: mecanismo secretor, ejercido por la liberación de gránulos y formación de poros en la membrana de la célula blanco y mecanismo no secretor (interacción Fas/Fas-L) mediado por la interacción de glicoproteínas presentes en la célula efectora (Fas-L) y sobre la célula blanco (Fas). La actividad citolítica de esta población es potenciada por IL-12 liberada por CDs y CKs. Otra función característica de los linfocitos NKT es su capacidad de producir rápidamente y de manera simultánea grandes cantidades de las citoquinas INF- γ e IL-4, de este modo estas células son capaces de polarizar la respuesta inmune adaptativa local y sistémica hacia una respuesta proinflamatoria de tipo Th1 o antiinflamatoria de tipo Th2 (8,9,10,11). Se conoce que estas células innatas cumplen un rol importante en el hígado frente a infecciones por bacterias o virus. Recientemente empleando la técnica de microscopía intravital se ha observado a células NKT patrullando continuamente los sinusoides hepáticos y realizando vigilancia inmune en el hígado. Interesantemente, luego de su activación mediante el reconocimiento específico del antígeno a través de su TCR, estas NKT hepáticas dejan de moverse de manera instantánea (12). La razón del enriquecimiento relativo de las células NKT en hígado no se conoce,

pero podría deberse en parte a la alta expresión de la molécula CD1d en las CKs, células Ito y los Hp (11,13). Mientras que algunos autores postulan que la migración y/o expansión de estas células en el hígado esta controlada por la población de linfocitos NK, otros sostienen que las células NKT son activadas primero, promoviendo luego la estimulación de las células NK, gatillando un circuito de retroalimentación positivo.

Las **células NK** representan una población de linfocitos con una potente actividad citolítica contra células infectadas por virus y células tumorales. Su función esta regulada por la presencia de receptores activadores (como el NKG2D) e inhibidores y durante situaciones fisiológicas esta población esta finamente regulada (1). **En ausencia de** señales inhibitorias y en presencia de citoquinas tales como interferones tipo I (INFs tipo I), la unión de los receptores activadores de las células NK con sus ligandos específicos, resulta en la activación de esta población, con la consecuente lisis de las células blanco y la rápida producción de INF- γ . Las

células NK no sólo producen en manera muy temprana esta citoquina, sino que producen cantidades abundantes de la misma, modulando de esta manera la función de otras células vecinas, por ejemplo se estimula la producción de la quemoquina (QQ) CXCL9 por los hepatocitos y las CSH, favoreciendo de esta manera el reclutamiento de linfocitos T en el hígado. Se observó que la IL-12 activa a la población de células NK hepáticas para producir la citoquina INF- γ y que la IL-18 liberada por las CK activa a estos linfocitos innatos para ejercer citotoxicidad dependiente de perforinas. Además de este mecanismo, las células NK pueden ejercer citotoxicidad a través de la expresión de la molécula TRAIL; durante la infección por el virus de la hepatitis B (VHB) este mecanismo de muerte se encuentra exacerbado en los hepatocitos. El efecto antitumoral de las células NKT intrahepáticas ha sido muy bien documentado en varios modelos animales. Los estudios clínicos también siguen que las células NK contribuyen en la defensa innata contra tumores

Estamos cerca cuando vos estás lejos.

Móviles Bancor.
Para que puedas operar en nuestros cajeros automáticos aunque estés en los lugares más distantes de nuestra provincia.



bancor BANCO DE CÓRDOBA

www.bancor.com.ar

0810 777 BANCOR
2 2 6 2 6 7

hepáticos primarios y contra las metástasis hepáticas en pacientes (7). También se reportó que el número de células NK intrahepáticas se encuentra francamente elevado en pacientes con enfermedades hepáticas malignas, constituyendo esta población aproximadamente el 90% de la población linfoide intrahepática. Además una pobre actividad antitumoral por parte de esta población esta asociada con la progresión del carcinoma hepatocelular (1,2).

Dentro de las células T no convencionales, que no expresan los marcadores de NK, se encuentran otro grupo de linfocitos T cuyo TCR esta formado por una cadena γ y una cadena δ , llamados Li T $\gamma\delta$. Este grupo de células representan aproximadamente el 15% de todos los linfocitos T intrahepáticos, siendo el hígado una de las fuentes más ricas de Li T $\gamma\delta$ de todo el cuerpo. Estas células poseen un TCR invariante u oligoclonal que reconoce un rango limitado de antígenos tales como proteínas del estrés y antígenos no proteicos (2,14). Esta población aumenta significativamente a nivel local durante la inducción de tumores hepáticos en modelos de ratones. Esta población de linfocitos innatos también se encuentra aumentada en pacientes con hepatitis virales, pero no en hepatitis de origen no viral. Sin embargo el rol de esta población a nivel hepático no ha sido aún explorado. La evidencia emergente sugiere que los Li T $\gamma\delta$ desempeñarían un rol relevante en los mecanismos de defensa innatos contra virus y bacterias y contra células tumorales en formación.

Células presentadoras de antígenos

El hígado contiene varios tipos de **células presentadoras de antígenos (CPA)** residentes capaces de capturar antígenos que pasan a través de este órgano o aquellos antígenos celulares que se liberan como consecuencia de la muerte de hepatocitos infectados o dañados (1,2,3). Dentro de estas CPA hepáticas se encuentran las CKs, las cuales son miembros del sistema retículo-endotelial, las CES, que representan un tipo inusual de células endoteliales vasculares, y la población de CDs. Estos tres tipos de CPA hepáticas son cruciales para mantener la tolerancia del hígado bajo condiciones no inflamatorias. Los hepatocitos también pueden presentar antígenos a los linfocitos que están infiltrando el parénquima hepático, aunque este rol como células inducto-

ras de la respuesta inmune innata es poco claro, por lo tanto se las considera principalmente como células blanco de la respuesta inmune (15).

Las **células de Kupffer** representan entre el 80% y el 90% de los macrófagos de tejido de todo el cuerpo, y en hígado corresponden al 20% de las células no parenquimatosas (16). Estas células derivan de monocitos circulantes cuyos progenitores provienen de médula ósea. Una vez ubicadas dentro del hígado, las CK residen principalmente en el área periportal dentro del espacio vascular sinusoidal, y su función es la remoción de endotoxinas, de antígenos particulados o de microorganismos que ingresan al hígado a través de la fagocitosis mediada por receptor. Es por ello que estas células expresan una variedad de receptores tales como los receptores para diferentes componentes de la cascada del Complemento, receptores basureros (Scavenger Receptors), Receptor de manosa (RM), RFc δ y diversos Toll like receptor (TLRs), como TLR-2 y TLR-4 (7,17). Su lenta migración a través de los sinusoides hepáticos provoca frecuentes perturbaciones y freno temporal del flujo sanguíneo sinusoidal, facilitando de esta manera el contacto cercano con los linfocitos circulantes (18). Las CK pueden pasar al espacio de Disse, hacer contacto directo con los hepatocitos y fagocitar aquellos que están muriendo por apoptosis (1). Además de su rol como células fagocíticas, estas expresan moléculas del CMH y moléculas coestimuladoras que le otorgan la capacidad para actuar como CPA. Las CKs se activan por varios componentes de las bacterias como lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y los súperantígenos bacterianos. Las citoquinas que estas células liberan son muy importantes ya que pueden modular la diferenciación y proliferación de otros tipos celulares. Liberan citoquinas como IL-10, prostanoídes, óxido nítrico e intermediarios reactivos del oxígeno, capaces de suprimir la activación de los linfocitos T (1,2,5,18,19,20). Pero, por el otro lado, ellas también representan un factor importante en la resistencia del huésped a infecciones primarias y secundarias, debido a que son capaces de iniciar y organizar la primera fase de la respuesta inmune efectiva. Las CKs tienen la capacidad de liberar citoquinas proinflamatorias tales como IL-1 β , IL-6, TNF- α , las cuales participan en el reclutamiento de otras poblaciones

celulares como así también en la inducción de la respuesta inflamatoria y en la organización tisular para la formación del granuloma. Se ha observado que estas citoquinas proinflamatorias, como así también los leucotrienos liberados por las CKs promueven el infiltrado y la actividad microbicida de los neutrófilos (21).

Las **células endoteliales sinusoidales (CES)** representan aproximadamente el 50% de las células no parenquimatosas presentes en hígado. Son un tipo particular de células endoteliales porque presentan fenestraciones, carecen de membrana basal, y se asientan sobre fibras reticulares. Funcionan como una barrera que separa las macromoléculas y los leucocitos presentes en el lumen del sinusoides con los hepatocitos, previniendo, de esta manera, el contacto directo entre ambos tipos celulares (22). Las CES expresan en su superficie PRRs (receptores de reconocimiento de patógenos) como el RM y los receptores basureros que le permiten remover de la circulación desechos coloidales o macromoleculares solubles (menores que 100 nm) de manera rápida y eficiente (3,6). Otra característica importante de las CES es que expresan toda la maquinaria necesaria para realizar la presentación antigénica como son las moléculas de CMH tipo I y II y moléculas coestimuladoras CD40, CD80 y CD86. Estas CES realizan la endocitosis de antígeno mediada por receptores y o la fagocitosis, el procesamiento y la presentación antigénica con la misma eficacia que lo hacen las CDs (1,3,6). Sin embargo, cuando se las activa con ligandos del receptor TLR-4, liberan la citoquina IL-10 y disminuyen sus funciones de CPA, generando como efecto final Li T tolerogénicos (2). Por ello, cuando se purifican CES de ratones que recibieron ovo albúmina de manera parenteral u oral, y se las enfrenta con Li T, estas células son capaces de inducir Li T CD4 regulatorios o Li T CD8 tolerogénicos (23).

