

## Tuberculosis latente

El enigma de en qué células de nuestro organismo se esconde la bacteria que más muertes ha producido en la historia de la humanidad

*Rogelio Hernández Pando<sup>a</sup>, Jorge Barrios-Payán<sup>a</sup>*

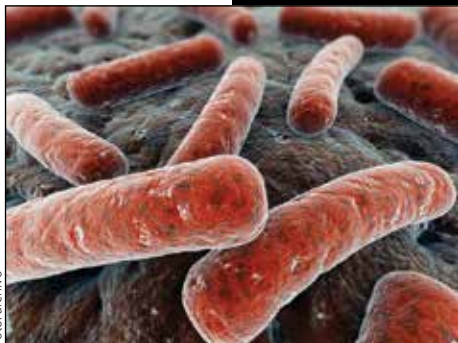


Foto: archivo

La tuberculosis (TB) es la enfermedad infecciosa que más ha afectado a la humanidad a lo largo de la historia, y ha sido causa de enfermedad y muerte durante más de 20,000 años<sup>1</sup>. El agente causal es *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), el cual suele infectar a los seres humanos a través de las vías respiratorias y en los países endémicos generalmente lo hace por primera vez durante la infancia. Es interesante que en más del 90% de los casos de quienes se infectan por primera vez, el sistema inmunológico ya contiene a las bacterias, y tan solo del 5 a 10% desarrollan la enfermedad progresivamente. Más interesante aún es el hecho de que en el 30% de los individuos infectados que no se enferman, las bacterias se albergan dentro de las células del huésped sin producirles daño, en un estado que se conoce como infección latente, la cual es clínicamente asintomática y no transmisible<sup>2</sup>. Sin embargo, cuando la actividad de la respuesta inmunológica disminuye como consecuencia del envejecimiento o de la presencia de enfermedades debilitantes como el cáncer, la diabetes o el sida, las

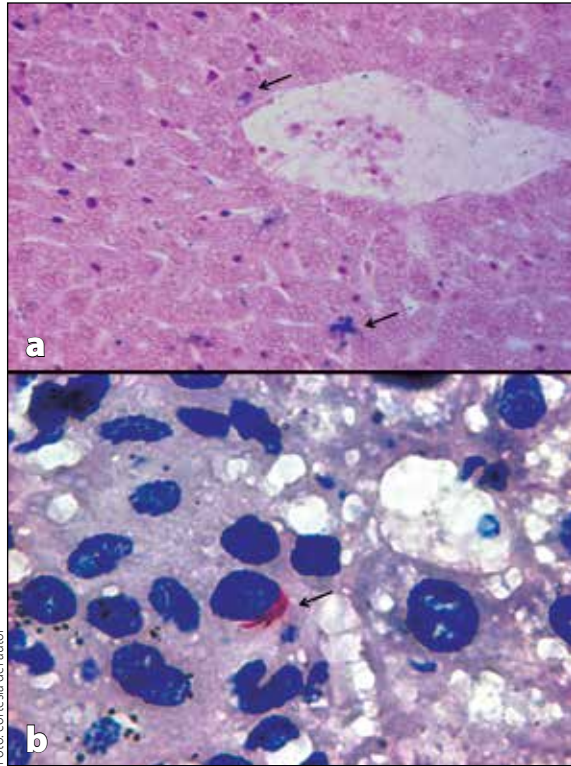
bacterias en estado latente se reactivan y producen enfermedad activa. El entendimiento de los mecanismos utilizados por Mtb para permanecer en estado latente sin producir enfermedad por años o incluso décadas, manteniéndose oculta al sistema inmunológico así como la naturaleza de los mecanismos de su reactivación, son tan inciertos hoy en día como lo eran hace más de 100 años cuando el gran microbiólogo alemán Robert Koch Mtb lo descubrió<sup>3</sup>.

El artículo de Barrios-Payán que hoy comentamos estudia el tejido humano proveniente de casos de autopsia con tecnología esencialmente molecular, y trata de contestar varias preguntas importantes en TB latente, como son:

¿En qué tejidos y células del organismo se encuentra oculta Mtb en estado latente? ¿Las bacterias en estado latente están sólo presentes en el tejido pulmonar o también existen en tejido extrapulmonar? ¿Es posible infectarse varias veces con bacterias diferentes y que éstas se mantengan en estado latente?

La infección latente es probablemente el principal problema para la erradicación de la TB<sup>4</sup>. Se estima que alrededor de un tercio de la población mundial (2000 millones de personas) tienen esta

<sup>a</sup>Sección de Patología Experimental. Departamento de Patología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubiran". México, DF.



