



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DEL GRADO Y ETAPA DE LAS LESIONES  
HISTOPATOLÓGICAS HEPÁTICAS PRESENTES EN BOVINOS  
PRODUCTORES DE LECHE EN LA CUENCA LECHERA DE  
TIZAYUCA, HIDALGO.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A:**

**PRICILA HERNÁNDEZ ARANDA**

**ASESORA: DRA. LUCÍA ANGÉLICA GARCÍA CAMACHO.  
COASESOR: MVZ. RUPERTO JAVIER HERNÁNDEZ BALDERAS.  
MVZ. MARIO B. SANTA CRUZ AGUILAR.**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO DE MÉXICO. OCTUBRE 2010.**



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.

# Contenido

	PÁGINA
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>Zonas anatómicas</b> .....	2
<b>Patología</b> .....	6
<b>MECANISMOS DE FIBROSIS HEPÁTICA</b> .....	8
<b>Mecanismos de activación de las células hepáticas   estrelladas</b> .....	8
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>OBJETIVOS</b>	
<b>Generales</b> .....	14
<b>Particulares</b> .....	14
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	17
<b>DISCUSIÓN</b> .....	29
<b>CONCLUSIONES</b> .....	34
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	37



# Resumen

En el complejo lechero de Tizayuca se ha observado un incremento de fibrosis hepática pero se desconocen los hallazgos microscópicos correspondientes. Existen sistemas de puntaje estandarizados para establecer el grado de lesiones necroinflamatorias hepáticas y la etapa de la fibrosis que facilitan la evaluación microscópica y proporcionan un panorama para dilucidar aspectos de patogénesis. Para determinar el grado y la etapa de lesiones hepáticas fueron evaluadas muestras hepáticas fijadas en formalina, incluidas en parafina y teñidas con H&E de 50 vacas de la cuenca de Tizayuca con lesiones macroscópicas. El puntaje del grado de actividad necroinflamatoria fue de 0-18 con base a la severidad y extensión de la inflamación de interface y portal, de la necrosis y/o inflamación focal, y de la necrosis confluyente. El puntaje de la etapa de fibrosis fue de 0-6 con base a la distribución y extensión de la fibrosis presente. La inflamación de interface así como la necrosis confluyente fueron comunes. La actividad necroinflamatoria fue moderada y la fibrosis fue predominantemente inicial, ambas con un rango ligero a moderado. Sin embargo, hubo un número significativo de casos con fibrosis avanzada y terminal. Los hallazgos son sugestivos de hepatotoxicidad ya sea por tóxicos de acción directa (necrosis periseptal, zona 1) o por productos de biotransformación por citocromo P-450 (necrosis confluyente, zona 3). Las lesiones en zona 3 son sugestivas de aflatoxicosis y presencia de *Clostridium hemolyticum*. Por otro lado, la lipidosis, generada por la producción láctea intensiva, pudo promover una mayor susceptibilidad al daño tóxico. El sistema para la evaluación estandarizada de la enfermedad hepática crónica bovina fue útil, la relación de este esquema con los aspectos etiopatogénicos requiere de una investigación posterior.

# Introducción

El hígado es la glándula más grande en el cuerpo de los bovinos. En adultos, el hígado pesa 2% promedio de su peso corporal total (Cullen, *et al* 2001). El hígado es un órgano parenquimatoso, altamente vascularizado cuyo número y disposición de lóbulos varían considerablemente entre las distintas especies. El hígado se abastece con la sangre de dos fuentes. La vena porta drena el tracto digestivo, el páncreas y el bazo y proporciona el 60% y el 70% del total del flujo sanguíneo hepático. Es responsable del mantenimiento de la homeostasis metabólica debido a que está a cargo del procesamiento de los aminoácidos, carbohidratos, lípidos, vitaminas, síntesis de proteínas así como de la detoxificación de los productos de desecho (Cullen, *et al*, 2001, Senties, *et al*, 2004). En rumiantes, el hígado se desplaza a su lado derecho de la cavidad abdominal craneal. Una serie de ligamentos mantiene al hígado en su posición. El ligamento coronario (derecha) y los ligamentos triangulares (izquierda) unen al hígado al diafragma cerca del esófago (Cullen, *et al*, 2001).

## ZONAS ANATÓMICAS.

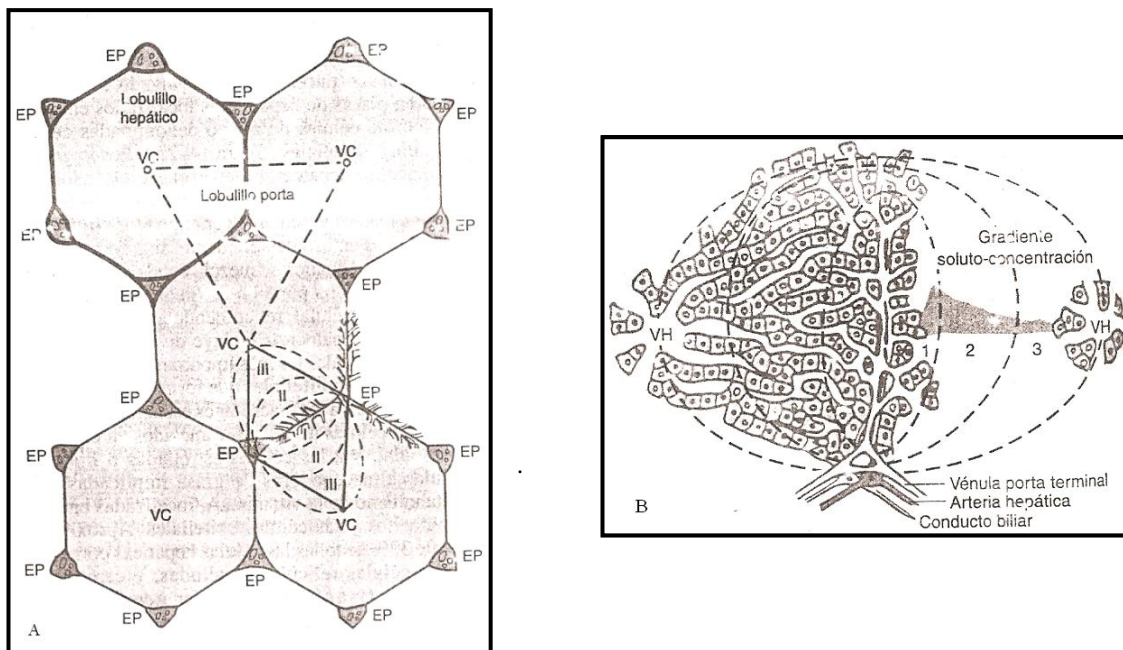
El hígado tiene un componente epitelial que son los hepatocitos, un revestimiento endotelial (que en el hígado se distingue por fenestras o poros), los macrófagos tisulares (células de Kupffer), y una célula mesenquimal perivascular que son las células estrelladas (células Ito, lipocitos). Los elementos celulares del hígado se organizan en el sinusoides, o la unidad microvascular, con el espacio subendotelial de Disse que separa el epitelio (hepatocitos) desde el endotelio sinusoidal (Friedman, 2008).

Las unidades funcionales (Figura 1A) que se observan a nivel vascular sinusoidal se denominan lobulillos o acines (singular acino). El lóbulo más habitual está formado por hepatocitos en una estructura anatómica formada por seis lados, con una vénula en el centro y limitado periféricamente por un septo de tejido conectivo (Hayes, 2007). Estos están delimitados por células endoteliales que forman sinusoides los cuales difieren de un capilar normal por presentar fenestraciones, característica indispensable para mantener el hígado en óptimo estado funcional. El acino es una unidad anatómica que representa el dominio

funcional en relación con la proximidad de los hepatocitos al suministro de sangre (Figura 1B). La zona 1 (zona periportal) es adyacente a la entrada portal y está expuesto a mayor concentración de oxígeno, insulina, glucagón y aminoácidos (Stalker, 2007); la zona 3 (centrolobulillar) es adyacente a la vénula hepática terminal, (procesos que demanda menos oxígeno). La zona 2 es una zona intermedia de la transición que incluye selectivamente algunas funciones y cambios degenerativos (Cullen, *et al*, 2001, Stalker 2007).

**Tabla 1. Funciones de los hepatocitos según la zona en que se localizan.**

Zona 1	Zona 3
Oxidación de ácidos grasos	Conjugación de glutatión
Gluconeogénesis	Glucólisis
Metabolismo energético oxidativo	Glucuronidación
Metabolismo aerobio	La mayoría citocromo P-450
Peroxidación de glutatión	Lipogénesis
Producción de ácidos biliares	
Síntesis de la urea	
Síntesis del colesterol	
Síntesis proteica	



**Figura 1. Zonas anatómicas**

A. Interrelación del lóbulo hepático con el acino (VC: vena central, EP: espacio porta).

B. Acino hepática. (Modificado de Vishwanath R, 2001)

La capsula de Glisson forma parte del tejido conectivo de la superficie y del estroma vascular de los tractos portales del hígado. Estos se nutren mediante los fluidos formados y procesados en el espacio perisinusoidal y drenado por tejido linfático, que abandona el hígado principalmente a través del íleo portal hacia los vasos linfáticos hepáticos y al conducto torácico. Los sinusoides dejan escapar un trasudado rico en proteínas dentro del espacio Disse. Esto se debe en parte a que las proteínas del plasma no son totalmente impermeables al epitelio sinusoidal fenestrado, y porque los hepatocitos pueden secretar proteínas dentro del espacio perisinusoidal. Cuando la presión sinusoidal y perisinusoidal se incrementa, por ejemplo, en la insuficiencia cardiaca derecha, o por obstrucción del flujo venoso hepático o hipertensión portal debido a la fistula arterio-venosa, el líquido intersticial hepático se puede redistribuir hacia la cavidad peritoneal como un trasudado bajo en proteínas provocando un fenómeno conocido como ascitis (Hayes, 2007).

Los hepatocitos son células grandes con abundante citoplasma rico en mitocondrias, retículo endoplasmico liso y rugoso, lisosomas, peroxisomas, aparato de golgi y vesículas de transporte. El citosol contiene cantidades variables de glucógeno almacenado, triglicéridos y distintas proteínas, tales como la ferritina y proteínas fijadoras de hierro. Las membranas plasmáticas de los hepatocitos tienen diferentes superficies especializadas, o dominios, que expresan diferentes moléculas de adhesión celular (MAC). En el espacio de Disse, se puede observar una mezcla organizada de proteínas denominada matriz extracelular (MEC), formada principalmente por colágeno I, III, IV y otros constituyentes como proteoglicanos, fibronectina, laminina, (Cullen, *et al*, 2001; Ramos, *et al*, 2005). Es esencial para mantener la función diferenciada de todas las células hepáticas (Friedman, 2000). La MEC tiene contacto directo con la lámina basal y debido a su disposición no fibrilar hace posible el intercambio de moléculas entre los hepatocitos, en un flujo semicontinuo que resulta fundamental para el mantenimiento de las funciones hepáticas.

Dentro del espacio de Disse, se encuentran las células de Kupffer son una población especializada de macrófagos localizados principalmente en los puntos de amplificación de los vasos sinusoidales, donde están en contacto directo con la sangre portal que se mueve lentamente. Estas células cooperan con los neutrófilos para la eliminación de bacterias de la sangre. De este modo el hígado representa el “órgano filtrador”. Las bacterias patógenas



que no son efectivamente eliminadas por las células de Kupffer pasan a los sinusoides, originando una necrosis local o inflamación. Otras funciones de estas células son (Hayes 2007):

- ⊕ Una vez activadas, secretan citocinas pro-inflamatorias tales como la interleucina-1 (IL-1), IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF) y óxido nítrico (NO) que ejercen acción paracrina a las células circundantes. Estas citocinas son importantes mediadores de la respuesta de fase aguda, de algunos aspectos de la inmunidad y de la respuesta regenerativa de los tejidos. Este último, dilata los vasos de otros tejidos y contribuye a la hipotensión observada en síndromes de respuesta inflamatoria sistémica.
- ⊕ Reactivan en respuesta a sustancias biológicas activas como lipopolisacáridos bacterianos
- ⊕ Secuestran partículas y fagocitan células que sufren apoptosis y células necróticas.

Adicionalmente, en el espacio perisinusoidal se encuentran las células estelares (estrelladas) hepáticas (HSC, en ingles), descritas por primera vez por von Kupffer, las cuales son células perisinusoidales de almacenamiento de grasa que también son conocidas como células Ito (Sentfies, *et al*, 2004). Este tipo de células son de especial importancia ya que desempeñan un papel central en el desarrollo de la fibrosis hepática. En estado de reposo producen y mantienen los constituyentes de la MEC, y almacenan gotas de lípidos ricas en vitamina A. Las HSC tienen un origen embriológico, con evidencias recientes que sugieren que se derivan de la crestoneural, ya que expresan la proteína glial fibrilar ácida y nestina (Niki, *et al* 1999). Son responsables principalmente de la generación de un exceso de MEC en ciertas situaciones patológicas como en la cirrosis. Las HSC alteran su fenotipo diferenciado cuando son activadas por la acción paracrina de citocinas pro-inflamatorias secretadas por células de Kupffer activadas. De este modo, las HSC secretan varios factores que promueven la reparación tisular y la deposición de MEC, se enriquecen con un citoesqueleto contráctil similar al de los fibroblastos y producen cantidades crecientes de MEC densamente compactas que transforman los vasos que forman capilares menos permeables, limitando considerablemente el flujo de sangre microvascular. Los animales con distintas formas de lesiones hepáticas, sufren a menudo algún grado de activación proliferativa de las células Ito. Sin embargo, la MEC que se deposita en el espacio

perisinusoidal raramente es del grado que se observa en las cirrosis graves originadas por el alcohol en los seres humanos (Hayes, 2007).

