



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Asociación entre los cambios
histopatológicos, el curso clínico y
la evidencia serológica de
Citomegalovirus en pacientes con
atresia de vías biliares operados de
Kasai

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dr. Ricardo Alejandro Pérez Delgado

TUTOR:

Dr. Juan Manuel Alcántar Ferrás



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



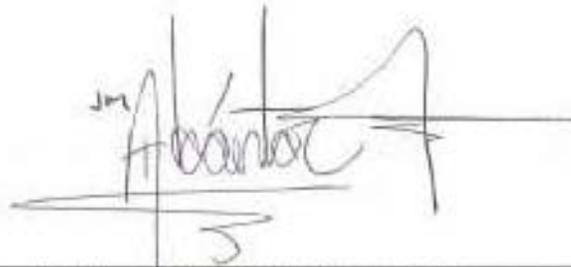
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Director de Enseñanza y Desarrollo Académico
Hospital Infantil de México Federico Gómez

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Juan Alcántar Fierros', with a horizontal line extending to the right and a vertical line extending downwards from the center.

Dr. Juan Manuel Alcántar Fierros
Departamento de Cirugía de Trasplantes
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Director de Tesis

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Alfonso Reyes', with a large circular flourish at the beginning and a diagonal line extending upwards to the right.

Dr. Alfonso Reyes
Jefe del CEESES
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Director Metodológico

DEDICATORIAS

A Dios, por darme el privilegio de vivir cada día, por permitirme ser feliz y por siempre acompañarme.

A Denisse, por acompañarme en mis desvelos y por cada segundo que he tenido el privilegio de ser su hermano.

A mis padres, porque a pesar de cualquier adversidad, siempre han creído en mí, siempre han estado a mi lado y jamás me han negado una oportunidad.

A Jimena, por nunca rendirse y siempre estar ahí.

A mis maestros, por confiar en mí y guiarme siempre en el camino.

Un agradecimiento especial al Dr. Pedro Francisco Valencia Mayoral, por su invaluable apoyo y contribución personal y profesional para hacer este trabajo posible.

A Martín Luna, por enseñarme varias de las lecciones más valiosas de mi vida, dentro y fuera del campo.

“Sé campeón de tiempo completo.”

ÍNDICE

MARCO TEÓRICO.....	3
ANTECEDENTES	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	16
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS.....	18
HIPÓTESIS.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.....	22
PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	33
LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	35
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXO 1: Ejemplo de hoja de captura utilizada.	39
ANEXO 2: Asociación entre CMV y hallazgos histopatológicos.....	40

MARCO TEÓRICO

La atresia de vías biliares (AVB) es una enfermedad fibro-obliterante de las vías biliares extrahepáticas, la cual se presenta exclusivamente en el periodo neonatal, siendo también la principal indicación de tratamiento quirúrgico dentro de las causas de ictericia neonatal, así como la principal causa de trasplante hepático en niños. Su incidencia se estima en 1 caso por cada 10,000-20,000 nacidos vivos. Aproximadamente del 30-50% de los pacientes que presentan hiperbilirrubinemia conjugada en el periodo neonatal padecen atresia de vías biliares. No existe una predilección claramente definida en cuanto a raza o estacionalidad. Sin embargo, se sabe que es más frecuente en el sexo femenino. De no tratarse, el promedio de vida estimado es de 12-24 meses, secundario a la cirrosis hepática, hipertensión portal y todas sus consecuencias (1, 2).

Se han descrito múltiples mecanismos patológicos productores de la enfermedad, encontrándose lesiones aisladas directas, o en asociación con varios tipos de anomalías congénitas o anomalías genéticas específicas. Por lo mismo, se suele clasificar a la AVB en dos patrones generales: temprana (embrionaria o fetal) en un 15-35% de los casos y tardía (perinatal o adquirida) en un 65-85% de los casos. Aproximadamente 30% de los pacientes con AVB presentan anomalías congénitas (poliesplenia, vena porta preduodenal, malrotación intestinal, cardiopatías, entre otras.). Algunos de los pacientes con AVB muestran anomalías cromosómicas específicas, como la trisomía 17, 18, Síndrome de Turner, Síndrome de Schmid-Fraccaro (2).

La forma tardía se traduce en un sistema biliar normal sujeto a un proceso inflamatorio y fibrosante durante el periodo neonatal. La teoría mayormente propuesta para el desarrollo de esta forma de AVB es la de la combinación de una infección viral con predisposición genética al desarrollo de una respuesta inflamatoria exagerada y/o desordenada. No existe un consenso en cuanto a cuáles virus son los predominantes en dicha etiopatogénesis (1,2,4,6,9). La literatura describe una alta prevalencia de evidencia de DNA de Citomegalovirus (CMV) en pacientes con AVB. Los estudios en los que se ha descrito esta alta prevalencia han basado el diagnóstico en evidencias histopatológicas, serologías y cultivos. Otros de los microorganismos principalmente sugeridos y estudiados han sido el Reovirus y el virus de papiloma humano (VPH) (4).

Cuadro clínico

La mayoría de los pacientes con atresia de vías biliares nacen a término, tienen peso normal para la edad gestacional, tienen una buena ganancia ponderal inicial y lucen aparentemente sanos. El motivo de consulta médica suele ser por la aparición de alguno o varios de los signos clínicos característicos (1,2,3,6).

La presentación clínica más habitual será entonces la de un síndrome colestásico neonatal, definido como la imposibilidad para la excreción biliar, siendo la elevación de la bilirrubina conjugada la característica predominante. Se considera elevación de la bilirrubina conjugada un valor mayor a 1.0 mg/dl si la bilirrubina total es <5.0 mg/dl, o si representa más del 20% de la bilirrubina total, cuando esta es > 5.0 mg/dl, considerándose neonatal si se presenta en los primeros tres meses de vida (90 días) (1,2,3).

La ictericia es el primer signo de AVB, habitualmente evidenciándose inicialmente sólo en escleras, con una progresión posterior. Esta manifestación clínica puede evidenciarse en cualquier momento entre el nacimiento y las ocho semanas de vida siendo poco frecuente que se presente después de este periodo (3).

Algunos pacientes presentan evacuaciones acólicas. Sin embargo, es un síntoma poco evidenciado o reportado debido a que las evacuaciones suelen ser hipocólicas y variar de intensidad y coloración diariamente, resultando difícil que los padres las identifiquen o les llame la atención. La coluria es otro síntoma frecuentemente ignorado por los padres. Si el cuadro clínico persiste y no se interviene en la enfermedad, suele agregarse una hepatomegalia firme e importante, así como esplenomegalia. Al evolucionar el cuadro clínico, se desarrollarán datos francos de hipertensión portal, con sus complicaciones subsecuentes, como son el desarrollo de várices esofágicas, sangrado de tubo digestivo, traslocación bacteriana, ascitis, falla de medro, cirrosis hepática, coagulopatía e incluso la muerte (2,3,6).

Abordaje

En el abordaje de un paciente con síndrome colestásico debe mantenerse una alta sospecha de atresia de vías biliares, y debe hacerse de manera rápida, ya que la posibilidad de éxito del manejo quirúrgico disminuye progresivamente conforme avanza la edad (2).

El hallazgo más frecuente y característico es la elevación de las bilirrubinas totales, a expensas de la bilirrubina directa (conjugada), elevación leve o moderada de las transaminasas séricas y una elevación intensa y desproporcionada de la gamma-glutamil-transpeptidasa (GGT). Este patrón, en conjunto con el cuadro clínico, es el hallazgo principal por el cual se inicia el abordaje del paciente, y se sospecha la enfermedad. Si existe cierto grado de daño hepático, puede evidenciarse también coagulopatía, principalmente dependiente de vitamina K (2,3,6).

Sin embargo, existen varios factores que suelen retrasar el abordaje, y por ende el diagnóstico de esta patología. El principal, consiste en la ausencia de la sospecha diagnóstica. Al tratarse de una enfermedad relativamente rara, es frecuente que se piense en una ictericia fisiológica transitoria del recién nacido, ictericia por lactancia materna, por anemia hemolítica de distintos orígenes, hepatitis viral, hepatopatía de base metabólica, entre otras. Por ello, se deberán solicitar cultivos y serologías para descartar alguna causa infecciosa del síndrome colestásico, así como análisis específicos para descartar metabolopatías. Cabe destacar que el orden del abordaje puede ser variable. Sin embargo, debe ser prioritario identificar las enfermedades tratables o corregibles (2,3).

