

ESTUDIO MORFOMÉTRICO HEPÁTICO EN EMBRIÓN HUMANO DEL ESTADÍO 20 DE CARNEGIE.

Autores:

María Nelia Martínez Lima¹, Larissa Silverio Ruiz^{2*}, María Aimée Vila Bormey³, Alfredo Santana Machado⁴, Rosa Bermúdez Alemán⁵

¹ Profesora auxiliar, Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

² Profesora instructor, Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

³ Profesora auxiliar, Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

⁴ Profesora auxiliar, Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

⁵ Auxiliar técnico docente Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Santa Clara, Cuba.

Correo electrónico del primer autor: mariamn@ucm.vcl.sld.cu

RESUMEN

Los adelantos tecnológicos y las investigaciones recientes han permitido que el hombre penetre cada vez más en las complejas interioridades de su morfología tanto prenatal como postnatal. El empleo del ultrasonido 3D ha permitido conocer la volumetría hepática en etapa fetal. Con el objetivo de determinar el volumen de este órgano en embrión humano correspondiente al estadio 20 de la clasificación de Carnegie, se realiza el presente estudio morfométrico descriptivo en espécimen humano de 22 mm de longitud cráneo-raquis, procesado por técnica de parafina. Se realizaron 282 cortes sagitales seriados de 10 micras de grosor y tinción con hematoxilina y eosina los cuales fueron digitalizados. Se empleó la opción de polígono y de línea del software SCOPE PHOTO 3.0 para obtener el área y la distancia máxima anteroposterior del hígado. Se calculó la media por corte, obteniendo un total de 282 medias que se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS para Windows versión 15.0, obteniendo de ellas: media, desviación típica y valores mínimo y máximo. Se realizaron los cálculos matemáticos del volumen y la distancia máxima lateral. Se obtuvo un área hepática máxima de 12.98 mm² con una media de 6.8 mm². La distancia máxima antero posterior fue de 4,36mm y la lateral de 2.82 mm. El volumen hepático fue de 19.185mm³. Se concluye que el presente trabajo sienta las bases para futuros estudios morfométricos del hígado en etapa embrionaria, mediante el cálculo del volumen, el que por su carácter tridimensional nos brinda mayor información sobre la anatomía cuantitativa hepática.

PALABRAS CLAVE: [embrión humano, morfometría, hígado]

INTRODUCCIÓN

Los adelantos tecnológicos y el volumen de investigaciones de las últimas décadas han permitido de manera creciente que el hombre penetre cada vez más en las complejas interioridades de su morfología tanto prenatal como post-natal, no sólo a escala tisular o celular, sino también en el ámbito molecular y submolecular, lo que ha tenido efectos de gran beneficio para el propio hombre. ⁽¹⁾

Especialmente los resultados que se obtienen en el campo de la morfología del desarrollo prenatal impactan directamente en la clínica obstétrica y la perinatología, tanto en el diagnóstico prenatal como en la terapéutica del embrión, el feto o el recién nacido. ⁽²⁾

Gran número de autores han estudiado en el periodo prenatal aspectos cualitativos y cuantitativos relacionados con el desarrollo fetal y de la placenta, las investigaciones

cuantitativas son más frecuentes y se asocian al desarrollo vertiginoso de medios diagnósticos cada vez más sofisticados. En todos ellos las opciones de medición están presentes y su complementación con los recursos de la computación mejora sobremedida la interpretación de la imagen, el diagnóstico y la evolución de los estudios y el resultado de investigaciones morfométricas en este campo. ^(3,4)

Las primeras ocho semanas del desarrollo humano, y particularmente de la tercera a la octava semanas, son cruciales en la definición de normalidad o anormalidad del producto, en esta etapa se define el plan corporal básico del embrión y de cada uno de sus órganos, lo que ha motivado la clasificación del periodo embrionario en 23 estadios con características propias por Carnegie. ^(5, 6, 7)

Dada la pequeñez del embrión y su condición cambiante hacen que este período y las siguientes semanas del primer trimestre no sean fáciles de estudiar por los métodos convencionales de investigaciones posmortem, ni por la ecografía tridimensional, es por ello que el procesamiento histológico constituye una alternativa útil, que complementada con las técnicas morfométricas digitalizadas, puede contribuir al conocimiento de este período del desarrollo y aportar una visión morfológica cuantitativa del mismo. ⁽⁸⁾

Si bien en el presente siglo la motivación por hacer estudios morfométricos en embriones aumenta, aún persisten algunas controversias en los eventos de la morfogénesis y escasean los parámetros morfométricos por órganos en el período embrionario, siendo el corazón el de más interés, razones éstas que justifican plenamente que la producción científica en el área de la morfometría gane espacio y amplíe progresivamente el campo del conocimiento cuantitativo del organismo humano en esta etapa tan temprana de la vida, con la diversificación de sus estudios a otros órganos.