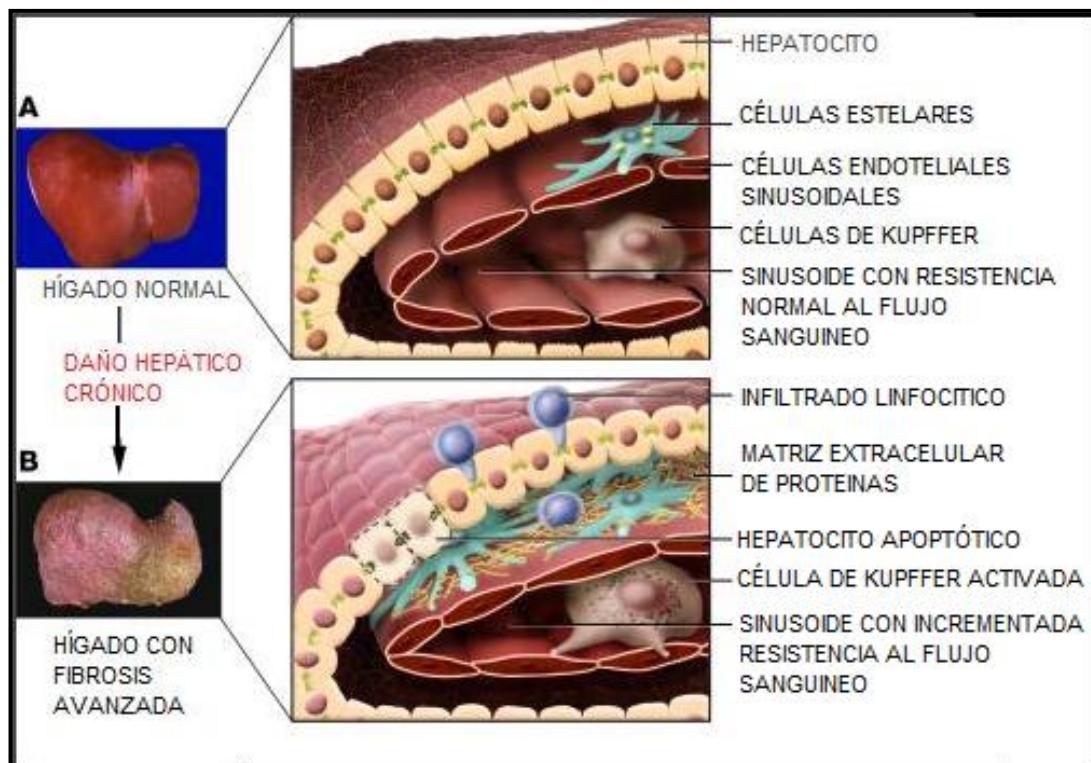
El conducto biliar es la vía de desagüe y desemboca en el duodeno proximal. La mayoría de las especies tiene un divertículo para almacenar la bilis (Vesícula biliar). La formación de vesículas secretorias y el movimiento de la bilis en los canalículos dependen de la referencia de moléculas de adhesión, filamentos de citoqueratina intermedia y actina submembranosa (Hayes 2007).

Las células madre epiteliales son células primitivas indiferenciadas que pueden generar nuevos hepatocitos diferenciados y células del conducto biliar. Las células inmaduras de los conductos, denominadas células ovales, se consideran células madres ya que son capaces de generar nuevos hepatocitos, aunque es preferencialmente se transformen en células de los conductos biliares. Las células madre hematopoyéticas pluripotenciales también parecen ser capaces de diferenciarse a hepatocitos. Durante la vida fetal, la hematopoyesis se produce principalmente en el compartimiento perisinusoidal. Al nacimiento, las células hematopoyéticas experimentan un retroceso, pero permanecen células pluripotenciales en el área perisinusoidal para su reactivación y desarrollo de hematopoyesis extramedular cuando existe un marcado incremento de la demanda de células sanguíneas por falta de respuesta en médula ósea. En grandes especies, el grado con que se produce la HEM tiene valor diagnóstico (Hayes, 2007).

## **PATOLOGÍA**

La mayoría de los agentes y procesos patógenos que afectan al hígado, por lo general producen manifestaciones clínicas limitadas. La enfermedad hepática puede ser aguda o crónica; focal o difusa; leve o intensa. La fibrosis hepática es reversible, mientras que la cirrosis, la consecuencia final del estadio de fibrosis, es generalmente irreversible (Friedman, 2000; Stalker y Hayes, 2007). En lesión hepática, es posible que por intervalos se afecten por completo las funciones hepáticas o sólo unas cuantas. Tal es el caso del deterioro aislado en la formación de la bilis ocasionada por ciertos fármacos (González, 2007). La cirrosis es la consecuencia final de la lesión hepática progresiva. En la cirrosis, el hígado reduce su tamaño, presenta fibrosis severa y desarrolla nódulos. Paralelamente,

por la disminución de la reserva hepática, se manifiesta deterioro funcional siendo de gran importancia la modificación en la física del flujo sanguíneo y el desarrollo de hipertensión portal (Figura 2). Como resultado, la sangre se desvía por formación de colaterales venosas en lugar de filtrarse a través de este. Este fenómeno es denominado derivación porto sistémica (Vishwanath, 2001, González, 2007). La fibrosis se desarrolla con diferentes patrones espaciales. Como consecuencia de la infección crónica se concentra inicialmente alrededor del espacio porta, mientras que la fibrosis secundaria a daño metabólico, tóxico o hipóxico se localiza en áreas centrolobulares. La fibrosis representa la cicatrización de prácticamente todas las formas de daño hepático crónico (Henderson, *et al*, 2008). La activación de las HSC, posterior al daño hepático por diversas etiologías, es un evento central en la fibrosis debido a que estas células son las principales mediadoras de la fibrosis y se complementan con otras fuentes de células productoras de matriz extracelular que incluyen a fibroblastos, epitelio mesenquimatoso de transición (EMT), y la médula ósea. Existe una considerable evidencia que todos estos linajes dan origen a los miofibroblastos (Figura 3). En última instancia, se promueve la fibrosis hepática que deriva en cirrosis la cual está asociada con la formación de nódulos y la contracción del órgano (Bataller, *et al*, 2005; Friedman, 2008). La gran mayoría de los bovinos productores de leche con lesión de fibrosis hepática crónica, progresa lentamente debido a la notable capacidad regenerativa del hígado (Hayes, 2007).

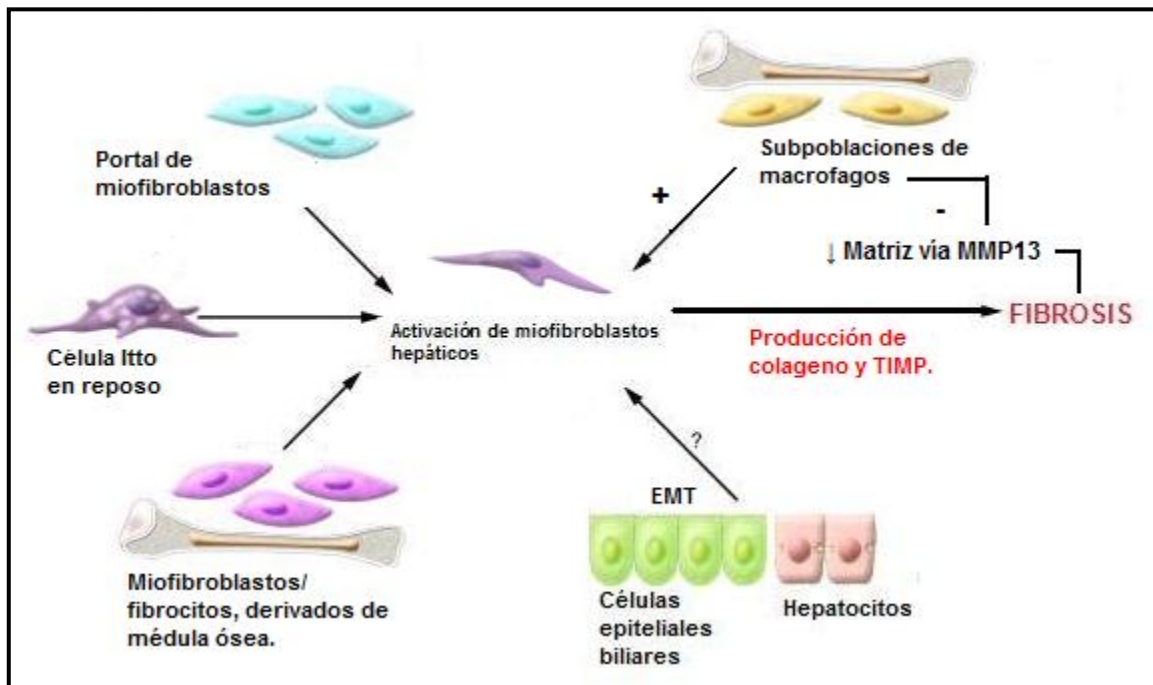


(Bataller, *et al*, 2005, Iredale, 2007).

**Figura 2. Cambios en la arquitectura hepática asociados con fibrosis hepática avanzada.**

(A) Hígado normal. Los elementos celulares de hígado organizada dentro de las unidades de sinusoides, con el espacio endotelial de Disse separar el componente epitelial (hepatocitos) del endotelio sinusoidal. Los macrófagos tisulares - las células de Kupffer - se encuentran en las sinusoides, mientras que las células estrelladas hepáticas (HSC), la ubicación es perisinusoidal. Las microvellosidades de hepatocitos son importantes para la función fisiológica normal de las células. Las fenestraciones son características de las sinusoides, las células endoteliales permitir el paso de grandes macromoléculas como las lipoproteínas.

(B) Hígado lesionado. Como la fibrosis se desarrolla en respuesta a la lesión hepática, se producen cambios en el espacio subendotelial y en el sinusoides. Estos cambios incluyen alteraciones tanto en la respuesta celular y de la matriz extracelular (ECM). La activación de las HSC, que son la principal fuente de ECM, conduce a la acumulación de la cicatriz (fibrillas de formación) de la matriz. Esto se traduce en la ampliación del espacio de Disse y la pérdida de fenestraciones endoteliales. La lesión hepática promueve la activación de células de Kupffer y contribuye a la activación paracrina de las HSC (Bataller, *et al*, 2005, Iredale, 2007).



(Friedman, 2008)

Figura 3. Representación de las posibles fuentes en el hígado de miofibroblastos.

## MECANISMOS DE FIBROGÉNESIS HEPÁTICA

MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS HEPÁTICAS ESTRELLADAS (ITO). La activación se compone de dos etapas, la iniciación (también llamada "fase pre-inflamatoria") y la perpetuación, seguida de una fase de resolución (Figura 4), en donde la lesión hepática se resuelve (Gressner, *et al*, 2002; Huit y Friedman 2003, Henderson y Forbes 2008; Friedman 2004, 2008).

**A. INICIACIÓN (Fase pre-inflamatoria):** se refiere a los principales cambios en la expresión génica y el fenotipo que hacen que las células sean sensibles a estímulos y citocinas. Principalmente de la estimulación paracrina, debido a los cambios en torno a la matriz extracelular, así como la exposición de los lípidos, peróxidos y productos de los hepatocitos dañados. La activación de las células estelares puede derivar de los diferentes tipos celulares como las células de Kupffer, los hepatocitos y las plaquetas. Este proceso puede implicar la necrosis tumoral relacionados con el factor de inducción de la apoptosis-ligando (RUTA),

por sus siglas en inglés (Hernández, 2004; Friedman, 2008). Las células de Kupffer estimulan la síntesis de matriz, la proliferación celular, y la liberación de los retinoides por las células estrelladas a través de las acciones de citocinas (especialmente TGF- $\beta$ 1), secreción de metaloproteinasas, particularmente metaloproteinasa 9 (MMP-9) y gelatinasa B así como especies reactivas de oxígeno (Hernández, 2004; Friedman, 2008). Por otro lado, las células endoteliales también participan en la conversión del TGF- $\beta$ 1 de una forma latente hacia una activa y pro-fibrogenica que también produce una isoforma de fibronectina celular que participa en la activación temprana de las células estrelladas. Adicionalmente, las plaquetas, que suelen pasarse por alto, proporcionan estimulación paracrina por factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), TGF $\beta$ -1, y COMPLETO FEAG (Gressner, *et al*, 2002).

**B. PERPETUACIÓN.** La activación de las células estrelladas implica por lo menos seis discretos cambios en el comportamiento celular: proliferación, quimiotaxis, fibrogénesis, contractilidad, degradación de la matriz, y la pérdida de retinoides (Hernández, 2004; Friedman, 2008).

**1. Proliferación de células estrelladas.** En el hígado dañado incrementa la secreción de factores de crecimiento y citocinas con poder mitogénico. El PDGF es el factor mejor caracterizado y con poder mitogénico más potente en la fibrosis hepática. La endotelina I (ET-I) su acción es contráctil, también regula las células estrelladas. Se ha reportado que las HSC son una fuente importante de ET-I en el hígado dañado. Los receptores A y B de ET-I son expresados en las HSC en estado quiescente (reposo), y en las HSC activadas. Sin embargo, existe una relación diferente en la proporción de estos receptores en células activadas.

**2. Quimiotaxis.** Diferentes citocinas con poder quimioatrayente son responsables de esta acción. El PDGF es un factor de crecimiento al cual se le ha asignado un papel importante en la quimiotaxis de las células estrelladas.

**3. Fibrogénesis.** El incremento en la producción de la matriz extracelular es el efecto más directo de la activación de las HSC en la fibrosis hepática. El estímulo más potente en el incremento de la colágena de tipo I es el TGF- $\beta$ 1, el cual se deriva tanto de estímulos de tipo autocrinos como paracrinos. Existe un gran número de factores que estimulan la fibrogénesis por la activación de HSC, entre los que se incluye el retinoide, la interleucina 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), y el acetaldehído, aunque ninguno de estos es tan potente como el TGF- $\beta$ .

**4. Contracción.** Las HSC impiden el flujo sanguíneo portal mediante la constricción individual de sinusoides y mediante la contracción del hígado cirrótico, esto debido a que las bandas de aspecto colagenosos en el estado final de cirrosis contiene grandes cantidades de células estrelladas. Se considera la cirrosis como el último paso de la fibrosis hepática. La clave del estímulo contráctil de las células es la ET-1, los receptores de esta última son expresados tanto en HSC en estado quiescente, como en las células HSC activadas. Se ha identificado una gran cantidad de agentes contráctiles, incluyendo la vasopresina, la adrenomedulina y los eicosanoides. La activación de HSC va acompañada por un incremento en la expresión de la  $\alpha$  actina, se ha reportado que la ET-1 regula de manera positiva la expresión de la  $\alpha$  actina.