Además del abordaje de laboratorio, se debe solicitar ultrasonido abdominal para comenzar la evaluación de la anatomía biliar. Su utilidad principal es el descartar otras causas de obstrucción biliar (quiste de colédoco, por ejemplo). En la AVB, la vesícula usualmente se reporta como ausente o de tamaño y forma irregulares, así como la presencia del signo del cordón triangular, que corresponde a un cordón fibroso a nivel de la porta hepatis con marcada densidad ecogénica. Este hallazgo es altamente sugestivo de AVB (2).

La presencia y permeabilidad del árbol biliar se puede evaluar mediante gammagrafía (scintigrafía) hepatobiliar, mediante la administración de un isótopo radioactivo (Tecnecio 99). En la atresia de vías biliares hay captación hepática del fármaco sin excreción biliar, por lo que la presencia de isótopos en el tracto gastrointestinal excluye el diagnóstico de AVB. De manera ideal y en la mayoría de los centros, se realiza una preparación con fenobarbital a 5 mg/kg/día por cinco días para favorecer la excreción biliar. Este estudio tiene una especificidad de hasta el 98% (2,3,6).

Si los pasos previamente mencionados no son congruentes y no llevan al diagnóstico de AVB, el Gold standard para el diagnóstico definitivo es la colangiografía transoperatoria, tiempo en el que usualmente se realizará también el tratamiento quirúrgico paliativo o correctivo (2).

La biopsia hepática se debe realizar en todos los pacientes con sospecha de AVB, ya sea antes o durante el procedimiento quirúrgico paliativo o definitivo. La razón principal es para identificar los cambios histológicos propios de la enfermedad, así como para el diagnóstico diferencial (1,2,3,6).

Características histopatológicas

La apariencia macroscópica del hígado del paciente con AVB varía de acuerdo con la progresión de la enfermedad. De manera inicial, suele reportarse con aumento de tamaño y de coloración verde oscuro, con tendencia a la nodularidad conforme progresa a cirrosis hepática (1).

Histológicamente, se han descrito cambios en relación con la temporalidad de la colestasis secundaria a la enfermedad, así como datos específicos y característicos de la enfermedad. Así, durante las primeras semanas de vida, se observará daño limitado a las zonas colestáticas, sin inflamación generalizada (7).

Posteriormente, aparecerá colestasis perivenular, con presencia de tapones biliares en los canalículos, bilis concéntrica y, en algunos casos, obstrucción total del flujo biliar, caracterizada por la presencia de bilis fuera de los conductos. Así mismo, se observará colestasis hepatocelular y canalicular, así como hipertrofia de las células de Küpffer. Se presentará inflamación de

hepatocitos: Degeneración en pluma caracterizada por un citoplasma reticular y rarefacción (1,7,14).

Después se presentan los cambios en los espacios portales, siendo característico de la enfermedad encontrar edema e inflamación portal, infiltrado de células inflamatorias, predominantemente macrófagos y mononucleares, así como conductos de Hering prominentes y disminución de los conductos biliares. Se estima son cambios como respuesta al incremento de presión en el tracto, secundario a la obstrucción (1,7).

Vienen entonces los datos de colestasis crónica: La reacción inflamatoria se sustituye por fibrosis, generando puentes fibrosos que conectan los espacios portales, e incluso hacia la vénula central. La fibrosis rodea y forma grupos en los lóbulos hepáticos en forma de piezas de rompecabezas, respetando las relaciones vasculares. Puede haber presencia de nódulos esféricos de regeneración, los cuales aumentan en número conforme progresa la posteriormente aumentarán en número. Los hepatocitos muestran transformación a células gigantes, necrosis y son separados por tejido fibroso e infiltrado de células inflamatorias. Pueden presentar citoplasma con cuerpos de Mallory, pigmento biliar visible y cobre, con gránulos rojos en tinción de Hematoxilina Eosina. Dichos cambios son secundarios a la acumulación de sales biliares tóxicas (1,7,14).

Finalmente, se llegará a la cirrosis hepática, caracterizada por nódulos de regeneración rodeados de fibras colágenas sueltas y paralelas. El Edema y proliferación del conducto biliar le confieren un efecto de halo (1).

Tratamiento

Si se confirma la AVB, se realizará una portoenterostomía hepática en “Y de Roux” (procedimiento de Kasai). En términos prácticos, el propósito de esta cirugía es restablecer el flujo biliar hacia el intestino delgado mediante la sección de la placa portal fibrosa en el hilio hepático, realizando una anastomosis en “Y de Roux.” Si el procedimiento es exitoso, se reestablecerá la continuidad bilioentérica y mejorará el cuadro clínico (2).

Sin embargo, a pesar de un Kasai exitoso, los pacientes suelen continuar con hepatopatía progresiva, por lo que se estima que entre el 60-80% de los pacientes con AVB requerirán trasplante hepático, incluso después de una detección y manejo óptimos. De manera general, los indicadores para trasplante de hígado incluyen: Kasai fallido, falla de medro refractaria, hipertensión portal y sus complicaciones, falla hepática progresiva (3, 17).

Los cuidados postquirúrgicos incluyen el drenaje de secreciones gástricas mediante sonda nasogástrica, durante las primeras 48 horas postquirúrgicas, el restablecimiento de la vía oral, el inicio de tratamiento antibiótico como prevención de la aparición de colangitis y retiro de drenajes percutáneos. Posteriormente, se agregarán fármacos estimulantes de secreción biliar (ácido ursodesoxicólico) y suplemento de vitaminas liposolubles. Los glucocorticoides se utilizan por su acción inmunosupresora y antiinflamatoria, evidenciándose también cierto efecto secretor biliar. A pesar de que aún existe controversia en su uso, hay estudios controlados doble ciego que han demostrado un aumento en el aclaramiento de la ictericia. Sin embargo, es preciso mantener monitorización estrecha de los efectos secundarios del manejo con glucocorticoides (2).

Pronóstico

Previo a la introducción de la portoenterostomía, se estimaba una mortalidad de aproximadamente el 94%. El pronóstico será variable y dependerá de diversos factores como son la edad al momento de la cirugía, técnica quirúrgica adecuada, severidad del daño hepático, aspectos macroscópicos y microscópicos y la presencia de comorbilidades. Las series y estudios más amplios han reportado un mejor pronóstico al realizar la cirugía dentro de los primeros 90 días de vida. Sin embargo, esto no incluye o contraindica la realización del procedimiento, pues se han observado casos exitosos en pacientes intervenidos entre los 90 y 120 días de vida. Otro factor clásicamente asociado a un buen pronóstico es la medición de los conductillos biliares a nivel de la placa portal, presentando un drenaje biliar efectivo de hasta el 86% de los casos en los que la medición supera los 150 micrómetros. Una observación inicial y considerada de buen pronóstico postquirúrgico es el cambio en la coloración de las heces durante los 10 a 14 días del postoperatorio, lo cual se estima sucederá en dos tercios de los pacientes. Otro parámetro es la disminución de las bilirrubinas por debajo de 2.0 mg/dl a los tres meses de vida, considerándose un procedimiento exitoso. Sin embargo, se estima que aproximadamente el 50% de los pacientes

que tengan un flujo biliointestinal adecuado, persistirán con el proceso fibroinflamatorio hepático lo cual los llevará a falla hepática y a la necesidad de trasplante hepático eventualmente.

Actualmente, se estima una sobrevida de aproximadamente el 91% a los dos años posteriores al procedimiento. En los pacientes operados de Kasai, sin trasplante hepático, se espera una sobrevida del 30 al 55 % a cinco años, del 30 al 40% a los 10 años y del 20 al 40% a 20 años. En los pacientes que llevan adecuado control y se someten a la secuencia procedimiento de Kasai – Trasplante hepático, se estima una sobrevida de aproximadamente el 90% hasta la etapa adulta.

Respecto al aspecto sociocultural, se estima que aproximadamente el 93% de los pacientes sometidos a Kasai exitoso son socialmente funcionales, con altos niveles de empleo y educación.

