



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
División de Estudios de Post-grado

11201  
2ej4

ESTUDIOS MORFOMETRICOS EN  
PATOBIOLOGIA

*Volgo*  
**T E S I S**

Que para obtener la especialidad en  
ANATOMIA PATOLOGICA  
presenta

*Volgo Bo.*  
*R. Q.*

**ELIEZER MASLIAH MEYOHAS**

Director de tesis: Dr. Edgardo Reyes

México, D. F.

**TESIS CON  
PAGO DE CREDITO**

1986



## **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 está 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.

## PREFACIO

En general, una tesis dentro de las ciencias médicas puede tener dos tipos de formato<sup>1</sup>; uno en el que la tesis esta constituida por un trabajo de investigación científica, realizado en el transcurso de la especialidad o en alguna epoca de esta y otro en el que la tesis está diseñada, para demostrar que el candidato es capaz de "hacer" ciencia y de "escribirla". Este tipo de tesis generalmente son remitidas después de diez años de investigación, convirtiendose esta en un trabajo de revisión.

En el caso particular de este trabajo, me gustaría pensar que se trata del segundo tipo de tesis, pues como se podrá constatar al leer este trabajo, se encuentra que está integrado por tres estudios de investigación realizados en el transcurso de tres años de especialización en Anatomía-Patológica.

Cada uno de los temas de esta tesis son diferentes en cuanto a la información que de ellos emerge, sin embargo están intrínsecamente relacionados por la metodología utilizada para contestar algunos cuestionamientos científicos. La tesis está formada por tres secciones principales: I) introducción general, relacionada a las aplicaciones de la morfometría en la patología, en esta también se incluyen algunas observaciones personales concernientes al concepto de forma, II) presentación explícita de cada uno de los trabajos, dentro de los que se incluye para ellos, el título correspondiente, introducción, material y métodos, resultados, discusión y bibliografía, III) conclusiones generales y resumen.

Con respecto a los trabajos presentados en la sección II es importante mencionar que los primeros dos se llevaron a cabo por iniciativa del Dr. Ruy Perez Tamayo y se encuentran publicados en la revista latinoamericana Patología<sup>2,3</sup>; estos se iniciaron en 1983 en el Instituto Nacional de la Nutrición "S. Zubirán" y se finalizaron en 1984 durante mi estancia en el Instituto Nacional de Cancerología, el tercero se llevó a cabo en 1985, bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Ridaura, en el Instituto Nacional de Pediatría.

**REFERENCIAS**

1. Day RA. How to write and publish a scientific paper. ISI Press, Philadelphia, Second edition, 1983.
2. Masliah E, Perez Tamayo R. Necrosis hepática submasiva. Cuantificación del daño hepático y correlación con los datos clínicos. *Patología (Mex)* 23:39-46, 1985.
3. Masliah E, Perez Tamayo R. Nota sobre la histopatología de la amibiasis invasora del intestino grueso. *Patología (Mex)* 22:233-245, 1984.

INDICE

<b>PRIMERA PARTE</b>	<b>Pág.</b>
Introducción general. Los orígenes y naturaleza de la forma bajo condiciones patológicas.	1
<b>SEGUNDA PARTE</b>	
a. Necrosis hepática submasiva. Cuantificación del daño hepático y correlación con los datos clínicos.	10
b. Nota sobre la amibiasis invasora del intestino grueso.	18
c. Significado biológico de la determinación histomorfo- métrica en la tuberculosis diseminada.	31
<b>TERCERA PARTE</b>	
Conclusiones finales	43

## INTRODUCCION GENERAL

Fue Rutherford, quien alguna vez mencionó que: "lo cuantitativo nos es mas que pobre cuantificación" ( Quantitative is nothing by poor quantitative), resulta notorio de este dicho, que la mayor parte de nuestras observaciones empíricas, son únicamente una primera fase, en el proceso del conocimiento. En el caso particular de la patología, especialmente en su rama diagnóstica este ejercicio es fundamental, por lo que el joven patólogo es entrenado para reconocer formas y patrones tisulares que surgen bajo condiciones anormales y que son subjetivamente reconocidos tanto macroscopicamente como microscopicamente. Sin embargo la descripción cuantitativa de las imágenes no es llevada a cabo rutinariamente y no forma parte integral del diagnóstico diario. En parte esto se debe como lo sugieren Baak y Oort <sup>1</sup>: "a la preferencia de la mente humana a reconocer patrones y no llevar a cabo una contabilidad de los componentes, lo cual llevaría a juicios basados en impresiones que inconscientemente serían contrarias a la imagen mental del patrón normal que pudiera tener el observador". Otras causas pueden ser, la dificultad y el consumo de tiempo que implica la recolección y computación de datos morfo-métricos.

De aquí que Puebilitz señale <sup>2</sup>: "el patólogo observa la estructura de los seres fundamentales en su forma final de organización y basa esta observación en cuatro cosas: tamaño, forma, movimientos morfogenéticos y diferenciación". De las líneas anteriores se deduce claramente, que la interpretación de la forma es central para la rutina diaria del patólogo.

Pero ¿ que representa para los seres vivos la forma y cómo surge?, me parece apropiado plantear estas preguntas en este momento, antes de continuar con lo que es el análisis morfométrico, pues en general se tiene la idea de que los patrones y formas biológicas son fenómenos secundarios, los cuales ya han sido descritos suficientemente y no merecen en la actualidad mayor atención. Esta actitud se

se puede explicar en parte por el gran éxito que actualmente tiene la biología molecular y por otro lado a la concepción de la morfología como una ciencia descriptiva en la que solo se reconocen patrones preestablecidos.<sup>3</sup>

Sin embargo, en un sentido más amplio, resulta necesario reconocer, que estos patrones preestablecidos, que convencionalmente estamos instruidos a reconocer, surgen definitivamente de patrones o formas primarias, anteriores a estas, de las que muy poco se sabe. Con lo anterior no solo me refiero a los orígenes ontogenéticos y filogenéticos de la forma, sino inclusive a su concepción puramente abstracta (matemática).

La forma ha sido definida por ilustres científicos como D. Thompson<sup>4</sup>, D.H. Waddington<sup>5</sup>, y R. Thom<sup>6</sup> entre otros, no solo como la orientación espacial que adoptan las estructuras biológicas, resultado de la regulación genética sobre el citoesqueleto, sino también como un código complejo a través del cual se puede almacenar, transmitir, sintetizar y procesar información. Esta última derivada de los complejos procesos biológicos, altamente ordenados de autoorganización, que desprenden de la termodinámica no-lineal de los seres vivos<sup>7</sup>. De estas concepciones surgen estudios morfométricos basados en las modificaciones termodinámicas<sup>8</sup> y topológicas<sup>9</sup> de las formas naturales.

Desde mi punto de vista, este sería el tipo de cuantificación morfológica más profundo. Pero ésta es una meta que aún se encuentra en lento desarrollo, por los complejos problemas matemáticos que representa.

Los métodos morfométricos actuales en patología, no están diseñados para describir y reconocer formas matemáticas primarias, sino que están dirigidos a medir formas biológicas resultantes ( los patrones preestablecidos) por ser la metodología en este sentido, relativamente más sencilla y accesible al patólogo, gracias al desarrollo tecnológico contemporáneo y por ser los resultados de utilidad práctica inmediata.

Si bien el término de "morfometría", estrictamente se refiere a la cuantificación de la forma <sup>10</sup>, Weibel <sup>11</sup>, quien ha sido uno de los principales promotores de esta disciplina, la define como; "morfología cuantitativa": la medición de las estructuras por cualquier método, incluyendo la estereología". La obtención de datos cuantitativos del material biológico, incluye varias técnicas y métodos (tabla 1) <sup>1,10</sup>, y la aplicación de uno varios de estos métodos depende de lo que se quiera cuantificar en ese tejido. Esto implica que la morfometría con todas sus variantes es útil y arroja nueva información, siempre y cuando se utilice partiendo de una pregunta científica previa. Como Medawar <sup>12</sup> lo apunta: " el joven científico debe tener cuidado de no utilizar la técnica por la técnica". .

Abundando brevemente en este problema, debemos recordar, que la patología es una ciencia que se ha beneficiado enormemente, de los avances en otros campos científicos y que actualmente, el patólogo ha incursionado en campos tan diversos como el de la bioquímica, fisicoquímica, biología molecular, genética, etc.. Esto motiva en ocasiones que las investigaciones biomédicas ( como es el caso de la patología ) estén relacionados con las corrientes imperantes en esa época determinada, por ejemplo; el incremento en los estudios morfométricos en parte se debe a el gran desarrollo en la tecnología de computadoras, sin embargo no siempre es necesaria la tecnología mas avanzada para contestar nuevas preguntas de interés científico.

Otro aspecto interesante dentro de la morfometría, es el referente a los diversos tipos de análisis estadístico (tabla 2) que se utilizan para interpretar las cifras obtenidas. Estos estudios se llevan a cabo en términos generales, por dos razones: a) para establecer la distribución estadística de los datos recopilados, en vista de que resulta imposible, aún con los equipos mas sofisticados, cuantificar todos y cada uno de los elementos de una célula, tejido u órgano, particularmente cuando se procesan cortes histológicos, donde los datos morfométricos representan

TABLA 1

Técnica y Método	Definición
<b>MORFOMETRIA</b>	la medición de las estructuras por cualquiera de los demás métodos
a. Planimetría	Análisis cuantitativo de las características de una estructura en un plano bidimensional.
b. Estereología	Conjunto de métodos matemáticos relacionados a parámetros tridimensional que se obtienen de medidas de la estructura en perfil o en cortes.
c. Cuentas de elementos	Cuantificación individual de elementos que forman parte de una estructura (e.g. mitosis, núcleos)
d. Fotometría (densitometría de barrido)	Medición de elementos que forman parte de la estructura dentro de un volumen por medio de densidad óptica
e. Procesamiento de Imágenes	Digitalización, amplificación o clasificación de la imagen computarizada de una estructura.
f. Cito(foto)metría de flujo	Medición de la intensidad luminosa de la tinción fluorescente de células en suspensión.

