

Análisis de parámetros morfométricos en la reparación hepática luego de Trauma.

Analysis of morphometric parameters in liver repair after trauma.

Lázaro Francisco Pupo Rodríguez (Estudiante), Adriana Jorge Parra (Estudiante), Liliana Rivas Ávila (Estudiante), Miguel José Ruiz Velázquez (Estudiante), Erik Díaz González 0000-0002-7670-5600, Pedro A Díaz Rojas 0000-0003-4897-363X, Elizabeth Katuska Leyva Sánchez 0000-0002-1512-4757.

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones Biomédicas ponen énfasis en los estudios vinculados a procesos regenerativos, que intervienen en una amplia gama de Enfermedades que constituyen problemas de salud a nivel global. Por el potencial para aplicar los conocimientos que se obtengan en la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hepáticas, se hace necesario describir de forma objetiva y reproducible, la respuesta de la citoarquitectura hepática ante diferentes estados de estrés. El lobulillo hepático constituye la unidad morfofuncional hepática, y el Hepatocito es la célula fundamental, por su poder regenerativo después de la extirpación o daño importante al parénquima, se emplea frecuentemente como modelo experimental de procesos de regeneración. (1) Los componentes celulares guardan un equilibrio desde el origen de la célula a lo largo de su ciclo vital; el núcleo, es el elemento celular que controla y dirige todas las funciones; y responsable de preservar el material genético; reviste gran importancia comprender sus características morfológicas. El volumen nuclear puede depender de dos aspectos importantes: la suma del contenido de ADN, proteínas y jugo nuclear, y el aumento exclusivo de proteínas y jugo nuclear, esto traduce dos etapas que pueden definirse como la etapa en que el núcleo se prepara para la división celular, y etapa en que dirige una intensa actividad metabólica celular respectivamente.

La segmentación celular y mediciones paramétricas celulares son esenciales para los estudios de la morfología, el movimiento y las interacciones celulares, así como para otras mecánicas celulares (2). Estos elementos motivan la búsqueda de una caracterización de los parámetros cariométricos del hepatocito; utilizando la morfometría y estereología clásicas con apoyo de herramientas modernas de manipulación de imágenes, por lo que es posible describir el núcleo del hepatocito durante procesos de estrés y su papel a nivel de órgano atendiendo a la posición que ocupan los hepatocitos en el lobulillo hepático clásico. (3,4)

MÉTODO

Se emplearon 40 ratones isogénicos línea IOR. Con un solo grupo experimental. Se realizó hepatectomía parcial mediante excéresis de la porción externa del lóbulo hepático izquierdo. El fragmento de tejido se tomó como grupo control. Durante 7 días con un intervalo aproximado de dos horas para los primeros 3 días, 6 horas para el cuarto, 8 horas para el quinto y 24 horas para el sexto y séptimo días. Se incluyen con la técnica clásica de parafina. Se estudió el tejido hasta los 600 μm del borde de la herida.

Esta porción de tejido se dividió en 3 zonas de unos 200 μm cada una, llamándolas zona A (adyacente), M (media) y D (distal). Con ayuda de la aplicación ImageJ 1.49 se determinó los indicadores de Área, Perímetro y Volumen de hepatocitos situados en estas zonas mediante la obtención de 10 campos de cada una, captados por una cámara digital Moticam de 3 megapixel acoplada al microscopio triocular Motic modelo BA-210 y aplicación digital Motic ImagePlus 3.0 de la compañía China Motic S.A. acoplado a computadora Dell, modelo Optiplex 7010, compañía Dell, por cable USB. Aumentos objetivos empleados: 4x, 10x y 40x.

CONCLUSIONES

La morfometría obtenida con la aplicación ImageJ, permite describir de manera objetiva y reproducible diversos componentes celulares, en este caso el núcleo del hepatocito. Se midió el Área, Perímetro y Volumen de los hepatocitos en una muestra de animales de experimentación sometidos a hepatectomía parcial. Los indicadores morfométricos caracterizados se corresponden con el intervalo de confianza del estudio.

Este estudio contribuye a la comprensión de los cambios morfológicos y morfométricos en los hepatocitos durante la regeneración hepática después de un trauma. Los resultados obtenidos pueden tener implicaciones importantes en el campo de la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades hepáticas. El empleo de la aplicación ImageJ contribuye a elevar la calidad de las determinaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

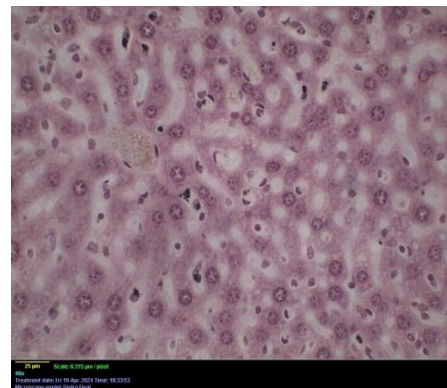
- Osorio MC, Rojas PAD. Volumen nuclear de hepatocitos de hígados sometidos a un factor estimulante humoral en ratones isogénicos línea IOR. Primer Congreso Virtual de Ciencias Morfológicas Primera Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal. 2012;
- Loewke NO, Pai S, Cordeiro C, Black D, King BL, Contag CH, et al. Automated Cell Segmentation for Quantitative Phase Microscopy. IEEE Trans Med Imaging. abril de 2019;37(4):929-40.
- Prodanov D, Verstreken K. Automated Segmentation and Morphometry of Cell and Tissue Structures. Selected Algorithms in ImageJ. Molecular Imaging InTech [Internet]. 2012; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/36729>
- Linguraru MG, Sandberg JK, Li Z, Shah F, Summers RM. Automated segmentation and quantification of liver and spleen from CT images using normalized probabilistic atlases and enhancement estimation. Med Phys. febrero de 2010;37(2):771.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

	X \pm S	IC
Área	137,46 \pm	132,57 –
	127,73	142,35
Perímetro	39,45 \pm	38,80 –
	17,03	40,10
Volumen	9723,73 \pm	9144,94 –
	1513,23	10302,52

La Tabla 1 presenta los indicadores morfométricos estudiados en los hepatocitos; Área, Perímetro y Volumen de 2622 núcleos seleccionados aleatoriamente. Los valores de media aritmética y desviación estándar: 137,46 \pm 127,73; 39,45 \pm 17,03; 9723,73 \pm 1513,23; para los indicadores de Área, Perímetro y Volumen de los núcleos de los hepatocitos respectivamente. Valores estos dentro de los intervalos de confianza del propio estudio y su análisis estadístico.

Diversos estudios morfométricos han empleado la determinación de parámetros relacionados con la regeneración hepática. Los indicadores más utilizados se corresponden con el volumen nuclear de los hepatocitos y la relación núcleo citoplasma, elementos que permiten inferir procesos celulares vitales (1). Nuestro análisis del comportamiento del volumen nuclear de los hepatocitos muestra valores elevados, indicativo de proceso que requiere el reclutamiento de estructuras intracelulares y la puesta en marcha de numerosos procesos celulares en respuesta al estímulo traumático.



La Imagen es una Microfotografía al Microscopio Óptico, aumento objetivo de 40x, donde se observa un corte de Hígado preparado con la técnica clásica de Inclusión en Parafina y Tinción con Hematoxilina y Eosina. Se aprecian los cordones de Hepatocitos y arriba a la izquierda una vena centrolobulillar.