Complicaciones

El aspecto nutricional debe mantenerse en buenas condiciones y de manera normal siempre y cuando se trate de procedimiento exitoso pudiendo discontinuar suplementos vitamínicos o nutricionales. Al afrontar falla hepática progresiva puede presentarse falla de medro y complicaciones metabólicas secundarias. Algunos autores señalan la falla de medro como parte de los datos sugerentes para trasplante hepático.

La colangitis es la complicación más común del procedimiento de Kasai, presentándose desde un 33 hasta un 60% de los pacientes. Ocurre principalmente en los primeros años posteriores al procedimiento. Es importante su detección y manejo oportuno ya que la colangitis promueve la lesión hepática y un desarrollo más acelerado hacia la cirrosis. Sus manifestaciones clínicas características serán fiebre, ictericia, dolor abdominal, incremento en los niveles de bilirrubinas, leucocitosis y elevación de transaminasas, especialmente GGT, así como reactantes de fase aguda. La reintervención quirúrgica para revisión y corrección de la portoenterostomía se ha intentado. Sin embargo, se ha observado una baja tasa de mejoría posterior a ella, por lo que actualmente no se realiza de manera habitual.

La hipertensión portal se presenta en un 34 a 76% de los pacientes posterior a la portoenterostomía, pudiendo ocurrir a pesar de un excelente resultado desde el punto de vista del drenaje biliar. El hallazgo más frecuente es la ascitis, la cual ocurre en un 60% de los pacientes. Las várices esofágicas son unas de las secuelas con mayor complicación por el riesgo de sangrado de tubo digestivo alto de difícil control. Se estima que ocurre en la mitad de los pacientes en los tres años posteriores al procedimiento quirúrgico. Es importante resaltar que la presencia de sangrado de tubo digestivo no implica la necesidad de un trasplante urgente ni se relaciona con enfermedad hepática terminal.

Trasplante hepático

La indicación más frecuente de trasplante hepático en el paciente pediátrico es secundaria a la falla hepática por atresia de vías biliares. Las indicaciones para realizar trasplante hepático incluyen: falla de la portoenterostomía, sin drenaje biliar y con daño hepático rápidamente progresivo, drenaje biliar ineficiente con falla de medro, desarrollo y dificultad para el manejo médico de una o más complicaciones de enfermedad hepática crónica (colangitis, hipertensión portal) a pesar de contar con un procedimiento quirúrgico exitoso.

ANTECEDENTES

En la actualidad, múltiples líneas de investigación se encuentran abiertas para el estudio y mejor comprensión de esta enfermedad, desde la búsqueda de algún patógeno asociado, hasta los factores de riesgo y pronóstico más importantes o significativos. Dentro de esta índole, las características histopatológicas al momento del diagnóstico/tratamiento han recibido creciente importancia.

En 2015, Zani, Quaglia y colaboradores se basaron en el principio de que el CMV es una posible causa de atresia de vías biliares. En esta línea, estudiaron a 210 pacientes con atresia de vías biliares confirmada histológicamente. Los pacientes con IgM positiva para CMV, mostraron un mayor grado de enfermedad basándose en características clínicas, biológicas e histológicas, considerando la presencia de CMV como una entidad clínica y patológica con una menor respuesta a la portoenterostomía (5). El King's College Hospital en Londres, asoció la presencia de CMV con peor pronóstico, pues la presencia de IgM sérica se asoció con una supervivencia de únicamente el 10% posterior al procedimiento de Kasai (10).

En el Guangzhou Women and Children's Medical Centre, localizado en China, Yi Xu y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo de 85 biopsias de pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares. Se realizó inmunohistoquímica y prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detección de los patógenos presentes y compararlos con los mayormente citados en la bibliografía. De estos, se encontró ADN de CMV en 60% de las biopsias. Esto se confirmó mediante la detección de antigenemia CMV-pp65, distribuyéndose en hepatocitos, endotelio vascular y epitelio de la vía biliar. Así mismo, comprobaron que la presencia de CMV lleva a desequilibrio de la diferenciación de linfocitos Th1/Th2, así como la expresión de citocinas proinflamatorias, apoyando la teoría de que CMV es un potencial iniciador de esta respuesta inmunitaria persistente y un mayor grado de daño histológico al momento del diagnóstico (21).

Recientemente, la investigación se ha enfocado también en los mecanismos inmunológicos involucrados en la patogenia de esta entidad nosológica, especialmente en la variedad tardía. En el infiltrado inflamatorio encontrado en AVB predomina la activación linfocitaria. Estudios

muestran patrón de expresión de citocina de linfocitos tipo Th-1 con CD4+, CD8+, macrófagos CD68+ en espacios portales y un incremento de IL2, IL 12, interferón gamma y TNF alfa. Los determinantes de los linfocitos T activos son característicos de una expansión oligoclonal, lo cual es consistente con su activación por un antígeno en específico. El incremento de la expresión de osteopontina e interferón gamma en el epitelio biliar intrahepático se correlaciona con reacción ductal y fibrosis portal. Adicionalmente, estudios genómicos han relacionado genes que influyen en la regulación de la diferenciación linfocitaria, predominantemente hacia el Th1, estimulando así la activación de macrófagos y producción de factores quimiotácticos que condicionarán la persistencia de una respuesta inflamatoria en el tejido. Estudios más recientes confirman mecanismos de lesión que forman parte de la respuesta inflamatoria antes mencionada; en murinos demuestran la participación del interferón gamma y CD8+ en la lesión ductal severa (11,12,20,23).

Respecto a esta alteración en la regulación de la respuesta inmunológica, Brindley, Laham y colaboradores cultivaron Linfocitos T obtenidos de biopsias de pacientes con diagnóstico de AVB. Se cultivaron con células presentadoras de antígeno que contenían proteínas propias de CMV, un segundo grupo con proteínas de diversos virus y un tercer grupo de control. Sólo en el grupo con presentación de antígeno de CMV se observó un incremento significativo de la producción de Linfocitos T productores de interferón gamma, así como un decremento de la presencia de Linfocitos T reguladores en sangre periférica. Concluyeron que existe la posibilidad de que el CMV sea un promotor de mayor daño a la vía biliar (15).

Con base en estas líneas de investigación, se le ha dado un lugar particular a la enfermedad asociada a evidencia de presencia o antecedente de infección por CMV, con estudios contemporáneos clasificando la asociación de CMV en la atresia de vías biliares como una variante particular o subtipo por el cuadro clínico, mayor extensión de daño comprobado histológicamente al momento del diagnóstico y peor evolución y desenlace de la enfermedad. Banumathi y colaboradores refieren que estos pacientes presentan niveles más elevados de bilirrubinas y transaminasas hepáticas, así como una esplenomegalia mayor al momento del diagnóstico. Histológicamente, describieron un infiltrado inflamatorio mononuclear y daño de conductos extrahepáticos más graves en comparación con aquellos pacientes sin anticuerpos

séricos contra CMV. Adicionalmente, estos pacientes presentaron peor respuesta a la cirugía de Kasai y mayor morbimortalidad (10).

Por la misma diferencia entre el grado de daño histopatológico presentado en estos pacientes, así como en otros casos como los asociados a síndrome de poliesplenía o algún otro desorden genético, se han realizado investigaciones con el fin de identificar factores pronósticos al momento del diagnóstico y/o perioperatorios posteriores al procedimiento de Kasai. Dentro de ellos, se les ha dado una atención especial a los hallazgos histopatológicos. A pesar de que de manera general no ha habido suficientes estudios para llegar a un consenso y la evidencia aún resulta contradictoria, se han podido identificar algunas características histológicas en común. La primera de ellas descrita directamente por Kasai y colaboradores, fue una correlación entre el calibre de los conductos biliares remanentes en la porta hepática y el drenaje biliar adecuado postquirúrgico.

Respecto a los cambios histopatológicos hepáticos en las biopsias, Vázquez y colaboradores asociaron la presencia de transformación gigantocelular y degeneración del parénquima con flujo biliar deficiente posterior al Kasai. (26,11). En otro estudio retrospectivo en Australia, se asoció únicamente la ausencia de puentes necroinflamatorios con una mejor supervivencia a cinco años posteriores al manejo quirúrgico. Sin embargo, Weerasooria y col. demostraron asociación entre el grado de fibrosis como un factor predictivo independiente de la supervivencia postquirúrgica. Desde entonces, son varios los estudios que han relacionado el grado de fibrosis con la supervivencia posterior a tratamiento quirúrgico, aún con hígado nativo, así como con el drenaje biliar postquirúrgico (10,27,28).