Las **células dendríticas residentes de hígado** provienen de médula ósea y se localizan alrededor de la vena central y el tracto portal. Este órgano contiene tanto CDs plasmocitoides (CDsp) como CDs mieloides (CDsm), siendo las primeras más abundantes hígado que en los tejidos linfoides. Estas CDsp constituyen la mayor fuente de INF- α , importante para los mecanismos inmunes innatos del hígado, pero, además tienen la capacidad de sintetizar las citoquinas IL-10

e IL-12. En ratones tratados con LPS, esta población celular produce menos cantidad de la citoquina IL-12 y tiene una menor capacidad de CPA comparado con CDsp de bazo. En un hígado sano, predominan CDs con un fenotipo inmaduro y una alta capacidad para capturar y procesar antígenos. Debido a que las CKs y CES expresan constitutivamente y secretan las citoquinas IL-10 y TGF- β y que estas citoquinas además se inducen en células hepáticas estrelladas, en el hígado se genera un microambiente capaz de inducir CDs residentes tolerogénicas (24,25). En su estado nativo, estas CDs pueden inhibir la proliferación y producción de citoquinas en linfocitos activados que infiltran el parénquima hepático a través de la expresión de la molécula CTLA-4 y PD-1 (este último es un receptor que modula la señal del Li T a través de su TCR) (26). Pero, cuando las CDs se activan, disminuyen estos receptores y aumentan la capacidad de migrar a través del espacio de Disse, por los vasos linfáticos del tracto portal, hasta llegar a los nódulos linfáticos extrahepáticos para generar la respuesta inmune (2).

Las **células hepáticas estrelladas o células Ito** residen en el espacio subendotelial o espacio de Disse y representan el mejor sitio de almacenamiento para la vitamina A. Estas células pueden regular el flujo sanguíneo del sinusoides hepático y durante el proceso de fibrosis hepática se pueden diferenciar a miofibroblastos (3). Estudios recientes sugieren que estas células también forman parte de las CPA del hígado ya que expresan las moléculas del CMH tipo I y II, la molécula de CD1d y poseen el potencial de responder a señales inmunes innatas, como por ejemplo el LPS, debido a que expresan TLR-4 y la molécula MD2. En estudios realizados ex vivo, se demostró que estas células estrelladas pueden activar a linfocitos NKT y linfocitos T clásicos, aunque también tienen la capacidad de inactivar a los linfocitos T llevando a la tolerancia debido a que también expresan la molécula inhibitoria PD-L1 (27,28).

De los conceptos antes vertidos emerge la noción que en el microambiente intrahepático se favorece la inducción de tolerancia inmune más que la inducción de respuesta inmune. Localmente los niveles basales de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 y TGF- β y la presentación antigénica efectuada por CPAs residentes están preparadas para

realizar presentación antigénica que promueva la inducción de la tolerancia. La conjunción de mediadores solubles y la función inmune de ciertas poblaciones sería el responsable de la "no respuesta" a los antígenos provenientes del tracto gastrointestinal, como así también a la aceptación del transplante de órgano. Sólo cuando microorganismos patogénicos arriban al hígado, es necesario que se monte una eficiente respuesta inflamatoria para poder así eliminar al patógeno y evitar el desarrollo de infección (1, 3, 4).

Influencia del microambiente hepático en la función de las CPA del hígado y en la inducción de tolerancia

El microambiente hepático se caracteriza por la presencia de antígenos bacterianos como el LPS, componente principal de la pared de las bacterias Gram negativas, provenientes del tracto gastrointestinal y mediadores que liberan las células hepáticas en respuesta a estos antígenos. La concentración de LPS en la vena porta varía entre 10 pg/ml hasta 1 ng/ml, y como consecuencia de la activación que induce este polisacárido bacteriano, diferentes poblaciones celulares hepáticas liberan mediadores para inmunomodular la respuesta y por ello es eliminado eficientemente de la circulación sinusoidal por CSH y CKs (2,3,6). En los tejidos extrahepáticos el LPS produce activación del sistema inmune, debido a que es reconocido por el receptor TLR-4 y su unión induce la producción de citoquinas proinflamatorias, de quemoquinas y el inicio de la respuesta inflamatoria. Un dato importante de destacar es que el LPS en el hígado no induce una respuesta inmune inflamatoria (6). El efecto negativo del LPS en la presentación antigénica de las CSH y CKs se debe a que induce alcalinización del compartimiento endosomal/lisosomal, este efecto no ocurriría en CPAs presentes en otros tejidos. Por otro lado, se observó que CKs y CSH, que fisiológicamente expresan TGF- β , cuando se las enfrentan con LPS aumentan la expresión de esta citoquina con potente actividad inmunosupresora. En resumen, la presentación antigénica de CKs y CSH está estrictamente regulada por factores del microambiente hepático y por una única respuesta de estas células hacia estos factores, induciendo de esta manera una respuesta tolerogénica (3).

Varios reportes demostraron que las CKs expresan IL-10 en respuesta a concentraciones fisiológicas de LPS y que esta expresión es autoregulada por un feed back negativo. Como las CKs se ubican principalmente en el área periportal, liberan IL-10 al lumen sinusoidal para que el flujo sanguíneo la distribuya a través de los sinusoides (28). Esta citoquina interfiere en la presentación antigénica que realizan las CKs y CSH a los linfocitos T CD4 positivos, debido a que disminuye la endocitosis mediada por receptor, la expresión de las moléculas MHC tipo II y las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86. Para realizar este efecto es necesaria la presencia de la IL-10 cuando las CPA captan el antígeno y cuando interactúan con los linfocitos T, de esta manera, el potencial inmunoregulatorio de la IL-10 en hígado estaría restringido al tiempo en que esta citoquina está presente en los sinusoides. Una vez eliminada, no podría influir en el desarrollo y calidad de la respuesta inmune hepática. Por otro lado, también se observó que las CKs y las CES expresan constitutivamente prostanooides y, luego del contacto con LPS aumentan su producción. Además, a medida que aumenta la concentración de PGE2, disminuye la capacidad de las CES de activar a los Li T, demostrando otro mecanismo autócrino y parácrino en el control de la presentación antigénica por las CSH. Sorprendentemente CKs, en respuesta a concentraciones fisiológicas de LPS, producen TNF- α y esta citoquina es capaz de disminuir, de manera dosis dependiente, la activación de los linfocitos T CD4+ por las CSH. Por todo ello se podría concluir que los mediadores celulares que liberan las CKs actuarían de manera autócrina, pero también de forma parácrina en la inhibición de la activación de los linfocitos T por las CSH, induciendo de esta manera una respuesta tolerogénica que normalmente está presente en el hígado (29,30).

La activación policlonal de los linfocitos T en el hígado es sumamente perjudicial, y remarca la importancia de los mecanismos locales de regulación para limitar esta función accesorias y la presentación antigénica de las CSH y CKs en el hígado.

La inducción de tolerancia en el hígado puede ser debido a la delección específica de los linfocitos T o a la desviación de la respuesta inmune. Linfocitos apoptóticos cambian la expresión de las glicoproteínas de membrana y de esta

manera son reconocidos por CSH a través de receptores como el RM (17). Esto demostraría que estas células son capaces de endocitar linfocitos apoptóticos en el hígado mediante un proceso activo de captación mediada por receptores y no mediante un proceso inespecífico. Por otro lado, si la apoptosis es la responsable de la inducción de tolerancia periférica en el hígado, se debería esperar que esta muerte celular programada sea localmente inducida en el hígado. Se ha visto que CSH, CK y los hepatocitos median la apoptosis de las células T (3), indicando que la apoptosis específica de antígeno en el hígado sería un prerrequisito para la inducción de tolerancia periférica y un mecanismo de inmunoregulación en el hígado. Es importante destacar que la población de linfocitos intrahepáticos, entre ellos las células NKT, deberían ser intrínsecamente resistentes a la apoptosis o recibir del micro ambiente hepático las señales necesarias para prevenir la apoptosis.

Respuesta inmune en el hígado

Se demostró que CKs cooperan con los neutrófilos en la eliminación de bacterias de la circulación, y como consecuencia de este mecanismo eficiente, es raro que ocurran infecciones bacterianas en el hígado. Los mecanismos que utilizan las CKs y los neutrófilos para eliminar patógenos son rápidos y se complementan unos a otros, requisito importante para enfrentar al microorganismo y para evitar el desarrollo de infección (4). Sin embargo, existen varios patógenos no citopáticos que logran penetrar y replicarse en el hepatocito, y una vez que lo infectan escapan del control de las CKs, los linfocitos NK y los leucocitos circulantes, protegiéndose de esta manera del sistema inmune hepático utilizando la posición inmuno privilegiada del hepatocito. Solamente cuando los linfocitos T se activan y hay desarrollo de infección en el hígado, se genera una respuesta inmune capaz de agredir a los hepatocitos generando daño o hepatitis (31). Se podría postular que las CES protegen a los hepatocitos de los leucocitos que circulan por los sinusoides hepáticos y que se necesita un daño severo en las células hepáticas junto con la liberación de mediadores, para romper la barrera de las CSE y dejar a los hepatocitos expuestos a los linfocitos T efectores (30,31). En la mayoría de las infecciones de los hepatocitos, el patógeno puede replicarse

en su interior e iniciar la liberación de antígenos (por ejemplo, la liberación del antígeno B de superficie desde los hepatocitos infectados por el virus de la hepatitis B, (VHB). Se sabe que el control inmune de las infecciones intracelulares es llevado a cabo principalmente por los linfocitos T CD8 positivos (6,32).

Un interesante tópico de discusión está referido a la capacidad de las CDs residentes de hígado para realizar una eficiente presentación antigénica local, o si tienen que migrar hacia los nódulos linfáticos drenantes para poder hacerlo. Se conoce que la activación de los linfocitos T específicos de antígeno ocurre en los nódulos linfáticos que drenan al sitio de infección, y que CDs toman antígenos de patógenos que tienen tropismo por el hígado y migran a los nódulos linfáticos regionales para contactar con linfocitos T vírgenes. Una vez que estos linfocitos se activan, migran a través de la circulación sanguínea hacia el hígado donde van a ejercer su función efectora. Teniendo en cuenta otra alternativa, se puede pensar que también se realiza la presentación antigénica localmente, es decir que CDs residentes de hígado podrían presentar los antígenos in situ y activar a linfocitos T vírgenes que infiltran el parénquima hepático (1,2).

