



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR**  
**ZUBIRÁN**

**TÍTULO:**

**ASOCIACIÓN DE VIRUS DE EPSTEIN BARR CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA IDIOPÁTICA**

**TESIS QUE PRESENTA**

**Dr. Roberto Elías Hernández Mora**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD EN**  
**ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Asesor:**

**Dr. Braulio Martínez Benítez**

**México D.F., Agosto de 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# **Asociación de virus de Epstein Barr con colitis ulcerosa crónica idiopática**

## **Justificación.**

La relación entre la colitis ulcerativa crónica idiopática y agentes infecciosos es conocida. Se han estudiado diversos agentes infecciosos, tanto bacterianos como virales. El virus de Epstein Barr es un agente infeccioso poco estudiado en los pacientes con CUCI. Si bien se ha identificado por métodos de inmunohistoquímica y biología molecular con anterioridad, no se ha estudiado su relación con la respuesta al tratamiento en estos pacientes. La identificación de LMP-1 en enterocitos de pacientes con CUCI permitiría indagar sobre la asociación entre el virus de Epstein Barr y CUCI así como las repercusiones de esta asociación.

## **Hipótesis**

La Colitis ulcerativa crónica idiopática se puede asociar con infección por virus de Epstein Barr, esta asociación es más frecuente en aquellos pacientes refractarios al tratamiento médico.

## **Objetivo primario.**

Identificar, mediante estudios de inmunohistoquímica, la presencia de LMP-1 en las células epiteliales de mucosa colónica en pacientes con CUCI y su asociación con la refractariedad a tratamiento médico.

## **Objetivo secundario.**

Determinar si existe una relación entre la expresión de LMP-1 en las células epiteliales de la mucosa colónica de los pacientes con CUCI, y severidad, tratamiento previo o coinfección por CMV.

## **Marco teórico**

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una inflamación crónica e idiopática del aparato gastrointestinal. Los dos tipos principales son la colitis ulcerosa crónica idiopática (CUCI) y la enfermedad de Crohn (EC). La incidencia de estas enfermedades en

Latinoamérica es menor que en Europa y en Norteamérica. La frecuencia de EII es aproximadamente de 0.5 por cada 100 000 habitantes. Su mortalidad más alta se presenta en los primeros años de la enfermedad y a largo plazo aumenta el riesgo de cáncer de colon. La edad más frecuente para el comienzo de esta enfermedad es entre los 15 a 30 años y un segundo pico entre los 60 y 80 años. Se presenta con mayor frecuencia en zonas urbanas y en estratos socioeconómicos altos (1).

La etiología y fisiopatología aún no son bien conocidas, múltiples estudios en gemelos y familias afectadas han demostrado el papel de factores genéticos, sin embargo, los factores ambientales también son muy importantes. Entre los factores precipitantes asociados se encuentran el uso de antiinflamatorios no esteroideos, que llevan a exacerbaciones de la enfermedad (2).

El diagnóstico de la enfermedad se basa en características clínicas, estudios radiológicos, endoscópicos, histológicos y serológicos. El tratamiento se lleva a cabo de manera escalonada dependiendo de la gravedad de la enfermedad, en general se inicia con compuestos a base de ácido 5-aminosalicílico para enfermedad leve a moderada, cuando el cuadro pasa a moderado – severo pueden utilizarse corticoesteroides, su vía de administración dependerá de la región de intestino afectada.

Se define como CUCI refractaria a tratamiento, aquella que presenta pobre respuesta a altas dosis sistémicas de corticoesteroides por más de 2 semanas (3). Cuando no hay respuesta a esteroides o no es posible disminuir la dosis para mantener un estado de remisión, se utilizan agentes inmunosupresores e inmunomoduladores como azatioprina y ciclosporina. En la actualidad, la terapia biológica representa una adecuada opción terapéutica, y probablemente la piedra angular del tratamiento. El uso de antibióticos y probióticos aún está bajo investigación, pero parecen ser alternativas coadyuvantes razonables (2).

La CUCI severa es un reto para el gastroenterólogo; del 20% a 40% de los pacientes presentan resistencia al tratamiento. Se cree que la resistencia puede ser secundaria a la disminución del receptor de corticoesteroides o una disminución en la afinidad por el DNA, sin embargo, ocasionalmente es debida a una infección superpuesta (4).

