



INCMNSZ

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

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

**“AMILOIDOSIS LECT2 HEPÁTICA, HALLAZGOS
EPIDEMIOLOGICOS Y CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN
UN CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL”**

TESIS

**PARA OBTENER:
GRADO DE ESPECIALISTA EN ANATOMIA PATOLOGICA**

**PRESENTA:
DR. ORLANDO EMMANUEL FALCÓN ANTONIO**

**TUTOR-ASESOR DE TESIS: DRA. NORMA OFELIA URIBE
URIBE**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX; OCTUBRE DE 2021.



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.

Agradecimientos

A todos los ciudadanos honestos y trabajadores de este hermoso país, que han hecho posible la creación de instituciones sólidas que permiten la investigación y formación de personal altamente calificado.

A la Dra. Norma Uribe por permitirme integrarme al proyecto que ha formado de manera ascendosa y paciente, por la enseñanza en aspectos múltiples para mi la formación profesional y personal y por ser una trabajadora inalcanzable que defiende sus ideales.

A mis compañeros residentes que me acompañaron durante el transcurso de estos tres años, especialmente a Jesús Delgado, por la ayuda para la adaptación desde mi llegada a la Ciudad de México y ser un apoyo incondicional en momentos de dificultad.

A los médicos adscritos del INCMNSZ, especialmente a el Dr. Braulio Marínez, Daniel Montante, Arturo Angeles y Julián Arista por las múltiples enseñanzas transmitidas a lo largo de estos casi tres años de residencia.

A mi familia por el apoyo que ha mostrado, especialmente a mis hermanos Diego y Michel por la alegría y ganas de seguir que me transmiten

A todas aquellas personas que han servido de inspiración a lo largo de este camino, nos ayudan a ser mejores y sirven de inspiración. B.S.L.

Índice General

Glosario	1
Siglas y abreviaturas	2
“AMILOIDOSIS LECT2 HEPÁTICA, HALLAZGOS EPIDEMIOLOGICOS Y CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN UN CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL”	3
Funciones de cada participante en el desarrollo de este proyecto:.....	3
Investigador Responsable:	3
Investigadores que Participaran en el Protocolo:.....	3
ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO:.....	4
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:	12
HIPÓTESIS:	12
• Hipótesis nula: la amiloidosis hepática LECT2 no constituye un modificador de la enfermedad en pacientes hepatopatas	12
• Hipótesis alterna: la amiloidosis hepática LECT2 es un modificador de la enfermedad en pacientes hepatopatas	12
JUSTIFICACIÓN:	12
OBJETIVOS DEL PROTOCOLO:	13
Objetivos Generales:	13
MÉTODO:	13
ANALISIS ESTADISTICO	17
RESULTADOS.....	19
Medición cualitativa	25
Análisis cuantitativo	30
Evaluación por microscopia electronica.....	35
Discusión.....	43
Conclusión.....	44
Referencias bibliográficas	45

Glosario

Amiloidosis: grupo de enfermedades de etiología diversa con pronóstico y tratamiento variables, con una característica común: todas ellas están causadas por el depósito de un material proteináceo fibrilar derivado de múltiples precursores que se autoensamblan con una conformación altamente ordenada en disposición de beta plegada

Inmunohistoquímica: Auxiliar diagnóstico empleado en histopatología que se basa en la utilización de anticuerpos que se unen específicamente a una sustancia que se quiere identificar (anticuerpo primario).

Histoquímica: Las técnicas de histoquímica son metodologías de trabajo aplicadas por los histotecnólogos, consiste en realizar diferentes tinciones a una porción de tejido que se somete a investigación, las tinciones se emplean para poder apreciar las diferentes estructuras que conforman al tejido estudiado y dependiendo de la estructura que se desea investigar es la tinción que se va aplicar. El nombre de histoquímica es aplicado porque la coloración implica una reacción química en la cual intervienen moléculas del tejido al que somete el proceso científico.

Lect2: Proteína sintetizada por los hepatocitos, con propiedad proinflamatorias, asociado con morfogénesis y quimiotaxis principalmente de neutrófilos, recientemente asociada con la formación de amiloidosis.

Morfometría: Morfometría se refiere al análisis cuantitativo de la forma, un concepto que abarca el tamaño y la forma. El hecho de medir forma y tamaño separadamente no significa que se pierda alguna información sobre las relaciones entre ellas. La definición de forma menciona a la escala como uno de los efectos a removerse para extraer las diferencias en forma entre dos configuraciones. La implicación de esto es que la escala proporciona una definición de tamaño, que es independiente de la definición de la forma.

Sinusoide: son capilares que se disponen entre las láminas de hepatocitos y donde confluyen, desde la periferia de los lobulillos, las ramas de la arteria hepática y de la vena porta; la sangre fluye desde las tríadas hasta la vena central, circulando en forma centrípeta

Siglas y abreviaturas

AA: Proteína sérica de amiloide A

AL: Inmunoglobulinas monoclonales de cadenas ligeras

AH: Inmunoglobulinas monoclonales de cadenas pesadas

AB2M: Beta-2 microglobulina

ATTRwt: transtiretina sérica

ATTRm: Variante genética de la transtiretina

AGel: Variante genética de la gelsolina

AFib: Variante genética de la cadena alfa de fibrinógeno

AApoAI: Variante genética de la apolipoproteína AI

ALys: Variante genética de la lisozima

ACys: Variante genética de la Cistatina C

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

INCMNSZ: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

ISA: International Society of Amyloidosis (Sociedad internacional de Amiloidosis).

LECT2: Leukocyte cell-derived chemotaxin-2 (quimiotaxina derivada de leucocitos tipo 2)

“AMILOIDOSIS LECT2 HEPÁTICA, HALLAZGOS EPIDEMIOLOGICOS Y CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN UN CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL”

Investigadora principal: Dra. Norma Ofelia Uribe Uribe

Residente responsable: Dr. Orlando Emmanuel Falcón Antonio

Institución de adscripción: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Departamento de Patología.

Funciones de cada participante en el desarrollo de este proyecto:

Investigador Responsable:

Dra. Norma Ofelia Uribe Uribe: médico especialista en anatomía patológica y alta especialidad en nefropatología, investigadora principal del protocolo “Tipificación de amiloide depositado en tejidos de pacientes mestizos Mexicanos”, con referencias 2314 y 3209, responsable del diseño y ejecución del protocolo. En este proyecto intervendrá en la selección y evaluación de tejido hepático obtenido de pacientes con diagnósticos de amiloidosis en hígado de los archivos de patología quirúrgica y postmortem del INCMNSZ, identificación de pacientes con amiloide LECT2 mediante tipificación por reacciones de inmunohistoquímica. Capacitación y supervisión del residente en las metodologías involucradas. Coordinación y supervisión del análisis estadístico, análisis de resultados y elaboración crítica del manuscrito.

Investigadores que Participaran en el Protocolo:

Residente Orlando Emmanuel Falcón Antonio: Capacitación teórica y práctica, previa, de las distintas metodologías a realizar. Búsqueda en el archivo del Departamento de Patología de resultados histopatológicos que cumplan con los criterios de inclusión determinados en el presente estudio. Búsqueda en el expediente clínico de las características de los pacientes incluidos en el estudio. Obtención de laminillas y bloques de parafinas de los casos que cumplan criterios de inclusión. Solicitud de reacciones de inmunohistoquímica en los casos identificados en los que ésta se encuentre incompleta. Análisis estadístico, redacción de artículos y publicación del mismo.

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO:

Amiloidosis es un término genérico utilizado para hacer referencia a un grupo de enfermedades de etiología diversa con pronóstico y tratamiento variables, con una característica común: todas ellas están causadas por el depósito de un material proteináceo fibrilar derivado de múltiples precursores que se autoensamblan con una conformación altamente ordenada en disposición de beta plegada. Este material, de naturaleza proteica es resistente a mecanismos de proteólisis fisiológicos; fue bautizado por Virchow debido a su afinidad por colorantes yodados, similar a la del almidón. El depósito del amiloide puede ocurrir por la secreción excesiva por un tiempo prolongado, asociado a proceso de envejecimiento o por la traducción y transcripción defectuosa de una proteína específica con asociación hereditaria.

La información generada en relación al entendimiento de la fisiopatología ha crecido recientemente, así como nuestro entendimiento sobre la fisiopatogenia y el amplio espectro que compone estas entidades con características similares, actualmente documentando 30 precursores de proteínas asociados a generación de amiloidosis². Las formas mejor descritas en la literatura son la variedad asociada a procesos inflamatorios crónicos (AA), amiloidosis sistémica (AL), la variedad relacionada a terapia sustitutiva para la función renal, en la diálisis peritoneal (A β 2M) y la forma relacionada al tipo nativo de la transtiretina (ATTR). Formas localizadas han tomado relevancia reciente, se han podido caracterizar y dar el estatus de entidad nosológica al cumplir con todas las características para ser consideradas como tal. Estas enfermedades tienen una evolución característica, asociada con el depósito tisular y la disfunción funcional subsecuente que puede variar ampliamente al grado de afección de los órganos o sistemas afectados; algunas formas caracterizadas por el depósito y afección sistémica, otras limitadas a tejidos y sistemas específicos, incluso por estar presente de manera indolente o subclínica, ejemplo mejor caracterizado por la presencia de amiloide en los islotes pancreáticos.

Diversos factores se han teorizado para el desarrollo de una enfermedad con afección orgánica que clínicamente repercute, aunque aún se sigue desconociendo aspectos etiológicos, los modelos *in vitro* han demostrado que casi cualquier polipéptido se puede conducir hacia mal plegamiento y la agregación dadas condiciones específicas³ pero relativamente pocas proteínas son amiloidogénicas *in vivo*. Los polipéptidos implicados en amiloidosis son estructuralmente diversos en su conformación normal y puede ser notablemente rico en hoja beta, alfa-hélice o beta-hélice¹. Durante la amiloidogénesis, las fibrillas poliméricas se disocian a sus componentes monoméricos, y puede además ser escindido enzimáticamente antes o durante su conversión en componentes más simples que forman las fibrillas amiloides. Hay esencialmente tres circunstancias en las que se produce el depósito del mismo, el primero ocurre en abundancia de ciertas proteínas que normalmente están presentes en niveles bajos, de manera sérica o tisular, como las proteínas séricas amiloidogénicas A (SAA) en la inflamación crónica⁴, componente subyacente a la amiloidosis AA. El segundo escenario es con abundancia relativa de una proteína inherentemente amiloidogénica por períodos prolongados, como en la amiloidosis por transtiretina (ATTR). La tercera situación es la presencia de una proteína anormal con estructuras y síntesis con predisposición al mal plegamiento y formación de agregados insolubles, siendo el modelo de prototípico en amiloidosis por inmunoglobulinas monoclonales asociado con discrasia de células plásmáticas.

En un intento por estandarizar la terminología y lograr agrupar las diversas entidades, se ha realizado distintas clasificaciones, tomando como referencia de manera inicial si existe una relación hereditaria directa relacionada con la entidad y posteriormente la fisiopatología que predispone a la generación y depósito de amiloide. Subsecuentemente se considera el componente proteínico de las fibrillas que componen el material amiláceo.²

A pesar de las formas de afección tan heterogéneas de acuerdo al precursor o por tipo de daño tisular asociado, su identificación y posteriormente la caracterización es posible por la similitud de aspectos morfológicos, herramientas de histoquímica e inmunohistoquímica en la labor de los anatomopatólogos. Se describe típicamente que la disposición de la proteína adopta una conformación bidimensional en beta-plegada antiparalela perpendicular al eje mayor de la fibrilla y a la observación por microscopía de luz presenta un aspecto hialino, vítreo, extracelular, débilmente eosinófilo, con disposición variable de acuerdo al tipo específico de amiloide, como ejemplo, disposición perivascular o intercelular y que es posible teñir con tinciones de histoquímica con la tinción de Rojo Congo, reforzando su presencia con la observación por microscopía con luz polarizada, observándose birrefringencia positiva, adoptando un color descrito como verde manzana³. El hallazgo histopatológico de amiloide en el tejido en cuestión está asociado a atrofia y necrosis, con la consecuente disfunción tisular, pero no es posible su caracterización solamente por medios de microscopía de luz, y actualmente los auxiliares diagnósticos del laboratorio de patología ayudan a su correcta clasificación, recientemente con el empleo de inmunohistoquímica, específica para la mayoría de los componentes de las fibrillas formadoras de amiloide. De manera más certera, pero con menor disponibilidad global, análisis proteómicos por espectrometría de masas, evaluado directamente de secciones de tejido ha probado ser efectivo para una mejor caracterización, con la dificultad de múltiples artificios que impiden el análisis sitio específico y con un alto índice de falsos negativos por la complejidad del proceso².

Para una mejor caracterización, la valoración por estudios de ultraestructura revela fibrillas no ramificadas, de 7 a 10 nanómetros de diámetro. Otra de las características de las múltiples entidades agrupadas consiste en la presencia de una proteína sérica no fibrilar asociada, llamada componente P de amiloide sérico, el cual se une de manera reversible, dependiente de un ligando de calcio, asociado a las fibrillas de amiloide; su unión estabiliza la configuración bidimensional y evita su degradación por proteasas y fagocitosis in vivo. La asociación a componentes no proteicos no es infrecuente, y los más comunes son glucosaminoglicanos, como el heparán sulfato y dermatán sulfato, apolipoproteína E, colágeno y laminina, componentes que contribuyen a la estabilización del amiloide y que puede contribuir aún más a su fibrinogénesis y agregación³.

Tabla 1: clasificación de amiloidosis sistémica por la ISA.

Clasificación de amiloidosis sistémicas propuesto por la Sociedad Internacional de Amiloidosis (ISA).²		
Formas adquiridas de amiloidosis sistémica		
Tipo	Precursor de fibrilla proteica	Síndrome clínico

AA	Proteína sérica de amiloide A	Amiloidosis sistémica reactiva, relacionada con enfermedades sistémicas inflamatorias crónicas
AL	Inmunoglobulinas monoclonales de cadenas ligeras	Amiloidosis sistémicas asociadas con discrasias de células plasmáticas
AH	Inmunoglobulinas monoclonales de cadenas pesadas	Amiloidosis sistémica asociada con discrasias de células plasmáticas
AB2M	Beta-2 microglobulina	Amiloidosis sistémica asociada con diálisis peritoneal; afección periarticular
ATTRwt	Transtiretina sérica	Involucro cardiaco prominente con falla cardiaca progresiva.
Formas de amiloidosis sistémica hereditaria		
ATTRm	Variante genética de la transtiretina	Amiloidosis sistémica autosómica dominante. Polineuropatía amiloide familiar
AGel	Variante genética de la gelsolina	Amiloidosis sistémica autosómica dominante
AFib	Variante genética de la cadena alfa de fibrinógeno	Amiloidosis sistémica autosómica dominante Involucro renal, no neuropático.
AApoAI	Variante genética de la apolipoproteína AI	Prominentemente no neuropática, con involucro visceral y disfunción renal lentamente progresiva
ALys	Variante genética de la lisozima	Amiloidosis sistémica autosómica dominante Disfunción renal lentamente progresiva
ACys	Variante genética de la cistatina C	Amiloidosis sistémica con afección predominantemente cerebral. Eventos hemorrágicos cerebrales
Otros		
LECT2	Factor quimiotáctico de leucocitos 2	Amiloidosis progresiva con síndrome nefrótico y afección hepática

Poca información epidemiológica ha sido publicada en relación a la amiloidosis, probablemente asociado a el subdiagnostico de las distintas formas, su caracterización incorrecta o que no existen cifras oficiales ¹. El primer estudio robusto basado en población fue realizado en población norteamericana para amiloidosis publicado en 1992, y cuyas cifras siguen siendo utilizadas aun en países desarrollados; el estudio arroja valores de 2 a 3 casos por millón de habitantes⁵ ajustado a intervalo de confianza del 95%; El estudio mas reciente publicado respecto a la incidencia de acuerdo al tipo de amiloidosis fue realizado en el Reino Unido por el centro de amiloidosis nacional entre 5100 individuos con amiloidosis o mutaciones amiloidogénicas, y se reportó los distintos tipos de incidencias de acuerdo a la clasificación de las mismas, indicando que los cuatro tipos más comunes corresponden a la forma AL, AA, ATTR y la amiloidosis asociada procesos de hemodiálisis (Aβ2M) ³, además se documentó mayor incidencia de la forma AA en países desarrollados, y una ligera mayor proporción en hombres (es 1.3 veces mayor respecto a la mujeres). Respecto a cifras en México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) y cifras del Instituto Nacional de Salud Pública para el registro nacional de enfermedades no cuenta con información en relación a la incidencia y prevalencia; de manera similar, poca información se tiene en población latinoamericana.

