



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ

“PROTEÍNA ÁCIDA GLIAL FIBRILAR Y SU INMUNOEXPRESIÓN EN ASTROCITOS ALZHEIMER TIPO II EN CEREBELO DE CASOS DE AUTOPSIA CON DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN EL HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ DURANTE EL PERIODO 2001-2010”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA PRESENTA:

ESTEBAN ORTIZ JASSO

ASESORA:

DRA. MARÍA DEL ROCÍO ESTRADA HERNÁNDEZ

**MÉDICA ADSCRITA A LA DIVISIÓN DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
DEL HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ**

MÉXICO D.F. JULIO DEL 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.

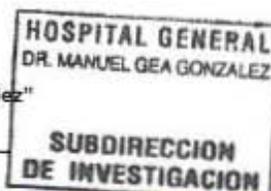
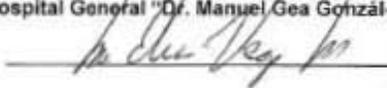
Este trabajo fue realizado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González y en la División de Anatomía Patológica bajo la dirección de la Dra. María del Rocío Estrada Hernández.

Este trabajo de Tesis con No. PROT 01-66-2013, presentado por el alumno Esteban Ortiz Jasso se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dra. María del Rocío Estrada Hernández, con fecha del 31 de julio del 2013 para su impresión final.

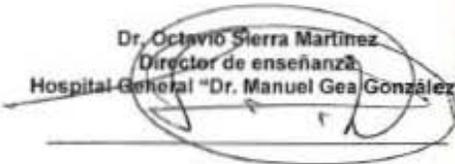
Tutor principal: Dra. María del Rocío Estrada Hernández.

AUTORIZACIONES

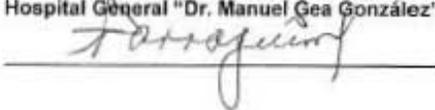
Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirección de Investigación
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



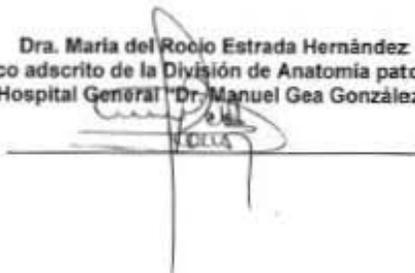
Dr. Octavio Sierra Martínez
Director de enseñanza
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Dra. Sara Parraguire Martínez
Jefa de la División de Anatomía patológica
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Dra. María del Rocío Estrada Hernández
Medico adscrito de la División de Anatomía patológica
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



**“PROTEÍNA ÁCIDA GLIAL FIBRILAR Y SU INMUNOEXPRESIÓN EN ASTROCITOS
ALZHEIMER TIPO II EN CEREBELO DE CASOS DE AUTOPSIA CON DIAGNÓSTICO
DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN EL HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA
GONZÁLEZ DURANTE EL PERIODO 2001-2010”**

AGRADECIMIENTOS:

- A mi mamá, a mi papá, a mis hermanas, al resto de los integrantes de mi familia; por siempre darme su incondicional cariño y apoyo ante las decisiones que he tomado en mi vida y por todo el esfuerzo que han hecho junto conmigo; sin lugar a duda, durante este periodo en el que me he alejado físicamente de mi hogar, han sido el motor para continuar adelante.

- A mis maestros: Dra. Sara Parraguirre, Dr. Germán Recinos, Dr. Isaías Estrada, Dra. Magdalena Reyes; porque han sido mucho más que modelos a seguir dentro del mundo de la Patología, promoviéndome a continuar creciendo como profesionista y como ser humano.

- A mis compañeros de residencia, principalmente a Yuridia Cadena, Ana Lilia Morales, Sandra Caballero, por haber creado juntos el ambiente idóneo para que mi estancia dentro del hospital siempre fuera agradable y divertida; personas en las que encontré una gran amistad.

- A mis amigos de toda la vida: Adriana Glover, Janet García, Ariana Castillo, Lizbeth Cárdenas, Edwin López, C. Alejandro Hernández, Juan M. Olmos y Ross Ramírez; porque ni el tiempo ni la distancia han sido impedimento para ustedes en seguir aconsejándome y apoyándome de mil maneras, agradecido eternamente.

- A todo el personal que labora en la División de Anatomía patológica de mi gran “Hospital General Dr. Manuel Gea González”, por colaborar en mi desarrollo profesional y en particular al personal de secretarias, preocupadas siempre por mi bienestar.

- A la Dra. María del Rocío Estrada Hernández, neuropatóloga adscrita de la División de Anatomía patológica, por su asesoramiento y apoyo, siempre lleno de experiencia, para la culminación de este gran trabajo.

➤ A DIOS, por dejarme hacer realidad uno de mis más grandes sueños. GRACIAS.

ÍNDICE

	Página
Glosario	8
Relación de figuras y tablas	9
Resumen	10
Abstract	11
1. Introducción	12
2. Antecedentes.....	12
3. Justificación	15
4. Objetivos.....	16
5. Material y Métodos.....	17
5.1. Tipo de estudio	
5.2. Ubicación temporal y espacial	
5.3. Criterios de selección de la muestra	
5.4. Variables	
5.5. Tamaño de la muestra	
5.6. Procedimiento	
5.7. Análisis estadístico	
5.8. Descripción operativa del estudio	
6. Resultados.....	20
7. Discusión	23
8. Conclusiones	23
9. Perspectivas	23
10. Bibliografía.....	24

GLOSARIO

Inmunohistoquímica: Es un procedimiento en histopatología, que se basa en la utilización de un anticuerpo específico, previamente marcado mediante un enlace químico con una enzima que puede transformar un sustrato en visible, sin afectar la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno, aplicado a una muestra de tejido orgánico, correctamente fijada e incluida en parafina.