El virus de Epstein Barr infecta los linfocitos B de sangre periférica y amígdalas después de la infección de epitelio laríngeo incluyendo el epitelio de las glándulas salivales. (5) Oikawa (6) reportó la presencia del virus de Epstein Barr en Mucosa orofaríngea, lengua, glándulas salivales, esófago, estómago, ganglios linfáticos y bazo. En el año 2000 Takeda Et al.(7) demostraron la presencia de virus de Epstein Barr en mucosa ileal y colónica mediante PCR, inmunohistoquímica para LMP-1 e hibridación in situ. Julie L. Ryan (8) demostró la presencia de virus de Epstein Barr en la mucosa gastrointestinal inflamada, mediante PCR para diferentes regiones del genoma viral (BAM, H1 w, EBNA1, LMP-1, LMP-2, BZLF-1, y EBER1) encontrando expresión en el 64% de los casos de mucosa colónica inflamada. G.Bertalot Et al. (9) identificó RNA de virus de Epstein Barr en biopsias y colectomías de pacientes con cuci mediante PCR, encontrando DNA linear de virus de Epstein Barr, aunque confinado a los linfocitos únicamente.

Se han identificado linfomas colónicos en pacientes con CUCI la mayoría de ellos asociados con infección por virus de Epstein Barr (10,11,12,13) e incluso en una caso presentando remisión después de suspender el tratamiento inmunosupresor. (10) Todos estos hallazgos sugieren un rol del virus de Epstein Barr en la patogenia o severidad de la colitis ulcerativa crónica idiopática.

## **METODOLOGÍA**

Se realizó un estudio de casos y controles, pareado de 1:4, abierto, observacional, retrospectivo, longitudinal.

### ***Universo de estudio.***

Pacientes diagnosticados con CUCI a los que se les haya realizado colectomía (total o subtotal).

### ***Tamaño de la muestra.***

Se seleccionaron todos los casos de pacientes con CUCI a los que se les haya realizado colectomía total o subtotal, entre los años 2000 y 2006.

### ***Criterios de selección:***

#### *Criterios de Inclusión.*

Casos: Pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán con diagnóstico histológico de CUCI.

Que se les haya realizado colectomía total o subtotal.

Clínicamente refractarios a tratamiento

Controles: Pacientes del Instituto con diagnóstico histológico de CUCI.

Que se les haya realizado colectomía total o subtotal.

Clínicamente no refractarios a tratamiento

### ***Criterios de exclusión.***

Pacientes que con enfermedad de Crohn o con EII indeterminada.

### **Criterios de eliminación.**

Aquellos que no cuenten con bloques de tejido para realizar tinción de IHQ.

Aquellos que no cuenten con los valores de las variables a estudiar.

Se revisaron los libros de patología quirúrgica del Departamento de Patología entre los años 2000 y 2006 y se obtuvo aquellos casos diagnosticados con CUCI a los que se les realizó colectomía total o subtotal. Posteriormente, se analizaron nuevamente las laminillas teñidas con H&E identificando las áreas con mayor actividad.

Además se seleccionó una laminilla representativa, de cuyo bloque de parafina se obtuvieron laminillas en las que se realizó IHQ para LMP1 (1: 100, Biocare Medical, CA). Se consideraron positivos aquellos casos que mostraron inmunorreacción en citoplasma de los enterocitos. Se obtuvo la siguiente información de los expedientes clínicos: extensión de la enfermedad, grado de afección histológica, duración de la enfermedad, refractariedad a tratamiento, uso de esteroides e inmunomoduladores y presencia de comorbilidades.

Se utilizó estadística descriptiva: media, mediana, rangos y proporciones. Se calculará  $\chi^2$  de Pearson para evaluar diferencias entre 2 poblaciones en el caso de las variables cualitativas y la prueba  $T$  para las cuantitativas. Para calcular los riesgos de los distintos factores de exposición se utilizó razón de Momios e intervalos de confianza al 95%. Se considerarán como significativos los valores de  $P < 0.05$ . Se utilizó el programa SPSS versión 15.

## **Definiciones Operacionales de Variables**

**Pacientes con CUCI:** Definición Operacional: aquellos pacientes diagnosticados con CUCI en material de biopsia de colon o colectomía.

**Duración de la Enfermedad:** cuantitativa discreta. Tiempo desde el diagnóstico de CUCI hasta la realización de colectomía (total o subtotal). Valores: cuantificación en meses (de 30 días).