El involucro hepático en las formas sistémicas de amiloidosis es común como quedó demostrado por un estudio hecho en autopsias, con depósito de material amiloide en el 70% de los casos, aunque la evidencia clínica o bioquímica de disfunción hepática no era significativa. ⁶

Como ya se ha mencionado, la amiloidosis se caracteriza por la heterogeneidad de presentación clínica, dependiendo de que órganos se encuentran involucrados. El diagnóstico es hecho frecuentemente de manera tardía y en ocasiones de manera incidental cuando se toman estudios de biopsia por falla orgánica y con una impresión diagnóstica que difícilmente considera esta entidad. Estudios de imagenología con isotopos marcados para componente P de amiloide sérico y el empleo de resonancia magnética cardíaca con hallazgos sensibles, pero con especificidad reducida, han contribuido a el reconocimiento de casos potenciales, que vale la pena recalcar, deben ser confirmados por estudios en el tejido. Estos estudios además con valor limitado respecto a los valores predictivos, de acuerdo a la prevalencia de la población estudiada, sin mencionar la poca accesibilidad de manera generalizada en distintos niveles de atención.

Otra herramienta de utilidad corresponde a la valoración y consejo genético, en las formas con transmisión hereditarias, que se calcula que representan el 5 al 10%. La valoración de estudios genéticos debe ser interpretada en un contexto clínico adecuado e integrado con antecedentes heredofamiliares y de complementarlo con evidencia histológica. Mencionado lo anterior, el diagnóstico de amiloidosis es multidisciplinario, comenzando con el conocimiento del espectro de entidades y generación de la impresión diagnóstica que lo considera como un diferencial, con contexto epidemiológico y clínico adecuado, y con los algoritmos actuales, el anatomopatólogo con un papel capital para su diagnóstico y clasificación.

Amiloidosis LECT2

La proteína LECT 2 es sintetizada de manera fisiológica por los hepatocitos y liberado a la circulación sistémica, como una forma de proteína quimiotáctica y reguladora de función en células T. Fue identificada en medios de cultivo de células neoplásicas como un fuerte factor

quimiotactico y como una hemaglutinina. El gen precursor de la proteína también llamado LECT2, está localizado en el cromosoma 5 (5q31.1-q32) y consiste en cuatro exones y tres intrones⁷. Factores asociados a el aumento de su síntesis, secreción y acumulación tisular han sido la predisposición genética y étnica y estados proinflamatorios propios del órgano, como lo son la esteatosis y esteatohepatitis, aun que aun sin que se haya aclarado si la amiloidosis globular juega un papel como un agente causal o su presencia es una consecuencia del daño tisular⁷

Inicialmente observado en tejido renal, en biopsias y piezas quirúrgicas, muchas de ellas en pacientes con neoplasias renales asociadas, al inicio se reportó como un hallazgo incidental, pero posteriormente se realiza su asociación con grados variables de disminución en la función renal. Conforme se hacía eco de su hallazgo en asociación con presencia en morbilidad órgano específico y daño tisular, los reportes de su hallazgo incrementaron, y la evidencia reciente sugiere una afección sistémica. Otro de los hallazgos más sobresalientes es la mayor prevalencia en grupos etarios y étnicos, pues las mayores tasas de prevalencia han sido descritas en población adulta, sin predisposición por algún género en específico, pero sí de origen étnico en Latinoamérica, específicamente en población mexicana. Los hallazgos en tejido hepático fueron más recientes y en el año 2015 se realizó el reporte más robusto por Chandan et al ⁸ Sobre los hallazgos histológicos en dicho órgano, el cual reportó evidencia relacionar daño hepático por amiloidosis LECT2 y se documentó como el órgano diana más afectado.

Los reportes de su hallazgo se realizan como un hallazgo incidental, pues las biopsias y piezas quirúrgicas se obtienen con otros fines diagnósticos que tienen en común la afección funcional y afectación de las pruebas de función hepática⁹, entre las mencionadas se incluyen esteatohepatitis, carcinoma hepatocelular o cirrosis de origen criptogénico¹⁰.

La hepatomegalia esta presente en hasta el 80% de los pacientes y puede estar asociado a dolor en casos asociados a rápido incremento de tamaño; ictericia moderada se reporto en 10% de los casos, y raramente colestasis severa, aunque la presencia de dicho dato orienta a un peor pronostico, así como el desarrollo de hipertensión portal¹¹. El mecanismo fisiopatogenico no ha sido establecido completamente y se ha relacionado con la coexistencia de hiperplasia nodular regenerativa^{11,12}

Para su evaluación histopatológica, es característico como numerosos glóbulos eosinófilos (de ahí que también se le llame amiloidosis globular), con disposición de predominio portal, aunque también se observa en los sinusoides hepáticos y menos frecuentemente alrededor de la vena central hepática¹⁰, pero el común denominador es la alteración de la estructura lobulillar hepática, daño tisular y en ocasiones cambios inflamatorios asociados¹⁰

La amplia mayoría con afección del parénquima que se ha logrado clasificar en dos formas según el patrón de afección intersticial: deposito sinusoidal que ocupa los espacios de Disse y genera disfunción de los hepatocitos, activación de células de Kupffer y cambios estructurales que impiden el funcionamiento normal del sinusoides; la otra forma reconocida es con predominio perivascular, de predominio en venas portales, arterias hepáticas de menor calibre, vena central y en ocasiones en el tejido conectivo periportal. ⁸

Posterior a su reconocimiento morfológico, se pueden realizar auxiliares diagnosticos en el laboratorio de patología, generalmente en asociación con el empleo de tinciones de histoquímica (rojo Congo y Cristal violeta), para facilitar su distinción con confusores morfológicos, como lo puede ser el colágeno depositado en el intersticio, la degeneración globoide de los hepatocitos o incluso la presencia de cuerpos de Lafora por defectos enzimáticos congénitos (tods los ejemplos anteriormente mencionados son negativos para las

tinciones). Estudios subsecuentes corresponden a el empleo de anticuerpos de inmunohistoquímica específicos para el componente fibrilar de LECT2 en los globulos eosinofilos, el cual tiene alta afinidad al ser obtenido de un anticuerpo policlonal altamente especifico de 16 KDa⁹.

La relación de causa y efecto entre entidades con daño hepático específico y la amiloidosis ha sido descrita sin que se haya esclarecido la temporalidad¹¹, pero si se ha enunciado como un nuevo factor en la integración de la fisiopatología, que contribuya a explicar de mejor manera los modelos in vivo, con uno de los índices mayores a nivel mundial de enfermedad hepática de causas metabólicas, explicar mecanismos inmunológicos e inflamatorios de la enfermedad hepática crónica, permitiendo generar mejores modelos para el entendimiento de la curva de historia natural de la enfermedad y ayudar a esclarecer aquellos casos clasificados como daño criptogénico.

Cada día se integra mejor la fisiopatología de la enfermedad hepática crónica y se ha vuelto paradigma la teoría multifactorial, contradiciendo modelos previos centrados de manera exclusiva en el papel de agentes externos modificantes de la enfermedad, como la alimentación, el consumo de sustancias o la infección por virus hepatótrofos; sin embargo aun sin poder explicar el amplio rango de cambios histológicos hepáticos y variabilidad en presentación clínica y desenlace de la enfermedad; a la integración de los factores genéticos e inmunológicos para el desarrollo de la enfermedad corresponderá una mejor comprensión de la entidad, así como su potencial herramienta pronostica y con probables alcances terapéuticos.

La casuística que caracteriza al INCMNSZ esta directamente relacionada con ser un centro de concentración de hepatopatías, y por ser el centro nacional con mayor número de biopsias realizadas en hígado por año a nivel nacional. Por lo anterior ha favorecido el reconocimiento de la amiloidosis hepática, específicamente de la amiloidosis globular, a manera de hallazgo incidental o como agente causal de morbilidad y favorece que al ser una entidad con afección étnica en la población tratada en el instituto, se pueda tener cifras que permitan la valoración estadística.

El objetivo del siguiente trabajo es la caracterización histopatológica de la forma de amiloidosis LECT2 en tejido hepático y su valoración con auxiliares diagnósticos (inmunohistoquímica y estudios de ultraestructura).

Figura 1: Representación esquemática de la conformación del amiloide ²

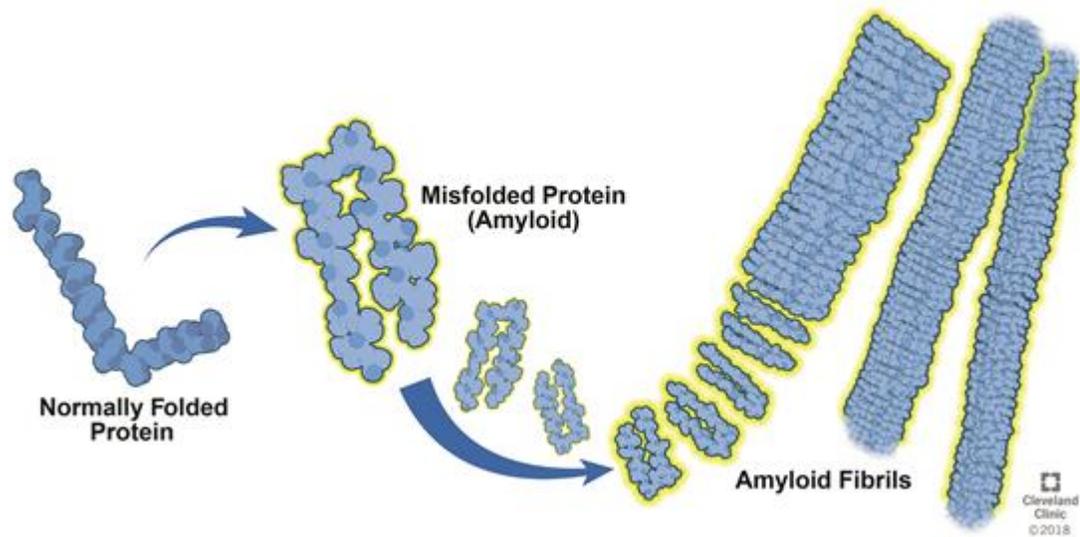
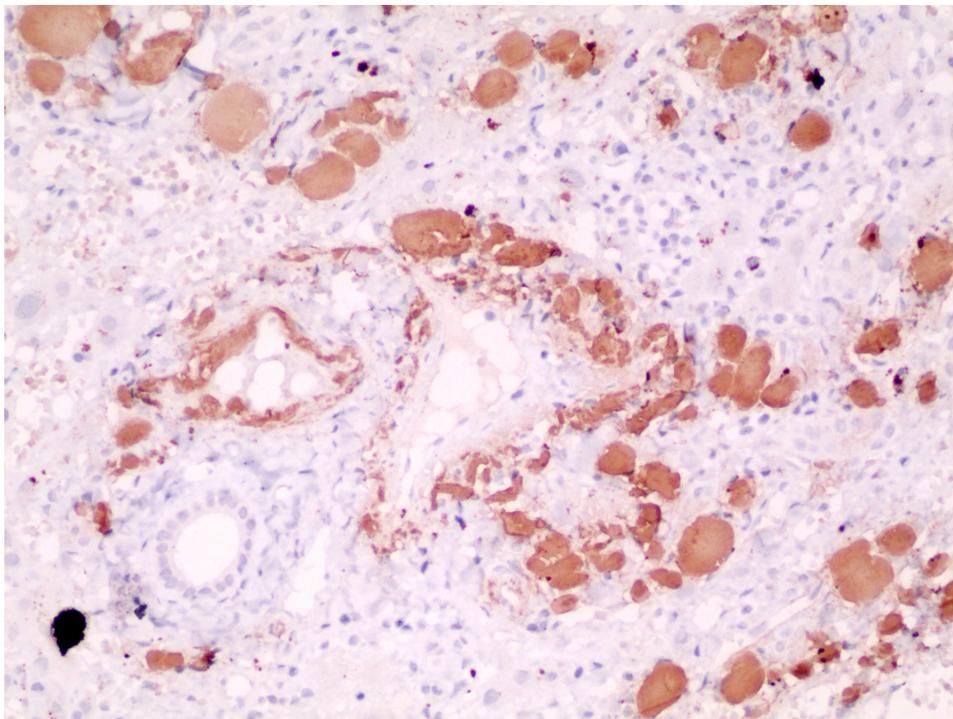


Figura 2: aspecto morfológico clásico observado en tejido hepático, caracterizado por inmunohistoquímica.



PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

- ¿Cuáles son las principales características epidemiológicas en pacientes con amiloidosis LECT2 hepática?
- ¿Cuál es la incidencia de amiloidosis LECT2 hepática en población mexicana?
- ¿Qué patrones histológicos adopta la de amiloidosis LECT2 hepática?
- ¿El amiloide LECT-2 se asocia con hepatopatías crónicas?
- ¿Los distintos patrones histológicos de depósito de amiloide determinan distintos grados de afección clínica?
- ¿Existe relación entre la cantidad de amiloide y el grado de afección clínica?

HIPÓTESIS:

- Hipótesis nula: la amiloidosis hepática LECT2 no constituye un modificador de la enfermedad en pacientes hepatopatas
- Hipótesis alterna: la amiloidosis hepática LECT2 es un modificador de la enfermedad en pacientes hepatopatas

JUSTIFICACIÓN:

Es bien conocido y documentado en la literatura que el hígado es uno de los órganos con mayor afección por depósito de amiloide, independientemente del subtipo o el grado de afección, pero es de reciente descripción la forma de depósito de amiloide por una proteína con síntesis local, con efectos inmunogénicos y quimiotácticos, llamada amiloidosis LECT2; histológicamente ya es una forma que tiene descripciones con más de un siglo, por una disposición globular característica, pero hasta hace menos de 10 años que se pudo caracterizar como una forma nueva, de acuerdo al componente proteínico. En las descripciones más robustas en la literatura y con mayor número de casos, es de resaltar que la incidencia poblacional es mayor en personas de etnia hispana, específicamente con origen en México, país en el cual poco se ha descrito para su tipificación, medición de incidencia y prevalencia. Es en este hospital, un centro de concentración nacional para enfermedades hepáticas y con un archivo de patología disponible para su consulta que la búsqueda ayude a conocer más sobre la entidad.

OBJETIVOS DEL PROTOCOLO:

Objetivo principal

- Identificar la frecuencia de amiloide LECT2 en tejido hepático en el material del departamento del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirán, estudiarlo por morfometría y correlacionar con variables clínicas

Objetivos Generales:

- Determinar la incidencia de la amiloidosis LECT2 hepática en un centro de atención nacional para enfermedades hepáticas.
- Determinar las variables epidemiológicas principales entre la población afectada con amiloidosis LECT2 hepática
- Caracterizar los distintos patrones morfológicos que adopta la amiloidosis globular LECT2 en tejido hepático
 - Realizar correlación entre la presencia de hepatopatías crónicas y la presencia de amiloidosis LECT2 hepática
- Medir de manera cualitativa el depósito de amiloide y el grado de afección clínica.
- Medir cuantitativamente mediante análisis morfométrico el depósito de amiloide y el grado de afección clínica.
- Caracterización morfológica e inmunohistoquímica de la amiloidosis globular LECT2 en tejido hepático
- Caracterización por estudio de ultraestructura la presencia de amiloide LECT2 en hígado

MÉTODO:

DISEÑO DEL ESTUDIO:

El presente trabajo es de tipo observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal.

