

HEPATITIS EN BIOPSIAS HEPÁTICAS EVALUADAS EN EL DEPARTAMENTO
DE PATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER ENTRE
EL 1° DE ENERO DE 1998 Y 30 NOVIEMBRE DE 2002

OLGA LILIANA MEJIA MEJIA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA
BUCARAMANGA

2004

HEPATITIS EN BIOPSIAS HEPÁTICAS EVALUADAS EN EL DEPARTAMENTO
DE PATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER ENTRE
EL 1° DE ENERO DE 1998 Y 30 NOVIEMBRE DE 2002

OLGA LILIANA MEJIA MEJIA

Tesis de Grado para optar al título de Especialista en Patología

Director
ERNESTO GARCÍA AYALA
Médico Patólogo

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA
ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA
BUCARAMANGA

2004

A mis padres, hermanos, Coqui, Willem y Paca, quienes
Con su apoyo y amor me dan fuerzas
Para cumplir con todas las metas trazadas

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa su agradecimiento a: Dr. Ernesto García Ayala, Director de la Escuela de Medicina, Médico Patólogo y Director de la investigación, Dr. Julio César Mantilla Hernández, Médico Patólogo y Profesor del Departamento de Patología de la UIS, Dra. Elvira Castro de Pabón, Médico Patólogo, Dr. José Fidel Latorre Latorre, Médico Pediatra-Epidemiólogo y Dr. Peter Scheuer, Médico Patólogo Department of Histopathology Royal Free Hospital, London, por sus valiosas orientaciones y constante motivación.

CONTENIDO

	pág
1. INTRODUCCION	1
2. MARCO TEÓRICO	4
3. JUSTIFICACIÓN Y PROPÓSITO	14
3.1. JUSTIFICACIÓN	14
3.2. PROPÓSITO	15
4. OBJETIVOS	16
4.1. GENERAL	16
4.2. ESPECÍFICOS	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1. DISEÑO	18
5.2. UNIVERSO Y POBLACIÓN DE REFERENCIA	18
5.2.1. Criterios de Inclusión	18
5.2.2. Criterios de Exclusión	19
5.3. IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN Y MEDICIÓN DE VARIABLES	19
5.4. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	19
5.5. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	23
5.6. ASPECTOS ÉTICOS, LEGALES Y ADMINISTRATIVOS	25
6. RESULTADOS	26

6.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN	26
6.2. MARCADORES	28
6.3. CARACTERÍSTICAS DE LA BIOPSIA HEPÁTICA	31
6.3.1. Grado actividad necroinflamatoria	38
6.3.2. Estado fibrosis	39
7. DISCUSIÓN	43
8. CONCLUSIONES	53
9. RECOMENDACIONES	56
BIBLIOGRAFÍA	57
ANEXOS	68

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Algoritmo para evaluación Actividad Necroinflamatoria	12
Tabla 2. Estado-SISTEMA METAVIR	13
Tabla 3. Medidas y número de triadas portales de las biopsias Hepáticas	32
Tabla 4. Características histopatológicas	33
Tabla 5. Estado-índice de protrombina	41

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Género	26
Gráfica 2. Procedencia	27
Gráfica 3. Estado nutricional	27
Gráfica 4. Consumo de alcohol	28
Gráfica 5. Tipo de recolección	31
Gráfica 6. Tamaño y número de triadas portales	31
Gráfica 7. Resumen de hallazgos	34
Gráfica 8. Distribución de las Hepatitis	35
Gráfica 9. Tipos de hepatitis	36
Gráfica 10. Hepatitis crónicas virales	37
Gráfica 11. Edades hepatitis crónicas virales	37
Gráfica 12. Grado METAVIR	39

Gráfica 13. Estado METAVIR	40
Gráfica 14. Estado METAVIR-Indice de protrombina	41

LISTA DE ANEXOS

pág.

Anexo A. Variables	69
Anexo B. Formulario de recolección de datos de Biopsias hepáticas	73
Anexo C. Formulario de recolección de datos de Historias clínicas	74

GLOSARIO

HEPATITIS: Inflamación del parénquima hepático.

ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (NASH): es un término aplicado a una enfermedad hepática crónica caracterizada por la exclusión de ciertos factores clínicos (uso insignificante de alcohol y ausencia de positividad para marcadores serológicos), con presencia de una especial histopatología (esteatosis e inflamación que compromete difusamente el parénquima hepático)

COMPLEJO TORSCH: Infección congénita del recién nacido, que incluye Toxoplasmosis, sífilis, rubeola, citomegalovirus y herpes.

INDICE DE PROTROMBINA: Tiempo de protrombina estándar dividido en el tiempo de protrombina del paciente por el 100% de actividad.

ESTEATOSIS: proceso difuso caracterizado por la acumulación de grasas dentro del hepatocito.

NECROSIS DE PIECEMEAL: necrosis de la lámina limitante de hepatocitos.

GRADO: necroinflamación del parénquima hepático.

ESTADO: Fibrosis y alteración arquitectural del parénquima hepático.

TITULO: HEPATITIS EN BIOPSIAS HEPÁTICAS EVALUADAS EN EL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER ENTRE EL 1º DE ENERO DE 1998 Y 30 NOVIEMBRE DE 2002 *

AUTOR: OLGA LILIANA MEJIA MEJIA **

PALABRAS CLAVES:

HEPATITIS / HEPATITIS CRÓNICA / HEPATITIS VIRAL /
TIEMPO DE PROTROMBINA / HISTOPATOLOGIA

DESCRIPCIÓN:

El objetivo de este estudio descriptivo con recolección de datos en forma retrospectiva, es identificar la distribución según cuadro histopatológico de las hepatitis en material de biopsia y determinar el grado y estadio de las biopsias con hepatitis crónica por el sistema METAVIR, estableciendo correlación entre Grado y niveles de aminotransferasas, y Estado con bilirrubinas totales e índice de protrombina.

Se estudiaron 60 biopsias hepáticas, de las cuales 50 corresponden a hepatitis, distribuidas así: 43 hepatitis crónica, 5 hepatitis de células gigantes, 1 hepatitis aguda y 1 hepatitis fulminante. El grado (actividad necroinflamatoria) determinado por el sistema METAVIR en las biopsias con hepatitis crónica es A0 (46,51%), A1(37,21%), A2(4,65%) y A3(11,63%) y el estadio (fibrosis) por el mismo sistema F0(9,30%), F1(25,58%), F2(4,65%), F3(18,60%) y F4(41,86%). No se encontró asociación entre el grado histológico y los niveles de aminotransferasas (AST y ALT) ($p = 0,996$ y $p = 0,974$) ni del estado de fibrosis con los niveles de bilirrubinas totales ($p=0,824$), pero ésta fue hallada entre el estado de fibrosis y el índice de protrombina ($p=0,003$).

Este estudio muestra que el sistema METAVIR es un método adecuado para valorar estado y grado en hepatitis crónica. El índice de protrombina es un marcador indirecto para valorar fibrosis en pacientes con enfermedad hepática crónica.

* Tesis de grado

** Facultad de salud. Especialización en Patología.
Director Dr. Ernesto García Ayala

TITLE: HEPATITIS ON LIVER BIOPSIES VALUED IN THE DEPARTMENT OF
PATHOLOGY OF INDUSTRIAL UNIVERSITY OF SANTANDER BETWEEN
JANUARY 1ST 1998 TO NOVEMBER 30TH 2002 *

AUTHOR: OLGA LILIANA MEJIA MEJIA **

KEY WORDS: HEPATITIS / CHRONIC HEPATITIS / VIRAL HEPATITIS /
PROTHROMBIN TIME / HISTOPATHOLOGY

DESCRIPTION:

The aim of this descriptive study was to identify the histopathological distribution of Hepatitis on liver biopsy and to determine grading and staging the lesions of chronic hepatitis using METAVIR system. Besides, to establish relationship between necroinflammatory activity and aminotransferases, and Fibrosis with total bilirubin and prothrombin index.

60 liver biopsies were studied, 50 correspond to Hepatitis, distributed: 43 chronic hepatitis, 5 giant cell hepatitis, 1 acute hepatitis and 1 fulminant hepatitis. The necroinflammatory grading determined by METAVIR system showed scores: A0 (46,51%), A1(37,21%), A2(4,65%) and A3(11,63%), and the staging presented scores F0(9,30%), F1(25,58%), F2(4,65%), F3(18,60%) and F4(41,86%). Neither association between histopathological grading and aminotransferases level (AST y ALT) ($p = 0,996$ y $p = 0,974$) nor staging and total bilirubin ($p=0,824$) were presented. Staging scores correlate well with Prothrombin index ($p=0,003$).

This study shows that METAVIR system is a good, simple and adequately way to value staging and grading in liver biopsies with chronic hepatitis. These results suggest that prothrombin index is an indirect marker of fibrosis in patients with chronic liver disease.

* Thesis

** School of Medicine. Faculty of Health. Specialization in Pathology.
Supervisor Dr. Ernesto García Ayala

INTRODUCCIÓN

Las hepatitis son entidades ampliamente distribuidas, las cuales denotan inflamación del parénquima hepático. Están asociadas a importante morbilidad, ocasionadas la mayoría de ellas por agentes infecciosos principalmente de tipo viral, pero también se asocian a abuso de alcohol, tóxicos, mecanismos autoinmunes, permaneciendo algunas sin podersele determinar el agente etiológico. Dentro de su evaluación, son aplicables criterios clínicos, bioquímicos y serológicos. A pesar de que los anteriores parámetros son útiles para confirmar el diagnóstico clínico de hepatitis crónica, la biopsia hepática permanece como el “gold estándar” para evaluar hepatitis en términos de determinación del grado de actividad histológica y el estado de la enfermedad por medio de sistema de medición semicuantitativo, estandarizado, simple y reproducible. Adicionalmente, la biopsia sirve para excluir otros procesos patológicos coexistentes. En la actualidad, los diferentes investigadores buscan marcadores bioquímicos, que en forma indirecta reflejen el grado y el estado de fibrosis, con el fin de seguir y evaluar el tratamiento de los pacientes con hepatitis crónica utilizando métodos menos invasivos, que impliquen menor morbi-mortalidad.

El presente estudio es de tipo observacional descriptivo de corte transversal, que identifica la distribución según cuadro histopatológico de hepatitis en material de 60 biopsias tomadas en el Hospital Universitario Ramón González Valencia y evaluadas en el Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander, de enero 1 de 1998 a noviembre 30 de 2002. Así mismo, a través del uso de un sistema ampliamente utilizado, validado y reconocido mundialmente, como es el METAVIR, desarrollado por el grupo Francés que lleva su nombre, establece en las biopsias con hepatitis crónica la actividad necroinflamatoria y la fibrosis. El uso de sistemas de esta naturaleza es fundamental en la evaluación del paciente, ya que permite reconocer el proceso, el pronóstico y establecer la necesidad ó no de implementar una terapéutica apropiada.

Adicionalmente, se emplean marcadores bioquímicos como aminotransferasas, bilirrubinas totales e índice de protrombina, para determinar su asociación con los parámetros valorados por el grupo METAVIR. A través de la investigación de marcadores indirectos (métodos no invasivos) de fibrosis y actividad necroinflamatoria se busca disminuir la frecuencia de toma de biopsias en el seguimiento y mejorar la evaluación de los pacientes con enfermedad crónica hepática.

El presente estudio surgió a partir de inquietudes, durante la asistencia a una conferencia en el XXIVth Internacional Congress of IAP, en Amsterdam, cuando el Dr. Alistair Burt de la Universidad de Newcastle en Reino Unido

hablaba sobre las bases para el diagnóstico morfológico de la enfermedad alcohólica hepática y esteatohepatitis no alcohólica.

La realización de este estudio implicó no solo evaluación de la patología hepática y la recopilación de la información de las historias clínicas, sino una búsqueda exhaustiva y rigurosa en la literatura indexada y no indexada, de donde se recopilaron cientos de artículos sobre hepatitis, con investigaciones realizadas en Europa (Francia, Italia y Bélgica) y América (Estados Unidos). Adicionalmente, implicó el contacto y consulta frecuente con hepatopatólogos reconocidos a nivel mundial e investigadores senior en hígado, tales como Dr. Peter Scheuer, Dr. Valeer Desmet y Dr. Paul Calés, los cuales amable y rápidamente respondieron la totalidad de las inquietudes y preguntas formuladas.

Se presenta a los lectores, un estudio actual, pionero en Colombia, que puede ser una fuente de inspiración para que otros investigadores profundicen en hepatología, un área muy rica y necesaria de la Patología moderna.

El autor espera que la tesis sea de su agrado y que a través de las siguientes páginas, haya un mejor entendimiento del tema y los resultados y las conclusiones sean aplicados al manejo de los pacientes.