**Gravedad de la Enfermedad:** cualitativa ordinal. Intensidad de la enfermedad determinada histológicamente en base a la escala de Riley. Valores:

- 0: Normal.
- 1: infiltrado inflamatorio crónico leve, sin destrucción de tejido.
- 2: infiltrado inflamatorio crónico moderado, sin destrucción de tejido.
- 3: Infiltrado inflamatorio crónico intenso, leve destrucción tisular.
- 4: Infiltrado inflamatorio crónico intenso, con obvia destrucción de tejido.

**Extensión de la Enfermedad:** cualitativa nominal politómica. Zona afectada por la enfermedad (determinada por endoscopia). Valores: Proctitis, Colitis izquierda y Pancolitis.

**Tratamiento con 5-ASA:** cualitativa nominal dicotómica. Pacientes en tratamiento con 5-ASA en los 6 meses previos a la obtención de pieza quirúrgica. Se registrará la dosis (al día) y tiempo de administración (días). Valores: con tratamiento, sin tratamiento.

**Tratamiento con Corticoesteroides:** cualitativa nominal dicotómica. Pacientes en tratamiento con prednisona o equivalente en los 6 meses previos a la obtención de pieza quirúrgica. Se registrará la dosis (al día) y tiempo de administración (días). Valores: con tratamiento, sin tratamiento



**Tratamiento con otros agentes inmunosupresores o inmunomoduladores:**

Cualitativa nominal politómica. Pacientes en tratamiento con azatioprina, metotrexato o ciclosporina en los 6 meses previos a la obtención de pieza quirúrgica. Se registrará la dosis (al día) y tiempo de administración (días). Valores: con tratamiento, sin tratamiento.

**Dosis Acumulada:** Cuantitativa continua. Producto de la dosis de medicamento por el tiempo en que fue recibida.

**Índice de Medicamento:** proporción entre los días que se recibió el medicamento y los 180 días en que pudo haberlo recibido.

**Presencia de comorbilidades inmunomoduladoras como DM, cáncer, falla renal o desnutrición:** Cualitativa nominal politómica. Pacientes diagnosticados por médicos del INCMSZ como diabéticos, con cáncer o insuficiencia renal, de acuerdo a criterios clínicos y de laboratorio estándar, o pacientes con IMC menor a 18. Valores: con y sin comorbilidad inmunomoduladora (se especificará DM, falla renal, desnutrición o cáncer).

**Refractariedad a tratamiento:** Cualitativa dicotómica. Pacientes que después de 3 a 7 días de administración de hidrocortisona IV a dosis máximas (300 a 400 mg/d) y que no presentaron remisión y que finalmente se les practicó colectomía. Valores: Sin resistencia y con resistencia.

## RESULTADOS

Se identificaron 30 pacientes con CUCI a quienes se les realizó colectomía total o subtotal entre los años 2000 y 2006, de los cuales se eliminaron 5 casos por no contar con bloque de parafina. En el análisis histológico con tinción de HE se identificaron las áreas de cada pieza con mayor actividad y se realizó en esos bloques inmunohistoquímica para LMP-1.

