



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

Descripción histológica de la
biopsia hepática en una serie de
casos de pacientes con
glucogenosis.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN :

GASTROENTEROLOGÍA Y
NUTRICIÓN PEDIÁTRICA

P R E S E N T A:

Dra. Mónica Orozco González

TUTORES:

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Alejandra Consuelo Sánchez

TUTOR DE PATOLOGÍA

Dr. Pedro Francisco Valencia Mayoral



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2024



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.

Dedicatoria

A Dios y a mi familia que son el pilar de mi vida; no queda más que agradecer por estar presentes en cada uno de los momentos de este proceso, siendo mi apoyo y soporte, aun en la distancia, son mi mas grande motor, cómplices y sobre todo los mejores para alentarme en la construcción de cada uno de mis proyectos, metas y sobre todo en este gran sueño. Los extrañé y estoy segura de que cada sacrificio valió la pena, los amo.

A Alez, Rafa, Ara y Linda, no pude tener un mejor EQUIPO, son la coincidencia más bonita en mi camino, agradezco por la presencia de ustedes en mi vida, me siento orgullosa de cada uno, como personas y profesionales, sin duda alguna este proceso no habría sido lo mismo sin su apoyo, gracias por ser esa familia que me adopto en esta ciudad y país, que ame.

A todos y cada uno de los pacientes y sus familiares, que me permitió aprender, valorar y mejorar cada día, a los profesores que de manera respetuosa lograron enseñar y valorar esta profesión que elegimos, igualmente a cada uno de los residentes mayores y menores, nutriólogos y demás que contribuyeron en este camino de aprendizaje, personal y profesional.

Gracias.

Índice

Antecedentes -----	1
Justificación -----	9
Hipótesis general -----	10
Objetivo general -----	10
Material y métodos -----	11
Técnicas y procedimiento de la recolección de la información -----	11
Análisis estadístico -----	11
Definición de variables -----	12
Resultados -----	15
Discusión -----	19
Conclusión -----	23
Bibliografía -----	24
Anexos	

Antecedentes

Las Glucogenosis (GSD: del inglés *Glycogen Storage Diseases*) hacen parte de los errores innatos del metabolismo, causado por la deficiencia de alguna de las enzimas involucradas en el metabolismo del glucógeno, ya sea en su síntesis, regulación o degradación, con la subsecuente acumulación anormal de glucógeno en los diferentes tejidos corporales, con mayor compromiso a nivel hepático y muscular; según sea la enzima afectada será una patología específica, siendo en común para casi todas, la deficiencia en la utilización de glucosa, lo que se traduce en hipoglicemia que puede ser potencialmente mortal, por esto se hace importante su diagnóstico temprano dado que un manejo oportuno puede prevenir complicaciones como retraso en el neurodesarrollo y progresión del daño hepático.

La incidencia acumulada de todas las GSD es rara (<1:20.000), todas con patrón de herencia autosómico recesivo, con excepción de la GSD tipo IX y IIb las cuales están ligadas al X¹; sin embargo, cada uno de los tipos de GSD tiene una incidencia diferente, GSD I, con incidencia global de 1 por cada 100.000 nacidos vivos, sin embargo, en algunas poblaciones, como en los judíos askenazí hay una mayor incidencia presentándose 1 por cada 20.000 - 43.000 nacidos vivos²; GSD III corresponde al 24% de todos los casos de GSD, con una incidencia en Europa de 1 por cada 83.000 nacidos vivos, 1 por cada 100.000 nacidos vivos en Norteamérica y la mayor prevalencia en las islas Feroe (Dinamarca) de 1:3600 nacidos vivos³; GSD IV con una incidencia de 1 en 600.000 a 1 en 800.000⁴; GSD VI 1 en 65.000 a 1 en 85.000 nacidos vivos⁵; GSD IX 1 en 100.000 nacidos vivos⁶; en México se desconoce tanto la incidencia como la prevalencia real.

Se han descrito al menos 14 alteraciones enzimáticas (Anexo 1) a grosso modo se pueden clasificar en 4 categorías: 1) GSD que afectan predominantemente al hígado (tipo I); 2) GSD que afectan predominantemente al músculo (tipo V, VII, X, XII, XIII, XV); 3) GSD que afectan tanto al hígado como al músculo (tipo III, IX) y 4) GSD que afectan al hígado, el músculo y otros tejidos (tipos IV, VI, XI). (Marion & Paljevic, 2020)⁷. Cabe mencionar que, dentro de esta clasificación no se incluyen 3 enfermedades, GSD 0, GSD II y GSD XIV que no deben ser consideradas como parte de las GSD; A saber, en la GSD 0, la deficiencia enzimática ocasiona disminución de las reservas de glucógeno y por consiguiente no hay una acumulación del mismo, como sucede en las otras GSD; con respecto a la GSD II o enfermedad de Pompe es una enfermedad de

almacenamiento lisosomal, con acumulación de glucógeno lisosomal y finalmente la GSD XIV, fue retirada como GSD y actualmente hace parte de los trastornos congénitos de la glicosilación.

En este trabajo nos referiremos a las GSD que afectan al hígado, tales como GSD I, III IX y XI; en cuanto a las manifestaciones clínicas de las GSD que dan afectación hepática, estas varían según el tipo de GSD, dado que el compromiso enzimático en la vía del glucógeno es diferente para cada una de estas entidades; sin embargo, comúnmente, se piensa en estas patologías en aquellos pacientes que presentan hipoglucemia, hepatomegalia, movilización de aminotransferasas y dislipidemia, por lo que es muy difícil distinguir mediante solo los datos clínicos, entre una u otra GSD; No obstante, algunas GSD pueden presentar compromiso de otros órganos y sistemas, o bien la afectación de otras vías metabólicas se da de forma variable, confiriendo algunas características particulares que de cierta manera podrían ayudar a orientar hacia un tipo en particular de GSD, no obstante estas características no siempre se evidencian desde el inicio, ni de la misma forma durante la evolución de estas entidades, aún más tampoco son patognomónicas, por lo que pueden estar dadas también por otras circunstancias o eventos a lo largo de la vida.

En relación a los datos generales, hay que mencionar que la **hipoglucemia** se presenta en los pacientes con GSD, no obstante, ésta se presenta de forma variable ; algunos pacientes con GSD I toleran intervalos de ayuno muy cortos , mientras que en las otras GSD, estos intervalos pudieran ser más prolongados, no obstante, esta aparente diferencia es variable de acuerdo a cada individuo, y pareciera ser que los pacientes en edades tempranas, pudieran tener un comportamiento similar entre los diferentes tipos de GSD pudiéndose sobreponer los hallazgos en el transcurso de la vida. En relación a las manifestaciones clínicas relacionadas a la GSD, estas parecieran ser más graves, en pacientes con GSD I en donde se han descrito con mayor frecuencia de crisis convulsivas, no obstante, esto no está claramente descrito y se desconoce cómo es la variabilidad en la presentación clínica de la hipoglucemia en los otros grupos de pacientes con GSD.

Con respecto a este punto, es importante mencionar, que los pacientes con GSD IV, a pesar de que tienen compromiso hepático, no presentan hipoglucemia, dado que la enzima involucrada, se relaciona con la formación de cadenas laterales del glucógeno, lo que hace que este sea más compacto para el almacenamiento, pero permite que se descomponga con mayor facilidad cuando se necesita como fuente de energía, por lo que estos pacientes no presentan hipoglucemia secundaria a la propia deficiencia

enzimática, sin embargo el compromiso hepático se genera rápidamente y en etapas tempranas puede presentarse insuficiencia hepática secundaria, por lo que la manifestación de hipoglucemia puede darse en estos pacientes, pero por una causa diferente a la enfermedad propia.

Con respecto a la **hepatomegalia**, se ha descrito en todas las GSD, destacando que esta es un poco más marcada en los pacientes con GSD I respecto al resto de las GSD, pero conforme avanza la enfermedad y con un adecuado control metabólico, esta tiende a mejorar; sin embargo, el comportamiento de la hepatomegalia en edades tempranas es similar entre todos los tipos de GSD y la modificación de esta a lo largo de la vida también es variable.

Con respecto a la movilización de **aminotransferasas**, se puede presentar en todos los pacientes, sin embargo, parece ser un poco mayor en los pacientes con GSD III, donde generalmente exceden 500 U/L, lo que representa una elevación de 10 a 12 veces el valor normal y a medida que avanza la edad disminuye la alanino amino transferasa (ALT) e incrementa aspartato amino transferasa (AST), probablemente por la progresión del daño muscular, o bien, por el desarrollo de fibrosis; en cuanto a la GSD I y IX tienen un comportamiento similar, donde las aminotransferasas están elevadas, 4 a 5 veces por arriba de su valor normal. En cuanto a la GSD XI no se ha descrito el comportamiento. No hay que olvidar que la movilización de aminotransferasas puede estar influenciada por otros factores y por tanto no deberían considerarse para diferenciar en principio los diversos tipos de GSD.

Con respecto a la **dislipidemia**, es un hallazgo habitual a todos los tipos de GSD, no obstante, pareciera ser que los valores más altos se describen la GSD I, pudiendo incluso, condicionar a eventos de pancreatitis, sin embargo en el transcurso de la vida podrían imbricarse los valores de colesterol y triglicéridos en los pacientes con el resto de GSD hepáticas; en el momento no está claramente identificado el intervalo de alteración asociado a los diferentes tipos de GSD; por lo que al igual que todos los datos clínicos y bioquímicos antes mencionados, pueden dar soporte a la sospecha diagnóstica de GSD, pero no permiten clasificarla.