VARIABLES OPERACIONALES:

Las variables a estudiar son: edad, sexo, motivo de toma de biopsia o pieza quirúrgica, comorbilidades, grado de afección hepática, clasificación de la función hepática, tipo de tratamiento médico utilizado, patrón histológico de la amiloidosis globular, positividad para inmunohistoquímica para LECT2, supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y estado actual.

UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA:

Pacientes con diagnóstico histopatológico de amiloidosis hepática y con material valorable realizado en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Dr. Salvador Zubirán en el periodo comprendido a los años de 1990 a 2021 para el material de patología postmortem y desde el año 2000 para el material de patología quirúrgica (motor de búsqueda de diagnósticos de patología quirúrgica utilizado en el INCMNSZ funciona para material analizado desde el año 2000).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Pacientes del INCMNSZ con diagnóstico histológico de amiloidosis hepática
Material valorable presente en archivo de patología del INCMNSZ
Expediente clínico completo en el INCMNSZ.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Pacientes cuyo resultado histopatológico no pudo ser confirmado en la revisión del material examinado.
Material en mal estado, incompleto o no valorable.

IV. 3.3- CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Casos sin material en el bloque de parafina para el estudio de inmunohistoquímica en el departamento de patología del INCMNSZ.
Bloques de parafina en mal estado para poder realizar estudios de inmunohistoquímica.

INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN:

Cédula de recolección de datos

VALIDACIÓN

Para el presente trabajo no se requiere de validación del instrumento de investigación ya que se utilizarán datos contenidos dentro del expediente clínico.

APLICACIÓN:

Se buscarán los expedientes clínicos de pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y se compararán con los expedientes del departamento de patología para corroborar el diagnóstico de amiloidosis globular y hepatopatías crónicas. Se revisarán nuevamente todas las laminillas incluyendo aquellas con reacciones de inmunohistoquímica, y se caracterizará el componente inflamatorio en caso de estar presente. No se tomarán nuevas muestras de ningún paciente. Únicamente se realizará nuevo estudio de inmunohistoquímica en aquellos casos donde el panel se encuentre incompleto o donde las reacciones no hayan sido valorables. Se anotarán los datos obtenidos en la hoja de recolección de datos y posteriormente se analizarán.

DESARROLLO DEL PROYECTO:

El análisis se realizará por medio de programas estadísticos y los resultados se presentarán en tablas.

LÍMITE DE TIEMPO Y ESPACIO:

Se realizará la recolección de información y el análisis de la misma en base a los datos obtenidos de los expedientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Dr. Salvador Zubirán en un período de 6 meses.

DISEÑO DE ANÁLISIS:

Se revisarán los expedientes de todas las pacientes que cumplan con las características específicas del protocolo en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Dr. Salvador Zubirán para extraer la información pertinente en función de las variables seleccionadas.

Se clasificará y tabulará toda la información obtenida de los expedientes para estructurar una base de datos y poder realizar los análisis estadísticos correspondientes, con base en el instrumento de investigación, los estadísticos descriptivos y las pruebas estadísticas seleccionadas.

A partir de la información obtenida se concentrarán los principales resultados en cuadros debidamente estructurados para los fines del proyecto.

Los estadísticos descriptivos que se utilizarán serán el número de casos, índice de frecuencias, porcentajes y un modelo de regresión lineal múltiple.

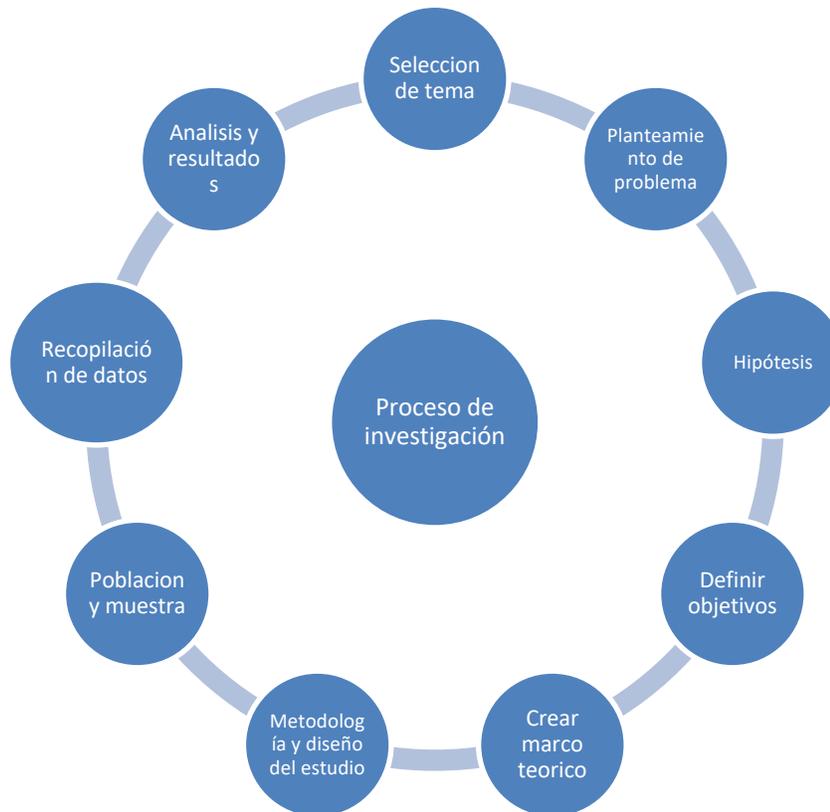
Para la elaboración de los gráficos se utilizarán programas estadísticos como Prisma, SPSS y Excel.

IMPLICACIONES ÉTICAS

El presente trabajo se realizará de acuerdo con criterios de Helsinki y la Norma Oficial Mexicana 012, sobre Investigación en seres humanos, guardando completa confidencialidad de los datos.

ANALISIS ESTADISTICO

Se empleará análisis de estadística descriptiva (promedio, media, mediana) y estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión.

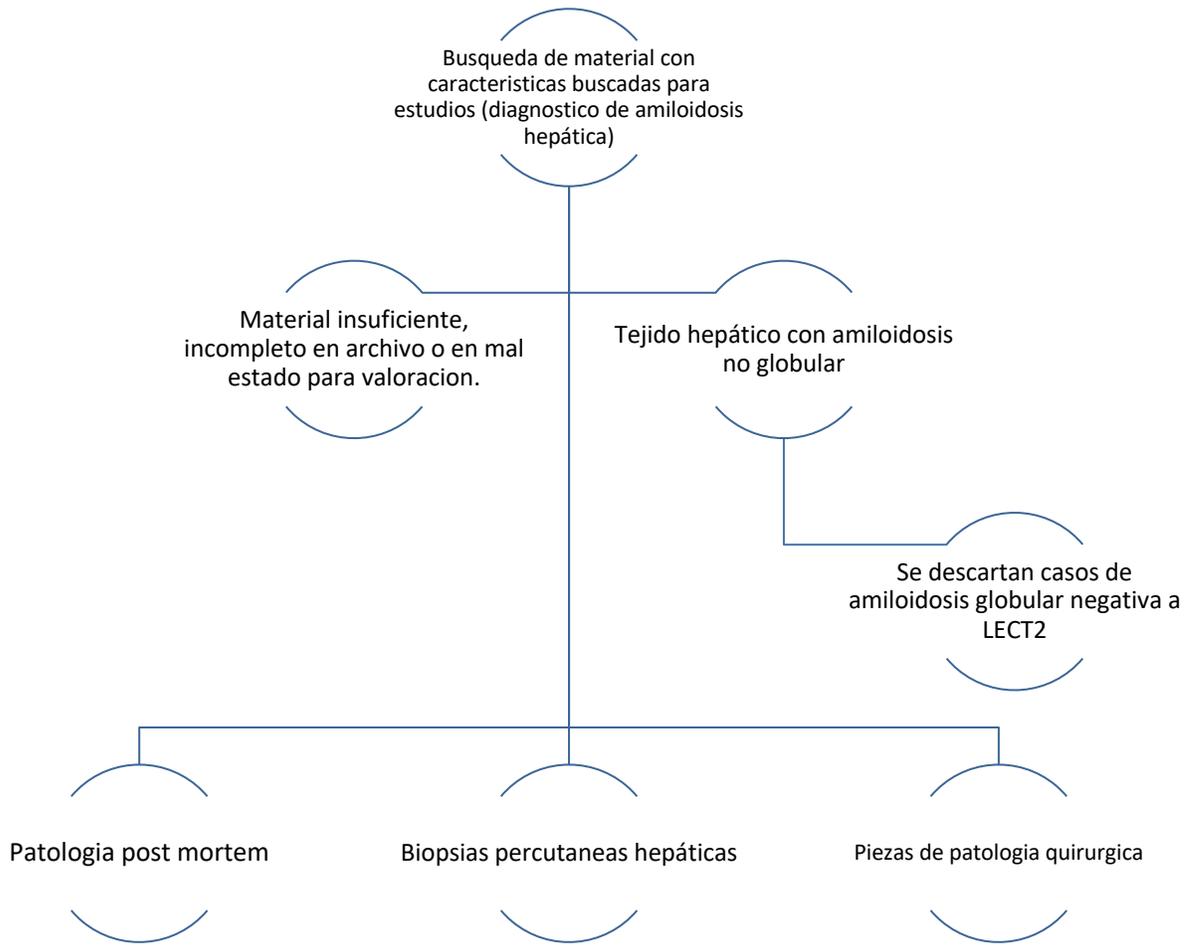


Búsqueda de material y procesamiento

Se buscaron las laminillas y material en el archivo del departamento de patología, incluyendo los bloques de parafina, para valorar si existía tejido suficiente para posteriormente realizar estudios de inmunohistoquímica, y para valorar cual laminilla del producto de la resección contaba con mas tejido para realizar además tinciones de histoquímica de ser necesario o repetir las reacciones de inmunohistoquímica.

En múltiples casos, ya se contaba con los estudios respectivos de histoquímica e inmunohistoquímica, en los casos de anatomía patológica post mortem se habían realizado microarreglos para estudio de inmunohistoquímica para aquellos casos en los que se había identificado el componente en otros aparatos/sistemas. Aquellos que no cuentan con laminilla de inmunohistoquímica se enviaron con el técnico de inmunohistoquímica para procesar la inmunotinción del anticuerpo LECT2 (anti-lect2 abcam policlonal, OTI2A11 número de catalogo ab119429), anticuerpo altamente específico para su identificación¹³.

Selección de casos:



RESULTADOS

Para determinar la prevalencia de amiloidosis globular LECT2 se realizó la búsqueda en el archivo del departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, incluyendo material de patología post mortem desde el año 1990 al año 2020 y material de patología quirúrgica con la designación de: tejido hepático (incluyendo biopsias por aguja de corte fino, biopsias en cuña de procedimientos invasivos, explantes y autopsias) y con diagnóstico u hallazgo de amiloidosis. En los registros del Instituto se contabilizaron 228 casos con diagnóstico de amiloidosis hepática, incluyendo casos post mortem, casos de patología quirúrgica o casos identificados de manera externa, pero con abordaje en el Instituto, de los cuales 38 casos cumplen con la condición para ser clasificados como amiloidosis globular LECT2, lo que representa un 16% de las formas de amiloidosis hepática, cuyo valor debe hacerse notar, representa un sesgo poblacional, al ser este un Instituto para la atención de enfermedades hepáticas, además de concentración para formas clínicas de amiloidosis y ser uno de los pocos centros nacionales con los auxiliares diagnósticos para mejorar la identificación y caracterización de las distintas formas de amiloidosis.

Se han contabilizado 38 y se excluyeron para el estudio aquellos en los que el material no está disponible para valoración (no se cuenta con laminillas y bloques de parafina) o se encuentra en estado inadecuado para valoración:

Casos de patología quirúrgica con criterios de inclusión: 27

Se tiene registro en el INCMNSZ contabilizados aproximadamente 17,600 piezas de patología quirúrgica de tejido hepático, incluyendo biopsias por trucut, explantes, resecciones parciales.

El porcentaje de casos con amiloidosis globular LECT2 hepática: 0.021%

Casos de patología postmortem: desde el año 1990, se han realizado en el INCMNSZ 957 autopsias; en 11 de ellas fue posible caracterizar el amiloide LECT2 hepático.

Corresponde un 1,14% de la población

El muestreo que se evaluará es de características heterogéneas, incluye tejido obtenido en patología postmortem, biopsias percutáneas por aguja de corte, piezas de patología quirúrgica como explantes hepáticos y enucleación de quistes hepáticos. La información clínica fue obtenida de los expedientes físicos y/o electrónicos. En el material a evaluar, la presencia de amiloide globular se enuncia generalmente como un hallazgo incidental.

A continuación, se enuncia las características de dicho material:

Tejido obtenido de patología postmortem 11/38: el hallazgo de amiloidosis globular corresponde a un hallazgo incidental presente en autopsias, que no se limitaba a tejido hepático. Dicho hallazgo estaba presente en múltiples tejidos de manera sincrónica, en otros aparatos y sistemas, siendo los más comunes el riñón, las glándulas suprarrenales, el bazo y vesícula biliar. Ninguno de los casos obtenidos contaba con diagnóstico de amiloidosis o la presencia del mismo se había diagnosticado en el abordaje en vida de los pacientes. Tras la identificación en distintos tejidos distintos al hepático, se buscó de manera dirigida en el mismo, considerando que no hubiera sido identificado al momento de su revisión.

Biopsias hepáticas 21/38: tomadas ex profeso para el abordaje de pacientes con alteración de pruebas de función hepática o como parte de su seguimiento de una entidad (hepatopatía) ya conocida, permite mejor valoración de las implicaciones clínicas directamente relacionadas al

deposito del amiloide globular, en aquellos casos sin diagnostico anteriormente conocido. El material proviene de muestras por aguja de corte fino (trucut) o como parte de un estudio de abordaje durante procedimientos invasivos que involucraban reparación de vias biliares y se obtenian biopsias en cuña.

Especímenes de patología quirúrgica: Hepatectomias, hemihepatectomias o enucleación de quistes 6/38: piezas obtenidas por urgencias quirúrgicas o al realizarse la obtención del explante, se enuncio la presencia de amiloidosis como un hallazgo. Desde que dos de los casos reportados con presencia de amiloide globular fueron reportados en especímenes de resecciones quirúrgicas de quistes hepáticos, se realizo la búsqueda específica en todos aquellos materiales con dicho diagnostico, en búsqueda de resultados similares a los que se contaba en la base de datos y que cumplieran con la condición de tener ambos hallazgos: quiste hepático y amiloide globular; fue posible localizar 4 casos con ambos hallazgos. A su vez, en dos casos de explantes hepáticos, en pacientes con cirrosis conocida y falla organica hepática, se pudo caracterizar el deposito en dos casos.