Proteína ácida glial fibrilar (PAGF): Es una proteína fibrosa que forma parte normal de los filamentos del citoesqueleto intracelular de astrocitos y células de Schwann.

Astrocito: Células del SNC con núcleo vesicular, redondo u ovalado, que carecen de nucléolo prominente, citoplasma escaso y con procesos citoplásmicos que irradian del cuerpo celular a la periferia confiriéndole el aspecto estrellado. De acuerdo a la clase de proceso citoplásmico hay **protoplásmicos** o **fibrosos**.

Astrocitos de Alzheimer tipo II: Forma reactiva del astrocito que aparece en estados de hiperamonemia, usualmente relacionados con enfermedades renales o hepáticas.

Encefalopatía hepática (EH): Alteración neuropsiquiátrica, potencialmente reversible, que aparece como complicación en enfermedades agudas y crónicas del hígado, y puede clasificarse clínicamente en estadios mediante escalas adecuadas.

Lesión hepática: Son aquellas agresiones de tipo metabólico, tóxico, microbiano, inmunológico o neoplásico capaces de provocar alteración en el hígado ya sea de forma fulminante, aguda, subaguda o crónica.

Alcoholismo: Enfermedad que consiste en padecer una fuerte necesidad de ingerir alcohol etílico de forma que existe una dependencia física del mismo. Para el estudio sólo será suficiente el antecedente en el expediente clínico.

RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS

TABLA 1:

Resultados generales obtenidos en el estudio.

GRÁFICA 1:

Proporción de casos de encefalopatía hepática de acuerdo al sexo.

GRAFICO 2:

Rango de edad de casos con encefalopatía hepática.

GRÁFICO 3:

Gráfico de casos de encefalopatía hepática y la variación en el grado de expresión de PAGF.

RESUMEN

La encefalopatía hepática es una alteración neuropsiquiátrica, potencialmente reversible, que aparece como complicación en enfermedades agudas y crónicas del hígado, se clasifica clínicamente en estadios. La lesión anatomopatológica fundamental afecta en particular a los astrocitos, células del sistema nervioso central que presentan alteraciones morfológicas y funcionales, caracterizadas por presentar núcleos grandes, vesiculosos, con escasa cromatina localizada en la periferia y con nucléolo prominente. Cuando el astrocito sufre este cambio, se le denomina astrocito de Alzheimer tipo II. Por medio de inmunohistoquímica, se ha documentado que cuando clínicamente hay concentraciones altas de amonio (como en la encefalopatía hepática), el astrocito de Alzheimer tipo II no reacciona ante la proteína ácida glial fibrilar, a diferencia de los astrocitos normales, esto en la sustancia gris del cerebro, más no es así en cerebelo, en particular en la glía de Bergmann, en donde la expresión de la PAGF en los astrocitos puede estar modulada por factores locales. OBJETIVO GENERAL: Evaluar la intensidad de la inmunoexpresión de la proteína ácida glial fibrilar en los Astrocitos Alzheimer tipo II del cerebelo en casos de autopsia con diagnóstico de encefalopatía hepática. CONCLUSIONES: Del periodo de diez años estudiado, se encontraron dieciséis casos que cumplieron con los criterios de inclusión como contar con el protocolo de autopsia completo y haber tenido encefalopatía hepática. De esos 16 casos, el 62.5% (diez casos) se trató de hombres mientras que el 37.5% fueron mujeres (seis casos). Se encontró que el rango de edad de edad fue de 33 años para el caso con menor, mientras que el de mayor de edad fue a los 78 años; en ambos casos se trataron de mujeres. En el caso de los hombres el rango de edad osciló de los 38 años como mínima a los 62 años como máxima. De los 16 casos, dos fueron eliminados y cuatro más resultados negativos ante la inmunoexpresión de la proteína ácida glial fibrilar; de los diez casos sobrantes se encontró que nueve casos (56.25%) expresaron la PAGF de manera leve (+) mientras que solo un caso (6.25%) la expresó de manera moderada (++). De acuerdo con lo descrito en la literatura, acerca de la ausencia de la expresión de la proteína ácida glial fibrilar en los astrocitos de Alzheimer tipo II del cerebelo, existe correlación con los hallazgos arrojados en esta investigación, ya que nueve casos expresaron de manera leve y solo un caso lo hizo de manera moderada, y ninguno de manera intensa.