**TABLA 2****PRINCIPALES METODOS ESTADISTICOS  
UTILIZADOS EN MORFOMETRIA**

- 1. Análisis de elementos dispersos en una superficie**
  - a. Distribución de Poisson
  - b. Prueba de la  $\chi^2$
  - c. Pruebas para "agrupaciones" ó regularidades
  - d. Transformación de los datos a formas simétricas
- 2. Distribución normal**
- 3. Distribución t- de Student**
- 4. Distribución de  $\chi^2$**
- 5. Tablas de variación de radios**
  - a. 5% puntos distribución (F)
  - b. 1% puntos distribución (F)

el muestreo final de una cierta población de estructuras tomadas de una secuencia o jerarquía de elementos <sup>10,14</sup>. Por lo que un número mayor de cuentas implica una evaluación mas precisa <sup>15</sup>. Ha sido demostrado, que uno gana mayor precisión al usar un mayor número de muestras representativas, que por aumentar el número de observaciones en una misma muestra <sup>10,16</sup>. Por lo tanto es más adecuado contar menos puntos por micrografía en mas micrograffas, menos micrograffas por bloque de mas bloques y menos bloques por organismo en mas organismos. Este abordaje lo sumarizan Gundersen y colaboradores <sup>17</sup> con la frase "Do more less well". Las limitaciones de este procedimiento son ajustadas por el tratamiento estadístico, con el que es posible predecir la distribución de los datos en grandes volúmenes de Información, y b) establecer la significancia estadística entre sí, de los diversos parámetros morfológicos cuantificados, ó de estos últimos con datos de otra naturaleza, como son los estudios clínicos y de laboratorio.

El tratamiento estadístico de los datos resultantes se utiliza para determinar las medias, el error standard y la significancia estadística, de las diferencias entre los grupos cuantificados <sup>10</sup>. La demostración de la significancia estadística depende de la diferencia entre las dos medias, los errores standard de estas medias y el nivel de confianza necesario <sup>18</sup>. Las ventajas principales del uso de métodos estadísticos desde las perspectivas antes señaladas, son que minimizan los falsos positivos y negativos con el resultante aumento en la sensibilidad, especificidad, eficacia y predictibilidad (tabla 3) <sup>1</sup> de los estudios. Sinembargo hay que recordar que no todos los estudios morfométricos requieren de análisis estadístico, pues algunos muestran diferencias obvias en los resultados y en otros la naturaleza intrínseca de los estudios es capaz de contestar directamente, las preguntas de las que partió la investigación.

Las aplicaciones de esta metodología en la patología por lo tanto pueden dividirse en dos: 1) aplicaciones en la investigación básica del proceso de enferme-

TABLA 3

DEFINICION Y CLASIFICACION  
DE LOS ESTUDIOS MORFOMETRICOS<sup>19</sup>

Eficiencia = %de casos correctamente clasificados =  $\frac{VN+VP}{VN+VP+FN + FP} \times 100$

Sensibilidad(positividad en enfermedad) =  $VP / VP+FN \times 100$

Especificidad =  $VN / VN+FP \times 100$

Valor predictivo de resultado negativo =  $VN / VN+FN \times 100$

Valor predictivo de resultado positivo =  $VP / VP+FP \times 100$

VN= verdadero negativo

FP= falso positivo

FN= falso negativo

VP= verdadero positivo

dad, tanto en animales de experimentación como en el material de biopsias o autopsias de humanos y 2) como un instrumento de ayuda diagnóstica tanto en patología neoplásica, como no neoplásica y en el control de calidad. En conclusión podemos decir que el aumento en el interés de utilizar los métodos morfométricos en patología se debe a su objetividad, reproducibilidad y capacidad de detectar posibles errores en la interpretación (subjectiva) inicial <sup>1</sup>.

La idea principal de la que la presente tesis parte es el de conocer objetivamente la naturaleza de los procesos de enfermedad (fundamentados para ello en la morfometría), que llevan en su desenlace final a el cuadro morfológico que es identificable histopatologicamente. Los objetivos y preguntas particulares que motivaron cada uno de los tres estudios que a continuación se presentan, están descritos en la Introducción correspondiente a cada uno de ellos.

#### REFERENCIAS

1. Baak JPA & Oort J. A manual of morphometry in diagnostic pathology. Springer-Verlag ed, Berlin, first edition, 1983.
2. Pueblitz S. Editorial. In morfometría en la anatomía patológica. Patología (Mex) 22: 229-232, 1984.
3. Wake DB. Functional and evolutionary morphology. *Perspect Biol Med* 25: 603-620, 1982.
4. Thompson D. On growth and form. Cambridge University press, Cambridge, first abridged edition, 1961.
5. Waddington CH. Form and Information. En Waddington CH. *Towards a theoretical biology*. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1972. pp. 109-145.
6. Thom R. Structural stability and morphogenesis. (translated from the french by DH Fowler). The Benjamin/Cummings Publishing Co. Massachusetts, 1975.
7. Prigogine I & Stengers I. Order out of chaos. Man's new dialogue with nature. Bantam Books, Toronto, 1984.

8. Nicolis G. & Prigogine I. Self-organization in nonequilibrium systems. John Wiley & Sons eds. New York, 1977.
9. Thom R. Topological models in biology. En Waddington CH. Towards a theoretical biology. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1972. pp. 89-116.
10. Loud AV. & Anversa P. Morphometric analysis of biologic processes. Lab Invest 50: 250-261, 1984.
11. Weibel ER. Stereological methods, Vol 1: Practical methods for biological morphometry. Academic Press, London, 1979.
12. Medawar PB. Advice to a young scientist. Harper & Row, Publishers, New York, 1979.
13. Nicholson WL. Application of statistical methods in quantitative microscopy. J Microsc 113: 223, 1978.
14. Paumgartner D, Losa G, Weibel ER. Resolution effect on the stereological estimation of surface and volume and its interpretation in terms of fractals dimensions. J Microsc 121: 51, 1981.
15. DeHoff RT. Sampling of material and statistical analysis in quantitative stereology. En Elias H. Stereology. Springer-Verlag, New York, 1967. pp. 119.
16. Ebbeson SOE, Tang DB. A comparison of sampling procedures in a structured cell population. En Elias H. Stereology. Springer-Verlag, New York, 1967. pp.131.
17. Gundersen HJG & Osterby R. Optimizing sampling efficiency of stereological studies in biology: or "Do more less well!" J Microsc 121: 65, 1981.
18. Wallenstein S, Zucker CL, Fleiss JL. Some statistical methods useful in circulation research. Circ Res 47: 1, 1980.
19. Galen RS & Gambino SR. Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnoses. John Wiley and Sons eds. New York, 1975.

## NECROSIS HEPATICA SUBMASIVA Cuantificación del Daño Hepático y Correlación con los Datos Clínicos

Eli ezer Masliah Meyohas\* y Ruy Pérez Tamayo\*\*

A Emil Ponfick

- \* Departamento de Patología, Instituto Nacional de Cancerología, México
- \*\* Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM, México

### SUMMARY

In 14 autopsy cases of submassive liver necrosis the amount of preserved liver tissue has been determined quantitatively and correlations have been established with clinical and laboratory data. The average weight of the 14 livers was 977 g and the average weight of preserved liver parenchyma was 248.06 g, representing 27.2 per cent. The amount of preserved liver tissue revealed significant correlations only with blood levels of transaminases and alkaline phosphatase. Considering three theoretical initial liver weights (before the onset of massive necrosis) as 1,300, 1,700 and 2,000 g, the total amount of preserved liver tissue in the 14 cases studied was always 20% or less.  
*Patología (Méx) 1985; 23: 39-46*

### RESUMEN

En 14 casos de autopsia de necrosis hepática submasiva se calculó la cantidad de tejido hepático conservado (THC) y se correlacionó con los datos clínicos y de laboratorio. Se encontró que el promedio de peso de los 14 hígados era de 977 g y que el promedio de tejido hepático conservado era de 248.06 g, lo que representa el 27.2%. De los diferentes datos clínicos y de laboratorios examinados, los que se correlacionan mejor con la cantidad de THC son los valores de transaminasas y de fosfatasa alcalina. Considerando que el peso inicial del hígado (antes de instalarse la necrosis submasiva) osciló teóricamente entre 1,300 y 2,000 g, en los 14 casos incluidos en este estudio había 20% o menos de THC.

### INTRODUCCION

La necrosis hepática puede ocurrir en distintas circunstancias y ser de extensión muy variable. Cuando se presenta en un período de tiempo breve y afecta a la mayor parte de los

hepatocitos, se conoce como submasiva. Muchos de estos casos se deben a infecciones virales o a la acción de sustancias tóxicas. La consecuencia clínica obligada es la insuficiencia hepática aguda acompañada de encefalopatía y coma, sangrado masivo del tubo digestivo y mortalidad muy elevada, todo con una evolución casi siempre de menos de 30 días. Por fortuna, esta forma de daño hepático es rara, pero también por eso no se conoce bien; las series más extensas son las publicadas por Scotto y col<sup>1</sup> con 38 casos, y por Gazzard et al<sup>2,3</sup>, con 154 casos.

En el Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán" se estudiaron 14 casos de autopsia de necrosis hepática submasiva en un período de 35 años (1947-1982). El objetivo de este artículo es revisar esta experiencia, con especial atención a la cuantificación de la necrosis y su correlación con diversos datos clínicos y de laboratorio.

## MATERIAL Y METODOS

Los 14 casos se identificaron en un total de 4,000 protocolos de autopsia y en todos se contó con información clínica y material suficiente para incluirlos en el estudio.

### A. Datos clínicos

De los expedientes clínicos se obtuvo la siguiente información:

*Datos generales:* edad, sexo, tiempo de evolución, antecedentes patológicos y peso corporal.

*De insuficiencia hepática:* ictericia, hemorragias, encefalopatía, coma, hipotrofia gonadal, teleangiectasias y mal estado general.

*De laboratorio:* bilirrubinas totales, transaminasas, fosfatasa alcalina, urea, ácido úrico y coagulación sanguínea.

### B. Datos de autopsia

*El peso del hígado.*

*De hipertensión portal:* várices esofágicas y/o gástricas, ascitis, esplenomegalias, edema de extremidades inferiores, hemorroides.

### C. Cuantificación del tejido hepático conservado (THC)

Se tomaron al azar 3-5 laminillas histológicas de cada hígado teñidas con hematoxilina y eosina. De cada una de ellas se tomaron tres microfotografías al mismo aumento (260X) de otros tantos campos escogidos igualmente al azar. Las diapositivas se proyectaron a la misma distancia sobre hojas de papel blanco de 28 x 17 cm y en ellas se dibujaron los contornos de las áreas de tejido hepático conservado (THC). La superficie total de THC se determinó en cm<sup>2</sup> por medio de un programa del computador Apple II unido a una base y pluma magnética (Figura 1). El promedio de las tres determinaciones de cada caso se calculó en porcentaje de 400 cm<sup>2</sup>, que es la superficie total utilizada de la hoja de papel. La cantidad total de THC en cada caso se calculó multiplicando el porcentaje obtenido por el peso del hígado respectivo en la autopsia. Finalmente, para estimar la magnitud de la pérdida total de tejido hepático se calculó el porcentaje que representa el THC del peso de un hígado normal, usando para ello tres cifras teóricas: 1,300 g, 1,700 g y 2,000 g.