2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

Las hepatitis son entidades inflamatorias del parénquima hepático, asociadas a importante morbilidad, ocasionadas la mayoría de ellas por agentes infecciosos principalmente de tipo viral, pero también se asocian a abuso de alcohol, tóxicos, mecanismos autoinmunes, permaneciendo algunas sin poder determinar el agente etiológico.^{1, 2}

Desde la segunda mitad del siglo 20, el uso de la biopsia hepática ha tenido varios propósitos: 1. Confirmar el diagnóstico clínico, 2. Evaluar la severidad de la actividad necroinflamatoria y fibrosis, 3. Evaluar la posibilidad de enfermedades concomitantes, 4. Evaluar las intervenciones terapéuticas.^{3,4}

El tamaño del espécimen puede variar entre 1 y 3 cm de longitud, representando el 1/50.000 del total de la masa hepática. El número de triadas portales presentes en el espécimen es importante, pero en general, la mayoría de los hepatopatólogos están satisfechos con 6 a 8 triadas portales, especialmente en casos de enfermedad crónica, en la cual la extensión de la lesión varía entre las triadas portales.³ La mayoría de estudios demuestran que a mayor tamaño de la muestra, más probabilidad de hacer el diagnóstico y que las biopsias muy pequeñas, biopsias superficiales en las cuales no se

encuentran por lo menos 3 triadas portales ó existe abundante tejido fibroso normal, no son confiables para diagnóstico.⁵

Las hepatitis pueden ser clasificadas de 2 formas: por el agente causal ó por síndromes clínicos. Debido a que la apariencia morfológica de varias formas de hepatitis es similar para muchos agentes causales, el patólogo usualmente necesita la historia clínica y estudios de laboratorio específicos. De acuerdo a los síndromes clínicos, es catalogada así: aguda, fulminante, neonatal y crónica.¹

El término hepatitis aguda típicamente es usado para describir lesiones con una duración clínica menor a 6 meses. No es vista a menudo en biopsias, pero la mayoría de las que son tomadas durante esta época son para descartar hepatitis crónica ó considerar la instauración de terapia. La historia clínica, el patrón de niveles enzimáticos y hallazgos serológicos son suficientemente característicos, por lo que la biopsia hepática es muy rara vez indicada para diagnóstico. Generalmente se observa inflamación de parénquima parcheado y necrosis focal. Las lesiones contienen infiltrado mononuclear portal y sinusoidal (linfocitos, células plasmáticas y células de Kupfer), hepatocitos edematosos y hepatocitos necróticos. Puede haber colestasis canalicular. Los casos más severos pueden mostrar necrosis hepatocelular prominente alrededor de la vena central (Zona 3).^{1,2} Puede haber colestasis, a menudo vista con virus A y E. Simula una ictericia obstructiva con proliferación ductular biliar, pericolangitis neutrofílica y colestasis.¹

La hepatitis fulminante es definida como una disfunción hepática suficientemente severa para producir falla hepática, que se presenta como encefalopatía hepática dentro de las 8 semanas de los primeros síntomas de la enfermedad. Falla subfulminante es un término aplicado cuando el intervalo entre la aparición de la infección y la evidencia de falla hepática profunda es de 2 a 12 semanas. En los Estados Unidos, más del 50% es ocasionado por hepatotoxicidad relacionada con medicamentos, siendo la toxicidad por acetaminofén el 40% y las reacciones idiosincrásicas un 12%. El 20% permanece como origen desconocido.⁶⁻¹⁰

La hepatitis neonatal es una enfermedad infecciosa del hígado durante el periodo neonatal hasta los 3 meses, de origen ya sea viral, bacteriano ó parasitario. La atresia biliar extrahepática es la ausencia parcial ó total de ductos biliares extrahepáticos. La mayor parte de los patólogos tratan de distinguir entre enfermedad hepática obstructiva y formas no obstructivas de colestasis infantil, para prevenir cirugías innecesarias. Pero aún así, hay sobreposición de características histológicas. La biopsia es la prueba más importante para realizar esta diferenciación. Las características clásicas de la atresia biliar incluyen proliferación ó pérdida de ductos, edema portal y/o fibrosis y una arquitectura lobular relativamente preservada. Las características típicas de la hepatitis neonatal incluyen marcada enfermedad hepatocelular con necrosis celular e inflamación y desarreglo lobular. Puede haber colestasis, hepatocitos gigantes, usualmente prominentes alrededor de la vena central en

zona 3, degeneración balonizante y necrosis, infiltrado mononuclear sinusoidal y portal. Es posible ver hematopoyesis extramedular.^{1,11}

Hepatitis crónica activa era un término que se utilizaba hace unos años para describir pacientes con enfermedad hepática conocida por más de 6 meses, con los hallazgos histológicos clásicos de inflamación portal, fibrosis, disrupción de la placa terminal y necrosis de "piecemeal". El daño de los hepatocitos periportales estimula la regeneración, resultando acúmulos de hepatocitos dispuestos en rosetas. También se pueden ver hepatocitos balonizados y cuerpos acidofílicos. Puede ocurrir proliferación de pequeños conductos biliares, pero no es tan prominente, excepto en los casos más severos.¹

La primera clasificación histológica de las hepatitis crónicas fue propuesta en 1968, distinguiendo hepatitis crónica persistente de crónica activa. Esta clasificación fue propuesta cuando se conocía poco sobre las causas de hepatitis crónica y el prototipo de la enfermedad era la hepatitis autoinmune. A través de los años, fueron identificadas las causas de las hepatitis crónicas: reacciones a drogas, virus B, C, D y hepatitis autoinmune. El descubrimiento de las múltiples etiologías y el advenimiento de la terapia antiviral hicieron que las clasificaciones fueran no solo basadas en la histopatología, sino también en la etiología.^{1, 12,13}

El abuso de alcohol es un problema social y médico importante en la mayor parte del mundo, produce efectos adversos en muchos de los tejidos y el

hígado es el principal sitio del metabolismo del etanol. La enfermedad hepática alcohólica es la causa más común de enfermedad hepática crónica en el mundo desarrollado. Hay una clara correlación entre el consumo de alcohol y cirrosis, pero los efectos del consumo crónico de alcohol en el individuo son difíciles de predecir. Solo el 15-20% de los consumidores crónicos desarrollarán cirrosis. Los cambios patológicos se observan como estadios que se superponen. Primero hay una infiltración grasa (esteatosis), que usualmente es reversible, presente en el 90% de los alcohólicos crónicos, y aunque es una condición benigna, está dentro de la secuencia que termina en cirrosis. Posteriormente hay esteatohepatitis (40% de los alcohólicos) que evidencia 1. injuria celular con degeneración balonizante y necrosis/apoptosis y a menudo (pero no siempre) cuerpos de Mallory, 2. Infiltrado inflamatorio con predominio polimorfonuclear, 3. fibrosis perivenicular y pericelular. Posteriormente hay cirrosis. Esta hipótesis ha sido cuestionada. Es extremadamente difícil predecir el estadio histológico antes de desarrollar una cirrosis descompensada. Por esto, la biopsia hepática es la forma más acertada de estadificar la enfermedad.^{1, 11,14}

El término esteatohepatitis no alcohólica describe una forma de enfermedad hepática crónica de adultos y niños, que es indistinguible de la hepatitis alcohólica, pero ocurre en personas que no consumen etanol, constituida por 3 de 4 de los siguientes criterios: esteatosis (leve: menor de 1/3 del parénquima, moderada: 1/3-2/3 y severa +2/3), lesión hepatocelular, infiltrado inflamatorio focal mixto y fibrosis. Dentro de las causas incluye: diabetes, obesidad, bypass

yeyunoileal, nutrición parenteral total, drogas, toxinas, toxicidad por cobre y situaciones con resistencia a la insulina.¹⁵⁻²¹

La hepatitis autoinmune es definida como una hepatitis predominantemente periportal, sin resolución, compuesta principalmente por células plasmáticas, usualmente con hipergamaglobulinemia y autoanticuerpos. Dos grupos internacionales de trabajo han reconocido que para poderla diagnosticar debe haber: 1. predisposición genética y por lo tanto cronicidad 2. fluctuación entre periodos de tratamiento ó remisión espontánea.^{22,23}

El 5% de la población mundial está infectada por hepatitis B y el 1% por hepatitis C. Estas enfermedades llevan a cirrosis, hipertensión portal y carcinoma hepatocelular en una considerable proporción de los afectados; por lo tanto la hepatitis crónica viral es la 5ª causa de muerte a nivel mundial. En infecciones por Virus B, las células en vidrio esmerilado que contienen antígeno de superficie, pueden ser vistas en Hematoxilina-eosina. Presenta diferentes genotipos, que algunos consideran que pueden estar implicados en el pronóstico.²⁴⁻³⁴ El virus C produce una forma leve de enfermedad y produce un daño principalmente ductular, con infiltración linfocitaria del parénquima, con cambios reactivos del mismo. Hay adicionalmente, cambio graso. Este virus es la principal causa de hepatitis postransfusión (70-95% casos) y se encuentra asociada con alta rata de cronicidad. Su diagnóstico está basado principalmente en la detección de anticuerpos contra péptidos HCV recombinantes (anti-HCV). La biopsia hepática es el mejor método para evaluar

la severidad de la hepatitis C. ³⁵⁻⁵¹ Puede también haber coinfección de virus B y D. ³¹

En la actualidad, se considera a la biopsia hepática como un eje importante y central en el diagnóstico, así como en la evaluación de los pacientes antes y después de una terapia específica. Por tal motivo, en el estudio de las hepatitis crónicas, se establecieron 2 criterios así: Grado y Estadío. El grado es utilizado para describir la intensidad de la actividad necroinflamatoria, y el estadío es la medida de la fibrosis y alteración arquitectural, a consecuencia de un proceso necroinflamatorio. El objetivo de estos dos criterios es determinar las características histológicas que indican severidad y la progresión de la hepatitis crónica, como significado pronóstico. El primer sistema de puntuación, utilizado en estudios clínicos fue el índice de actividad histológica (HAI), de acuerdo a Knodell et al, el cual ha sido suplido por variantes y modificaciones. El índice de Knodell et al⁵⁰ tuvo inicialmente una buena acogida, pero sufre numerosas críticas fundamentadas en 2 razones: 1. Nunca fue validado en estudios científicos y 2. en una misma tabla, están mezclados tanto actividad necroinflamatoria y fibrosis. Esta es la mayor de las críticas, debido a que los dos ítems son independientes. Posteriormente, investigadores en patología hepática, crearon otros sistemas de medición, basándose algunos en el de Knodell y otros no. Algunos ejemplos son: Scheuer, Ishak, Ishak Modificado, Desmet y METAVIR. ^{4, 52-60} El mejor sistema de puntuación depende de la razón de su utilización y el propósito fundamental (investigación, práctica clínica, estudios científicos, experimentación y programas de entrenamiento); y

es muy importante que los clínicos estén bien informados sobre la significación de los mismos. Igualmente, todos los sistemas presentan amplias variaciones intra e interobservadores.^{4, 14, 52, 54, 61}

El grupo francés METAVIR en 1996 propuso un sistema que lleva su nombre, el cual es una manera comprensiva para la evaluación histológica de las hepatitis C, haciendo la validación con 10 hepatopatólogos franceses senior y 363 biopsias hepáticas.⁵² Posteriormente, fue validado para ser utilizado en la determinación de estado y grado en hepatitis B crónica. En el año 2003, Michalak, Rousselet, Calés et al, validaron METAVIR para ser usado en hepatitis crónica alcohólica.¹⁴ En la literatura se encuentran reportadas múltiples bondades y beneficios de METAVIR como la simplicidad, el buen entendimiento de los términos por los examinadores y una buena correlación inter e intra observador en la evaluación del estado, con una aceptable correlación en la determinación de la actividad necroinflamatoria. Es importante recalcar, que aunque todos los sistemas para evaluar de hepatitis crónica tienen grandes variabilidades en el grado, METAVIR es el que posee menos variabilidad. Sin embargo, la búsqueda de nuevos sistemas continúa, porque aún no existe el ideal.

**TABLA No. 1 ALGORITMO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
NECROINFLAMATORIA - SISTEMA METAVIR**

NEC. DE PIECEMEAL	NEC. LOBULAR	ACTIVIDAD HISTOLÓGICA
0 (ninguna)	0 (ninguno ó leve)	0 (ninguno)
0	1 (moderado)	1 (leve)
0	2 (severo)	2 (moderado)
1 (leve)	0,1	1
1	2	2
2 (moderada)	0,1	2
2	2	3 (severo)
3 (severa)	0,1,2	3

Necrosis de Piecemeal:

0: Ausente

1: Alteración focal de la placa periportal en algunos tractos

2. Alteración difusa de la placa periportal en algunos tractos

3. Alteración difusa de la placa periportal en todos los tractos

Necrosis Lobular:

0: Menos de 1 foco con actividad necroinflamatoria por lóbulo

1: Al menos un foco con actividad necroinflamatoria por lóbulo

2: Múltiples focos con actividad necroinflamatoria por lóbulo

TABLA No. 2 ESTADO – SISTEMA METAVIR

FIBROSIS	
0	no fibrosis
1	alargamiento de tractos portales sin formación de septos
2	alargamiento de tractos portales con ocasionales septos
3	numerosos septos sin cirrosis
4	cirrosis

* 4,52

Numerosos estudios⁶²⁻⁷⁷ han tratado de hallar marcadores bioquímicos encaminados a predecir la severidad de la fibrosis y la actividad necroinflamatoria relacionada con las hepatitis crónicas, especialmente relacionadas con virus C, como las aminotransferasas, alfa-2-macroglobulina, apolipoproteína A1, bilirrubinas totales, gama-glutamyl-transpeptidasa, índice de protrombina, niveles de plaquetas, albúmina, globulinas, etc. Los resultados obtenidos no son concluyentes, y a través de la investigación, se espera encontrar aquellos marcadores, que en forma indirecta y económica puedan reflejar el grado y el estadio, usando métodos menos invasivos, que impliquen menor riesgo para los pacientes. ⁷²⁻⁷⁷

3. JUSTIFICACIÓN Y PROPÓSITO

3.1. JUSTIFICACIÓN

Se realizó este estudio porque es importante reconocer la distribución histopatológica de las hepatitis en el Departamento de Patología de la UIS, debido a que se desconocen estadísticas, y a través de la búsqueda en los diferentes medios utilizando el internet, bibliotecas y bases de datos y en general la literatura médica indexada, no se pudo documentar la realización previa de estudios en Colombia sobre patología hepática que describan esta distribución. Este estudio además usa un sistema para la valoración de grado y estadio de las biopsias con hepatitis crónica por medio del METAVIR, el cual puede ser introducido en la práctica de rutina. La incorporación de marcadores bioquímicos tiene gran importancia porque permite la evaluación del paciente de una manera indirecta. Por estos motivos, este es un estudio pionero, que puede ser el generador de otros nuevos, necesarios para documentar lo que sucede en el país y no basarse solamente en estadísticas de otros medios, como Europa ó Estados Unidos, cuyo nivel de desarrollo y población son distintos al nuestro.

3.2. PROPÓSITO

Este estudio fue realizado para conocer la distribución histopatológica de las hepatitis en nuestro medio. La utilización y el conocimiento del METAVIR, un sistema ampliamente reconocido y estandarizado, permitirá a los patólogos y a los clínicos mejorar su comunicación y tomar mejores decisiones en el manejo y seguimiento de los pacientes con hepatitis crónica.