Los receptores TLRs juegan un rol importante en muchas infecciones microbianas del hígado, como las que producen las especies de *Listeria*, *Salmonella* y *Plasmodium*. *Listeria monocytogenes* infecta preferentemente el hígado y se replica en los hepatocitos y las CKs, estas últimas, cuando se infectan, secretan citoquinas proinflamatorias, tales como TNF- α e IL-12 de una manera dependiente del receptor innato TLR-2 y de la molécula adaptadora MyD88. Se observó que ratones deficientes en la molécula adaptadora MyD88 tienen un alto grado de mortalidad cuando se los infecta con *L. monocytogenes*, debido a que no son capaces de desarrollar una respuesta inflamatoria eficiente y eliminar al patógeno. Por otro lado, ratones deficientes en TLR-2 tienen bajos niveles de citoquinas proinflamatorias, pero una normal eliminación de la bacteria comparado con ratones controles, sugiriendo que este receptor innato está involucrado en la producción de citoquinas proinflamatorias y que múltiples PRRs contribuirían a la erradicación de *L. monocytogenes* (17).

La infección por *Salmonella Typhimurium* induce a

través del receptor TLR-4 una respuesta antimicrobiana mediada por la producción de ON que conduce a la formación del granuloma y a la eliminación de esta bacteria por las CKs. La infección por *Salmonella choleraesuis* induce en células NKT un aumento en la expresión de la molécula Fas-L, a través del receptor TLR-2, contribuyendo de esta manera a la injuria hepática observada. Sin embargo, se demostró que la erradicación de esta bacteria depende de los receptores TLR-2 y TLR-4, y que la estimulación del receptor TLR-9 inhibe el crecimiento intracelular de *S. choleraesuis*, sugiriendo de esta manera que muchos TLRs están involucrados en la infección por *Salmonella* (33).

Por otro lado, se ha visto que tanto en ratón como en humanos, la infección por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium berghei* respectivamente, agentes etiológicos de la infección por malaria, presentan daño en el hígado, infiltrado linfocitario y muerte de los hepatocitos, y esto depende de la producción de IL-12 inducida por la señal dada por el receptor TLR-2 y la molécula adaptadora MyD88 (Sky)(17).

Respuesta de linfocitos T convencionales en el hígado

La respuesta inmune de la mayoría de los patógenos con tropismo por hígado, se asocia con una fuerte y duradera respuesta de LiT CD4+ y CD8+. Los mecanismos efectivos de estos últimos abarcan la producción de citoquinas tales como INF- γ y TNF- α y mecanismos citolíticos, los cuales incluyen la liberación del contenido de sus gránulos tales como perforinas y granzimas y la inducción de apoptosis por la vía Fas/Fas-L, llevando de esta manera a la muerte por apoptosis del hepatocito. Se ha descrito que los Li T CD8+ son reclutados y/o atrapados en el hígado independientemente del antígeno para el cual son específicos, pero sólo proliferan rápidamente cuando hay un reconocimiento específico del mismo (34,35). En una primera etapa se produce la secreción de citoquinas mientras que la expresión de granzima B y la citotoxicidad aparecen más tardíamente pero se mantienen en el tiempo. En modelos de hepatitis B aguda murina, se observó que la disminución en la producción de INF- γ por los Li T CD8+ coincide con el aumento en la expresión de la molécula PD-1 en estas células. Su respectivo

ligando, la molécula PD-L1, se expresa constitutivamente en las CES y CKs, sugiriendo que estas CPA residentes de hígado activamente disminuyen las funciones específicas de los linfocitos T activados que infiltran el parénquima hepático (31,32).

Un modelo de injuria hepática muy utilizado es la administración intravenosa de concanavalina A (Con A), una lectina tipo glicano derivada de las plantas, que es capaz de inducir necrosis masiva en el hígado, infiltrado linfocitario, gran cantidad de hepatocitos apoptóticos y aumento en el suero de las transaminasas hepáticas. Esta injuria hepática se puede prevenir mediante el pretratamiento con dexametasona (DEX), un glucocorticoide que actúa como inmunosupresor, indicando que la injuria hepática estaría asociada con la respuesta inmune en el hígado, más precisamente estaría mediada por los Li T CD4+ (36,37).

Se sabe que los linfocitos T CD4+ son importantes en la formación del granuloma a nivel hepático para lograr una eficiente eliminación del microorganismo. Se ha demostrado que ratones deficientes en células T forman una lesión inflamatoria leve que es incapaz de controlar el crecimiento de la bacteria *Mycobacterium bovis* o su diseminación a través de los macrófagos infectados. Luego de la transferencia adoptiva de linfocitos T CD4+ se logró reconstituir la formación del granuloma en estos animales. El mecanismo exacto para la fase inicial en la formación del granuloma todavía no ha sido dilucidado, pero existe evidencia que la citoquina TNF- α y otras quemoquinas juegan un rol crucial, y que dependiendo del microorganismo del que se trate, las quemoquinas involucradas pueden ser diferentes (38,39). Ha sido demostrado que en animales inmunocomprometidos infectados con *C. albicans*, el estado inmuno supresivo del huésped retarda la organización tisular y la formación del granuloma (40) Rodríguez-Galán y col. 2003)

Respuesta inmune de linfocitos no convencionales

Mucha es la bibliografía que demuestra que los linfocitos NK intrahepáticos juegan un rol importante en la respuesta inmune innata frente a tumores, virus, bacterias intracelulares y parásitos. La acción antitumoral de los linfocitos NK en el hígado se realiza mediante la inducción directa de

muerte en la célula tumoral y mediante la inducción de inmunidad específica anti-tumoral (41). Por otro lado, se demostró que la activación de las células NK estaría involucrada en el daño, la fibrosis y también en los procesos de reparación hepática. (42,43) Estos datos indicarían que las células NK juegan en hígado, un rol importante en la respuesta inmune innata frente a patógenos, pero también pueden contribuir a la patogénesis de la enfermedad hepática.

Otra población celular abundante en el hígado son los linfocitos NKT, los cuales juegan un papel importante en la respuesta frente a virus, bacterias y también en la respuesta antitumoral local. El rol de estos linfocitos NKT intrahepáticos en la batalla frente a microorganismos es variable y depende de cada patógeno en particular, debido a que estas células pueden proteger o generar daño a nivel hepático. Los mecanismos que conducen a la activación de los linfocitos NKT involucran mecanismos clásicos, no clásicos, mediante el reconocimiento de compuestos glicolipídicos endógenos y mecanismos donde participan TLR y citoquinas como la IL-12. La capacidad moduladora de esta población celular constituye una interesante herramienta a la hora del diseño de estrategias terapéuticas y en este momento concentra la atención de numerosos grupos de investigación (40).

Respuesta inmune intrahepática durante la infección por *Candida albicans*

C. albicans es integrante de flora gastrointestinal en individuos inmunocompetentes y cuando el delicado equilibrio entre este patógeno oportunista y su huésped se rompe, *C. albicans* abandona su faz levaduriforme, da inicio a su morfogénesis y despliega un programa transcripcional de genes, manifiesto a través de la producción de distintos factores de virulencia a que promueven la colonización del huésped. El hígado constituye una importante barrera de control durante la diseminación endógena de *C. albicans* de origen gastrointestinal (44). También se ha descrito que este órgano puede ser colonizado a partir de la contaminación de catéteres de individuos que practican diálisis peritoneal ambulatoria y en pacientes neutropénicos. La evidencia indica que este órgano puede ser consi-

derado un órgano "target" durante las etapas tempranas de esta (45). En el transcurso de esta última década, como hemos referido numerosas investigaciones han aportado evidencias a cerca de novedosos roles para las numerosas poblaciones residentes a nivel hepático; en este órgano coexisten células con capacidad de CPA, que expresan numerosos receptores innatos, poblaciones linfoides innatas y convencionales y un microambiente rico en citoquinas capaz de modular y controlar las funciones vitales que se encuentran a su cargo. Un delicado equilibrio entre tolerancia y respuesta convergen en este sitio. El estudio de los mecanismos locales de respuesta durante la infección y las interacciones entre el patógeno y el huésped en este nicho tan particular constituyen un verdadero desafío.

Nuestro grupo de trabajo desarrolló un modelo in vivo de candidiasis que permite evaluar el rol de los mecanismos innatos de control durante la diseminación del hongo, así como de los factores de virulencia liberados por el patógeno en esta etapa. En este modelo, el hígado desempeña un rol clave, no sólo como primera barrera durante la funguemia sino por su capacidad de condicionar la progresión de la infección. A nivel hepático se observaron importantes hallazgos (46,47,48). Luego de la administración el hongo fue capaz de colonizar el hígado y ambos morfotipos fúngicos se visualizaron infiltrando el parénquima hepático. Durante las etapas tempranas de la infección, la lesión tisular estuvo caracterizada por presencia de infiltrado de $N\phi$, linfocitos y por la activación de histiocitos y células de CKs hiperplásicas (40). Los animales infectados con *C. albicans* desarrollaron una eficiente respuesta granulomatosa, controlando y limitando el crecimiento del hongo. Un signo histopatológico distintivo asociado a la presencia del patógeno fue la aparición de una marcada estatisis. El depósito lipídico en el citoplasma de los hepatocitos es considerado un importante signo de injuria hepática en modelos experimentales y en la patología clínica, y correlaciona con la severidad del daño (46). En huéspedes infectados con el hongo se observó presencia de esteatosis microvesicular difusa (47), elevados niveles de transaminasas, de gammaglutamintranspeptidasa y peroxidación lipídica estuvieron asociados a la infección

(48). Importantes cambios en el metabolismo de la L-arginina fueron detectados como el aumento de la producción local de ON y arginasa.