Existen otras alteraciones bioquímicas, que se presentan de forma particular en los diferentes tipos de GSD. La hiperlactatemia moderada a grave se presenta de forma característica en la GSD I, no obstante, la elevación de lactato puede estar determinada por otras entidades en situaciones de estrés agudo, que pueden presentarse como

eventos agregados en otros tipos de GSD, como son: sepsis, hipoperfusión, falla renal, entre otras, por lo que su hallazgo debe evaluarse con cautela, considerando la condición específica del paciente en el momento de su evaluación. La hiperuricemia, también es otra condición asociada a la GSD I, sin embargo el ácido úrico también se incrementa por compromiso de otras rutas metabólicas, por el consumo alto de proteína en la dieta, como ocurre en los pacientes con GSD III, en donde esta manipulación dietética está dada para favorecer la síntesis de glucosa proveniente de la alanina, por lo que el incremento de este analito no necesariamente, sería secundario a la propia GSD; otra razón para su incremento sería la concurrencia con síndrome metabólico que pudiera presentarse por la sobrealimentación que llega a ocurrir en estos pacientes, debido a un mal entendimiento de las recomendaciones

Otra alteración característica por lo general de la GSD I es la neutropenia que oscila desde leve hasta incluso agranulocitosis, lo que altera la función de lo mismos y condiciona a infecciones bacterianas recurrentes e incluso asociación con enfermedad inflamatoria intestinal, lo cual, tradicionalmente se ha asociado a GSD Ib, no obstante algunos pacientes, con GSD Ia, quienes tienen una mutación homocigota específica, pueden presentar también esta alteración con sus respectivas complicaciones.⁸ Por otro, hay que considerar que la neutropenia es un evento que puede presentarse de forma relativamente frecuente, en la edad pediátrica, secundaria a freno medular post infeccioso, por lo que en determinado momento pudiera fungir como factor confusor en el diagnóstico diferencial de las GSD.

Finalmente, algunas GSD, particularmente la tipo III y IX, secundario a la acumulación de glucógeno a nivel muscular pueden presentar elevación de creatinfosfoquinasa (CPK) y mioglobinuria, no obstante, estos hallazgos bioquímicos no necesariamente son observados en todos los pacientes a una edad temprana, pues en la actividad muscular y la progresión de la enfermedad tienen una participación importante en este biomarcador.

Hallazgos Histopatológicos en las GSD

Después de realizar una amplia revisión de la literatura sobre las alteraciones histopatológicas del hígado en pacientes con GSD hepática, se han podido identificar las siguientes alteraciones:

- 1) Cambios morfológicos relacionados con el acúmulo de glucógeno, que incluyen:

a) Agrandamiento de los hepatocitos con citoplasma claro y desplazamiento del núcleo a la periferia, este cambio se ha referido tradicionalmente como células que semejan a las células vegetales.

b) Núcleos glucogenados.

c) Patrón en mosaico que puede ser general o focalizado.

2) Cambios relacionados con inflamación del parénquima hepático.

3) Cambios relacionados con la presencia de esteatosis.

4) Magnitud de la fibrosis.

5) Otras alteraciones como cuerpos de Mallory y los cambios inespecíficos relacionados con ingesta de medicamentos u otro factor agresor.

La frecuencia con que se han descrito estos cambios en los distintos grupos de GSD se refiere a continuación:

1) **Cambios morfológicos relacionados con el acúmulo de glucógeno:**

a) El agrandamiento de las células hepáticas, así como la apariencia descrita de células vegetales, que corresponde al desplazamiento de orgánulos a la periferia por la acumulación de glucógeno, se ha sido descrito de manera global en la GSD I, III, IX y XI^{11,12}, sin conocerse al momento si en alguna de ellas es más frecuente.

b) La presencia de núcleos glucogenados o hiperglucogenización nuclear, secundario a la acumulación de glucógeno en el núcleo celular, se ha descrito predominantemente en GSD I y III (*kishnani et al*).⁹ En la GSD IX se han descrito algunos casos (*Degrassi I et al*¹⁶) y en la GSD XI no se han descrito; Pareciera que su hallazgo se incrementa con la edad (*Gareth P. et al*).¹⁰

c) En cuanto al patrón en mosaico, es habitualmente uniforme y generalizado en las GSD I y III, con una frecuencia muy variable que va desde el 24 % hasta incluso el 100% en otras series (*Inci Nur Saltik et al*¹³; *GOGUS S et al*¹⁴); por otro lado, GSD IX se describe como no uniforme. (*Gareth P et al*¹⁰). No existe información sobre su presencia en la GSD XI.

2) **Cambios relacionados con inflamación del parénquima hepático:** Se ha descrito particularmente en la GSD III y IX, siendo al parecer más frecuente en los pacientes con GSD III hasta un 69% (*Halaby C et al*¹⁵), sin poder hasta el momento, correlacionarse con el grado de fibrosis. De manera característica, cuando se presenta parece ser de bajo grado hasta en el 78% de los pacientes (*Halaby C et al*¹⁵) y con celularidad de predominio linfocitario. Se ha descrito en algunos pacientes con GSD I, sin mencionar

características particulares (*GOGUS S et al*¹⁴). No existe información sobre su presencia en la GSD XI.

3) Cambios relacionados con la presencia de esteatosis : Los acúmulos de grasa, los cuales son principalmente de tipo micro vesicular, como en la mayoría de las enfermedades de depósito, sin embargo, en los pacientes con GSD I se ha descrito principalmente de tipo macro vesicular; la frecuencia de presentación de esteatosis en la población con GSD, no supera el 50% en las diferentes series (*Inci Nur Saltik et al*¹³; *GOGUS S et al*¹⁴; *Degrassi I et al*¹⁶). En cuanto a los pacientes con GSD IX, se ha reportado en un poco más del 50% la presencia de esteatosis leve (*Degrassi I et al*¹⁶). Los pacientes con GSD III no suelen presentar esteatosis (*Schreuder AB et al*¹⁷). No existe información sobre su presencia en la GSD XI.

4) Magnitud de la fibrosis: Fibrosis, esta se venía describiendo de manera exclusiva en las GSD de tipo III, IV, IX, sin embargo, a través de los años, los cambios histológicos han venido modificándose, un claro ejemplo de esto ocurre en los pacientes con GSD I, donde inicialmente se describía la ausencia de fibrosis, sin embargo a partir de 1987, se publican los primeros casos de fibrosis en esta población, actualmente la descripción de la fibrosis es común en la GSD I y su frecuencia podría compararse con otras GSD, esto genera una alarma respecto a lo que antes se creía, dado el mayor riesgo de complicaciones a corto, mediano y largo plazo de los pacientes que tienen esta condición; En datos generales revisando varias series de casos de pacientes pediátricos con GSD I (*Gareth et al*¹⁰, *Saltik et al*¹³, *GOGUS S et al*¹⁴) se reporta fibrosis en el 77% de los pacientes, llamando la atención que en el estudio de *Gareth et al* más de la mitad de los pacientes (60%) presenta la fibrosis a una edad temprana, antes de los 14 meses de edad y habitualmente conforme avanza la edad incrementa el grado de fibrosis, progresando a cirrosis ya en la etapa adulta (*GOGUS S et al*¹⁴). Pareciera ser que en las GSD III y IX la fibrosis se instala desde edades tempranas y ya para la adolescencia se ha descrito que en el 85% la fibrosis se encuentra avanzada. (*Halaby C et al*¹⁵). No se ha reportado la magnitud de fibrosis en los pacientes con GSD XI.

5) Otras alteraciones: La presencia de los cuerpos de Mallory Denk, han sido descritos en casos puntuales, en 2 pacientes adultos de 37 y 22 años de edad con GSD Ia (*Tsuchida H et al*¹⁸; *Itoh S et al*¹⁹); hasta ahora se ha descrito solo en este tipo de GSD, se desconoce si se encuentran los otros tipos de GSD hepáticas.

Para la evaluación histológica del daño hepático, se han descrito tres herramientas de estadificación del mismo, fundamentalmente, a saber:

-El índice de actividad histológica de Knodell, fue publicado en 1981²⁰ (Anexo 2) y fue el primer sistema de este tipo, es considerado el punto de referencia para la descripción objetiva, semicuantitativa y reproducible de las diversas lesiones morfológicas, fue descrita inicialmente para hepatitis crónica e incluye las 4 categorías, (a) necrosis periportal +/- puentes hepatocelulares, (b) degeneración intralobulillar y necrosis hepatocelular focal, (c) inflamación portal y (d) fibrosis. Se asigna una puntuación numérica para cada categoría y la puntuación combinada de las cuatro categorías forma la puntuación del final del índice. La puntuación numérica asignada a cada componente representó un consenso de los autores y se basó en la experiencia clínica. La necrosis periportal +/- puentes hepatocelulares necrosis periportal se ponderó más que otros parámetros, ya que parece ser más influyente en la determinación de la actividad y la gravedad de la hepatitis crónica grave. La forma de categorizar las variables en esta escala es mucho más precisa, tiene menos ítems lo que permite una menor variabilidad inter e intra observador, motivo por el cual se utilizó para la determinación de inflamación y fibrosis en nuestro estudio.

-La escala de Ishak²¹, publicada en 1994, es una modificación de la escala de Knodell, (Anexo 2) incluye las mismas categorías que la escala inicial, necrosis, inflamación y fibrosis, sin embargo, cada una de estas tiene al menos 5 magnitudes a evaluar. Respecto a la fibrosis, la puntuación asignada no se basa en la lesión más avanzada sino en la lesión que afecta a mayor cantidad de tractos portales, lo cual depende, de la cantidad de tractos portales en la biopsia, finalmente esta escala no estadifica la fibrosis como de bajo o de alto grado, simplemente establece un valor numérico, que va de 0, que corresponde a la ausencia de fibrosis, y el puntaje 6, que corresponde a cirrosis definitiva o probable. La inflamación en esta escala se realiza de forma conjunta con la necrosis y no permite estadificar exclusivamente los focos inflamatorios, aunado a que la evaluación en el microscopio requiere de un objetivo 10x, que es variable en cada microscopio por el número de campos que se analizan, lo que genera problemas de reproducibilidad. Las diferencias entre cada nivel de magnitud son sutiles y pueden ser confusas, por lo que la variabilidad inter observador puede ser alta.