Como propósito secundario de este trabajo es su divulgación a través de la presentación en Congresos y publicación en una revista científica, de prioridad que trate sobre temas de Patología Hepática y que se encuentre indexada, debido a que es indispensable mostrar al mundo el estado actual del estudio histopatológico del hígado, por lo menos de una pequeña parte de la población de Colombia, cuyos servicios médicos son brindados por el Hospital más grande del nororiente del país.

Adicionalmente, es importante que se fomente la realización de otros estudios, con investigadores que busquen ó generen nuevas estrategias para detectar marcadores que indirectamente midan actividad necroinflamatoria y fibrosis, y ayuden a los clínicos en el monitoreo y manejo de los pacientes con enfermedad hepática crónica.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar la distribución según cuadro histopatológico de las hepatitis en material de biopsias tomadas en el Hospital Universitario Ramón González Valencia y evaluadas en el Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander, durante el periodo comprendido entre el 1º de enero de 1998 y el 30 de noviembre de 2002.

4. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el grado y estadio de las biopsias con hepatitis crónica, utilizando el sistema METAVIR.
- Establecer la asociación entre la actividad necroinflamatoria evaluada por el sistema METAVIR y los niveles de aminotransferasas.
- Determinar la asociación entre la fibrosis evaluada por el sistema METAVIR y los niveles de bilirrubinas totales.

- Determinar la asociación entre la fibrosis evaluada por el sistema METAVIR y el índice de Protombina.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO

Se realizó un estudio observacional descriptivo de corte transversal con recolección de datos en forma retrospectiva.

5.2 UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA

60 biopsias hepáticas con estudio histopatológico realizado en el Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander, manejados en el Hospital Universitario Ramón González Valencia de Enero 1 de 1998 a noviembre 30 de 2002.

5.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Biopsias hepáticas recibidas en el Departamento de Patología para evaluación histopatológica entre el 1º de enero de 1998 y 30 de noviembre de 2002, con reporte final de hepatitis.

5.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- * Biopsias hepáticas de pacientes tratados fuera del Hospital Universitario Ramón González Valencia.
- * No disponibilidad del bloque de parafina y/o lámina histológica de la biopsia hepática en el archivo del Departamento de Patología de la UIS.
- * No disponibilidad de la historia clínica

5.3. IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN Y MEDICIÓN DE VARIABLES.

Ver anexo A.

5.4 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN:

Se identificaron en los libros de recepción de material para estudio histopatológico del Departamento de Patología de la UIS, de 1998 a 2002, el número de registro y codificación interna de 198 biopsias hepáticas. Posteriormente, fue solicitada autorización ante la Subgerencia Científica del Hospital Universitario Ramón González Valencia para la búsqueda de datos demográficos, clínicos y paraclínicos en las historias de pacientes correspondientes a las biopsias hepáticas. En 1998 y 1999 los números de

registro son distintos a los utilizados a partir del año 2000, por lo que la búsqueda de las historias de estos años tuvo que hacerse utilizando los dos registros (el antiguo y el nuevo), tanto en forma manual como con el computador. Con los números de los registros se obtuvieron 119 historias clínicas en el archivo del Hospital Universitario Ramón González Valencia y se llenaron los datos de las variables según el instrumento de recolección (Anexo B), de las cuales 64 tienen diagnóstico clínico de Hepatitis.

Posteriormente, se localizó con el número de codificación interna del departamento de Patología, 182 reportes histopatológicos correspondientes a las biopsias hepáticas, de los cuales 44 tienen diagnóstico histopatológico de Hepatitis.

Todas aquellas biopsias hepáticas de pacientes cuyos diagnósticos clínicos y/o estudios histopatológicos reportaban el término “HEPATITIS”, sin importar el tipo, fueron buscadas en el archivo de láminas y bloques del Departamento de Patología de la UIS, donde se encontraron 60 láminas histopatológicas y/o bloques de parafina correspondientes a las biopsias de 58 pacientes con diagnóstico clínico y/o histológico de Hepatitis, a las cuales se les realizó la evaluación definitiva.

En aquellos casos en los que se encontró únicamente el bloque de parafina, se solicitó nuevos cortes con tinciones de Hematoxilina-eosina, Tricrómico de Masson y PAS. No se utilizó la tinción de Hierro, porque no hay disponibilidad

de éste en el laboratorio de Patología. En aquellos casos en los cuales se ubicó el bloque de parafina y la lámina histopatológica coloreada con Hematoxilina-eosina, se solicitó nuevos cortes y tinción con Tricrómico de Masson y PAS. En dos casos en los que solo se consiguió la lámina histopatológica coloreada con Hematoxilina-eosina, se evaluó sin las tinciones.

Posteriormente, fueron enumeradas las biopsias hepáticas de acuerdo a la secuencia de localización del material para evaluación.

Con el instrumento de recolección de datos histopatológicos (Anexo C), el investigador y el director del proyecto, en forma ciega sin los datos clínicos, evaluaron cada uno de los ítems del formulario de recolección en forma ordenada, sin obviar ningún dato, desde comienzo hasta el fin del formulario.

En todas las biopsias hepáticas, se evaluó primero la lámina correspondiente a Hematoxilina-eosina, luego la Tricrómico de Masson y posteriormente la de PAS.

En cada una de las biopsias se cumplieron los siguientes pasos:

1. Determinación del tipo de recolección de la biopsia hepática, de acuerdo con la forma de la misma.
2. Medición de la longitud y el ancho en milímetros la muestra.

3. Conteo en 5X y luego en 10X del número de triadas portales, comenzando por uno de los extremos de la biopsia hasta llegar al extremo contralateral.

4. Evaluación microscópica inicial con 5X, luego con 10X y finalmente con 40X. Cuando se encontraban granulomas, se solicitaba al laboratorio un nuevo corte con Ziehl-Nielsen para buscar BAAR y se utilizó aumento de 100X con aceite de inmersión.

5. Determinación de neoplasia.

6. Evaluación de esteatosis, agregados linfoides, lesión ductular, proliferación ductal, infiltrado inflamatorio, tipo de infiltrado inflamatorio, localización del infiltrado inflamatorio, degeneración hepatocitaria, células de Kupfer, presencia de necrosis zonal, granulomas, coloración de ZN si se realizó y colestasis intra ó extrahepatocitaria.

7. Evaluación de la fibrosis primero con Hematoxilina-eosina y luego con Tricrómico de Masson, comenzando siempre con 5X, luego con 10X.

8. Evaluación del glucógeno intrahepatocitario con la tinción de PAS.

9. Evaluación del Hierro con una tinción para éste, si la coloración está disponible de años anteriores

10. Con los datos previamente obtenidos, se hizo un resumen de hallazgos, clasificando las biopsias hepáticas así: biopsia normal, congestión sin especificación, colestasis sin especificación, adenocarcinoma, cambio microvacuolar sin inflamación y hepatitis.

Las biopsias con hepatitis se distribuyeron histopatológicamente en: aguda, crónica, células gigantes y fulminante (necrosis sub-masiva hepática).

Posteriormente, se correlacionó con los datos clínicos y paraclínicos de las anteriores biopsias. Las “HEPATITIS” se clasificaron como Hepatitis aguda, Esteatohepatitis no alcohólica, hepatitis de células gigantes, otras hepatitis crónicas, hepatitis crónica alcohólica, hepatitis crónica viral (B y C), hepatitis crónica autoinmune y hepatitis crónica no especificada (NOS).

A las biopsias hepáticas correspondientes a “HEPATITIS CRÓNICA” (alcohólica, viral, autoinmune, no especificada, otras, esteatohepatitis de células gigantes), se les aplicó el sistema METAVIR, comenzando con el grado de actividad Necroinflamatoria y finalmente el Estado de Fibrosis.

5.5 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Con el fin de cumplir los objetivos generales y específicos del presente estudio descriptivo con recolección de datos en forma retrospectiva, una vez estuvieron recolectados todos los datos clínicos, paraclínicos y de la biopsia hepática, junto con los resúmenes de hallazgos y distribución de las hepatitis, se creó la base de datos, utilizando el programa Epi-Info v3.01, el cual fue adquirido en forma gratuita a través del internet, en la dirección de la página web www.cdc.gov perteneciente al CDC de Atlanta.

Los datos consignados en los formularios fueron digitados por duplicado en la base de datos anteriormente anotada y fueron validados usando el programa Validate de Epi-Info. Se compararon los 2 sets y se contrastaron con los formularios originales, hasta dejar una sola base de datos.

Se revisó la distribución de cada variable y se hizo una descripción de la misma. El análisis de los datos fue llevado a cabo con el programa Epi-Info v3.01.

Las variables numéricas fueron descritas en términos de medida de tendencia central y de las medidas de dispersión (media, desviación Standard). Las variables ordinales y nominales fueron descritas en términos de porcentaje. (Anexo A).

Para la asociación de las variables se hizo análisis bivariado utilizando pruebas de χ^2 para variables no lineales y t test para las variables continuas. Se aceptó un nivel de significancia estadística menor de 0,05.

5.6. ASPECTOS ÉTICOS, LEGALES Y ADMINISTRATIVOS

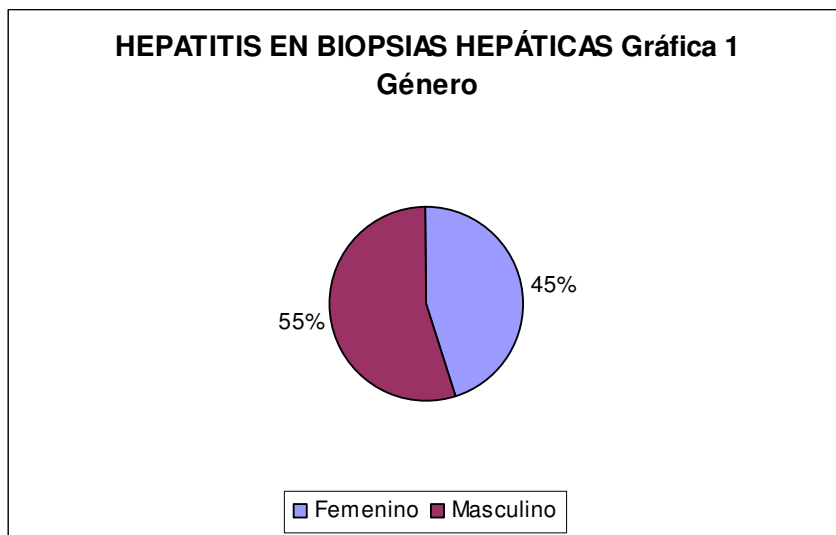
Esta investigación que fué revisada y aprobada por el Comité de Etica de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, preserva los principios éticos de autonomía, justicia, no maleficencia y beneficencia. El investigador cumple los preceptos de la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud que establece las normas éticas para la investigación. De acuerdo con la misma Resolución, según el Título II, Capítulo 1, artículo 11, este estudio es clasificado como una investigación sin riesgo.

Se mantuvo la confidencialidad de la información obtenida de las historias clínicas, en los reportes histopatológicos y la lectura de las placas histológicas .

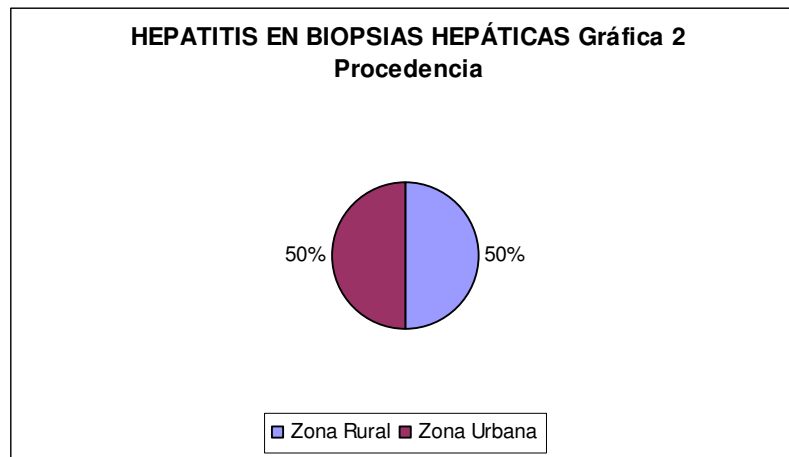
6. RESULTADOS

6.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

Las 60 biopsias hepáticas pertenecen a 58 pacientes con un promedio de edad de $39 \pm 20,7$ años, con un mínimo de 3 meses y un máximo de 78 años. 27 (45%) de las biopsias pertenecen al género femenino y 33 (55%) al género masculino. Gráfica. 1.

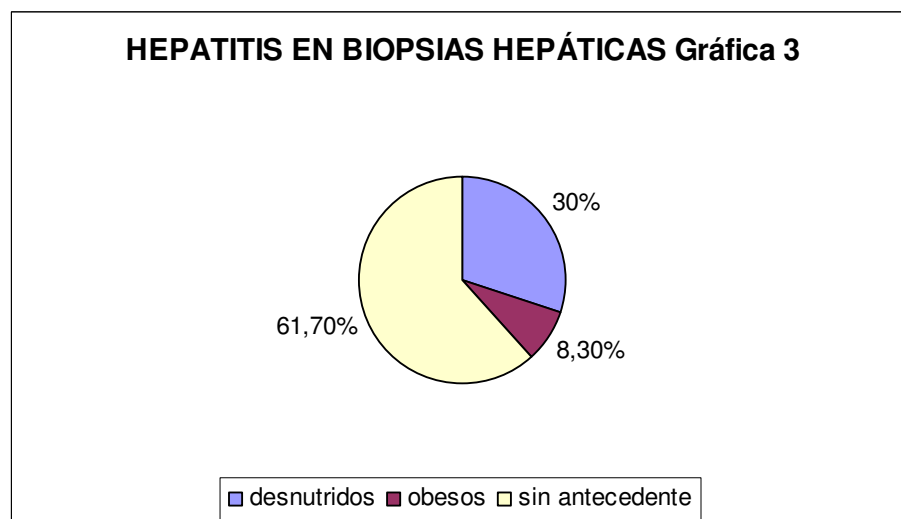


El 50% de las biopsias hepáticas corresponden a pacientes que proceden de zona rural y el otro 50% de zona urbana. Gráfica. 2.