Las características clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 1, con resultados resumidos de la siguiente manera:

Características epidemiológicas: Con una relación equitativa de hombre a mujer 1:1 (19:19 casos), la edad de los pacientes con un rango amplio que va de 22 a los 83 años, con una media de 62.48 años. Las comorbilidades mas comunes presentadas y directamente relacionadas con la función hepática fueron las siguientes:

- Hepatitis asociada a virus hepatotropos (VHC, VHB), en distintos estadios de la historia natural de la enfermedad que van desde hallazgos morfológicos iniciales, hasta el desarrollo de fibrosis terminal y desarrollo de carcinoma hepatocelular (7 casos, 18%).
- Hepatitis autoinmune (2 casos, 5.2%)
- Colangitis biliar primaria (1 caso, 2.6%)
- Lesión de vía biliar benigna (3 casos, 7.8%)
- Casos catalogados como cirrosis criptogenica (2 casos 5.2%)
- Neoplásias con invasión a parénquima hepatico, por contigüidad (neoplasias de vías biliares) o por metástasis linfovascuales (paraganglioma, carcinoma neuroendocrinos) (4 casos, 10.5%).
- Quistes hepáticos (4 casos, 10.5%)

En 12 casos no se integró una entidad o comorbilidad con afección hepática a parte de la presencia de amiloidosis hepática; respecto a los casos correspondientes obtenidos por patología postmortem, en 7 los cambios morfológicos resultaron con dificultades técnicas al realizar un diagnostico, al ser los cambios histológicos de hígado de choque.

Tabla 1: características epidemiológicas principales de la población a evaluar.

Parámetro epidemiológico	Resultado
Media de edad	62.73 años
Rango de edad	40-87 años
Sexo masculino	19

Sexo femenino	19
Origen	México 38/38
Obesidad/sobrepeso	28 casos
Antecedentes heredofamiliares de hepatopatías	7 casos
Pacientes con afección renal conocida al diagnostico	7/38 casos

Antecedentes heredofamiliares

Se realizó búsqueda en los expedientes electrónicos la asociación con antecedentes heredofamiliares específicos de enfermedad hepática, asociado al hecho que no era posible realizar el diagnóstico de amiloidosis en familiares de primer grado con mayor antigüedad, en los que el diagnóstico era más difícil de establecer por el subdiagnóstico con el que se tiene la entidad.

El motivo de su búsqueda es por la asociación con antecedentes hereditarios en múltiples formas de amiloidosis, sin ser necesariamente un tipo de herencia mendeliana con patrón autosómico recesivo o dominante establecido. Se teoriza un componente de heredabilidad por el hecho de presentarse en etnias con mayor frecuencia, pero no se cuenta aún con estudios robustos poblacionales que permitan discernir el efecto de la transmisión entre generaciones:

- La mayor prevalencia en pacientes de etnia hispana, principalmente en pacientes de origen mexicano; se puede inferir que existe una potencial herencia del rasgo por la mayor descripción de casos en un grupo poblacional.
- El gen encargado de la traducción de la proteína LECT2 ha sido caracterizado en el gen precursor de la proteína también llamado LECT2, está localizado en el cromosoma 5 (5q31.1-q32) y consiste en cuatro exones y tres intrones⁷. Hasta el momento no se ha caracterizado algún polimorfismo específico que favorezca el desarrollo de amiloidosis.

El paradigma actual para gran parte de las entidades nosológicas, corresponde a etiología multifactorial, no esperando que sea únicamente relacionado con aspectos hereditarios.

Resultado: ninguno de los casos recolectados con diagnóstico de amiloidosis globular de tipo LECT2 tiene registrado algún antecedente familiar con diagnóstico de amiloidosis, de cualquier tipo, y por ende de este tipo específico. Se encontró una incidencia del 18% de los casos con antecedentes heredofamiliares con pacientes hepatopatas, con información que llega a ser muy escasa, se menciona únicamente cirrosis asociada a alcoholismo (16%) en de los casos, en familiares de primer grado, en cuatro casos, con más de un familiar afectado por dicha entidad y únicamente un caso (2%) mencionó antecedente de carcinoma hepatocelular en la familia (madre). No existe una relación de herencia directa de acuerdo a los resultados anteriormente obtenidos.

Relación con sobrepeso / obesidad

Las primeras descripciones de la proteína LECT2 sucedieron como un marcador sérico, están ampliamente documentadas como un marcador de inflamación crónica en pacientes con un denominador común: el síndrome metabólico. Las mediciones séricas se han propuesto como un marcador de daño tisular hepático y de riesgo de progresión de hígado graso no alcohólico a cirrosis¹⁴.

Se realizó la búsqueda de los índices de masa corporal como una medición indirecta de la probabilidad de presencia de síndrome metabólico y en búsqueda de una probable relación con una mayor incidencia del depósito del amiloide en parénquima hepático.

Se empleó el IMC como medida cuantitativa para gradificar el sobrepeso (>24-30) y obesidad (>30), de acuerdo a los valores obtenidos en los expedientes clínicos, al momento en que se realizó la obtención del tejido hepático.

- 8 casos con obesidad- IMC mayor o igual a 30
- 20 casos con sobrepeso – IMC igual o mayor a 24

Se realizará la medición y correlación de distintas variables presentes en los expedientes clínicos y que de manera clásica se relacionan con la función sintética hepática y el estado funcional; En el caso de las biopsias tomadas por aguja fina, se trata de tejido que fue específicamente tomado por alteraciones en las pruebas de función hepática y generalmente sin un diagnóstico de enfermedad hepática previamente diagnosticada:

Las alteraciones en las pruebas de función hepática que se encontraron más frecuentemente alteradas fueron en orden las siguientes:

Patrón bioquímico colestásico: elevación del valor de fosfatasa alcalina, GGT y valor total de bilirrubina: elevación 26 casos; corresponde el patrón bioquímico de mayor prevalencia en pacientes con afección hepática por amiloidosis, específicamente reflejado en los valores de fosfatasa alcalina como un marcador sensible, cuyo valor aumenta con la presencia de hepatomegalia asociada¹⁵

Patrón bioquímico de daño hepático: transaminasas elevadas, AST y ALT, con dos desviaciones estándar por encima en promedio. A este grupo corresponde principalmente aquellos con fibrosis en estadios avanzados o cirrosis.

Patrón mixto (daño hepático y colestásico): 5 casos.

La interpretación de los parámetros bioquímicos es también con el sesgo poblacional, al tener pacientes con múltiples comorbilidades y en distintos estadios del desarrollo natural de la enfermedad y con distintos abordajes clínicos.

Patrones histológicos de presentación:

Uno de los principales objetivos de la presente investigación es la caracterización histológica del amiloide globular, específicamente el patrón histológico y la localización del mismo dentro de la estructura arquitectural del acino hepático (actualmente reconocido como la unidad funcional del hígado). En estudios previos, específicamente el enunciado por Damraj et al¹⁶, se había mencionado la relación de la presencia de amiloide globular en cantidad abundante con la generación de hipertensión portal, asociado con el desarreglo estructural del acino hepático, probablemente asociado con cambios en la mecánica del flujo funcional.

Se realizó una evaluación cualitativa, del depósito de amiloide globular en las muestras de tejido, empleando para dicha medición las laminillas con reacción de inmunohistoquímica, por la ventaja de valoración al mostrar únicamente los campos histológicos positivos a amiloide, eliminando el sesgo de confusores por microscopía de luz, con tinciones de histoquímica, enunciados a continuación:

1. Depósito de colágeno: la disposición del colágeno en tejido hepático generalmente adopta una disposición lineal, de localización subcapsular o siguiendo el trayecto de vasos sanguíneos, o circundante, alrededor de la placa limitante, la vena central o por ductos biliares; sin embargo el desarreglo de la trama de colágeno condiciona una disposición desorganizada que puede adoptar una configuración globular; la tinción

que de manera mas común se emplea para su identificación resulta ser el tricromico de Masson, el cual resalta las fibras de colageno de color azul; observamos en los casos a evaluar el deposito de amiloide tenía afinidad tintorial en la dicha tinción, pero como clasicamente se describe, se obtiene una coloración anfofila (imagen 5).

2. Degeneración balonoide de hepatocitos: otro de los probables confusores del deposito de amiloide, generado principalmente por la disposición globular (dado que adopta la conformación intracitoplasmica), que en ocasiones en tinción de hematoxilina y eosina se torna con un aspecto rarefacto que no permite distinguir el deposito de amiloide, pero es posible realizar la distinción con tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica.
3. Formas distintas de amiloide: de manera estadística, el principal tipo de amiloide depositado en el tejido hepático resulta ser el tipo AL⁶ el cual adopta una disposición linear, con predominio sinusoidal y periportal y en cantidad abundante, dependiendo del estadio en el que se evalua el tejido, que ocasionalmente llega a sustituir de manera parcial o total el parenquima hepático. De manera ocasional es posible observarlo tomando una disposición globular, pero sin llegar a ser la forma predominante y por empleo de auxiliares diagnosticos es posible realizar el diagnostico diferencial, pues además del empleo de inmunohistoquímica especifica para el componente, es característico del amiloide LECT2 la birrefringencia negativa en microscopia con luz birrefringente, en la que no es posible valorar el color verde manzana.
4. Celulas de Kuppfer: los macrófagos residentes de los sinusoides hepáticos pueden adoptar una disposición globular, con citoplasma granular y de aspecto rarefacto que se tiñe con eosina de manera tenue y podría simular el deposito de amiloide. Basta con mirar la presencia de un nucleo central, la membrana delimitante y las tinciones de histoquímica para poder hacer la diferenciación.

Figura 3: Imagen en hematoxilina y eosina, 100x. Presencia de Amiloide globular en tejido hepático, con sustitución del parenquima.

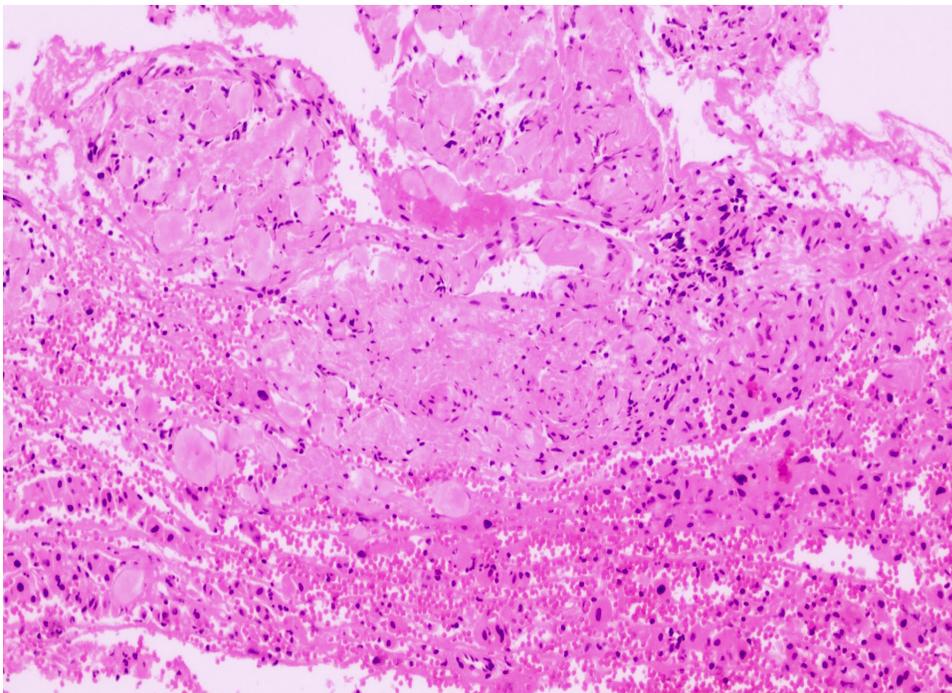


Tabla 2: casos que cumplen con las criterios de inclusión y fueron valorables para el protocolo, con el número de control interno y el diagnostico que fue emitido durante el año en que se evaluó.

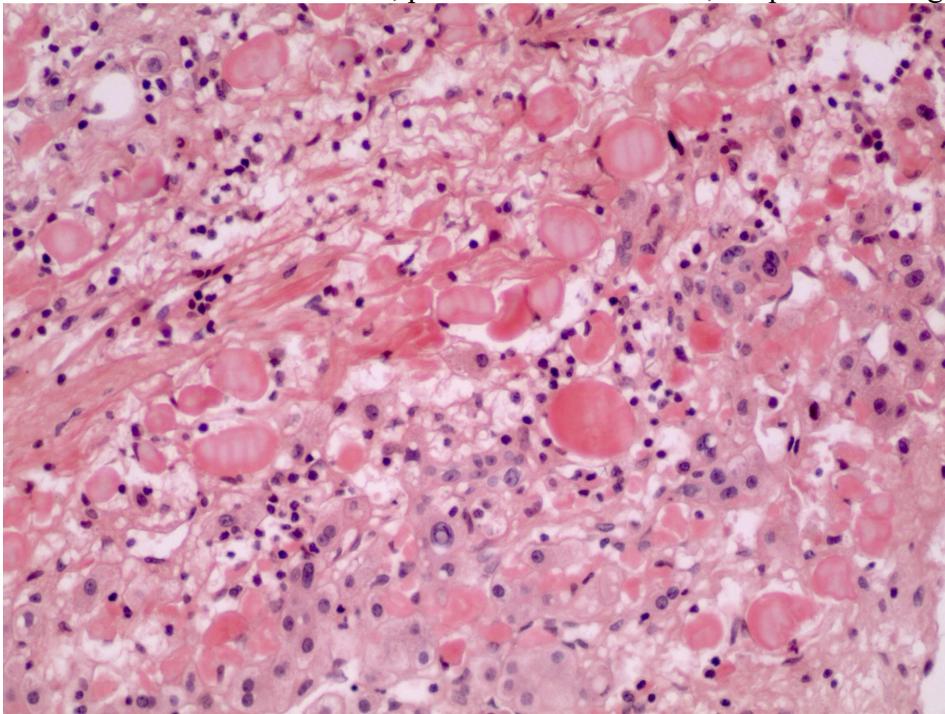
CASO	DIAGNOSTICO
Q17-2874	ADENOCARCINOMA MODERADAMENTE DIFERENCIADO, CIRROSIS HEPATICA, AMILOIDOSIS GLOBULAR
Q17-4723	CIRROSIS HEPATICA CON ACTIVIDAD MODERADA, HEPATITIS CRONICA CON ACTIVIDD EN PLACA LIMITANTE COMPATIBLE CON HEPATITIS AUTOINMUNE, AMILOIDOSIS
Q17-8173	AMILOIDOSIS HEPATICA
Q14-8945	CAMBIOS POR VIRUS C HEPATOTROPO, AMILOIDOSIS GLOBULAR
Q18-9265	BIOPSIA HEPATICA CONPATRONES HISTOLOGICOS NORMALES; AMILOISIS HEPATICA
Q19-807	BIOPSIA HEPATICA ADECUADA CON FIBROSIS GRADO II, Y AMILOIDOSIS GLOBULAR
Q19-1526	HEPATITIS CRONICA CON LESION EN PLACA LIMITANTE Y PERIVENULITIS CON COLAPSO CENTRAL, AMILOIDOSIS GLOBULAR Y FIBROSIS ESTADIO 2
Q19-7764	CARCINOMA HEPATOCELULAR MODERADAMENTE DIFERENCIADO, ESTEATOSIS MACROVESICULAR GRADO 1, FIBROSIS GRADO 3, AMILOIDOSIS GLOBULAR
Q20-1223	INFLAMACION PORTAL CON CAMBIOS SUGERENTES DE OBSTRUCCIÓN DE VIA BILIAR EXTRAHEPATICA, AMILOIDOSIS GLOBULAR
Q17-7830	QUISTE HEPATICO. INFLAMACION CRONICA SEVERA.
Q19-5357	QUISTE HEPATICO GIGANTE
Q15-5478	CARCINOMA HEPATOCELULAR POCO DIFERENCIADO, EN HIGADO CON AFECCIÓN POR VHC, CIRROSIS CON ACTIVIDAD MODERADA, ESTEATOSIS GRADO 1
Q14-4858	AMILOIDOSIS HEPATICA
Q13-3710	AMILOIDOSIS HEPATICA
Q19-5981	QUISTE HEPATICO. INFLAMACION CRONICA SEVERA.
Q08-2729	HEPATITIS DE INTERFAZ CON ACTIVIDAD LEVE, AMILOIDOSIS HEPATICA
Q09-2550	AMILOIDOSIS EN HIGADO
Q09-2704	COLANGITIS, COLESTASIS Y CAMBIOS REGENERATIVOS, AMILOIDOSIS HEPÁTICA
Q10-532	AMILOIDOSIS HEPATICA, ESTEATOSIS MACROVESICULAR GRADO II
Q11-4620	ADENOCARCINOMA MODERADAMENTE DIFERENCIADO, INVASOR CON AREAS POCO DIFERENCIADAS, AMILOIDOSIS HEPATICA
Q12-1936	CARCINOMA MIXTO (CARCINOMA HEPATOCELULAR Y COLANGIOCARCINOMA), POCO DIFERENCIADO. AMILOIDOSIS HEPATICA
Q12-4784	CIRROSIS MICRONOCULAR CON ACTIVIDAD MODERADA SIN DISPLASIA. AMILOIDOSIS HEPATICA
Q13-6694	CARCINOMA HEPATOCELULAR BIEN DIFERENCIADO, CIRROSIS HEPATICA CON ACTIVIDAD MODERADA, COLESTASIS INTRACANALICULAR, AMILOIDOSIS HEPATICA
Q14-6206	HIGADO CON CAMBIOS REGENERATIVOS, COLESTASIS INTRACITOPLASMICA, TRIADITIS MODERADA. AMILOIDOSIS HEPÁTICA
Q06-244	ADENOCARCINOMA POCO DIFERENCIADO, FIBROSIS HIALINIZADA, INFLAMACION CRÓNICA Y COLESTASIS
Q16-3465	CIRROSIS HEPATICA CON ACTIVIDAD LEVE, HEMOSIDEROSIS MODERADA. AMILOIDOSIS HEPÁTICA
A93-13	HIGADO CONGESTIVO, DATOS HISTOLOGICOS DE COLAPSO DATOS INCIPIENTES DE HIGADE CHOQUE
A93-15	INFLAMACIÓN PERIportal, HIGADO CONGESTIVO, INFLAMACIÓN MODERADA
A93-48	HIGADO EN PATRONES MORFOLOGICOS NORMALES
A93-66	HIGADO DE CHOQUE
A94-11	HIGADO DE CHOQUE
A95-48	HIGADO DE CHOQUE