Durante la colonización del hígado por este patógeno fúngico observamos una marcada expansión de la población linfoide intehepática durante las etapas tempranas del proceso. Cuando las poblaciones de células CD3+ (LiT), células NK y NKT fueron estudiadas se observaron perfiles particulares de respuesta para cada una de ellas. Interesantemente la población de linfocitos NKT se moviliza en respuesta a la colonización hepática por el hongo, lo que constituye un hecho relevante puesto que al presente se desconocía su rol en la candidiasis. Asociado al arribo de *C. albicans* al hígado observamos un aumento en los transcritos que codifican para las citoquinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF-alfa y para las quemoquinas CCL-2, CCL-4 y CXCL-8, indicando la participación activa de las células residentes intrahepáticas. Los mediadores inflamatorios asociados al reclutamiento linfoide contribuyen a la formación del granuloma. Nuestros estudios también revelaron que el microambiente local rico en citoquinas tolerogénicas como IL-10 y TGF-Beta se modificó en respuesta a la colonización por el patógeno.

La profundización de los estudios sobre el rol de los linfocitos innatos NKT frente a *C. albicans* evidenciaron que mientras que en un hígado estéril existe un mayor porcentaje de linfocitos NKT productores de IL-4 perteneciente el perfil de respuesta tipo Th2, luego de la colonización por el hongo se produjo un aumento de las células productoras de INF- γ . Células NKT purificadas por "cell sorting" de hígados de animales infectados produjeron abundantes cantidades de INF- γ , citoquina perteneciente al perfil Th1 y asociada al perfil de respuesta protectora frente a este patógeno. Los estudios referidos y otros complementarios efectuados en este modelo aportan novedosa evidencia respecto al rol de esta población linfoide innata en candidiasis y sugieren un rol protector en la patogenia de esta micosis.

Comentarios finales

La evidencia acumulada y creciente respecto a las capacidades funcionales de las células residentes locales, la disposición microanatómica particular y la ductilidad de sus funciones, avizora los delicados mecanismos regulatorios que convergen a nivel hepático a fin mantener el equilibrio entre tolerancia vs. respuesta inmune. En este complejo escenario que puede ser blanco de diferentes infecciones virales, parasitarias y fúngicas, enfermedades autoinmunes y procesos neoplásicos, el conocimiento profundo del rol de los mecanismos inmunológicos innatos y adaptativos constituye un verdadero desafío y formula nuevos interrogantes sobre posibles estrategias de manipulación que intenten modificar el curso de las patologías que comprometen la integridad y función hepática.

Agradecimientos

La licenciada MS Renna es Becaria Doctoral de SECYT y alumna de la carrera Doctoral de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNC. El Licenciado CM Figueredo es becario de CONICET y alumno de la carrera Doctoral de la Facultad de Ciencias Química de la UNC. La Dra Silvia Correa y la Dra CE Sotomayor son Prof Asociada de Inmunología e Investigadoras Independientes de CONICET. Los estudios de este grupo de investigación han sido subsidiados por diferentes entidades de Ciencia y Tecnología, PICT-2006 02423 FONCYT, PIP- CONICET y SECYT-UNC.

Correspondencia

Dra Claudia E Sotomayor
Prof. Asociada de Inmunología.
Investigadora Independiente-CONICET.
Inmunología Dpto. Bioquímica Clínica-
CIBICI-CONICET
Facultad de Ciencias Químicas. UNC.
csotomay@mail.fcq.unc.edu.ar

Bibliografía

1. Racanelli V and Rehermann B. The liver as an Immunological Organ. *Hepatology*. 2006. 43: S54-S62.
2. Crispe IN. The liver as a lymphoid organ. *Annu. Rev. Immunol.* 2009. 27: 147-163.
3. Knolle P A and Gerken G. Local control of the immune response in the liver. *Immunological Reviews*. 174: 21-34.
4. Gorczyński RM. Adoptive transfer of unresponsiveness to allogeneic skin grafts with hepatic + T cells. *Immunology*. 1994. 81: 27-35.
5. Gorczyński RM, et al. Prolongation of rat small bowel or renal allograft survival by pretransplant transfusion and/or by varying the route of allograft venous drainage. *Transplantation* 1994. 58: 816-820.
6. Knolle PA, Limmer A. 2001. Neighborhood politics: the immunoregulatory function of organ-resident liver endothelial cells. *Trends Immunol.* 22:432-37
7. Gao B, Jeong WH, Tian Z. Liver: An organ with predominant innate immunity. 2008. *Hepatology*. 47: 729-736.
8. Van Kaer L. NKT cells: T lymphocytes with innate effector functions. 2007. 19:1-11
9. Tupin E, Kinjo Y and Kronenberg M. The unique role of natural killer T cells in the response to microorganisms. *Nature Reviews. Microbiology*. 2007. 5:405-417
10. Matsuda JL, Mallevaey T, Scott-Browne J and Gapin L. CD1d-restricted iNKT cells, the "Swiss-Army knife" of the immune system. *Current Opinion in Immunology*. 2008. 20: 358-368.
11. Bendelac A, Savage PB and Teyton L. The biology of NKT Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2007.
12. Tu Z, Bozorgzadeh A, Crispe IN, Orloff MS, 2007. The activation state of human intrahepatic lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 149: 186-193.
13. Awain MG. Hepatic NKT cells: friend or foe?. 2008. 114: 457-466.
14. Welsh RM, Lin MY, Lohman BL, Varga SM, Zarozinski CC, Selin LK. Alpha beta and gamma delta T-cell networks and their roles in natural resistance to viral infections. *Immunol Rev* 1997;159:79-93.
15. Bertolino P, Trescol-Biemont MC, Rabourdin-Combe C. Hepatocytes induce functional activation of naive CD8⁺ T lymphocytes but fail to promote survival. *Eur J Immunol* 1998;28:221-236.
16. Mackay IR. Hepatoimmunology: a perspective. *Immunol Cell Biol* 2002; 80:36-44.
17. Seki E and DA. Brenner. Toll-Like Receptors and Adaptor Molecules in Liver Disease: Update. *Hepatology* 2008;48:322-335.
18. MacPhee PJ, Schmidt EE, Groom AC. Intermittence of blood flow in liver sinusoids, studied by high- resolution in vivo microscopy. *Am J Physiol* 1995;269:G692-G698.
19. Roland CR, Walp L, Stack RM, Flye MW. Outcome of Kupffer cell antigen presentation to a cloned murine Th1 lymphocyte depends on the inducibility of nitric oxide synthase by IFN-gamma. *J Immunol* 1994;153: 5453-5464.
20. Groux H, Bigler M, de Vries JE, Roncarolo MG. Interleukin-10 induces a long-term antigen-specific anergic state in human CD4⁺ T cells. *J Exp Med* 1996;184:19-29.
21. Gregory SH, Wing EJ. Neutrophil-Kupffer-cell interaction in host defenses to systemic infections. *Immunol Today* 1998;19:507-510.
22. Fraser R, Dobbs BR, Roger GW. Lipoproteins and the liver sieve: the role of the fenestrated sinusoidal endothelium in lipoprotein metabolism, atherosclerosis and cirrhosis. *Hepatology*. 1995. 21: 863-374.
23. Limmer A, Ohl J, Wingender G, Berg M, Jungerkes F, et al. 2005. Cross-presentation of oral antigens by liver sinusoidal endothelial cells leads to CD8 T cell tolerance. *Eur. J. Immunol.* 35:2970-81
24. Khanna A, Morelli AE, Zhong C, Takayama T, Lu L, Thomson AW. Effects of liver-derived dendritic cell progenitors on Th1- and Th2-like cytokine responses in vitro and in vivo. *J Immunol* 2000;164:1346-1354
25. Lau AH, Thomson AW. Dendritic cells and immune regulation in the liver. *Gut* 2003;52:307-314.
26. Knolle P, Schlaak J, Uhrig A, Kempf P, Meyer zum Buschenfelde KH, Gerken G. Human Kupffer cells secrete IL-10 in response to lipopolysaccharide (LPS) challenge. *J Hepatol* 1995;22:226-229.
27. Yu MC, Chen CH, Liang X, Wang L, Gandhi CR, et al. 2004. Inhibition of T-cell responses by hepatic stellate cells via B7-H1-mediated T-cell apoptosis in mice. *Hepatology* 40:1312-21
28. Winau F, Hegasy G, Weiskirchen R, Weber S, Cassan C, et al. 2007. Ito cells are liver-resident antigen-presenting cells for activating T cell responses. *Immunity* 26:117-29