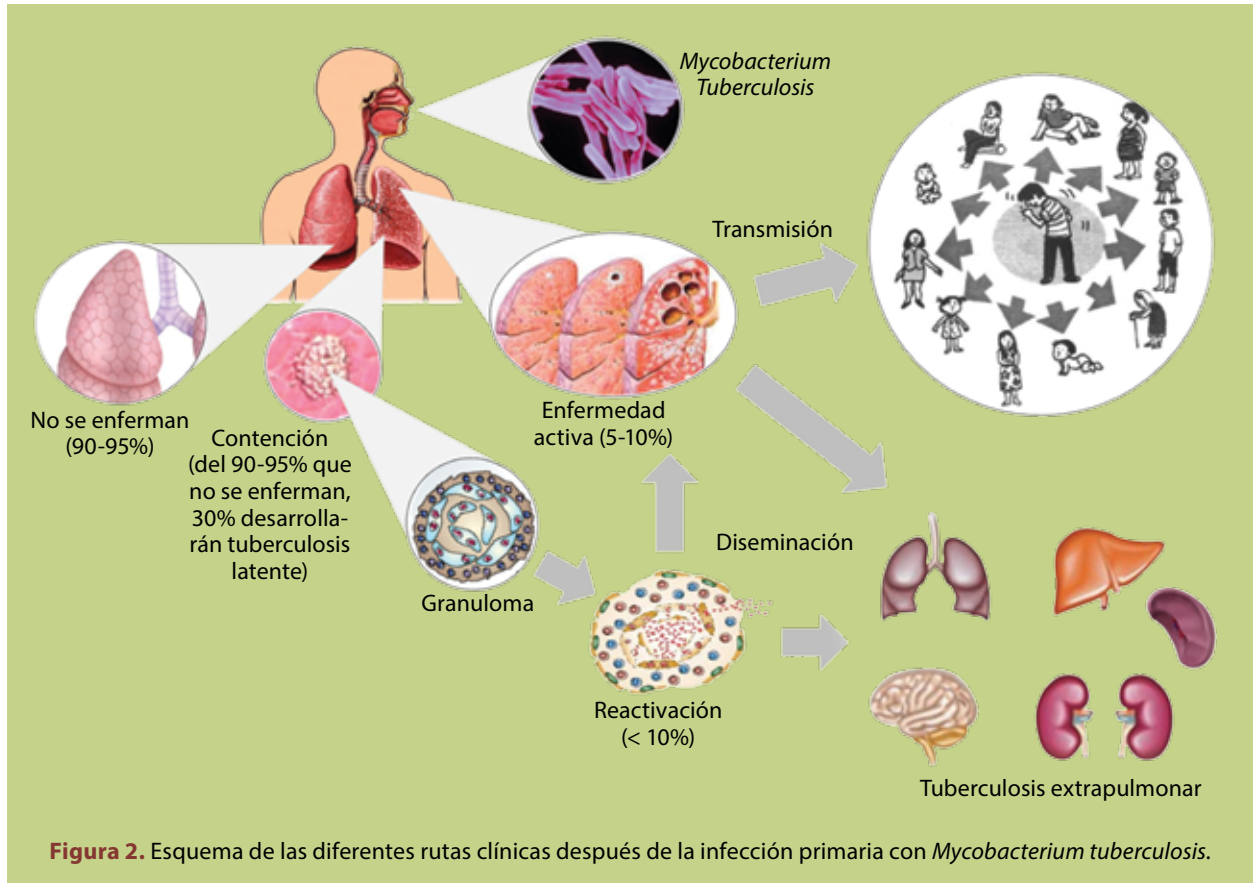
**Figura 1. a)** Corte de hígado de un sujeto con tuberculosis latente procesada con la técnica de PCR *in situ* para detectar ADN específico de *Mycobacterium tuberculosis*. Varias células hepáticas muestran positividad (flechas). **b)** Corte histológico teñido con la técnica de Ziehl-Neelsen de un ratón infectado experimentalmente, la flecha indica la presencia de bacilos tuberculosos en el citoplasma de un hepatocito.

condición y la mayoría de los sujetos con infección latente morirán por causas distintas a la TB, pero se calcula que el 10% sufrirán TB de reactivación lo cual convierte a dicha condición en el más importante reservorio de la enfermedad<sup>5</sup>.