#### D. Correlaciones

Se calcularon coeficientes de correlación entre el THC y distintos valores: peso del hígado, tiempo de evolución, datos de insuficiencia hepática, de hipertensión portal y de laboratorio clínico.

#### E. Reproductibilidad

En 6 de los 14 casos, en los que se contaba con tejido fijado en formol, se tomaron nuevos bloques y se hicieron nuevas preparaciones histológicas en las que se repitió el estudio morfométrico descrito arriba. Los resultados se compararon con los obtenidos previamente en los mismos casos.

### RESULTADOS

#### 1. Datos clínicos

De los 14 casos estudiados, 8 pacientes fueron mujeres y 6 fueron hombres. La edad varió entre 24 y 68 años, con un promedio de 40.3 años. El tiempo de evolución más corto fue de dos días y el más largo de 60 días, con promedio de 26.5 días. Previo al cuadro de necrosis hepática submasiva 8 enfermos cursaban con hepatitis viral aguda, 3 habían sido intervenidos quirúrgicamente y en 2 de ellos se usó fluothane como anestésico general (en el otro caso se usó ciclopropano); 1 caso tenía el antecedente de quimioterapia con adriamicina por carcinoma de mama, 1 caso había sido tratado con cincófeno por dolores articulares traumáticos, y 1 caso era alcohólico. El peso corporal de los 14 pacientes osciló entre 50 y 90 Kg con promedio de 59.5 Kg.

Todos los pacientes iniciaron el cuadro súbitamente con ictericia (de ++ a ++++ de intensidad), ataque al estado general y febrícula; 13 de los 14 enfermos desarrollaron datos de encefalopatía hepática y llegaron al coma. Todos los enfermos mostraron episodios de sangrado del tubo digestivo alto, siendo en 3 casos intenso, en 7 moderado y en 4 leve. Además, 5 enfermos tuvieron hipoplasia gonadal y 4 presentaron teleangiectasias en cuello y tórax.

#### 2. Datos de laboratorio

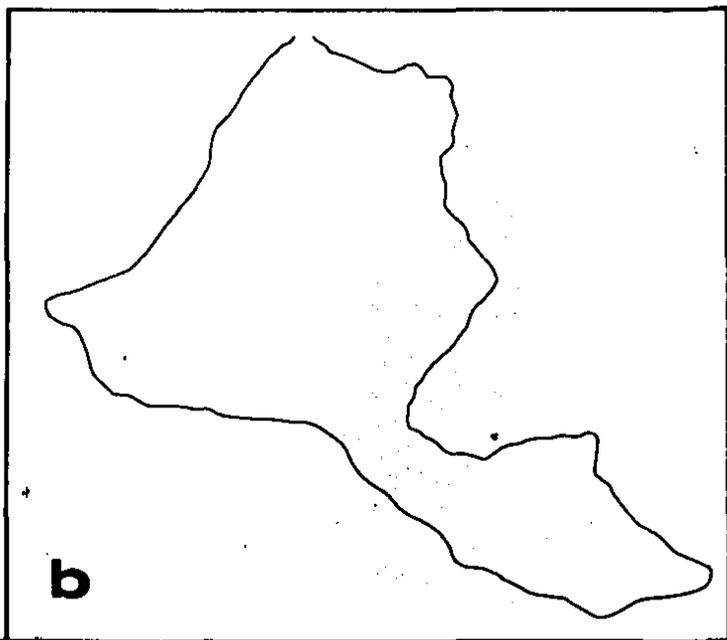
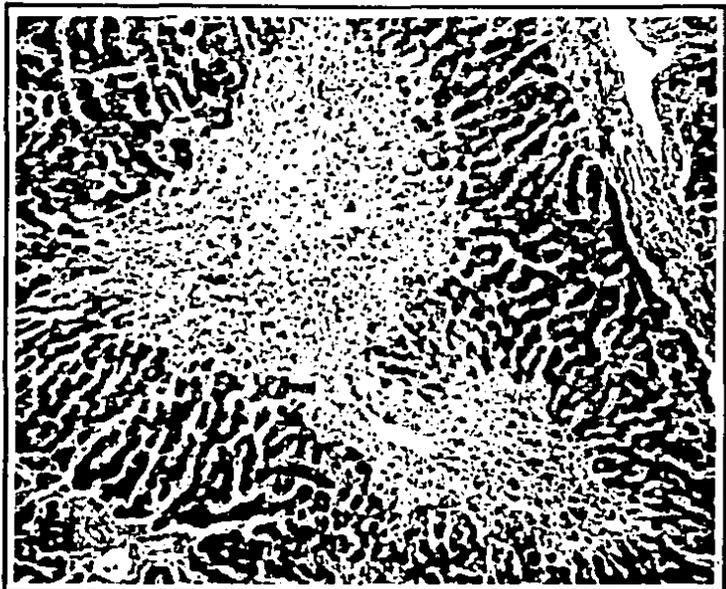
Los valores del laboratorio se resumen en la Tabla 1.

#### 3. Datos de autopsia

El peso del hígado varió entre 400 y 1,100 g, con promedio de 750 g. Cinco de los 14 casos mostraron datos anatómicos de hipertensión portal, con esplenomegalia variable entre 190 y 700 g (promedio, 355 g); ascitis de 250 a 5,000 ml (promedio, 2,000 ml), várices esofágicas, edema de miembros inferiores o generalizado, y hemorroides internas.

#### 4. Cuantificación del THC

La cantidad de THC varió entre 1 y 50%, siendo el promedio 27.2%. Las cifras correspondientes en gramos fueron de 4 a 499 g, con un promedio de 284.06 g (Figura 2). Considerando los tres niveles teóricos de peso hepático normal inicial mencionados arriba, se encon-



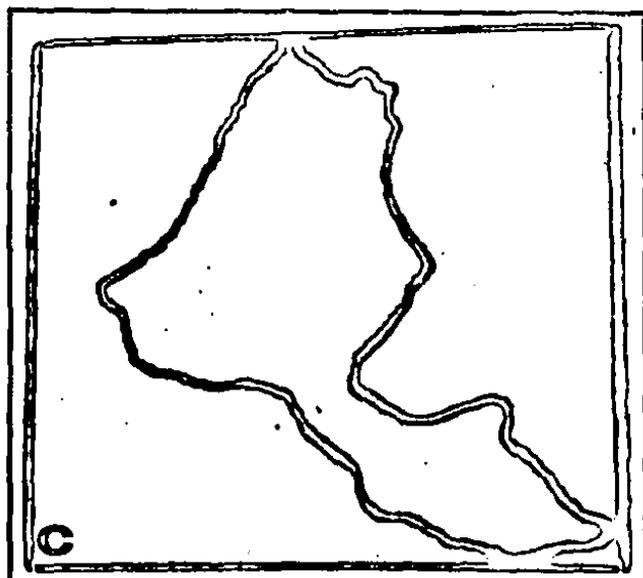


Fig. 1 - a, Microfotografía de una preparación histológica de hígado de un caso de necrosis hepática submasiva, para ilustrar la delimitación entre la zona de destrucción celular y el tejido hepático conservado. HE, 260X. b, Trazo del perfil de la zona de necrosis presente en a, sobre una hoja de papel en la que se proyectó la microfotografía correspondiente. c, Fotografía directa del área trazada en la pantalla de la computadora Apple II, que sirvió para integrar la superficie, calcular el porcentaje de hígado destruido y su peso

tró que el THC podía ser de 21.8% para el nivel de 1,300 g, de 17.6% para el nivel de 1,700 g, y de 13.8% para el nivel de 2,000 g.

### 5. Correlación del THC con otros valores

Entre las correlaciones positivas, se encontró que los pacientes del sexo masculino, de 20 a 36 años de edad, con tiempo de evolución entre 2 y 20 días, con bilirrubinas totales entre 5.2 y 15.5, con transaminasas de menos de 625, y cuyo hígado pesó más de 1,000 g en la autopsia, mostraron 5.7% más de THC que los enfermos femeninos de 37 a 68 años de edad, con más de 30 días de evolución, bilirrubinas totales mayores de 16 y transaminasas mayores de 626, cuyo hígado pesó menos de 1,000 g en la autopsia. Además, aunque el THC se correlaciona directamente con el peso del hígado y con el peso corporal, no hubo correlación con el peso del hígado de los casos que mostraron signos anatómicos de hipertensión portal, comparados con el de los pacientes que no tuvieron esos signos.

### 6. Reproducibilidad

En el estudio inicial, el promedio de THC de los 6 casos incluidos fue de 27.6%, mientras

TABLA I		
RESULTADOS DE EXAMENES DE LABORATORIO EN 14 CASOS DE NECROSIS HEPATICA		
PRUEBA	RANGO EN LOS 14 CASOS	PROMEDIO
BILIRRUBINAS TOTALES	5.2 a 29.8 mg/% (normal 0.8 a 1)	17.1
TRANSAMINASAS	91 a 2500 U/ml (normal 5 a 23)	988.9
FOSFATASA ALCALINA	3.9 a 2000 U/ml (normal 1.5 a 6.9)	57.2
UREA	12.8 a 172 mg/100 ml (normal 25 a 30)	96.0
ACIDO URICO	1 a 14.4 mg/ml (normal 3.4 a 7.8)	8.8
TIEMPO DE COAGULACION	22 a 87 segundos (normal 13)	44.2

que en el segundo estudio el promedio de THC fue de 37.6%. Traducidos a peso hepático, el dato inicial equivale a 284 g mientras que el repetido es de 398 g; cabe señalar que la diferencia corresponde a 10 en una escala de 100.