29. Limmer A, et al. Failure to induce organ specific autoimmunity by breaking of tolerance: importance of the microenvironment. *Eur J Immunol.* 1998; 28: 2395-2406.
30. Knolle PA, Uhrig A, Hegenbarth S, Loser E, Schmitt E, et al. 1998. IL-10 down-regulates T cell activation by antigen-presenting liver sinusoidal endothelial cells through decreased antigen uptake via the mannose receptor and lowered surface expression of accessory molecules. *Clin. Exp. Immunol.* 114:427-33
31. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 1999;284:825-829.
32. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernoval, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001;2:261-268.
33. Shimizu H, T. Matsuguchi, Y. Fukuda, I. Nakano, T. Hayakawa, O. Takeuchi, S. Akira, M. Umemura, T. Suda and Y. Yoshikai. Toll-Like Receptor 2 Contributes to Liver Injury by Salmonella Infection Through Fas Ligand Expression on NKT Cells in Mice. *Gastroenterology*, 2002, 123:1265-1277
34. Isogawa M, Furuichi Y, Chisari FV. Oscillating CD8(+) T cell effector functions after antigen recognition in the liver. *Immunity* 2005;23:53-63.
35. Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A. T cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A. *J Clin Invest.* 1992;90:196-203.
36. Wich MJ, Leithauser F and Reimann J. The hepatic immune system. *Critical Rev immunol.* 2002, 22: 47.
37. Renna MS, SG Correa and CE Sotomayor. Células NKT: características, propiedades y asociación a patología. *Alergia e Inmunología Clínica.* 2004; 21: 5.
38. Dong Z, Wei H, Sun R, Tian Z. The roles of innate immune cells in liver injury and regeneration. *Cell Mol Immunol.* 2007 Aug;4(4):241-52.
39. Sandor M, Weinstock JV and Wynn TA. Granulomas in schistosome and mycobacterial infections: a model of local immune responses. 2003. *TRENDS in immunology.* 2003. 44-52.
40. Rodríguez-Galán MC, Correa SG, Cejas H and CE Sotomayor. Modulation of the *Candida albicans* infection by chronic varied stress. Modification of phagocytic cells function. *Neuroimmunomodulation.* 2001, 9: 193
41. Chen Y, Wei H, Gao B, Hu Z, Zheng S, Tian Z. Activation and function of hepatic NK cells in Hepatitis B infection: an underinvestigated innate immune response. *J Viral Hepat* 2005;12:38-45.
42. Sun, R. and Gao, B. Negative regulation of liver regeneration by innate immunity (natural killer cells/interferon- . *Gastroenterology* 2004. 127, 1525-1539
43. Radaeva S, Sun R, Jaruga B, Nguyen VT, Tian Z, Gao B. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2Ddependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing liganddependent manners. *Gastroenterology* 2006;130:435-452
44. Romani L. Immunity to fungal infections. *Nature Reviews.* 2004. 4. 1-13
45. Gonzalbo D, P Roig, E Villamon and ML Gil. *Candida* and candidiasis: the cell wall as a potential molecular target for antifungal therapy. *Curr Drrugs Targets Infect Disord.* 4: 117-13. 2004
46. Rodríguez-Galán MC, Correa SG, Iribarren P and CE Sotomayor. Phenotypic and functional changes on phagocytic cells recruited at the site of *Candida albicans* infection after chronic varied stress exposure. *Med. Mycol.* 2002, 40: 485.
47. Rodríguez-Galán MC, Sotomayor CE, Costamagna ME, Cabanillas AM, Salido-Rentería B, Masini-Repiso AM, and SG Correa. Immunocompetence of macrophages in rats exposed to *Candida albicans* infection and stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003, 284:111.
48. Correa SG, Rodríguez-Galán MC, Salido-Rentería B, Cano R, Cejas H and CE Sotomayor. High dissemination and hepatotoxicity in animals infected with *Candida albicans*: potential sensitization to liver damage after stress exposure. *International Immunology.* 2004, 16: 1761.



Alergo-Pharma S.R.L



**DISTRIBUIDOR DE PRODUCTOS Y EXTRACTOS
ALERGÉNICOS, GREER LABS (EEUU)**

**Establecimiento habilitado
Resolución A.N.M.A.T 1474/00**

Jean Jaurés 321 - (1214) Capital Federal - Telefax: 4865-3690/4861-6970

E-mail: alergo@fibertel.com.ar

Evaluación de marcadores bioquímicos e inflamatorios en pacientes con alteraciones metabólicas

Assessment of biochemical and immune markers in patients with metabolic alterations

Sabrina S. Neo ¹, Carina Porporatto ², Sandra M. Gomez ³, Silvia G. Correa ⁴

■ Resumen

En nuestro trabajo evaluamos parámetros bioquímicos e inflamatorios en 41 pacientes con diabetes tipo 2 o no diabéticos con insulino-resistencia (IR) y 49 controles sanos. Todos los participantes se clasificaron de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) en obesos (IMC: >30,0), con sobrepeso (IMC: 25,0-29,9) o normales (<25,0). En muestras de suero se midieron lipoproteínas, colesterol, glucosa, proteína C reactiva (PCR), haptoglobina, aspartato aminotransferasa (ASR), alanina aminotransferasa (ALT), gamma glutamil transferasa (GGT), insulina, interleuquina (IL)-6 y TSH. Se determinó el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment). Se observaron incrementos en los valores del índice HOMA en los pacientes diabéticos obesos y con sobrepeso ($p<0,001$). Los valores de insulina e IL-6 mostraron aumentos en ambos grupos de pacientes IR, pero hubo diferencias entre los diabéticos. Dentro del rango normal, los diabéticos mostraron niveles de TSH disminuidos ($p<0,05$), en tanto que los pacientes obesos con IR mostraron aumentada la GGT ($p<0,05$). Los pacientes diabéticos o con IR clasificados como obesos mostraron una mayor frecuencia de niveles anormales del índice HOMA, insulina o IL-6. Se observaron diferencias entre IL-6, glucosa y transaminasas en pacientes diabéticos e IR clasificados por el IMC. Estudios adicionales permitirán establecer si pueden ser considerados biomarcadores.

■ Summary

In this work we evaluated biochemical and inflammatory markers in type 2 diabetic or nondiabetic patients with insulin resistance (IR). Considering the body mass index (BMI), patients (n=41) and controls (n=49) were classified in obese (BMI: > 30,0), overweight (BMI: 25,0-29,9) or normal (<25,0). We measured lipoproteins, cholesterol, glucose, C reactive protein (CPR), haptoglobin, aspartate aminotransferase (ASR), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), insulin, IL-6 and TSH levels in serum samples and we calculated the Homeostasis Model Assessment (HOMA) index. obese and overweight patients. We observed increments in HOMA index values ($p<0,001$) in obese and overweight diabetic and IR patients. Insulin and IL-6 increased in both IR groups but obese or overweight diabetics showed differences. We found a reduction in TSH levels, within the normal range in diabetic patients ($p<0,05$) and increments in GGT in obese IR patients ($p<0,05$). Overweight patients from diabetic and IR groups showed the higher frequency of abnormal HOMA index, insulin and IL-6 values. Together, this study shows up differences in IL-6, glucose and transaminases between diabetic vs. IR patients classified by BMI. Whether they could be used as biomarkers remains to be established.

Para citar este artículo:

Sabrina S. Neo, Carina Porporatto, Sandra M. Gomez, Silvia G. Correa. Evaluación de marcadores bioquímicos e inflamato-

¹Bioquímica, ² Dra. en Ciencias Químicas; ³ Médica; ⁴ Dra. en Ciencias Químicas

Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

■ **Financiación:**

SECyT-UNC; ANPCyT- FONCyT, CONICET.

■ **Palabras Clave:**

diabetes; obesidad; citoquinas; inflamación; hígado; proteínas de fase aguda.

■ **Key words:**

diabetes; obesity; cytokines; inflammation; liver; acute phase proteins.

Introducción

La inflamación es una respuesta aguda clave que involucra numerosos mediadores. Sin embargo, si la inflamación es crónica, puede dañar los tejidos (1). El exceso de nutrientes y la vida sedentaria favorecerían la inflamación persistente en individuos con enfermedades metabólicas crónicas como diabetes tipo 2, insulino-resistencia (IR) o síndrome metabólico (2, 3). Estas patologías se asocian frecuentemente con la obesidad y aparecen en individuos jóvenes. En estos casos, más que una inflamación clásica (4), se observa una forma aberrante de inmunidad favorecida por el exceso de nutrientes que se denomina inflamación metabólica (5).

Participan en el desarrollo de la inflamación metabólica citoquinas como factor de necrosis tumoral (TNF)- α e interleuquina (IL)-6, receptores tipo Toll y sus ligandos y receptores de productos glicosilados (RAGE). La unión de los mediadores a sus receptores induce la activación de quinasas y la translocación al núcleo de factores de transcripción como el NF- κ B, con aumento en la transcripción de los genes de moléculas pro-inflamatorias (6). Los niveles plasmáticos de TNF- α o IL-6 están elevados así como los de otras moléculas bioactivas producidas por los adipocitos como leptina y resistina, capaces de amplificar y sostener la inflamación (7). Se observa inflamación subyacente al hígado graso no alcohólico y fibrosis hepática (3,5). Adipocitos y macrófagos que infiltran el tejido graso de pacientes obesos, muestran activación persistente de ciertas quinasas y vías de

señalización inflamatorias (8,9). Citoquinas pro-inflamatorias a su vez, interaccionan con receptores en músculo e hígado y activan vías de señalización que inhiben proteínas asociadas al receptor de insulina que median sus efectos bioquímicos, lo que promueve la IR (10).

No se conoce aún cómo se inicia el fenómeno inflamatorio y cómo se integra la homeostasis metabólica con la actividad inmune (4). Una posibilidad es que la severidad del desbalance inflamatorio sea progresiva. Otra alternativa es que los desórdenes metabólicos compartan algunas características pero presenten marcadores particulares. A fin de evaluar estas posibilidades, estudiamos parámetros bioquímicos e inflamatorios en controles y pacientes diabéticos y no diabéticos IR clasificados según el índice de masa corporal (IMC) en obesos y con sobrepeso.

Pacientes, Materiales y Métodos

Participantes y consideraciones éticas

Nuestro estudio incluyó datos de pacientes con diabetes tipo 2 y no diabéticos IR (n=41) y controles (n=49), de ambos sexos (hombres de 45 ± 15 años y mujeres de 46 ± 14 años). Todos recibieron una explicación de los objetivos del estudio y dieron su consentimiento escrito. El protocolo de trabajo fue aprobado por nuestra institución. Los pacientes residen en Río Tercero, Córdoba. La clasificación de pacientes y los valores de referencias han sido descriptos previamente (11). Se consideraron diabéticos aquellos individuos con niveles de glucosa en ayunas ≥ 110 mg/ml y ≥ 140 mg/ml en un análisis de dos horas posterior a una sobrecarga oral de glucosa. La IR se determinó como glucosa en ayunas x insulina en ayunas /22.5. De acuerdo al IMC los pacientes y controles se clasificaron en obesos (IMC $>30,0$), con sobrepeso (IMC: 25,0-29,9) o normales (18,5 a 24,9). El índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) se calculó como glucosa en ayunas (mg/dl) x insulina en ayunas (μ UI) /ml/ 405 (valor de corte: 2,5) (11).