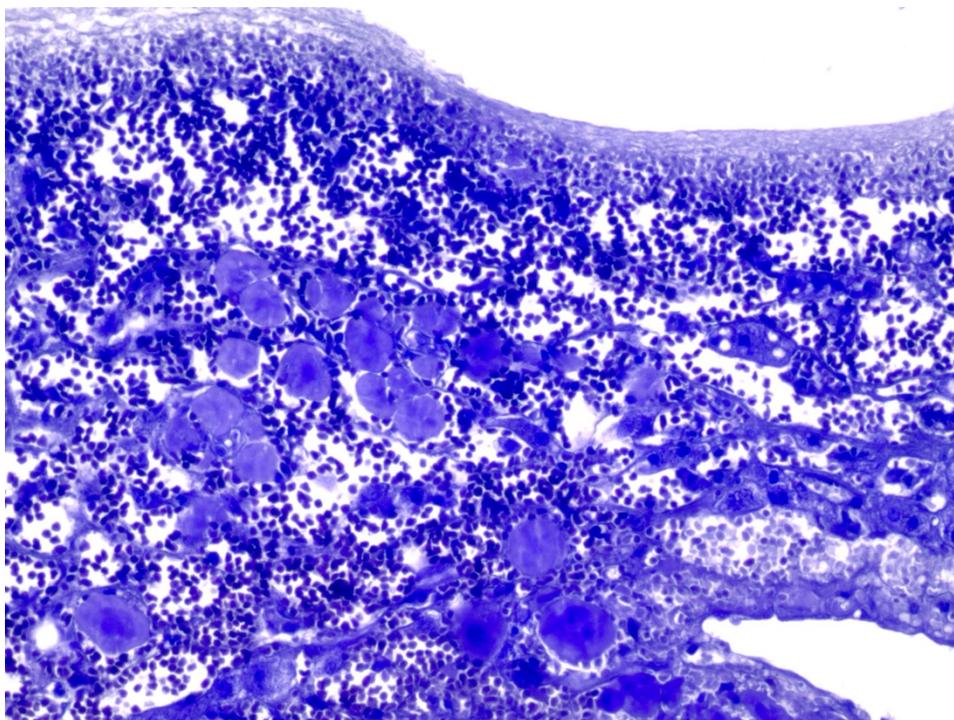
A00-33	HIGADO EN PATRONES MORFOLOGICOS NORMALES
A13-34	INFLAMACIÓN PORTAL Y NODULOS DE RGENERACIÓN. FIBROSIS GRADO 1
A00-26	FASES INICIALES DE HIGADO DE CHOQUE
A08-30	INFLAMACION PERIportal.
Q11-2694	AMILOIDOSIS HEPATICA

Medición cualitativa

Tras la obtención del material del archivo de patología, se evaluaron las tinciones de histoquímica que se emplean de manera rutinaria para tejido hepático (hematoxilina y eosina, PAS, tricromico de Masson, Rojo Sirio) y tinciones de histoquímica específicas para identificación de amiloide (Rojo Congo y Cristal Violeta). Se corroboraron los diagnósticos del material evaluado, que se enlistan a continuación:

Figura 4: tinciones de histoquímica empleadas en el INCNSZ para la observación de amiloide en parenquima hepático: tinción de Rojo Congo 200x, positividad de amiloide con color rojo ladrillo. Tinción de cristal violeta 100x, positividad de amiloide, adopta color magenta (metacromasia).





De acuerdo al patrón histológico adoptado por el depósito, que se evaluó de mejor manera con las tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica para descartar artificios que pudieran haber generado confusores. Se realizó una tabulación de los compartimentos más comúnmente afectados: periportal, sinusoidal, pericentral, subcapsular, depósito vascular e intracitoplasmico; se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 3: medición cualitativa del depósito de amiloide globular LECT2; se realizó de acuerdo al compartimento afectado, valorable por microscopía de luz con empleo de inmunohistoquímica para LECT2. La amplia mayoría con más de un compartimento afectado.

Caso / Localización	Periportal	Sinusoidal	Pericentral	Subcapsular	Vascular
Q17-2874	X	X		X	X
Q17-4723	X		X		
Q18-5651	X	X			X
Q18-9265	X	X	X		
Q19-807	X	X	X		X
Q19-1526	X	X			X
Q19-7764		X		X	
Q20-1223	X	X		X	X
Q18-2493	X			X	
Q19-5357	X	X		X	
Q15-5478	X		X		X

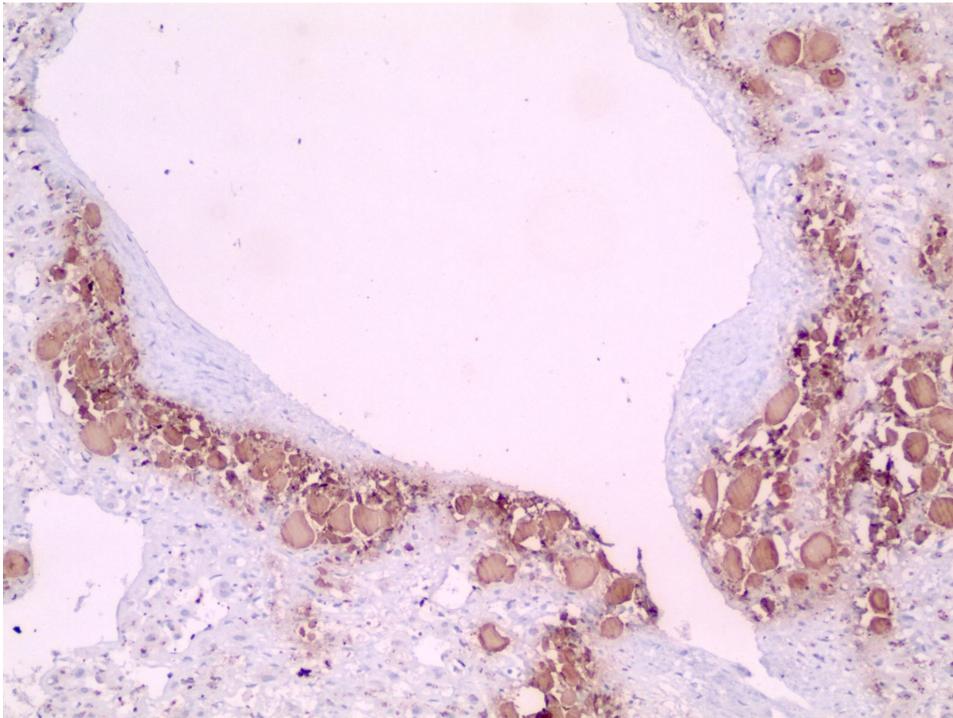
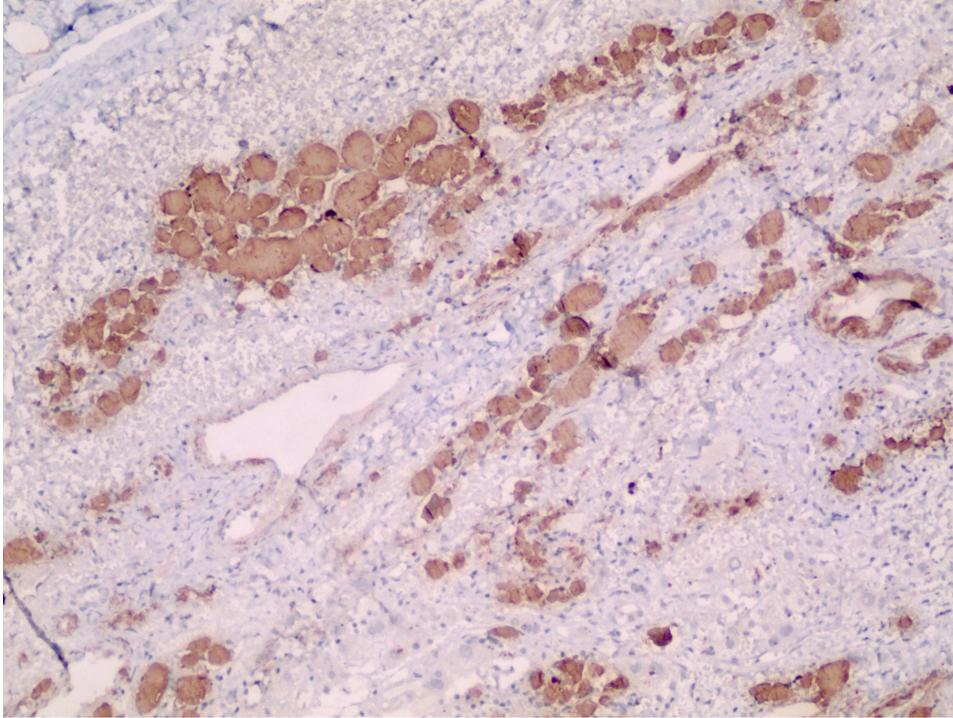
Q18-5647	X	X			
Q18-8931	X	X	X		X
Q17-7830				X	
Q17-3376	X				X
Q19-5981				X	X
A93-13	X		X		X
A93-15	X	X	X		
A93-48					
A93-66	X		X		X
A94-11					
A95-48	X		X		
A96-05					X
A98-34	X				
A00-26	X				
A00-33			X	X	
A08-30	X	X	X		
Q08-2729	X	X	X		X
Q09-2550		X			
Q09-2704	X	X		X	
Q10-532	X				X
Q11-4620		X			X
Q12-1936			X		X
Q12-4784	X		X		X
Q13-6694	X				X
Q14-6206	X	X	X	X	X
Q16-3465	X	X		X	X
Q11-2694	X	X	X		

La disposición del depósito es de predominio periportal (28 de 38 casos), de manera independiente a la cantidad de depósito o patología de base, de predominio en el área de interfaz, con componente en ambos lados de la membrana basal que separa la triada portal de los hepatocitos del área 1 de Rappaport.

Disposición sinusoidal: observado en 19 de los casos, corresponde a un depósito con asociación a aquellon con mayor cantidad, mayor nivel de desorganización estructural del acino hepático, áreas de regeneración e inflamación asociada; específicamente en los casos con mayor cantidad de depósito (>20% en mediciones con morfometría), el amiloide globular llega a sustituir el parenquima hepático, se asocian áreas de regeneración tisular (caracterizado por hepatocitos binucleados, trabeculas hepáticas de dos y tres hepatocitos, cuerpos de Mallory).

Figura 5: Metodo de analisis cuantitativo en las laminillas de inmunohistoquímica para LECT2.

A. selección de campo con positividad para amiloide LECT2, bajo 100 aumentos y se realiza evalua el compartimento tisular con depósito de amiloide.



Disposición pericentral: observado en 16 casos, por medio de tinciones de histoquímica rutinarias resulta ser el de mas difícil distinción, por ser un deposito de menor cantidad y menor tamaño en comparación con las otras formas descritas; por medio de inmunohistoquímica fue posible su

caracterización, y como hallazgo, se observo el deposito del mismo en las fibras elasticas que componen la vena central, adoptando una forma similar a la que tiene la estructura de la misma. Disposicion subcapsular: tras haberse encontrado en piezas de patologia quirurgica designadas como quiste hepático, la busqueda del amiloide en esta ubicación fu posible demostrase material de biopsias y explantes, aun que en menor cantidad en relación a los primeros nombrados. Adopta una ubicación entre las fibras de colageno de la capsula de Gleason y los hepatocitos subsecuentes, en ocasiones con infiltrado inflamatorio abundante.

Vascular: pudo observarse la dispocición del amiloide LECT2 depositado la pared vascular de los multiples elementos observados en el hígado (en orden decreciente de observación vena central, vena porta y arteria hepática), en ocasiones con una formación parcialmente circunferencial, mejor observado con el uso de inmunohistoquímica (PRECIPITACIÓN DEL AMILOIDE). Hacer mención que dicho hallazgo fue mas frecuente en casos con estadio terminal funcional del parenquima (cirrosis hepática), en los que el amiloide se observa en cantidad de escaso a moderado, pero es mejor caracterizado en los septos que conforman los lobulos de regeneración y los elementos vasculares entre estos.

Inflamacion asociada

Comúnmente asociado al deposito de amiloide, era común observar infiltrado inflamatorio, (en 16 de 38 casos), con las siguientes características:

De componente mixto, con predominio mononuclear, linfocitos de aspecto maduro, y en menor medida células plasmáticas, mastocitos, eosinofilos y polimorfonucleares.

Mayor presencia de células inflamatorias en casos con mayor cantidad de amiloide globular depositado

Infiltrado inflamatorio presente en asociación con amiloide globular sin aparente año tisular directo (observable en hígado por hallazgo de cuerpos acidofilos, degeneración de ductulos biliares y daño de endotelio).

Como parte de la valoración cuantitativa y cualitativa, se recurrió a tinciones de histoquímica para caracterizar mejor el amiloide, pues en las tinciones llamadas de “rutina” para valoración de parénquima hepático, no es posible distinguir de manera adecuada el componente globular o puede ser confundido con elementos morfológicos de aspecto similar (depósitos de colágeno, citoplasma con abundante glucógeno de los hepatocitos, cuerpos de lafora, células de kupffer activadas). Se obtuvo la positividad para el componente amiloide con las tinciones de Rojo Congo (que se sometió a microscopia con luz birrefringente, con positividad a la misma) y con tinción de cristal violeta (positividad en color magenta).