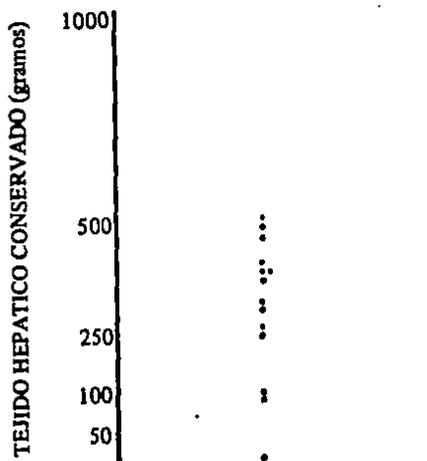
## DISCUSION

La cuantificación de THC en casos de hepatitis fulminante ha sido llevada a cabo por Scotto et al<sup>1</sup> y por Gazzard et al<sup>2,3</sup> usando los métodos morfométricos descritos por Chalkley<sup>4,5</sup> y Weibel<sup>6</sup>, respectivamente. En estos estudios se compararon los volúmenes de THC en pacientes que sobrevivieron contra los de enfermos que fallecieron y se encontró que los sobrevivientes tenían un volumen mayor de THC. Aunque en el estudio presente sólo se examinaron casos de autopsia de necrosis hepática submasiva por medio de un método distinto (planimetría por computadora), los resultados son muy semejantes a lo que Gazzard et al refieren como fracción volumen de hepatocitos (HFV) en sus casos fallecidos.

Una limitación grave del presente estudio y de los citados arriba<sup>1,2,3</sup> es que cuantifica tejido hepático *morfológicamente* conservado; no sabemos nada de la capacidad funcional de las células identificadas como viables. Lo único que podemos señalar es que están mejor conservadas que las áreas designadas como necróticas. De todos modos, no han sido capaces de evitar la muerte del paciente por lo que la eficiencia de su funcionalidad está en entredicho. Sería deseable contar con técnicas que permitieran determinar no sólo la viabilidad sino también la capacidad funcional de grupos celulares definidos en el seno de órganos parenquimato-

FIGURA 2

CANTIDAD DE THC (GRS) EN 14 CASOS DE AUTOPSIA CON  
NECROSIS HEPATICA SUBMASIVA



sos en sujetos vivos; aunque tales técnicas seguramente serán accesibles en el futuro, lo único que tenemos hoy que se les parezca un poco es la extrapolación de la morfología conservada a la función preservada. Aunque esta técnica no es muy sofisticada, tampoco puede considerarse como despreciable: en ella descansa prácticamente toda la majestuosa catedral de la patología diagnóstica.

La única conclusión válida de este estudio es que en un grupo de pacientes fallecidos de necrosis hepática submasiva la cantidad de THC fue siempre menor del 20% del parénquima total. Como no se estudiaron sobrevivientes (no es fácil hacer autopsias en ellos) no se sabe si algunos enfermos con pérdidas semejantes de parénquima hepático lograron escapar a la muerte. Lo que sí sabemos es que ninguno de los casos examinados en esta serie había conservado el aspecto histológico normal de más del 20% de sus hepatocitos, por lo que puede sospecharse que todos los pacientes que sí lo tenían sobrevivieron. Por lo tanto, es posible concluir que el organismo requiere conservar viable más del 20% del hígado para asegurar su supervivencia. Este dato coincide con los resultados obtenidos en animales experimentales por medio de hepatectomías parciales de diferentes magnitudes. El primero (y uno de los mejores) estudios de este tipo fue publicado por Ponfick<sup>7</sup>, en 1889. *Sic transit gloria Mundi*.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Scotto J, Opolon P, Etévé D, et al. Liver biopsy and prognosis in acute liver failure. Gut 1973; 14:927.

- 2) Gazzard BG, Weston MJ, Murray-Lyon IM, et al. Charcoal haemoperfusion in the treatment of fulminant hepatic failure. *Lancet* 1974; 1:13-1.
- 3) Gazzard BG, Portmann IM, Murray-Lyon IM, Williams R. Causes of death in fulminant hepatic failure and relationship to quantitative histological assessment of parenchymal damage. *Quar J Med* 1975; 54:615.
- 4) Chalkley HW. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. *J Natl Cancer Inst* 1943; 4:47.
- 5) Chalkley HM, Cornfield J, Park J. A method for estimating volume surface ration. *Science* 1949; 110:295.
- 6) Weibel ER, Kistler GS, Scherler WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol* 1966; 30:23.
- 7) Ponfick E. Experimentelle Beitrage zur Pathologie der Leber. *Virchow's Arch* 1889; 118:209.

## NOTA SOBRE LA HISTOPATOLOGIA DE LA AMIBIASIS INVASORA DEL INTESTINO GRUESO

Eliezer Masliah, Ruy Pérez Tamayo

Departamento de Patología, Instituto Nacional de Cancerología (EMM) y  
Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional  
Autónoma de México (RPT)

### SUMMARY

Thirty six colonic ulcers caused by *E. histolytica* were examined by histotopographic methods in order to further explore the incidental observation of apparently viable amebae in the midst of nearby tissues otherwise completely normal. The observation has been confirmed and in addition it has been shown that the absence of tissue damage and/or reaction in the presence of viable amebae occurs much more frequently in the muscular layers of the large intestine, than in the mucosa.

*Patología (Mex)* 1984; 22: 233-245.

### RESUMEN

Se estudiaron 36 úlceras amebianas del cólon por medio de métodos histotopográficos con objeto de documentar la observación de que en el mismo corte histológico es posible encontrar áreas infiltradas por amibas con necrosis e inflamación, junto con otras áreas donde las amibas viables no parecen producir daño tisular ni existe reacción inflamatoria a su presencia. Además del estudio cuantitativo del fenómeno, también se señala que la ausencia de lesiones en presencia de amibas morfológicamente viables es mucho más frecuente en la capa muscular que en la mucosa y submucosa del cólon.

La histopatología de la amibiasis invasora del cólon se conoce ya con detalle (1-5). Durante la revisión del material usado para algunas de las publicaciones citadas, en 1969 llamó la atención a uno de nosotros (RPT) la frecuente presencia de un gran número de trofozoitos viables de *E. histolytica* en el seno de los tejidos de la pared del cólon sin ninguna reacción inflamatoria o signos morfológicos de daño tisular. Este hallazgo ocurría en forma irregular y en preparaciones microscópicas que en otros campos, cercanos o lejanos a los mencionados, mostraban extensa necrosis e inflamación en la vecindad de los trofozoitos de amibas. El dato fue descrito e ilustrado (1-3) pero no se hizo un estudio sistemático de su distribución ni se exploró su significado.

En este trabajo hemos examinado un grupo de casos de amibiasis intestinal invasora con métodos histotopográficos, con objeto de documentar la existencia, la frecuencia y otras características del fenómeno. Los resultados demuestran que la ausencia de reacción inflamatoria y/o signos de daño tisular en presencia de trofozoitos viables en los tejidos del colon en la amibiasis invasora es muy frecuente y que ocurre casi exclusivamente en las capas musculares.

## MATERIAL Y METODOS

*1 Material.* Se estudiaron un total de 36 úlceras amibianas del cólon obtenidas de tres colectomías y siete casos de autopsia. Ninguno de estos pacientes había recibido tratamiento antiamebiano cuando se obtuvieron las muestras, por falta de diagnóstico o sospecha clínica del padecimiento. Se usaron los bloques que mostraron las cuatro capas del intestino grueso en cortes lo más cercanos a la perpendicular. Además de la tinción de HE, en cada caso se hizo un corte adicional y se tiñó con leucofuchina de Schiff-PAS, que permite distinguir a las amibas con facilidad a pequeños aumentos. No se tomó en cuenta el diferente tiempo de evolución del padecimiento ni la magnitud y extensión de las lesiones en el cólon, aunque en todos los casos el cuadro clínico fue agudo (de uno a veintitrés días) y el intestino grueso se encontró intensamente afectado. Aunque todos los cortes histológicos se hicieron a 6 $\mu$  de espesor, tampoco se exigió que el material examinado fuera de grosor uniforme.

*2 Clasificación.* Las preparaciones histológicas se estudiaron anotando presencia o ausencia de amibas y de necrosis y/o inflamación tisular en cada una de dos capas del intestino grueso: mucosa y submucosa juntas, y la capa muscular. La combinación de las distintas observaciones generó los seis grupos siguientes:

- A Amibas en mucosa-submucosa con necrosis y/o inflamación; ausencia de amibas y lesiones en la capa muscular.
- B Amibas en mucosa-submucosa con necrosis y/o inflamación, con amibas en la capa muscular pero sin lesiones.
- C Amibas en mucosa-submucosa y en la capa muscular, con necrosis y/o inflamación en ambas capas.
- D Amibas en mucosa-submucosa con necrosis y/o inflamación, con lesiones en la capa muscular pero sin amibas.
- E Amibas en mucosa-submucosa y en la capa muscular, sin lesiones en ambas capas.
- F Necrosis y/o inflamación de mucosa-submucosa sin amibas, con amibas en la capa muscular pero sin lesiones.

*3 Topografía histológica.* Con objeto de examinar las relaciones topográficas entre las lesiones tisulares y la presencia de amibas se tomaron un promedio de ocho microfotografías de cada una de 20 úlceras, usando película Ektachrome 64 de 35mm;

cada microfotografía se tomó a 40 aumentos, incluyó todo el espesor del intestino y estaba separada de la vecina por una distancia de 3mm. Las diapositivas correspondientes a cada úlcera se unieron lateralmente en una sola tira, de modo de reconstruir el corte histológico completo. Por otro lado, cada laminilla se proyectó en una hoja de papel blanco a la distancia necesaria para reproducir exactamente la ampliación de las microfotografías y se dibujó el perímetro del corte.

Colocando la tira de microfotografías sobre un negatoscopio y cubriéndola con un vidrio transparente, con la ayuda de una lupa se puso un punto de tinta negra en el vidrio sobre cada una de las amibas presentes en el tejido. Finalmente se colocó el papel blanco con el perímetro del corte sobre el vidrio y se calcaron todas y cada una de las amibas presentes; además, se dibujaron en el mismo papel las áreas con necrosis y/o inflamación. (Figs. 1, 2 y 3).

*4 Cuentas de amibas.* En 10 de los 20 casos examinados por medio de microfotografías y transferencia al papel de todas las amibas presentes así como de las áreas lesionadas, se repitió el estudio por medio de un microscopio con una pantalla acoplada de 11cm de diámetro sobre la que se colocó una hoja de plástico transparente. Con un aumento constante de 80X se calcaron en el plástico las áreas de necrosis y/o inflamación observadas en todo el corte y se puso un punto sobre cada una de las amibas presentes, tanto en las zonas lesionadas como en las de apariencia normal.