Recuento de leucocitos

El recuento total y diferencial de leucocitos de determinó en todas las muestras con un Automated Hematology Analyzer (Sysmex KX-21N, USA).

Tabla 1: Parámetros metabólicos en individuos diabéticos, IR y controles clasificados por el IMC

Pacientes (n)	Dx	IMC (Kg/m ²)	Sexo		Índice HOMA	Insulina (μUI/ml)	Glucosa (mg/dl)
			M	F			
		Ob	3	10	6,33 ± 1,15 ^{a,c}	18,66 ± 3,29	137,07 ± 20,24 ^{a,c}
18	D	Sp	4	1	9,54 ± 3,55 ^{a,b}	34,9 ± 12,28 ^{a,b}	110,8 ± 5,34
		Ob	4	3	5,65 ± 1,36	27,24 ± 8,24 ^{a,c}	89,71 ± 3,45
23	IR	Sp	10	6	6,17 ± 0,86 ^{a,b}	24,41 ± 2,60 ^{a,b}	104,37 ± 9,05
		Ob	1	5	1,63 ± 0,3	9,03 ± 1,90	79,66 ± 2,21
49	C	Sp	7	14	2,19 ± 0,19	9,88 ± 0,62	87,71 ± 2,15
		N	8	14	1,68 ± 0,15	8,18 ± 0,68	84 ± 2,16

Dx: diagnóstico; **D:** diabético; **IR:** insulino-resistente; **C:** control; **Ob:** obeso; **Sp:** sobrepeso; **N:** normal. **IMC:** índice de masa corporal (Kg/m²)

IMC: Ob > 30; Sp 25-30; N: 18,5-24,5. Los datos son medias ± E. E. **a** p<0.01 vs. CN; **b** p<0.01 vs. CSp; **c** p <0.01 vs. COB.

Determinación de factores metabólicos e inflamatorios

Se utilizaron técnicas estándar de laboratorio para la determinación de triglicéridos (valor de corte 150 mg/dl), lipoproteínas de alta densidad (HDL; rango normal 35-90 mg/dl), lipoproteínas de baja densidad (LDL; valor de corte 140 mg/dl), colesterol (valor de corte 200 mg/dl), glucosa (rango normal 70-110 mg/ml), proteína C reactiva (PCR; valor de corte 0.6 mg/dl), haptoglobina (rango normal 80-300 mg/dl), aspartato aminotransferasa (AST; valor de corte 40 UI/ml), alanina aminotransferasa (ALT; valor de corte 40 UI/ml), gamma glutamil transferasa (GGT; valor de corte 45 UI/ml) (11).

Determinación de IL-6, insulina y TSH

Los niveles de IL-6 (valor de corte 3,4 pg/ml), insulina (rango normal 6-24 μUI/ml) y TSH (rango normal 0,3-3,0) se midieron en suero con ensayos quimioluminiscentes comerciales de acuerdo a los protocolos aportados por el proveedor (Immulite, Siemens).

Análisis Estadístico

Los resultados fueron expresados como media ± EE. Los datos se transformaron logarítmicamente para aproximar

a una distribución normal (11). Las diferencias entre grupos se evaluaron por ANOVA. Las comparaciones se hicieron con el Student-Newman-Keuls post-hoc test. El análisis de frecuencia se hizo con el test de Fisher's y para la correlación se calculó el coeficiente de Spearman. Valores de p < 0.05 se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Pacientes y controles se clasificaron de acuerdo al IMC en obesos y con sobrepeso. En la Tabla 1 se muestran valores del índice HOMA, insulina y glucosa. Se observaron diferencias significativas en los valores de HOMA, con aumento en diabéticos (obesos y con sobrepeso) y pacientes IR con sobrepeso comparados con controles normales (p<0,01). El índice HOMA fue también mayor en diabéticos obesos comparado con controles obesos (p<0,01), y en pacientes IR con sobrepeso comparados con controles con sobrepeso (p<0,01). Los grupos mostraron incrementos significativos de insulina en pacientes diabéticos con sobrepeso y en pacientes IR (obesos y con sobrepeso) comparados con controles normales y controles obesos o con sobrepeso, respectivamente (p<0,01). En cuanto a los valores de glucosa, el grupo diabético obeso mostró hiperglicemia comparado

Tabla II: Parámetros inflamatorios en individuos diabéticos, IR y controles clasificados según el IMC

Pacientes (n)	Dx	IMC (Kg/m ²)	PCR (mg/dl)	Haptoglobina (mg/dl)	IL-6 (pg/ml)
18	D	Ob	1,72 ± 0,44	160,61 ± 15,60 ^a	4,47 ± 0,64 ^a
		Sp	0,72 ± 0,42	125,20 ± 31,86	3,67 ± 0,58
23	IR	Ob	1,8 ± 0,65	154,57 ± 32,48	4,09 ± 0,59 ^a
		Sp	1,35 ± 0,38	111,68 ± 12,55	4,12 ± 0,76 ^a
49	C	Ob	1,33 ± 0,30	133,33 ± 36,01	3,56 ± 0,71 ^a
		Sp	0,74 ± 0,11	119,7 ± 8,67	3,33 ± 0,50
		N	0,75 ± 0,28	90,72 ± 7,24	2,40 ± 0,25

Dx: diagnóstico; **D:** diabético; **IR:** insulino-resistente; **C:** control; **Ob:** obeso; **Sp:** sobrepeso; **N:** normal; **IMC:** índice de masa corporal (Kg/m²); **IMC:** Ob > 30; Sp 25-35; N 18,5-24,9. Los valores son medias ± E.E. ^a p<0.01 vs. CN.

con los controles normales y obesos (p<0,01).

No se observaron diferencias en el número absoluto o recuento diferencial de leucocitos (no mostrado). Para evaluar el estado inflamatorio medimos PCR, haptoglobina e IL-6 en los distintos grupos (Tabla 2). Mientras que los niveles de PCR fueron similares, se encontró un aumento significativo de haptoglobina en diabéticos obesos, aún dentro del rango normal. Los diabéticos e IR obesos así como los pacientes IR con sobrepeso mostraron un incremento significativo de IL-6 (p<0,01). Los valores en suero de las transaminasas AST, ALT y GGT se muestran en la Fig. 1A. Se observó un incremento significativo de GGT en pacientes IR obesos comparados con controles obesos o normales (p<0,05). El análisis de frecuencia mostró diferencias en AST, ALT y GGT en pacientes IR obesos y con sobrepeso (Fig. 1B). Además, pacientes diabéticos mostraron mayores niveles de ALT comparados con controles.

En cuanto al perfil lipídico, observamos diferencias menores entre los grupos con un aumento significativo en triglicéridos en diabéticos (obesos y con sobrepeso) y pacientes IR con sobrepeso (no mostrado). Un hallazgo interesante fue que los diabéticos obesos y con sobrepeso mostraron, dentro del rango normal, una reducción consistente en los valores de TSH (Fig. 2).

Evaluamos además la correlación entre el número de

Figura 1: Neo y col.

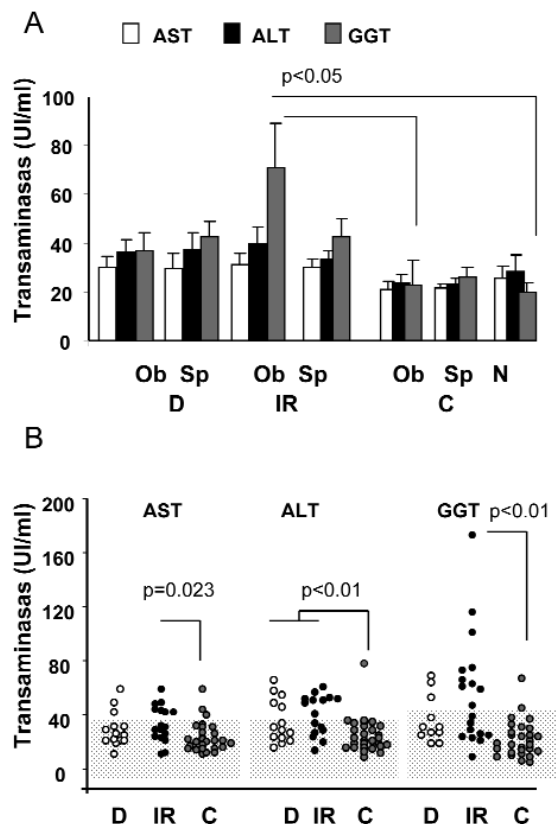


Figura III: Neo y col.