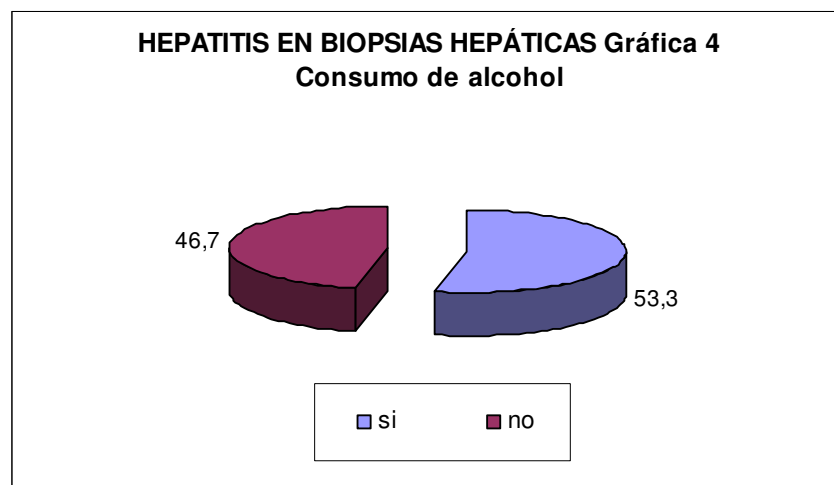


2 de las 60 biopsias (3,3%) pertenecen a pacientes con antecedentes de diabetes mellitus, 3 (5%) autoinmunidad, 2(3,3%) neoplasia (1 adenocarcinoma metastático y 1 colangiocarcinoma) y 5(8,3%) atresia de vías biliares. De las 60 biopsias se encontraron otros antecedentes como: 1 complejo TORSCH, 1 infección por HIV, 1 deficiencia de alfa 1 antitripsina, 2 tuberculosis miliar, 1 síndrome de Reye, 1 gastrosquisis y 1 insuficiencia cardiaca congestiva. 3 (5%) de las 60 biopsias pertenecen a pacientes embarazadas en el momento de la toma de las mismas. 18(30%) de las biopsias corresponden a pacientes desnutridos, y 5(8,3%) a pacientes obesos.

Gráfica. 3



6 pacientes refieren haber recibido transfusiones de hemoderivados antes del diagnóstico de hepatitis. Con respecto al consumo de alcohol referido en las historias clínicas, como un episodio de embriaguez a la semana, 32 (53,3%) de las 60 biopsias lo presentan positivo en sus antecedentes. No es posible medir el consumo de alcohol en gramos, porque la recolección de los datos es realizada en forma retrospectiva a partir de la historia clínica. Gráfica. 4.



6.2 MARCADORES

Con respecto a los antígenos virales, como los datos son tomados en forma retrospectiva de la historia clínica, algunos tienen la información y otros no. El antígeno de superficie para la hepatitis B (HBsAg) está presente en la historia de 50 de estos casos, de los cuales 9(18%) son positivos.

El antígeno core para la hepatitis B (antiHbc) está reportado en 14 de los casos, 4 (29%) de los cuales son positivos. Con respecto a los anticuerpos para la Hepatitis C (antiHCV), estos son solicitados en 44 de los casos y en 1(2,27%) de ellos, es positivo. Los anticuerpos para dengue son determinados en 4 casos, de los cuales 2(50%) son positivos. La IgM para el virus de Hepatitis A es determinada en 18 de los casos, 1(5,56%) de los cuales es positivo. De las 60 biopsias hepáticas, 1 correspondía a un paciente con reactividad para el HIV.

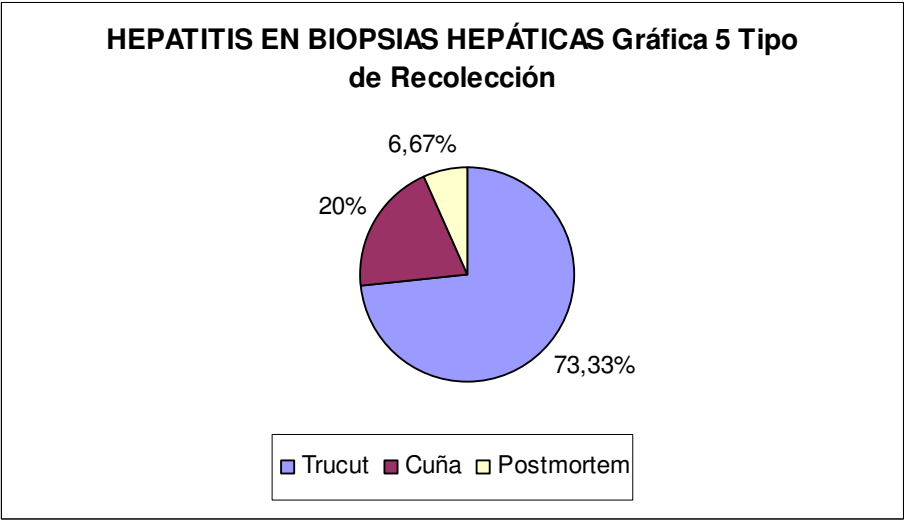
Los ANAs (anticuerpos antinucleares) fueron solicitados a 4 biopsias correspondientes a pacientes con sospecha de autoinmunidad, siendo en la totalidad de estos (100%) negativos. Así mismo, los AMAs (Anticuerpos antimitocondriales) y los antiLKM1 están referidos en 3 de estos pacientes, 2 de los cuales son positivos para ambos marcadores.

Los niveles de bilirrubinas totales (SERA-PARK Plus) iniciales previos a la toma de las biopsias, tienen un promedio de 4,95 mg/dL, cuyos valores varían entre un mínimo de 0,5mg/dL y un máximo de 25,6mg/dL (DS 6,117). Los niveles de ASAT/GOT (Roche) iniciales previos a la toma de las biopsias, tienen un promedio de 155 U/L, con valores que varían entre 16 U/L y 2680 U/L (DS 367,28). Los niveles de ALAT/GPT (Roche) iniciales previos a la toma de las biopsias, tienen un promedio de 132,6 U/L, con valores que varían entre un mínimo de 5 U/L y un máximo de 2510 U/L (DS 342,22).

Para la determinación del índice de protrombina, se tomó el tiempo de protrombina en segundos inicial antes de la toma de la biopsia hepática, reportado en la historia clínica. De acuerdo a los protocolos de trabajo del laboratorio clínico del Hospital Universitario Ramón González Valencia, de las muestras de sangre, se toma plasma de paciente anticoagulado y se agrega Citrato sódico al 3,8%. El tiempo de protrombina es determinado en el plasma al agregar tromboplastina (Simplastin, Organon Teknika Corporation North Carolina) y el tiempo de formación del coágulo es tomado en segundos. El tiempo de protrombina estándar control utilizado es 12,5 segundos, que corresponde al mismo aplicado por el laboratorio, debido a que no hay estudios poblacionales en Bucaramanga, con respecto al tiempo de protrombina. El índice de protrombina es expresado como un porcentaje, calculado realizando una división entre el tiempo de protrombina control sobre el tiempo de protrombina del paciente y se multiplica por el 100% de actividad. No hay límite para los valores superiores del índice de protrombina y pueden exceder el 100%.

El índice de protrombina presentó valores que oscilan entre un mínimo de 31% y un máximo de 106%.

Al analizar la forma de recolección de la biopsia, se encuentra que 44 de las 60 biopsias (73,33%) son tomadas por trucut, 12(20%) por cuña y 4(6,67%) en estudio postmortem. Gráfica. 5.



6.3 CARACTERÍSTICAS DE LA BIOPSIA HEPÁTICA

Las biopsias hepáticas tienen una longitud promedio de 12,2+-6,12mm, con valores que oscilaron entre un mínimo de 2 mm y un máximo de 36 mm. El ancho promedio es 3,65+-5,75mm, con valores entre 1mm y 24mm. El promedio de triadas portales por biopsia hepática es de 7,5, encontrándose un mínimo de 1 triada portal por biopsia, hasta 30 triadas. Gráfica. 6. Tabla 3. Los hallazgos histopatológicos encontrados en las 60 biopsias hepáticas son: Tabla 4.

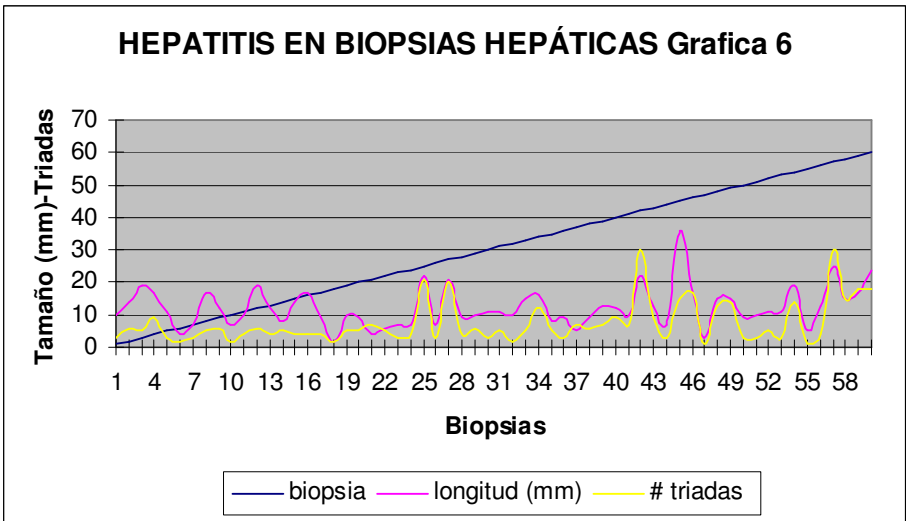


TABLA No.3 MEDIDAS Y NÚMERO DE TRIADAS DE LAS BIOPSIAS HEPÁTICAS

No. Biopsia	Longitud	# Triadas	Ancho
1	10	3	1
2	14	6	13
3	19	5	1
4	17	9	12
5	11	3	1
6	4	2	1
7	7	3	1
8	17	5	1
9	12	6	4
10	7	2	1
11	10	4	1
12	19	6	1
13	12	4	1
14	8	5	1
15	14	4	1
16	17	4	1
17	9	4	9
18	2	2	1
19	10	5	1
20	9	5	4
21	4	7	4
22	6	5	6
23	7	3	1
24	7	4	1
25	22	21	20
26	7	3	1
27	21	20	20
28	9	4	1
29	10	6	1
30	11	3	1

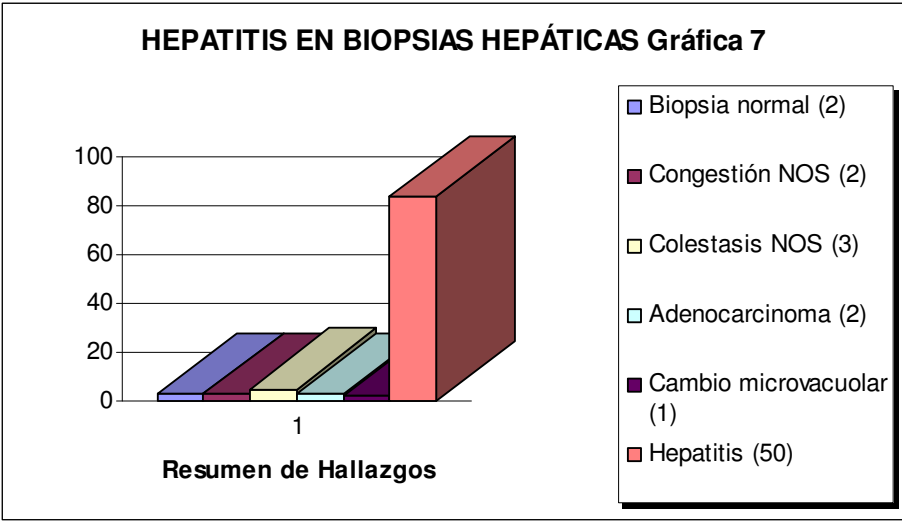
No. Biopsia	Longitud	#Triadas	Ancho
31	11	5	1
32	10	2	1
33	15	5	1
34	16	12	1
35	8	5	1
36	9	3	1
37	5	7	1
38	9	6	1
39	13	7	1
40	12	9	1
41	10	7	1
42	22	30	20
43	13	9	1
44	7	3	1
45	36	15	1
46	17	17	1
47	3	1	1
48	15	13	1
49	15	14	9
50	9	3	1
51	10	3	1
52	11	5	1
53	11	3	1
54	19	14	15
55	5	1	1
56	13	4	1
57	25	30	24
58	15	15	12
59	17	18	1
60	24	18	2

TABLA No. 4
CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS

Tumor	ausente	58	96,67%
	presente	2	3,33%
Infiltrado inflamatorio	ausente	5	8,57%
	leve	29	49,15%
	moderado	15	25,42%
	severo	10	16,95%
tipo de infiltrado inflamatorio	plasmocitario	0	0,00%
	neutrofílico	1	1,85%
	eosinofílico	0	0,00%
	linfocitario	36	66,67%
	linf+eosinof	7	12,96%
	linf+plasmoc	7	12,96%
	linf+neutrof	3	5,56%
localización del infiltrado	septal	11	20%
	focal	21	38,18%
	focal	4	7,27%
	difuso	3	5,45%
	septal y portal	16	29,09%
células de kupfer	no detectables	9	15,52%
	normales	46	79,31%
	aumentadas	3	5,17%
colestasis intrahepatocitaria	ausente	9	15%
	presente	51	85%
colestasis extrahepatocitaria	ausente	26	44%
	presente	33	56%
lesión de pequeños ductos	ausente	47	78,33%
	presente	13	21,67%
proliferación de pequeños ductos	ausente	37	61,67%
	presente	23	38,33%
Esteatosis	ausente	24	40%
	leve	18	30%
	moderada	11	18,33%
	severa	7	11,67%
agregados linfoides	ausentes	54	90%
	presente	6	10%

