

ARTÍCULOS ORIGINALES

Incremento de Linfocitos Intraepiteliales en Pacientes con Síndrome de Intestino Irritable

F. Arévalo^{1,5,7}, V. Aragon³, P. Montes^{1,2}, E. Guzmán⁴, E. Monge^{1,5,6,7}

RESUMEN

Diversos trabajos reportan aumento en el número de linfocitos intraepiteliales (LIE), mastocitos y células enterocromafines en pacientes con Síndrome de Intestino Irritable (SII). Muchos de estos hallazgos se basan en el uso de inmunohistoquímica que son de poca disponibilidad en hospitales generales. El objetivo del presente trabajo es estudiar los hallazgos histológicos en la biopsia de colon sólo con histoquímica en pacientes con SII comparándolos con un grupo sin SII. Fueron incluidos 25 pacientes: 16 (64%), con criterios diagnósticos de SII y 9 (36%), sin SII. Se encontró un mayor número de LIE en el grupo de SII ($p=0,002$). Un grupo de pacientes con criterios Roma III (41,9%) presentó LIE en el rango de Colitis Linfocítica por lo que fueron excluidos de este estudio. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en el número de mastocitos, células enterocromafines y eosinófilos.

PALABRAS CLAVES: Síndrome de Intestino Irritable, linfocitos intraepiteliales, mastocitos, células enterocromafines.

Rev. Gastroenterol. Perú; 2011; 31-4: 315-318

ABSTRACT

Several studies have shown increased numbers of intraepithelial lymphocytes (IEL), mast cells, enterochromaffin cells in colonic mucosa of patients with Irritable Bowel Syndrome (IBS). Many of these findings are based on immunohistochemistry results, which is not available in general hospitals. Our objective is to study the histological findings observed in colon biopsies from patients with IBS compared with a group without IBS, using only histochemistry. Twenty five (25) patients were included: 16 with IBS and 9 without IBS. We found increased numbers of IEL in patients with IBS ($p=0,002$). A group of patients with IBS (41.9%) who fulfilled histological criteria for lymphocytic colitis were excluded. There was no significant difference in mast cells, enterochromaffin cells or eosinophils.

KEY WORDS: Irritable Bowel Syndrome, intraepithelial lymphocytes, mast cell, enterochromaffin cell.

-
- 1 Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión-Callao
 - 2 Servicio Gastroenterología Hospital de la Solidaridad
 - 3 Hospital II Luís Negreiros Vega-Essalud
 - 4 Hospital II Vitarte-Essalud
 - 5 Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas
 - 6 Universidad Peruana Cayetano Heredia,
 7. Universidad Nacional Mayor de San Marcos,

INTRODUCCIÓN

El síndrome de intestino irritable (SII) es una entidad clínica frecuente que afecta alrededor del 20% de los adultos en el Perú. El diagnóstico de SII ha evolucionado a lo largo del tiempo, inicialmente se consideró como un diagnóstico de descarte después de haber agotado los esfuerzos por encontrar patología infecciosa, inflamatoria o neoplásica. En la década de los 70 se introduce el concepto de diagnóstico por criterios clínicos específicos, siendo los criterios de Roma III los que se utilizan en la actualidad. Sin embargo en la última década se ha avanzado en la búsqueda de algún respaldo al diagnóstico clínico, entre los potenciales sustentos, se encuentra la biopsia de colon durante la colonoscopia. En este sentido se ha descrito un incremento en la celularidad y más específicamente aumento de linfocitos tipo T así como de mastocitos y células enterocromafines. Este aumento en células es consistente con la hipótesis fisiopatogenica que postula que el SII es en el fondo una situación clínica en la que existe una respuesta inmune mediada por linfocitos y posterior activación de mastocitos y de células enterocromafines que son responsables de activar las vías de dolor y de modular la motilidad intestinal. Sin embargo muchos de estos hallazgos se basan en el uso de inmunohistoquímica y técnicas más complejas que no son de muy amplia disponibilidad en hospitales generales.

El objetivo del presente trabajo es estudiar los hallazgos histológicos en la biopsia de colon sólo con histoquímica en pacientes con SII.

MÉTODOS

Tipo de estudio: Estudio tipo transversal descriptivo.