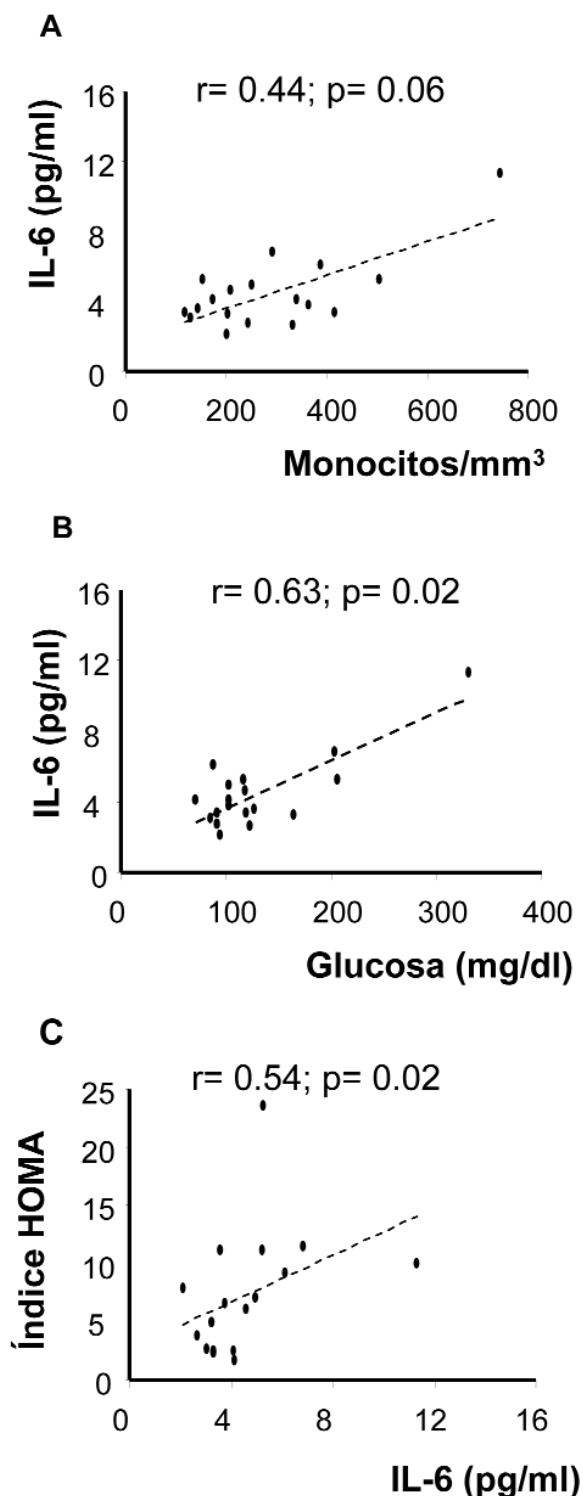
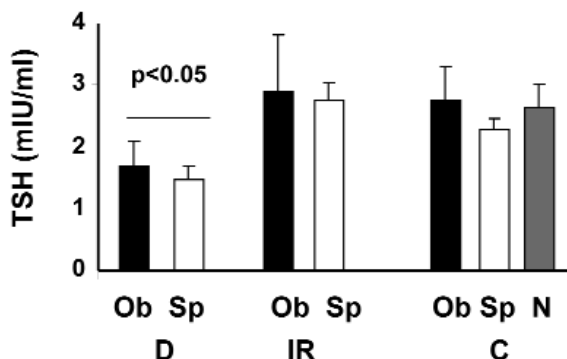


Figura II: Neo y col.



monocitos, la glicemia, el índice HOMA y la IL-6. En pacientes diabéticos (obesos y con sobrepeso), encontramos una correlación positiva entre valores de glucosa e IL-6 ($r=0,63$; $p=0,02$). Además, la producción de IL-6 correlacionó con el índice HOMA ($r=0,54$; $p=0,02$). La correlación entre el número absoluto de monocitos y la IL-6 mostró una tendencia que no fue significativa ($r=0,44$; $p=0,06$).

Discusión

En este trabajo, comparamos parámetros bioquímicos e inflamatorios en pacientes diabéticos y no diabéticos con el propósito de caracterizar la respuesta inflamatoria en distintas alteraciones metabólicas. Los diabéticos obesos y con sobrepeso mostraron mayores valores de índice HOMA y una reducción en los niveles de TSH, mientras que la glucosa y la IL-6 estuvieron aumentadas sólo en diabéticos obesos. En pacientes IR, el índice HOMA, la insulina y la IL-6 estuvieron incrementados tanto en obesos como en individuos con sobrepeso. Encontramos aumento en valores de GGT sólo en pacientes IR obesos y la frecuencia de valores incrementados de AST, ALT y GGT fue significativamente mayor en este grupo. El número de pacientes con sobrepeso (diabéticos o IR) con índice HOMA, insulina y glucosa anormales fue significativamente mayor.

Individuos obesos y pacientes con diabetes tipo 2 muestran niveles elevados de IL-6 en circulación (12,13). En nuestro estudio, observamos concentraciones elevadas

de IL-6 en diabéticos obesos y pacientes IR obesos o con sobrepeso comparados con controles normales pero no con controles obesos y con sobrepeso, con valores de IL-6 cercanos a los valores de corte (3,4 pg/ml). Quizá, el incremento de la IL-6 podría ser un marcador muy temprano de la alteración metabólica, relacionado a los incrementos de IMC. De hecho, la expansión del tejido adiposo lleva a la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos con la consecuente activación del estrés celular y la liberación de citoquinas pro-inflamatorias (14). Además, el tejido adiposo produce aproximadamente el 35% de la IL-6 circulante que afecta la acción de la insulina en el hígado (15). La hiperinsulinemia en sí misma puede incrementar la IL-6 en plasma (16), de acuerdo con el perfil observado en los pacientes IR de nuestro estudio. El incremento de IL-6 observado sólo en diabéticos obesos podría estar reflejando la contribución de otros factores pro-inflamatorios como la glucosa. En efecto, la hiperglicemia induce un estado pro-inflamatorio que incluye tanto inflamación celular como estrés oxidativo (17). La glucosa también aumenta la actividad de factores de transcripción como el NF- κ B que normalmente es suprimida por la insulina (18). En concordancia, encontramos una significativa correlación entre glucosa e IL-6 en diabéticos obesos.

Un hallazgo interesante fue la reducción de la TSH en pacientes diabéticos aún dentro del rango de valores normales (0,3-3,0 mUI/ml), lo que podría asociarse al incremento de la IL-6 (13,19). Citoquinas como TNF- α , IL-1 e IL-6 serían posibles mediadores de los niveles reducidos de la hormona tiroidea (13,19, 20). La IL-6 estimula la secreción de la hormona de crecimiento e inhibe la producción de TSH (21). La administración de IL-6 a individuos sanos produce cambios en la función tiroidea que asemejan el síndrome del eutiroido enfermo (22). Además, la IL-6 exógena produce una disminución en la TSH en suero al cabo de 4 h de su administración (23). En conjunto, el incremento sostenido en la IL-6 en pacientes obesos diabéticos podría estar mediando la reducción en la TSH.

No se sabe exactamente si existe una asociación entre marcadores inflamatorios y enzimas hepáticas en individuos con factores de riesgo metabólico. La GGT es considerada un marcador de IR en la población en general (24). Sin embar-

go, la GGT, la ALT y marcadores pro-inflamatorios están elevados en individuos con síndrome metabólico o diabetes (25). Además, marcadores de inflamación y enzimas hepáticas aparecen elevados en etapas muy tempranas del desarrollo del síndrome metabólico o diabetes (26). Estudios poblacionales muestran asociación entre la GGT y la IR en poblaciones no diabéticas (27). De acuerdo con esta evidencia, encontramos un aumento selectivo de la GGT en el grupo IR obeso. Los cambios patológicos debidos a la obesidad podrían explicar los incrementos en la GGT que estarían ausentes en etapas más tempranas del desorden (27,28). Las diferencias entre pacientes IR obesos o con sobrepeso, podrían reflejar esta situación. En un estudio con individuos adultos sanos sin ninguna anomalía metabólica, el peor patrón metabólico estuvo relacionado a incrementos ALT y GGT (29,30), los que han sido asociados con IR en hígado y una subsecuente pérdida de la sensibilidad a la insulina (30). Resulta interesante que en nuestro estudio, los grupos IR mostraron la mayor frecuencia en valores anormales de AST, ALT y GGT. La asociación entre GGT y síndrome metabólico no se ha caracterizado aún, pero se han propuesto dos mecanismos posibles: la estatois hepática (31) y el estrés oxidativo (32).

Niveles elevados de IL-6 en plasma predicen el desarrollo de diabetes tipo 2 (33); comparando con una cohorte prediabética, mujeres diabéticas obesas muestran mayores niveles de IL-6 (34) y la tolerancia a la glucosa cambia de alterada a normal cuando hay una disminución significativa en los niveles de IL-6 (35). Sin embargo, todavía persisten las discrepancias en cuanto a la consideración de la IL-6 como factor causante de la IR (15). Nosotros mostramos una correlación positiva entre glucosa e IL-6 sólo en pacientes diabéticos. El índice HOMA fue el único parámetro consistentemente elevado en pacientes diabéticos e IR clasificados como obesos y con sobrepeso. A pesar de ello, la correlación entre índice HOMA e IL-6 se observó sólo en diabéticos sugiriendo que la citoquina está más relacionada al metabolismo de la glucosa que al estado de resistencia a la insulina.

Aunque varios estudios epidemiológicos sugieren una relación causal entre inflamación y diabetes, IR y enfermedad cardiovascular, muy pocos reportes han evaluado pará-

metros bioquímicos e inflamatorios en sujetos no diabéticos con IR. Si bien no podemos concluir aún acerca de relaciones causales entre los parámetros estudiados y los desórdenes, este estudio destaca las diferencias en los distintos marcadores estudiados y sugiere particularidades en cada una de las condiciones metabólicas evaluadas.

Agradecimientos

CP y SGC son investigadoras del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Agradecemos a la Bioquímica Paula Icely por su asistencia técnica.