A continuación, se contaron las amibas presentes tanto en la mucosa-submucosa como en la muscular; además, se determinó el número de amibas presentes de manera individual y el número de las que ocurrieron en grupos, definiendo como grupo a las amibas separadas entre sí por no más de  $em$ . Además, se determinó el número de grupos de amibas presentes en cada corte y el número de amibas presentes en cada grupo. Todas estas cuentas se hicieron tomando en cuenta si las amibas se encontraban en áreas de necrosis y/o inflamación, o en tejidos histológicamente sanos.

*5 Reproducibilidad de los métodos usados.* En 16 de los 20 casos usados para estudiar la topografía histológica de las amibas en la colitis ulcerativa se tomaron nuevos bloques de tejido, se incluyeron en parafina, se cortaron y tñieron con leucofuchina de Schiff-PAS y se usaron para repetir todas las observaciones descritas. Los resultados se compararon con los obtenidos en los mismos casos en la primera serie de estudios.

## RESULTADOS

*1 Clasificación.* En la Tabla 1 aparece la relación observada entre la presencia de amibas en la mucosa-submucosa y en la muscular, y la existencia de lesiones inflamatorias y/o necróticas (Figs 1, 2 y 3). Llama la atención que de 35 casos en los que identificaron amibas en la mucosa-submucosa, en 34 se acompañaron de infiltrado inflama-

TABLA 1. DISTRIBUCION DE AMIBAS Y LESIONES  
EN LAS CAPAS DEL COLON

	MUCOSA-SUBMUCOSA		MUSCULAR	
	Sin Lesiones	Necrosis y/o Inflamación	Sin Lesiones	Necrosis y/o Inflamación
AMIBAS	1	34	20	3
SIN AMIBAS	0	1	12	1

torio y/o necrosis tisular (Fig 4), mientras que de 23 cortes histológicos con amibas en la capa muscular, solo en tres se observó infiltrado por células inflamatorias y/o necrosis (Fig. 5). En los restantes 20 cortes las amibas se encontraron aisladas o en grupos, ocupando los espacios intersticiales que separan las fibras musculares lisas, casi siempre de la capa interna (Fig. 6).

**2 Topografía histológica.** La distribución más detallada de las 36 úlceras estudiadas en los seis grupos mencionados arriba aparece en la Tabla 2. Los dos grupos más numerosos fueron el A (amibas en mucosa-submucosa con inflamación y/o necrosis, sin amibas en la muscular) y el B (amibas en mucosa-submucosa y en la muscular, con lesiones en la muscular-mucosa y sin alteraciones en la muscular). De hecho, solo en cuatro de las 36 úlceras estudiadas se encontraron alteraciones en la capa muscular, tres de ellos con amibas (grupo C) y en el que no se identificaron los parásitos pero había necrosis de las fibras musculares (grupo D).

**3 Cuentas de amibas.** Las cuentas de amibas presentes en cada una de las dos áreas consideradas (mucosa-submucosa y muscular) revelaron que había más amibas en la mucosa-submucosa que en la muscular (Tabla 3). (Figs. 1, 2 y 3). Además, la tendencia de las amibas a formar grupos fue mayor en la mucosa-submucosa que en la muscular y los grupos o agregados individuales de amibas contenían más parásitos en la mucosa-submucosa que en la muscular (Tabla 4).

**4 Reproducibilidad de los métodos usados.** La comparación de los hallazgos histológicos en los 20 casos estudiados inicialmente con los resultados de un segundo estudio en otros bloques de tejido de 16 de esos mismos 20 casos aparece en la Tabla 5. Puede

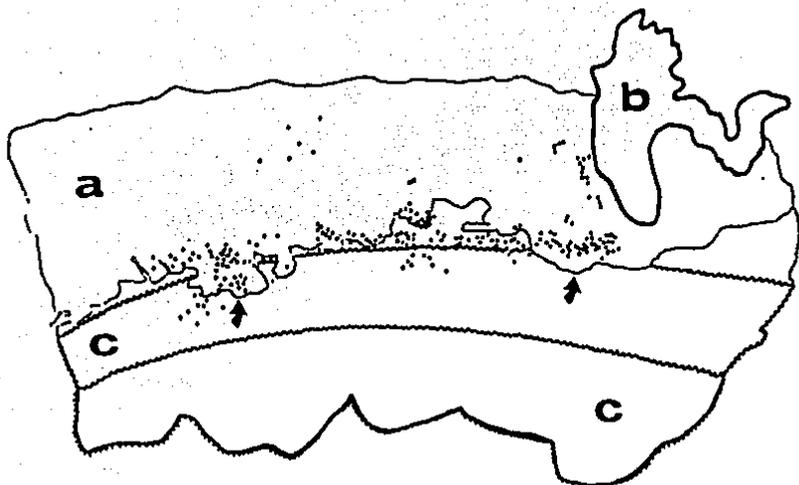


Fig. 1. Diagrama de una lesión tipo C (ver texto) en la pared del colon, en la amibiasis invasora. *a* es la mucosa - submucosa, delimitada por el trazo fino, que muestra necrosis y/o inflamación; *b* es la mucosa-submucosa sin alteraciones, delimitada por el trazo grueso; *c* es la doble capa muscular. Los puntos señalan a las amibas individuales. Las flechas indican los sitios de la capa muscular donde coexisten amibas con lesiones necróticas y/o inflamatorias.

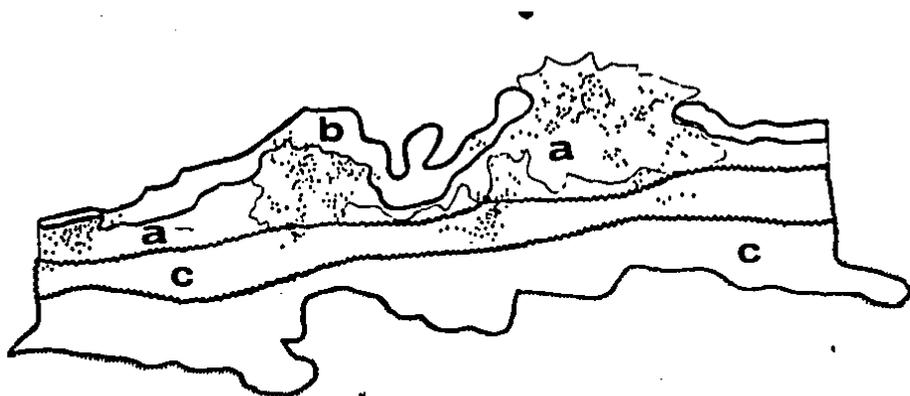


Fig. 2. Ejemplo de una lesión del grupo B donde la mucosa-submucosa las amibas coexisten con extensas lesiones tisulares, mientras que en la capa muscular interna también hay amibas pero no se observan lesiones. Clave igual que para la Fig. 1.

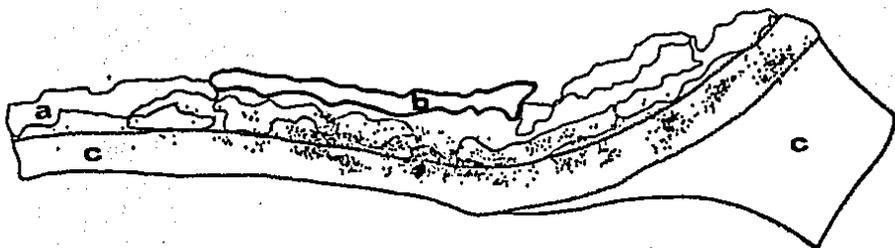


Fig. 3. Otro ejemplo de una lesión de tipo B, donde a pesar de la presencia de numerosas amibas en la capa muscular interna el único sitio donde hay necrosis y reacción inflamatoria está señalado por la flecha. Clave igual que para la Fig. 1.

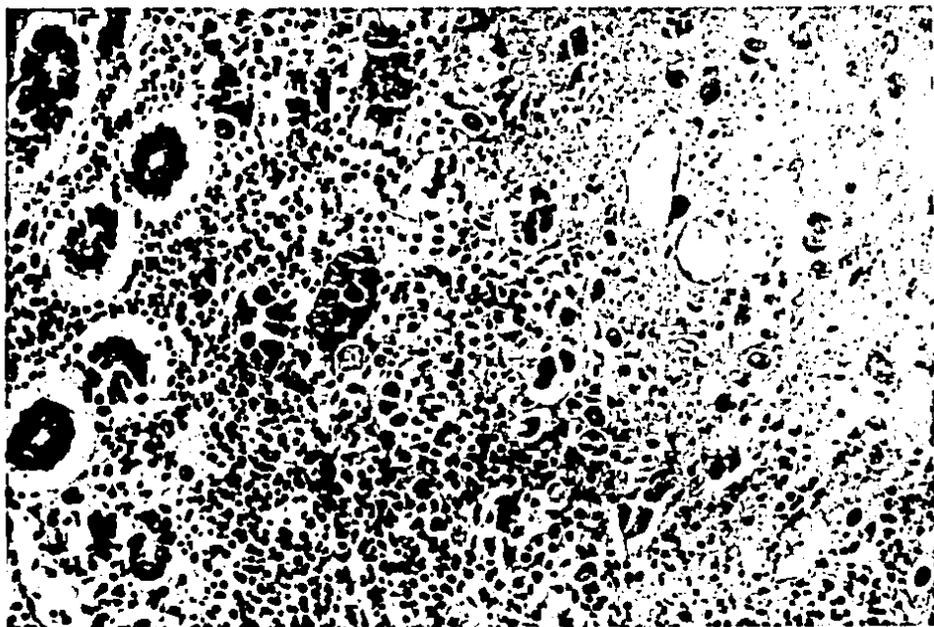


Fig. 4. Límite de una zona de necrosis de la mucosa-submucosa, rodeada por intensa reacción inflamatoria; se observan numerosas amibas.