**5. Degradación de matriz extracelular.** Las HSC expresan virtualmente todos los componentes clave requeridos para la degradación de la matriz en estado patológico, y por lo tanto juegan un papel importante no solo en la producción de la matriz extracelular, sino también en su degradación. Actualmente se ha descrito una larga lista de metaloproteinasas que son enzimas dependientes de calcio, las cuales degradan de manera específica sustratos de tipo fibroso como la colágena, así como sustratos de tipo no fibroso. Estas enzimas caen en

cinco categorías, basándose en una clasificación según el tipo de sustrato:

- a. TIPO 1: Colagenasas intersticiales, que incluye metaloproteinasas (MMP) 1, 8 y 13.
- b. TIPO 2: Gelatinasas MMP 2 y 9.
- c. TIPO 3: Estromelinas MMP 3, 7, 10, 11.
- d. TIPO 4: Membrana-tipo MMP 14, 15, 16, 17, 24, 25.
- e. TIPO 5: Metaloestelas MMP 12.

Las metaloproteinasas inactivas pueden activarse, a través del rompimiento proteolítico, mediada por metaloproteinasa membrana tipo (MT). Pueden ser inhibidas por la unión inhibidores específicos conocidos como metaloproteinasas de inhibidores de tejido (TIMPs). De esta manera la actividad total de la colagenasa es el reflejo de cantidades relativas de las metaloproteinasas activadas y de sus inhibidores, específicamente los TIMPs. En el hígado, bajo condiciones patológicas como en la fibrosis hepática, la degradación de la matriz extracelular ocurre a través de la acción de al menos cuatro enzimas: MMP-2 y MMP-9, las cuales degradan la colágena de tipo IV. Las metaloproteinasas de membrana tipo MT 1 y 2, así como MMP-2 y estromelina-1 degradan proteoglicanos y glucoproteínas y también son responsables de la activación de las colígenas latentes. Se ha reportado que las células HSC son una fuente importante de MMP-2, así como de sus inhibidores correspondientes (TIMP-1 y TIMP-2). Los TIMPs tienen un papel importante en la regulación de la apoptosis, sugiriendo así una actividad que repercute en la homeostasis hepática que va más allá de controlar el recambio de matriz extracelular (Hernández, 2004).

6. **Pérdida de retinoides.** Se pierden las gotas del retinoide perinuclear (vitamina A), que caracteriza a las HSC, adquiriendo así una



apariencia fibroblástica. Las células estrelladas liberan el retinoide en forma de retinol. Se desconoce en qué medida la pérdida de los retinoides puede acelerar o retardar la activación de las HSC.

**C. RESOLUCIÓN DE LA FIBROSIS.** Es el resultado del incremento de la secreción de factores de crecimiento y citocinas con poder mitogénico. El estímulo más potente en el incremento de la colágena de tipo I es el TGF- $\beta$ 1, el cual se deriva tanto de los estímulos de tipo autocrinos como paracrinos. La regulación positiva del TGF- $\beta$  en las células estrelladas activadas ocurre por diferentes mecanismos, uno de estos es la relación de dos factores de transcripción que trabajan de manera conjunta, el Zf9 y el SP1. Diversos reportes indican la importancia de las células Ito en la producción de la colágena tipo I, la activación transcripcional de este gen puede ocurrir a través de diferentes mecanismos, el incremento en la producción  $\alpha$  de colágena tipo I en las células estrelladas puede resultar de eventos postranscripcionales, incluyendo el incremento en la estabilidad del RNAm. Se ha reportado que la vida media del RNAm (ácido ribonucleico mensajero) de  $\alpha$  colágena tipo I se incrementa siete veces en las células estrelladas activadas comparadas con las células estelares en estado quiescente. Eng y Friedman (2003) señalan que el factor de transcripción Zf9 regulan la transcripción de colágena tipo I. Otro factor de transcripción involucrado en la regulación de colágena es el factor nuclear 1 (NF1), el cual está involucrado en el control transcripcional de diversos organismos (Gressner, *et al*, 2002; Hui, *et al*. 2003).

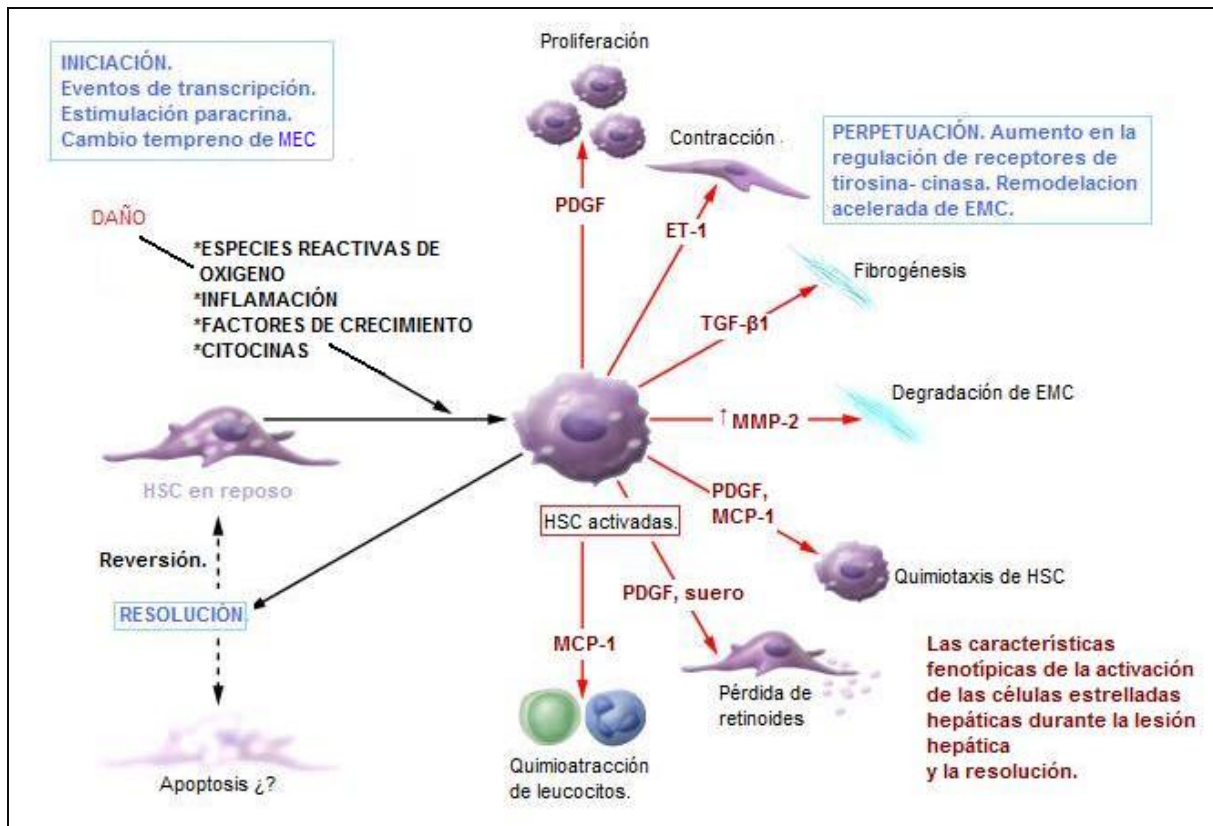


Figura 4. Mecanismos de fibrogénesis hepática

(Hui, *et al*, 2003)

# Justificación

La Cuenca Lechera de Tizayuca fue fundada en 1974, cuenta con una área de servicios de medicina preventiva y con un departamento de patología y diagnóstico, que dentro de sus funciones realiza estudios post mortem a todos los animales que existen dentro de la cuenca, en la sala de necropsias, como cumplimiento del reglamento sanitario de este complejo.

Recientemente, se ha observado una alta incidencia de lesiones hepática en los reportes de las necropsias realizadas a partir de las vacas procedentes del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca (CAIT). En el primer semestre del 2003 de los 220 casos revisados, las lesiones de lipidosis y fibrosis hepática ocuparon el segundo y tercer sitio de lesiones encontradas, con una frecuencia de 35 y 30 casos, respectivamente. (Posadas, *et al*, 2007) Aparentemente, esta tendencia se ha incrementado hasta la fecha. De este modo, existe un creciente interés de realizar una evaluación microscópica detallada de estos casos con el fin de establecer la frecuencia y tipo de lesiones histopatológicas así como determinar el grado y la etapa de la lesión hepática presentes en los animales del CAIT.

Estas necropsias son realizadas por el patólogo Médico Veterinario responsable, mediante un procedimiento técnico establecido que permite revisar y describir en forma metódica, tanto externa como interna, los hallazgos macroscópicos, apoyándose en técnicas de diagnóstico de histopatología, bacteriología, etc. Y de esta forma determinar las causas de muerte de un caso particular, con la finalidad también de tomar medidas preventivas en función de los resultados obtenidos.

---

# Objetivos

## GENERAL

- Determinar el grado y etapa de las lesiones histopatológicas hepáticas presentes en bovinos productores de leche del CAIT del estado de Hidalgo.

## PARTICULARES

- Seleccionar muestras de hígado con lesiones macroscópicas a partir de necropsias realizadas en vacas lecheras en el CAIT.
- Determinar el grado y la etapa de la lesión hepática presente en los tejidos provenientes de bovinos productores de leche en el CAIT.
- Determinar la presencia y frecuencia de lesiones histopatológicas adicionales en los tejidos evaluados.

# Material y métodos

El material biológico se obtuvo del CAIT, está ubicado en el Km. 40.5 de la carretera federal México- Pachuca. Cuenta con una superficie de 210 Has; dicha superficie alberga 126 establos y una población total aproximada de 26 500 cabezas de ganado Holstein- Friesian, los cuales trabajan con un sistema de explotación intensiva. Las muestras adquiridas se procesaron en el laboratorio de Patología (L-412) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

## **Animales de estudio**

Se seleccionaron muestras de tejido hepático de 50 vacas lecheras que presentaron lesiones macroscópicas en la necropsia con la finalidad de realizar evaluaciones histopatológicas.

## **Estudio morfológico**

Las necropsias de las vacas se realizaron por métodos rutinarios y se tomaron muestras de hígado las cuales fueron inmediatamente fijadas en formalina amortiguada al 10% durante 24-48 horas. Posteriormente, las muestras se procesaron e incluyeron en parafina para obtener secciones de 3  $\mu$ m y realizar tinciones de Hematoloxilina-Eosina (HE) y Tricrómica de Masson para su evaluación microscópica.

## **Evaluación histopatológica**

Los cortes histológicos se evaluaron al microscopio para determinar el grado y la etapa de la lesión hepática de cada caso utilizando la escala de puntuación descrita por Ishak K, *et al*, 1995. La determinación del grado de enfermedad se evaluó con base a 4 criterios histológicos de actividad necroinflamatoria con un puntaje total máximo de 18 (tabla 2). Del mismo modo, la determinación de la etapa de la lesión se estableció con base en la presencia y distribución de fibrosis en una escala de 0-6 puntos (Tabla 3). Adicionalmente y con fines de interpretación, el grado de lesión necroinflamatoria por categoría y por puntaje total (grado de enfermedad) se subdividió en: leve (puntaje 1), moderado (puntaje 2), moderado-severo (puntaje 3) y severo (puntaje 4). En el caso de la

necrosis confluyente dichos términos se establecerán como: leve (puntaje 1-2), moderado (puntaje 3-4), y severo (puntaje 5-6). Con relación a la etapa los puntajes se refieren con base a la progresión de la fibrosis con los siguientes términos: inicial (1-2), avanzada (3-4) y terminal (5-6). Posteriormente, se determinaron las lesiones adicionales presentes en los tejidos hepáticos (fibrosis centrolobulillar, abscesos, granulomas, lipidosis, etc.), y de acuerdo al caso, se estableció el grado de severidad de dichas lesiones.

**Tabla 2. Clasificación del grado histológico de lesiones hepáticas.**

CATEGORÍA	Puntuación
<b>A. Hepatitis periportal o de interface periseptal (necrosis parcial)</b>	
Ausente	0
Leve (focal, pocas áreas porta)	1
Leve a moderada (focal, la mayoría de áreas porta)	2
Moderada (continua, alrededor de <50% de los tractos o septos)	3
Grave (continua, alrededor de >50% de los tractos o septos)	4
<b>B. Necrosis confluyente</b>	
Ausente	0
Necrosis confluyente focal	1
Necrosis, Zona 3, en algunas áreas.	2
Necrosis, Zona 3, en la mayoría de las áreas.	3
Necrosis, Zona 3 + puentes porto-centrales (PC) ocasionales.	4
Necrosis, Zona 3, puentes porto-centrales (PC) múltiples.	5
Necrosis Multiacinar o Panacinar.	6
<b>C. Necrosis, apoptosis o inflamación focal.</b>	
Ausente.	0
Un foco o menos en objetivo de 10x.	1
De dos o cuatro focos en objetivo de 10x.	2
Cinco a diez focos en objetivos de 10x.	3
Más de diez focos en objetivo de 10x.	4
<b>D. Inflamación periportal.</b>	
Ninguno.	0
Leve, algunas o todas las áreas porta.	1
Moderada, algunas o todas las áreas porta.	2
Moderada- marcada, todas las áreas porta.	3
Marcado, todas las áreas porta.	4
<b>Puntuación máxima posible</b>	<b>18</b>

(Ishak K, *et al*, 1995)

**Tabla 3.****Criterios para la clasificación de la etapa de la lesión hepática**

<b>Criterio</b>	<b>Puntuación</b>
Sin fibrosis.	0
Fibrosis en algunos espacios del porta con/sin septos fibrosos.	1
Fibrosis en la mayoría de los espacios porta con/sin septos fibrosos.	2
Expansión fibrosa de la mayoría de los espacios porta con puentes inter portales ocasionales.	3
Expansión fibrosa de la mayoría de los espacios porta con marcados puentes inter portales.	4
Marcados puentes inter portales con nódulos hiperplásicos ocasionales.	5
Cirrosis.	6
<b><i>Puntuación máxima posible</i></b>	<b>6</b>

(Ishak K, *et al*, 1995)

# Resultados

La frecuencia de lesión necroinflamatoria por categoría con base a los criterios descritos en la tabla 2, se muestra en la figura 5. En la categoría A se aprecia que en el 50% de los casos (25/50) las lesiones fueron leves a moderadas y que una considerable proporción de los casos, (20% con puntajes 3 y 4), exhibieron una marcada actividad necroinflamatoria (Figura 6, 7 y 8).