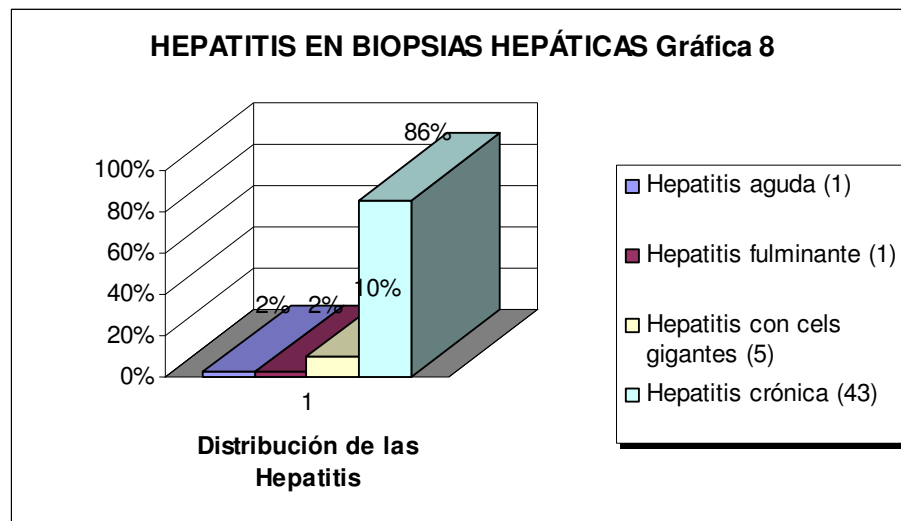
necrosis zonal	ausente	42	70,00%
	zona 1	15	25%
	zona 2	0	0
	zona 3	1	1,67%
	Difusa	2	3,33%
degeneración hepatocitaria	Balonizante	23	54,76%
	Eosinofílica	4	9,52%
	vidrio esmerilado	1	2,38%
	bal+eosinofílica	12	28,57%
	Todas	2	4,76%
Fibrosis	Ausente	16	26,67%
	Presente	44	73,33%

Al realizar el resumen de hallazgos, se encontró que 50(83,33%) de las 60 biopsias, corresponden a cuadro histopatológico de hepatitis, 2(3,33%) son biopsias histológicamente normales, 2(3,33%) se encontró congestión no especificada, 3(5%) corresponden a biopsias con colestasis no especificada, 2(3,33%) presentan adenocarcinoma (colangiocarcinoma y adenocarcinoma metastático) y 1(1,67%) a cambio microvacuolar difuso sin inflamación. Gráfica 7. Al correlacionar con datos clínicos, uno de los casos de colestasis, pertenece a una paciente en estado de embarazo, otro a un cuadro de insuficiencia cardiaca congestiva y el otro a un individuo con un síndrome icterico a estudio, sin antecedentes y marcadores negativos. Las 2 biopsias hepáticas con congestión no especificada, corresponden a un caso de autoinmunidad y el otro a dengue. El cambio microvacuolar difuso sin inflamación, a síndrome de Reye.



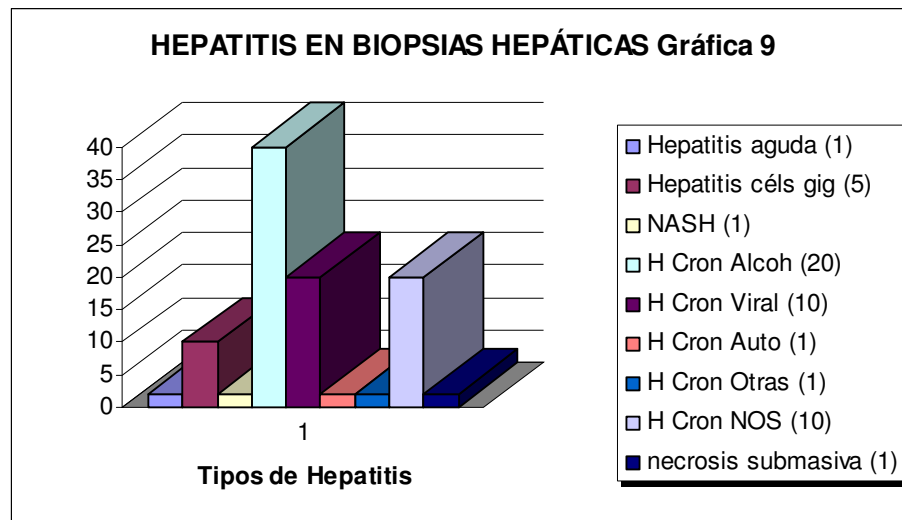
Las 2 biopsias hepáticas normales, corresponden a una paciente con síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y a antecedente de ingesta de árnica.

La distribución histopatológica de las 50 biopsias con hepatitis fue así: 1 caso con hepatitis aguda, 1 caso de hepatitis fulminante, 43 con hepatitis crónica y 5 con hepatitis de células gigantes. Gráfica 8.



Al correlacionar con datos clínicos de las 50 biopsias con hepatitis, 20(40%) son crónicas asociadas a consumo de alcohol, 10(20%) a crónicas sin especificación, 10(20%) a crónicas virales (B y C), 5(10%) a hepatitis de células gigantes, 1(2%) a hepatitis aguda, 1(2%) a Esteatohepatitis no alcohólica (NASH), 1(2%) a hepatitis crónica autoinmune y 1(2%) a otras hepatitis crónica y 1(2%) necrosis hepática submasiva por dengue. Gráfica 9.

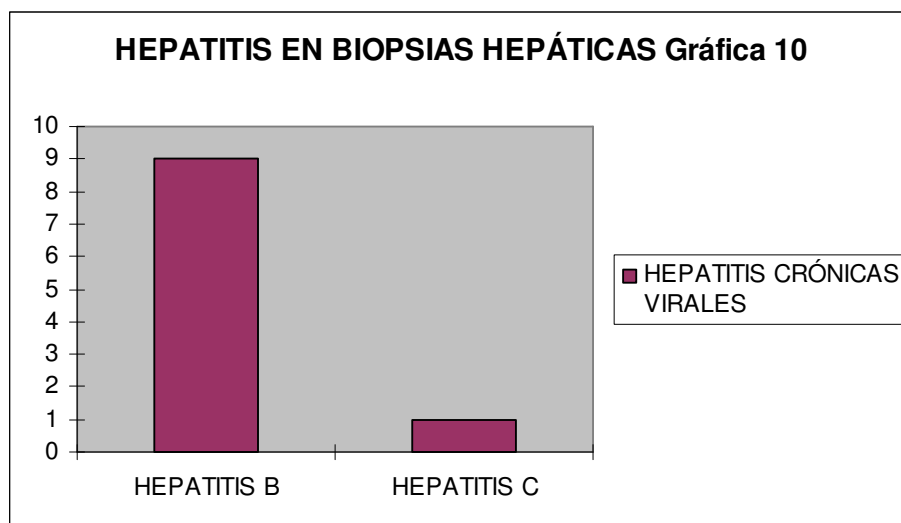
El diagnóstico etiológico de casi la totalidad de los casos, fue llevado a cabo correlacionando los hallazgos histopatológicos de la biopsia, los antecedentes clínicos, los marcadores bioquímicos y la serología viral.



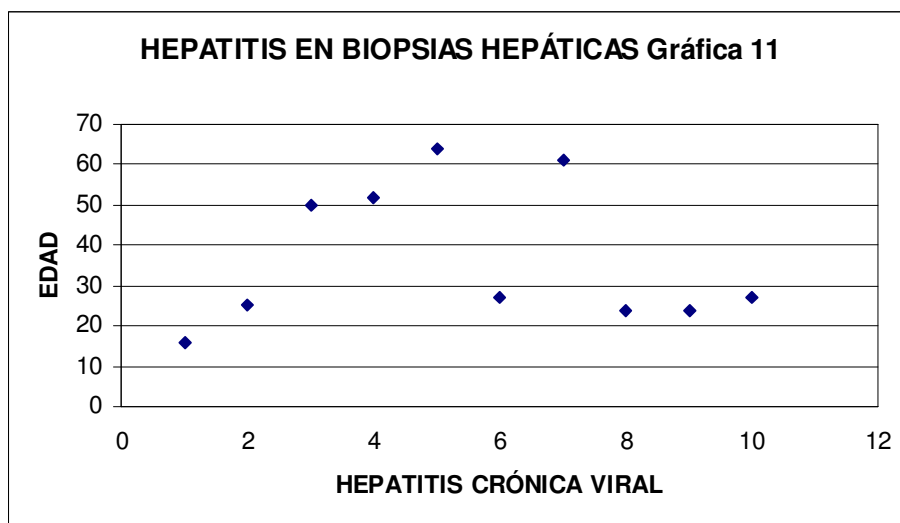
En el caso de hepatitis aguda, se trataba de una paciente embarazada, HIV e IgM-antiHAV positivos. Las hepatitis de células gigantes correspondieron a casos de pacientes con atresia de vías biliares, y en uno de los casos, se encontró asociado a infección por complejo TORSCH.

La biopsia hepática correspondiente a esteatohepatitis no alcohólica (NASH), pertenece a una paciente con antecedentes de diabetes mellitus, obesidad, sin consumo de alcohol ni presencia de marcadores virales positivos referidos en la historia clínica.

De los 10 casos catalogados como hepatitis crónica viral, 9 están asociadas a la presencia de antígeno de superficie para la hepatitis B (HBsAg) y 1 a anti-HCV. Gráfica.10.



Las biopsias hepáticas con hepatitis crónica viral pertenecen a pacientes cuyas edades oscilan entre 16 y 64 años, con un promedio de 38 años. Gráfica. 11.



Una de las biopsias correspondía a una hepatitis crónica autoinmune, perteneciente a una paciente de 8 años, que cumplía los hallazgos histológicos, clínicos, bioquímicos y de anticuerpos (AMAS (+) y AntiLKM1 (+)). Adicionalmente, tiene antecedente de tuberculosis.

Se presentó un caso de una paciente con hallazgos histopatológicos de hepatitis crónica y antecedente de deficiencia de alfa 1 antitripsina, la cual fue catalogada dentro del grupo de otras hepatitis crónicas.

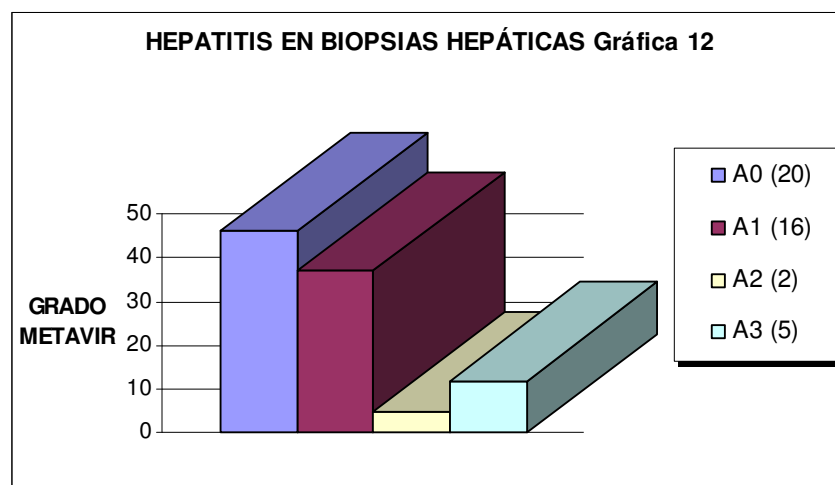
En las 10 biopsias hepáticas restantes, con hallazgos histológicos de hepatitis crónica, a pesar de la revisión de los antecedentes clínicos y datos paraclínicos, no se pudo reconocer la etiología.

A las 43 biopsias con diagnóstico de hepatitis crónica, se les aplicó el sistema METAVIR para la evaluación del estado de fibrosis y el grado de actividad necroinflamatoria.

6.3.1. GRADO ACTIVIDAD NECROINFLAMATORIA

En la evaluación del grado (actividad necroinflamatoria), se encontró que la mayor parte estuvo dentro de la categoría A0 (ausente), correspondiendo a 20(46,51%) de las biopsias con hepatitis crónica y en segundo lugar,

16(37,21%) de las biopsias pertenecen a la categoría A1 (actividad leve). A2 (moderada) correspondió a 2(4,65%) y A3 (severa) a 5(11,63%). Gráfica. 12.

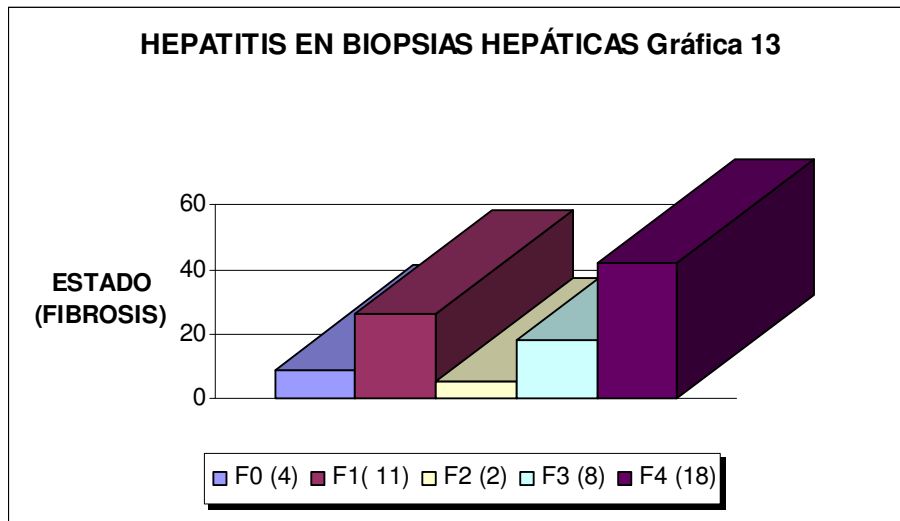


Cuando se realiza regresión univariable entre el grado (actividad necroinflamatoria) y los niveles de aspartato aminotransferasa (ASAT), no se encontró asociación ($p = 0,996$). Al realizar regresión univariable entre el grado (actividad necroinflamatoria) y los niveles de alanino aminotransferasa (ALAT), no hubo asociación ($p = 0,974$).