El inicio en el conocimiento de la existencia de Mtb en estado latente quizás se inicia en 1927, cuando 2 patólogos de la Universidad de Filadelfia, los profesores Opie y Aronson, demostraron la existencia de Mtb vivas en estado latente en 169 casos de autopsia de sujetos muertos por causas distintas a la TB, de los cuales obtuvieron tejido pulmonar, lo homogenizaron y lo inyectaron en cobayos, animales que son muy susceptibles a la TB. Observaron diferencias relacionadas con la edad de los pacientes, pero un alto porcentaje de animales desarrollaron TB como consecuencia de la administración de ho-

mogenizados de tejido pulmonar humano, demostrando así que el tejido pulmonar tenía Mtb vivas y virulentas aún cuando no hubieran producido la enfermedad activamente<sup>6</sup>. Muchos años después, en el año 2000, se confirmaron estas observaciones en un estudio similar pero con tecnología molecular, al estudiar nuevamente tejido pulmonar de aspecto histológicamente normal proveniente de casos de autopsia colectados en Etiopía y México de sujetos fallecidos por causas diferentes a la TB. En este estudio se demostró la presencia de ADN exclusivo de Mtb (transposón IS6110) tanto por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional como por PCR-*in-situ*; esta última metodología mostró que el ADN micobacteriano estaba presente, no sólo en los macrófagos, sino también en células que no son fagocitos profesionales como los neumocitos tipo II, células endoteliales y fibroblastos<sup>7</sup>, lo que sugiere que este tipo de células le ofrecen a la bacteria un nicho especial donde establecerse y poder escapar de la respuesta inmunológica, ya que estas células no son tan eficientes para eliminar a las bacterias y no procesan ni presentan antígenos como lo hacen los macrófagos<sup>3</sup>. Estos resultados cambiaron la percepción del antiguo dogma que establecía a los macrófagos localizados en granulomas antiguos, conocidos como nódulos de Ghon típicos de TB latente, como el único sitio en donde se encontraban las bacterias en estado latente<sup>8</sup>.

Utilizando metodología básica similar después se demostró que extrapulmonariamente, específicamente en el tejido adiposo, el Mtb puede persistir en estado latente e incluso esto también puede suceder durante la enfermedad progresiva<sup>9</sup>. La capacidad de Mtb de ingresar en células adiposas y mantenerse en estado latente se pudo reproducir *in-vitro* y en un modelo murino similar a infección latente. Un aspecto de particular interés en este estudio fue la observación de que la bacteria puede sobrevivir mejor en células adiposas debido a que estas pueden utilizar los lípidos almacenados en los adipocitos para beneficio propio, específicamente para construir su pared, que se caracteriza por tener una gran cantidad de glicolípidos y peptidolípidos complejos; el otro aspecto importante es que los antibióticos que se usan para tratar la TB son muy ineficientes



**Figura 2.** Esquema de las diferentes rutas clínicas después de la infección primaria con *Mycobacterium tuberculosis*.

en ingresar y eliminar a la bacteria cuando se alberga en las células adiposas<sup>9,10</sup>.

La TB es una enfermedad esencialmente pulmonar, pero en el 15% de los casos puede afectar otros órganos, como ganglios linfáticos, hígado, riñón o cerebro y en ocasiones sin que exista afectación pulmonar, lo cual sugiere que puede existir TB latente que se reactiva extrapulmonarmente<sup>8</sup>. En el trabajo de Barrios-Payán y cols.<sup>2</sup>, no sólo se confirmó la existencia de ADN de Mtb en macrófagos y fagocitos no profesionales en los pulmones de sujetos que fallecieron por causas diferentes a la TB, sino que además se demostró la viabilidad de las bacterias al mostrar por RT-PCR en tiempo real que sintetizan RNA ribosomal y además que realmente son bacterias en estado latente, pues con la misma metodología se demostró que transcriben genes relacionados específicamente con infección latente, como lo son el gen que codifica para una proteína de stress llamada alfa cristalina y para la isocitrato liasa, que es una enzima esencial en la

actividad bioenergética y al parecer está vinculada con el consumo de los lípidos de la pared bacteriana y los utiliza como fuente de energía. Este es un aspecto distintivo de las bacterias en estado latente pues con esta actividad consumen su pared hasta perderla y así también pierden su característica tintorial de ser organismos ácido-alcohol resistentes; en consecuencia, no es posible identificar bacterias en estado latente con la tinción específica de Ziehl Neelsen, por lo cual es necesario utilizar metodología molecular como la que se empleó en este estudio. Además de que sólo este tipo de metodología permite demostrar la existencia de bacterias vivas, puesto que una de las características esenciales de las bacterias en estado latente es que no pueden crecer en medios de cultivo.

Una de las aportaciones principales de este trabajo es la demostración de que extrapulmonarmente, en tejidos como el bazo, hígado y riñón, en un alto porcentaje (65-70%) de sujetos fallecidos por causas diferentes a la TB, existen bacterias en estado

latente y, al igual que en el pulmón, las bacterias se encuentran en el citoplasma no sólo de macrófagos sino también de fagocitos no profesionales, como las células endoteliales, fibroblastos, hepatocitos o epitelio tubular renal, y ese tejido no mostraba ninguna anomalía histológica evidente, lo cual se confirmó en un modelo murino similar a la TB latente. Por lo tanto, la bacteria en estado latente puede existir en los tejidos sin inducir inflamación o formación de los típicos granulomas.