Otros cambios histopatológicos descritos por Toshihiro y colaboradores son la presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear, la proliferación ductal, así como la distribución heterogénea del daño histopatológico, lo cual permite observar nódulos regenerativos. En estudios realizados en hígados de pacientes finados, se identificó infiltración mononuclear en espacios porta y conductos biliares interlobulillares. En perfiles inmunológicos realizados en biopsias hepáticas, se han reportado incremento en número y activación de las células de Küpffer, macrófagos y células dendríticas. Esta reacción consecuentemente lleva a obstrucción y formación de tapones

biliares. Respecto a estos hallazgos, actualmente se encuentran abiertas líneas de investigación que se enfocan en la identificación de vías de lesión y señalización específicas, logrando anular el daño histopatológico y presentación clínica de ictericia en modelos animales (10,11).

A pesar de que la biopsia hepática representa una parte importante de la evaluación del paciente, sobre todo como herramienta diagnóstica y evaluación de la severidad de alguna enfermedad, lo más frecuentemente reportado es el grado de fibrosis, considerándose la cirrosis como el último estadio. Sin embargo, existe mayor controversia en cuanto a otras características histológicas que pueden variar según la patogénesis y la evolución de la enfermedad. En enfermedades colestásicas crónicas está claro que el grado de fibrosis, así como la proliferación (reacción) ductal son variables importantes. Sin embargo, no existe un sistema de clasificación que abarque o incorpore la severidad de otros cambios descritos. Dentro de estos, los más frecuentemente reportadas son la disminución de los conductos interlobulillares, puentes necroinflamatorios, infiltrado inflamatorio, y presencia de colestasis (11, 14, 15).

Uno de los estudios más completos y amplios respecto a características histopatológicas fue publicado en 2017, por Russo y colaboradores. Se trata de un estudio multicéntrico realizado en Estados Unidos de América, con biopsias hepáticas obtenidas de una red nacional de investigación de enfermedades hepáticas en la que participaron 15 centros durante un periodo de 10 años. Abarcaron biopsias de 316 pacientes de hasta 180 días de vida, realizando un análisis semicuantitativo de 26 características histológicas en busca de su correlación con la evolución y pronóstico de la enfermedad. Dentro de los hallazgos significativos, se encontró correlación entre la reacción ductal, tapones biliares, fibrosis portal y formación de pseudorrosetas con la edad del paciente. La fibrosis lobular y la lesión del conducto biliar interlobulillar fueron asociadas al drenaje biliar posterior a procedimiento de Kasai. Así mismo, estas dos características se asociaron en conjunto con la edad a la que se realizó el procedimiento de Kasai y se encontró correlación con una edad más corta de deterioro clínico y necesidad de trasplante hepático, así como aumento de la mortalidad (6).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La atresia de vías biliares es la principal causa de trasplante hepático en niños, siendo nuestra Institución un centro de concentración de dicha patología a nivel nacional. A pesar de la existencia de diversas teorías respecto a su etiopatogenia y de los principales factores desencadenantes, no se ha establecido de manera universal factores pronósticos o específicamente relacionados con la evolución de la enfermedad.

Adicionalmente, diversos estudios se están llevando respecto a los mecanismos de lesión que llevan a la enfermedad, planteándose incluso pruebas terapéuticas en modelos animales, con el fin de mejorar el pronóstico y detener el daño de la enfermedad.

En nuestro país, son pocos los estudios dirigidos a esta enfermedad, sin existir al momento una estadística que determine la presencia de algún patógeno en particular en los pacientes atendidos, mucho menos su correlación con el grado de daño al momento del diagnóstico histopatológico.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué asociación existe entre los hallazgos histopatológicos de las biopsias hepáticas tomadas a pacientes con atresia de vías biliares durante el procedimiento de Kasai, el curso clínico de la enfermedad y la evidencia serológica de Citomegalovirus?

JUSTIFICACIÓN

No existe una estadística publicada que determine la prevalencia o de algún patógeno en particular en pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares en México y de su asociación con el grado de daño histopatológico o el pronóstico de la enfermedad.

Se ha asociado la presencia de CMV con enfermedad de peor pronóstico. Además, se encuentran líneas de investigación enfocadas en los mecanismos de lesión que llevan a la enfermedad, planteándose incluso pruebas terapéuticas en modelos animales, con el fin de mejorar el pronóstico y detener el daño de la enfermedad.

Un estudio reciente en Estados Unidos reportó que se destinan aproximadamente 77 millones de dólares cada año en los programas de trasplante hepático. Se estimó que los gastos en la población pediátrica podrían disminuirse a la mitad si las terapias para el manejo de AVB permitieran un mayor retraso en la necesidad del trasplante (29).

El Hospital Infantil de México Federico Gómez cuenta con una amplia y creciente base de datos de pacientes de atresia de vías biliares, en la cual no se ha determinado la prevalencia de algún patógeno en específico y su asociación con el grado de daño histopatológico. Adicionalmente, cuenta con la infraestructura, así como el recurso material y humano para continuar esta línea de investigación, por lo que es posible ampliar esta base de datos, para una mejor correlación futura de los diversos factores de riesgo de la enfermedad.

OBJETIVOS

General:

Analizar asociación entre los aspectos histopatológicos y clínicos de pacientes con atresia de vías biliares con y sin evidencia de la presencia de citomegalovirus.

Específicos:

Evaluar la asociación entre las características histopatológicas de la biopsia hepática y el comportamiento clínico de la atresia de vías biliares antes y después del procedimiento de Kasai.

Determinar la asociación entre la presencia de Citomegalovirus en pacientes con atresia de vías biliares y determinados cambios histopatológicos presentes en biopsias hepáticas tomadas durante el procedimiento de Kasai.

HIPÓTESIS

Existe correlación entre los hallazgos histopatológicos evidenciados en las biopsias hepáticas al momento de la portoenterostomía tipo Kasai y la evolución clínica de los pacientes con atresia de vías biliares.

La presencia de Citomegalovirus se asocia con determinados cambios histopatológicos en los pacientes con atresia de vías biliares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Estudio transversal, retrospectivo y observacional.

Población: Pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares, que cuenten con expediente clínico en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en un periodo de 10 años, que comprende enero de 2004 a diciembre de 2014, que cuenten con laminillas disponibles en el archivo histopatológico, en buenas condiciones para su revisión.

Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares, con expediente clínico en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, que comprenda el periodo de 2004-2014.
- Realización de portoenterostomía tipo Kasai, realizada en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Los pacientes deberán cumplir con el abordaje completo según el protocolo del Instituto, incluyendo así la determinación de serologías (IgM, IgG o prueba de reacción en cadena de la polimerasa PCR) para Citomegalovirus.
- Existencia de biopsia y laminillas con las tinciones apropiadas para su revisión en archivo histopatológico del Instituto, y que se encuentren en buenas condiciones para su revisión y uso futuro.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares del Hospital Infantil de México Federico Gómez que no cuenten con el abordaje completo.
- Pacientes que se encuentren fuera del periodo temporal a estudiar (año 2004-2014).
- Pacientes a quienes no se les haya realizado procedimiento de Kasai.
- Falta de disponibilidad del expediente clínico, sea cual fuere la razón.
- Pacientes que no cuenten con biopsia o cortes histopatológicos adecuados para su revisión.

Procedimiento: Se realizó la revisión de expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares, sometidos a procedimiento de Kasai en el Instituto, seleccionando

aquellos que contaran con estudios serológicos para la detección de Citomegalovirus durante su abordaje. Se solicitaron las laminillas correspondientes a la biopsia hepática en el servicio de patología, verificando así que se cumplieran los criterios de inclusión. Adicionalmente, se obtuvieron los bloques de parafina correspondientes a dichas laminillas, para contar con tejido disponible de dicho paciente para su uso futuro. Se realizó una revisión de laminillas, específicamente de tejido hepático con tinción de hematoxilina eosina, tinción tricrómica de Masson, tinción de ácido periódico de Schiff (PAS) y tinción para fibras reticulares, por parte del médico patólogo especialista en hepatología del Instituto, a quien no se le otorgó información clínica de los pacientes a excepción del diagnóstico. Se reportaron los hallazgos de acuerdo con las características histopatológicas más frecuentemente utilizadas en la literatura revisada. Al final de la evaluación de cada paciente, se decretaron los cambios histológicos como “tempranos” o “tardíos”, así como histología “favorable” o “desfavorable” a criterio del patólogo evaluador.