ABSTRACT

Hepatic encephalopathy is a neuropsychiatric disorder, potentially reversible, which appears as a complication in acute and chronic liver, is classified clinically as stages. The basic pathological lesion particularly affects astrocytes, central nervous system cells with altered morphological and functional, characterized by having large nuclei, vesicular, with little chromatin located at the periphery and nucleolus. When the astrocyte undergoes this change, it is called Alzheimer type II astrocyte. By immunohistochemistry, it has been documented that when there are high concentrations of clinically ammonium (such as hepatic encephalopathy), the Alzheimer type II astrocyte reacts no glial fibrillary acidic protein, unlike normal astrocytes, this substance in brain gray, but not so in cerebellum, especially in Bergmann glia where PAGF expression in astrocytes can be modulated by local factors. GENERAL PURPOSE: To evaluate the intensity of immunoexpression glial fibrillary acidic protein in astrocytes Alzheimer type II cerebellar autopsy cases diagnosed with hepatic encephalopathy. CONCLUSIONS: A ten-year period studied, sixteen cases were found that met the inclusion criteria and have the full autopsy to have had hepatic encephalopathy. Of those 16 cases, 62.5% (ten cases) was treated by men while 37.5% (six cases). We found that old age range was 33 years to the lower case, while the adult was 78 years in both cases women were treated. For men, the age range was from 38 years as minimum to 62 years maximum. Of the 16 cases, two were eliminated and four negative results before the immunoexpression of glial fibrillary acidic protein; remaining ten cases it was found that nine cases (56.25%) expressed the PAGF so mild (+) while only case (6.25%) was expressed moderately (+ +). According to what is described in the literature about the absence of the expression of glial fibrillary acidic protein in astrocytes of Alzheimer type II cerebellar correlation with the findings in the research spewed as nine cases expressed a mild way and only one case did a moderate, and none so intense.

1.- INTRODUCCIÓN

En este trabajo se busca estudiar las alteraciones en la inmunoexpresión de la proteína ácida glial fibrilar en los Astrocitos de Alzheimer tipo II del cerebelo de pacientes que fallecieron con datos clínicos de encefalopatía hepática. La lesión anatomopatológica fundamental se presenta de manera particular a los astrocitos, con cambios caracterizados por presentar núcleos grandes, vesiculosos, con escasa cromatina localizada en la periferia y con nucléolo prominente, a los que se le conoce como edema astrocítico, cambio denominado de Alzheimer tipo II. Por medio de inmunohistoquímica con PAGF, conoceremos los cambios en el astrocito de Alzheimer tipo II, ya que se tiene documentado que no reacciona ante la proteína ácida glial fibrilar, a diferencia de los astrocitos de la sustancia gris del cerebro, más no en particular en la glía de Bergmann, en donde la expresión de la PAGF en los astrocitos puede estar modulada por factores locales.

2.- ANTECEDENTES

La encefalopatía hepática (EH) es una alteración neuropsiquiátrica, potencialmente reversible, que aparece como complicación en enfermedades agudas y crónicas del hígado, y puede clasificarse clínicamente en estadios mediante escalas adecuadas. Adicionalmente se puede reconocer, utilizando test psicológicos y neurofisiológicos, una forma sin síntomas evidentes, llamada encefalopatía mínima.

La lesión anatomopatológica fundamental afecta en particular a los astrocitos, células del sistema nervioso central (SNC) que presentan alteraciones morfológicas y funcionales. Se acepta que la causa fundamental de la alteración es el aumento de la tasa de amoníaco en sangre, procedente de la digestión de las proteínas, insuficientemente depurado debido a la disfunción hepatocelular y a las conexiones portosistémicas en el caso de la cirrosis hepática.

La citoarquitectura del SNC está constituida por las neuronas y la neuroglia. Se le ha denominado glía porque se le considera como el “pegamento” ya que provee el soporte estructural y funcional (entre otras muchas funciones) de todos los elementos celulares del parénquima cerebral. La neuroglia constituye aproximadamente el 90% de todas las células del SNC y se divide en MACROGLIA: astrocitos, oligodendrocitos y células endimarias y en MICROGLIA (células en bastón o células de Hortege).

Los astrocitos son células estrelladas con numerosos procesos ramificados delgados. Con la tinción habitual de hematoxilina y eosina, los astrocitos tienen un núcleo vesicular redondo u ovalado, pero a diferencia de la neurona carecen de un nucléolo prominente. El citoplasma suele ser escaso y los procesos citoplásmicos irradian del cuerpo celular a la periferia confiriéndole un aspecto estrellado¹. De acuerdo a la clase de proceso

citoplásmico hay dos clases de astrocito: **Los protoplásmicos**, tienen procesos ramificados y se encuentran en la sustancia gris y las puntas terminan como pedicelos (pies vasculares) que entran en contacto con los vasos sanguíneos. **Los fibrosos** poseen un citoplasma eucromático que contiene unos cuantos organelos, ribosomas libres y glucógeno. Las prolongaciones son largas y esencialmente no ramificadas. Estas prolongaciones se vinculan estrechamente con la piamadre y los vasos sanguíneos, pero están separados de estas estructuras por su lámina basal propia o pedicelos (pies vasculares) que entran en contacto con los vasos sanguíneos².

Ambos tipos de astrocitos contienen abundantes filamentos intermedios citoplásmicos alargados compuestos de proteína ácida glial fibrilar. Los astrocitos se activan en respuesta a una gran variedad de condiciones patológicas, fenómeno denominado astrocitosis reactiva o gliosis y consiste en proliferación e hipertrofia de astrocitos. Por otro lado, los astrocitos de Alzheimer tipo II son formas reactivas en estados de hiperamonemia, usualmente relacionados con enfermedades renales o hepáticas³.

Se presentan en capas profundas de la corteza cerebral, ganglios basales: núcleo caudado, putamen y globo pálido (en esta localización son más prominentes), tálamo, subtálamo e hipotálamo, núcleo dentado, cerebelo y tallo encefálico. Los astrocitos de Alzheimer tipo II en la corteza cerebral, cuerpo estriado, tálamo e hipotálamo, presentan un núcleo redondo, sin embargo en otras localizaciones como el globo pálido, subtálamo, núcleo dentado y tallo cerebral son irregularmente lobulados⁴.