Así mismo, la necrosis confluyente fue leve en 14/50 (28%) de los casos pero fue moderada a severa en 42% y 14%, respectivamente. Cabe señalar que en la zona 3 las áreas de necrosis estaban asociadas predominantemente con hemorragia (Figura 9 y 10). La mayoría de los casos con necrosis confluyente exhibieron células atípicas con núcleos prominentes hipercromáticos y alta proporción de células binucleadas (Figuras 11 y 12). En 4 casos se observaron necrosis extensivas, en un caso panlobular, (Figura 13 y 14) en los que se detectaron bacilos gram positivos (Figura 15). En el 76% de los casos, no se observaron lesiones de la categoría C. Sin embargo, en 6 casos las lesiones fueron severas, con abundantes centros líticos de necrosis (Figura 16). La inflamación alrededor de espacios portas (Figura 17 y 18) también fue predominantemente moderada (44%). Un hallazgo frecuente en esta área y a lo largo del corte, fue la presencia de hiperplasia de conductos biliares (Figura 19), misma que fue de moderada a severa en 37/50 de los casos (74%), y común en casos con necrosis confluyente y atipias celulares.

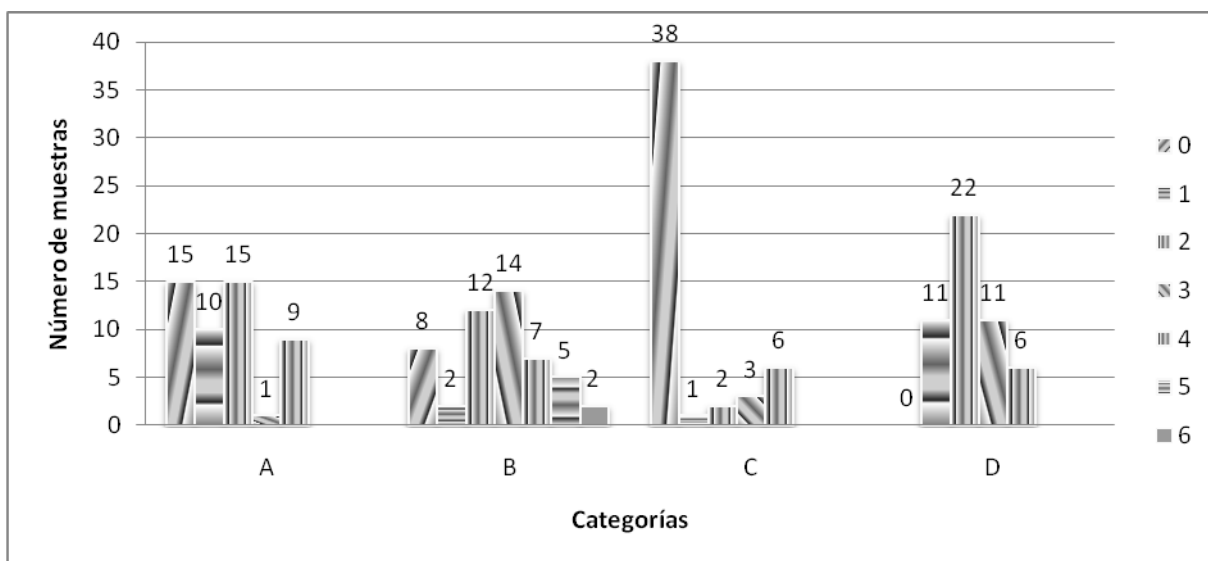
La figura 20 representa la actividad necroinflamatoria de cada caso (puntaje total). Se observa que el grado de lesión hepática fue predominantemente moderado (21/50) con una considerable proporción de casos (26%) con lesión moderada-severa (13/50).

Con relación a la etapa de fibrosis (Figura 21), se observó que 52% de los casos presentaron fibrosis inicial (26/50) con una tendencia a ser avanzada (12/50). Los casos con fibrosis terminal (Figuras 22 y 23) sólo constituyeron el 14% de los casos, y de estos sólo un caso presentó cirrosis. El rango para la actividad necroinflamatoria y para la etapa de fibrosis fue leve a moderado (Tabla 3).



Otro hallazgo microscópico importante fue que el 26% de los casos presentaron lipidosis moderada a severa. En estos casos, la asociación con fibrosis inicial, avanzada y terminal fue de 54%, 31% y 15%, respectivamente. La fibrosis centrolobulillar (CLB) estuvo presente en el 74% de los casos con lesiones moderada a severa a 28/50 casos.

En la tabla 4 se presentan hallazgos microscópicos adicionales en los casos evaluados. Además de la presencia de bacilos gram positivos, se apreciaron abscesos, granulomas con la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes positivos compatibles con *Mycobacterium spp.*, y células linfoides atípicas localizadas perivascularmente sugestivas de Leucosis Enzoótica Bovina.



**Figura 5.** Frecuencia por grado de lesión necroinflamatoria. n = 50. A. Hepatitis de interface, B. Necrosis confluyente, C. Focos de necrosis y/o inflamación, D. Inflamación periportal.

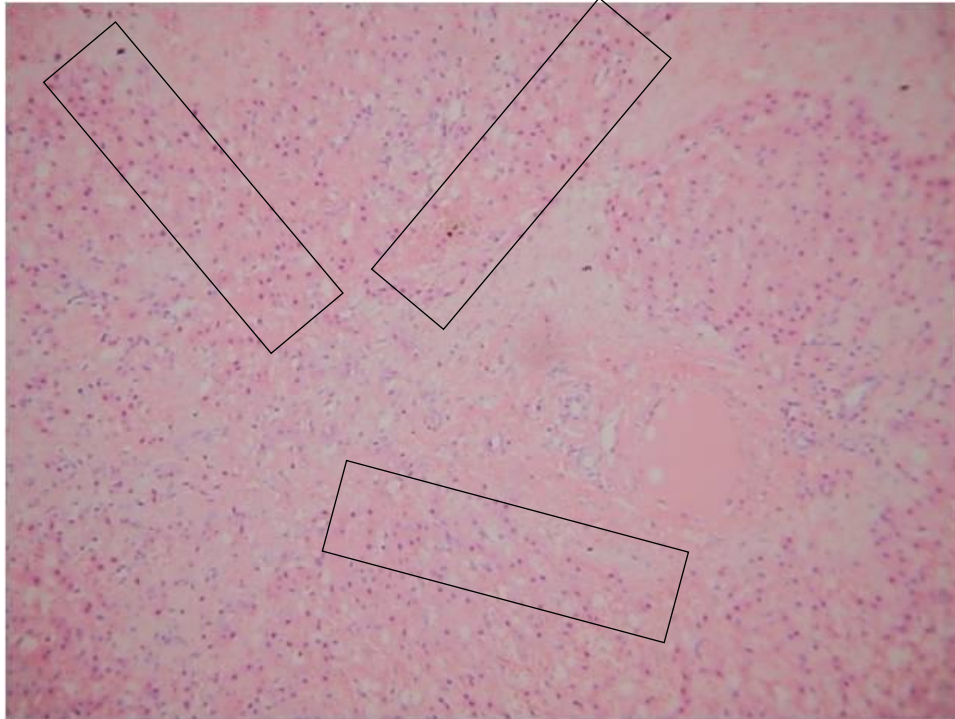


Figura 6. Necrosis de interface, continua (rectángulos) a lo largo de tractos y septos, (Grado A, puntaje 4). HE, 100x.

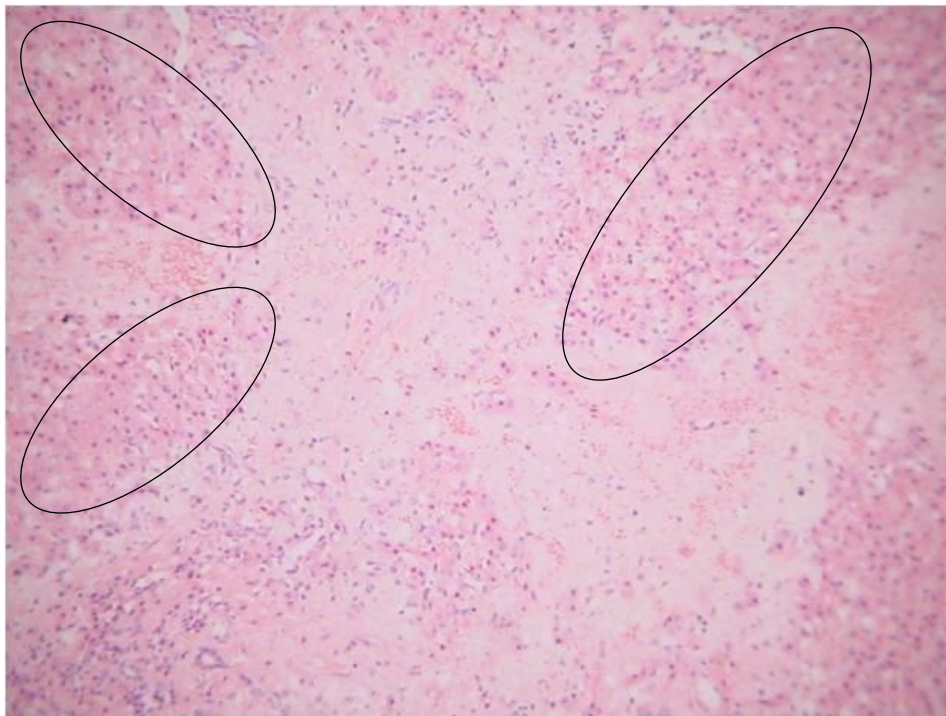


Figura 7. Necrosis de interface, continua (óvalos) a lo largo de tractos y septos, (Grado A, puntaje 4). HE, 100x.

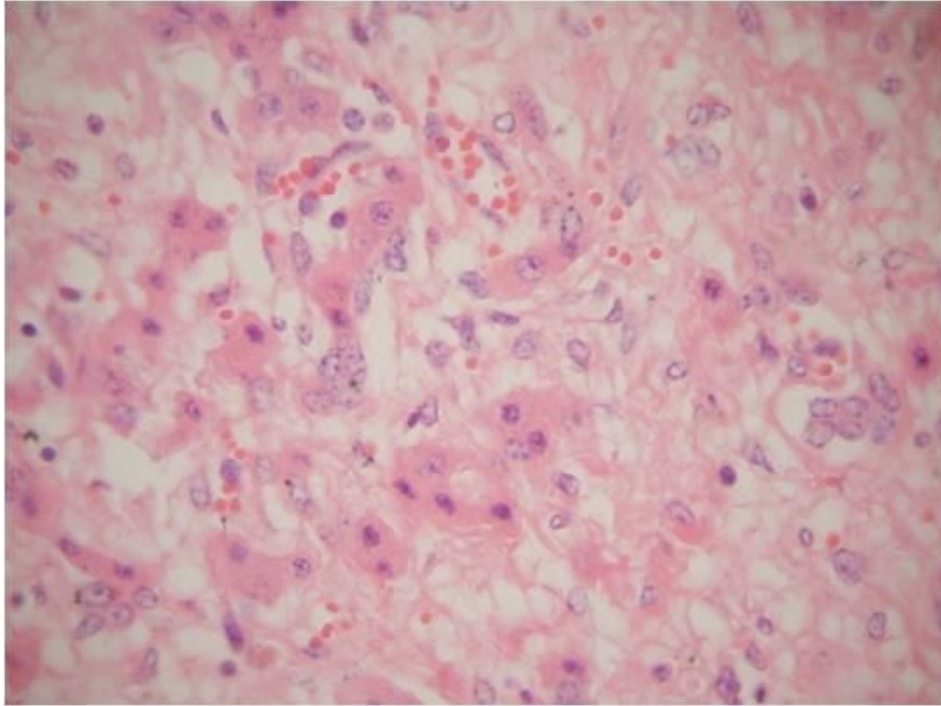


Figura 8. Detalle de la necrosis parcial (piece-meal necrosis). HE, 400x.

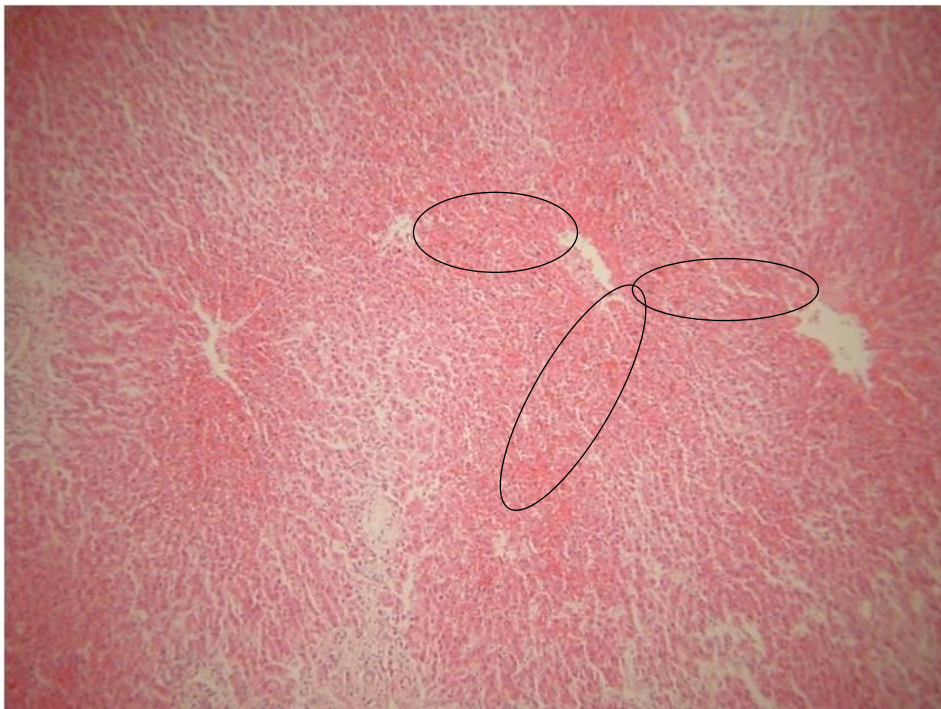


Figura 9. Necrosis centrolobulillar con puentes portocentrales (óvalos), Grado B, puntaje 5. HE, 100x.