-La escala METAVIR²² (Anexo 2), es una herramienta de evaluación histológica que se propuso originalmente en 1996 para la evaluación de pacientes con hepatitis C. Esta

escala se utiliza para clasificar la inflamación y la fibrosis hepática en diferentes categorías. En la categoría de inflamación, la escala METAVIR incluye cuatro grados de actividad que van desde la ausencia de actividad inflamatoria hasta la actividad grave. En cuanto a la fibrosis, la escala METAVIR reporta cinco niveles que van desde la ausencia de fibrosis (F0) hasta la cirrosis (F4); Se considera fibrosis significativa cuando el estadio de fibrosis es F2 y se avanza cuando se informa un estadio F3-F4, lo cual indica cirrosis.

Es importante tener en cuenta que las características evaluadas por la escala METAVIR pueden ser subjetivas y que la interpretación de los diferentes parámetros puede variar entre los observadores. Por lo tanto, es necesario contar con una capacitación adecuada y una revisión cuidadosa para obtener resultados consistentes y confiables al utilizar esta escala en la evaluación histológica.

Analizando estas tres escalas, ninguna permite evaluar de forma integral los cambios histopatológicos descritos en los pacientes con GSD, dado que los cambios relacionados con acúmulo de glucógeno no están incluidos en estas escalas, por otro lado, tampoco se incluye el análisis de la esteatosis y finalmente la necrosis que se incluye, en al menos dos de estas escalas no aplica para los pacientes con GSD.

Justificación

Actualmente existe dificultad para poder caracterizar el tipo de GSD mediante datos clínicos y bioquímicos; sin embargo en algunos casos, se ha utilizado la biopsia hepática como herramienta diagnóstica, se desconoce hasta ahora, si la evaluación histopatológica del hígado puede o no ayudar a la identificación del tipo de GSD, debido a que toda la evidencia que existe en la literatura hasta ahora no ha sido descrita de manera uniforme y las características histológicas referidas en todos los casos o series de la literatura se han descrito de forma inconsistente, es decir algunos autores refieren algunos cambios y otros no, desconociéndose si la ausencia de descripción se debe a falta del hallazgo, o debido a que no se buscó esta alteración. Aún más algunas variables pueden evaluarse de forma general, pero en algunos casos éstas podrían tener una descripción más amplia, describiendo algunas cualidades específicas como localización o magnitud de las mismas. Por esta razón se diseñó una herramienta de evaluación histológica que incluye todas las características histológicas a evaluar en el paciente con GSD. Se eligió para la evaluación de la inflamación y la fibrosis los parámetros considerados en el índice de actividad de Knodell, se incluyeron en esta escala los cambios relacionados con el acumulo de glucógeno incluyendo su localización y magnitud. Además se incluyó la evaluación de la esteatosis de manera cuantitativa para determinar la magnitud utilizando los criterios descritos en la clasificación de Brunt ²³, así mismo se describirán las características cualitativas de ésta, según los hallazgos morfológicos, ya sea microvesicular o macrovesicular. Finalmente se incluyen en esta escala los hallazgos que han sido descritos ocasionalmente, pero que consideramos deben ser buscados intencionadamente, para poder definir claramente su presencia o ausencia en las diferentes GSD hepáticas .

El Hospital Infantil del México, Federico Gómez, es un hospital de III nivel, el cual corresponde un centro de referencia a nivel nacional e internacional, que cuenta con una población cautiva grande de pacientes con GSD, hasta el momento, se ha podido realizar diagnóstico genético, mediante secuenciación de segunda generación, a varios pacientes estableciendo el diagnóstico preciso, por lo que consideramos una gran oportunidad realizar una revisión retrospectiva utilizando la escala histológica de evaluación pediátrica de todos los pacientes que contaran ya con biopsia hepática.

Planteamiento del problema.

No aplica para estudio descriptivo.

Pregunta de investigación.

No aplica para estudio descriptivo.

Hipótesis

La escala de evaluación histológica pediátrica para pacientes con glucogenosis permite describir las diferentes características entre los distintos tipos GSD con afectación hepática: I, III, IX y XI.

Objetivo General:

Evaluar las características histológicas de los pacientes con GSD I, III, IX y XI mediante la Escala de evaluación histológica pediátrica para pacientes con glucogenosis.

Metodología

Diseño:

Tipo de estudio: Descriptivo, observacional, retrospectivo de corte transversal.

-Finalidad del estudio: **Descriptivo**.

-Control de la asignación de los factores del estudio: **Observacional**.

-Cronología en relación con los hechos: **Retrospectivo**.

-Secuencia temporal: **Transversal**

-Tipo: **Serie de casos**

Unidad de observación

Pacientes atendidos en el servicio de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica, Clínica de Hepatopatías, del Hospital infantil de México, Federico Gómez.

Criterios de inclusión:

- Pacientes que a la edad del diagnóstico sean menores de 18 años
- Ambos sexos (Masculino y femenino)
- Manejados en Hospital Infantil de México Federico Gómez en clínica de Hepatopatías.
- Pacientes con diagnóstico molecular de glucogenosis tipo I, III, IX y XI que cuenten con biopsia hepática
- Pacientes con diagnóstico de glucogenosis mediante secuenciación de segunda generación que cuenten con Biopsia hepática.

Criterios de exclusión:

- Ausencia de laminillas completas para revisión.

Selección de casos:

- Identificación de pacientes con diagnóstico de glucogenosis tipo I, III, IX y XI a través del sistema de registro de la clínica de hepatopatías en el Hospital Infantil de México, Federico Gómez.
- Documentar que la entidad corresponda con la definición operativa de los criterios de inclusión
- Diligenciar variables en la base de datos

Procedimientos a realizar:

- Identificación de pacientes
- Revisión de laminillas: Se realizó la revisión de laminillas con el servicio de anatomía patológica, procedimiento que se lleva a cabo con un mismo patólogo, el cual es experto.
- Se realiza revisión de laminillas del archivo de anatomía patológica, en las cuales se utilizaron las tinciones de Hematoxilina- Eosina, Tricómico de Masson, reticulina, tinción de Perl's, PAS, PAS + Diastasa (PAS+D).
- Para cada uno de los pacientes se aplica la Escala de evaluación histológica pediátrica para pacientes con glucogenosis.
- El patólogo encargado de la revisión desconocía el diagnóstico molecular de cada uno de los pacientes, con el fin de evitar sesgos al momento de la revisión.
- Los datos recolectados, se introducen en una base de datos.

Análisis estadístico:

Se aplican medidas de tendencia central.

Herramienta

Anexo 3

Variables

VARIABLES DEMOGRÁFICAS

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Tipo de Glucogenosis	Glucogenosis confirmada por diagnóstico molecular.	1: GSD1 2: GSD3 3: GSD 9 4: GSD 11	Nominal politómica
Género	Característica fenotípica que le confiere ser hombre o mujer.	0: Femenino 1: Masculino	Nominal dicotómica
Edad al diagnóstico	Edad en meses al momento del diagnóstico clínico y/o molecular	Cifra de edad expresada en meses	Numérica
Edad a la toma de la biopsia hepática	Edad en meses al momento de la toma de la biopsia	Cifra de edad expresada en meses	Numérica

ESCALA DE EVALUACIÓN HISTOLÓGICA PEDIÁTRICA DE LOS PACIENTES CON GLUCOGENOSIS HEPÁTICA

1) CAMBIOS MORFOLÓGICOS RELACIONADOS CON EL ACUMULO DE GLUCÓGENO

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Agrandamiento de células Hepáticas.	Aumento del tamaño de los hepatocitos (Normal 20-40 µm), con desplazamiento de los núcleos y organelos hacia la periferia, dando apariencia de células vegetales.	0: Ausente 1: Presente	Nominal Dicotómica
Distribución de las células agrandadas	Pueden afectar a todos los hepatocitos o tener solo algunos de ellos	0: Generalizado 1: Focalizado	Nominal Dicotómica
Núcleos glucogenados	Partículas de glucógeno en el núcleo que se tiñen con tinción de PAS y que con tinción de HE dan la imagen de un núcleo vacío.	0: Ausente 1: Presente	Nominal dicotómica
Distribución de núcleos glucogenados	Pueden afectar a todos los hepatocitos o tener solo algunos de ellos	0: Generalizado 1: Focalizado	Nominal dicotómica
Patrón en Mosaico	Agrandamiento de las células hepáticas y el colapso sinusoidal concomitante dan como resultado la apariencia en mosaico, que oscurece la arquitectura de la placa laminar.	0: Ausente 1: Presente	Nominal Dicotómica
Distribución del Patrón en Mosaico	Patrón en mosaico generalizado a todos los hepatocitos o focalizado a algunos hepatocitos	0: Generalizado 1: focalizado .	Nominal Dicotómica

2) CAMBIOS RELACIONADOS CON LA INFLAMACIÓN DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Inflamación	Presencia de células inflamatorias.	0: Ausente 1: Presente	Nominal Dicotómica
Magnitud de la inflamación	Estadificación histológica de la inflamación acorde con la clasificación de Knodell. A: No hay inflamación portal B. Leve (Presencia de células inflamatorias en menos de un tercio de los espacios porta) C. Moderada (Presencia de células inflamatorias en uno o dos tercios de los espacios porta) D. Marcada (Presencia de células inflamatorias en más de dos tercios de los espacios porta)	0: A 1: B 3. C 4. D	Ordinal
Composición celular de la inflamación	El componente celular de la inflamación portal puede estar constituido por linfocitos, polimorfonucleares, células plasmáticas, o bien, incluir todas las anteriores.	1: Linfocitos 2: Células plasmáticas 3: Polimorfonucleares 4: Mixta (Incluye todas las anteriores)	Nominal politómica

3) CAMBIOS RELACIONADOS CON LA PRESENCIA DE ESTEATOSIS

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Grado de Esteatosis	Proporción de grasa dentro del parénquima hepático según la Clasificación de Brunt - 0 <5% = AUSENTE - 5% -33% = LEVE - 34% -66% = MODERADO - >66%= GRAVE	0: Ausente 1: Leve 2: Moderado 3: Grave	Nominal politómica
Tipo de depósito de esteatosis	El depósito de grasa puede ser - Microvesicular, cuando hay pequeñas vacuolas de grasa en cada hepatocito, que respetan la situación central del núcleo - Macrovesicular cuando hay una vacuola por célula que ocupa casi todo el citoplasma del hepatocito y desplaza el núcleo hacia la periferia de la célula. - Mixta Se observan los dos tipos de depósito.	0: Microvesicular 1: Macrovesicular 2: Mixta	Nominal politómica
Proporción del depósito microvesicular y macrovesicular	Se describe de toda la esteatosis identificada en la muestra cual es la proporción de la esteatosis macrovesicular y microvesicular	Macrovesicular % Microvesicular %	Nominal Dicotómica