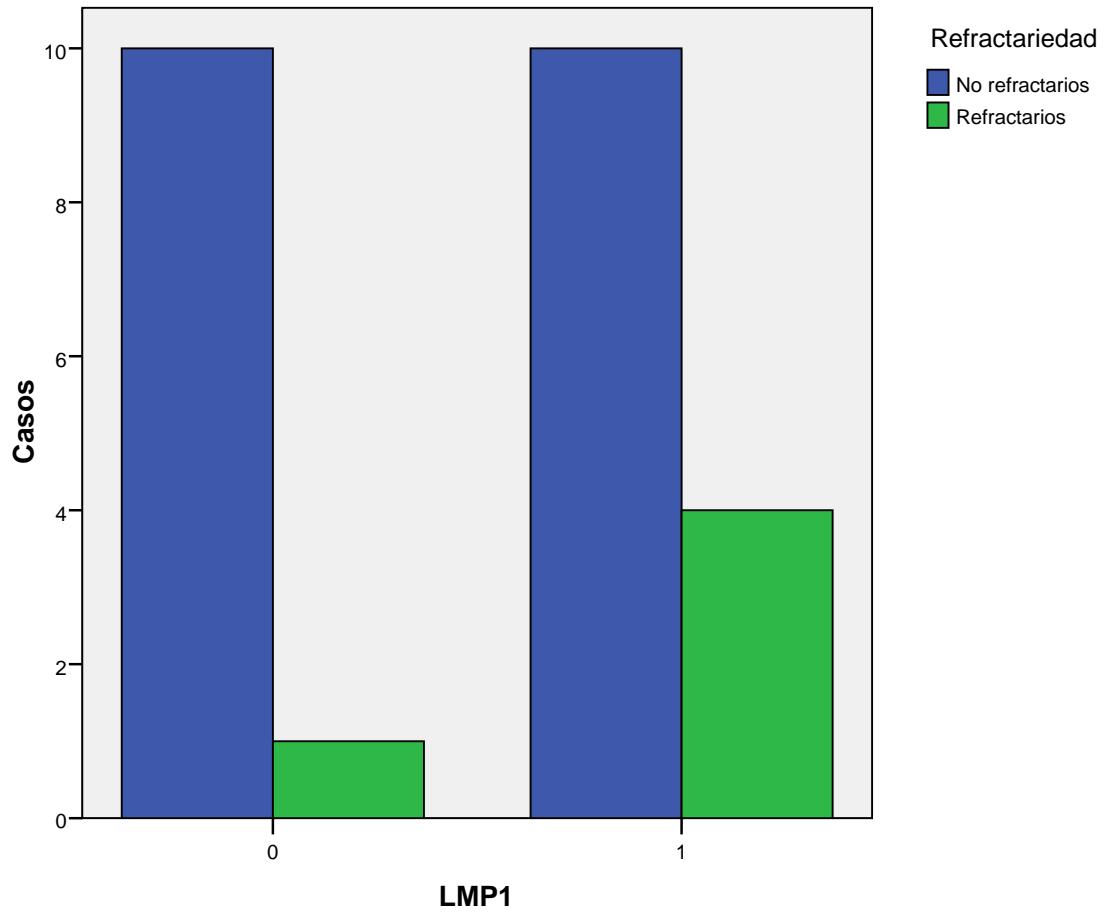
Se estudiaron 5 casos refractarios al tratamiento y 20 casos con respuesta adecuada. Los pacientes fueron 15 mujeres y 10 hombres. Con edades entre los 19 y 73 años con una media de 42.55 años. Todos ellos recibieron tratamiento con 5-ASA, prednisona e hidrocortisona. La duración de la enfermedad fue de 5 a 252 meses con una media de 93.2 meses. La intensidad fue de la enfermedad fue severa en todos los casos. 