6.3.2. ESTADO FIBROSIS

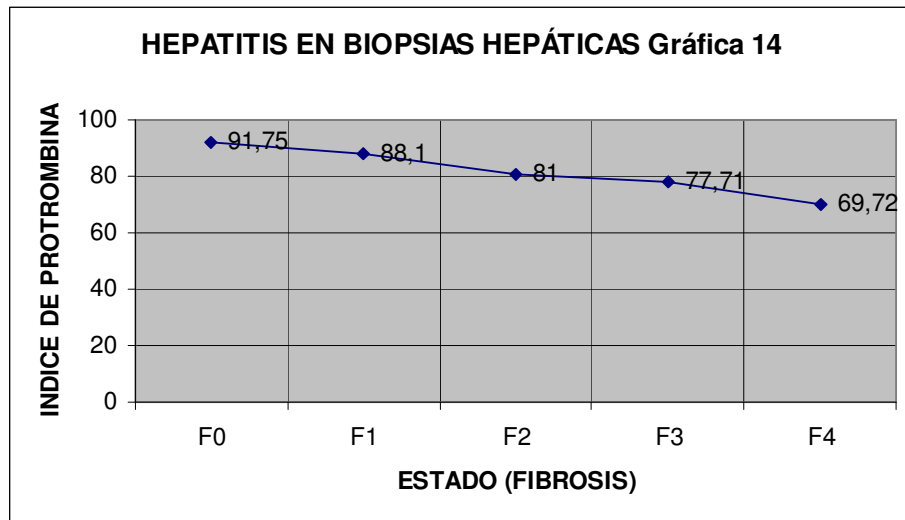
En la evaluación del estado (fibrosis), la mayor parte de las biopsias estaba en F4 (cirrosis), con 18(41,86%) de las biopsias, y en segundo lugar F1 (fibrosis

portal sin septos), con 11(25,58%). El estado F0 (no fibrosis) tuvo 4(9,30%), F2 (fibrosis portal con septos raros) 2(4,65%) y F3 (numerosos septos sin cirrosis) 8(18,60%). Gráfica. 13.



Con regresión univariable entre el Estado (fibrosis) y los niveles de bilirrubinas totales, no se encontró asociación ($p = 0,824$).

Usando regresión univariable entre el índice de protrombina con el estado evaluado por el sistema METAVIR, se halló asociación, con una $p = 0,003$ (IC95% 0,058-0,012). Así mismo, se observan que el índice de protrombina comienza a disminuir al mismo tiempo que se hay fibrosis (F1), y disminuye progresivamente hasta encontrar valores menores cuando la fibrosis es extensa (F3) y existe estado de cirrosis (F4). Gráfica. 14.



De acuerdo con estudios previos se analizó el estado de fibrosis, tomando dos grupos dentro del estado así: un primer grupo que abarca F0, F1, F2 (Ausencia de fibrosis, fibrosis leve ó moderada) y un segundo grupo que abarca F3 y F4 (Fibrosis severa). Se tomó un valor de referencia del índice de protrombina (80%) determinado dentro de la literatura⁶⁷ y se buscó su asociación por medio de regresión univariable con los dos grupos. Se detectó que existe tal asociación, con una $p = 0,0243$.

Se determinó la asociación entre estado y edad, por análisis de regresión univariable, encontrándose tal asociación, con una $p = 0,016$ (IC95%0,00-0,05). Cuando se buscó esta misma asociación entre estado y género utilizando t test, ésta no fue encontrada ($p = 0,82$). Estos hallazgos son diferentes a las hipótesis planteadas a partir de la protección por estrógenos y menor fibrosis de las mujeres, por disminución de las células estelares, comparado con los

hombres. Posiblemente, debido al tamaño de la muestra, no se documentó la asociación⁷⁸.

7. DISCUSIÓN

El tamaño de la muestra de la biopsia hepática se encuentra directamente relacionado con la posibilidad de realizar el diagnóstico. Las biopsias pequeñas dificultan el diagnóstico y en muchos casos lo imposibilitan, llevando a un diagnóstico erróneo. Bedossa et al⁷⁹, reportaron un estudio cuidadoso relacionado con la longitud de la biopsia. Su objetivo fue determinar el mínimo de longitud de un cilindro para ser aceptado como medida representativa. Los resultados fueron correlacionados con el sistema METAVIR y los investigadores concluyeron que el mínimo de longitud aceptable para estadificar es 25 mm. Colloredo et al⁵, utilizando el sistema Ishak recomendaron que el grado y estadio debe ser evaluado utilizando biopsias de por lo menos 20 mm de longitud y 1,4mm de diámetro, con presencia de por lo menos 11 tractos portales completos. Kage et al⁸⁰, rechazan secciones de menos de 5 triadas portales y Kaser et al⁸⁰, aquellas menores de 8 triadas. Bravo et al³, al revisar la técnica, refieren que un espécimen de 15mm es usualmente adecuado para diagnóstico, pero no especificaron si era suficiente para evaluar grado ó estadio.

En la actualidad se están llevando a cabo numerosos estudios tratando de hallar métodos bioquímicos no invasivos para evaluar la fibrosis. Tales

estudios, utilizan la biopsia hepática como referencia. Poynard et al⁵⁷, detectaron que los especímenes mayores de 15mm y que contienen 6 ó más triadas portales dan una buena correlación de la histología y los marcadores bioquímicos.

En el presente estudio, se encontró un promedio de longitud de biopsias hepáticas de 12mm y un promedio de 7,5 triadas portales por biopsia. De acuerdo a estos hallazgos, el tamaño de las biopsias hepáticas se encuentra por debajo de lo reportado en la literatura, aunque el número de triadas está dentro del rango, lo cual puede alterar el reporte y puede producir variabilidad al correlacionarlo con los hallazgos clínicos, paraclínicos e imagenológicos. Adicionalmente, se encontraron puntos extremos como 2 biopsias de 2 mm de longitud, y 25 biopsias con menos de 5 triadas portales.

También se determinó una asociación entre la longitud de la biopsia y el número de triadas portales. Una buena recomendación, cuando se quiere estudiar un paciente en el cual se sospecha hepatitis crónica es una biopsia adecuada: "Bigger is better"⁸⁰.

En el estudio se encontró que 25 de las biopsias hepáticas enviadas con sospecha diagnóstica de hepatitis al Departamento de Patología corresponden a ese diagnóstico. De los casos que no hubo correspondencia, se presentaron biopsia hepática normales y otras con cambios inespecíficos como colestasis y congestión. Una biopsia hepática normal ó con cambios ligeros no es de

utilidad, porque significa que la muestra fue tomada de un sitio sin alteración (esta es la primera posibilidad, debido a que la biopsia es una mínima porción de tejido que trata de representar un gran universo, que es el parénquima hepático) ó el diagnóstico clínico estuvo errado.

Dentro de las hepatitis, 43 son hepatitis crónicas. De este último grupo, hubo un predominio de las hepatitis alcohólicas, similar a lo descrito en estudios previos, debido a que el abuso de alcohol contribuye a un problema médico y social importante en gran parte del mundo. En segundo lugar, se observaron las 10 hepatitis crónicas sin especificación, las cuales, a pesar de investigar la causa con los recursos hospitalarios disponibles, no fue posible su determinación. Se encontró en tercer lugar 10 hepatitis crónicas virales, originadas por virus B ó virus C. Como se puede apreciar, el virus B sigue siendo una causa importante de hepatitis crónica, y un país del tercer mundo como Colombia, no es la excepción. Estos pacientes corresponden a un grupo poblacional adulto joven-mayor (promedio de edad 38 años). Solamente se halló un caso con marcadores positivos para el virus de la Hepatitis C en una paciente embarazada, sin factores de riesgo visibles. Histológicamente, esta biopsia mostró la presencia de agregados linfoides y esteatosis, lo cual es concordante con lo referido en descripciones de tejido hepático con infección por virus de hepatitis C.

Se apreció que solo un caso de hepatitis era de tipo agudo. Esto está muy de acuerdo con lo referido a través de los artículos en la literatura, debido a que

son pocos los pacientes que son sometidos a la realización de una biopsia hepática, cuando el proceso es agudo (posiblemente porque la mayor parte de estos corresponden a procesos que se autoresuelven sin problemas, tratando de no llevar a los pacientes a un riesgo innecesario y con complicaciones potenciales como es la toma de la biopsia hepática), a menos que haya una sospecha de infección por virus B, C, cronicidad u otra entidad sobreagregada. En el presente estudio, solo se presentó una biopsia hepática correspondiente a una paciente con hepatitis A, embarazada y con infección por HIV.

Al evaluar las biopsias con hepatitis crónica utilizando el sistema METAVIR se observó que es un sistema comprensible, sencillo, fácil de evaluar, reproducible y utilizable por parte de patólogos con poca experiencia en hepatopatología y en general en un programa de entrenamiento de residentes. Esto es concordante con lo revisado en la literatura. Así mismo, es necesario comprender los elementos básicos que lo componen (Grado: necrosis de “piecemeal” y necrosis lobular; Fibrosis).

¿Para qué evaluar estado y fibrosis en los pacientes con hepatitis crónica? Esta es una pregunta esencial cuya respuesta está dirigida especialmente hacia los clínicos. Su importancia radica en la posibilidad de predecir la evolución de las hepatitis basada en hallazgos de la biopsia hepática, para determinar qué pacientes tendrán un buen pronóstico y qué pacientes progresarán a cirrosis a través del tiempo. En la actualidad se han implementado regímenes de tratamiento, y es indispensable determinar el inicio

de fármacos para el manejo de las hepatitis C y B, así como en el monitoreo de su eficacia.

La biopsia hepática es considerada en la actualidad como el método más acertado para determinar la actividad necroinflamatoria de un proceso (Grado). Al evaluarlo, se encontró que la mayor parte de los pacientes del Hospital Universitario Ramón González Valencia con hepatitis crónica y cuyas biopsias son examinadas en el Departamento de Patología se encuentran en A0 (ausencia de actividad) y en A1 (actividad leve). Comparativamente, son pocos los casos con actividad necroinflamatoria moderada ó severa.

Por otra parte, al analizar el estado de fibrosis, gran parte de ellos están en F4 (cirrosis). Es posible que la mayoría de los pacientes examinados en la institución consulten en un estadio avanzado de la enfermedad, altamente sintomáticos y con procesos tales como hipertensión portal, várices esofágicas y hemorragia de vías digestivas, donde haya menos estrategias de tratamiento curativo. En el momento actual, los hepatopatólogos franceses hablan sobre la “reversión” de la cirrosis a estadios más precoces; pero otros investigadores, especialmente belgas, contradicen la utilización de este término, aunque están de acuerdo de que la cirrosis no es totalmente irreversible, pero aún no se ha demostrado claramente la regresión de un proceso cirrótico. Sin embargo, en el presente estudio, el segundo grupo de pacientes en orden de frecuencia con hepatitis crónica, se encuentra en estadio F1 (fibrosis portal sin septos), donde

sí se pueden crear más estrategias de manejo y prevención de la evolución de la enfermedad.

En varios estudios se ha sugerido que la esteatosis, un hallazgo frecuente histológico encontrado en pacientes con hepatitis crónica; influiría y podría estar relacionado con la génesis y el desarrollo de fibrosis. En dos estudios recientes, se sugería que la esteatosis, cuando era severa, estaba asociada a un aumento anual en la progresión de fibrosis. Aunque no hace parte del objetivo del presente estudio, se estimó la asociación entre esteatosis y fibrosis, y no se encontró esta relación^{82,83}. Esto favorecería las aseveraciones realizadas por hepatopatólogos que niegan este concepto.

La biopsia hepática es la prueba más específica para evaluar la naturaleza y severidad de las enfermedades hepáticas, así como para el monitoreo de la efectividad de los tratamientos. Muchos investigadores la consideran el “gold estándar”. Sin embargo, los clínicos tienden a esperar un diagnóstico etiológico de la biopsia, la cual solo es conseguida en una minoría de condiciones. Aún así, la biopsia permite reducir un amplio espectro de posibles enfermedades, dirigiendo a los clínicos a racionalizar la búsqueda. En el presente estudio se pudo confirmar esto, debido a que una adecuada biopsia asociada a una buena evaluación histopatológica, orienta hacia la búsqueda de la etiología, pero la correlación clínica es fundamental para llegar a la misma.

La elevación de los niveles de ALT es el sello de distinción de la necrosis de los hepatocitos y ha sido usada como el mejor marcador para hepatitis asociadas con virus, drogas, alcohol u otras etiologías. Según Bianchi et al⁶⁴, el nivel de elevación de aminotransferasas no refleja adecuadamente la severidad de la enfermedad y se correlaciona poco con el grado histológico. Sin embargo, Pradat et al⁷⁶, hallaron que entre pacientes con infección por hepatitis C y elevados niveles de ALT (por encima del límite superior normal), el 88% de ellos tuvieron scores histológicos superiores a A1. En su estudio, Assy & Minuk⁶² encontraron que los valores de ALT no se correlacionan con la actividad histológica, pero los niveles de AST sí se correlacionan con las características de inflamación hepática, y sugieren que los valores de AST deben ser considerados, especialmente en pacientes con hepatitis crónica C.

En el presente estudio se encontró que no hay correlación entre los niveles de aminotransferasas (ALT y AST) con el grado de actividad necroinflamatoria en pacientes con hepatitis crónica. Sin embargo, es necesario realizar nuevos estudios, con recolección de datos en forma prospectiva para confirmar esto, debido a que los resultados de los estudios en la literatura son muy variables.

En la actualidad existe una gran necesidad de encontrar métodos no invasivos para valorar la fibrosis hepática, por lo cual se han utilizado marcadores séricos, que miden una ó más moléculas dentro de la sangre ó el suero. Estos marcadores en un futuro servirán para evaluar el inicio de una terapia ó monitorizar la terapia antiviral ó antifibrótica. Un marcador sérico ideal es aquel

que es específico hepático, independiente de las alteraciones metabólicas, fácil de evaluar, barato y debe ser altamente sensible para discriminar entre los diferentes estadios de la fibrosis.