4) MAGNITUD DE LA FIBROSIS

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Clasificación de la Fibrosis	<p>Presencia de fibras de colágena en el parénquima hepático</p> <p>Estadificación histológica de la fibrosis acorde con la clasificación de Knodell.</p> <p>AUSENTE: Sin fibrosis LEVE: Expansion fibrosa del espacio porta MODERADA: Fibrosis porto portal o porto centrolobulillar GRAVE: Cirrosis Pérdida de la arquitectura lobulillar hepática normal con tabiques fibrosos que separan y rodean los nódulos</p>	<p>0: Ausente 1: Leve 3: Moderada 4: Grave</p>	Ordinal

5) OTRAS ALTERACIONES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Cuerpos de Mallory- Denk	Acumulación de material eosinofílico denso en el citoplasma del hepatocito.	<p>0: Ausente 1: Presente</p>	Nominal dicotómica
Cambios sugestivos por daño por medicamentos	<p>-Macrófagos citoplasma café portales Citoplasma amplio de aspecto granular grisáceo u ocre que contienen abundante lipofuscina</p> <p>- Presencia de eosinófilos en el parénquima hepático</p>	<p>0: Ausente 1: Macrófagos citoplasma café 2: Eosinófilos 3: Mixta (Macrófagos citoplasma café y eosinófilos)</p>	Nominal politómica

Resultados

Se tuvieron en cuenta para el presente estudio 11 pacientes, con diagnóstico de GSD, confirmado por secuenciación de segunda generación.

Tabla número 1: Datos demográficos (n=11)

	GSD I (n=5) 46%	GSD III (n=2) 18%	GSD IX (n = 3) 27%	GSD XI (n =1) 9%	Total (n=11) 100%
Sexo					
-Femenino	3 (60%)	2 (100%)	-	-	5 (45%)
-Masculino	2 (20%)	-	3 (100%)	1 (100%)	6 (55%)
Mediana de edad a diagnóstico (meses)	8 (3-13)	39.5 (7 -72)	20 (13-20)	12	12 (3-72)
Mediana de edad a la toma de la biopsia hepática (meses)	12 (5-24)	48 (7-75)	24 (15-48)	24	13.5 (5– 75)

Como se observa en la tabla 1 no parece haber diferencia en la presentación de las GSD en general, no obstante, en forma particular , pareciera ser más predominante el género femenino en la GSD 1.

La biopsia hepática se hizo en edades tempranas, ≤ 2 años, en el 82% de los pacientes, la biopsia hepática, tomada a mayor edad correspondió a un paciente de 4 años y otro paciente de 6 años 2 meses.

Tabla número 2: Datos histológicos de los pacientes con GSD hepática (n=11)

	GSD I (n=5)		GSD III (n=2)	GSD IX (n=3)	GSD XI (n=4)	GSD (n=11)
	la	lb				
Número de pacientes n(%)	3 (60%)	2 (40%)	2 (18%)	3 (27%)	1(9%)	11 (100%)
Cambios morfológicos relacionados con glucogenosis hepática						
Agrandamiento de células hepáticas n(%)	3(100%)	2(100%)	2 (100%)	2 (66.6%)	0 (0%)	9 (82%)
Distribución						
<i>Focal n(%)</i>	-	2 (100%)	-	-	-	2 (22%)
<i>Generalizada n(%)</i>	3(100%)	-	2 (100%)	2 (100%)	-	7 (78%)
Núcleos glucogenados n(%)	3(100%)	1(50%)	0 (0%)	2 (66.6%)	0 (0%)	6(55%)
Distribución						
<i>Focal n(%)</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Generalizada n(%)</i>	3(100%)	1 (100%)	-	2 (100%)	-	6(100%)
Patrón en mosaico n(%)	2(66.6%)	1(50%)	1 (50%)	1 (33.3%)	0 (0%)	5(46%)
Distribución						
<i>Focal n(%)</i>	1(50%)	1(100%)	-	1 (100%)	-	3(60%)
<i>Generalizada n(%)</i>	1(50%)	-	1 (100%)	-	-	2(40%)
Cambios relacionados con la inflamación en el parénquima hepático						
Inflamación n(%)	1(33.3%)	0(100%)	1 (50%)	1 (33.3%)	0 (0%)	3(27%)
Magnitud						
<i>Leve n(%)</i>	1(100%)	-	1 (100%)	1 (100%)	-	3(100%)
<i>Moderada n(%)</i>	-	-	-	-	-	-
Composición celular	Linfocitos	-	Mixta	Linfocitos	-	67% Linfocitos / 33% Mixta
Cambios morfológicos relacionados con la presencia de esteatosis						
Esteatosis n(%)	3(100%)	1(50%)	0 (0%)	2 (66.6%)	0 (0%)	6(55%)
Magnitud						
<i>Leve n(%)</i>	1(33.3%)	1 (100%)	-	2 (100%)	-	4 (66.6%)
<i>Moderada n(%)</i>	2(66.6%)	-	-	-	-	2 (33.3%)
Tipo de depósito n(%)						
<i>Microvesicular n(%)</i>	-	-	-	1(50%)	-	1(17%)
<i>Macrovesicular n(%)</i>	1 (33.3%)	1(100%)	-	0(0%)	-	2(33%)
<i>Mixta n(%)</i>	2(66.6%)	-	-	1(50%)	-	3(50%)
Magnitud de la fibrosis						
Fibrosis n(%)	2(67%)	1(50%)	2 (100%)	2 (67%)	0 (0%)	7 (64%)
Clasificación fibrosis n(%)						
<i>Bajo grado</i>	1(50%)	-	1(50%)	-	-	2(29%)
<i>Alto grado</i>	1(50%)	1(100%)	1 (50%)	2 (100%)	-	5(71%)
Otras alteraciones						
Cuerpos de Mallory n(%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)	1 (9%)
Cambios sugestivos por daño de medicamento n(%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0(0%)	1 (9%)

Los cambios histológicos descritos en las GSD hepáticas se observaron en todas las GSD excepto en la tipo XI , en donde las características histológicas del hígado fueron completamente normales; así mismo, en uno de los pacientes con GSD IX solo se documentó agrandamiento de células hepáticas, sin ningún otro hallazgo.

A continuación, se realizará una descripción de las diferencias observadas en cada variable histológica de evaluación en las GSD I, III, y IX

1) Cambios morfológicos en relación al acumulo de glucógeno.

a) Agrandamiento de células hepáticas: se presentó en todos los pacientes con GSD I y III, mientras que en los pacientes con GSD IX, se presentó en dos terceras partes. La localización tiende a ser generalizada en todos los pacientes, excepto en los pacientes con GSD Ib.

b) Los núcleos nuclogenados: No se documentaron núcleos glucogenados en los pacientes con GSD III. Se presentó en más de la mitad de los pacientes con GSD I, siendo más frecuente en el tipo Ia, donde se presentaron los núcleos glucogenados en todos los pacientes, así como en al menos dos tercios de los pacientes con GSD IX. La distribución fue generalizada, en todos los pacientes.

c) Patrón en mosaico: está presente en al menos en la mitad de los pacientes con GSD I y III y en un tercio de los pacientes con GSD IX. No hay una tendencia respecto al patrón de localización para la GSD I, sin embargo, en los pacientes con GSD III se observó una distribución generalizada y en los pacientes con GSD IX focalizada.

2) Cambios en relacion con la inflamación en el parénquima hepático.

La inflamación, está presente en una baja proporción ($\leq 50\%$), en los pacientes con GSD I, III, IX; en aquellos pacientes que la presentan, se caracteriza por ser leve. Las células inflamatorias características a los pacientes con GSD I y IX fueron los linfocitos y en los pacientes con GDS III la celularidad mixta.

3) Cambios relacionados con la presencia de esteatosis.

La esteatosis no se documentó en los pacientes con GSD III. Estuvo presente todos los pacientes con GDS Ia y la mitad de los pacientes con GSD Ib, así como en dos tercios de los pacientes con GSD IX

Los pacientes con GSD I tuvieron la misma proporción entre esteatosis macrovesicular y mixta y lo mismo sucedió con los pacientes con GSD IX tuvieron pero en entre la esteatosis microvesicular y mixta.

Un solo paciente con GSD la tuvo esteatosis moderada, su biopsia se tomó a los 24 meses, siendo la más tardía en el grupo de pacientes con GSD I. Todos los pacientes con GSD IX tuvieron esteatosis leve.

4) Magnitud de la fibrosis.

Con respecto a la fibrosis, se encontró presente en todos los pacientes con GSD III y en al menos la mitad de los pacientes con GSD I y IX.

Respecto a la GSD I, se encontró en al menos dos terceras partes de los pacientes con GSD Ia y en la mitad de los pacientes con GSD Ib.

En los pacientes con fibrosis de alto grado, correspondiente a 5 pacientes con GSD I,III y IX, un solo paciente tenía menos de 1 año de edad al momento de realización de biopsia, el resto de los pacientes se encontraban entre los 2 y 6 años al momento de realización de la misma. Todos los pacientes con GSD IX presentaron fibrosis de alto grado.

El paciente con GSD III que presento fibrosis de bajo grado, tuvo diagnóstico clínico, así como biopsia hepática de manera temprana, a los 7 meses de edad.

5) Otras alteraciones.

La presencia de cuerpos de Mallory Denk, solo presento en 1 paciente, perteneciente a un paciente con GSD IX, como condición a resaltar era un paciente con fibrosis de alto grado y con esteatosis microvesicular. No se documentó este hallazgo en los pacientes con GSD I, III ni XI.