El hígado es el órgano de mayor volumen del organismo y desde el período embrionario impone esta condición, a pesar de ello pocos trabajos abordan estudios en este sentido. El estudio del volumen es una de las opciones más confiables de la anatomía cuantitativa al brindar información con carácter tridimensional, hecho que nos permite aproximarnos más a la forma del objeto de estudio y su relación con el espacio que ocupa, el objetivo del presente trabajo fue determinar el volumen hepático en embrión humano correspondiente al estadio 20 de la clasificación de Carnegie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestra: se estudió un espécimen de 22 mm de longitud cráneo-raquis (LCR) perteneciente a La Embrioteca de la Facultad de Medicina de Villa Clara. Su procedencia fue a partir de aborto voluntario inducido por misoprostol. El mismo cumplió los criterios de inclusión: integridad, ausencia de signos evidentes de maceración y/o malformación, calidad en el procesamiento técnico de las muestras y de la serie histológica obtenida.

METODOLOGÍA

Estadificación del espécimen: para esto se emplearon los criterios de Carnegie, ⁽⁵⁾ sobre esta base el periodo embrionario es dividido en 23 estadios, atendiendo no solo a la longitud sino a las características morfológicas externas e internas del espécimen. Se procedió a obtener la longitud máxima cráneo raquis mediante el empleo de pie de rey. En esta fase se realizó fotografía del aspecto externo del espécimen mediante cámara digital CANON PowerShot G11. (Foto 1).

Procesamiento del embrión: Consistió en la fijación en formol neutro al 10 % por 72 horas, deshidratación en alcoholes crecientes, aclaración en Xilol, inclusión en parafina PF de 56 grados, cortes seriados en micrótomo vertical con micraje de 10 micras en plano sagital y tinción con Hematoxilina y Eosina.

Revisión de la serie histológica obtenida: se realizó una observación minuciosa del aspecto morfológico interno del embrión mediante el microscopio óptico OLYMPUS CX2, para determinar la calidad y normalidad en el mismo así como evaluar la totalidad de los cortes a digitalizar. Esta fase permitió contrastar las características internas con las descritas en la clasificación de Carnegie.

Digitalización de imágenes: fueron digitalizadas la totalidad de los cortes del espécimen mediante cámara digital DCM500, acoplada a estereoscopio MBC-10 (objetivo 1x). Se digitalizaron un total de 282 cortes.

Estudio morfométrico: las mediciones se realizaron con el sistema morfométrico SCOPE PHOTO 3.0. De los 282 cortes digitalizados, la totalidad mostraron diferentes secciones del área hepática. Se realizaron 7 lecturas del área en cada uno de los 282 cortes, lo que totalizó 1974 mediciones de área hepática y se obtuvo la distancia máxima en aquellos cortes que mostraron mayor área hepática de la dista (Fotos 2,3).

Procesamiento estadístico: se procesaron las medias de las 1974 mediciones mediante el paquete estadístico SPSS para Windows versión 15.0 obteniéndose media, desviación típica, mínimo y máximo de la variable área hepática.

Operacionalización de las variables:

Variables	Operacionalización	Unidad
Área Hepática (AH)	Área del corte sagital del embrión que corresponde al hígado, se obtiene al delimitarla con la opción de polígono que aparece en la barra de herramientas del software SCOPE PHOTO 3.0	mm ²
Distancia máxima antero posterior hepática	Distancia máxima del hígado en sentido antero posterior en el corte de mayor área hepática. Se obtiene directamente al medir con la opción de línea que aparece en la barra de herramientas del software SCOPE PHOTO 3.0	mm
Distancia máxima transversa o lateral	Se obtiene al multiplicar el número de cortes por la profundidad de los mismos.	mm
Volumen Hepático (VH)	Sumatoria de las medias por la profundidad del corte.	mm ³

Análisis matemático: se realizó el cálculo matemático del volumen mediante la siguiente fórmula:

$$v = e \sum_{i=1}^{i=n} n \cdot ai$$

donde:

e = espesor del corte
ai= área del órgano en cada corte
n= número de cortes

Para ello partimos de calcular la media aritmética de las 7 áreas de cada corte, se multiplicó por la profundidad del mismo y se realizó su sumatoria.

RESULTADOS

El resultado de la morfometría hepática arrojó un área hepática máxima de 12.98 mm², área mínima de 0.17 mm², y una media de 6.8 mm². (Tabla No 1). La distancia máxima anteroposterior hepática fue de 4,36mm. (Foto 4) en tanto la distancia máxima lateral fue de 2.82 mm (tabla No. 2). El cálculo del volumen hepático por corte osciló entre un valor mínimo de 1,73 mm³ y máximo de de 129,77mm³. Se obtuvo un volumen hepático de 19.185mm³ (Tabla No 3).