Cambios histológicos de daño al parénquima:

El parénquima hepático tiende a generar respuestas homogéneas respecto al daño independientemente del estímulo que genera el mismo, generalmente reflejado con patrones histológicos reconocidos y actualmente estandarizados y gradificados; por lo tanto, dichos patrones que se describirán en los tejidos siguientes no son específicos asociados a la amiloidosis, pero si es conveniente su valoración. Cabe mencionar que, en aquellos pacientes con comorbilidades previas con afección al parénquima, la valoración del daño, vuelve la sensibilidad y especificidad menor.

Colestasis:

Los cambios estructurales en el parenquima hepático conllevan una historia natural que de manera general, independientemente del estímulo condicionante, culminan en la fibrosis hepática y en su estadio terminal o cirrosis. Este mecanismo de daño está relacionado con la respuesta a procesos inflamatorios, y por la temporalidad de los hechos, no es posible autolimitar si el estímulo fisiopatológico no se limita, condicionando una respuesta exagerada y cambios permanentes en la estructura hepática. La distorsión del parenquima conlleva además de daño al hepatocito, daño a los elementos que componen los ductos biliares, en ocasiones con respuesta proliferativa, formando estructuras no permanentes a las que no les es posible cumplir el objetivo del transporte de bilis por el parenquima hepático, condicionando reacción ductular y colestasis intracanalicular y si persiste el daño, el acumulo de depositos biliares intracitoplasmico.

Este hallazgo no es característico, fue observado en 9 de los 38 casos, además debe mencionarse que en 6 de los casos anteriormente mencionados, el cambio histológico puede ser explicado por afección adicional al hallazgo de amiloide (procesos que condicionan obstrucción del flujo biliar, como metastasis hacia hígado o daño a vía biliar de manera yatrogenica).

Valoración inmunohistoquímica

El tipo de amiloidosis fue posible evaluarlo con técnicas de inmunohistoquímica, realizado en el tejido fijado en bloques de parafina, con los inmunoreactivos para componente P, cadenas ligeras lambda y kappa, (Dako, Carpinteria, CA), en los casos que se cuenta con material disponible.

Todos los casos en los que fue posible la identificación del material de aspecto amiloide, en las tinciones llamadas de rutina, permitieron la correcta identificación del material, para posteriormente caracterizarlo con tinciones de histoquímica (rojo Congo con birrefringencia negativa, bajo microscopia con luz polarizada) y el empleo de inmunohistoquímica.

Se encontraron múltiples casos designados como amiloidosis de tipo no globular en tejido hepático, entre las de mayor prevalencia, las amiloidosis asociadas a discrasias de células plasmáticas (amiloidosis AL), amiloidosis asociada a trastornos inflamatorios / reumatológicos crónicos (amiloidosis AA), y un caso asociado a amiloidosis de transtiretina (ATTR) con afección hepática. Dichos casos no fueron incluidos en la realización de dicho estudio.

Todos los casos positivos para amiloidosis globular correspondieron a casos internos del instituto, que se beneficia al ser un centro de referencia nacional; de suma relevancia es este dato, pues encontrar pacientes con la afección es idóneo, al ser la población con mayor prevalencia de este tipo de amiloidosis.

Análisis cuantitativo

Análisis morfométrico:

Morfometría se refiere al análisis cuantitativo de la forma, un concepto que abarca el tamaño y la forma. El hecho de medir forma y tamaño separadamente no significa que se pierda alguna información sobre las relaciones entre ellas. La definición de forma menciona a la escala como uno de los efectos a removerse para extraer las diferencias en forma entre dos configuraciones. La implicación de esto es que la escala proporciona una definición de tamaño, que es independiente de la definición de la forma.

La presencia per se de amiloide en muchas ocasiones se puede considerar no deletérea; los cambios estructurales relacionados con la fisiopatología de la amiloidosis, independientemente del subtipo están estrechamente relacionados con la cantidad de material depositado en el espacio extracelular, como ya se ha mencionado condiciona alteraciones mecánicas, disfunción de las células que lo rodean, cambios inflamatorios por el intento de degradación del material y en ocasiones isquemia, por la dificultad que implica la irrigación de un tejido sustituido por un material no vital.

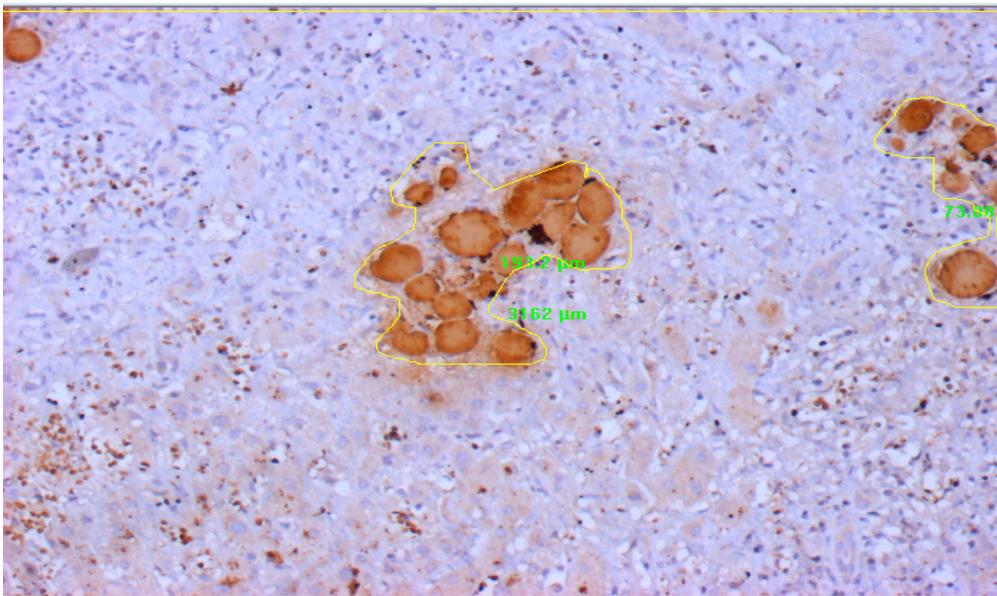
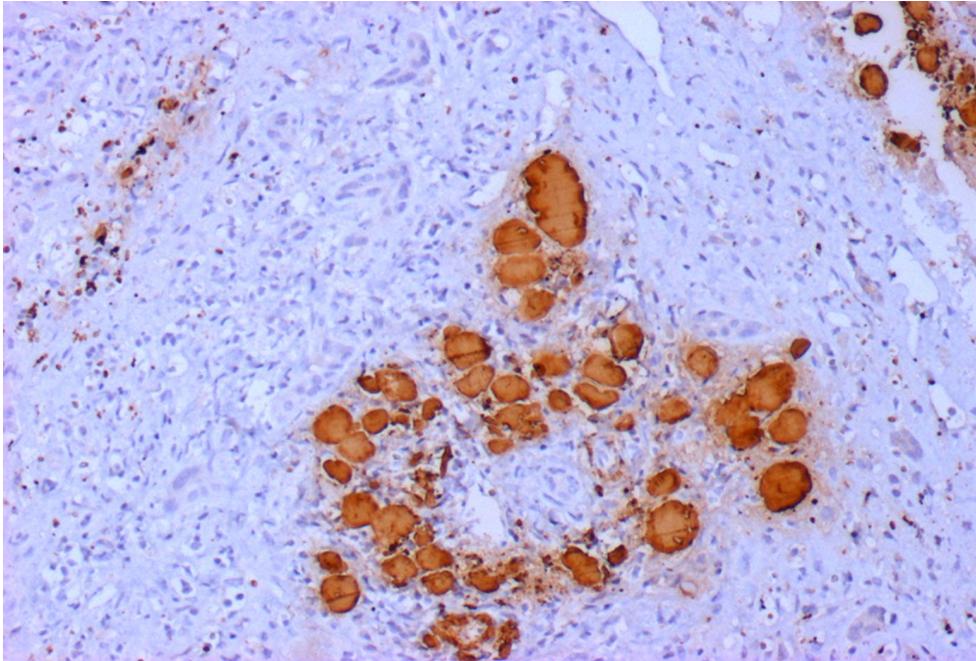
Metodología

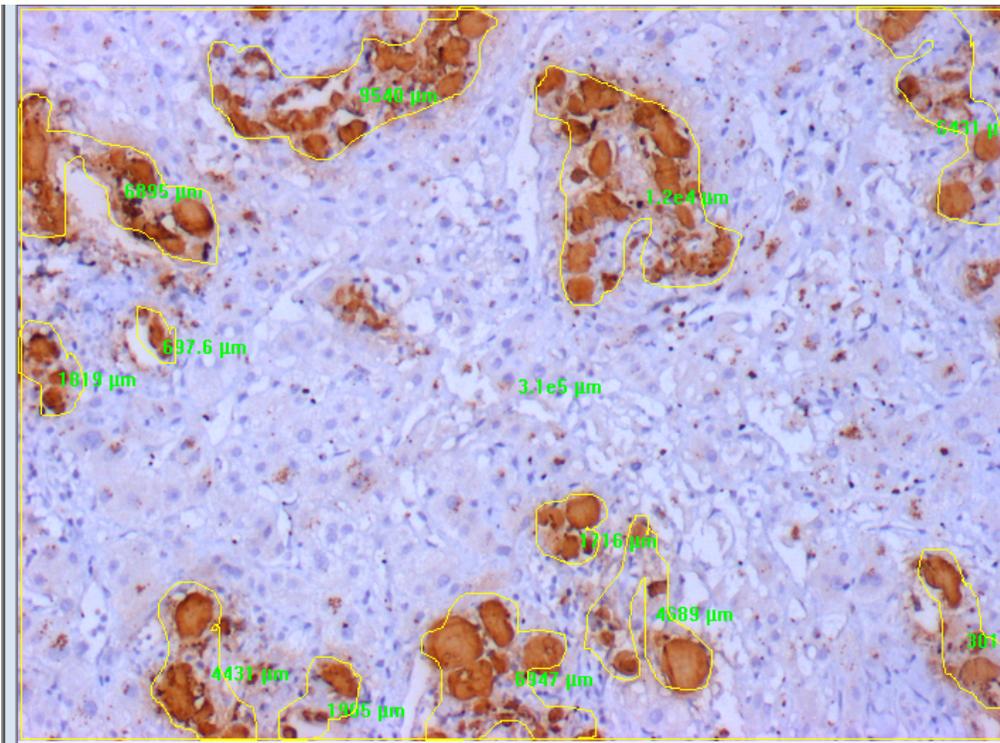
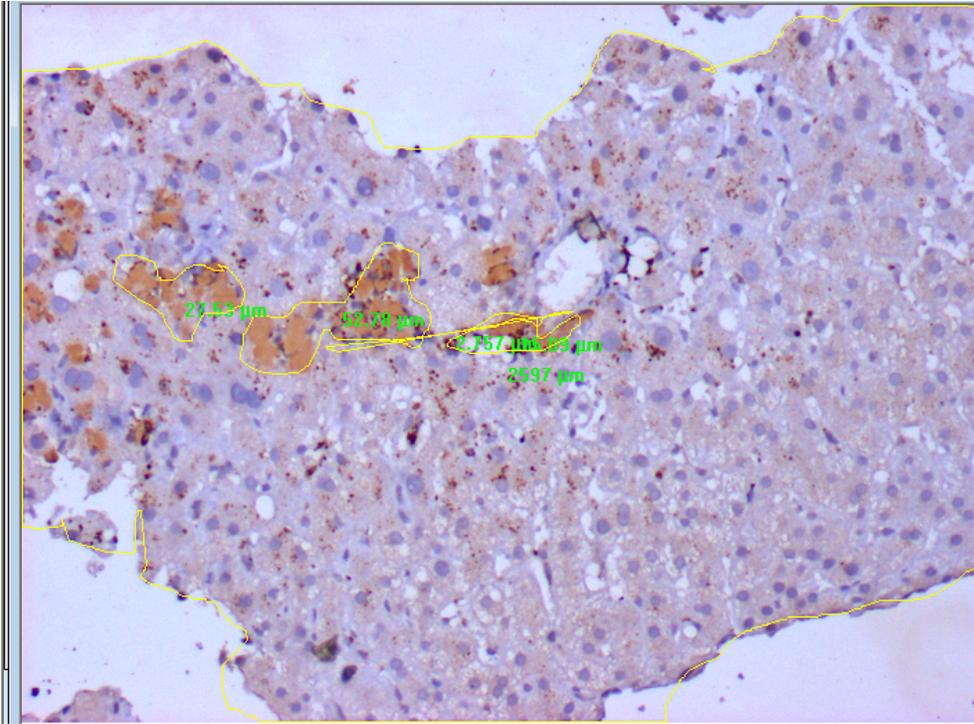
Se realizó una medición morfométrica, con el software Image-Pro Express versión 6.3, con las siguientes constantes para medición de área:

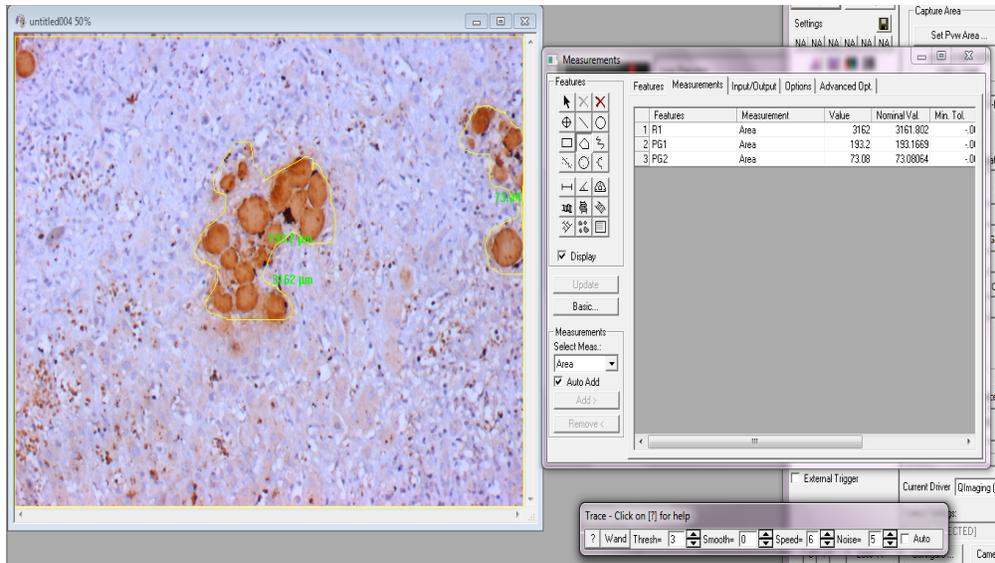
- a. En campos con aumento de 100X se hace la evaluación de las laminillas con inmunohistoquímica positiva con LECT2, seleccionando como campo inicial alguno que pueda ser considerado “hotspot”.
- b. Se realiza medición del área total del campo con tejido viable, evaluable.
2. Se realiza medición del área ocupada por depósito de amiloide LECT2
 - a. Se realizan mediciones de 10 campos seguidos al campo inicialmente elegido (en búsqueda de evitar sesgo por elección de aquellos con mayor cantidad del depósito).
 - b. Se obtiene el porcentaje del área total que se encuentra ocupado por el depósito de amiloide en cada uno de los campos valorados
 - c. Se realiza un promedio de las 10 mediciones realizadas y se obtiene un porcentaje estimado de área ocupada por el amiloide.

Notas: dos de los casos anteriormente mencionados no contaron con un área suficiente para realizar la medición en 10 campos (se evaluarón 8 en cada uno de ellos), directamente asociado con la naturaleza del tejido evaluado (biopsias por aguja de corte).

Figura 6: metodología para evaluación morfométrica de amiloide. Se eligió un campo con presencia de amiloide LECT2, posteriormente se realizó la medición de área total y del área ocupada por depósito de amiloide; se midieron 10 campos consecutivos, independientemente a la presencia de amiloide y finalmente se obtuvo un promedio del tejido ocupado por el depósito de amiloide.