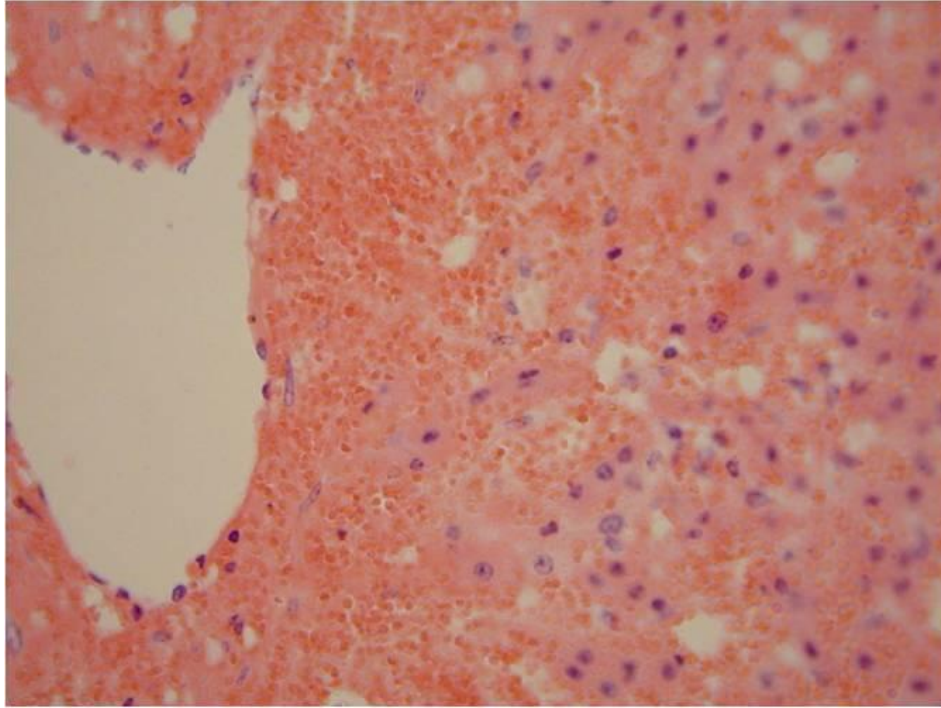


Figura 10. Necrosis y hemorragia centrolobulillar. HE, 400x.

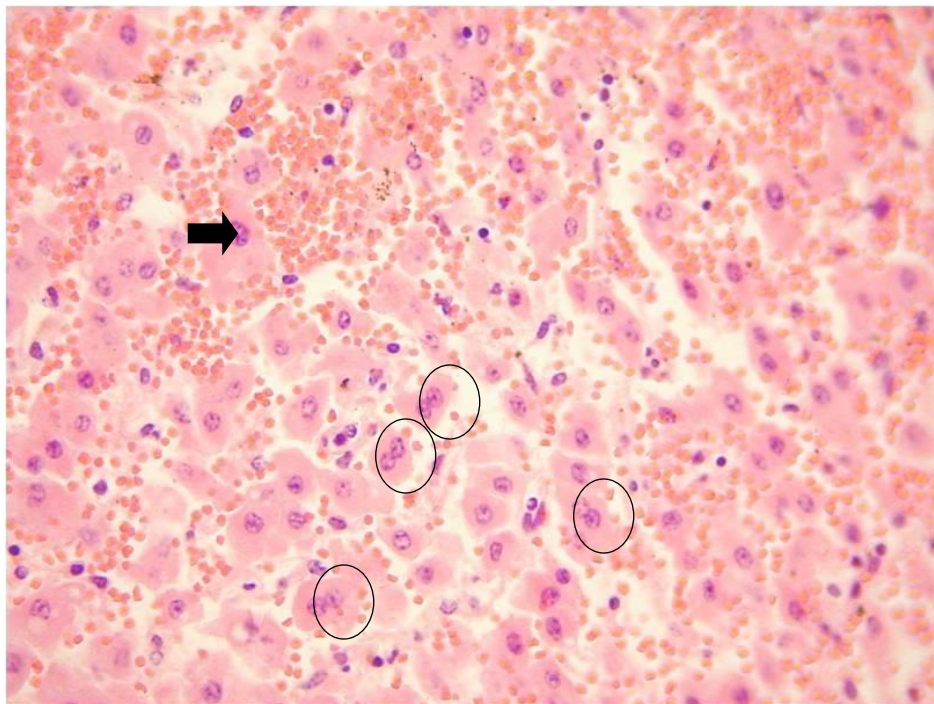


Figura 11. Atipias celulares en casos con necrosis confluyente severa. Megalocariosis (Flecha Gruesa) y alta frecuencia de hepatocitos binucleados (óvalos). HE, 400x.

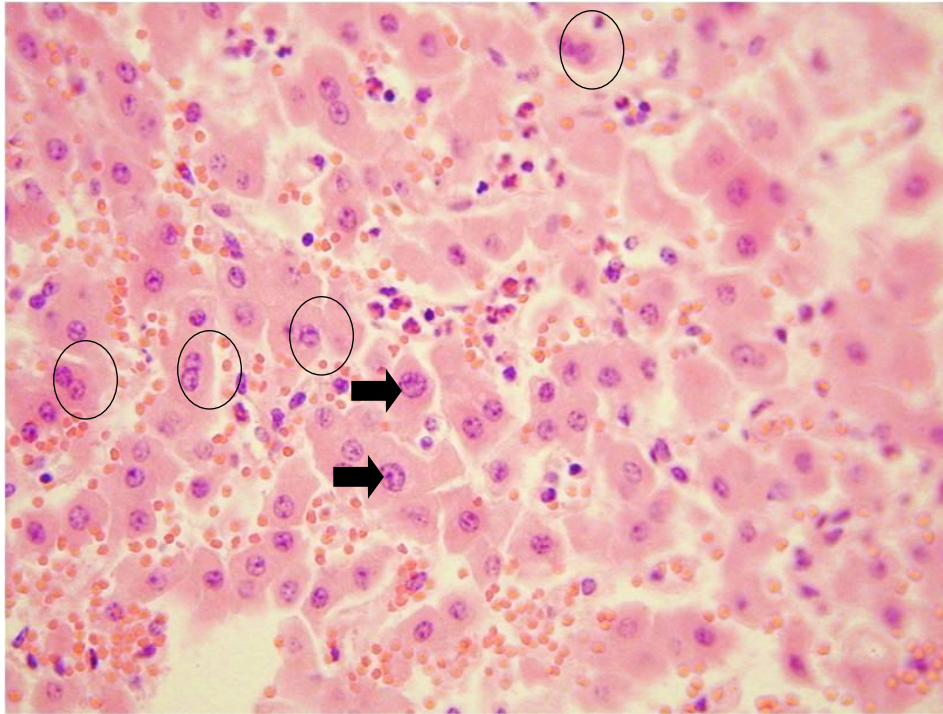


Figura 12. Atipias celulares en casos con necrosis confluyente severa. Megalocariosis (Flecha Gruesa) y alta frecuencia de hepatocitos binucleados (óvalos). HE, 400x.

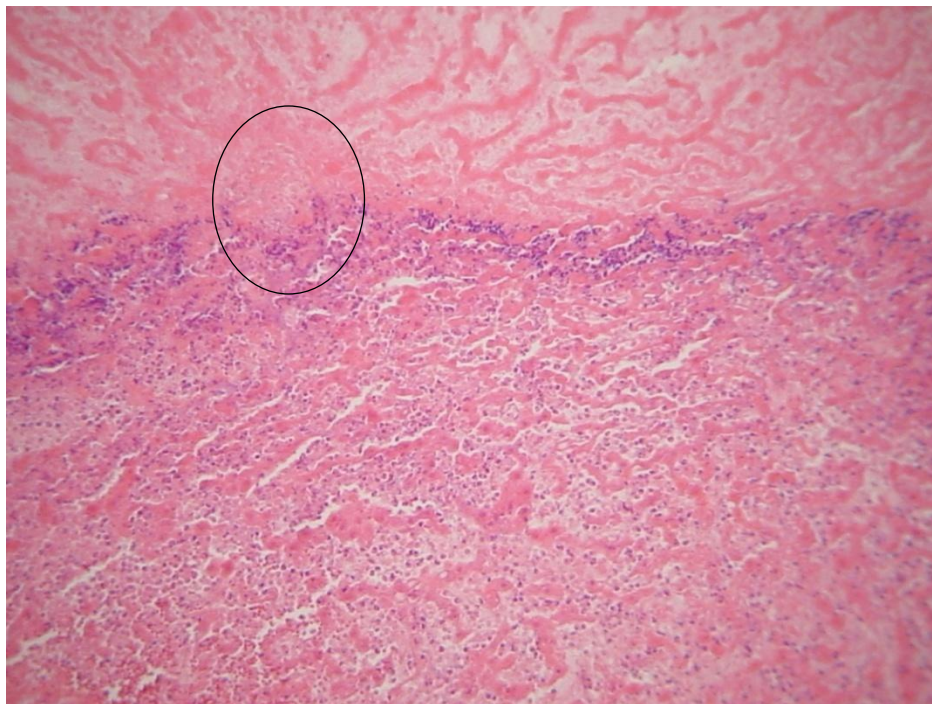


Figura 13. Necrosis confluyente severa (Grado B, puntaje 5) bien demarcada por infiltrado Inflamatorio. Vena central (óvalo). HE, 100x.

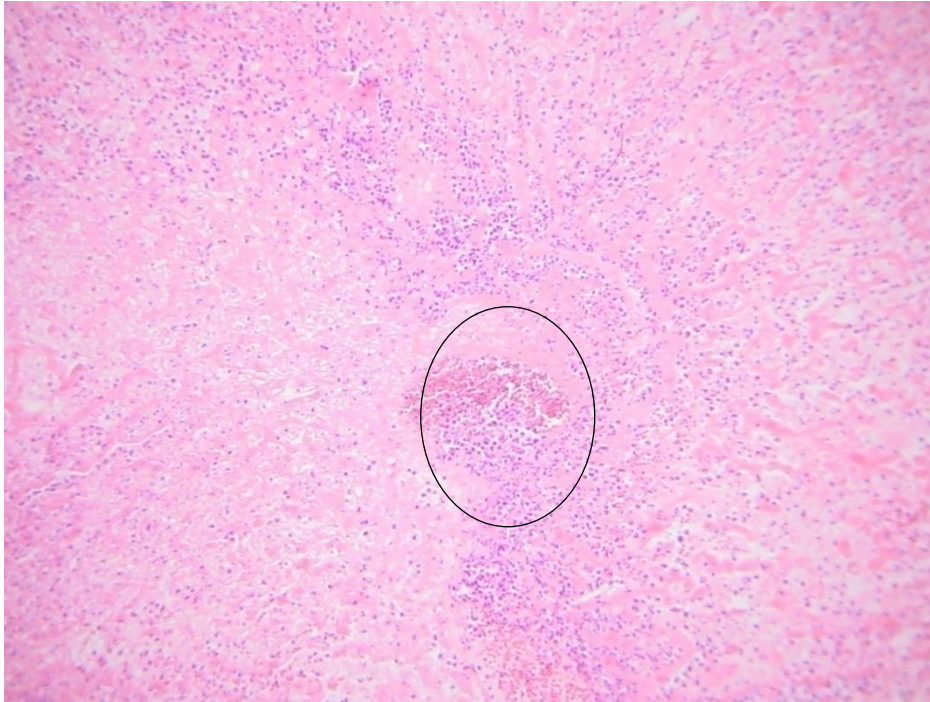


Figura 14. Necrosis confluyente severa (Grado B, puntaje 5) con abundante infiltrado inflamatorio. Vena central (óvalo). HE, 100x.

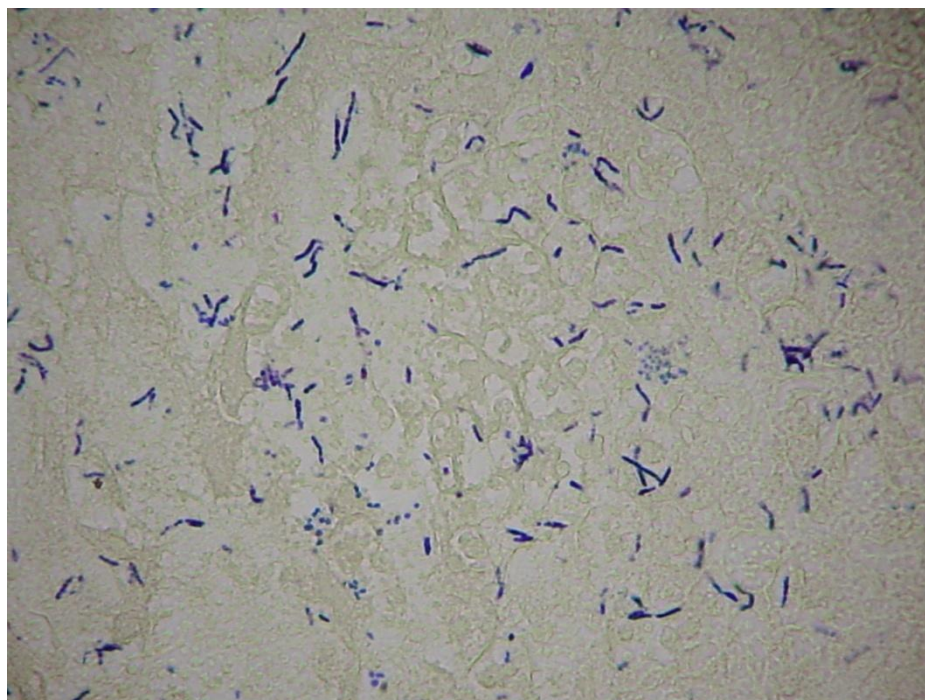


Figura 15. Abundantes bacilos gram positivos en casos con necrosis confluyente severa (Figuras 13 y 14). Tinción de gram, 400x.