DISCUSIÓN

Estudios con ratones en desarrollo, han encontrado que el hígado embrionario alcanza su tamaño completo aún cuando existe una reducción en el número de células hepáticas progenitoras, se investiga cuáles son los genes involucrados y los mecanismos que determinan su capacidad de división, así como la posible respuesta a señales externas, como la cantidad de azúcar en sangre o la cantidad de oxígeno que recibe el animal. ⁽⁹⁾

Paralelo a estas investigaciones el campo de la morfometría aporta resultados de interés. Numerosos trabajos con la implementación del ultrasonido en tercera dimensión o resonancia magnética, abordan el estudio volumétrico del hígado en diferentes trimestres de la gestación y se postula como una herramienta de utilidad para la predicción de retardo de crecimiento intrauterino, estableciéndose normogramas del volumen hepático a partir de la semana 20. ^(10, 11, 12,13)

En un estudio de 52 embriones humanos correspondientes con los estadios 13 al 23 de Carnegie, mediante resonancia magnética y captura de imagen por episcopio fluorescente, cuyo objetivo fue crear un atlas evolutivo del desarrollo embrionario en el primer trimestre, se especifica que el volumen del hígado aumenta considerablemente entre los períodos 14 y 15 de Carnegie, y del 15 en adelante el hígado ocupa la mayor parte del abdomen. Se detalla que en el estadio 20 la distribución venosa intrahepática se forma a semejanza de la segmentación del adulto, además se especifica la rotación del intestino en el periodo 16, la formación de las curvaturas del estómago en el 17 y la visión del fondo gástrico en el 18. ⁽⁸⁾

Otros autores refieren que el volumen del hígado se incrementa exponencialmente desde el estadio 14 hasta el 23, dicho órgano crece solamente en sentido dorso-ventral y en el eje horizontal hasta el estadio 17, y solo en sentido craneo-caudal entre los estadios 17 y 19, y posteriormente lo hace en todas direcciones. En el estadio 20 la glándula adrenal derecha causa una indentación en la región dorso-caudal del hígado. ⁽¹⁴⁾

Todo lo anterior enmarca el estadio 20 como ideal en nuestra selección del estudio volumétrico del hígado, considerando el grado de diferenciación del órgano y relación con órganos vecinos. A pesar de la riqueza de imagen y la información brindada en los trabajos revisados, no se reporta valores del volumen hepático en el período estudiado, ni contamos con otros trabajos que permitan establecer una comparación de la variable.

La determinación del área hepática embrionaria presentó grandes diferencias entre su valor mínimo y máximo, esto condujo a la aparición de porciones desiguales del mismo en diferentes secciones de la totalidad de los cortes del embrión lo cual resulta lógico teniendo en cuenta el gran volumen del órgano en el período estudiado. Como no encontramos otros reportes de estudio del área hepática embrionaria para este estadio no podemos confrontar este resultado. A pesar de ello el valor de determinar esta variable se justifica porque nos permitió calcular el volumen hepático.

Es de interés, que la distancia máxima anteroposterior y lateral hepática constituyen casi el 50% de las distancias máximas anteroposterior y lateral abdominal del embrión, lo que presumimos guarda relación con el volumen del hígado en esta etapa, medir otras distancias hepáticas como la cráneo caudal y transversa pueden ser de utilidad en trabajos posteriores dada la magnitud y ritmo de crecimiento del órgano. ⁽¹⁴⁾

CONCLUSIONES

Se concluye que el presente trabajo sienta las bases para futuros estudios morfométricos del hígado en etapa embrionaria, mediante el cálculo del volumen, el que por su carácter tridimensional nos brinda mayor información sobre la anatomía cuantitativa hepática. Pensamos además que ampliar el número de especímenes de este estadio permitirá dar mayor validez a este resultado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carlson BM. Bases moleculares del desarrollo embrionario. En: embriología humana y biología del desarrollo. 4ª ed. España: Elsevier; 2009. p. 65-78.
2. Sepúlveda W, Cafici D. Ultrasonido tridimensional en obstetricia. Rev Med Clin Condes [Internet]. 2008 [citado 5 sept 2012];19(3):226-34. Disponible en: www.clinicalascondes.com/area-academica/pdf/MED_19_3/09ULTRASONIDO.pdf
3. [Szymkiewicz Dangel J](#), [Hamela Olkowska A](#), [Własienko P](#), [Jalinik K](#), [Czajkowski K](#). The possibility of evaluation of the myocardial performance index in fetuses at 11, 0 to 13, 6 week of gestation. Ginekol Pol. 2007;78(3):218-22.
4. Del Río Holgado M. Estudio de la respuesta hemodinámica fetoplacentaria en el crecimiento intrauterino restringido. Implicaciones clínicas del "Doppler" del istmo aórtico [tesis]. España: Universidad de Barcelona; 2008.
5. Embryonic Development [Internet]. Australia: The University of New South Wales; 2011 [actualizado 7 jun 2011; citado 6 feb 2012]. Disponible en: <http://embryology.med.unsw.edu.au/wwwhuman/Stages/Stages.htm>
6. Sadler TW. Langman: embriología médica [Internet]. 11ª ed. Buenos Aires: Lippincott; 2010 [actualizado 8 ene 2012; citado 6 feb 2012]. Disponible en: www.qproquo.com/libros/embriologia-medica-11-ed-langman
7. Carlson BM. Formación de las capas germinales y sus primeros derivados. Organización del plan corporal básico del embrión. En: Embriología humana y biología del desarrollo. 4ª ed. España: Elsevier; 2009. p. 85-123.
8. Yamada S, Samtani RR, Lee ES, Lockett E, Uwabe Ch, Shiota K, et al. developmental atlas of the early first trimester human embryo. Dev Dyn [Internet]. 2010 [citado 5 sept 2012];239(6):1585-95. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3401072/>