Se realizó una evaluación y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4: obtención de promedio del área tisular ocupada por deposito de amiloide LECT2, tras medición de 10 campos, se obtuvo el promedio del valor.

CASO	PROMEDIOS
Q20-1223	4.11
Q19-5357	25.7216234
Q19-7764	10.8788259
Q19-1526	9.82893481
Q19-807	33.2425552
Q18-5651	1.98189398
Q15-5478	3.50042227
Q18-5981	21.1724153
Q13-6694	0.33388927
Q14-6206	2.90974072
Q16-3465	10.2151088
Q11-4620	1.76084659
Q08-2729	2.08328647
Q09-2550	11.4375219
Q09-2704	6.5403904
Q10-532	0.75438755
Q18-2493	28.1131761
Q17-4723	5.67115428
Q12-4784	10.1315653
Q12-1936	1.24486981
Q15-5478	3.50539146
Q17-2874	4.67755438

A93-13	18.1090179
A93-15	25.3796421
Q16-244	3.09568652
A93-66	15.9397304
A94-11	5.89402422
A95-48	2.02530072
Q13-3710	14.5721179
Q14-4858	12.5484097
Q14-8945	12.2803689
Q17-8173	7.05828014
A13-34	6.561992
A08-30	2.80347797
A00-33	2.1871866
A96-5	1.76084659
A00-26	2.08328647
Q11-2694	20.7927391

Evaluación del perfil bioquímico:

Los casos que requirieron toma de biopsia para estudio de abordaje de alteración de la función hepática tuvieron en común la afección bioquímica de tipo hepatítico, predominio de elevación de las transaminasas con valores discretos (dos desviaciones estándar promedio), y con menor frecuencia con un patrón de tipo colestásico, con elevación moderada de los valores de bilirrubinas, fosfatasa alcalina y Gamma glutamil transferasa (GGT). Respecto a la función sintética, parece corresponder a una alteración menor, pues no se tuvieron casos directamente relacionados con disminución significativa de los valores de albumina, alargamiento de los tiempos de coagulación o proteínas séricas totales, para aquellos casos en los que se contaba con el valor de los laboratorios.

La amiloidosis es un espectro amplio de entidades, que se caracterizan por el depósito principalmente en espacios intercelulares, de un material amorfo, con características ultraestructurales y bioquímicas que impiden su degradación por mecanismos fisiológicos, y cuya repercusión se relaciona con alteraciones mecánicas que impiden el funcionamiento del parénquima, en esta ocasión el hígado tiene una estructura tan organizada que requiere la organización mecánica y estructural intacta para su funcionamiento.

Evaluación por microscopia electronica

Como parte de un abordaje integral por parte del servicio de patología, se consideró evaluar el tejido positivo a amiloide globular LECT2 por medio de microscopia electronica de transmisión. Fue elegido uno de los casos con mayor cantidad de amiloide, correspondiente al caso numero 15 (con número de control interno (Q18-2493), correspondiente a una mujer de 62 años de edad, de la que se obtuvo una pieza quirurgica (enucleación de quiste hepático gigante), y en dicha pieza se pudo constatar la presencia de amilidosis LECT2 por medio de inmunohistoquímica; posteriormente con el analisis morfometrico realizado previamente para fines del presente

protocolo se pudo constatar la abundante cantidad de dicho material (28% del área total esta ocupado por material amiloide LECT2) y tras la evaluación cualitativa se hizo notar la presencia en múltiples compartimentos de la estructura del acino hepático.

Del bloque de parafina se obtuvo ex profeso la marcación para uno de los campos con mayor cantidad de depósito de amiloide globular; posterior a la extracción del tejido y su preparación en una rejilla, se observó el material:

- La observación de material amiloide, con una disposición globular, que cumple con las características clásicamente descritas en ultraestructura: disposición aleatoria de material fibrilar de espesor en rangos de 7 a 11 nanómetros, con formación de entramados electrodenso².
- El material evaluado no fue enviado al departamento de patología ex profeso para la evaluación de ultraestructura, por lo que al ser observado por microscopía electrónica, contaba con múltiples artificios para la observación en condiciones óptimas; sin embargo se pudo realizar la evaluación de manera correcta para la caracterización de la ultraestructura para el material.
- La disposición del material depositado en dos compartimentos observados: extracelular, predominantemente en sinusoides, y también observado en espacio de Disse y espacio extracelular en áreas con células inflamatorias de predominio linfocítico.
- Disposición intracitoplásmica: fue posible caracterizar la presencia de material amiloide en el citoplasma, rodeado por membrana citoplásmica, organelos (cisternas) y con moldeamiento nuclear de aquellas células en las que se encuentra ocupando el espacio intracitoplásmico. Para mejor caracterización de las células que contienen el material amiloide, se requiere caracterización con inmunohistoquímica para definir su estirpe celular, así como mayor cantidad de estudios de ultraestructura.
- El depósito de material amiloide globular LECT2 condiciona sustitución y daño tisular, asociado con la desorganización estructural del parénquima afectado, sin mencionar la inflamación relacionada al depósito del mismo.

Figura 7: Imágenes obtenidas en microscopía electrónica, a 5 mil aumentos, muestra aspecto estructural del depósito de material amiloide en sinusoides hepáticos y espacio de Disse, en yuxtaposición a material colágeno y células inflamatorias.

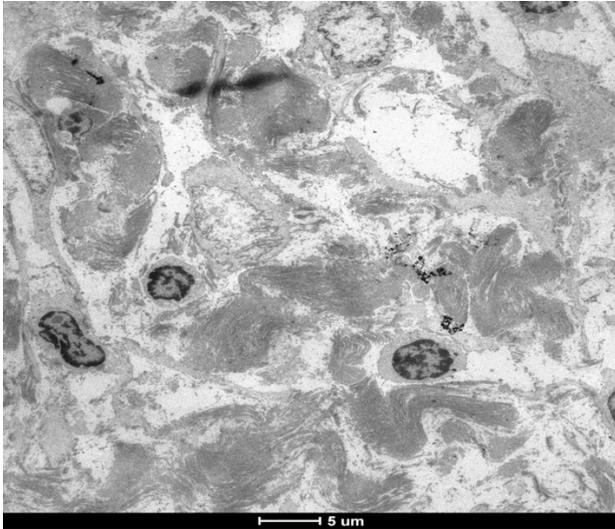
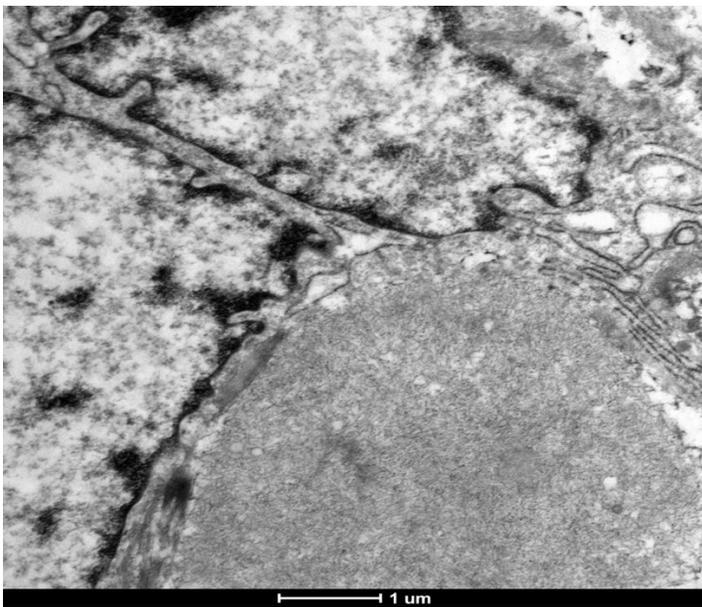


Figura 8: Amiloide visible en 60 mil a 90 mil aumentos. Imágenes de microscopía electrónica, con aumentos respectivos a 20 mil y 30 mil aumentos, muestran las características intrínsecas al depósito amiloide; fibrillas de amiloide con disposición desorganizada, sin periodicidad, que llegan a medir de 7 a nanómetros.



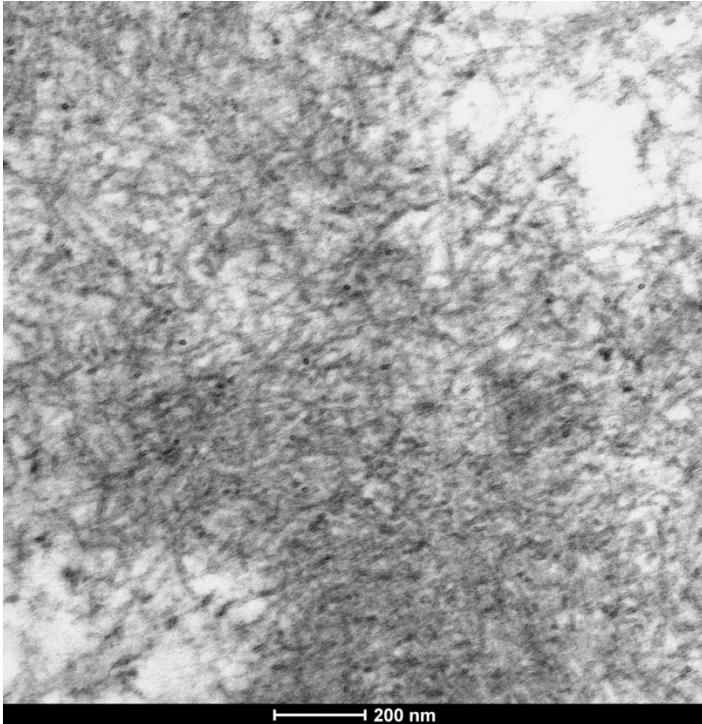
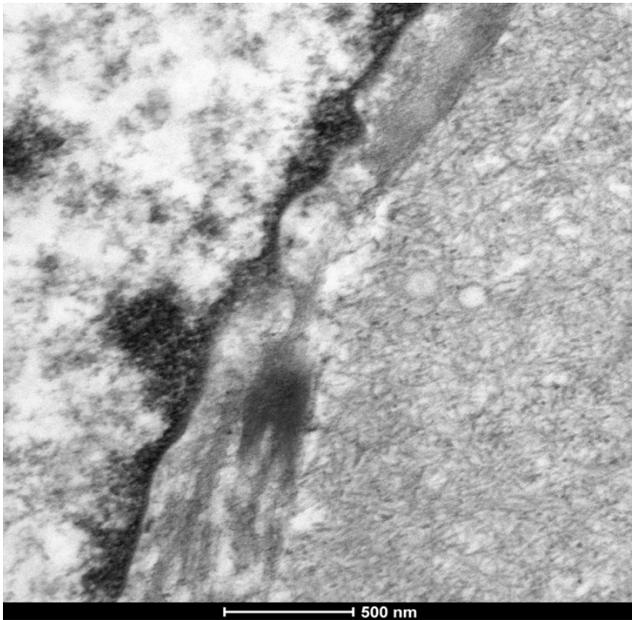
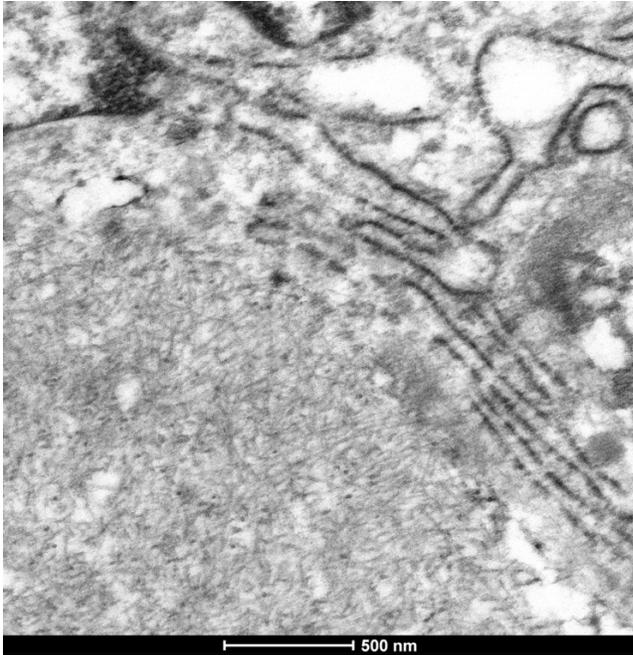


Figura 9: Imagen de microscopia electronica a 20500 aumentos, muestra deposito de material amiloide de localización intracitoplasmica, en yuxtaposición con una membrana y cisternas intracitoplamicas.





Con el estudio de ultraestructura fue posible demostrar la disposición en los distintos compartimentos celulares, la naturaleza del material y la presencia en este caso específico con disposición intracitoplasmica; la presencia de material amiloide en el citoplasma, rodeado por membrana citoplasmica, organelos (cisternas) y con moldeamiento nuclear ocupando el espacio intracitoplasmico. Para mejor caracterización de las celulas que contienen el material amiloide, se requiere caracterización con inmunohistoquímica para definir su estirpe celular, así como mayor cantidad de estudios de ultraestructura.

Casos con características especiales

Positividad en implante hepático: caso 7

Posterior al trasplante hepático, en un paciente masculino de 67 años, por desarrollo de cirrosis asociado a virus de hepatitis C y carcinoma hepatocelular moderadamente diferenciado, con estadificación patológica pT2N0MX; seguimiento por 12 años posterior a THO; en los 5 años posteriores al mismo con elevación moderada de las enzimas hepáticas, sin alteraciones agregadas, es en las últimos seguimientos que los valores se han llegado incluso a duplicar; se ha descartado recurrencia de virus hepatotropos o lesiones que pudieran estar asociadas al daño del órganos trasplantados; se decidió realizar biopsia percutánea por aguja de corte, por la elevación constante de enzimas hepáticas (patrón bioquímico hepatítico), sin alteración en los valores de bilirrubina. El hallazgo más característico, correspondió a positividad para amiloidosis globular, positiva a LECT2 con estudio de inmunohistoquímica, sin datos morfológicos que sugieran posibilidad de rechazo o alteraciones vasculares concomitantes.

Durante sus citas de seguimiento se hace constatar la elevación de fosfatasa alcalina hasta dos desviaciones estandar por encima de los valores normales y por estudios de imagen no invasivos (fibroscan), se ha asignado un valor de F3 en el último estudio; notas clínicas sugieren asociación de amiloidosis con la progresión del grado de fibrosis en el implante, pues no fue posible encontrar

otra etiología que explicara dicha asociación. La norma a seguir en dicho paciente ha sido comntada de manera verbal como una biopsia subsecuente si persisten dichas anomalías.