Históricamente el término de “neuroglía” es acuñado por Virchow en 1856. Dos años más tarde Rudolf Virchow introduce el concepto de “nervenkitt” “cemento nervioso”; en 1893 Mihály (Michael von) Lenhossék describe la “célula de la astrogliá” o “astrocito” y en ese mismo año, William Lloyd Adriezen clasifica a los astrocitos en “fibrosos” y “protoplásmicos”; esta diferencia morfológica llevó a pensar que los astrocitos mostrarían cambios patológicos bajo circunstancias diferentes⁵. En 1912 C von Hößlin y Aloysius (Alois) Alzheimer describen cambios patológicos en los astrocitos en la pseudoesclerosis de Westphal-Strümpell (el tipo pseudoesclerótico de la enfermedad de Wilson)⁶. En 1920 Walter Spielmeyer denomina como “astrocitos tipo I de Alzheimer” y “astrocitos tipo II de Alzheimer”⁷ a las dos variantes patológicas de astrocitos descritas por Hößlin y Alzheimer. En 1933 Hans-Joachim Scherer correlaciona los cambios astrocíticos con la hepatopatía⁸. El estudio clínico patológico clásico que enfatiza la importancia de las alteraciones astrocíticas con la neuropatología de la encefalopatía hepática data de 1953⁹.

Las encefalopatías metabólicas son trastornos reversibles que provocan, en algunos casos, cambios estructurales en el sistema nervioso central. La encefalopatía hepática ocurre clínicamente en enfermedades agudas o crónicas y se manifiestan en 4 formas distintas: en insuficiencia hepática fulminante, encefalopatía porto-sistémica, degeneración hepatocerebral adquirida no asociada con la enfermedad de Wilson y degeneración hepatolenticular familiar (enfermedad de Wilson)¹⁰. Clínicamente la manifestación neurológica más característica de la encefalopatía hepática es la asterixis, que se acompaña de hedor hepático y alteraciones en el estado mental que varían desde

la falta de atención, letargia, desorientación en tiempo y espacio, estupor hasta el coma profundo³. Desde el punto de vista macroscópico, cada tipo de encefalopatía tiene características especiales, aunque no exclusivas, pero en la encefalopatía portosistémica, el cerebro es normal a simple vista¹¹. La característica microscópica es la existencia de astrocitos tipo II de Alzheimer. Estos astrocitos tienen núcleos grandes, vesiculosos, con escasa cromatina localizada en la periferia y con nucléolo prominente; pueden tener “puntos” de glucógeno y en casos graves el núcleo se ve lobulado o en forma de grano de café. Se ubican en la sustancia gris, sobre todo en las capas más profundas de la corteza cerebral, el estriado, globus pallidus, tálamo, oliva inferior, núcleo dentado y glía de Bergmann del cerebelo. Se agrupan en pares o tríos celulares, lo que los hace más notorios^{8, 9}. La mayoría de los casos de encefalopatía hepática se debe a cirrosis hepática. Sin embargo, no todos los pacientes con cirrosis tienen encefalopatía clínicamente. De éstos, sólo algunos manifiestan los cambios microscópicos.

El “edema” astrocítico es una respuesta a diferentes tipos de daño como la hipoxia, la hipoglucemia, el estado epiléptico, el trauma, la encefalopatía hepática y también por las neurotoxinas. Los astrocitos hinchados no pueden mantener sus funciones homeostásicas, como el equilibrio de iones y de neurotransmisores. Además, se libera glutamato, aspartato y taurina, que provocan daño y se inhibe la actividad de ATPasa de sodio y potasio, con acumulación de sodio y pérdida de potasio en el citoplasma^{8, 10}. El edema astrocítico es de particular importancia en el contexto del edema citotóxico, que también ocurre en insuficiencia hepática aguda, en el que el glutamato contribuye al daño como aminoácido neurotóxico^{11,12}. Por medio de inmunohistoquímica se ha documentado que las prolongaciones astrocíticas y el pericarion no reaccionan ante la proteína gliofibrilar ácida, a diferencia de los astrocitos normales, mientras que se mantiene la positividad para PS100, cuando hay concentraciones altas de amonio, clínicamente y en cultivo de tejidos^{13, 14} especialmente en la sustancia gris¹⁵. A este hecho se le llama distrofia gliofibrilar, que se explica por la inestabilidad del ARN mensajero de la proteína gliofibrilar¹⁴.

En la IH aguda grave la encefalopatía hepática se desarrolla dentro de las primeras 8 semanas de la aparición de la enfermedad del hígado, los cambios en la autopsia revela edema cerebral y edema astrocítico^{16, 17}.

3.- JUSTIFICACIÓN

Las encefalopatías metabólicas son trastornos reversibles que provocan, en algunos casos, cambios estructurales en el sistema nervioso central. Desde el punto de vista macroscópico, cada tipo de encefalopatía tiene características especiales, aunque no exclusivas, pero en la encefalopatía porto-sistémica, el cerebro es normal a simple vista⁵.⁷ La característica microscópica es la existencia de astrocitos tipo II de Alzheimer que se ubican en la sustancia gris, sobre todo en las capas más profundas de la corteza cerebral, el estriado, globus pallidus, tálamo, oliva inferior, núcleo dentado y glía de Bergmann del cerebelo. Se agrupan en pares o tríos celulares, lo que los hace más notorios^{5, 6, 8, 9}. La mayoría de los casos de encefalopatía hepática se debe a cirrosis hepática. Sin embargo, no todos los pacientes con cirrosis tienen encefalopatía clínicamente. De éstos, sólo algunos manifiestan los cambios microscópicos.