Dichas variables se anexaron una base de datos en una hoja electrónica de captura. Posteriormente, se realizó la correlación de las variables histopatológicas con variables clínicas de los pacientes, así como con la presencia de serología positiva para Citomegalovirus.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Se seleccionaron las características clínicas más frecuentes de la enfermedad, tomando en cuenta el cuadro clínico previo a la cirugía, hallazgos transquirúrgicos y eventos postquirúrgicos. Se conformó así un grupo de variables de tipo cualitativo, dicotómicas (tabla 1).

Variable	Definición	Escala de medición
CMV	Prueba positiva para IgG, IgM o PCR en sangre.	SI / NO
Hipertensión portal	Evidencia de aumento de la resistencia del flujo sanguíneo portal mediante reporte transquirúrgico de vasos venosos colaterales al flujo portal, ascitis o esplenomegalia o por algún otro método de imagen.	SI / NO
Acolia	Ausencia de coloración de las evacuaciones	SI / NO
Hipocolia	Color claro de las heces secundario a disminución del drenaje biliar al intestino	
Coluria	Orina de color oscura o marrón secundaria a la presencia de bilirrubinas en orina	SI / NO
Desnutrición	Paciente con porcentaje de talla para la edad menor a 95% y/o porcentaje de peso para la talla menor a 90%	SI / NO
Esplenomegalia	Polo esplénico palpable o dimensiones reportado por estudio de imagen o transquirúrgico	SI / NO
Vesícula biliar ausente	Se observa vesícula biliar en el estudio de ultrasonido previo a tratamiento quirúrgico	SI / NO
Evacuaciones con color	Presencia de evacuaciones con color amarillo, verde o café durante la primera semana postquirúrgica	SI / NO
Lagos biliares postquirúrgicos	Presencia de dilataciones quísticas llenas de bilis en el parénquima hepático identificado con algún método diagnóstico de imagen.	SI / NO
Colangitis postquirúrgica	Cuadro de colangitis presentado en cualquier momento posterior a realización de procedimiento de Kasai.	SI / NO
Colangitis	Cuadro clínico caracterizado por fiebre, ictericia, dolor abdominal y aumento de las transaminasas hepáticas.	SI / NO
Kasai Funcional	Niveles de bilirrubina total menor a 3 mg/dl. tres meses posteriores al procedimiento. Ausencia de ictericia, coluria y acolia.	SI / NO
Mortalidad	Paciente finado dentro de los primeros cinco años posterior a procedimiento de Kasai	SI / NO

Tabla 1: Variables clínicas.

Por otro lado, las características histopatológicas de los tejidos fueron determinadas utilizando como referencia los cambios mayormente asociados a la enfermedad según la literatura. Con ello, se determinó un grupo de 32 cambios histopatológicos, clasificados en cuatro grupos: arquitectura del tejido, espacios porta, cambios citopáticos de los

conductos biliares y cambios hepatocelulares. Se conformó así un grupo de variables cualitativas politómicas ordinales (tabla 2). A cada variable se le asignó un valor dentro del rango de 0-4, representando así el porcentaje del tejido examinado que presenta el cambio histopatológico determinado.

Hallazgo histopatológico	Porcentaje de tejido afectado				
	0	1	2	3	4
Arquitectura					
Fibrosis lobular	Ausente	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Nódulos de regeneración	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Puentes necroinflamatorios EP-EP	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Puentes necroinflamatorios EP-VC	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Capilarización de los sinusoides	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Presencia de pseudorrosetas	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Espacios Porta					
Fibrosis portal	Ausente	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Edema estromal	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Agregados de macrófagos	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Infiltrado Mononuclear Portal	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Hematopoyesis serie roja	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Hematopoyesis serie blanca	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Cambios citopáticos de los conductos biliares					
Disminución de los conductos biliares interlobulillar	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Daño del conducto biliar interlobulillar	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Proliferación del colangiolo	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Tapones biliares	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Bilis concéntrica	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Obstrucción total del flujo biliar	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Conductos de Hering Prominentes	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Malformación de la placa ductal	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Células inflamatorias mononucleares en epitelio biliar	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Cambios hepatocelulares					
Transformación gigantocelular de los hepatocitos	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Necrosis de células gigantes	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Necrosis hepatocelular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Vacuolización citoplasmática	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Esteatosis macrovesicular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Esteatosis microvesicular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Colestasis hepatocelular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Inflamación mononuclear lobular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Hipertrofia de células de Küpffer	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Hematopoyesis lobulillar serie roja	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Hematopoyesis lobulillar serie blanca	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%
Colestasis canalicular	Ausente	<25%	25-50%	50-75%	>75%

Tabla 2: Variables histopatológicas. EP: Espacios porta, VC: Vena central

Puentes necroinflamatorios: Tractos de tejido fibroso que comunican espacios porta entre sí, o espacios porta con la vénula central, circundando nódulos de parénquima hepático.

Nódulos de regeneración: Tejido hepático en regeneración delimitado por red de fibrosis.

Capilarización de los sinusoides: Importante disminución de las fenestraciones endoteliales tanto en número como en tamaño y la formación clara de una membrana basal verdadera de ubicación subendotelial en el sistema microvascular hepático.

Pseudorrosetas: Agrupación celular en halo, usualmente rodeando una región vascular o acelular central, otorgando un aspecto glandular.

Edema estromal: Separación y aclaramiento de la matriz extracelular, que produce expansión de los espacios porta.

Disminución de los conductos biliares interlobulillares: Considerado como una relación conductos biliares interlobulillares/espacios porta <0.5 en por lo menos cinco espacios porta bien definidos.

Malformación de la placa ductal: morfología similar a la observada durante el desarrollo embrionario de los conductos biliares.

Proliferación de colangiolo: Los colangiolo son las estructuras que unen los conductos biliares con los canalículos. Su proliferación aparece como estructuras tubulares alargadas sin luz, positivas con citoqueratina.

Daño del conducto biliar interlobulillar: Presencia de vacuolización citoplasmática, necrosis celular, pleomorfismo nuclear y/o pérdida de la polaridad epitelial entre los conductos interlobulillares.

Calibre de los conductillos remanentes: Medición del diámetro del calibre de los conductillos biliares remanentes del porta hepatitis al momento de realizar el procedimiento de Kasai.

En el caso del grado de fibrosis lobular y portal, se asignó un grado según la escala de Ishak, considerada con gran sensibilidad dentro de las escalas habitualmente utilizadas en la práctica de la patología clínica (tabla 3) (8).

Necrosis periportal o periseptal en sacabocados	Grado
Ausente	0
Leve (pocas áreas portales, focal)	1
Leve/moderada (la mayoría de las áreas portales, focal)	2
Moderada (Continua en $< 50\%$ de los tractos o septos)	3
Grave (Continua en $>50\%$ de los tractos o septos)	4

Tabla 3: Estadio de fibrosis, según modificación de Ishak para el índice de la actividad hepática

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se evaluó la hipótesis de independencia entre pares de variables cualitativas, mediante las pruebas Chi² y exacta de Fisher. Concluyendo asociación en aquellos casos donde el resultado de P se ubique por debajo del valor alfa de 5%.

Se calcularon frecuencias relativas de las variables, expresándolas por grupo de acuerdo con la variable sobre la cual se planteó la hipótesis.

Todos los procedimientos se realizarán con el software de análisis estadístico STATA, versión 13.