Correspondencia

Dra. Silvia G. Correa. Inmunología. Departamento de Bioquímica Clínica. CIBICI (CONICET). Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Email: scorrea@bioclin.fcq.unc.edu.ar

Bibliografía

1. Serhan C, Savill J. Resolution of Inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunol* 2005; 6: 1191-97.
2. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860-67.
3. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*, 2006; 116: 1793-1801.
4. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115:1111-19.
5. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25: 4-7.
6. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91.
7. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutric Soc* 2001; 60:349-56.
8. Yin MJ, Yamamoto Y, Gaynor RB. The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I B kinase. *Nature* 1998; 396:77-80.
9. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 85-96.
10. Hirosumi Y, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 2002; 420:333-36.
11. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Bonadonna RC, Muggeo M; Bruneck Study. Metabolic syndrome: epidemiology and more extensive phenotypic description. Cross-sectional data from the Bruneck Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27:1283-39.
12. Klipstein-Grobusch K, Möhlig M, Spranger J, Hoffmann K, Rodrigues FU, Sharma AM et al. Interleukin-6 g.-174G>C promoter polymorphism is associated with obesity in the EPIC-Potsdam Study. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14:14-18.
13. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann Intern Med* 1998; 128:127-37.
14. de Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* 2008; 582: 97-105.
15. Kim JH, Bachmann RA, Chen J. Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam Horm* 2009; 80:613-33.
16. Ruge T, Lockton JA, Renstrom F, Lystig T, Sukonina V, Svensson MK et al. Acute hyperinsulinemia raises plasma interleukin-6 in both nondiabetic and type 2 diabetes mellitus subjects, and this effect is inversely associated with body mass index. *Metabolism* 2009; 58:860-66.
17. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans. *Circulation* 2002; 106:2067-72.

18. Collier B, Dossett LA, May AK, Díaz JJ. Glucose control and the inflammatory response. *Nutr Clin Pract* 2008; 23:3-15.
19. Fernández-Real JM, López-Bermejo A, Castro A, Casamitjana R, Ricart W. The thyroid function is intrinsically linked to insulin sensitivity and endothelium-dependent vasodilation in healthy euthyroid subjects. *J Clin Endocrinol Metabol* 2006; 91: 3337-43.
20. Chopra IJ. Nonthyroidal illness syndrome or euthyroid sick syndrome? *Endocrine Practice* 1996; 2: 45-52.
21. Davies PH, Black EG, Sheppard MC, Franklyn JA. Relation between serum interleukin-6 and thyroid hormone concentrations in 270 hospital in-patients with non-thyroidal illness. *Clin Endocrinol* 1996; 44:199-205.
22. Tsigos C, Papanicolaou DA, Defensor R, Mitsiadis CS, I. Kyrou, Chrousos GP. Dose effects of recombinant human interleukin-6 on pituitary hormone secretion and energy expenditure. *Neuroendocrinology* 1997; 66: 54-62.
23. Stouthard JM, van der Poll T, Endert E, Bakker PJ, Veenhof CH, Sauerwein HP et al. Effects of acute and chronic interleukin-6 administration on thyroid hormone metabolism in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1342-46.
24. André P, Balkau B, Vol S, Charles MA, Eschwège E, DESIR Study Group. Gamma-glutamyltransferase activity and development of the metabolic syndrome (International Diabetes Federation Definition) in middle-aged men and women: Data from the Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) cohort. *Diabetes Care* 2007;30: 2355-61.
25. Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Whincup PH. Hepatic enzymes, the metabolic syndrome, and the risk of type 2 diabetes in older men. *Diabetes Care* 2005;8: 2913-18.
26. Levinger I, Goodman C, Peake J, Garnham A, Hare DL, Jerums G et al. Inflammation, hepatic enzymes and resistance training in individuals with metabolic risk factors. *Diabet Med* 2009; 26:220-27.
27. Lee DH, Silventoinen K, Jacobs DR, Jousilahti P, Tuomileto J. gamma-Glutamyltransferase, obesity, and the risk of type 2 diabetes: observational cohort study among 20,158 middle-aged men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5410-14.
28. Dim DJ, Noh JH, Cho NH, Lee BW, Choi YH, Jung JH et al. Serum gamma-glutamyltransferase within its normal concentration range is related to the presence of diabetes and cardiovascular risk factors. *Diabet Med* 2005; 22:1134-40.
29. Bo S, Gambino R, Durazzo M, Guidi S, Tiozzo E, Ghione F et al. Associations between gamma-glutamyl transferase, metabolic abnormalities and inflammation in healthy subjects from a population-based cohort: a possible implication for oxidative stress. *World J Gastroenterol* 2005; 11:7109-17.
30. Lee DH, Jacobs DR, Gross M, Kiefe CI, Roseman J, Lewis CE et al. Gamma-glutamyltransferase is a predictor of incident diabetes and hypertension: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Clin Chem* 2003;49:1358-66.
31. den Boer M, Voshol PJ, Kuipers F, Havekes LM, Romijn JS. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. *Lessons from animal models. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:644-49.
32. Lim JS, Yang JH, Chun BY, Kam S, Jacobs DR, Lee DH. Is serum gamma-glutamyltransferase inversely associated with serum antioxidants as a marker of oxidative stress? *Free Radic Biol Med* 2004; 37:1018-23.
33. Hu FB, Meigs JB, Li TY, Rifai N, Manson JE. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes* 2004; 53: 693-700.
34. Koçak H, Oner-Iyido?an Y, Gürdöl F, Oner P, Süzme R, Esin D et al. Advanced oxidation protein products in obese women: its relation to insulin resistance and resistin. *Clin Exp Med* 2007; 7:173-78.
35. Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E et al. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1042-47.

REUNIONES CIENTÍFICAS 2010

El día Martes 30 de Marzo, 20 hrs., se realizó la **Primera Reunión Científica**.

■ Recomendaciones para el año 2010 en Gripe A H1N1

Relator: Dr. Fernando Riera. Infectólogo. Presidente de la Sociedad de Infectología de Córdoba

Coordinadora: Dra. Olga Vázquez.

El Comité de Alergia e Inmunología de la Sociedad Argentina de Pediatría (S.A.P) filial Córdoba organizó la **Segunda Reunión Científica** del año 2010 del Grupo de Estudio en Inmunodeficiencias Primarias (IDP)

se desarrollo el día Martes 1 de Junio a las 12. hs en el Aula Magna del Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de Córdoba, Bajada Pucará 1900.

Tema:

■ Creación de la Asociación de Ayuda al Paciente con IDO Regional Córdoba

■ Actualización del Score de Sme. de Hiper IgE

Relator: Dr. Julio Cesar Orellana

Jefe de División Alergia e Inmunología

Hospital de Niños de la Santísima Trinidad

El día Martes 11 de Mayo, a las 20:30 hrs., en la Sede del Círculo Médico de Córdoba se realizó la **Tercera Reunión Científica** con la presentación de:

Tesis Doctoral:

"Efectos de la inmunoterapia específica sobre la hiperreactividad bronquial en pacientes con rinitis alérgica"

Relatora: Dra. Nelly Barrera-

Médica Especialista en Alergia e Inmunología

Coordinadora: Dra. Olga Vázquez

Mientras que la **Cuarta Reunión Científica** se realizó el día martes 8 de Junio a las 20.30.hs en el Círculo Médico de Córdoba.

Temas:

■ Sistema Unificado de Farmacovigilancia (SUFV)

■ ¿Cuál es el rol del Alergista?

■ Presentación del registro epidemiológico de Reacciones Adversas a Medicamentos on line

Relatores:

Dr Julio Orellana

Dra. Mercedes Rencoret

Departamento Científico - Colegio de Farmacéuticos



NOVEDADES EN LA WEB: REGISTRO DE REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS (RAMS) POR HIPERSENSIBILIDAD Y REGISTRO PROVINCIAL DE INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS (IDP) ON LINE

Internet es ahora una herramienta fundamental en medicina ya que se puede acceder a información sobre temas diversos en bancos de datos, leer artículos, o bien crear nuestra propia página, discutir casos clínicos o participar en estudios multicéntricos y asimismo tener acceso a páginas de hospitales, revistas o sociedades médicas.

En este sentido la Asociación de Asma, Alergia e Inmunología de Córdoba ha relanzado su página Web www.cordobalergia.com desde comienzos del año 2009 y dentro del contexto de la invitación que ha sido objeto nuestra asociación a participar en el Sistema Unificado de Fármaco Vigilancia (SUFV) de la provincia de Córdoba, en carácter de entidad colaboradora hemos decidido crear un Registro de Reacciones Adversas a Medicamentos (RAMs) por Hipersensibilidad con acceso on line.

Dicho registro será un complemento de los reportes de eventos adversos con sus planillas amarillas y blancas del ANMAT. Aportará datos de relevancia clínica que no disponemos en nuestro medio. Dichos datos serán analizados estadísticamente y figuraran como autores todos aquellos profesionales (especialistas en Alergia e Inmunología y otras especialidades) que hayan participado registrando pacientes, a quienes se le devolverá la información luego de imputada (registrada) su ficha por parte nuestra en el SUFV

Para acceder a dicho registro desde nuestra página www.cordobalergia.com se ingresa en forma directa a través del enlace en el menú que dice Registro de Reacciones Adversas a Drogas desde donde se accederá a un completo y simple cuestionario a llenar.

Por otra parte otra entidad científica que tiene intereses comunes es la Sociedad Argentina de Pediatría (S.A.P) filial Córdoba que este año ha creado su propia página Web www.sapcordoba.com.ar y a través del Comité de Alergia e Inmunología de dicha sociedad se ha posibilitado realizar on line la denuncia de pacientes al Registro Provincial de Inmunodeficiencias Primarias (IDP). Dicho registro funciona desde el año 2001 y tiene más de 190 pacientes en su haber.

Para acceder al mismo desde la página principal de la S.A.P Córdoba se observará una ventana a la derecha mencionando al Registro Provincial IDP e ingresando al mismo se dispondrá de la ficha y de las respectivas instrucciones para su llenado, luego la mencionada ficha deberá ser enviada como adjunto al mail inmunodeficiencias@sapcordoba.com.ar

Es prioritario para el éxito de ambos registros el compromiso y la participación activa y masiva de las denuncia de caso de RAMs por Hipersensibilidad e IDP por parte de los profesionales médicos que interviene en dichos casos (especialistas en Alergia e Inmunología u otras especialidades), y de esta manera cumplir con los objetivos planteados en ambas situaciones, quedando los integrantes de la Comisión Directiva de la Asociación de Asma, Alergia e Inmunología de Córdoba y del Comité de Alergia e Inmunología de la S.A.P (filial Córdoba) a disposición de todos para evacuar cualquier duda o consulta.