La encefalopatía hepática ha sido estudiada diversamente, desde su aspecto imagenológico, clínico y etiopatogénico, existiendo un número infinito de publicaciones; siendo sus estudios más restringidos a la morfología, localización y expresión en las diferentes regiones del sistema nervioso central. Lo que se sabe hasta la fecha es por estudios experimentales en animales, específicamente en ratas y en algunos estudios al equipararlos al ser humano en estudios de autopsias no hay concordancia, lo que hace suponer que al menos en este tenor, hay diferencias estructurales, histológicas y de expresión de algunos grupos celulares de los animales y de los humanos, este hecho fue documentado por Kril JJ y cols²⁰. Por otro lado tampoco son muy pocos los trabajos que comparen grado de encefalopatía hepática, localización más frecuente de astrocitos de Alzheimer tipo II, características de inmunoexpresión (intensidad, localización, anticuerpos frecuentemente empleados). Los pocos encontrados comparan solo 1 o 2 dejando de lado otras características importantes.

En base a lo anterior, consideramos que es importante realizar estudios básicos, sencillos, descriptivos y comparativos, en material de autopsia. De esta manera se conocerán a detalle algunos conceptos y características que en un futuro puedan servir de plataforma para estudios más completos y complejos.

4.- OBJETIVOS

4.1.- Objetivo general:

Evaluar la intensidad de la inmunoexpresión de PAGF en los Astrocitos Alzheimer tipo II del cerebelo en casos de autopsia con diagnóstico de encefalopatía hepática en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” durante el periodo 2001-2010”.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- Tipo de estudio.

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, prolectivo y transversal.

5.2.- Ubicación temporal y espacial.

División de Anatomía patológica del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

5.3.- Criterios de selección de la muestra.

Criterios de Inclusión.

Casos en los que se cuente con protocolo de autopsia completo, y en el esté consignado el antecedente de EH y cortes histológicos de cerebelo en HE con bloques de parafina para los cortes requeridos para la inmunohistoquímica de cada caso.

Criterios de exclusión.

Tejido cerebeloso que presente cambios hipóxico-isquémicos (infartos) en cualquier fase de evolución (reciente, subagudo y antiguo), que tengan cambios de cerebro del respirador “cerebro no perfundido” o hemorragias extensas.

Criterios de eliminación.

Laminillas que presenten desparafinización inadecuada, que tengan aire, que estén rotas y no puedan ser evaluadas. Pérdida del tejido por el proceso de la técnica en el que no sea posible obtener nuevos cortes histológicos.

5.4.- Variables de la muestra

- Expresión de PAGF en Astrocitos Alzheimer tipo II.
- Edad.
- Sexo.
- Lesión hepática.
- Alcoholismo.

5.5.- Tamaño de la muestra

Todos los reportes de casos con diagnóstico de Encefalopatía hepática estudiados en la división de Anatomía Patológica del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en el periodo referido que cumplan con los criterios de selección.

5. 6. Métodos de Laboratorio

Técnica de inmunorreacción: En portaobjetos previamente con poly-L-lisina se montan cortes de cerebelo de 2 a 3 micras, los cuales se secan en forma horizontal, posteriormente se desparafinan a 80°C y se hidratan con agua destilada. Se efectúa recuperación antigénica en microondas con solución buffer a pH 9 por 20 minutos, después se enfría y se enjuaga con agua corriente. Se inhibe la peroxidasa endógena 5 minutos a temperatura ambiente, a continuación se enjuaga en agua destilada y se incuba con solución buffer de fosfatos salinos 10 minutos, se procede a enjuagar en tres ocasiones, posteriormente se incuba en cámara húmeda con anticuerpo primario a PAGF, laboratorio (media hora a temperatura ambiente, se enjuagan las laminillas una por una y se incuban en solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, se incuban con anticuerpo de enlace (inmunoglobulinas biotinadas) por 15 minutos, se enjuagan las laminillas una por una y se incuban con solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, en seguida se incuban con streptavidina 15 minutos, nuevamente se enjuagan las laminillas una por una y se incuban en solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, se revelan con diaminobencidina por 5 minutos, se observan al microscopio deteniendo la reacción enjuagando con agua destilada; el siguiente paso consiste en contra teñir con hematoxilina de Harris realizando 5 baños, enjuagar, azular con carbonato de litio y volver a enjuagar. Finalmente las laminillas se deshidratan, aclaran y montan en estellan.

5.7.- Análisis estadístico

Se utilizará estadística descriptiva. Para las variables nominales y ordinales se usaran porcentajes y se utilizaran frecuencias para las variables de intervalo, media, mediana y porcentajes.

5.8.- Descripción de procedimientos.

Se consultará la libreta de registro de autopsias en la unidad de anatomía patológica, buscándose a aquellas autopsias con diagnóstico clínico de encefalopatía hepática de enero del año 2001 a diciembre del año 2010, apuntando de manera progresiva el número de autopsia de cada caso para posteriormente buscar su protocolo y evaluar el tiempo de lesión hepática preexistente o subyacente, pudiendo ser fulminante (aquella que causa la muerte de forma rápida); aguda (evolución menor a 3 meses); subaguda, (evolución entre

3 y 6 meses); crónica, (evolución mayor a 6 meses) y que cuenten con diagnóstico clínico de alcoholismo. Luego se buscarán las laminillas y bloques de parafina en el archivo de anatomía patológica que cumplan con los criterios de inclusión, y se les realizará tinción de inmunohistoquímica (PAGF) para ser analizadas al microscopio. Se utilizarán los criterios morfológicos descritos por Norenberg en 1994: núcleos amplios, pálidos, con la marginación de la cromatina. Por otro lado la evaluación de la inmunoexpresión de PAGF en astrocitos de cerebelo será: NULO (-), LEVE (+): cuerpos celulares GFAP-positivos ocasionales y / o algún procesos no asociada con los vasos sanguíneos o la piamadre. MODERADO (+ +): cuerpos de las células positivas para GFAP frecuentes y / o tinción regular de los procesos. INTENSO (+ + +): muchos cuerpos de las células positivas para GFAP y / o tinción fuertemente positiva de los procesos.