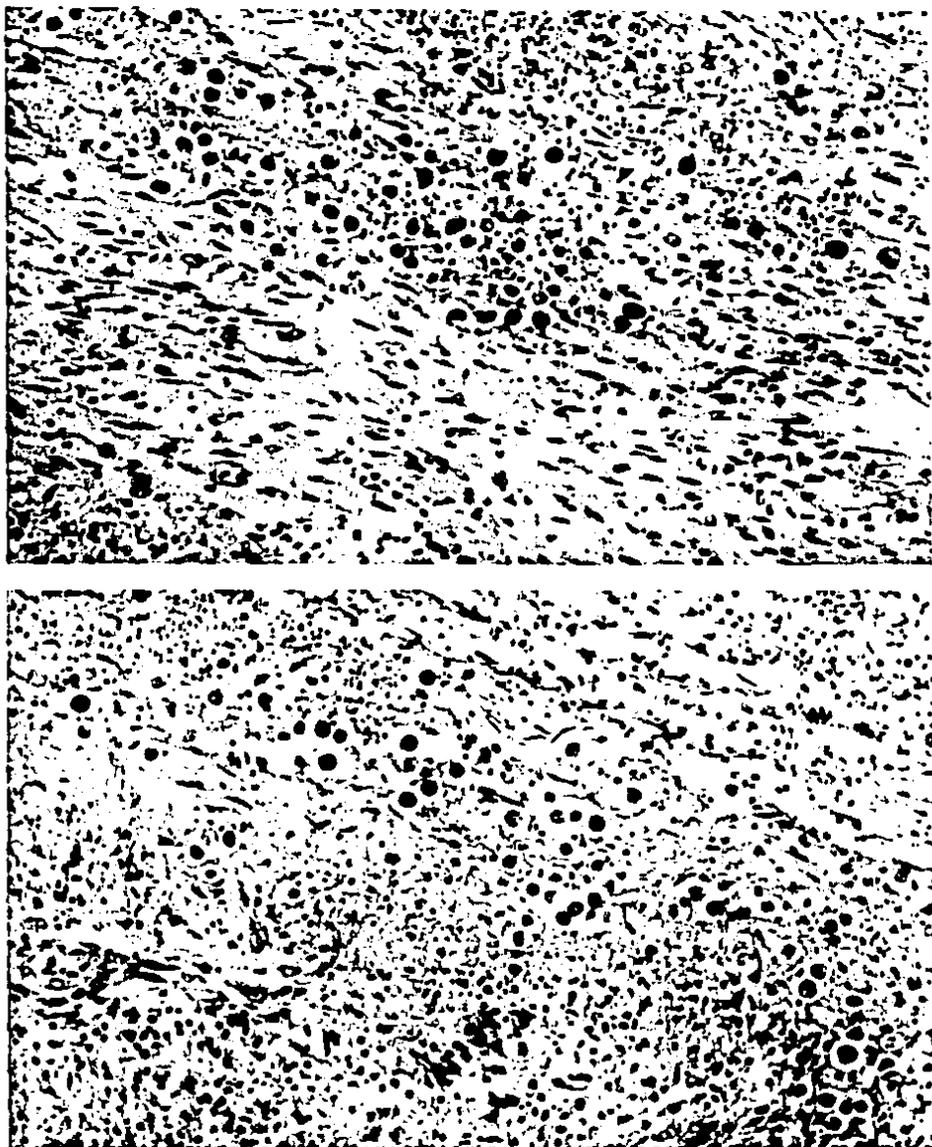


Fig. 5. Ejemplos de daño tisular producido por *E. histolytica* en las capas musculares de la pared del intestino grueso. En ambos casos la necrosis del tejido se acompaña de infiltración inflamatoria por leucocitos polimorfonucleares.

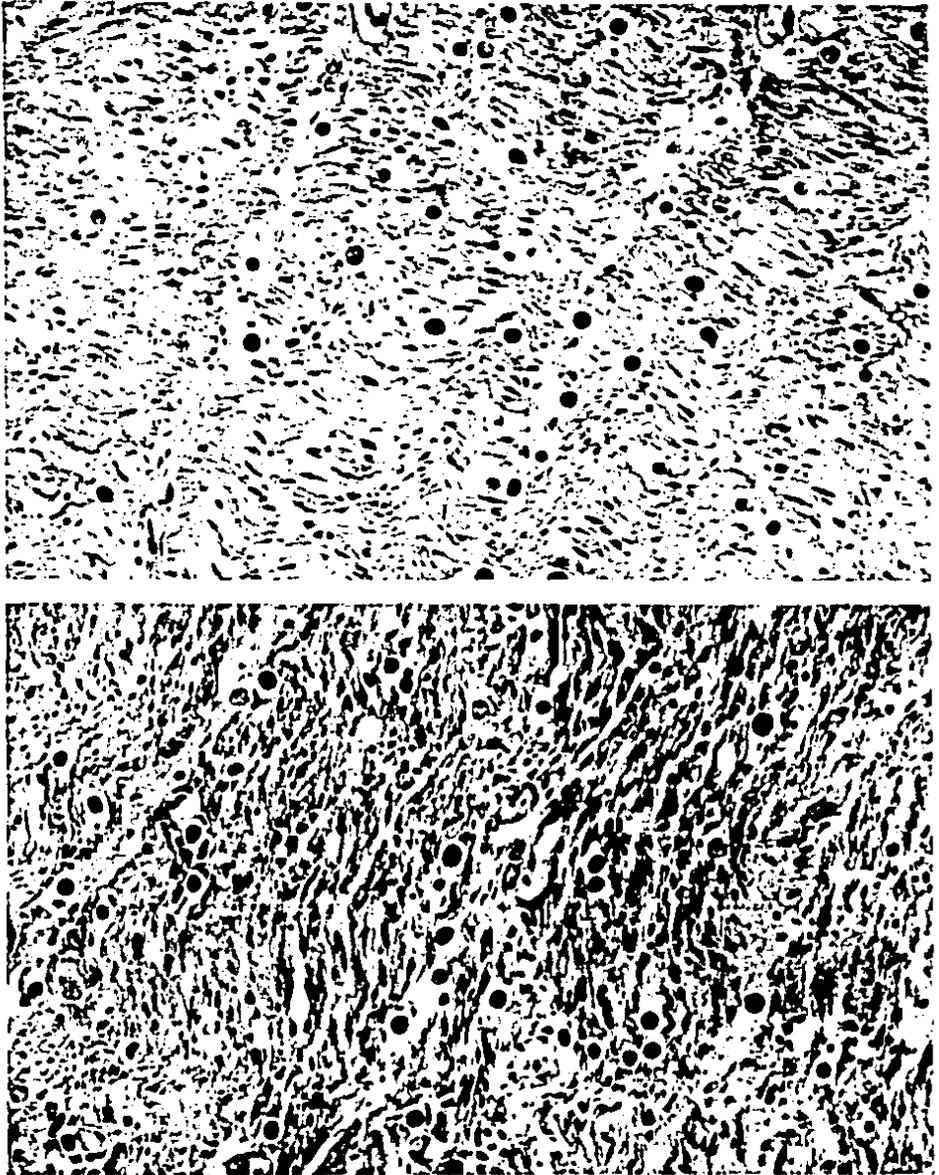


Fig. 6. Ejemplos de presencia de numerosas amibas viables en las capas musculares del intestino grueso, que no muestra ni necrosis ni inflamación.

**TABLA 2. DISTRIBUCION DE AMIBIAS Y LESIONES TISULARES  
EN 36 CASOS DE AMIBIASIS INVASORA DEL COLON**

	Núm.	%
A) Amibas en mucosa y submucosa con inflamación y/o necrosis Sin amibas en muscular	12	33,3
B) Amibas en mucosa y submucosa con necrosis y/o inflamación Amibas en muscular sin inflamación y/o necrosis	18	50,3
C) Amibas en mucosa y submucosa con inflamación y/o necrosis Amibas en muscular con inflamación y necrosis	3	8,3
D) Amibas en mucosa y submucosa con necrosis Necrosis muscular sin amibas	1	2,7
E) Amibas en mucosa y submucosa sin inflamación y/o necrosis Amibas en muscular sin inflamación y/o necrosis	1	2,7
F) Necrosis e inflamación mucosa y submucosa sin amibas Amibas en muscular sin inflamación y/o necrosis	1	2,7

**TABLA 3. DISTRIBUCION CUANTITATIVA DE AMIBAS  
EN LESIONES ULCEROSAS DE COLON**

	MUCOSA-SUBMUCOSA		MUSCULAR	
	Núm.	%	Núm.	%
<b>TOTAL</b>	1224	100	723	100
<b>EN GRUPOS</b>	788	64.4	372	51.4
<b>AISLADAS</b>	436	35.6	531	48.6
<b>*INDICE G/A</b>	1.8/1		1.05/1	

INDICE G/A= grupos /aisladas

**TABLA 4. AGRUPACION DE AMIBAS EN LAS LESIONES  
ULCEROSAS DEL COLON**

	MUCOSA-SUBMUCOSA		MUSCULAR	
	Núm.	%	Núm.	%
<b>TOTAL EN GRUPOS</b>	169	100	115	100
<b>GRUPOS DE 2 a 5</b>	74	43.8	77	66.9
<b>GRUPOS DE 6 a 16</b>	95	56.2	38	33.1

TABLA 5. REPRODUCIBILIDAD DE LAS OBSERVACIONES

GRUPO	primer estudio	segundo estudio
A)	5	7
B)	11	7
C)	2	1
D)	0	1
E)	1	0
F)	1	0
	20	16

verso que mientras en el primer estudio el 65% (13/20) mostró amibas en la capa muscular en ausencia de lesiones, en el segundo estudio la frecuencia de tal fenómeno fue del 43% (7/16).

## DISCUSION

El presente estudio se planeó y llevó a cabo con objeto de establecer sobre bases cuantitativas una observación hecha hace algunos años en la histopatología de la amibiasis intestinal invasora. Tal observación es que frecuentemente se encuentran grupos de amibas en la intimidad de los tejidos sin datos microscópicos de lesión histológica. El hecho había sido mencionado y hasta ilustrado en varias ocasiones (1-3), pero no se había sometido a un análisis cuantitativo. Los resultados de este estudio no solo confirman la existencia del fenómeno sino que además agregan dos nuevas observaciones: en primer lugar, la ausencia de alteraciones histológicas en presencia de amibas es mucho más frecuente en la capa muscular que en la mucosa-submucosa de la pared intestinal; en segundo lugar, la densidad de la población amibiana y su tendencia a formar agregados o grupos es mayor en la mucosa-submucosa que en la muscular.