Un paciente con GSD tipo III, tuvo cambios sugestivos de daño hepático por medicamentos caracterizado por la presencia de macrófagos con citoplasma café y eosinófilos; a destacar este paciente tuvo fibrosis de alto grado. Fue el paciente de mayor edad al diagnóstico, así como al momento de realización de la biopsia hepática, en nuestra serie de pacientes.

Discusión

Este estudio describe las características histológicas de los pacientes con GSD, hepáticas I, III, IX y XI; se plantea proponer la implementación de una escala de evaluación histológica pediátrica para pacientes con GSD hepáticas, la cual permite evaluar de forma metódica y organizada todas las características histológicas descritas en la literatura en los pacientes con GSD y así unificar estos hallazgos sin omitir o describir de forma incompleta las características histológicas de los pacientes con GSD hepática.

En relación a los cambios morfológicos, se observaron principalmente en los pacientes con GSD I, III y IX, mientras que el paciente con GSD XI no presentó ninguna alteración morfológica. La biopsia de este paciente se realizó a los 2 años, edad en la que la mayoría de los pacientes con otras GSD hepáticas ya presentan cambios histológicos. Aún se desconoce si esta observación está relacionada con el déficit enzimático y la vía metabólica específica de estos pacientes. Estos hallazgos son consistentes con la literatura, donde solo se han descrito algunos casos de pacientes con GSD XI, algunos de los cuales muestran agrandamiento de células hepáticas y otros presentan histología hepática normal (*Hasan Özen*¹¹; *Ridaura C et al*¹²; *Miranda et al*²⁷). Es probable que estos pacientes, a pesar de tener GSD con afectación hepática, nunca presenten daño histológico o bien este sea leve y de aparición tardía.

Llama la atención que el agrandamiento de las células hepáticas que se refiere siempre en todos los tipos de glucogenosis no haya coincidido con lo reportado en este trabajo en donde dos pacientes no presentaron esta alteración, uno de la tipo IX y otro de la XI (*Hasan Özen*¹¹; *Ridaura C*¹²).

Los núcleos nucleogenados se identificaron con mayor frecuencia en GSD I y IX, asociándose a la presencia de fibrosis de alto grado, lo cual llama la atención; no se encontró núcleos glucogenados en los pacientes con GSD III, lo que difiere de la literatura revisada, aunque se correlaciona con el estudio realizado por *Degrassi et al*¹⁶ donde fueron descritos en GSD IX, sin embargo, la muestra del estudio actual es muy pequeña para sacar conclusiones.

En relación con el patrón en mosaico, se observa su presencia en los pacientes con GSD I, III y IX, siendo predominante en los pacientes con GSD I. Este hallazgo es consistente con los resultados reportados en la literatura (*Inci Nur Saltik et al*¹³; *GOGUS S et al*¹⁴). Respecto a la localización de este patrón, se ha observado que tiende a ser focalizada en los pacientes con GSD I, mientras que en los pacientes con GSD III la

localización es generalizada. Hasta el momento, no se dispone de información en la literatura que permita comparar este hallazgo con otros estudios.

En nuestro estudio, observamos que los pacientes con GSD I y IX presentaron un mayor grado de esteatosis hepática en comparación con los otros tipos de GSD descritos. Sin embargo, se destacó una diferencia en el patrón de depósito de grasa entre los pacientes con GSD I y GSD IX. En el grupo de GSD IX, el depósito de grasa fue de tipo microvesicular, encontrando fibrosis de alto grado. Por otro lado, en los pacientes con GSD I, se observó una tendencia a esteatosis de tipo macrovesicular, así como fibrosis de bajo grado, lo que puede sugerir asociación directa entre estos dos hallazgos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la edad en el momento de la biopsia hepática y el diagnóstico clínico, pueden influir en los resultados obtenidos, como es el caso de uno de los pacientes con GSD Ib, quien presentó fibrosis de alto grado, probablemente relacionado al diagnóstico y biopsia hepática tardía a los 6 años de edad.

En nuestro estudio, se documentó la presencia de fibrosis en el 100% de los pacientes con GSD III. Sin embargo, a diferencia de lo reportado en la literatura, donde prevalece la fibrosis de alto grado en un 85% de los casos (*Halaby C et al¹⁵*), observamos una proporción similar de fibrosis tanto de bajo como de alto grado en nuestra muestra. Es importante tener en cuenta que nuestra muestra fue muy pequeña y el grado de fibrosis puede verse afectado por la edad al momento de la biopsia. Específicamente, en nuestro estudio, el paciente con fibrosis de bajo grado se sometió a una biopsia temprana a los 7 meses de edad, lo cual pudo haber influido en el resultado obtenido.

Respecto a la inflamación, en nuestro estudio, encontramos fue un hallazgo frecuente en los pacientes con GSD I, III y IX. Sin embargo, la inflamación fue característicamente leve en todos los pacientes, predominantemente de tipo linfocítico. Solo en un paciente con GSD III se observó una celularidad mixta, cabe destacar que este paciente presentó fibrosis de mayor grado, lo que podría sugerir una posible relación causal entre la inflamación y la fibrosis, no obstante presentó cambios sugestivos de toxicidad por medicamentos con hallazgo de macrófagos con citoplasma café y eosinófilos; reconociendo que la inflamación hepática puede ser influenciada por múltiples factores y es difícil establecer una correlación directa entre la magnitud de la inflamación y el desarrollo de la fibrosis.

Es posible que la inflamación observada sea parte del espectro de hallazgos histológicos secundarios a la propia enfermedad o pueda indicar una lesión hepática superpuesta

debido a una etiología completamente diferente. En este punto, es importante considerar el estado serológico de los pacientes, ya que infecciones virales comunes en la edad pediátrica pueden desencadenar daño tisular. Además, la hepatotoxicidad que puede estar relacionada con el uso de medicamentos comunes, especialmente por la frecuencia requerida en pacientes con GSD I, destacando el uso antibióticos, antipiréticos y en algunos casos anticomiciales, pueden contribuir a lesión hepática; Igualmente, la condición metabólica, ya sea, por control inadecuado de la enfermedad o síndrome metabólico secundario a una insuficiente adherencia de las recomendaciones nutricionales, pueden favorecer el desarrollo de sobrepeso, esteatosis hepática y un estado proinflamatorio.

En vista de todas estas consideraciones y diversidad de factores, el parámetro histológico de inflamación hepática debe ser interpretado con precaución y evaluado en el contexto particular del paciente en el momento de la biopsia hepática.

Es importante destacar que tanto la esteatosis, inflamación y fibrosis pueden influir en el curso natural de la enfermedad y si bien se han descrito complicaciones hepáticas a largo plazo en los diferentes tipos de GSD, como adenomas, se desconoce cual es la proporción de pacientes que desarrollan cirrosis con sus complicaciones respectivas como hipertensión portal y falla hepática.

En cuanto a otros hallazgos, se documentó la presencia de cuerpos de Mallory Denk en un paciente con GSD IX, este hallazgo no se compara con lo descrito en la literatura, en la cual solo se han descrito 2 casos de pacientes adultos con GSD I (*Tsuchida H et al*¹⁸; *Itoh S et al*¹⁹); no hay casos reportados en pacientes pediátricos con GSD IX. Es importante destacar que el paciente en nuestro estudio con GSD IX también presentaba fibrosis de alto grado. Esto plantea la posibilidad de una asociación entre la presencia de cuerpos de Mallory-Denk y la fibrosis hepática en estos pacientes. Sin embargo, también es importante considerar que este hallazgo ha sido descrito en los pacientes con esteatohepatitis.

Dado que existen pocos casos documentados de cuerpos de Mallory-Denk en pacientes con GSD, especialmente en aquellos con GSD IX, se requieren estudios adicionales para evaluar su asociación con otras condiciones y comprender mejor su implicación en el curso de la enfermedad.

Finalmente, en el contexto de las enfermedades de almacenamiento de glucógeno hepático (GSD), no existe una herramienta estructurada específica para la evaluación histológica del hígado en estos pacientes. En este trabajo se adaptó una herramienta

de evaluación histológica del hígado en pacientes con GSD que integra todas las variables relevantes descritas en estas enfermedades y permitió aún con una muestra pequeña obtener diferencias histológicas entre las distintas GSD hepáticas, por lo que se propone como herramienta habitual en el análisis histopatológico de las GSD hepáticas, lo que permitirá en un futuro tener información completa y objetivamente evaluada que ayudará a definir las características histológicas particulares de las GSD hepáticas y establecer los cambios esperados en el transcurso de la vida, al realizar un registro metódico de los cambios observados en cada paciente con GSD hepática que sea evaluado en el transcurso de su vida.

Conclusión

Este estudio plasma no solo las generalidades desarrolladas en la literatura, de pacientes con enfermedades del almacenamiento de glucógeno (GSD), sino es un primer paso para el desarrollo de una herramienta de evaluación histológica estructurada y organizada, que permita una comprensión de los hallazgos histológicos en estos pacientes y facilite una descripción más precisa de la afectación hepática en el contexto de las GSD.

Anexos

Anexo 1 : Glucogenosis reportadas hasta el momento.