6.- RESULTADOS

De todas las autopsias realizadas, en el periodo comprendido de 2001 a 2010 en el "Hospital General Dr. Manuel Gea González", se encontraron 16 casos de encefalopatía hepática con cortes de cerebelo, que cumplieron con los criterios de inclusión.

Tabla 1. Resultados generales obtenidos en el estudio.

INMUNOEXPRESIÓN DE PAGF					
Caso	VARIABLES SECUNDARIAS				VARIABLE PRINCIPAL
	Sexo	Edad	Lesión hepática	Alcoholismo	Grado de expresión de los AAIL con PAGF
1	H	62	Si	Si	+
2	H	38	Si	Si	+
3	H	49	Si	Si	-
4	M	78	Si	Si	Eliminado por Mets
5	H	44	Si	Si	+
6	M	55	Si	Si	-
7	H	45	Si	Si	+
8	H	53	Si	Si	-
9	H	59	Si	Si	-
10	H	55	Si	Si	-
11	H	58	Si	Si	+
12	M	57	Si	Si	+
13	M	33	Si	Si	+
14	M	62	Si	Si	+
15	M	49	Si	Si	++
16	H	52	Si	Si	Eliminado por infarto

Gráfico 1: Proporción de casos de encefalopatía hepática de acuerdo al sexo.

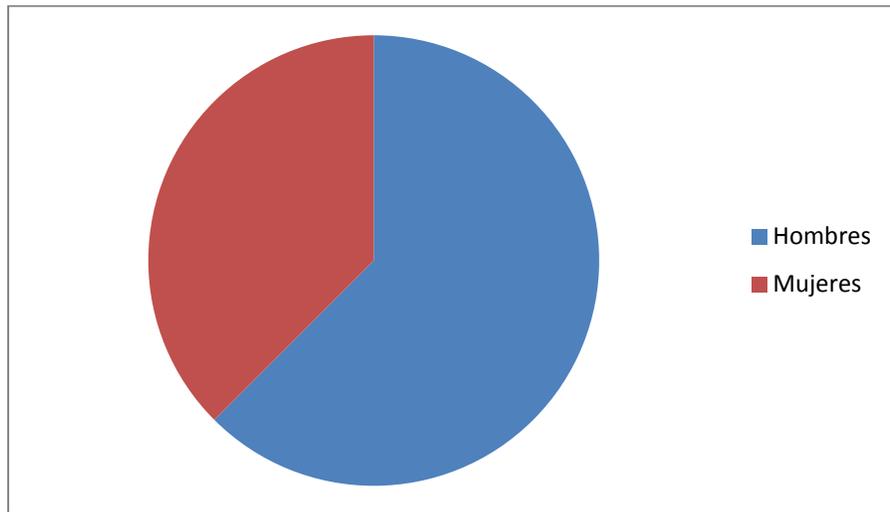


Gráfico 2: Rango de edad de casos con encefalopatía hepática.