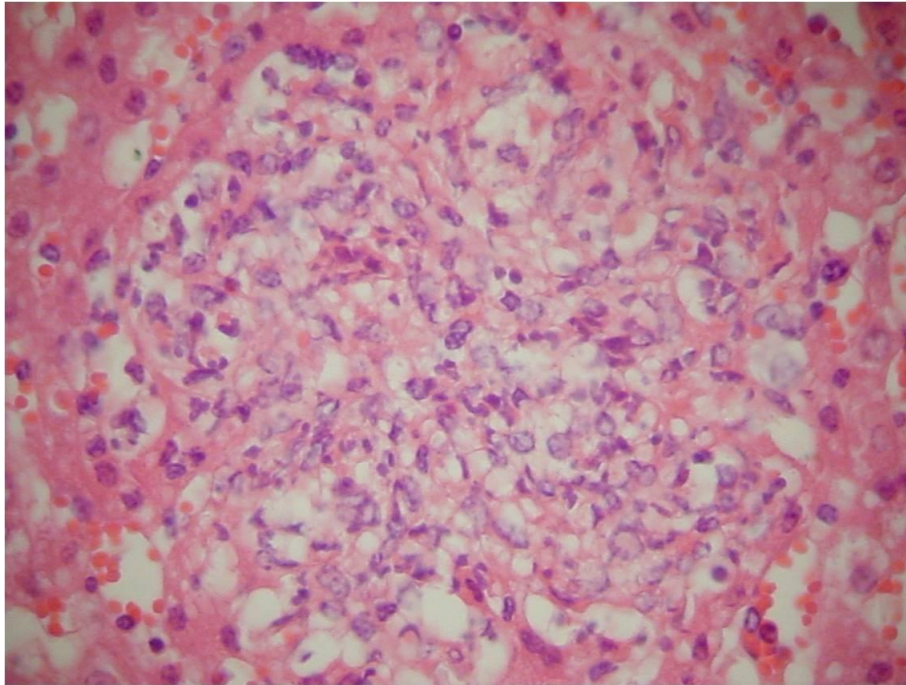


Figura 16. Foco lítico compuesto por abundantes neutrófilos entremezclados con detritus Celulares. HE, 400x

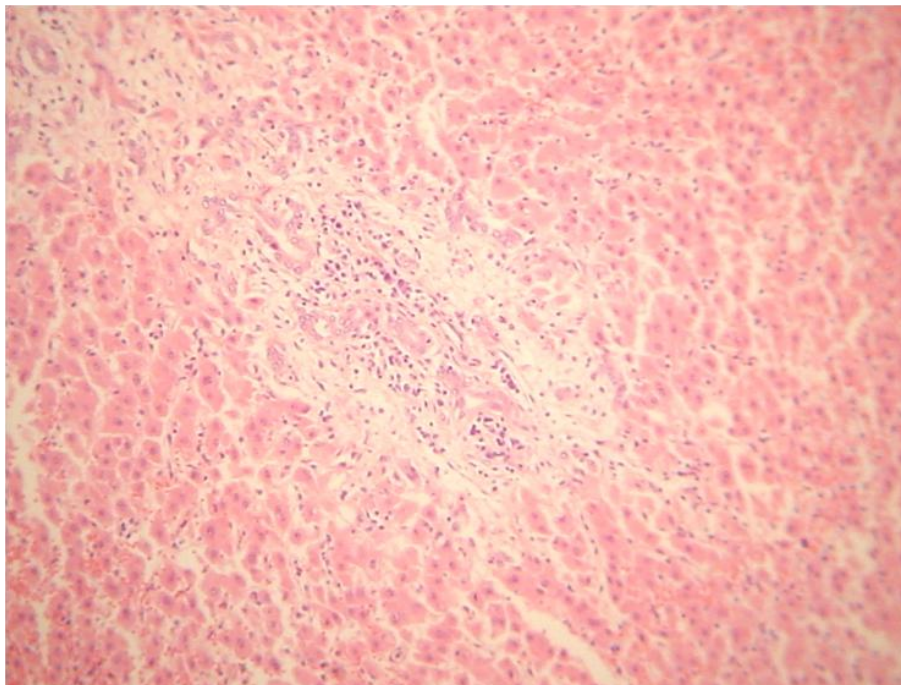


Figura 17. Moderado infiltrado periportal (Grado D, puntaje 3) e hiperplasia de conductos Biliares moderada. HE, 100x

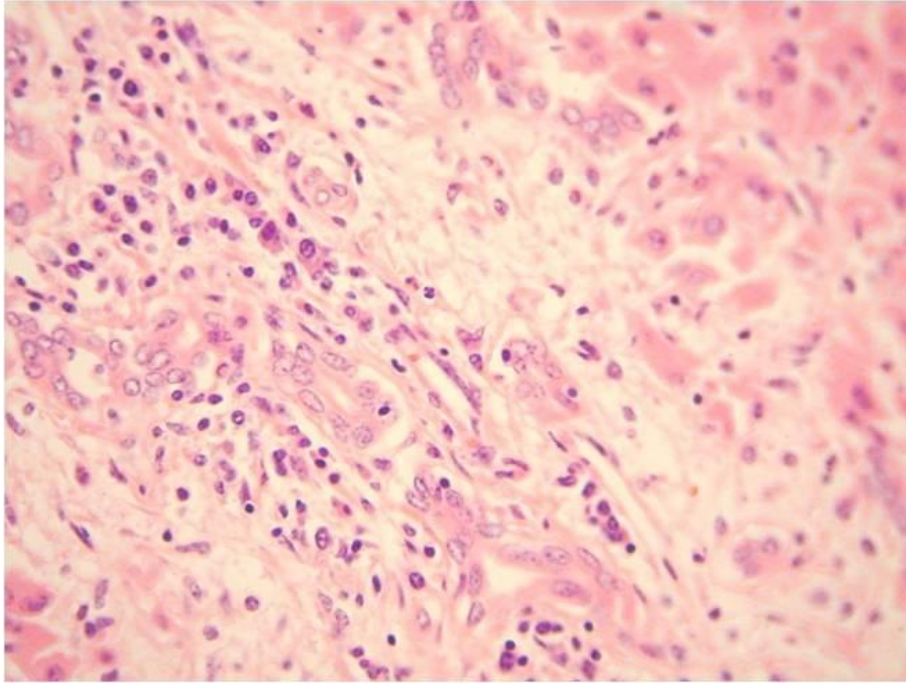


Figura 18. Detalle figura 17. HE, 400x

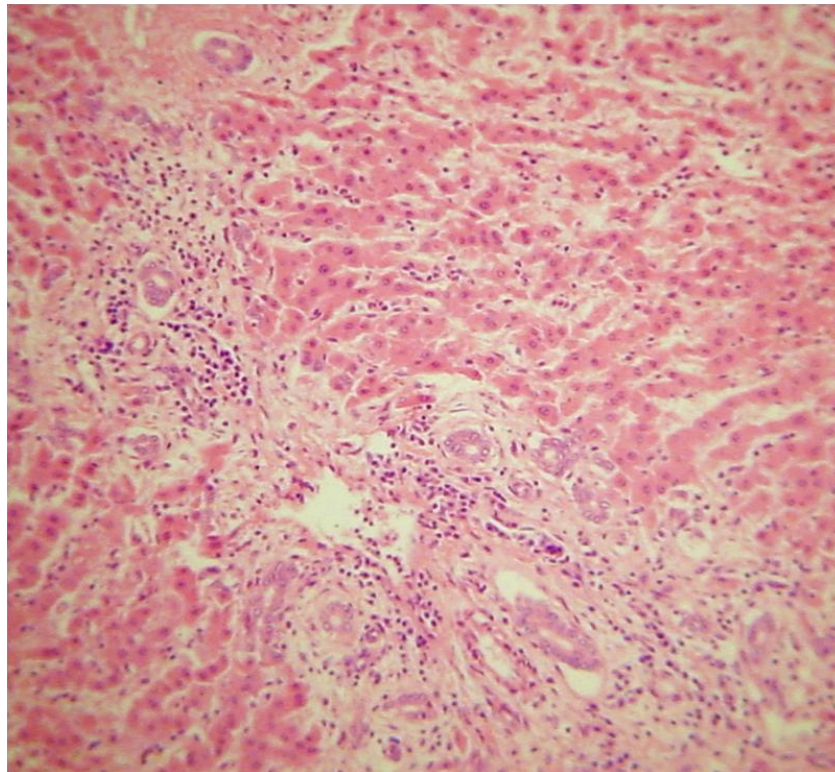
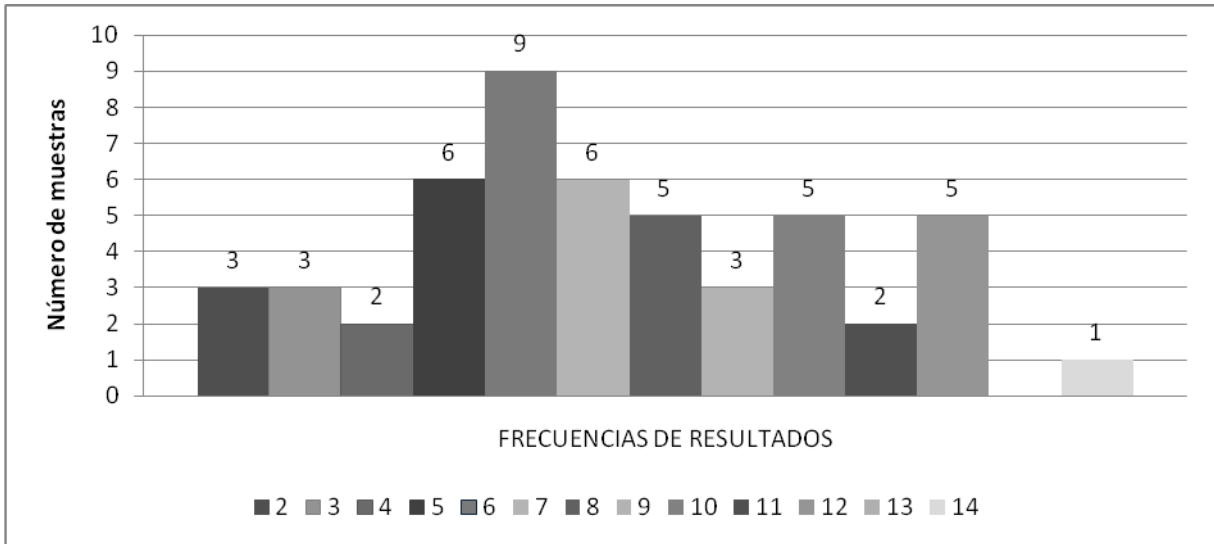
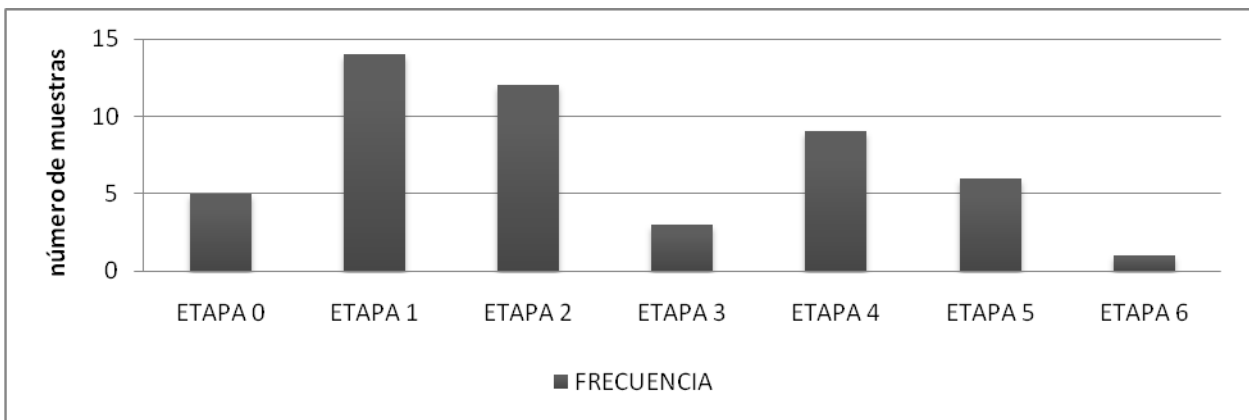


Figura 19. Marcada hiperplasia de conductos biliares (procedente de caso figuras 11 y 12) y abundante infiltrado linfocitario periportal (Grado D, puntaje 3). HE, 100x.





**Figura 20.** Frecuencia de grado de lesión necro inflamatoria (puntuación total). n = 50.



**Figura 21.** Frecuencia en la etapa de fibrosis hepática. n=50

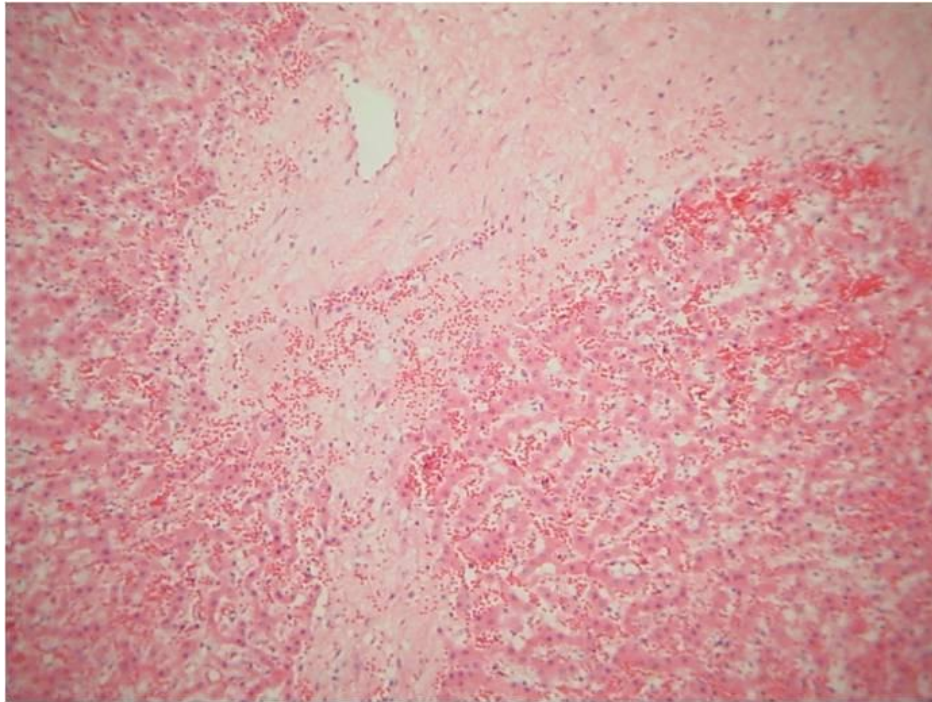


Figura 22. Fibrosis centrolobulillar severa con tractos porto-centrales. (Etapa, puntaje 4). HE, 100x.