Pacientes: Fueron incluidos en este estudio pacientes, mayores de 18 años, con diagnóstico de SII basados en los criterios de Roma III y que tuvieran una colonoscopia completa y biopsias de colon. Se incluyeron además a manera de grupo de comparación pacientes que no tuvieran diagnóstico de SII, que fueran sometidos a colonoscopia y biopsias de colon.

Fueron excluidos pacientes con hallazgos colonoscópicos de enfermedad orgánica como cáncer de colon, enfermedad inflamatoria intestinal, SIDA y aquellos quienes tuvieran hallazgos microscópicos como colitis linfocítica, eosinofílica, etc.

Los pacientes fueron reclutados para este estudio en el servicio de gastroenterología del HNDAC así como de consulta particular.

Biopsias: se tomaron en total 8 biopsias por cada paciente. 4 de colon derecho y 4 de colon izquierdo. Todas las biopsias fueron procesadas e informadas por dos patólogos cegados al resultado endoscópico y al cuadro clínico de los pacientes.

Se realizó tinción de Hematoxilina-Eosina, tinción de plata para células enterocromafines y Giemsa para mastoci-

tos. Se estudiaron las siguientes características histológicas: linfocitos intraepiteliales, presencia de eosinófilos en lamina propia, mastocitos en lamina propia y número de células enterocromafines. El número de linfocitos intraepiteliales se obtuvo del promedio del conteo de linfocitos por cada 100 células del epitelio de superficie en 3 campos de 40x seleccionados por tener mayor densidad linfocitaria. El número de eosinófilos y mastocitos se obtuvo del valor promedio del conteo de eosinófilos o mastocitos en 3 campos de alto poder seleccionados por tener mayor densidad de estas células. El número de células enterocromafines se determinó con la suma del número de células enterocromafines encontradas en los 3 campos de 40X que presentaran mayor densidad de estas células.

Aspectos éticos: los pacientes fueron informados de todo procedimiento y firmaron un consentimiento informado según el estándar de cada nosocomio.

Estadística: Para las variables categóricas se utilizaron pruebas de Chi cuadrado o Test exacto de Fisher y para variables cuantitativas las Pruebas T de Student, aceptándose una validez de $p < 0,05$. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS 17.0 para Windows.

RESULTADOS

En nuestro estudio se incluyeron inicialmente un total de 43 pacientes, de los cuales 18 (41,9%), fueron excluidos por tener un hallazgo histológico compatible con Colitis Linfocítica.

La población final estuvo constituida por 25 pacientes, de los cuales 17 (68%) fueron varones y 8 (32%) fueron mujeres. La edad promedio de presentación fue de $47,4 \pm 12,0$ años. De esta población, 16 pacientes (64%), cumplieron con criterios diagnósticos de SII y los 9 (36%), restantes pertenecieron al grupo de comparación. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el promedio de edad ($p=0,23$), ni en la distribución de sexos ($p=0,95$) entre los grupos SII y de comparación.

De los 16 pacientes con SII, 8 (50%), fueron del tipo predominio diarrea, 7 fueron del tipo predominio constipación y el paciente restante del tipo mixto.

La comparación del número de células entre ambos grupos se muestra en las tablas 1, 2 y 3 para el colon en general, colon derecho e izquierdo respectivamente. Se encontró que el número de linfocitos intraepiteliales fue estadísticamente superior en el grupo de SII, En relación al número de mastocitos, células enterocromafines y eosinófilos no se encontró diferencia estadísticamente significativa.

Se comparó la celularidad promedio de acuerdo al tipo de SII, predominio diarrea versus constipación, no encontrándose diferencia estadísticamente significativa: linfocitos intraepiteliales 11.375 vs 7.81 ($p=0.2$); mastocitos: 2.68 vs 6.28 ($p=0.18$); eosinófilos: 9.0 vs 5.03 ($p=0.26$) y enterocromafines: 7.91 vs 9.92 ($p=0.56$).