Casos asociados a quistes hepáticos, casos 14-18

Tras la evaluación de dos casos con positividad para amiloidosis globular, en piezas quirúrgicas designadas como enucleación de quistes hepáticos, se decidió realizar la búsqueda del mismo material en los especímenes quirúrgicos en el archivo de patología; se evaluó las tinciones de rutina de los casos de quistes hepáticos; se encontraron 32 casos con los siguientes criterios diagnósticos: quiste hepático, quiste hepático simple, segmentectomía de lobulo hepatico por quiste gigante:

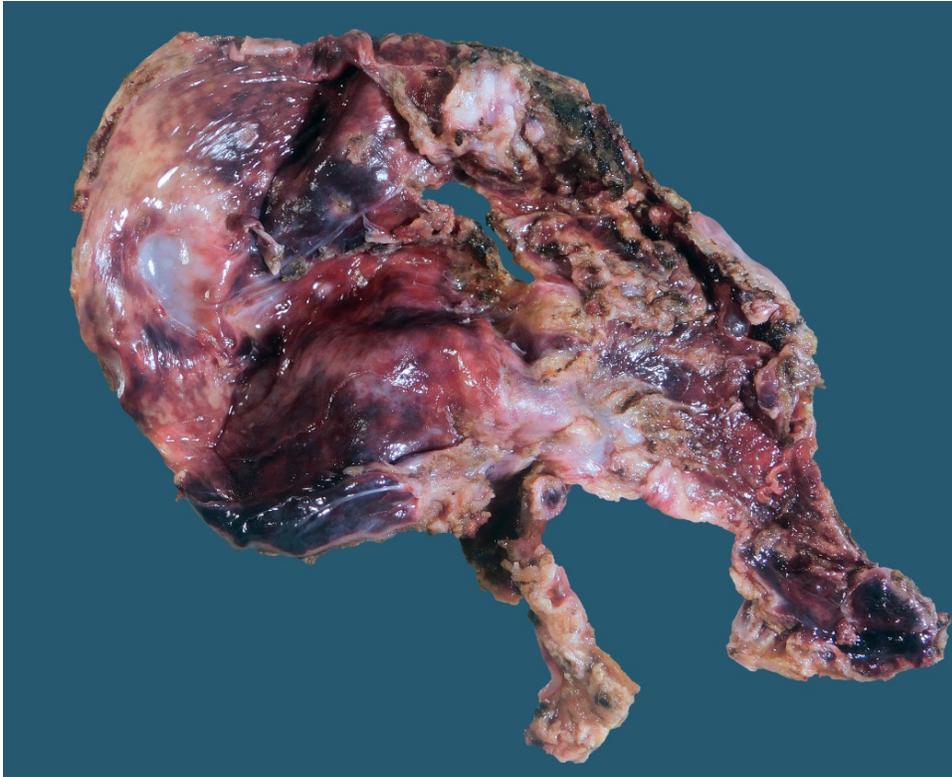
- Quiste hepatico simple: 21 casos
- Quiste hepático asociado a infección por *Echinococcus granulosus*: 6 casos
- Quiste gigante fenestrado: 5 casos

Se realizó evaluación similar al resto de las piezas de patología quirurgica, con especial énfasis en las tinciones de histoquímica y hallazgos morfológicos y pudo ser constatada la positividad para cuatro casos designados con dichas características, 3 de ellos en casos asociados con quistes gigantes fenestrados y un caso catalogado como quiste simple; se corroboró el hallazgo con reacciones de inmunohistoquímica.

Caso 20: se muestra imagen. corresponde a una paciente de sexo femenino, de 62 años, con inicio insidioso de dolor en hipocondrio que fue incrementando de intensidad, al abordaje se realizó estudio de imagen en el que se evidenció la presencia de un quiste uniloculado, de 7.9 cm, que comprimía, se decidió realizar la enucleación, por los cambios en los estudios de imagen, se recibió espécimen quirúrgico (mostrado en la imagen)

Resalta la abundancia de amiloide globular, con localización en prácticamente todos los compartimentos del acino hepático; otro de los hallazgos característicos es la abundancia de localización subcapsular, el abundante componente inflamatorio, así como la desorganización estructural que conlleva la presencia del amiloide.

Figura 10: Imagen macroscópica de un quiste gigante fenestrado, positivo para depósito de LECT2; resalta el tamaño mayor a 10 cm de diámetro, el atrapamiento de parénquima hepático y la presencia de múltiples nódulos con restos hemáticos.



Casos asociados a lesión de vía biliar benigna:

El INCNSZ es un centro de referencia nacional en el estudio y tratamiento de pacientes con lesiones de vía biliar benigna, precisamente hablando de lesiones iatrogenas que se clasifican según la escala de Strasberg, posteriormente los pacientes son valorados de acuerdo a la necesidad de realizar un procedimiento quirurgico reparativo de vias biliares; durante el transcurso de la cirugía se envia al servicio de patologia, biopsias en cuña de parenquima hepático o de vias biliares para valoración del estado de fibrosis, esteatosis o por sospecha de comorbilidades que pudieran tener efecto inmediato en el pronostico post operatorio.

Fue posible identificar tres casos (3/38) de pacientes con los siguientes características:

- Masculino de 62 años, mujer de 40 años, femenino de 64 años
- Pacientes sin antecedentes patologicos que involucraran afección hepática; de manera esperada, los tres con antecedente de coledocolitiasis, procedimientos quirurgicos previos con lesion iatrogena de via biliar, con progresión de la ictericia y del estado de fibrosis hepática que requirieron intervención quirurgica.
- Los hallazgos morfologicos mas significativos y comunes a los casos mencionados: estados avanzados de fibrosis, un caso clasificado como F3 y dos casos catalogados como cirrosis, la colestasis intracanalicular e intracitoplasmica; respecto al deposito de amiloide, los tres casos con abundante cantidad e inflamación asociada.

resulta en aquellos casos con abundante cantidad de amiloide globular, so aquellos con mayor afectación funcional; los casos se enumeran a continuación, con los cambios histológicos mas representativos

TABLA 5: casos con mayor cantidad de deposito de amiloide LECT2 en tejido hepático (>20% del área medida por medio de morfometría)

Caso	Alteración histológica mas representativa
A93-15	Infiltrado inflamatorio moderado, areas de remodelacion, y desorganizazion sinusoidal, cantidad moderada de amiloide globular
Q11-2694	Cantidad abundante de amiloide globular, asi como deposito linear de amiloide en los sinusoides, distorsión de los sinusoides, sin cambio inflamatorio
Q18-2493	Abundante cantidad de amiloide globular, condiciona desorganizacion sinusoidal, datos de regeneracion, formación de quistes intraparenquimatosos.
Q18-5981	Cantidad abundante de amiloide globular, de predominio subcapsular, asi como infiltrado inflamatorio asociado.
Q19-807	Abundante cantidad de amiloide globular, condiciona desorganizacion sinusoidal, datos de regeneracion, inflamacion moderada de predomio linfocitico.
Q19-5357	Abundante cantidad de amiloide globular, condiciona desorganizacion sinusoidal, datos de regeneracion, formación de quistes intraparenquimatosos.

Otro de los hallazgos mas representativos corresponde al caso ..., en el cual el hallazgo de amiloidosis globular positiva para lect2 en inmunohistoquímica, sucedió en el órgano trasplantado,

Determinar la presencia de amiloidosis globular constituía un hallazgo incidental sin compromiso clínico, ni siquiera considerado como algo que deba reportarse ni identificarse. Es por eso que uno de los objetivos es identificar efectos deletéreos que puedan ser atribuidos directamente a la presencia de amiloide

En los casos de amiloidosis AA y AL con deposito en tejido hepático, el daño asociado esta directamente relacionado con la respuesta inmune que conlleva la presencia de este, así como la consiguiente desorganización estructural que conlleva su presencia. Parte de la fisiopatogenía que pertenece a este heterogéneo grupo de entidades comparte una vía de daño tisular que termina por generar la disfunción orgánica, atrofia y apoptosis.

Los principales cambios histológicos que fueron posible identificar con relación a la presencia de amiloide son los siguientes:

- Inflamación crónica en los sitios con abundante deposito de amiloide globular
- Fibrosis asociada a deposito de amiloide, de grado 2
- Desorganización estructural, de predominio periportal, pero también observada en aquellos sinusoides positivos al deposito de amiloidosis.
- Inflamación periportal linfocítica: cambio no especifico, es observado en múltiples entidades, por excelencia en la hepatitis crónica por virus hepatotropos.

Discusión

El paradigma actual para el entendimiento de las enfermedades, esta relacionado al entendimiento de la fisiopatología, pero con un enfoque multifactorial, pues son pocas las entidades que actualmente pueden ser explicadas de manera simplista por un unico factor causa y las enfermedades que aquejan al tracto gastrointestinal, especificamente al hígado, no son la excepción. El conocimiento sobre las hepatopatias ha avanzado a pasos agigantados, desde que se ha podido hacer un abordaje integral que incluye el abordaje clínico, estudios auxiliares, estadística poblacional e incluso el uso de tecnicas de biología molecular.

Desde los modelos propuestos por Leavell y Clark para describir la historia natural y social de la enfermedad y los niveles de prevención, corresponde a los primeros niveles enunciados, el conocer la predisposición al daño, directamente relacionado con la pertenencia a un grupo poblacional y etnico, ha permitido generar estrategias de estudio y prevención directamente en el periodo prepatogenico de la historia natural de la enfermedad, aun si con las herramientas diagnosticas y terapeuticas actuales no es posible mitigar el daño a nivel celular producido por multiples entidades, el conocimiento y la integración de la información nos permitirá en un futuro realizar abordajes mas completos.

La generación de estadística es un paso inicial para el conocimiento y la divulgación de las nuevas entidades descritas, en un estadio inicial en la comprensión de la misma. En el presente estudio se emplearon las herramientas diagnosticas disponibles en un centro de referencia nacional para el estudio del deposito de amiloide, en un estudio transversal, con el objetivo de realizar futuras colaboraciones con servicios que involucran manejo directo de pacientes, para realizar estudios de carácter longitudinal, esperando un mejor entendimiento y definición de la historia natural de la enfermedad, en sus etapas patogenicas y de resolución de acuerdo al modelo de Leavell y Clark.

La correlación de las variables clínicas debe ser reforzada en futuras colaboraciones que involucren a los servicios tratantes, con especial énfasis en la repercusión bioquímica medible en los pacientes afectados, para poder definir los probables estados prepatogenicos y patogenicos, y la correlación con las hepatopatias de base en pacientes con diagnóstico de las mismas.

Por ultimo, respecto al abordaje del servicio de anatomia patologica, se emplearan recursos auxiliares diagnosticos para la mejor caracterizacion del amiloide en el tejido hepático, que involucre realizar mayor cantidad de medición con estudios de inmunohistoquímica de doble o triple marcación y mayor esfuerzo con estudios de ultraestructura, para el entendimiento a nivel celular de la afección hepática.

Conclusión

La amiloidosis globular corresponde a una entidad relativamente poco conocida por el gremio médico, pero de mayor relevancia es el desconocimiento por los patólogos quirúrgicos, al punto que, en un centro de concentración nacional para el estudio de las hepatopatías, se empezó a considerar dicha entidad hasta hace 10 años aproximadamente que se empezó a reportar de manera adecuada, no únicamente como un hallazgo incidental, y más como una entidad nosológica. Cabe recalcar que se han hecho esfuerzos por su mejor caracterización, no solamente en el estudio de las muestras de patología quirúrgica y postmortem en tejido hepático, pues se reporta su hallazgo en patología renal, patología de trasplantes y patología postmortem en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición.

Se han descrito formas de amiloidosis no deletéreas, o con mínima repercusión clínica, siendo la más representativa la forma pancreática, por la secreción de amiloide en los acinos pancreáticos, sin embargo, la amplia mayoría de los depósitos de este material conllevan la repercusión clínica, que no se limita a un órgano específico, más bien a una amplia gama de órganos y sistemas para su localización. Una de las características de esta entidad es la posibilidad de generar interferencia entre las uniones celulares entre los hepatocitos componentes de los sinusoides hepáticos. La alteración estructural y mecánica que se genera por el depósito de amiloide, repercute en la función hepática, y se plasma de manera clínica con alteraciones en las pruebas de función hepática.

La descripción del amiloide globular tuvo primer lugar en el año 1970, pero la caracterización como una proteína relacionada a función inmunológica y repercusión clínica, órgano-específica, ocurrió en el riñón, asociado con la generación de síndrome nefrótico, con patrón de depósito descrito principalmente en intersticio, glomérulo y alrededor de los vasos. La etnicidad de las series de casos mejor documentados y más robustas ocurrió en centros norteamericanos que atienden a población hispana migrante, y fue posible realizar la relación con alta prevalencia en población hispana. Se ha teorizado, que el depósito de LECT2 sea secundario a algún tipo de daño del medio ambiente o por un factor genético aun no identificado. Todos los casos presentados anteriormente cumplen con la característica de ser de población hispana, por lo que la población anteriormente mencionada es el muestreo más amplio.

Corresponde al médico anatomopatólogo su identificación y caracterización; una amplia ventaja para dicha tarea en esta entidad en una disposición y estructura que se podría considerar característica, pues la formación de agregados globulares tiende a ser un aspecto que no es visto en otras formas de amiloidosis, como se demostró en el trabajo anteriormente presentado (por inmunohistoquímica, ningún tipo de amiloidosis globular tuvo otro tipo de composición).

Otro de los hallazgos más significativos en el trabajo anteriormente mostrado, corresponde a los casos con asociación a quistes hepáticos, con características clínicas similares entre dichos pacientes. Ninguno de ellos cuenta con antecedentes de alguna entidad clínica que predisponga a la formación de quistes hepáticos; clínicamente son lesiones únicas, uniloculadas, son contenido hemorrágico; en la base de la formación de la lesión, con abundante infiltrado inflamatorio, de tipo linfocítico.

Referencias bibliográficas

1. Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *The Lancet*. 2016;387(10038):2641-2654. doi:10.1016/S0140-6736(15)01274-X
2. Picken MM. The pathology of amyloidosis in classification: A review. *Acta Haematologica*. 2020;143(4):322-334. doi:10.1159/000506696
3. Hazenberg BPC. Amyloidosis. A clinical overview. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2013;39(2):323-345. doi:10.1016/j.rdc.2013.02.012
4. Sack GH. Serum amyloid A - A review. *Molecular Medicine*. 2018;24(1). doi:10.1186/s10020-018-0047-0
5. Kyle RA, Linos A, Beard CM, et al. *Incidence and Natural History of Primary Systemic Amyloidosis in Olmsted County*.; 1950. <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/79/7/1817/607370/1817.pdf>
6. Buck FS. *Hepatic Amyloidosis: Morphologic Differences Between and AA Types*.; 1991.
7. L'Hermitte A, Pham S, Cadoux M, et al. Lect2 Controls Inflammatory Monocytes to Constrain the Growth and Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*. 2019;69(1):160-178. doi:10.1002/hep.30140
8. Chandan VS, Shah SS, Lam-Himlin DM, et al. *Globular Hepatic Amyloid Is Highly Sensitive and Specific for LECT2 Amyloidosis*.; 2015. www.ajsp.com
9. Nasr SH, Dogan A, Larsen CP. Leukocyte cell-derived chemotaxin 2-associated amyloidosis: A recently recognized disease with distinct clinicopathologic characteristics. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;10(11):2084-2093. doi:10.2215/CJN.12551214
10. Agaram N, Shia J, Klimstra DS, et al. Globular hepatic amyloid: A diagnostic peculiarity that bears clinical significance. *Human Pathology*. 2005;36(7):845-849. doi:10.1016/j.humpath.2005.05.010
11. Wang Y-D, Zhao C-Y, Yin H-Z. *Primary Hepatic Amyloidosis: A Mini Literature Review and Five Cases Report CASE REPORT*. Vol 11.; 2012.
12. Makhoulf HR, Goodman ZD. *A Study of 20 New Cases*.; 2007.
13. Yamagoe S, Akasaka T, Uchida T, et al. *Expression of a Neutrophil Chemotactic Protein LECT2 in Human Hepatocytes Revealed by Immunochemical Studies Using Polyclonal and Monoclonal Antibodies to a Recombinant LECT2*. Vol 237.; 1997.
14. Slowik V, Apte U. Leukocyte Cell-Derived Chemotaxin-2: It's Role in Pathophysiology and Future in Clinical Medicine. *Clinical and Translational Science*. 2017;10(4):249-259. doi:10.1111/cts.12469
15. Ebert EC, Nagar M. Gastrointestinal manifestations of amyloidosis. *American Journal of Gastroenterology*. 2008;103(3):776-787. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01669.x
16. Damlaj M, Amre R, Wong P, How J. Hepatic alect-2 amyloidosis causing portal hypertension and recurrent variceal bleeding. *American Journal of Clinical Pathology*. 2014;141(2):288-291. doi:10.1309/AJCPCLK54RKXTRDI