En el presente estudio se utilizaron dos tipos de marcadores usados en diversos trabajos de investigación con resultados contradictorios con el fin de buscar su asociación con el Estado de fibrosis por el sistema METAVIR: las bilirrubinas totales y el índice de protrombina.

Imbert-Bismut et al⁷⁰, del grupo MULTIVIRC, encontraron que un panel de marcadores bioquímicos compuestos por alfa2 macroglobulina, haptoglobina, alfa globulina, apo A1, gama glutamiltranspeptidasa y bilirrubinas totales, son útiles en la evaluación de la fibrosis. Calés et al⁶⁶, en su estudio encontraron que un solo marcador para fibrosis puede ser una forma más certera y barata para identificar el estado, más que la combinación de marcadores bioquímicos. En el presente estudio, se estimaron las bilirrubinas totales como único marcador, y posteriormente se buscó la relación entre el estado de fibrosis y sus niveles, sin encontrarse la asociación. Esto indica, que las bilirrubinas totales, como único marcador, no son una buena estrategia para determinar indirectamente fibrosis.

De igual forma, a través de este estudio se buscó la asociación entre el índice de protrombina y la fibrosis hepática, encontrándose que este marcador se correlaciona con el estado histológico estimado bajo el sistema METAVIR. El

índice de protrombina está disminuido, incluso en el estadíos iniciales de la fibrosis en enfermedades crónicas hepáticas, cuando la fibrosis es discreta, siendo un marcador indirecto. Croquet et al⁶⁷, indicaron que el punto de corte del índice de protrombina para el diagnóstico de cirrosis en pacientes con enfermedad hepática es 85% y en otro estudio 80%. De acuerdo al presente estudio, un índice de protrombina $\geq 80\%$ excluye una fibrosis severa y $\leq$ a 80% engloba a las biopsias en estado F3 ó F4 de la escala de METAVIR.

¿Por qué el índice de protrombina es un marcador de fibrosis hepática? Hay diferentes hipótesis, pero algunos de los siguientes factores podrían contribuir a la disminución del índice de protrombina en fibrosis: una temprana disminución del factor VII, la alteración de la carboxilación de la vitamina K, la capilarización de los sinusoides hepáticos que inducen el atrapamiento de la trombina ó de otros factores de la coagulación y al consumo de trombina por sus receptores en la superficie de las células estelares hepáticas. Sin embargo, estas hipótesis deben ser confirmadas en estudios posteriores.

La reproducibilidad del índice de protrombina medida en diferentes laboratorios europeos ha sido excelente. En Bucaramanga, aún no contamos con un tiempo de protrombina medido a través de estudios poblacionales, indicando la necesidad de realizarlos. Sin embargo, así como no se presentan variaciones entre los diferentes laboratorios europeos, se puede asumir que entre los de Colombia no debe existir, debido a que el índice de protrombina es expresado como un porcentaje, lo cual no se altera por las diferencias entre las

tromboplastinas usadas en los laboratorios. Por esta razón, el INR no es válido para evaluar la alteración hepática.

8. CONCLUSIONES

1. La distribución según cuadro histopatológico de las hepatitis en material de biopsias tomadas en el Hospital Universitario Ramón González Valencia y evaluadas en el Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander, durante el periodo comprendido entre el 1º de enero de 1998 y 30 de noviembre de 2002 es: 1 caso de hepatitis aguda, 43 hepatitis crónicas, 5 hepatitis de células gigantes y 1 hepatitis fulminante (necrosis hepática submasiva).
2. Al determinar el grado de las biopsias con hepatitis crónica por el sistema METAVIR, se encontró: A0 (46,51%), A1(37,21%), A2(4,65%) y A3(11,63%).
3. Al determinar el estadio de las biopsias con hepatitis crónica por el sistema METAVIR, se encontró: F0 (9,30%), F1 (25,58%), F2 (4,65%), F3 (18,60%) y F4 (41,86%).
4. Los niveles de aminotransferasas (ALT y AST) no se asocian con el grado de actividad necroinflamatoria valorado por el sistema METAVIR para biopsias hepáticas con hepatitis crónica.

5. Los niveles de bilirrubinas totales no se asocian con el estado de fibrosis valorado por el sistema METAVIR para biopsias hepáticas con hepatitis crónica.

6. Este estudio confirma que el índice de protrombina se asocia con el grado de fibrosis medido por el sistema METAVIR, mostrando, que tiene una gran asociación con fibrosis severa ó cirrosis, tanto en pacientes con enfermedad crónica hepática de origen alcohólico y viral.

7. El índice de protrombina expresado como porcentaje, es un marcador fácilmente disponible, acertado y reproducible para llevar a cabo una evaluación indirecta de rutina de la fibrosis hepática severa ó el diagnóstico de cirrosis en pacientes con enfermedad hepática crónica.

8. La biopsia hepática es un método útil, que asociado a la clínica, permite ayudar a esclarecer la etiología de la patología de hígado.

9. La longitud de las biopsias hepáticas recibidas en el Departamento de Patología para evaluación tienen una longitud por debajo de lo aceptable para evaluación del estadio y grado de las hepatitis crónicas. Adicionalmente, se encontró asociación entre longitud de la biopsia hepática y número de triadas portales. Es necesario aumentar el tamaño del cilindro para establecer una adecuada valoración.

10. De las biopsias hepáticas enviadas para estudio histopatológico al Departamento de Patología con diagnóstico clínico de hepatitis, la mayor proporción corresponden a hepatitis crónica.

11. Es indispensable determinar el estado y grado en las hepatitis crónicas por alguno de los sistemas conocidos (METAVIR, Ishak, Desmet, etc), ya que estandariza la visualización de las biopsias hepáticas y favorece el manejo de los pacientes.

12. Se recomienda el uso cotidiano del sistema METAVIR para valoración de estado y grado de actividad necroinflamatoria en biopsias hepáticas, ya que es una manera simple, fácil y reproducible, utilizable por patólogos con poca experiencia en hepatopatología.

9. RECOMENDACIONES

1. El tamaño de la biopsia hepática es importante en la determinación de la enfermedad. Se recomienda toma de biopsias más grandes para poder dar una mejor evaluación de la misma.
2. Todas las biopsias hepáticas con hepatitis crónica de una institución deben ser estadificadas y graduadas utilizando el mismo sistema para disminuir la variabilidad inter e intra observador. Así mismo, los criterios histológicos deben ser estandarizados en el Departamento de Patología para que todos los patólogos y residentes “hablen el mismo idioma” y el sistema que se decida utilizar debe ser definido y conocido tanto por los clínicos como los patólogos para llegar a una mejor valoración y seguimiento de los pacientes.
3. Se recomienda realizar nuevos estudios similares, en forma prospectiva, utilizando una muestra mayor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferrel L. Liver Pathology: Cirrhosis, Hepatitis and primary liver tumors. Update and diagnostic problems. Mod Pathol 2000;13:679-704.
2. Mandel: Principles and practice of infectious diseases, 5th ed, 2002 Churchill Livingstone, Inc. Pag 1932, 1748.
3. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. N Engl J Med. 2001; 344:495-500
4. Brunt, E. Grading and Staging the Histopathological lesions of chronic hepatitis: The Knodell histology activity index and beyond. Hepatology Jan 2000 Vol 31(1).241-246.
5. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. J Hepatol 2003;39:239-244.
6. Stedman C. Herbal hepatotoxicity. Semin Liver Dis 2002;22:195-206.
7. Thung S. Drug-induced hepatocellular necrosis. In: USCAP 2003 Annual Meeting <http://www.uscap.org/site~/92nd/companion08h1.htm>
8. Lee, W. Acute liver failure in the United States. Semin Liver Dis. 2003;23:217-226.

9. Riordan S, Williams R. Mechanisms of hepatocyte injury, multiorgan failure, and prognostic criteria in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 2003;23:203-215.
10. Ostapowicz G, Fontana R, Schiodt F. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med* 2002;137:947-954.
11. Barwick K, Rosai J (1994) Liver. In: Ackerman Surgical Pathology. St Louis, Missouri. Mosby-Year Book, pp 857-942.
12. Scoazed, J. Pathology of chronic viral hepatitis. In: Proceedings of 19th European Congress of Pathology 2003. University of Ljubljana, pp190-194.
13. Scheuer P. Assessment of liver biopsies in chronic hepatitis: how is it best done? *J Hepato* 2003;38:240-242.
14. Michalak S, Rousselet M, Bedossa P. Respective roles of porto-septal fibrosis and centrilobular fibrosis in alcoholic liver disease. *J Pathol* 2003;201:55-62.
15. Brunt, E. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001;21:3-16.
16. Chitturi S, Farrel G. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:27-41.

17. Burt, A. Alcoholic Liver Diseases and NASH: The basis for morphological diagnosis. In: Proceedings of XXIVth International Congress of International Academy of Pathology 2002. BDIAP, pp17-18.
18. Denk H. ALD and NASH: The basis of pathogenesis. In: Proceedings of XXIVth International Congress of International Academy of Pathology 2002. BDIAP, pp19-20.
19. Farrel G. Drugs and steatohepatitis. Semin Liver Dis 2002;22:185-194.
20. Degott C. Drug-related cholestasis. In: Proceedings of XXIVth International Congress of International Academy of Pathology 2002. BDIAP, pp2-4.
21. Marchesini G, Forlani G. NASH: From liver diseases to metabolic disorders and back to clinical Hepatology. Hepatology 2002;35:497-499.
22. McFarlane I. Definition and classification of autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 2002;22:317-324.
23. Lee, Y, Teo E, N, T, et al. Autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis. J Gastroenterol Hepatol 2001;16:1384-1389.
24. Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:47-58.
25. Alter M. Epidemiology and prevention of hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:39-46.

26. Broderick A, Jonas M. Hepatitis B in children. *Semin Liver Dis* 2003;59-68.
27. Ferrari C, Missale G, Boni C, et al. Immunopathogenesis of hepatitis B. *J Hepatology* 2003;39:S36-S42.
28. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26.
29. Imamura T, Yokosuka O, Kurihara T, et al. Distribution of hepatitis B viral genotypes and mutations in the core promoter and precore regions in acute forms of liver disease in patients from Chiba, Japan. *Gut* 2003;52:1630-1637.
30. Kao J, Chen P, Lai M, et al. Genotypes and clinical phenotypes of Hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol* 2002;40:1207-1209.
31. Kao J, Chen P, Lai M, et al. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002;40:4068-4071.
32. Rozario R, Ramakrishna R. Histopathological study of chronic hepatitis B and C: a comparison of two scoring systems. *J Hepatol* 2003;38:223-229
33. Sakai T, Shiraki K, Inoue H, et al. Efficacy of long-term interferon therapy in chronic hepatitis B patients with HBV genotype C. *Int J Mol Med* 2002;10:201-204.

34. Ter Borg F, Ten Kate F, Cuypers H, et al. Relation between laboratory test results and histological hepatitis activity in individuals positive for hepatitis B surface antigen and antibodies to hepatitis B e antigen. *The Lancet* 1998;351:1914-1918
35. Wai C, Greenson J, Fontana R, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-526.
36. Wasley A, Alter M. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2000;20:1-16.
37. Wietzke-Braun P, Braun F, Schott P, et al. Is laparoscopy an advantage in the diagnosis of cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection? *World J Gastroenterol* 2003;9:745-750.
38. Wright M, Goldin R, Fabre A. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut* 2003;52:574-579.
39. Di Bisceglie A. Hepatitis C. *Lancet* 1998;351:351-55.
40. French consensus conference on hepatitis C: screening and treatment. *Gut* 1998;42:892-898.
41. Hézode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F, et al. Impact of smoking on histological liver lesions in chronic hepatitis C. *Gut* 2003;52:126-129.
42. Hügler T, Cerny A. Hepatitis C: update. *Dtsch Med Wochenschr* 2003;128:1963-1968.

43. Jarmay K, Karacsony G, Ozsvar Z, et al. Assessment of histological features in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2002;49:239-243.
44. Kao J, Chen P, Lai M, et al. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002;40:4068-4071.
45. Liang J, Rehermann B, Seeff L, et al. Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of Hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000;132:296-305.
46. Mohsen A, Easterbrook P, Taylor C, et al. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients.
47. Pawlotsky J. Use and Interpretation of virological tests for Hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S65-S73.
48. Pawlotsky J. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis* 2003;23:3-11.
49. Rodés J, Sánchez J. Hepatitis C. *Nephrol Dial Transplant* 2000;S8:2-11.
50. Saadeh S, Cammell G, Carey W, et al. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;33:196-200.
51. Soguero C, Campo E, Ribalta T, et al. Assessment of genotype and molecular evolution of hepatitis C virus in formalin-fixed paraffin-

embedded liver tissue from patients with chronic hepatitis C virus infection. Lab Invest 2000;80:851-856.

52. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. Hepatology 1996;24:289-293.

53. Desmet V. Liver tissue examination. J Hepatol 2003;39:S43-S49.

54. Goldin R, Goldin J, Burt A, et al. Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. J Hepatol 1996;25:659-654.

55. Goldin R. New classification of chronic hepatitis: a critical appraisal. Archives of Hellenic Pathology 1994;8:124-127.

56. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol 1995;22:696-699.

57. Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y, Martino V, et al. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. Semin Liver Dis 2000;20:47-55.

58. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, et al. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. Gastroenterology 1991;100:1397-1402.

59. Scheuer P. Assessment of liver biopsies in chronic hepatitis: how is it best done? J Hepatol 2003;38:240-242.

60. Scheuer P. The nomenclature of chronic hepatitis: time for a change. *J Hepatol* 1995;22:112-114.
61. Schiff E. Update in Hepatology. *Ann Intern Med* 1999;130:52-57.
62. The French METAVIR Cooperative study group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:15-20.
63. Assy N, Minuk G. Serum aspartate but not alanine aminotransferase levels help to predict the histological features of chronic hepatitis C viral infections in adults. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1545-50.
64. Berasain C, Betés M, Panizo A, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 2000;47:429-435.
65. Bianchi L. Liver biopsy in elevated liver functions tests? An old question revisited. *J Hepatology* 2001;35:290-294.
66. Cadranel J, Mathurin P. Prothrombin index decrease: a useful and reliable marker of extensive fibrosis? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1057-1059.
67. Cales P, Oberti F, Rousselet MC, et al. Usual biochemical. Test are not suitable surrogate markers for the degree of liver fibrosis. *J Hepatol* 2002;39:199.