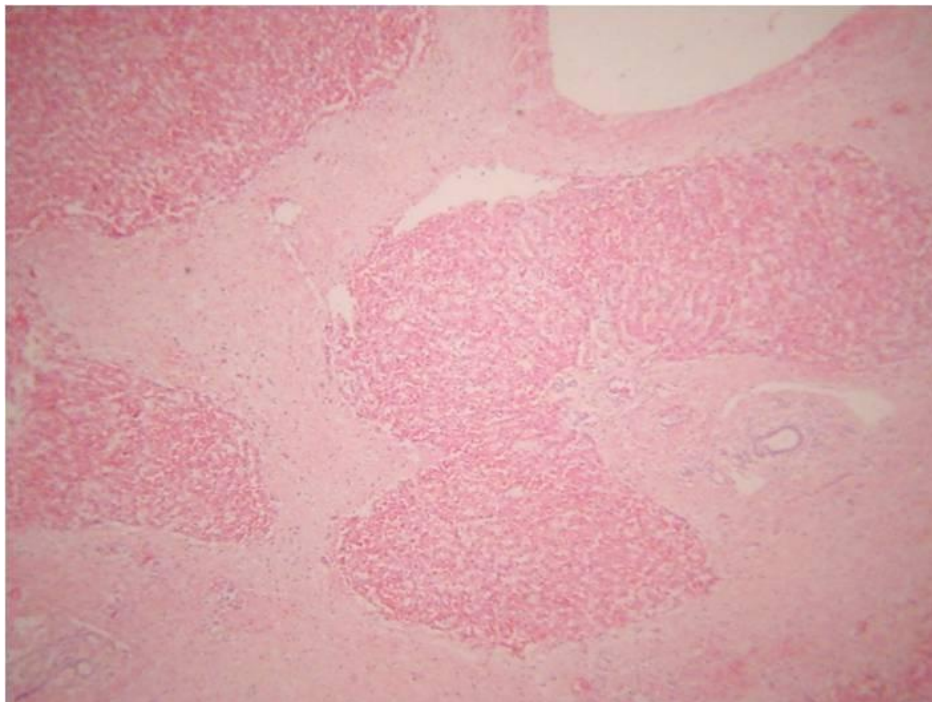
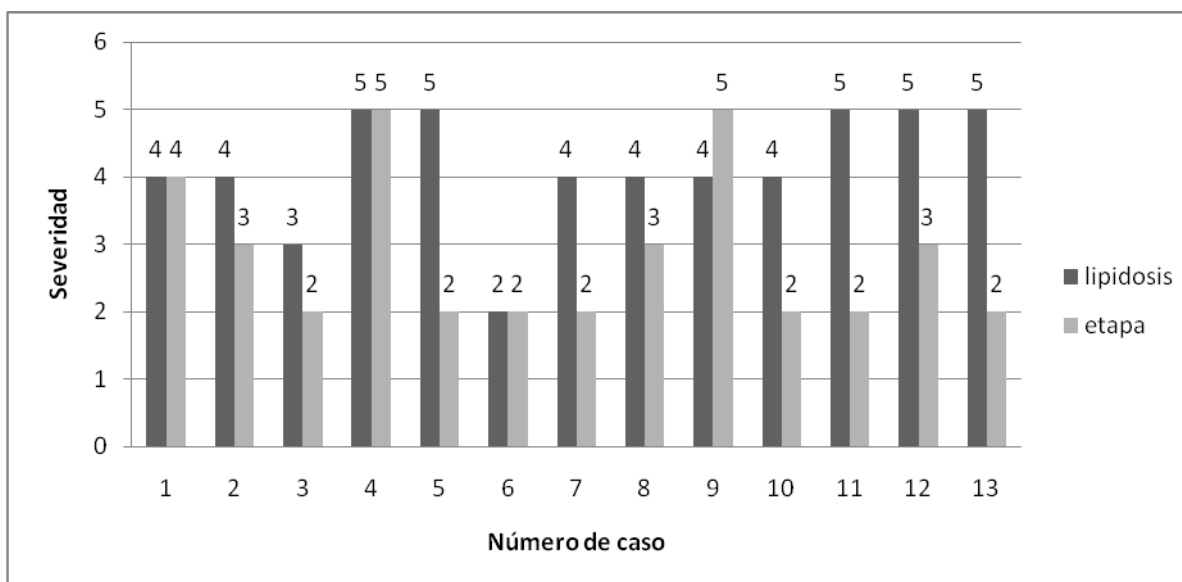


Figura 23. Abundantes puentes porto-portales y porto-centrales con disección de lobulillos hepáticos (pseudonódulos). Cirrosis incompleta (Etapa, puntaje 5).

**Tabla 3.** Promedio y desviación estándar en Grado de lesión necroinflamatoria hepática y Etapa de la fibrosis hepática.

	<b>GRADO DE LESIÓN NECROINFLAMATORIA HEPÁTICA</b>	<b>ETAPA DE FIBROSIS HEPÁTICA</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>7.37</b>	<b>2.33</b>
<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>2.93</b>	<b>1.63</b>
<b>RANGO +/- EST DESV.</b>	<b>4.44- 10.3</b>	<b>0.7- 3.96</b>



**Figura 22.** Relación de la lipidosis hepática con la etapa de la fibrosis hepática.

**Tabla 4.** Número de muestras con otras patologías sugestivas encontradas en hígado.

	<b>NÚMERO DE CASOS</b>
<b>Leucosis</b>	<b>5</b>
<b>Granulomas</b>	<b>2</b>
<b>Abscesos</b>	<b>4</b>
<b><i>Clostridium sp.</i></b>	<b>4</b>

# Discusión

En Tizayuca, el manejo de la alimentación en los bovinos lecheros de la cuenca está orientado a cubrir los requerimientos de acuerdo a su etapa productiva de la siguiente manera: Raciones de periodos seco (1 en periodo seco lejano; 1 periodo seco cercano al parto [3 semanas antes del parto]), 1 ración para animales en alta producción, 1 ración en mediana producción, 1 ración en baja producción. Sin embargo, no todas las unidades de producción lechera del CAIT cumplen con este requisito.

Algunos ingredientes empleados de forma general en la alimentación del lugar son: soya, maíz roado, salvado de avena, silo de maíz, paja, alfalfa fresca del rumbo. Esta última proviene de zonas donde es regada con aguas residuales procedentes de Tula, Hidalgo. También se tiene algunos aditivos utilizados que son grasa de sobrepaso, bicarbonato de sodio, promotores de glucosa (monensina sódica). Un manejo frecuente, irregular y de difícil rastreo es el almacenamiento a cielo abierto de alimento (rastreo, alfalfa, bagazo de cervecería, etc.) y la presencia de alimento residual en cada llenado de pesebres (Santa Cruz, comunicación personal). Lo anterior puede conducir al deterioro y contaminación del alimento que conlleva a la ingestión y acumulación de sustancias tóxicas en el hígado.

El efecto de las sustancias tóxicas e infecciosas sobre el hígado está determinado con base al microambiente y la función de los hepatocitos. De este modo, en la zona 1, adyacente a la entrada portal y expuesta a mayor concentración de oxígeno y factores tróficos, se reciben de manera directa las sustancias tóxicas provenientes de la dieta mientras que en la zona 3, predominan los procesos de biotransformación de sustancias tóxicas por contener una alta concentración de oxidases de función mixta (Moeller, 2004, Hayes, 2007, Stalker y Hayes, 2007). Por tal motivo, la actividad necroinflamatoria y la fibrosis resultante se concentra inicialmente alrededor del espacio porta como consecuencia de la infección y/o inflamación crónica y por tóxicos de acción directa mientras que la fibrosis secundaria a productos de biotransformación de sustancias o daño hipóxico se localiza alrededor de venas centrales (Henderson y Forbes, 2007; Stalker y Hayes, 2007).

Sin embargo, la fibrosis hepática progresa lentamente debido a la notable capacidad regenerativa del hígado (Hayes, 2007).

De este modo, la frecuencia de la necrosis de interface (zona 1) y confluyente (zona 3) y el tipo de lesiones necróticas observadas en los casos evaluados son compatibles con la presencia de hepatotoxinas de acción directa y especies reactivas (radicales) derivados de la biotransformación de sustancias, respectivamente. Aunque las lesiones en zona 3 pueden también estar relacionadas a daño hipóxico, esto es poco probable dada la severidad de la necrosis y la presencia de hemorragia y puentes portocentrales (Figuras 9 y 10) aunado a que los hallazgos macroscópicos de la necropsias realizadas en dichos animales no revelaron lesiones pulmonares significativas que pudieran promover falla cardíaca congestiva derecha y por ende, hipoxia en zona 3.

La presencia de megalocitos e incremento de hepatocitos binucleados es indicativo de la acción de tóxicos que dañan el ADN y que por su acción alquilante inhiben la replicación celular. Estas lesiones son características del efecto de alcaloides pirrolizidínicos (derivados de plantas tóxicas) y de micotoxinas tales como las aflatoxinas (Stalker y Hayes, 2007). En los casos evaluados, es poco probable que las lesiones sean consecuencia de la ingestión de alcaloides pirrolizidínicos puesto que las vacas no proceden de una explotación de tipo extensivo lo cual reduce el riesgo de exposición a dichos tóxicos. Por tal motivo, las lesiones en zona 3, son compatibles con la acumulación crónica de micotoxinas, presumiblemente aflatoxinas, al observarse grados variables de necrosis y hemorragia orientadas a la zona 3 del acino hepático (lesiones periacinares) con alta frecuencia de atipias celulares (megalocitosis, megalocariosis, células binucleadas, etc), así como hiperplasia de conductos biliares las cuales son descritas como lesiones características (Stalker y Hayes, 2007, Peña, 2007). En este contexto, en explotaciones intensivas de producción láctea, los ingredientes (plantas, henos, silos, granos, subproductos) empleados en la alimentación así como el forraje puede estar contaminados de aflatoxinas (García, *et al*, 2008) por ser las micotoxinas de almacén más frecuentes en rumiantes. Estas son producidas por los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* y han sido detectadas en una gran variedad de granos tales como el sorgo, maíz, gluten de maíz, cacahuate, etc, e incluso en pasturas diversas (Peña, 2007). Estos hongos producen cuatro

toxinas, de las cuales la aflatoxina B1 es considerada el agente carcinogénico natural de mayor potencia. Los microorganismos ruminales pueden degradar hasta el 42% de la aflatoxina B1 (Santin, 2005), pero son capaces también de producir aflatoxicol. Otro metabolito, la aflatoxina M1 es producida a partir de la aflatoxina B1 en el hígado y puede finalizar en el rumen por vía de la circulación rumino-hepática. En especies susceptibles, las lesiones hepáticas por aflatoxinas e incluso cáncer hepático (Stalker y Hayes, 2007). Esto se debe a que las aflatoxinas son sustancias altamente ionizables que son metabolizadas por el sistema microsomal de oxidasas mixtas contenidas en el citocromo P-450, y como consecuencia se genera una diversa cantidad de especies reactivas que actúan como radicales libres (Peña, 2007, Stalker y Hayes, 2007).

Los informes en la literatura, mencionan que la alfalfa fresca regada con aguas residuales se contamina con sólidos inorgánicos tales como nitrógeno, fósforo, cloruros, sulfatos, carbonatos, bicarbonatos y algunas sustancias tóxicas como arsénico, cianuro, cadmio, cromo, cobre, mercurio, plomo y zinc. En el consumo de dicha alfalfa, el metabolismo de dichos elementos a través de diversas isoenzimas del citocromo P-450 también conduce a la formación de intermediarios reactivos por parte de los hepatocitos y las células de Kupffer, las cuales son una fuente potente de intermediarios reactivos del oxígeno (ERO) que promueven un considerable efecto hepatotóxico (Friedman, 2000, Weber, *et al.* 2003; López, *et al.* 2005; Tuñón, *et al.* 2007). Lo anterior sugiere que una posible causa de la actividad necroinflamatoria en zona 3 pueda ser consecuencia del consumo regular de alfalfa fresca contaminada con aguas residuales.

En infección por *Clostridium hemolyticum*, agente etiológico de la hemoglobinuria bacilar, la lesión macroscópica característica en hígado, es la necrosis extensiva (de hasta 10 cm de diámetro) con bordes irregulares bien marcados. Microscópicamente, se aprecia necrosis coagulativa orientada al centro del lobulillo hepática. En ocasiones, se observa trombosis de capilares adyacente al área de necrosis (Stalker y Hayes, 2007). La severidad de la necrosis confluyente, la delimitación de la misma, su relación con vena central y la presencia de bacilos gram positivos intralesionales que se observó en algunos casos (Figuras 13, 14 y 15), son sugestivos de la presencia de *Clostridium hemolyticum*. En la cuenca de Tizayuca, la evidencia de dicho agente ha sido documentada por aislamiento y

tipificación de los bacilos en laboratorio comercial, y se ha observado con lesiones compatibles con hemoglobinuria bacilar (Santa Cruz, comunicación personal).

Como se mencionó anteriormente, la actividad necroinflamatoria crónica promueve el desarrollo de fibrosis debido a la exposición sostenida por etiologías diversas y la distribución de la fibrosis en el acino dependerá de la ruta de entrada y el manejo metabólico de las sustancias que tienen acceso en el hígado (Henderson y Forbes, 2007; Stalker y Hayes, 2007). Por otra parte, la actividad necroinflamatoria conlleva a la producción de radicales libres los cuales ejercen una estimulación paracrina de las células estrelladas que conduce a la sobre-expresión de la enzima citocromo P450-2E1 la cual estimula la expresión de los genes del colágeno tipo I, principal componente de la fibrosis. Por otra parte, su actividad se amplifica *in vivo* por la depleción de los antioxidantes lo cual es una situación común en el hígado enfermo. Este efecto es atenuado por los antioxidantes (Friedman, 2000). Lo anterior revela la importancia de la producción de especies reactivas dado que contribuye al desarrollo de fibrosis e induce a la perpetuación de la misma (etapa). Todo esto es compatible con la etapa de lesión hepática observada en los casos evaluados puesto que las posibles etiologías descritas inducen una considerable producción de radicales libres.