RESULTADOS

Se realizó la complementación de la base de datos de 43 pacientes con atresia de vías biliares operados de portoenterostomía tipo Kasai. De dichos pacientes, se obtuvieron las siguientes frecuencias para las variables clínicas incluidas en el estudio:

Sexo	Pacientes	Porcentaje
Femenino	31	72.09%
Masculino	12	27.91%

Tabla 4

Edad del Kasai	Pacientes	Porcentaje
30-60 días	1	2.33%
60-90 días	29	67.44%
90-120 días	13	30.23%

Tabla 5

Esplenomegalia	Pacientes	Porcentaje
No	41	95.35%
Si	2	4.65%

Tabla 6

Evacuaciones con color	Pacientes	Porcentaje
No	4	9.30%
Si	39	90.70%

Tabla 7

Kasai Funcional	Pacientes	Porcentaje
No	20	46.51%
Si	23	53.49%

Tabla 8

Vesícula biliar ausente	Pacientes	Porcentaje
No	18	42.86%
Si	24	57.14%

Tabla 9

Acolia	Pacientes	Porcentaje
No	25	58.14%
Si	18	41.86%

Tabla 10

Desnutrición	Pacientes	Porcentaje
No	24	55.81%
Si	19	44.19%

Tabla 11

Lagos biliares	Pacientes	Porcentaje
No	38	88.37%
Si	5	11.63%

Tabla 12

Sepsis postquirúrgica	Pacientes	Porcentaje
No	37	86.05%
Si	6	13.95%

Tabla 13

Hipertensión portal postquirúrgica	Pacientes	Porcentaje
No	17	39.53%
Si	26	60.47%

Tabla 14

Colangitis postquirúrgica	Pacientes	Porcentaje
No	38	88.37%
Si	5	11.63%

Tabla 15

Mortalidad	Pacientes	Porcentaje
Vivo	32	74.42%
Finado	11	25.58%

Tabla 16

Debido a que en la literatura se describe ampliamente una proporción mayor de mujeres con AVB, se determinó qué porcentaje del total de hombres y mujeres presentó determinada afección entre los de su mismo sexo (tabla 17).

	Mujeres afectadas	Hombres afectados	Riesgo relativo
Acolia	41.94%	41.67%	1.01
Hipocolia	48.39%	50.00%	1.03
Coluria	38.71%	25.00%	1.55
Desnutrición	48.39%	33.33%	1.45
Esplenomegalia	6.45%	0.00%	0.00
Colangitis	70.97%	33.33%	2.13
Vesícula ausente (USG)	54.84%	63.64%	1.16
Hipertensión portal	16.13%	0.00%	0.00
Colangitis postquirúrgica	16.13%	0%	0.00
Sepsis postquirúrgica	12.90%	16.67%	1.29
Lagos biliares postquirúrgicos	12.90%	8.33%	1.55
Hipertensión portal postquirúrgica	67.74%	41.67%	1.63
Kasai fallido	41.94%	58.33%	1.39
Mortalidad	22.58%	33.33%	1.48

Tabla 17: Se representa el riesgo relativo de cada variable para el sexo que obtuvo mayor porcentaje de afectados.

Posteriormente, se realizó la revisión de cortes histopatológicos correspondientes a biopsias hepáticas. Se encontró correlación histopatológica con varios de los factores clínicos previamente mencionados. Los hallazgos histopatológicos con una relación clínica estadísticamente significativa se representan en la tabla 18.

Cambio histopatológico	Condición clínica asociada	P =
Fibrosis lobular	Esplenomegalia	0.044
Puentes necroinflamatorios EP-VC	Mortalidad	0.036
Capilarización de los sinusoides	Hipertensión portal	0.005
Pseudorrosetas	Mortalidad Lagos biliares	0.002 0.023
Edema estromal	Desnutrición	0.044
Infiltrado mononuclear portal	Colangitis postquirúrgica	0.008
Hematopoyesis de serie blanca en espacios porta	Kasai funcional	0.048
Proliferación de colangiolo	Colangitis Evacuaciones con color	0.030 0.012
Bilis concéntrica	Mortalidad	0.024
Conductos de Hering prominentes	Acolia	0.041
Inflamación mononuclear lobular	Colangitis postquirúrgica	0.02
Colestasis canalicular	Mortalidad	0.045

Tabla 18: Correlación histopatológica con cuadros clínicos

Como parte final del estudio, se analizaron los cambios clínicos e histopatológicos en busca de una relación estadísticamente significativa con la presencia de serología positiva para citomegalovirus. Del total de pacientes incluidos en el estudio, se identificaron 22 con serología positiva para CMV, con la siguiente distribución:

Serología positiva para CMV	Pacientes	Porcentaje
No	21	48.84%
Si	22	51.16%

Tabla 19: Frecuencia de serología positiva para CMV

Tipo de Serología Positiva	Pacientes	PCR positiva	Porcentaje
IgG	11	4	36.36%
IgM	11	3	31.82%

Tabla 20: Distribución de las serologías y PCR. La última columna representa el porcentaje de PCR positiva específicamente para cada grupo de serologías.

Dentro de los aspectos clínicos, la presencia de serología positiva para Citomegalovirus no se asoció con alguno de los aspectos clínicos mencionados. Sin embargo, la presencia de PCR positiva, independientemente de la serología, se asoció a dos complicaciones clínicas (Tablas 21 y 22).

	Colangitis postquirúrgica		
PCR CMV	No	Si	P = 0.040
Negativa	77.78%	25%	
Positiva	22.22%	75%	

Tabla 21: Asociación entre PCR para CMV y colangitis.

	Hipertensión portal		
PCR CMV	No	Si	P = 0.030
Negativa	75%	0%	
Positiva	25%	100%	

Tabla 22: Asociación entre PCR para CMV e hipertensión portal

Adicionalmente, si se toman en cuenta los pacientes con serología positiva para CMV, independientemente del tipo de anticuerpo, observamos una correlación importante con la presentación de sepsis en el periodo postquirúrgico (P=0.010).

Por otra parte, se exploró la correlación entre la serología y PCR con los cambios histopatológicos descritos. La tabla, describe las asociaciones estadísticamente significativas encontradas.

Cambio histopatológico	P=
Transformación gigantocelular	0.007
Necrosis de células gigantes	0.047
Vacuolización citoplasmática	0.011
Esteatosis microvesicular	0.027

Tabla 23: Correlación de la serología positiva para CMV con cambios histopatológicos

Cabe destacar que, dentro de esta correlación, se identificó un mayor grado de daño histológico en los pacientes con IgM positiva (Anexo 2).

Finalmente, se realizó un análisis según el tipo de lesión y el pronóstico otorgado por el patólogo que realizó la revisión de los cortes histopatológicos. Se encontró una relación

tanto para pacientes con IgG, como con IgM en tanto con la temporalidad como el pronóstico según el tipo de serología (Tabla 24 y 25).

	Cambios histológicos		
Tipo de serología	Tempranos	Tardíos	P = 0.050
IgG	30%	72.73%	
IgM	70%	27.27%	

Tabla 24: El porcentaje representa la proporción de cada tipo de serología con respecto al tipo de cambio histológico reportado.

	Pronóstico		
Tipo de serología	Favorable	Desfavorable	P = 0.016
IgG	27.7%	80%	
IgM	72.3%	20%	

Tabla 25: Tabla 26: El porcentaje representa la proporción de cada tipo de serología con respecto al tipo de cambio histológico reportado.

DISCUSIÓN

Se diseñó y realizó una revisión de cambios histopatológicos en 43 pacientes con diagnóstico de atresia de vías biliares con el fin de correlacionar dichos cambios con la evolución y comportamiento de la enfermedad.

Demográficamente, nuestro grupo estudiado se asemejó a lo descrito en la literatura, encontrándose mayor número de pacientes del sexo femenino portadores con la enfermedad. Es importante recalcar que las principales complicaciones fueron presentadas también en su mayoría por pacientes de sexo femenino. Sin embargo, la falla de la portoenterostomía y la mortalidad tuvieron una mayor frecuencia y proporción en la población masculina con hasta 1.39 y 1.47 veces más riesgo de presentar estas complicaciones por pertenecer a dicho sexo.

En cuanto a los hallazgos histopatológicos, la serie más grande y detallada hasta el momento es la realizada por Russo y colaboradores. En dicho estudio, únicamente cuatro características histológicas (reacción ductal formación de pseudorrosetas, fibrosis portal y tapones biliares) se relacionaron con la edad del paciente. Otros autores que han estudiado los cambios histopatológicos han asociado la transformación gigantocelular y el edema estromal con la funcionalidad del Kasai. Nuestra serie relaciona como única característica la disminución o ausencia de hematopoyesis de línea celular blanca con la falla del Kasai.