68. Croquet V, Vuillemin E, Ternisien C, et al. Prothrombin index is an indirect marker of severe liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1133-1141.
69. Friedman S. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:S38-S53.
70. Fortunato G, Castaldo G, Oriani G, et al. Multivariate discriminant function based on six biochemical markers in blood can predict the cirrhotic evolution of chronic hepatitis. *Clinical Chemistry* 2001;47:1696-1700.
71. Imbert-Bismut F, Pieroni L, Charlotte F. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *The Lancet* 2001;357:1069-1075.
72. Lu L, Zeng M, Wan M, et al. Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterol* 2003;9:2574-2578.
73. Matsuka Y, Wang D, Suganuma N, et al. Differential responses of serum gamma-glutamyltransferase to alcohol intake in Japanese males. *Acta Med Okayama* 2003;57:171-178.
74. Phillips M, Preedy V, Hughes R. Assessment of prognosis in alcoholic liver disease: can serum hyaluronate replace liver biopsy? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:941-944.

75. Poynard T, Aubert A, Bedossa P, et al. A simple biological index for detection of alcoholic liver disease in drinkers. *Gastroenterology* 1991;100:1397-1402.
76. Poynard T, McHutchison J, Manns M. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of Peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology* 2003;38:481-492.
77. Pradat P, Alberti A, Poynard T, et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: A European collaborate study. *Hepatology* 2002;36:973-977.
78. Zhang B, Cai W, Weng H, et al. Diagnostic value of platelet derived growth factor-BB, transforming growth factor-B1, matrix metalloproteinase-1, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum and peripheral blood mononuclear cells for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:2490-2496.
79. Montgomery D. Sex and hepatic fibrosis. *Hepatology* 1999;29:988-989.
80. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1449-1457.
81. Scheuer P. Liver biopsy size matters in chronic hepatitis: bigger is better. *Hepatology* 38:1356-1358.
82. Demetris A, Ruppert K. Pathologist's perspective on liver needle biopsy size? *J Hepatol* 2003;39:275-277.

83. Castéra L, Hézode C, Roudot F, et al. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies. *Gut* 2003;52:288-292.
84. Zaitoun A, Mardini H, Awad S, et al. Quantitative assessment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol* 2001;54:461-465.

ANEXO A

	VARIABLE	Tipo	Recol	Definición	Medidas	Codificación	
1	Edad	Númerica	HC	Número de años de una persona	Promedio		
2	Género	Nominal	HC	Sexo de una persona	%	Femenino Masculino	0 1
3	Procedencia	Nominal	HC	Area de vivienda	%	Rural Urbano	0 1
4	Diabetes Mellitus	Nominal	HC	Trastorno del metabolismo de CHS, Grasas y prot, con defecto ó déficit de respuesta a la secreción de insulina	%	Ausente Presente	0 1
5	ICC	Nominal	HC	Disfunción cardiovascular por fallo de bomba	%	Ausente Presente	0 1
6	Enfermedad Autoinmune	Nominal	HC	Enfermedad con presencia de autoantígenos y autoanticuerpos	%	Ausente Presente	0 1
7	Neoplasia	Nominal	HC	Masa anormal del cuerpo con crecimiento autónomo	%	Ausente Presente	0 1
8	Desnutrición	Nominal	HC	Hallazgo referido en la historia clínica.	%	Ausente Presente	0 1
9	Obesidad	Nominal	HC	Hallazgo referido en la historia clínica.	%	Ausente Presente	0 1
10	Atresia vías biliares	Nominal	HC	Obstrucción completa del flujo biliar por destrucción ó ausencia de los conductos extrahepáticos	%	Ausente Presente	0 1
11	Complejo TORCH	Nominal	HC	Infección congénita del recién nacido, que incluye Toxoplasmosis, sífilis, rubeola, citomegalovirus y herpes	%	Ausente Presente	0 1
12	Síndrome de Reye	Nominal	HC	Síndrome constituido por encefalopatía y daño hepático asociado al uso de aspirina en enfermedades virales	%	Ausente Presente	0 1
13	Déficit de alfa-1 antitripsina	Nominal	HC	Trastorno ocasionado por la falta ó déficit de la alfa-1-antitripsina	%	Ausente Presente	0 1
14	Hemocromatosis	Nominal	HC	Trastorno secundaria a la sobre carga de hierro	%	Ausente Presente	0 1
15	Gastrosquisis	Nominal	HC	Herniación de los intestinos a través de un defecto del cordón umbilical	%	Ausente Presente	0 1
16	Tuberculosis	Nominal	HC	Infección por Micobacterium tuberculosis	%	Ausente Presente	0 1
17	Embarazo	Nominal	HC	Estado de gravidez durante la toma de la biopsia hepática	%	Ausente Presente	0 1
18	HIV	Nominal	HC	Infección por Virus de inmunodeficiencia humana	%	Ausente Presente	0 1
19	Consumo Alcohol	Nominal	HC	Ingesta diaria de bebidas alcohólicas	%	No Si	0 1

20	Transfusiones sanguíneas	Nominal	HC	Aplicación de glóbulos rojo ó hemoderivados antes de la toma de la biopsia hepática previo a diagnóstico hepatitis	%	Ausente Presente	0 1
21	Exposición a Tóxicos	Nominal	HC	Uso ó exposición a sustancias que causan injuria hepatocelular	%	No Si	0 1
22	IgM-antiHAV	Nominal	HC	Anticuerpo IgM específico- hepatitis A	%	No reactivo Reactivo	0 1
23	Elisa HIV	Nominal	HC	Anticuerpo específico HIV	%	No reactivo Reactivo	0 1
24	HBsAg	Nominal	HC	Antígeno de Superficie del virus de la hepatitis B	%	No reactivo Reactivo	0 1
25	Anti-HBc	Nominal	HC	Anticuerpo core Virus Hepatitis B	%	No reactivo Reactivo	0 1
26	Anti-HCV	Nominal	HC	Anticuerpos contra péptidos del virus de hepatitis C	%	No reactivo Reactivo	0 1
27	Anti-Dengue	Nominal	HC	Anticuerpos contra péptidos virus del Dengue	%	No reactivo Reactivo	0 1
28	ANAS	Nominal	HC	Anticuerpos antinucleares	%	Negativo Positivo	0 1
29	AMA	Nominal	HC	Anticuerpos antimitocondriales	%	Negativo Positivo	0 1
30	Anti-LKM1	Nominal	HC	Anticuerpos antimúsculo liso	%	Negativo Positivo	0 1
31	Bilirrubinas totales	Numérica	HC	Niveles de enzimas hepáticas conjugadas y no conjugadas	Promedio		
32	AST	Numérica	HC	Niveles de aspartato amino transferasas	Promedio		
33	ALT	Numérica	HC	Niveles de Alanino amino transferasas	Promedio		
34	Indice de Protrombina	Numérica	HC	Tiempo de protrombina estandar sobre tiempo de protrombina del paciente por 100	Promedio		
35	Recolección biopsia hepática	Nominal	HC/Bx Hep	Método de toma de la biopsia hepática	%	Trucut Cuña Postmortem	0 1 2
36	Longitud de la biopsia hepática	Numérica	Bx Hepática	milímetros	Promedio		
37	Ancho de la biopsia hepática	Numérica	Bx Hepática	milímetros	Promedio		
38	Triadas portales	Numérica	Bx Hepática	Número de triadas portales en la biopsia hepática	Promedio		

39	Neoplasia	Nominal	Bx Hepática	Masa ó crecimiento anormal visto dentro de la biopsia	%	Ausente Presente	0 1
40	Esteatosis	Ordinal	Bx Hepática	Acumulación de grasa intrahe patocitaria	%	Ausente Leve Moderada Severa	0 1 2 3
41	Agregados Linfoides	Nominal	Bx hepática	Acúmulos de linfocitos en la Biopsia hepática	%	Ausente Presente	0 1
42	Lesión Peq Ductos	Nominal	Bx Hepática	Inflamación y/o alteración de los conductos intrahepáticos	%	Ausente Presente	0 1
43	Proliferación Ductal	Nominal	Bx Hepática	Regeneración y aumento del No. Conductos intrahepáticos	%	Ausente Presente	0 1
44	Infiltrado Inflamatorio	Ordinal	Bx Hepática	Células inflamatorias en el parén quima hepático	%	Ausente Leve Moderado Severa	0 1 2 3
45	Tipo infiltrado inflamatorio	Nominal	Bx Hepática	Tipo de células inflamatorias en el parénquima hepático	%	Plasmocitario Neutrófilico Eosinófilico Linfocitario Linf+Eosinofilos Linf+Plasmocitario Linf+Neutrófilos	0 1 2 3 4 5 6
46	Localización del Infiltrado inflamatorio	Nominal	Bx Hepática	Sitio donde están las células inflamatorias	%	Septal Portal Focal Difuso Septal y Portal	0 1 2 3 4
47	Degeneración hepatocitaria	Nominal	Bx Hepática	Alteración de la citoarquitectura del hepatocito	%	Balonizante Eosinofílica Vidrio Esmer Todas	0 1 2 3
48	Células de Kupfer	Nominal	Bx Hepática	Macrófagos fijos tisulares	%	No detectables Normales Aumentados	0 1 2
49	Necrosis Zonal	Nominal	Bx Hepática	Localización de hepatocitos necróticos	%	Zona 1 Zona 2 Zona 3 Todo	0 1 2 3
50	Granulomas	Nominal	Bx Hepática	Células gigantes multinucleadas ó epitelioides en el hígado	%	Ausentes Presentes	0 1
51	ZN	Nominal	Bx Hepática	Detección de BAAR en el Hígado	%	Negativo Positivo	0 1

52	Fibrosis	Nominal	Bx Hepática	Depósito de tejido conectivo	%	Negativo Positivo	0 1
53	Resumen de Hallazgos	Nominal	Bx Hepática	Categorización de los hallazgos encontrados en la biopsia hepática	%	Bx Normal Congestión NOS Colestasis NOS Adenocarcinoma Cambio microvacuolar Hepatitis	0 1 2 3 4 5
54	Hepatitis	Nominal	Bx Hepática	Distribución de las hepatitis	%	Hepatitis aguda NASH H Células gigantes H Crónica NOS H Crónica Alcohólica H Crónica viral Otras H. Crónicas H Crónica Autoinmune Necrosis sub-masiva	0 1 2 3 4 5 6 7 8
55	Grado	Ordinal	Bx Hepática	Intensidad de la actividad necroinflamatoria en hepatitis crónica	%	A0 A1 A2 A3	0 1 2 3
56	Estado	Ordinal	Bx Hepática	Medida de la fibrosis y alteración arquitectural en hepatitis crónica	%	F0 F1 F2 F3 F4	0 1 2 3 4

ANEXO B

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE HISTORIAS CLÍNICAS

IDENTIFICACIÓN		
FORMATO No.		
EDAD		
GENERO	M	F
PROCEDENCIA	U	R

ANTECEDENTES					
D.M.	A	P	CONS. ALCOHOL	NO	SI
ICC	A	P	DESNUTRICIÓN	A	P
AUTOINMUNE	A	P	OBESIDAD	A	P
NEOPLASIA	A	P	TRANSFUSIONES	A	P
SINDROME REYE	A	P	EXP TOXICOS	NO	SI
TORCH	A	P			
ATRESIA V BILIAR	A	P			
INFECCION HIV	A	P			
GASTROSQUISIS	A	P			
DEF ALFA 1 ANTIT	A	P			
HEMOCROMATOSIS	A	P			
TUBERCULOSIS	A	P			
EMBARAZO	A	P			

DATOS PARACLÍNICOS					
IgM-antiHAV	NR	R	ANAS	POS	NEG
Elisa HIV	NR	R	AMA	POS	NEG
HBsAg	NR	R	Anti-LKM1	POS	NEG
Anti-HBc	NR	R	Bilirrubinas totales		
Anti-HCV	NR	R	AST		
Anti-Dengue	NR	R	ALT		
			Indice Protrombina		

ANEXO C

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS BIOPSIAS HEPÁTICAS

RECOLECCIÓN	Trucut	Cuña	Postmortem	
TAMAÑO				
TRIADAS PORTALES				
NEOPLASIA	Ausente	Presente		
ESTEATOSIS	Ausente	Leve	Moderada	Severa
AGREGADOS LINFOIDES	Ausentes	Presentes		
LESION DUCTULAR	Ausente	Presente		
PROLIFERACIÓN DUCTAL	Ausente	Presente		
INFILTRADO INFLAMAT	Ausente	Leve	Moderada	Severa
TIPO INFILTRADO	Plasm	Neutr	Eosinóf	Linfocitario
LOCALIZACIÓN INFILTRADO	Septal	Portal	Focal	Difuso
DEGENERACIÓN HEPAT	Baloniz	Eosinof	Vidrio Esm	
CELULAS KUPFER	No Detec	Normales	Aument	
NECROSIS ZONAL	Zona 1	Zona 2	Zona 3	
GRANULOMAS	Ausentes	Presentes		
ZN	Positivo	Negativo		
COLESTASIS INTRAHEP	Ausente	Presente		
COLESTASIS EXTRAHEP	Ausente	Presente		
FIBROSIS	Ausente	Presente		
RESUMEN FINAL:	HEPAT			
Biopsia Normal	H Aguda			
Congestión NOS	NASH			
Colestasis NOS	H C Gig			
Adenocarcinoma	H Cr NOS			
Cambio microvacuolar si	H Cr Alc			
Hepatitis	H Cr Vir			
Necrosis submasiva	H Cr Aut			
Bx otro tejido				

PARA H. CRÓNICA

GRADO	A0	A1	A2	A3
ESTADO	F0	F1	F2	
	F3	F4		