21 de los casos tenían afección a todo el colon, 3 colon izquierdo y uno limitado al recto.

Casos	Hombres	Mujeres	Edad (media)	Pancolitis	Colon izquierdo	Proctitis
Refractarios	1	4	45	4	0	1
No Refractarios	9	11	41.95	17	3	0

Se encontró expresión de LMP-1 citoplasmático por inmunohistoquímica en 14 de 25 casos estudiados.

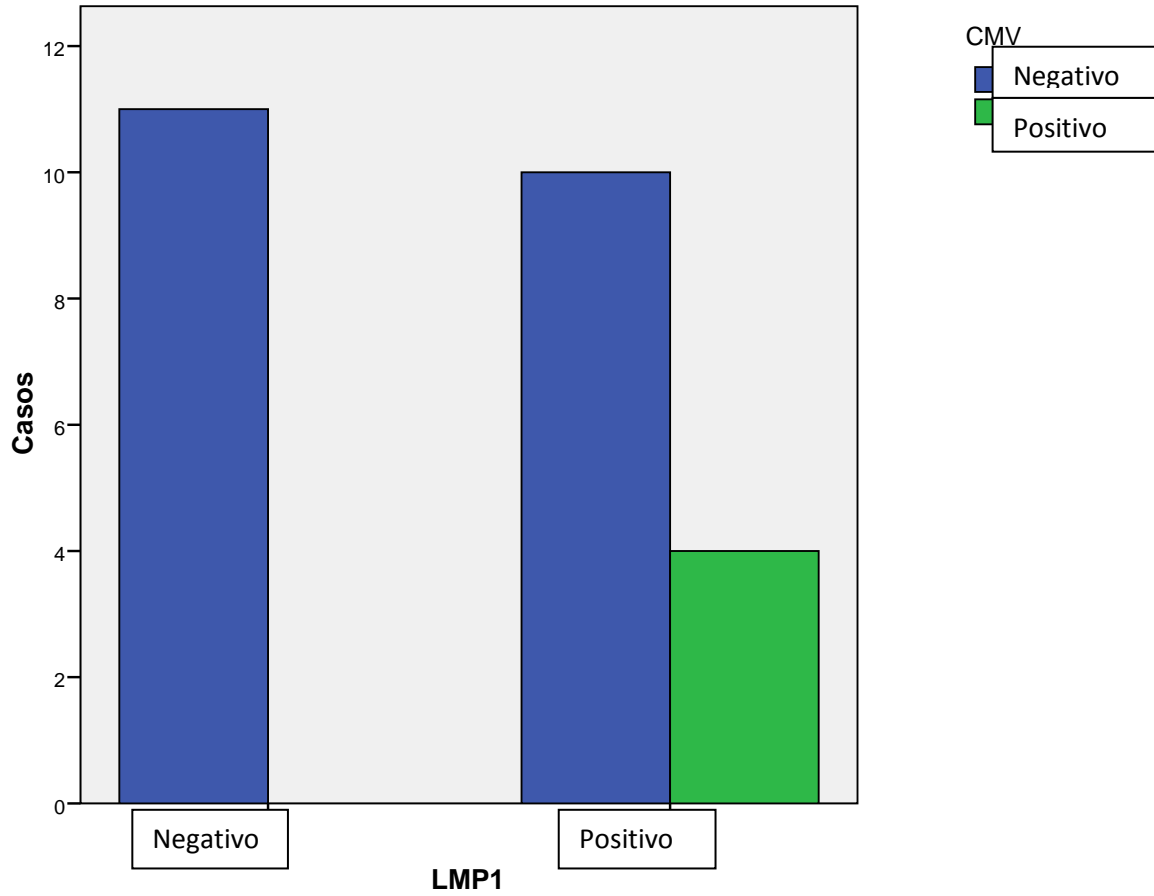
De los 5 casos refractarios al tratamiento 4 presentaron positividad para LMP-1 (0.227)