Tabla 1: Comparación de la celularidad entre pacientes con SII y grupo de comparación

	SII N = 16	CONTROL N = 9	P
Linfocitos intraepiteliales (Número de linfocitos por cada 100 células del epitelio de superficie).	9.81	4.66	0.002
Mastocitos (Numero de mastocitos por campo de 40X).	4.09	2.94	0.385
Eosinofilos (Numero de eosinófilos por campo de 40X)	7.54	7.05	0.840
Enterocromafines (Numero de células argentafines en 3 campos de 40X)	8.85	5.87	0.179

Tabla 2: Comparación de la celularidad en colon derecho entre pacientes con SII y grupo de comparación

	SII N = 16	CONTROL N = 9	P N = 25
Linfocitos intraepiteliales (Número de linfocitos por cada 100 células del epitelio de superficie).	10.87	6.33	0.023
Mastocitos (Numero de mastocitos por campo de 40X).	5.37	2.55	0.14
Eosinofilos (Numero de eosinófilos por campo de 40X).	9.62	10.11	0.88
Enterocromafines (Numero de células argentafines en 3 campos de 40X)	6.78	4.71	0.11

Tabla 3: Comparación de la celularidad en colon izquierdo entre pacientes con SII y grupo de comparación

	SII	CONTROL	P
Linfocitos intraepiteliales (Número de linfocitos por cada 100 células del epitelio de superficie).	8.75	3.0	0.01
Mastocitos (Numero de mastocitos por campo de 40X).	2.5	3.12	0.627
Eosinofilos (Numero de eosinófilos por campo de 40X).	5.4**6	4.0	0.392
Enterocromafines (Numero de células argentafines en 3 campos de 40X)	10.92	7.62	0.327

DISCUSIÓN

El diagnóstico de SII se basa en criterios clínicos los cuales son a partir del año 2006, los criterios de Roma III; sin embargo siempre se ha estado en búsqueda de hallazgos bioquímicos, serológicos o histológicos que apoyen este diagnóstico clínico. Recientemente ha recibido mucha atención la celularidad en las biopsias de mucosa de colon. Se ha

descrito aumento de la celularidad en general pero más específicamente en el número de linfocitos, mastocitos y células enterocromafines.

En nuestro trabajo se encontró un número significativamente mayor de linfocitos intraepiteliales (LIE) en pacientes con SII. En la revisión que hace Ortiz y col se muestran trabajos que coinciden con nuestro hallazgo. Los LIE de la mucosa colónica son de tipo T y del subtipo CD4 y CD8³. Su participación en la génesis de la diarrea, consiste en estimular el incremento de células enterocromafines⁴ y mastocitos; estos a su vez liberan histamina, serotonina (5HT) sustancias que alteran la motilidad intestinal, también hay mayor liberación de proteasas como la triptasa probablemente responsable de la mayor severidad de síntomas como dolor abdominal⁵. Dentro de los linfocitos T existen unos linfocitos conocidos como linfocitos T activados (CD25)⁶, que producen IL 11 Beta, que es conocida por su efecto pro-secretor que induce a diarrea.

En relación a la distribución topográfica de estos hallazgos, se ha descrito que pacientes con SII muestran incremento de LIE en todo el colon incluido el recto y otros segmentos del tracto digestivo como yeyuno⁷. En cuanto a mastocitos y células enterocromafines su distribución se encuentra predominantemente en colon sigmoideos y ciego⁸, no incluimos biopsias de ciego porque ese segmento intestinal presenta fisiológicamente mayor celularidad que nos dificulta el diagnóstico diferencial de patologías como colitis linfocítica.

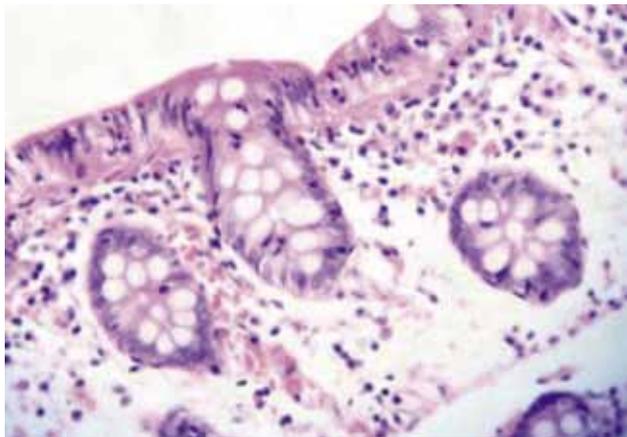
Algunas investigaciones señalan que el incremento de LIE es mayor en los SII pos infeccioso tipo diarrea, esto ha sido demostrado en pacientes que desarrollan SII posterior a colitis por campylobacter o shigella⁹. En nuestro estudio se encontró incremento de LIE tanto en el subgrupo diarrea como en el de constipación.