Tipo	Nombre alternativo	Afectación enzimática	Gene	OMIM*
0	0a	Enzima glucógeno sintasa hepática	<i>GYS2</i>	240600
	0b	Enzima glucógeno sintasa muscular	<i>GYS1</i>	611556
I	Ia ; Von Gierke	Enzima glucosa 6-fosfatasa	<i>G6PC</i>	232200
	Ib: Von Gierke	Enzima glucosa 6-fosfatasa (transportador)	<i>SLC37A4</i>	232220
II	Pompe	Enzima alfa glucosidasa	<i>GAA</i>	232300
III	Cori /Forbes	Enzima desramificante del glucógeno	<i>AGL</i>	232400
IV	Andersen	Enzima ramificante del glucógeno	<i>GBE1</i>	232500
V	McArdle	Enzima glucógeno fosforilasa muscular	<i>PYGM</i>	232600
VI	Hers	Enzima glucógeno fosforilasa hepática	<i>PYGL</i>	232700
VII	Tarui	Enzima fosfofructocinasa,	<i>PFKM</i>	232800
IX	IXa	Enzima glucógeno desfoforilasa-kinasa a nivel hepático (subunidad alfa2)	<i>PHKA2</i>	306000
	IXb	Enzima glucógeno desfoforilasa-kinasa a nivel hepático (subunidad beta)	<i>PHKB</i>	261750
	IXc	Enzima glucógeno desfoforilasa-kinasa a nivel hepático (subunidad gamma)	<i>PHKG2</i>	613027
	IXd	Enzima glucógeno desfoforilasa-kinasa a nivel hepático (subunidad alfa1)	<i>PHKA1</i>	300559
X	-	Enzima Fosfoglicerato	<i>PGAM2</i>	261670
XI	Fanconi-Bickel	Deficiencia de GLUT2	<i>SLC2A2</i>	227810
XII		Aldolasa A	<i>ALDOA</i>	611881
XIII		Beta- Enolasa	<i>ENO3</i>	612932
XV	-	Glucogenina 1	<i>GYG1</i>	603942

*OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man)

Anexo 2: Escalas de clasificación histológica en biopsia hepática.

Índice de actividad (Clasificación de Knodell)

INFLAMACIÓN PORTAL		FIBROSIS	
	SCORE		SCORE
No	0	No	0
Mínima (inflamación <1/3 del espacio portal)	1	Expansión fibrosa del espacio portal	1
Moderada (inflamación de 1/3 a 2/3 del espacio portal)	3	Fibrosis porto-porta o porto centrolobulillar	3
Marcada (denso infiltrado inflamatorio >2/3 del espacio portal)	4	Cirrosis ^(c)	4

(a) 2 puentes en la muestra de biopsia hepática; no se hace distinción entre enlace portal-portal y portal-central.
 (b) 2 o más lóbulos con necrosis panlobular
 (c) Pérdida de la arquitectura lobulillar hepática normal con tabiques fibrosos que separan y rodean los nódulo

Sistema de METAVIR

ALGORITMO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HISTOLÓGICA.		
SISTEMA DE CLASIFICACIÓN PARA INFLAMACIÓN		
Score	Descripción	
0	No actividad	A0
1	Actividad leve	A1
2	Actividad moderada	A2
3	Actividad grave	A3
SISTEMA DE CLASIFICACIÓN PARA FIBROSIS		
Score	Descripción	
0	Sin fibrosis	F0
1	Tractos portales agrandados, pero sin septos	F1
2	Septos portales agrandados con formación de septos	F2
3	Numerosos septos sin cirrosis	F3
4	Cirrosis	F4

Knodell (HAI) Modificada por Ishak

SCORE NECROINFLAMATORIO	SCORE
A. Hepatitis de interfase periportal o periseptal	
-Ausente	0
-Leve (Focal, algunas áreas portales)	1
-Leve/moderada (Focal, mayoría se áreas portales)	2
-Moderada (continua <50% de los tractos o septos)	3
-Severa (continua > 50% de los tractos o septos)	4
B. Necrosis confluyente	
-Ausente	0
-Necrosis focal confluyente	1
-Zona 3 necrosis en algunas áreas	2
-Zona 3 necrosis en la mayoría de áreas	3
-Zona 3 necrosis + puentes ocasiones porto-central	4
-Zona 3 necrosis + puentes múltiples porto-central	5
- Necrosis panacinar o multiacinar	6
C. Necrosis lítica focal, apoptosis e inflamación local	
-Ausente	0
-1 foco o menos por objetivo 10X.	1
-2 a 4 focos por objetivo 10X.	2
-5 a 10 focos por objetivo 10X.	3
->10 focos por objetivo 10X.	4
D. Inflamación portal	
-Ninguna	0
-Leve, algunas o todas las áreas portales	1
-Moderada, algunas o todas las áreas portales	2
-Moderada/marcada, todas las áreas portales	3
-Marcada, todas las áreas portales	4
Máximo SCORE POSIBLE	18
ESTADIO MODIFICADO: CAMBIOS EN ARQUITECTURA, FIBROSIS Y CIRROSIS	SCORE
-Sin fibrosis	0
-Fibrosis con expansión a algunas áreas portales con o sin septos fibrosos cortos	1
-Fibrosis con expansión a la mayoría de las áreas portales con o sin septos fibrosos cortos	2
-Fibrosis con expansión a la mayoría de las áreas portales con puentes ocasionales porto –portal (P-P)	3
-Fibrosis con expansión a las áreas portales con puentes marcados porto – portal (P-P) así como porto – central (P-C)	4
-Puentes marcados (P-P y/o P-C) con nódulos ocasiones (cirrosis incompleta)	5
-Cirrosis, probable o definitiva.	6
Máximo SCORE POSIBLE	6

Anexo 3:

Escala de evaluación histológica pediátrica para pacientes con glucogenosis

1) CAMBIOS MORFOLÓGICOS RELACIONADOS CON EL ACUMULO DE GLUCÓGENO				
Agrandamiento de células hepáticas	Presencia de las células agrandadas	Si	No	
	Distribución de las células agrandadas	Generalizado	Focalizado	
Núcleos glucogenados	Presencia de núcleos glucogenados	Si	No	
	Distribución de los núcleos glucogenados	Si	No	
Patrón en mosaico	Presencia del patrón en mosaico.	Si	No	
	Distribución del patrón en mosaico.	Generalizado	Focalizado	
2) CAMBIOS RELACIONADOS CON LA INFLAMACIÓN DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO				
Inflamación	Presencia de células inflamatorias	Si	No	
	Magnitud de la inflamación - Clasificación (Knodell) A: No hay inflamación portal B. Leve (Presencia de células inflamatorias en menos de 1/3 de los espacios porta) C. Moderada (Presencia de células inflamatorias en 1/3 - 2/3 del los espacio porta) D. Marcada (Presencia de células inflamatorias en mas de 2/3 de los espacios porta)	A	C	
		B	D	
	Composición celular de la inflamación	Linfocitos	Polimorfonucleares	
Células Plasmáticas		Mixta		
3) CAMBIOS RELACIONADOS CON LA PRESENCIA DE ESTEATOSIS				
	Grado de esteatosis - 0 <5% = AUSENTE - 5 -33% = LEVE - 34% -66% = MODERADO - >66%= GRAVE	Ausente	Moderado	
		Leve	Severo	
	Tipo de depósito de esteatosis	Microvesicular	Macrovesicular	
		Macro y microvesicular		
Proporción del depósito de esteatosis micro	% Microvesicular	% Macrovesicular		
4) MAGNITUD DE LA FIBROSIS				
	Clasificación de la fibrosis - Clasificación (Knodell) A: Sin fibrosis (Score 0) B: Expansion fibrosa del espacio porta (Score 1) C: Fibrosis porto portal o porto centrolobulillar (Score 3) D: Cirrosis (Score 4)	A	C	
		B	D	
5) OTRAS ALTERACIONES				
	Cuerpos de Mallory Denk	Si	No	
	Cambios sugestivos por daño por medicamentos 0: Ausente 1: Macrófagos citoplasma café 2: Eosinófilos 3: Mixta (Macrófagos citoplasma café y eosinófilos)	Ausente	Macrófagos con citoplasma café	
		Eosinófilos	Mixta	

Anexo 4 Hallazgos histológicos

Cambios morfológicos:

Imagen número 1: Agrandamiento de células hepáticas y patrón en mosaico

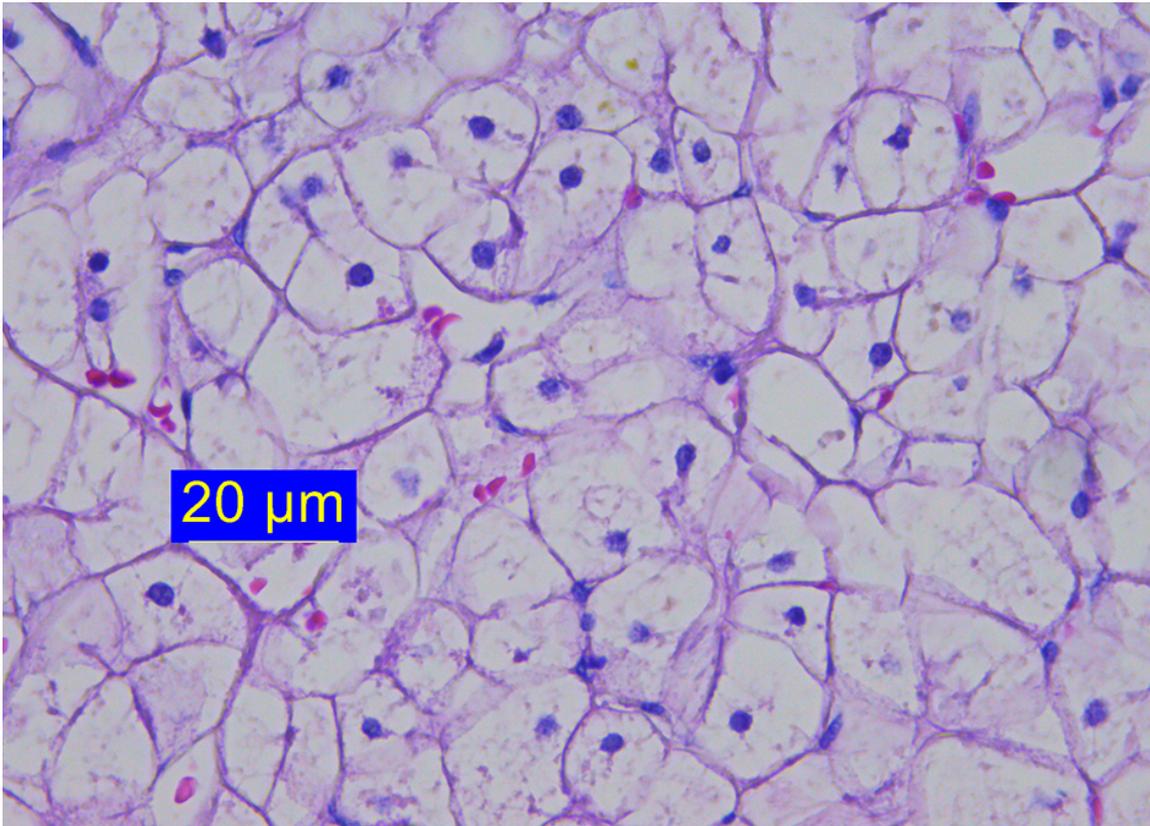
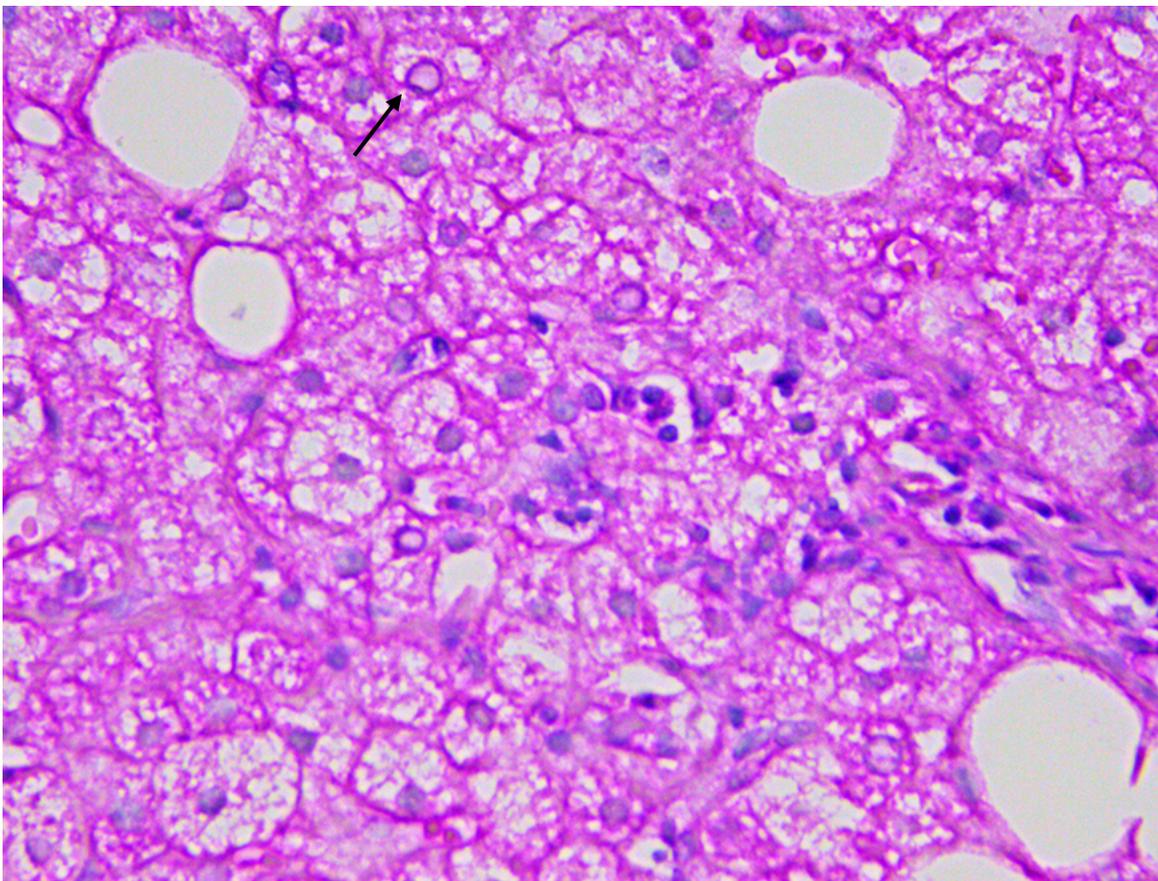


Imagen número 2: Presencia de núcleos glucogenados.



Esteatosis

Imagen número 3: Depósito de tipo macrovesicular:

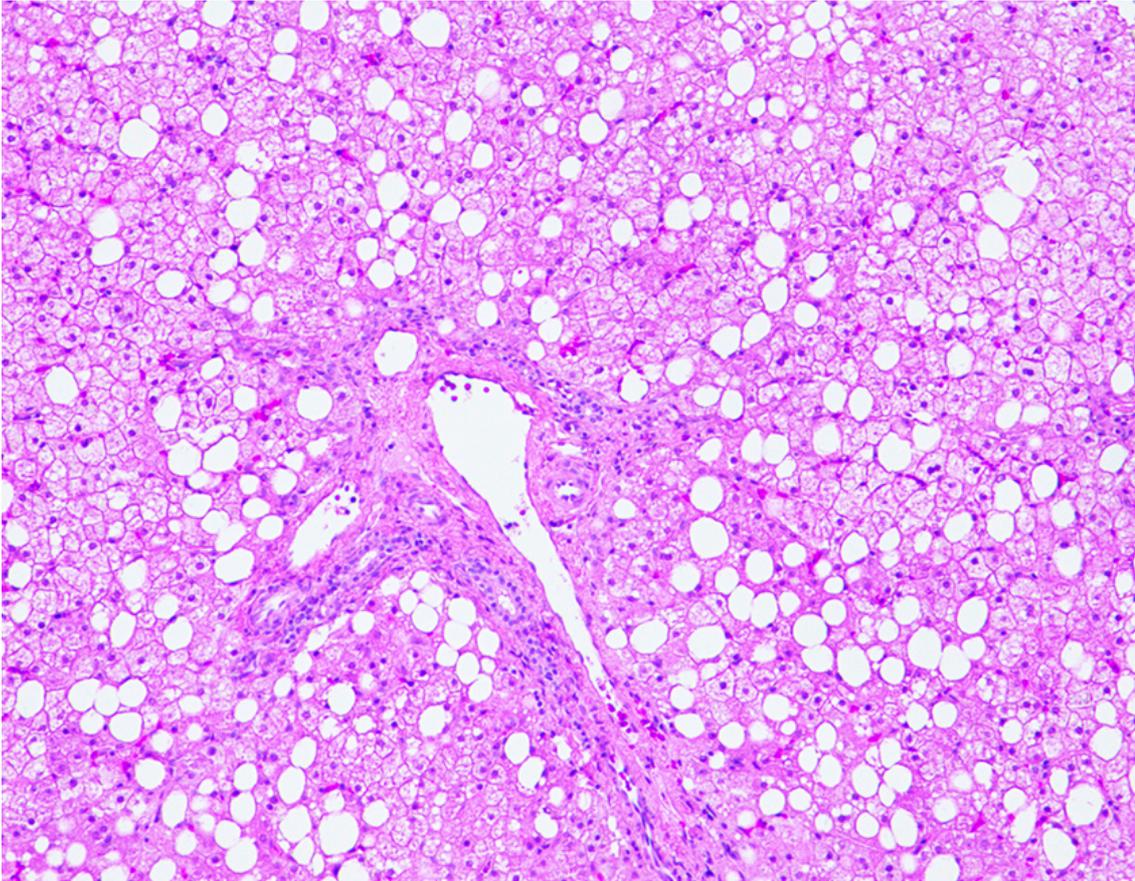
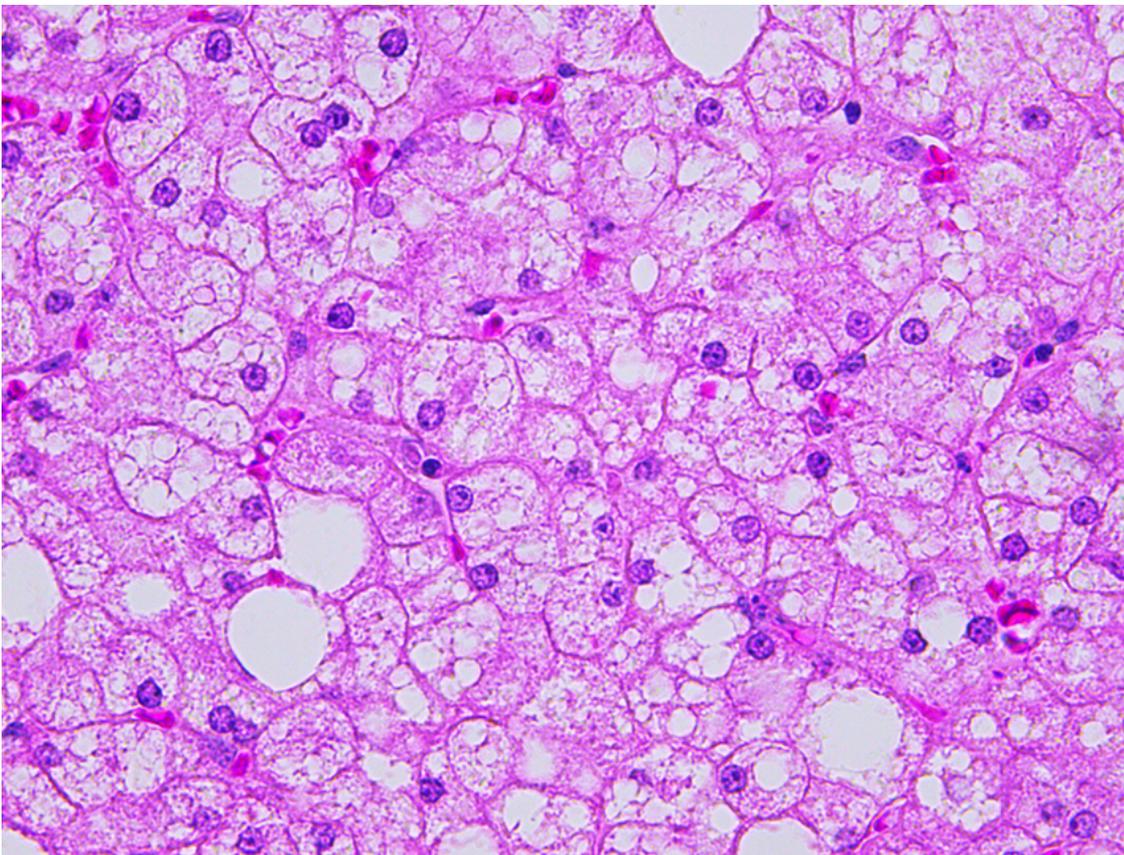
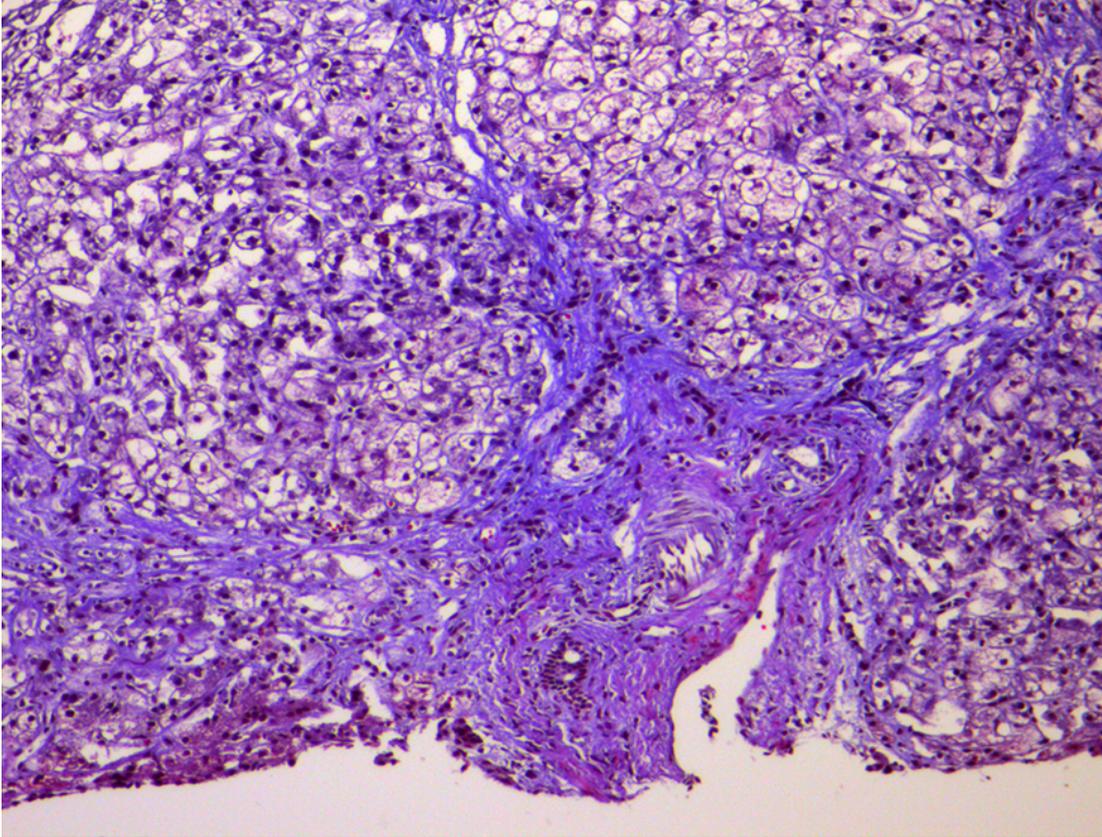