En cuanto al grado de fibrosis la evidencia es contradictoria. Mientras algunos autores lo han asociado a menor supervivencia con hígado nativo, otros no encuentran relación con la evolución o el impacto de la enfermedad. Nuestra serie descarta la correlación significativa del grado de fibrosis con alguno de los aspectos clínicos estudiados. Mas aún, no se reportó malformación de la placa ductal en ninguno de los pacientes, siendo una variable histológica frecuentemente estudiada en la bibliografía, de la cual no se tiene evidencia en nuestro país hasta el momento.

Otro de los parámetros más evaluados ha sido el diámetro de los conductillos remanentes en el porta hepatis. Si bien su diámetro se ha asociado a la edad del procedimiento y con un eficiente drenaje biliar, no encontramos una correlación con el cuadro clínico o cambios histológicos en específico.

Por otra parte, la presencia de puentes necroinflamatorios se ha asociado con una disminución de la supervivencia con el hígado nativo, siendo la mortalidad, una fuerte asociación con la presencia de este cambio histopatológico en nuestro estudio. A diferencia de la mayoría de la bibliografía consultada, se obtuvo también fuerte asociación de cambios citopáticos de los conductos biliares y cambios hepatocelulares, como lo es la colestasis canalicular, con la mortalidad.

Respecto a la presencia de Citomegalovirus, el 48% de nuestra población estudiada presentó evidencia serológica de dicho patógeno, asociando este estado a rasgos clínicos específicos como lo es la ausencia de vesícula biliar en el estudio ultrasonográfico. La serología positiva presenta un impacto en la enfermedad, debido a que se asocia a complicaciones clínicas, como lo es la sepsis, cuadros de colangitis e hipertensión portal.

En cuanto a los cambios histopatológicos asociados a la presencia de CMV son predominantemente de las características hepatocelulares.

CONCLUSIONES

Si bien se han descrito las características y cambios histopatológicos más frecuentes o notorios en la atresia de vías biliares, son pocos los estudios que se han enfocado en determinar su correlación con la enfermedad, el cuadro clínico y el pronóstico.

En este estudio se confirmó que existe evidencia de asociación entre determinados cambios histológicos descritas en la enfermedad y el comportamiento clínico de la misma, incluyendo algunas de sus complicaciones. Merece atención la presencia de cambios poco estudiados en la bibliografía actual, como lo es la capilarización de los sinusoides o la hematopoyesis de serie blanca en los espacios porta como variables asociadas a situaciones clínicas específicas como lo es la hipertensión portal.

Respecto a la segunda hipótesis, concluimos que existe una relación entre la presencia de CMV y el cuadro clínico de la atresia de vías biliares. Más aún, la asociación encontrada fue para complicaciones que implican hospitalización y uso de más recursos para su manejo, como son la hipertensión portal y la sepsis, agregando un valor importante para estos hallazgos.

Por otro lado, las diversas serologías coincidieron con la cronicidad de la lesión, así como del pronóstico global brindado por el especialista encargado de la revisión histopatológica. Mientras la mayoría de los autores centran su clasificación en pacientes positivos para IgM o PCR en sangre, nuestro estudio arroja una asociación entre IgG y lesiones más tardías, lo que pudiera traducirse en un grado de daño mayor, o por lo menos en un cambio respecto al pronóstico de la enfermedad. Tomando en cuenta que existen diversos estudios en los que se ha demostrado la poca precisión de la serología respecto a la identificación genética del patógeno en el tejido hepático, consideramos apropiado la ampliación o diseño de un estudio para determinar la correlación entre las diversas serologías y la evidencia de CMV en el parénquima, así como su correlación clínica e histológica.

Concluimos necesario continuar esta línea de investigación para la mejora del diseño del estudio tanto en su aspecto analítico, como en su contribución a la a ampliación de la información disponible respecto a la enfermedad en nuestro instituto y nuestro país.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Al tratarse de una revisión operador dependiente, el tiempo disponible para su realización puede verse limitado.

Si bien se contó con una base de datos amplia y completa en su mayoría, corroborar dicha información resultó complejo e imposible en algunos casos, debido a la poca organización y almacenamiento de los expedientes clínicos físicos de años previos, ocasionando dificultad para su disposición. Una situación similar se presentó con las laminillas y bloques de parafina correspondientes al tejido hepático a valorar.

Si bien los estudios serológicos son parte del estudio inicial y pueden orientar hacia la presencia de citomegalovirus, existe evidencia que demuestra su incongruencia en comparación con estudios de identificación de ADN en el parénquima. Esto pudiera arrojar entonces, datos incongruentes o poco fiables.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	Fecha
Búsqueda de tema y referencias	Octubre de 2017
Exposición de tema de tesis	Octubre de 2017
Búsqueda de base de datos, laminillas de biopsias	Octubre 2017- Mayo 2018
Desarrollo de protocolo de investigación	Octubre 2017 – Mayo2018
Revisión de laminillas	Junio 2018 – Abril 2019
Análisis estadístico, conclusiones y formato final	Mayo 2019
Entrega de tesis	Mayo 2019

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Burt, A., Portmann, B., & Ferrell, L. (2012). *Pathology of the Liver MacSween 's*.
2. Martin, M., Cunningham, A., & Jafri, M. (2018). *Pediatric Surgery. Surgical Critical Care and Emergency Surgery: Clinical Questions and Answers: Second Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781119317913.ch46>
3. Lakshminarayanan, B., & Davenport, M. (2016). Biliary atresia: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*, 73, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.06.005>
4. Fjær, R. B., Bruu, A. L., & Nordbø, S. A. (2005). Extrahepatic bile duct atresia and viral involvement. *Pediatric Transplantation*, 9(1), 68–73. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3046.2005.00257.x>
5. Zani, A., Quaglia, A., Hadzić, N., Zuckerman, M., & Davenport, M. (2015). Cytomegalovirus-associated biliary atresia: An aetiological and prognostic subgroup. *Journal of Pediatric Surgery*, 50(10), 1739–1745. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2015.03.001>
6. Russo, P., Magee, J. C., Anders, R. A., Bove, K. E., Chung, C., Cummings, O. W., ... Spino, C. (2016). Key histopathologic features of liver biopsies that distinguish biliary atresia from other causes of infantile cholestasis and their correlation with outcome: A multicenter study. *American Journal of Surgical Pathology*, 40(12), 1601–1615. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000755>
7. Russo, P., Ruchelli, E. D., & Piccoli, D. A. (2014). *Pathology of pediatric gastrointestinal and liver disease. Pathology of Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-54053-0>
8. Everhart, J. E., Wright, E. C., Goodman, Z. D., Dienstag, J. L., Hoefs, J. C., Kleiner, D. E., ... Litman, H. J. (2010). Prognostic Value of Ishak Fibrosis Stage: Findings from the HALT-C Trial. *Hepatology*, 51(2). <https://doi.org/10.1021/ja8019214.Optimization>
9. Sokol, R. J., & Mack, C. (2001). Etiopathogenesis of biliary atresia. *Seminars in Liver Disease*, 21(4), 517–524. <https://doi.org/10.1055/s-2001-19032>
10. Asai, A., Miethke, A., Bezerra, J. A., & Children, C. (2016). Pathogenesis of BA. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12(6), 342–352. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.74.Pathogenesis>
11. Muraji, T., Ohtani, H., & Ieiri, S. (2017). Unique manifestations of biliary atresia provide new immunological insight into its etiopathogenesis. *Pediatric Surgery International*, 33(12), 1249–1253. <https://doi.org/10.1007/s00383-017-4155-7>
12. Manuscript, A., & Dysregulation, I. (2013). Biliary Atresia: Cellular dynamics and immune dysregulation. *Seminars in Pediatric Surgery*, 21(3), 192–200. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2012.05.003.Biliary>
13. Goodman, Z. D. (2007). Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*, 47(4), 598–607. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.07.006>
14. Ridaura-sanz, D. C. (2009). La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica, 30(2), 118–123.
15. Wen, J., Xiao, Y., Wang, J., Pan, W., Zhou, Y., Zhang, X., ... Cai, W. (2015). Low doses of CMV induce autoimmune-mediated and inflammatory responses in bile duct epithelia of regulatory T cell-depleted neonatal mice. *Laboratory Investigation*, 95(2), 180–192. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.148>
16. Fontenot, A. P., & Mack, C. L. (2012). Cytomegalovirus-specific T cell reactivity in biliary atresia at the time of diagnosis is associated with deficits in regulatory T cells. *Hepatology*, 55(4), 1130–1138. <https://doi.org/10.1002/hep.24807.Cytomegalovirus-specific>
17. Kelay, A., & Davenport, M. (2017). Long-term outlook in biliary atresia. *Seminars in Pediatric Surgery*, 26(5), 295–300. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2017.09.003>