Algunos trabajos demuestran que pacientes con intestino irritable pueden presentar LIE en un valor suficientemente alto como para ser considerados dentro del diagnóstico de Colitis linfocítica⁶. En este trabajo se encontró que el 44,8% de pacientes con criterios de Roma III cumplían los criterios histológicos de Colitis Linfocítica; estos pacientes fueron excluidos en el estudio.

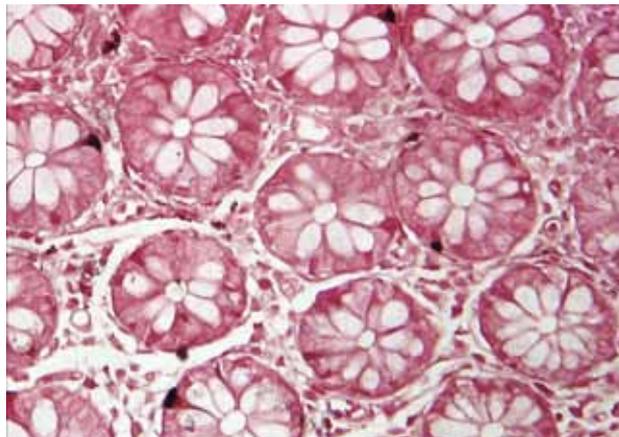
Como en otros estudios no se ha encontrado diferencia en cuanto a la presencia de eosinofilos¹⁰, en nuestro estudio no se pudo demostrar incremento significativo en el número de mastocitos y células enterocromafines. Los trabajos iniciales realizados sobre este tema, tampoco encontraron incremento de estas células; solo con técnicas más sensibles y complejas como inmunohistoquímica, microscopía electrónica y morfometría se ha podido demostrar este hecho^{11, 12}.

Sin embargo consideramos que el presente trabajo demuestra que aun con biopsias de rutina y tinciones convencionales de histoquímica se puede demostrar algunos cambios inflamatorios como el incremento de linfocitos intraepiteliales en pacientes con SII.

Agradecimientos: Al doctor Gustavo Cerrillo del Hospital Nacional Dos de Mayo, por su valiosa colaboración en el procesamiento histoquímico.



Obsérvese el incremento en el número de linfocitos intraepiteliales en el epitelio de superficie (HE 10X)



Obsérvese las células enterocromafines teñidas de negro (coloración de plata 10X)

REFERENCIAS

1. CURIOSO WH, DONAIRES N, BACILIO C, GANOZA C, LEÓN BARÚA R. Prevalence and relation of dyspepsia to irritable bowel syndrome in a native community of the Peruvian jungle. *Rev Gastroenterol Peru.* 2002;22(2):129-40
2. ORTIZ L et al Hipótesis inmune del síndrome del intestino irritable. Primera parte: papel de los linfocitos y mastocitos *Rev. Esp. Enferm.* 2010; 102 : 11.
3. SPILLER RC, JENKINS D, THORNLEY JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000;47:804-811.
4. KIRSCH R, RIDDELL RH. Histopathological alterations in irritable bowel syndrome. *Mod Pathol.* 2006;19(12):1638-45.
5. BARBARA G, STANGHELLINI V, DE GIORGIO R, et al. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004;126:693-702.
6. CHADWICK V, CHEN W, SHU D, et al. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002;122:1778-1783.
7. PICHE T, SAINT-PAUL MC, DAINESE R, et al. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut.* 2008;57:468
8. O'SULLIVAN M, CALYTON N, BRESLIN NP, et al. Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2000;12:449-457.
9. Kim HS, Lim JH, Park H, Lee SI. Increased immunendocrine cells in intestinal mucosa of postinfectious irritable bowel syndrome patients 3 years after acute *Shigella* infection--an observation in a small case control study. *Yonsei Med J.* 2010 31;51(1):45-51
10. FORD AC, TALLEY NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: a systematic review. *J Gastroenterol.* 2011;46(4):421-31
11. PICHE T, SAINT-PAUL MC Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut.* 2008;57(4):468-73.
12. LEE, K. J., KIM, Y. B., KIM, J. H., KWON, H. C., KIM, D. K. AND CHO, S. W. , The alteration of enterochromaffin cell, mast cell, and lamina propria T lymphocyte numbers in irritable bowel syndrome and its relationship with psychological factors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2008. 23: 1689-1694.