Imagen número 4: Depósito de tipo microvesicular:



Fibrosis

Imagen número 5: fibrosis (Knodell 4 : alto grado)



Anexo 5: Tabla de caracterización de los pacientes

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Sexo F/M*	M	F	F	M	F	F	F	M	M	M	M
GSD	Ia	Ia	Ia	Ib	Ib	IIIa	IIIa	IXa	IXa	IXa	XI
Edad al diagnóstico (meses)	13	8	4	8	3	72	7	13	24	20	12
Edad a la biopsia (meses)	24	12	5	12	11	75	7	15	48	24	24
Agrandamiento de células hepáticas	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	NO
Distribución**	G	G	G	F	F	G	G	N/A	G	G	N/A
Núcleos glucogenados	SI	SI	SI	NO	SI	NO	NO	SI	SI	NO	NO
Distribución	G	G	G	N/A	G	N/A	NA	G	G	N/A	N/A
Patrón en mosaico	SI	SI	NO	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	NO
Distribución	G	F	N/A	N/A	F	G	N/A	F	N/A	N/A	N/A
Inflamación	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	SI	NO	NO
Magnitud**	Leve	N/A	N/A	N/A	N/A	Mod	N/A	N/A	Leve	N/A	N/A
Celularidad	Linfocitos	N/A	N/A	N/A	N/A	Mixta	N/A	N/A	Linfocitos	N/A	N/A
Esteatosis	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO
Magnitud	Mod	Leve	Leve	Leve	NA	N/A	N/A	Leve	Leve	N/A	N/A
Tipo de depósito	Mac	Mixta	Mixta	Mac	NA	N/A	N/A	Mixta	Mic	N/A	N/A
Fibrosis	SI	SI	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO
Magnitud	Alto grado	Bajo grado	N/A	N/A	Alto grado	Alto grado	Bajo grado	Alto grado	Alto grado	N/A	N/A
Cuerpos de Mallory	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO
Relacionados con daño por medicamento	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO

Bibliografía

1. Ellingwood S. et al. Biochemical and Clinical Aspects of Glycogen Storage Diseases. *Journal of Endocrinology* 2018; 238(3): R131–R141.
2. Derks T, Rodriguez-Buritica D, Ahmad A, et al. Glycogen storage disease type Ia: current management options, burden and unmet needs. *Nutrients* 2021; 13:382-388.
3. Santer R, Kinner M, Steuerwald U, et al. Molecular genetic basis and prevalence of glycogen storage disease type IIIA in the Faroe Islands. *European Journal of Human Genetics* 2001; 9: 388-391
4. Magoulas P, El-Hattab A. Glycogen storage disease type IV. Seattle (WA): In *Gene Reviews*. University of Washington; 1993–2022.
5. Labrador E, Weinstein DA. Glycogen storage disease type VI. Seattle (WA): In: *GeneReviews*. University of Washington; 1993–2022.
6. Kishnani P, Goldstein J, Austin S, et al., ACMG Work Group on Diagnosis and Management of Glycogen Storage Diseases Type VI and IX. Diagnosis and management of glycogen storage diseases type VI and IX: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* 2019; 21:772–789.
7. Marion R, Paljevic E. The Glycogen Storage Disorders. *Pediatrics in Review* 2020;41(1):41-44
8. Weston BW, Lin JL, Muenzer J et al ; Glucose-6-Phosphatase Mutation G188R Confers an Atypical Glycogen Storage Disease Type 1b. Phenotype. *Pediatric Research*. 2000; 48: 329–334
9. Kishnani S, Goldstein J, Austin S et al. Diagnosis and management of glycogen storage diseases type VI and IX: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) . *Genetics in Medicine* 2019.
10. Gareth P, Milton J, Finegold (1994) Reliability of Histological Criteria in Glycogen Storage Disease of the Liver, *Pediatric Pathology*, 14:4, 709-721
11. Hasan Özen. Glycogen storage diseases: New perspectives. *World Journal of Gastroenterology*. 2007 May 14; 13(18): 2541-2553
12. Ridaura C, Sanchez P. Lactante de sexo femenino de siete meses de edad con hepatomegalia, hipoglucemia y talla baja. *Gaceta Medica de México* 2010;146(3):207-211.
13. Saltik, I.N, Özen H, Ciliv G. et al. Glycogen storage disease type I a: Frequency and clinical course in Turkish children. *Indian Journal of Pediatrics* 2000; 67:497–501
14. Gogus S, Kocak N, Ciliv G, et al. Histologic Features of the Liver in Type Ia Glycogen Storage Disease: Comparative Study between Different Age Groups and Consecutive Biopsies. *Pediatric and Developmental Pathology* 2002;5: 299 – 304
15. Halaby C. Et al. Liver fibrosis during clinical ascertainment of glycogen storage disease type III: a need for improved and systematic monitoring. *Genetics in Medicine* (2019) 21:2686–2694
16. Degrassi I, Deheragoda M, Creegen D et al. Liver histology in children with glycogen storage disorders type VI and IX. *Digestive and Liver Disease*. 2020; 23:4
17. Schreuder AB, Rossi A, Grünert SC, et al. Glycogen Storage Disease Type III. 2010 Mar 9 [Updated 2022 Jan 6]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Bookshelf URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>
18. Tsuchida H, Iwadare S, Shirai A, Itoh S. “Alcoholic” hyalin in the liver of a patient with type I glycogen storage disease. *Acta Hepatologica Japonica* 1979;20:770.
19. Itoh s, Ishida Y, Matsuo S. Mallory bodies in a patient with type Ia glycogen storage disease. *Gastroenterology* 1987 Feb; 92(2):520-3

20. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. HEPATOLOGY 1981; 1:431-435.
21. Ishak KG. Chronic hepatitis: morphology and nomenclature. Modern Pathology 1994;7:690-713.
22. Bedossa P, Poynard T and the French METAVIR Cooperative Study Group. An algorithm for grading activity in chronic hepatitis C. HEPATOLOGY 1996; 24:289-293.
23. Brunt EM, Janney CG, di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions. The American Journal of Gastroenterology. 1999; 94:67-74.
24. . James McAdams, M:D., George Hug, M.D., and Kevin E. Bore, M.D . GLYCOGEN STORAGE DISEASE, TYPES I TO X . PATHOLOGY 1974 . 5; 4. 1974
25. Gupnther G, Mauz-Krholz C, Krholz D, et al: G-CSF and liver toxicity in a patient with neuroblastoma. Lancet 1992; 8831:1352.
26. Shah KA, Levin J, Rosen N, et al: Allopurinol hepatotoxicity potentiated by tamoxifen. Drug Intell. Clinical Pharmacology 1985; 19:431-433,
27. Miranda S, Villalpando S, Núñez I et al. Fanconi-Bickel syndrome: A case report. Boletin Medico Hospital Infantil Mexico. 2009; 66:171-177