En ganado lechero, la lipidosis hepática severa está asociada a una alta demanda de producción láctea debido a que las vacas enfrentan su demanda energética movilizandolos tejidos adiposos para obtener aun más energía sobre aquella provista en la dieta. La alta concentración de ácidos grasos libres plasmáticos son captados por el hígado donde pueden ser utilizados como fuente de energía o convertidos en cuerpos cetónicos que pueden ser liberados hacia la sangre y utilizados como una fuente de energía en muchos tejidos. Debido a que la conjugación y exportación de lipoproteínas presenta una tasa limitada por tiempo, el exceso de ácidos grasos es acumulado como triglicéridos en las células del hígado. Esta condición ocurre principalmente en los primeros días de lactancia y puede llevar a desordenes metabólicos como cetosis e hígado graso (Wattiaux y Grummer, 1990). Por tal motivo, en el periodo de transición es esencial evitar la carencia nutricional de los micronutrientes antioxidantes puesto que se encuentra en un balance energético negativo profundo que conlleva una importante lipomovilización la cual puede alterar la

composición de los ácidos grasos de las membranas celulares (Chihuailaf, 2002). Aunque la acumulación de grasa intracelular no es perjudicial, se menciona que los hígados grasos son más vulnerables al daño tóxico y al estrés oxidativo por lo que es más común observar daño concurrente como necrosis y fibrosis (Stalker y Hayes, 2007). Lo anterior es compatible con el hallazgo de lipodosis hepática (Tabla 4) y la asociación de la severidad de la misma con etapas avanzadas y terminales de fibrosis.

En el manejo, las variaciones en las raciones, modificaciones de los patrones de alimentación o dietas mal formuladas aumentan los riesgos de presentar acidosis ruminal subclínica. Una dieta totalmente mezclada es menos riesgosa que una donde los ingredientes de la ración se ofrecen por separado. La selección de los componentes de la ración puede resultar en consumos heterogéneos donde las partículas de forraje largo son rechazadas, resultando en mayores consumos de granos y aumentando así los riesgos de acidosis ruminal subclínica, está a su vez causa rumenitis que produce úlceras que facilitan el ingreso de bacterias (*Fusobacterium necrophorum*, *Corinebacterium sp.*) al torrente sanguíneo y pueden producir la formación de abscesos hepáticos (Stalker y Hayes, 2007). Es probable que los casos que exhibieron abscesos hepáticos (Tabla 4) y los casos con centros líticos abundantes (Figura 16) estén asociados a cuadros de acidosis ruminal.

La presencia de tuberculosis en el ganado depende de varias características del hospedero, tales como la edad, el funcionamiento del sistema inmune, la desnutrición o la presencia de ciertas enfermedades los cuales son factores clave para el desarrollo de una enfermedad activa. La diseminación del agente causal (*Mycobacterium bovis*) al resto del organismo produce granulomas en prácticamente cualquier tejido. En la cuenca, la presencia de tuberculosis ha sido validada extensivamente (González, 1995). Los granulomas con bacilos Ziehl-Nielsen positivos en los casos descritos son compatibles con la presencia de tuberculosis en la cuenca lechera.

Así mismo, en el CAIT, se ha informado de una alta prevalencia (66%) de leucosis enzoótica bovina (LEB) con concordancia perfecta con los resultados de PCR en tiempo real. Adicionalmente, la carga viral presentó una fuerte correlación con el diagnóstico de linfocitosis persistente (Zavaleta, 2009). La presencia sostenida de linfocitos atípicos en sangre es la antesala del desarrollo de linfoma, la cual constituye la forma clínica de la LEB



(Hernández *et al*, 2006, Zavaleta, 2010). La presencia de linfocitos atípicos en los casos evaluados probablemente corresponde al inicio de la proliferación neoplásica de linfocitos en hígado.

Con base a los hallazgos, se determinó que el grado actividad necroinflamatoria y la etapa de fibrosis estuvieron en un rango de ligero a moderado e inicial a avanzado, respectivamente, lo cual puede asociarse a la alta capacidad regenerativa hepática como se menciona en la literatura. Sin embargo, los resultados también revelaron una considerable proporción de casos con actividad necroinflamatoria alta y fibrosis terminales lo cual es compatible con la percepción del personal del CAIT de que existe un incremento de la severidad de las lesiones hepáticas. Por tal motivo, es conveniente realizar un seguimiento de los casos que se evalúan en las necropsias para determinar si esta tendencia se mantiene.

# Conclusiones

- Las lesiones más frecuentes con base a la actividad necroinflamatoria fueron: la necrosis de interface (zona 1) y la necrosis confluyente (zona 3).
- En promedio, la actividad necroinflamatoria fue moderada y la etapa de fibrosis fue predominantemente inicial. En ambos parámetros el rango fue de ligero a moderado.
- Hubo un número significativo de casos con fibrosis avanzada y terminal.
- Los hallazgos histopatológicos son sugestivos de daño tóxico ya sea por tóxicos de acción directa (necrosis periportal, zona 1) o por productos de biotransformación (necrosis confluyente, zona 3).
- Las lesiones en zona 3 son sugestivas de aflatoxinas y presencia de *Clostridium hemolyticum*.
- La lipidosis pudo promover una mayor susceptibilidad al daño tóxico.
- El sistema para la evaluación estandarizada de la enfermedad hepática crónica bovina fue útil, la relación de este esquema con aspectos de etiopatogénesis requiere de una investigación posterior.

# Bibliografía

Bach, A. Trastornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. XVIII curso de especialización FEDNA 4- 5 Noviembre de 2002, Barcelona. 119: 139.

Bataller, R; Brenner, DA. Liver fibrosis. February 2005. The Journal of Clinical Investigation. Volume 115, Number 2. <http://www.jci.org>

Bauza, R. Las micotoxinas, una amenaza constante en la alimentación animal. IX Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos, Montevideo, Uruguay, 2007. 21: 28.

Bendich, A. Physiological role of antioxidants in the immune system. 1993, J. Dairy Sci., 2776: 2789.

Borrell, V. Patología de la producción: síndrome del parto en la vaca. Medicina Veterinaria 2000. Vol. 17, no. 4. 88: 96.

Chihuailaf, RH. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. Vol. 33. No. 3. Julio- Septiembre 2002. [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)

Contreras PA. Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. Archivos de medicina veterinaria. [online]. 1998, vol. 30, n. 2 [citado 2010-05-25], pp. 17-27. Disponible en: [www.scielo.cl](http://www.scielo.cl)

Cornelius, CE. Liver Function. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th Ed. Kaneko, Jiro J. United States of America: Academia press, Inc. 1989; 364- 391.

Cullen JM; MacLachlan N. J. Liver, biliary system and exocrine pancreas. In: Mc Gavin MD. Carlton W. W. Zachary J. F. Third Edition. Thomson's Systemic Veterinary Pathology. St Louis: CV Mosby. 2001. 81: 124.

Friedman, SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. Physiological Reviews 88: 125–172, 2008. <http://physrev.physiology.org/>

Friedman SL. Hepatic fibrosis- overview. Toxicology, 2008; 254: 120- 129.

Friedman SL. Molecular Regulation of Hepatic fibrosis, an Integrated Cellular Response to Tissue Injury. The Journal of Biological Chemistry, 275. 2247-2250. <http://www.jbc.org/content/275/4/2247.full#sec-1>

Friedman sl. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic

implications. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*. Vol. 1, No 2. 98:105. [www.nature.com/clinicalpractice/gasthep](http://www.nature.com/clinicalpractice/gasthep)

García A; Kalscheur K. *et al.* La preocupación por las micotoxinas en granos de destilería destinados a rumiantes. *Albéitar*. N° 120 Noviembre 2008 62: 64. [www.albeitar.asisvet.com](http://www.albeitar.asisvet.com)

Glauber, C. E. *Minerales y oligoelementos en bovinos: su rol en la salud y una aproximación terapéutica* 2008. Facultad Ciencias Veterinarias, UBA, Argentina. 1: 2.

González PV. Efecto de la sobreexpresión de bcl-2 sobre la proliferación y senescencia de las células estelares hepáticas *in vitro*. (Tesis de maestría). México, D.F. UAM. Julio de 2007

González, R. J. A. Análisis de la prevalencia de la tuberculosis bovina en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca durante el período 1981- 1989. (Tesis de licenciatura). Cuautitlán Izcalli, México. UNAM, 1995.

Gressner MA; Weiskirchen R; Breitkopf K; Dooley S. Roles of TGF- $\beta$  in hepatic fibrosis. *Frontiers in Bioscience* 7, April 1, 2002, 793-807.

Grummeri, RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 76, No. 12, 1993.

Hayes, MA. Fisiopatología de hígado. En *Fisiopatología veterinaria*. Dunlop, Robert H, Malbert. Charles-Henn. Eds. España, Editorial: Acribia 2007:393-421.

Henderson, NC. Forbes, Stuart J. Hepatic fibrogenesis: from within and outwith. *Toxicology*. 2008; 254: 130- 135.

Hernández PE. Activación de las células estelares y su importancia en la fibrosis hepática. *Revista de Ciencias Clínicas*, 2004, Vol. 5, No. 1. Enero- Junio. 39: 47.

Hernández, B. R. J; Mar, C. R. A; Zavaleta, H. J. N; Barrientos, P. R; Leyva, G. V. H; Fausto, R. E. Leucosis enzoótica bovina. *Revista de Ciencia, Biodiversidad y Tecnología Agropecuaria AGROPECUS*. 2006, 3(1): 14–36 p.

Hübscher, SG. Histological grading and staging in chronic hepatitis: clinical applications and problems. *Journal of Hepatology* 1998; 29: 1015- 1022.

Hui, AY, Friedman, SL. Molecular basis of hepatic fibrosis. February 2003. Expert reviews in molecular medicine. [www.expertreviews.org](http://www.expertreviews.org).

Iredale, JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 117, No. 3, March 2007 [www.jci.org](http://www.jci.org). 539: 548.

Ishak K., Baptista A.; *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of hepatology* 1995; 22: 696–9.

Koenig. Alteraciones del metabolismo energético en rumiantes y sus principales manifestaciones clínicas. *Archivos de medicina veterinaria*. 1984. Vol. XVI. No. 1. 7: 13.

López AM *et al.* Glutación peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Arch. med. vet.* [online]. 1997, vol.29, n.2 [citado 2010-06-23], pp. 171-180. Disponible en: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X1997000200001&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1997000200001&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0301-732X. doi: 10.4067/S0301-732X1997000200001.

Márquez FF; Glauber, CE. Impacto Del Balance Energético Negativo En La Aparición De Enfermedades Postparto En Vacas Lecheras. Octubre 2003. Cátedra de Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.

Morrissey PA, O'Brien NM. Dietary antioxidants in health and disease. *Journal of Dairy Science* 1998; Vol. 8: 463-472.

Navarrete CA. Evaluación de los parámetros productivos y reproductivos en vacas Holstein-Friesian, mediante el uso de una capsula de liberación controlada a base de monensina sódica. (Tesis de licenciatura). Cuautitlán Izcalli, México. UNAM. 2010.

Niki T., Pekny M., Hellemans K., *et al.* Class VI intermediate filament protein nestin is induced during activation of rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999; Vol. 29: 520–527.

Perusia OR; Rodriguez AR. Micotoxicosis. *Rev. investig. vet. Perú.* [online]. jul./dic. 2001, vol. 12, no.2 [citado 25 Mayo 2010], p.87-116. Disponible en la World Wide Web: <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172001000200013&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200013&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 1609-9117.

Petit HV. Palin, M. F. Hepatic lipid metabolism in transition dairy cows fed flaxseed. *Journal of Dairy Science* Vol. 90 No. 10, 2007.

Posadas ME.; Camarillo C. M.; Lugo Q. R. 2do. Curso Internacional de medicina interna en bovinos. 2007, 30 de noviembre y 1 de diciembre. Pachuca, Hidalgo. 193: 212.

Quiroz RG.; Bouda, J. Fisiopatología de las deficiencias de cobre en rumiantes y su diagnóstico. *Veterinaria México* 2001, Vol. 32, No. 4. 289: 296.

Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Enfermedades del hígado y páncreas. *Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. Vol. I. Mc Graw Hill, México. 2002. 411: 426.

Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Enfermedades metabólicas. Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol. II. Mc Graw Hill, México. 2002. 1683:1752.

Robbins, SL. Enfermedades del hígado, la vía biliar y el páncreas. Manual de patología estructural y funcional. 6ta. Edición. México. McGraw-Hill interamericana 2000: 476-517.

Rosciani, AS.; Merlo, WA.; Insfrán, RM.; Benítez Ruiz Díaz, JS.; Locket, M.; Koscinczuk, P. Caracterización citológica de hepatopatías en perros y gatos. Revista veterinaria 2007; 18:111-116.

Salgado H; Eligio G.; Bouda, J. Efecto de la administración de sales de calcio y precursores de glucosa sobre calcio sérico y cuerpos cetónicos en vacas lecheras posparto. Veterinaria México. 2009, Vol. 40, No. 1. 17: 26.

Santa Cruz A. M. Causas de mortalidad en vacas lecheras de acuerdo a lesiones encontradas a la necropsia. [Http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/btrgclia001.htm](http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/btrgclia001.htm)

Santin, E. Mould growth and mycotoxin production. In: The Mycotoxin Blue Book. Nottingham University Press. Duarte Diaz Eds. 2005. 225-234.

Sentíes G. M. D; Gálvez G. F. J.; Meza G. E.; Armendáriz B. J. *et al.* Fibrosis hepática. el papel de las metaloproteinasas y de  $\text{tgf-}\beta$ . Gaceta Médica México 2005; 141: 315-322

Stalker, M. J.; M. A. Liver and biliary system. Pathology of domestic animals. Jubb, Kennedy and Palmer's. Editores. Vol.2, Fifth edition. Editorial Saunders ELSEVIER. 2007; 297- 387.

Venereo G.; Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. 2002; 31(2):126-33. Revista Cubana Medicina Militar.

Vidaurreta, I. Acidosis ruminal subaguda en vacas lecheras presentación clínica, factores predisponentes, diagnóstico y medidas de prevención. [www.nutralmix.com.ar/pdf/Acidosisruminal.pdf](http://www.nutralmix.com.ar/pdf/Acidosisruminal.pdf).

Vishwanath RL. Enfermedad hepática. Fisiopatología médica. McPhee, Stephen, J. Editor. México. Editorial Manual Moderno 2001: 373-412.

Wattiaux, MA.; Grummer RR. Metabolismo de lípidos en las vacas lecheras. Instituto Babcock. 240 Agriculture Hall. 1990. 13: 16.

Zavaleta-Hernández JN, Favila de Alba R, Sandoval-Romero J, Hernández Balderas RJ, Rojas Ríos RJ, Hernández-García G, García-Camacho LA. Relation ship of persistent lymphocytosis with seroprevalence and BLY detection in a bovine leukemia high

---

prevalence dairy herd. Vet. Pathol. 2009, 46(5):1073

Zorrilla, O. Ionóforos y manipuladores de la fermentación ruminal. Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. Consultores en Producción Animal. México. 1990. 109-11.