18. Lopez, R. N., Ooi, C. Y., & Krishnan, U. (2017). Early and Peri-operative Prognostic Indicators in Infants Undergoing Hepatic Portoenterostomy for Biliary Atresia: a Review. *Current Gastroenterology Reports*, 19(4), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0555-z>
19. Shen, C., Zheng, S., Wang, W., & Xiao, X.-M. (2008). Relationship between prognosis of biliary atresia and infection of cytomegalovirus. *World Journal of Pediatrics : WJP*, 4(2), 123–126. <https://doi.org/10.1007/s12519-008-0024-8>
20. Kilgore, A., & Mack, C. L. (2017). Update on investigations pertaining to the pathogenesis of biliary atresia. *Pediatric Surgery International*, 33(12), 1233–1241. <https://doi.org/10.1007/s00383-017-4172-6>
21. Xu, Y., Yu, J., Zhang, R., Yin, Y., Ye, J., Tan, L., & Xia, H. (2012). The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China. *Clinical Pediatrics*, 51(2), 109–113. <https://doi.org/10.1177/0009922811406264>
22. Shivakumar, P., Campbell, K. M., Sabla, G. E., Miethke, A., Tiao, G., McNeal, M. M., ... Salmon, M. (2004). Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by IFN-gamma in experimental biliary atresia. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(3), 322–329. <https://doi.org/10.1172/JCI21153>
23. Roy, D., Steyer, G. J., Gargasha, M., Stone, M. E., & Wilson, L. (2009). NIH Public Access, 292(3), 342–351. <https://doi.org/10.1002/ar.20849.3D>
24. Medsker, B., Forno, E., Simhan, H., Juan, C., & Sciences, R. (2016). HHS Public Access, 70(12), 773–779. <https://doi.org/10.1097/OGX.0000000000000256>. Prenatal
25. De Tommaso, A. M. A., Andrade, P. D., Costa, S. C. B., Escanhoela, C. A. F., & Hessel, G. (2005). High frequency of human cytomegalovirus DNA in the liver of infants with extrahepatic neonatal cholestasis. *BMC Infectious Diseases*, 5, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-5-108>
26. Vazquez-Estevez J1, Stewart B, (1989) Biliary atresia: early determination of prognosis. *Pediatr Surg. Jan;24(1):48-50; discussion 50-1.*
27. Shteyer, E., Ramm, G. A., Xu, C., White, F. V., & Shepherd, R. W. (2006). Outcome after Portoenterostomy in Biliary Atresia: Pivotal Role of Degree of Liver Fibrosis and Intensity of Stellate Cell Activation. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(1), 93–99. doi:10.1097/01.mpg.0000189324.80323.a
28. Salzedas-Netto, A. A., Chinen, E., de Oliveira, D. F., Pasquetti, A. F., Azevedo, R. A., da Silva Patricio, F. F., ... Martins, J. L. (2014). Grade IV Fibrosis Interferes in Biliary Drainage After Kasai Procedure. *Transplantation Proceedings*, 46(6), 1781–1783. doi:10.1016/j.transproceed.2014.05.045
29. Gris, D. (2013). Clinical Outcomes and Costs Associated with In-Hospital Biliary Complications after Liver Transplantation: A Cross-Sectional Analysis. *Public Access NIH Public Access*, 185(2), 974–981. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>.doi

ANEXO 1: Ejemplo de hoja de captura utilizada.

Registro	Q-10-68	Q-09-1414	Q-10-1376	Q-08-1961	Q-10-875	Q-13-795	Q-13-1500	*Q-14-1861	Q-04-902	Q-04-1004	Q-04-1900	Q-05-917
Arquitectura												
Fibrosis lobular	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Nódulos de regeneración	3	1	0	0	3	0	2	3	1	0	0	2
Puentes necroinflamatorios EP-EP	1	2	1	1	3	2	2	3	2	1	0	2
Puentes necroinflamatorios EP-VC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Capilarización de los sinusoides	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Presencia de pseudorrosetas	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Espacios Porta												
Número de espacios porta	17	10	6	18	5	12	6	8	20	8	15	15
Fibrosis portal	2	2	1	1	3	2	2	3	2	1	1	2
Edema estromal	1	1	1	1	1	1	0	1	2	3	1	1
Agregados de macrófagos	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1
Infiltrado Mononuclear Portal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematopoyesis serie roja	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematopoyesis serie blanca	1	1	1	2	1	2	2	2	1	1	2	2
Cambios citopáticos de los conductos biliares												
Disminución de los conductos biliares interlobulillar	1	0	0	0	1	1	1	2	0	0	1	2
Daño del conducto biliar interlobulillar	3	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1
Proliferación del colangiolo	4	3	2	3	4	4	3	3	3	2	3	3
Tapones biliares	4	2	1	1	2	1	3	2	3	0	1	4
Bilis concéntrica	2	0	0	0	1	0	2	1	1	0	0	1
Obstrucción total del flujo biliar	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1
Conductos de Hering Prominentes	3	3	2	2	3	1	1	1	3	3	2	1
Malformación de la placa ductal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Células inflamatorias mononucleares en epitelio biliar	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1
Cambios hepatocelulares												
Transformación gigante celular de los hepatocitos	0	2	1	2	2	3	0	0	0	0	0	0
Necrosis de células gigantes	0	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0
Necrosis hepatocelular	1	1	1	2	1	0	0	1	2	1	1	1
Vacuolización citoplasmática	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Esteatosis macrovesicular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Esteatosis microvesicular	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Colestasis hepatocelular	1	1	1	2	2	1	3	1	1	1	1	3
Inflamación mononuclear lobular	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipertrofia de células de Kúpffer	1	2	2	3	1	1	2	1	1	2	2	2
Hematopoyesis lobulillar serie roja	1	1	0	1	0	1	2	1	1	1	2	1
Hematopoyesis lobulillar serie blanca	0	0	0	2	0	2	3	1	1	1	0	1
Colestasis canalicular	1	1	1	1	1	0	4	1	2	1	1	4
Lesiones tempranas												
Lesiones tempranas	1	1	1	1		1			1	1	1	
Lesiones tardías												
Lesiones tardías	1				1		1	1				1

ANEXO 2

Representación gráfica de la asociación entre la presencia de serologías para CMV y los hallazgos histopatológicos específicos.

	Serología CMV	
	IgG +	IgM +
Transformación gigantomitótica de los hepatocitos		
Ausente	81.82%	9.09%
<25%	9.09%	27.27%
25-50%	9.09%	36.36%
50-75%	0%	27.27%
Pearson chi2(3) = 12.2000		
Fisher's exact = 0.003		
P= 0.007		

	Serología CMV	
	IgG +	IgM +
Necrosis de células gigantes		
Ausente	81.82%	36.36%
<25%	18.18%	27.27%
25-50%	0%	36.36%
Pearson chi2(2) = 6.1231		
Fisher's exact = 0.0059		
P = 0.047		

	Serología CMV	
	IgG +	IgM +
Vacuolización citoplasmática		
Ausente	100%	54.55%
<25%	0%	45.45%
Pearson chi2(1) = 6.4706		
Fisher's exact = 0.035		
1-sided Fisher's exact = 0.018		
P=0.011		

	Serología CMV	
Esteatosis microvesicular	IgG +	IgM +
Ausente	100%	63.64%
<25%	0%	36.36%
Pearson chi2(1) = 4.8889		
Fisher's exact = 0.090		
1-sided Fisher's exact = 0.045		
P=0.027		