Gráfico de barras

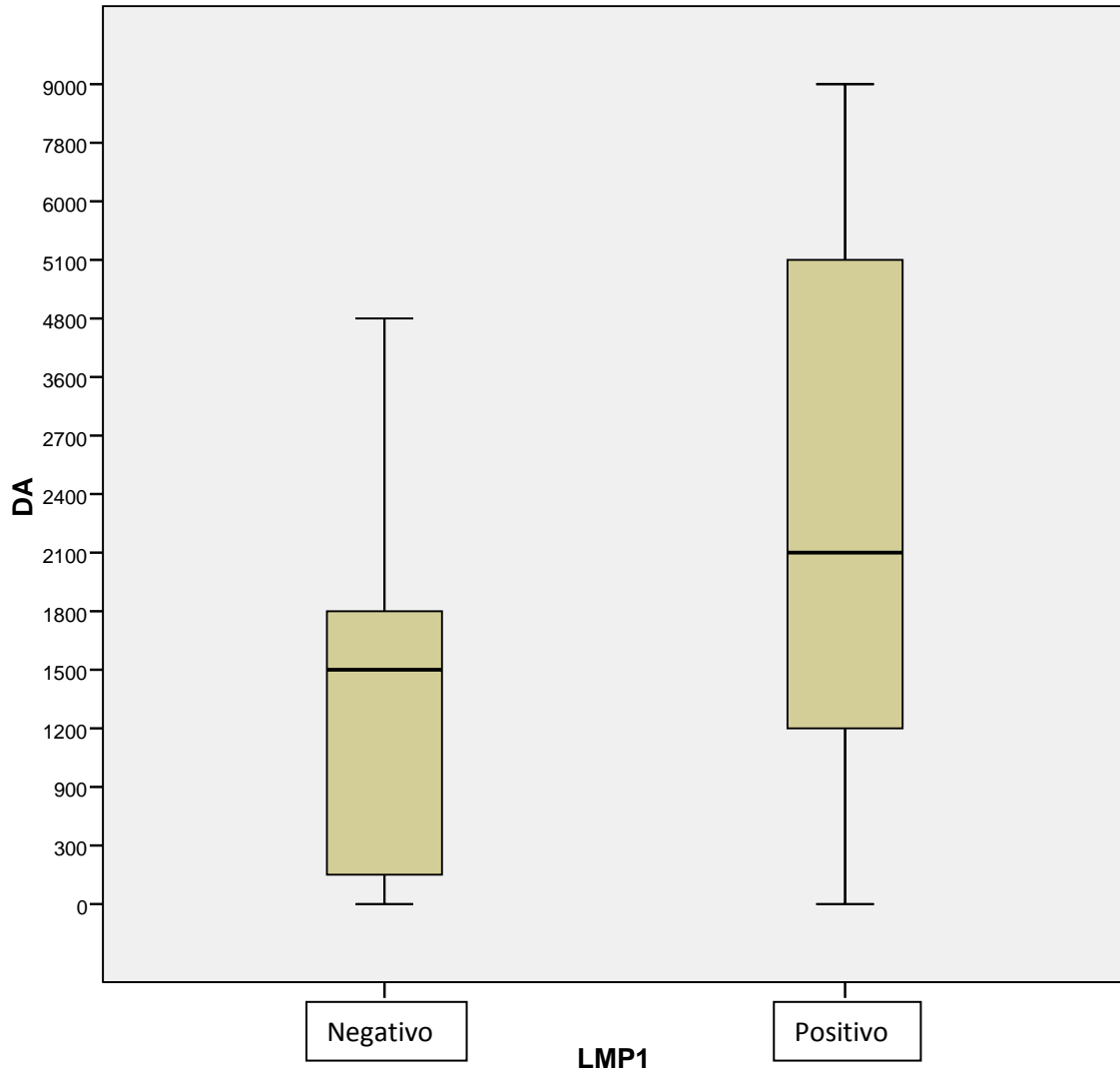


Se identificaron 4 casos con infección por CMV, los cuatro casos se presentaron en pacientes con LMP-1 positivo (0.53).

Gráfico de barras



La dosis acumulada de hidrocortisona se relacionó con presencia de LMP-1 sin ser estadísticamente significativo.



No se identificó asociación estadísticamente significativa entre la positividad para LMP-1 y las variables estudiadas.

## **DISCUSIÓN**

La expresión citoplasmática de LMP-1 no se correlacionó de manera estadísticamente significativa con las variables estudiadas, presentando únicamente tendencia a la correlación con la presencia de CMV, refractariedad y dosis acumulada de hidrocortisona. Se requieren estudios posteriores con técnicas de biología molecular que permitan determinar con exactitud la latencia del virus Epstein Barr para poder dilucidar su papel en la patogenia, severidad o refractariedad en los pacientes con colitis ulcerativa crónica idiopática.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Navarro F, Hanauer SB. Treatment of Inflammatory Bowel Disease: Safety and Tolerability issues. *Am J Gastroenterol* 2003;98(Suppl 12):518
2. Podolsky, DK Inflammatory Bowel Disease. *N Eng J Med* 2002;6:347
3. Kambham N, Vij R, Cartwright CA. Cytomegalovirus infection in steroid-refractory ulcerative colitis: A case-control study. *Am J Surg Pathol* 2004;28:365–73.
4. Cottone M, Pietrosi G, Martorana G. Prevalence of cytomegalovirus infection in severe refractory ulcerative and Crohn's colitis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:773–5
5. Kieff ED. Infectious mononucleosis (Epstein-Barr virus infection). In: Wyngaarden JB, Lloyd H. Smith J, Bennett JC, editors. *Cecil textbook of medicine*. 19th edition. New York: WBSaunders; 1992. p. 1838-40.
6. Oikawa O. Studies on tissue distribution and expression of Epstein-Barr virus using polymerase chain reaction [Japanese]. *Hokkaido-ishi* 1995;70:729-42.

7. Yoshio Takeda MD. Demonstration of Epstein-Barr virus localized in the colonic and ileal mucosa of a patient with ulcerative colitis *Gastrointestinal endoscopy* Vol.51;2, 2000
8. Julie L. Ryan Et al. Epstein-Barr Virus Infection Is Common in Inflamed Gastrointestinal Mucosa *Dig Dis Sci* (2012) 57:1887–1898
9. G. Bertalot Et al. Evidence of Epstein Barr virus infection *Digest Liver Dis* 2001;33:551-8.
10. Antonio López San Román Et al. *Journal of Crohn's and Colitis* (2008) 2, 93–96
11. Fady Daniel Et al. A steroid-refractory ulcerative colitis revealing Epstein–Barr virus/cytomegalovirus-positive colonic lymphoma *Int J Colorectal Dis* (2006) 21: 288–290.
12. Manuel Van Domseelar Et al. Trastornos linfoproliferativos en una unidad de enfermedad inflamatoria intestinal *GastroenterolHepatol*.2010;33(1):12–16
13. Takashi Nishigami Et al. Concomitant adenocarcinoma and colonic non-Hodgkin's lymphoma in a patient with ulcerative colitis: A case report and molecular analysis *Pathology – Research and Practice* 206 (2010) 846–850