El fenómeno de la diferente relación huésped-parásito en capas vecinas de la pared del intestino grueso es fácil de demostrar pero difícil de explicar. Como se trata de la interacción entre dos elementos, el huésped y el parásito, ambos podrían participar en su determinación. A primera vista surgen por lo menos tres hipótesis diferentes:

a) El fenómeno es real pero simplemente se trata de una etapa en la evolución de la penetración de la pared intestinal por el parásito. Como la amibiasis invasora va de la luz a la serosa del intestino, es natural que haya más amibas y más lesiones en la mucosa-submucosa que en la muscular; con el tiempo, también la muscular mostrará inflamación y necrosis que posteriormente afectarán a la serosa y se producirá una perforación. Esta hipótesis no toma en cuenta que el material examinado en este estudio tenía un origen muy heterogeneo y que la duración del padecimiento previo a su obtención fue muy variable; además, varias de las úlceras estudiadas provenían de casos que ya se habían perforado en otro u otros sitios.

b) En la amibiasis invasora la población de parásitos es heterogenea y consta de por lo menos dos tipos de amibas, unas patógenas y otras no. Esta hipótesis fue sugerida cuando los estudios *in vitro* de clonas de amibas no habían demostrado la gran homogeneidad de las poblaciones de parásitos respecto a su patogenicidad (6). Además, no explica la topografía específica del fenómeno, que es mucho más frecuente en la capa muscular que en la mucosa-submucosa del intestino grueso.

c) La explicación del fenómeno podría ser la diferente susceptibilidad de distintos tejidos a los mecanismos de agresión de la amiba (7, 8), siendo la mucosa-submucosa mucho más sensible que la muscular. En favor de esta hipótesis está el hecho de que, en general, las áreas lesionadas de la mucosa-submucosa mucho más sensible que la muscular. En favor de esta hipótesis está el hecho de que, en general, las áreas lesionadas de la mucosa-submucosa tenían mayor número de amibas (y éstas formaban agregados mayores), que las áreas no lesionadas de la capa muscular que también mostraban amibas. Podría suponerse entonces que la densidad de parásitos necesaria para producir necrosis y/o inflamación en la capa muscular del intestino grueso es mayor que la requerida para lesionar a la mucosa-submucosa. Aunque muy lejos de demostrarla, los datos de este estudio no contradicen tal suposición.

Es poco probable que nuevos estudios morfológicos de la amibiasis invasora intestinal permitan comprender mejor este aspecto de la relación huésped-parásito. Los datos presentados en este trabajo sirven para documentar que la reacción tisular a la amiba histolítica es diferente en distintos tejidos de la pared del intestino grueso pero los mecanismos responsables de esa diferencia solo podrán empezar a ser comprendidos cuando se cuente con un modelo experimental satisfactorio de la enfermedad humana.

## REFERENCIAS

1. Brandt H, Pérez Tamayo R. *Amibiasis*. La Prensa Médica Mexicana, México, 1970.
2. Brandt H, Pérez Tamayo R. *Amebiasis*, en *Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases* (Marcial-Rojas RA, ed), The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1971; pp 145-188.
3. Pérez Tamayo R, Brandt H. *Amebiasis*, en *Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases* (Marcial-Rojas RA, ed), The Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1971; pp 145-188.
4. Connor DH, Neasie RC, Meyers WM. *Amebiasis*, en *Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases* (Binford CH, Connor DH, eds), Armed Forces Institute of Pathology, Whashington, 1976; pp 308-316.
5. Sepúlveda B, Martínez-Palomo A. *Amebiasis*, en *Tropical and Geographical Medicine*. (Warre KS, Mahmoud AAF, eds), McGraw-Hill Book Co, New York, 1984; pp 305-318.
6. Orozco E, Guarneros G, Martínez Palomo A, Sánchez T. *Entamoeba histolytica*. Phagocytosis as a virulence factor. *J Exp Med* 1983; *158*: 1511-1521.
7. Ravdin JI, Guerrant RL. A review of the parasite cellular mechanisms involved in the pathogenesis of amebiasis. *Rev Infect Dis* 1982; *4*: 1185-1207.
8. Pérez Tamayo R. *Pathology*, en *Amebiasis* (Martínez-Palomo A, ed), Elsevier/ North-Holland, Amsterdam, en prensa.

## SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LA DETERMINACION HISTOMORFOMETRICA EN LA TUBERCULOSIS DISEMINADA

Eliezer Maslioh, Cecilia Ridaura

Departamento de Patología, Instituto Nacional de Pediatría.

### RESUMEN

Con el fin de establecer objetivamente, si la afección a diferentes órganos, varía cuantitativamente (tanto órganos entre sí de un mismo caso, como comparado con otros casos), se realizó un estudio piloto en seis casos de tuberculosis diseminada determinando en el pulmón, hígado, bazo, riñón y ganglios, el porcentaje de necrosis tisular como indicador de la magnitud de la reacción de hipersensibilidad y la cantidad de células gigantes por área como indicador de la magnitud de la respuesta inmunológica. Se encontró que la relación entre estos dos parámetros es proporcional en el bazo, riñón e hígado, siendo el ganglio el órgano con mayor cantidad de necrosis y el bazo y el riñón los órganos con más células gigantes por área. Se discuten las principales teorías para interpretar estos resultados.

## INTRODUCCION

Es sabido que la tuberculosis generalizada, es consecuencia de una bacteremia, por bacilo tuberculoso que puede presentarse en la forma primaria aguda ó en la forma tardía<sup>1,2</sup>. Esta última tiende a ser crónica, localizada y no progresiva esto probablemente signifique que hay variaciones en la agresividad del bacilo y/o que el huésped es inicialmente capaz de establecer una respuesta inmune que limita la infección a un órgano<sup>3</sup>, en cambio en el paciente con tuberculosis primaria aguda, desde el primer contacto con el bacilo, el huésped es incapaz de montar una respuesta inmune adecuada<sup>4,5</sup>, por lo que la enfermedad se disemina rápidamente.

Sin embargo apesar de que las circunstancias bajo las cuales se dan estas variantes de tuberculosis, pueden ser diferentes<sup>6,7</sup>, las lesiones orgánicas secundarias son practicamente iguales, dado que los mecanismos responsables del daño tisular son semejantes<sup>7,8</sup>.

Por otro lado, como resultado del balance entre el efecto del micobacterio y la reacción tisular del huésped<sup>7</sup>, el grado y forma de afección de los órganos puede variar. Desde el punto de vista morfológico algunos de los factores que nos permiten evaluar la relación huésped-parásito son: 1) la necrosis caseosa tisular, como indicador de la magnitud del daño por hipersensibilidad, 2) la formación de granulomas, como indicador de la respuesta inmunológica del huésped y 3) la presencia de bacilos Ziel-Nielsen (ZN) positivos en los tejidos.

En base a los anteriores parámetros y con el fin de establecer objetivamente si la afección adiferentes órganos varía cuantitativamente ( tanto entre órganos entre sí de un mismo caso, como comparado entre otros casos), se realizó un estudio histomorfométrico piloto en seis casos pediátricos de tuberculosis con diseminación secundaria a órganos como el pulmón, hígado, bazo, riñón y ganglios.

En estos se cuantificó, la magnitud de la necrosis tisular, la cantidad de células gigantes por área y la cantidad de bacilos por área.

### MATERIAL Y METODOS

De los archivos del material de autopsias del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría, se colectaron aquellos casos en los que el estudio post-mortem reveló en múltiples órganos tuberculomas. De aquí se separaron aquellos casos con cuatro o más órganos afectados y de ellos se seleccionaron al azar, una muestra de seis casos con los que se llevó a cabo el estudio morfométrico.

#### ESTUDIO MORFOMETRICO

El análisis se realizó en cortes de ganglio, bazo, pulmón, riñón e hígado, por contarse en cada caso con muestras semejantes de estos tejidos. En cada caso se utilizaron dos cortes de cada órgano (ambos teñidos con HE y ZN), de cada corte se estudiaron 20 campos de 50X.

Las variables cuantificadas en cada campo ( $0,5 \text{ cm}^2$ ) fueron: a) el número de células gigantes, 2) el porcentaje de necrosis caseosa sobre el área total del tejido y 3) la cantidad de bacilos ZN+ (en caso de haberlos). Para ello se colocó sobre cada corte histológico, una cuadrícula transparente con 20 cuadros de 0.7 cm por lado. Una vez con la cuadrícula montada, la laminilla se proyectó (con un microproyector Leitz), sobre una hoja de papel blanco de 50 x 30 cm colocada a un metro de distancia. Sobre la hoja se dibujó el área correspondiente a la necrosis (de blanco) y con una cruz se representó a cada célula gigante (figura 1). Posteriormente se reconstruyó el corte uniendo cada uno de los dibujos, con lo que se obtuvo un mapa global de cada tejido (figura 2).

La cifra definitiva de cada parámetro cuantificado se obtuvo sumando los



Figura 1. El cuadro representa un área de  $0.5\text{cm}^2$  de un corte de ganglio linfático, las zonas en negro corresponden al tejido linfocítico restante, las áreas en blanco representan la necrosis caseosa y cada cruz es una célula gigante.

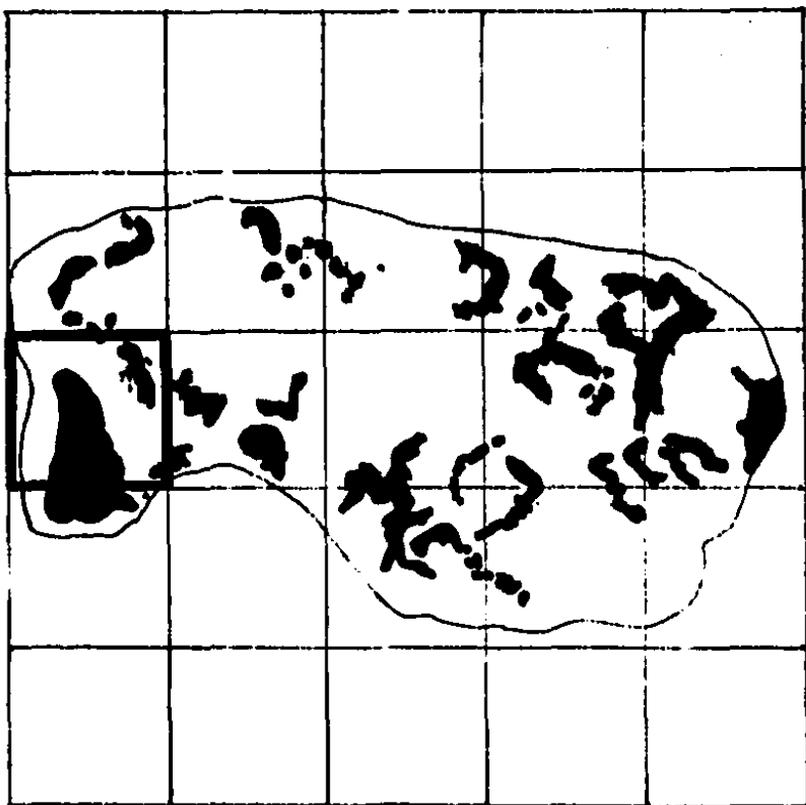


Figura 2. Reconstrucción de un corte de ganglio linfático. El cuadro con los márgenes gruesos corresponde a el diagrama de la figura 1.

parciales de cada uno de los esquemas y dividiendolo entre el total. La cuantificación de los bacilos se llevó a cabo en las laminillas teñidas con ZN, por observación microscópica directa a 500X.