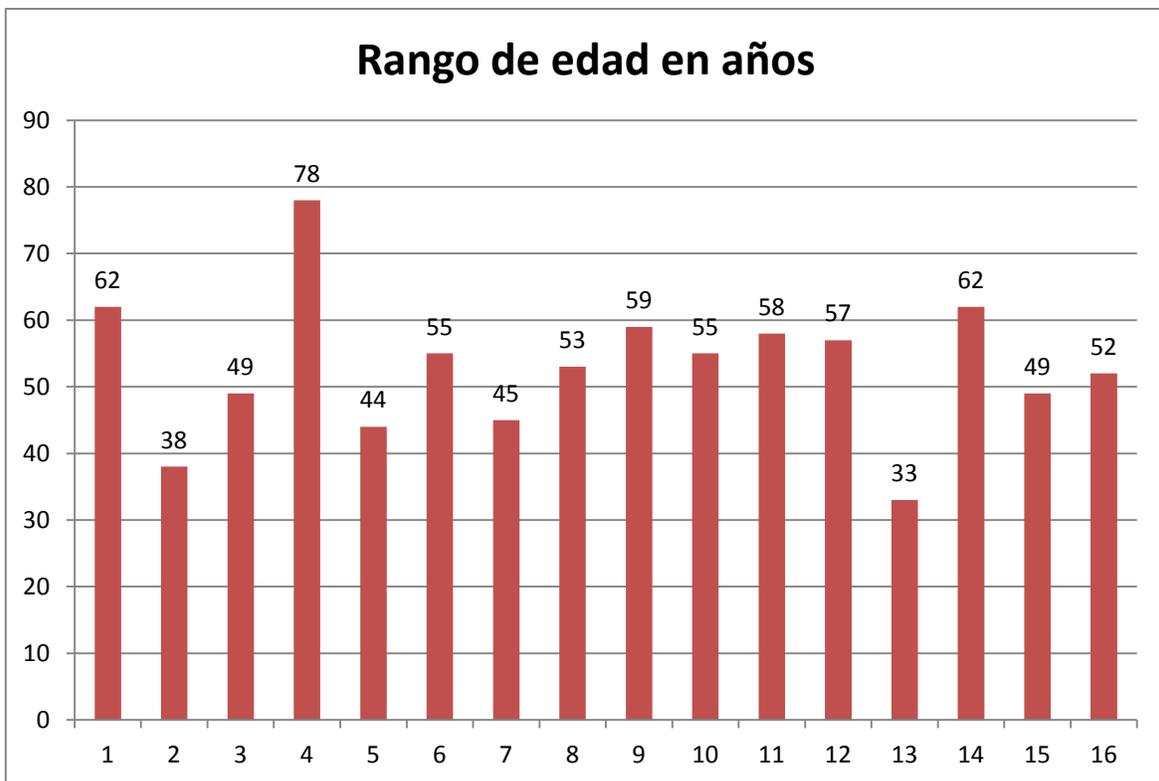
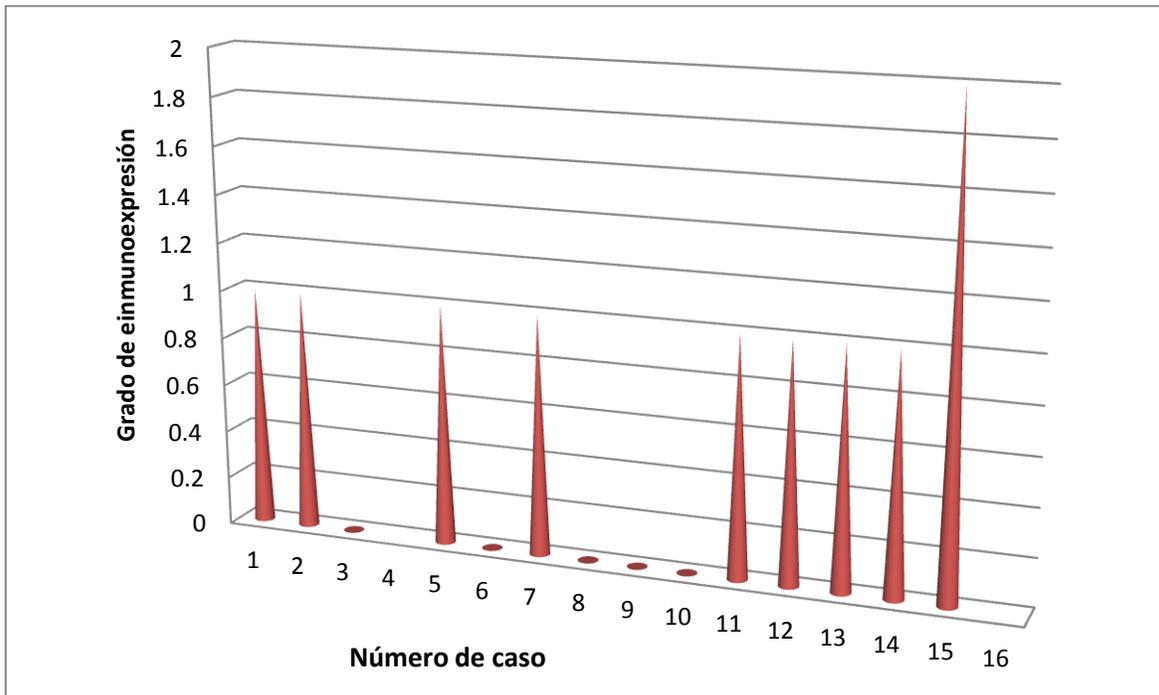


Gráfico 3: Casos de encefalopatía hepática y variación en el grado de expresión de PAGF



Del periodo de diez años estudiado, se encontraron dieciséis casos que cumplieron con los criterios de inclusión como contar con el protocolo de autopsia completo y haber tenido encefalopatía hepática. De esos 16 casos, el 62.5% (diez casos) se trató de hombres mientras que el 37.5% (seis casos). Se encontró que el rango de edad de edad fue de 33 años para el caso con menor, mientras que el de mayor de edad fue a los 78 años; en ambos casos se trataron de mujeres. En el caso de los hombres el rango de edad osciló de los 38 años como mínima a los 62 años como máxima. De los 16 casos, dos fueron eliminados y cuatro más resultados negativos ante la inmunoexpresión de la proteína ácido glial fibrilar; de los diez casos sobrantes se encontró que nueve casos (56.25%) expresaron la PAGF de manera leve (+) mientras que solo un caso (6.25%) la expresó de manera moderada (++)). De acuerdo con lo descrito en la literatura, acerca de la ausencia de la expresión de la proteína ácido glial fibrilar en los astrocitos de Alzheimer tipo II del cerebelo, existe correlación con los hallazgos arrojados en esta investigación, ya que nueve casos expresaron de manera leve y solo un caso lo hizo de manera moderada, y ninguno de manera intensa.

7.- DISCUSIÓN

Estudiamos el grado de expresión de la Proteína ácida glial fibrilar en cerebelo de casos de autopsia con encefalopatía hepática. Inicialmente se seleccionaron 26 casos comprendiendo un periodo de 10 años, del 2001 al 2010, de los cuales fueron eliminados 10 de ellos por tener otras causas entidades que causaron la encefalopatía. De los 16 casos finales, 2 más al estudiarlos antes microscopía de luz, bajo previa técnica de inmunohistoquímica con proteína ácida glial fibrilar y fueron eliminados por presentar zonas extensas de infarto y de metástasis.