Hasta finales del siglo pasado se consideraba que *Mtb* era un tipo de bacteria con gran estabilidad y poca variabilidad en su estructura genética. Diversas técnicas moleculares han demostrado recientemente que esto no es así, en realidad una de las características más sobresalientes de *Mtb* es su gran diversidad genética y hoy se sabe que existe una especie de grupos étnicos de la bacteria relacionados con una distribución geográfica específica. Una de las técnicas más útiles para este tipo de estudio de genotipificación basados en PCR es la espoligotificación, con la cual, entre otros aspectos se ha demostrado principalmente en países endémicos, la presencia de varias cepas genéticamente diferentes en el mismo paciente con TB activa, tanto en pacientes VIH positivos como negativos<sup>10-12</sup>. En este estudio se encontraron 42 genotipos bacterianos diferentes en 30 individuos con infección latente<sup>2</sup>. Esta amplia variabilidad genética sugiere infección esporádica crónica, y un dato particularmente interesante fue que el 50% de los individuos infectados mostraron 2 o 3 genotipos diferentes, lo cual indica que es posible infectarse varias veces y albergar diferentes tipos de *Mtb* en estado latente. De hecho, al parecer en países endémicos como el nuestro estas infecciones **múltiples** son una condición común, en donde la respuesta inmune adaptativa inducida por la primera infección (la cual fue llevada en latencia) no protege en contra de un segundo o tercer contacto con otras cepas de la bacteria<sup>13</sup>. Además, todas las bacterias encontradas fueron *Mtb*, ninguna fue *M. bovis*, lo cual es importante si consideramos que las campañas de vacunación con BCG son prevalentes en México y esta vacuna es un tipo atenuado de *M. Bovis* que pudo haber sido albergado en forma latente.

En conclusión, en el estudio de Barrios Payán

y cols. se muestra que en la TB hay mucho más complejidad que macrófagos que fagocitan *Mtb* y la inducción de formación de granulomas. Es también un ejemplo interesante de cómo la investigación básica y experimental en patología puede contribuir a dilucidar enigmas importantes en enfermedades de gran importancia médica, como lo es la TB. ●

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daniel TM. The origins and precolonial epidemiology of tuberculosis in the Americas: can we figure them out? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4:395-400.
2. Barrios-Payán J, Saqui-Salces M, Jeyanathan A, Alcántara-Vazquez M, Castanon-Arreola G, Rook G, et al. Extrapulmonary locations of *Mycobacterium tuberculosis* DNA During Latent Infection. *J Infect Dis.* 2012; 206:1194-205.
3. Bishai WR. Rekindling old controversy on elusive lair of latent tuberculosis. *The Lancet.* 2000;356(9248):2113-4.
4. Gordillo S, Guirado E, Gil O, Díaz J, Amat I, Molinos S, et al. Usefulness of *acr* expression for monitoring latent *Mycobacterium tuberculosis* bacilli in 'in vitro' and 'in vivo' experimental models. *Scan J Immunol.* 2006;64:30-39.
5. Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991;72:6.
6. Opie E, Aronson J. Tubercle bacilli in latent tuberculous lesions and in lung tissue without tuberculous lesions. *Arch Pathol Lab Med.* 1927;4:21.
7. Hernández-Pando R, Jeyanathan M, Mengistu G, Aguilar D, Orozco H, Harboe M, et al. Persistence of DNA from *Mycobacterium tuberculosis* in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet.* 2000;356:2133-8.
8. Parrish NM, Dick JD, Bishai WR. Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol.* 1998;6:107-12.
9. Neyrolles O, Hernández-Pando R, Pietri-Rouxel F, Fornas P, Tailleux L, Barrios Payán JA, et al. Is Adipose Tissue a Place for *Mycobacterium tuberculosis* Persistence? *PLoS ONE* 2006;1:1-9.
10. Richardson M, Carroll NM, Engelke E, Van Der Spuy GD, Salker F, Munch Z, et al. Multiple *Mycobacterium tuberculosis* strains in early cultures from patients in a high-incidence community setting. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2750-4.
11. Pavlic M, Allerberger F, Dierich MP, Prodingler WM. Simultaneous infection with two drug-susceptible *Mycobacterium tuberculosis* strains in an immunocompetent host. *J Clin Microbiol.* 1999;37:4156-7.
12. Mallard K, McNerney R, Crampin AC, Houben R, Ndlovu R, Munthali L, et al. Molecular detection of mixed infections of *Mycobacterium tuberculosis* strains in sputum samples from patients in Karonga District, Malawi. *J Clin Microbiol.* 2010;48(12):4512-8.
13. Laal S. How does *Mycobacterium tuberculosis* establish infection? *J Infect Dis.* 2012;206:1157-9.