Finalmente, con el fin de establecer la relación proporcional entre la necrosis tisular y la cantidad de células gigantes, tanto entre los diversos órganos de un mismo caso como entre los órganos de diferentes casos, se determinó el coeficiente de correlación ( $r$ ). Cuando " $r$ " era igual o cercano a uno se consideró que la afección en ese caso u órgano era homogénea y cuando " $r$ " fue negativo o menor a uno se consideró que la afección en ese caso u órgano era heterogénea.

### RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados del análisis morfométrico por caso y por órgano, en el se observa que la proporción entre las células gigantes y la extensión de la necrosis caseosa es directa en el bazo, el riñón y el hígado, por lo que en estos órganos las lesiones son relativamente homogéneas, en cambio en el ganglio y pulmón hay mayor variación entre el número de células gigantes y la magnitud de la necrosis caseosa. Estudiando estos resultados por caso se observa que solo en el caso 6 existe una cierta proporcionalidad directa entre la reacción tisular y la necrosis en cambio en los demás casos los resultados son muy variables. En esta tabla también se encuentra que el órgano con más casos ZN+ fue el ganglio (4 de 6), además de que en estos casos fue donde eran más abundantes los bacilos.

En la tabla 2 se presentan los resultados promedio de los valores cuantificados por caso, en relación al total de órganos afectados por tuberculosis, aquí se observa que hay una ligera tendencia a presentar mayor necrosis entre mas órganos afectados hay, además de que en promedio entre todos los casos y todos los órganos casi la mitad del área del tejido se encontró necrosada. En cuanto a la cantidad de células gigantes estos resultados son variables.

TABLA 1

HISTOMORFOMETRIA DE LA TUBERCULOSIS DISEMINADA

CASO	GANGLIO			BAZO			PULMON			RIÑON			HIGADO			r
	CG	%	B	CG	%	B	CG	%	B	CG	%	B	CG	%	B	
1	10	45	2500	6.6	7	neg	1	10	neg	0.3	0	neg	1.5	2	neg	0.19
2	0.8	96	2700	14.6	65	neg	6	90	1372	1.3	1	neg	7	50	3	0.39
3	2.6	95	neg	29.8	90	neg	5	50	neg	2	0	neg	16	50	neg	0.35
4	4.8	90	neg	0.5	19	neg	0.5	12.5	3	0.3	0	neg	1.05	1	neg	-0.38
5	20	60	17015	1	10	neg	28	25	neg	49	60	neg	4.4	5	neg	-0.63
6	13	90	250	24	62	neg	11	60	200	32	65	neg	20.5	45	neg	0.69
r	-0.62			0.93			0.11			0.9			0.44			

CG= celulas gigantes x0.5cm<sup>2</sup>

%=porcentaje de necrosis

B= bacilos ZN+ x0.5cm<sup>2</sup>

r= coeficiente de correlación

TABLA 2

MAGNITUD DE LA AFECCION ORGANICA Y TISULAR  
POR CASO EN LA TUBERCULOSIS

CASO	CANTIDAD DE ORGANOS AFECTADOS	PROMEDIO DE NECROSIS (%)	PROMEDIO DE CELULAS GI- GANTES <sup>*</sup> (0.5cm <sup>2</sup> )
1	7	12.8	4
2	7	60.4	6
3	8	57	12
4	5	24.5	1.5
5	7	32	20.5
6	10	64.4	20.1
PROMEDIO	7.3	41.8	10.6

\* esta cifra representa el promedio en los cinco órganos en los que se realizó la cuantificación.

En cuanto al promedio de afección por órgano, se observa en la tabla 3 que el tejido con mayor necrosis caseosa es el ganglio, en cambio el que menos se necroza es el riñón, este mismo órgano junto con el bazo fueron los que mostraron la mayor formación de células gigantes.

#### DISCUSION

Si bien las conclusiones emanadas de este estudio son preliminares, algunos de estos datos resultan sobresalientes. Entre ellos destaca el hecho, de que los órganos linfocíticos (ganglio y bazo) presentan una más extensa necrosis caseosa (tablas 1 y 3), aunque la cantidad de células gigantes sea variable (generalmente es menor a la necrosis), además en el ganglio se distribuyen con mayor frecuencia y con más abundancia, bacilos ZN+ (tabla 1).

Estos hallazgos pueden explicarse desde dos perspectivas; una en la que estas observaciones se deban a la distribución linfohemodinámica<sup>9</sup> del bacilo, al ponerse en contacto con el torrente sanguíneo de un huésped determinado<sup>1</sup>. Otra explicación sería que exista una relación selectiva entre el tejido linfocitario y el bacilo de la tuberculosis, probablemente mediada por sustancias específicas localizadas en el ganglio o bazo. Sin embargo no es imposible descartar, si las variaciones en estos resultados se deben a que en cada caso el tipo de micobacterio era diferente.

Otra observación interesante, que ya ha sido reportada en otras series y que en la nuestra se confirma, es que apesar de que los tejidos muestran lesiones histológicas típicas de tuberculosis, la tinción de ZN es positiva en una tercera parte de los casos<sup>10,11</sup>. En nuestro estudio estos resultados son semejantes para órganos como el pulmón, el hígado y el riñón, en cambio en el ganglio el 60% de los casos fueron ZN+. Además en estos casos en los que se encontraron bacilos en el ganglio los otros órganos fueron casi siempre negativos, especialmente el bazo, apesar de que en ellos habían abundante necrosis caseosa y granulomas.

TABLA 3  
MAGNITUD PROMEDIO DE LA AFECCION  
POR ORGANO EN LA TUBERCULOSIS

ORGANO	PROMEDIO DE NECROSIS* (%)	PROMEDIO DE CELULAS GIGANTES* (por 0.5 cm <sup>2</sup> )
GANGLIOS	77.2	7.6
BAZO	38.2	10.5
PULMON	37.5	7
RIÑON	12.2	10.5
HIGADO	21.6	5.9

\* esta cifra representa el valor promedio en los seis casos

Hipotéticamente es posible que el bacilo al establecerse en el ganglio (donde hay abundante necrosis) sea retenido y parcialmente degradado en él, pero parte de los determinantes antigénicos de este bacilo se filtren a la circulación y de aquí sean transportados a otros tejidos, donde apesar de estar fraccionados, son capaces de evocar una reacción de hipersensibilidad<sup>7</sup> en ese tejido.

Para demostrar esta hipótesis, es necesario comprobar que el micobacterio fragmentado es capaz de generar una respuesta inmune, además de que se debe de localizar estos determinantes, en los tejidos con granulomas tuberculosos que son ZN-. En este sentido, Mancilla<sup>12</sup> del Instituto de Investigaciones Biomédicas ha demostrado, con el método de inmunoperoxidasa, la presencia de bacilos en tejidos con tuberculosis diseminada que son ZN-. Sin embargo la morfología del bacilo es diferente a la encontrada en tejidos y en cambio es parecida a la que se encuentra en cultivo de bacilos<sup>13</sup>.

BIBLIOGRAFIA

1. Slavin RE, Walsh TJ, Pollack AD. Late generalized tuberculosis: A clinical pathologic analysis and comparison of 100 cases in the preantibiotic and antibiotic eras. *Medicine* 59: 352-366, 1980.
2. Sahn SA, Neff TA. Miliary Tuberculosis. *Am J Med* 56: 495-505, 1974.
3. Chaparas SD. Immunity in tuberculosis. *Bull WHO* 60: 447-462, 1982.
4. Estrada-Parra S, et al. Inmunología de la tuberculosis. *Sal Pub Mex* 24: 269-278, 1982.
5. Bhathagar R, et al. Spectrum of immune response abnormalities in different clinical forms of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 115: 207-212, 1977.
6. Jacques J, Sloan JM. The changing pattern of miliary tuberculosis. *Thorax* 25: 237, 1970.
7. Youmans GP, Paterson PhY, Sommers HM. The biological and clinical basis of infectious diseases. WB Saunders Co. Philadelphia, 1975. pp 335.
8. van der Oord JJ, et al. Cellular composition of hypersensitivity-type granulomas: Immunohistochemical analysis of tuberculosis and sarcoidal lymphadenitis. *Hum Pathol* 15: 559-565, 1984.
9. Rosenthal T, Pitlik S, Michael D. Fatal undiagnosed tuberculosis in hospitalized patients. *J Infect Dis* 131: S51-S56, 1975.
10. Hes PB, Emerson PA. Tuberculous lymphadenitis. *Br Med J* 1, 143-145, 1974.
11. Hooper AA. Tuberculous peripheral lymphadenitis. *Br J Surg* 59: 353-359, 1972.
12. Comunicación personal.
13. Barksdale L, Kim KS. *Mycobacterium*. *Bacteriol Rev* 41: 219-371, 1977.

### CONCLUSIONES FINALES

A pesar de que en los últimos años el avance en la biología molecular ha sobrepasado los alcances actuales de la morfología tradicional, a tal extremo de que esta a tenido serios periodos de estancamiento, es mi impresión que la morfometría y en general los nuevos métodos cuantitativos en biología y medicina le están dando un nuevo impulso a esta rama de las ciencias naturales. En este sentido basta con señalar que los conocimientos desprendidos de la morfometría no solo prometen un gran progreso en aspectos técnicos, como es el desarrollo de nuevos tipos de microscopios ó microcomputadoras procesadoras de imágenes, sino que también representan un adelanto en la conceptualización y entendimiento de la naturaleza de los procesos biológicos ya sea bajo condiciones normales ó patológicas.

De aquí que no debe de resultar sorprendente que aunque la morfometría tiende a optimizar los resultados y presentar imágenes objetivas de los eventos biológicos, es frecuente que las conclusiones resultantes de estos métodos nos lleven a expresar con relativa frecuencia elucubraciones e hipótesis nuevas. Posiblemente uno de los paradigmas mas sorprendentes que emergen de este proceso es en relación a la naturaleza de la forma en los seres vivos (ver introducción general).