Se encontró que la expresión de la proteína se dio solo en uno de los casos, en ninguno de ellos alcanzando el grado de intenso (+++), presentando solo un caso una expresión moderada, tratándose de una mujer de 49 años. El resto de los casos que expresó la proteína ácida glial fibrilar, solo lo hicieron con grado leve (+), tratándose de 5 hombres de los 8 casos estudiados.

8.- CONCLUSIÓN

De acuerdo con lo descrito en la literatura, acerca de la ausencia de la expresión de la proteína ácida glial fibrilar en los astrocitos de Alzheimer tipo II del cerebelo, existe correlación con los hallazgos arrojados en esta investigación, ya que nueve casos expresaron de manera leve y solo un caso lo hizo de manera moderada, y ninguno de manera intensa.

9.- PERSPECTIVAS

Se propone que se hagan nuevos estudios que complementen o amplíen este, como correlacionar el grado de encefalopatía hepática con el número de células Astrocitos Alzheimer tipo II, ya que es el primer estudio en nuestro país, donde se analiza la expresión de esta proteína por medio de inmunohistoquímica en casos de Encefalopatía hepática. Se continúe con esta línea de investigación, aumentando la serie de casos a estudiar.

10.- BIBLIOGRAFÍA

- 1 Neuropathology Richard A. Prayson, 2005, Elsevier, series editor: John R. Goldblum. Pag 13.
- 2 Patología Mohan, 6ta ed, Ed Panamericana 2012, pag 872.
- 3 Biología celular y tisular. Unidad temática II. Notas de tejido y sistema nervioso central. Pag 3.
- 4 Neuropathology Ellison, 2da ed, Ed Mosby, 2004, pp 430, 431 y 432.
- 5 Kettenmann H, Verkhratsky A. Neuroglia: the 150 years after. Trends Neurosci 2008;31(12):653-659.
- 6 von Hößlin C, Alzheimer A. Ein beitrag zur klinik und pathologischen anatomie der Westphal-Strümpellschen pseudosklerose. Ztschr f d ges Neurol u Psychiat 1912;8(1):183-209.
- 7 Spielmeyer W. Die histopathologische zusammengehörigkeit der Wilsonschen krankheit und der pseudosklerose. Zschr ges Neur Psychiat 1920;57:312-351.
- 8 Scherer HJ. Zur Frage der beziehungen zwischen leber- und gehirnveränderungen. Virchows Archiv 1932;288(2):333-345.
- 9 Adams RD, Foley JM. The neurological disorder associated with liver disease. Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis 1953;32:198-237.
- 10 Graham D, Lantos P. Nutritional and metabolic disorders. En: Greenfield's Neuropathology. Arnold 2002;pp:632- 636.
- 11 Butterworth RF, Giguere JF, Michaud J, et al. Ammonia: key factor in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. Neurochem Pathol 1987;6:1-12.
- 12 Lee L, Hard F, Moller L, et al. Alcohol-induced brain damage and liver damage in young males. Lancet 1979;II:759-761.
- 13 Norenberg MD. Astrocyte response to CNS injury. J Neuropathol Exp Neurol 1994;53:213-220.
- 14 Klatzo J. Evolution of brain edema concepts. Act Neurochi 1994;60(Suppl):3-8.
- 15 Lo Pachin RMJ, Aschner M. Glial-neuronal interactions: Relevance to neurotoxic mechanisms. Toxicol Appl Pharmacol 1993;118:141-148.
- 16 Norenberg MD, Bender AS. Astrocyte swelling in liver failure. Role of glutamine and benzodiazepines. Acta Neurochir 1994;60(Suppl.):24-27.
- 17 Bender AS, Norenberg MD. The role of K⁺ influx in glutamate induced astrocyte swelling: Effect of temperature. Acta Neurochir 1994;69(Suppl.):28-30.
- 18 Sobel RA, De Armond SJ, Forno LS, et al. Glial fibrillary acidic protein in hepatic encephalopathy: an immunohistochemical study. J Neuropathol Exp Neurol 1981;40:625-632.
- 19 Norenberg MD, Neary JT, Norenberg LOB, et al. Ammonia induced decrease in glial fibrillary acidic protein in cultured astrocytes. J Neuropathol Exp Neurol 1990;49:399-405.
- 20 Kimura T, Budka H (1986) Glial fibrillary acidic protein and S-100 protein in human hepatic encephalopathy: Immunocytochemical demonstration of dissociation of two glia-associated proteins. Acta Neuropathol 70:17-21.
- 21 Blei AT, Larsen FS (1999) Pathophysiology of cerebral edema in fulminant hepatic failure. J Hepatol 31:771-776.
- 22 Kato M, Hughes RD, Keays RT, Williams R (1992) Electron microscopic study of brain capillaries in cerebral edema from fulminant hepatic failure. Hepatology 15:1060-1066.
- 23 Aguilar Reina J., Encefalopatía hepática, Medicine. 2012;11(11):652-9.
- 24 Butterworth RF, Giguere JF, Michaud J. Ammonia: key factor in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. Neurochemical Pathology, Vol 6, 1987: 4-6.
- 25 Kril JJ, Flowers D, Butterworth RF, Distintive Pattern of Bergmann Glial Pathology in Human Hepatic Encephalopathy; Molecular and Chemical Neuropathology, Vol 31, 1997, 279-287.
- 26 Gómez Apo E, Estrada Villaseñor E, Ortega González P, Lazos Ochoa M, Vicuña González RM, Martínez García J, et al. Encefalopatía hepática en casos de autopsia del Hospital General de México. Patología Rev Latinoam 2010;48(1):8-11.