9. Howard Hughes Medical Institute [Internet]. Estados Unidos: HHMI; 2007 [actualizado 28 ene 2007; citado 6 jun 2010]

Disponible en: <http://www.hhmi.org/news/melton20070128-esp.html>

10. Boito SM, Laudij JAM, Struijk PC, Stijnen Th, Wladimiroff JW. Three-dimensional US assessment of hepatic volume, head circumference, and abdominal circumference in healthy and growth-restricted fetuses. Radiology [Internet]. 2002 [citado 5 sept 2012];223(3):661-5. Disponible en: <http://radiology.rsna.org/content/223/3/661.long>

11. Boito SM, Struijk PC, Ursem NT, Stijnen T, Wladimiroff JW. Assessment of fetal liver volume and umbilical venous volume flow in pregnancies complicated by insulin-dependent diabetes mellitus. BJOG [Internet]. 2003 [citado 5 sept 2012];110(11):1007-13. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470032803025333>

12. Kuno A, Hayashi Y, Akiyama M, Yamashiro C, Tanaka H, Yanagihara T, Hata T. Three dimensional sonographic measurement of liver volume in the small for gestational-age-fetus. J Ultrasound Med [Internet]. 2002 [citado 5 sept 2012];21(4):361-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11934092>

13. Dubé MC, Girard M, Morisset AS, Tchernof A, Weisnagel SJ, Bujold E. Evaluation of fetal liver volume by tridimensional ultrasound in women with gestational diabetes mellitus. J Obstet Gynaecol Can [Internet]. 2011 [citado 5 sept 2012];33(11):1095-8. Disponible en:

http://www.google.com/cu/url?sa=t&rct=j&q=&source=web&cd=2&cad=rja&ved=0CCwQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.jogc.com%2Fabstracts%2Ffull%2F201111_obstetrics_1.pdf&ei=TPVRUNFsxebRAe_7gKgN&usq=AFOjCNHBpR3gw7nIc2YgG2UezlSt8HPCiA

14. Hirose A, Nakashima T, Yamada S, Uwabe C, Kose K, Takakuwa T. Embryonic liver morphology and morphometry by magnetic resonance microscopic imaging. Anat Rec (Hoboken) [Internet]. 2012 [citado 5 sept 2012];295(1):51-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22095951>

ANEXOS

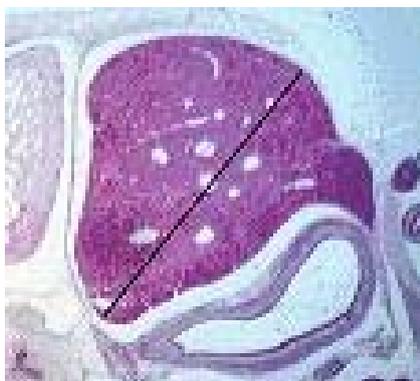


Foto 1. Vista lateral derecha del embrión.



Foto 2 Vista de un corte sagital que muestra el área hepática.



Foto 3. Vista ampliada de la medición del área hepática.

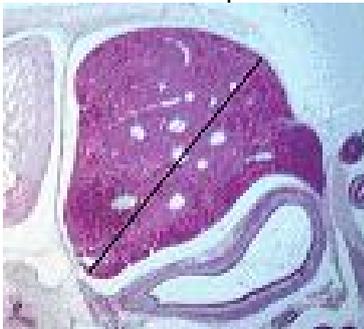


Foto 4. Vista de un corte sagital que muestra distancia máxima antero posterior hepática.

Tabla No. 1 Estadísticos de la variable Área Hepática.

<i>Variable</i>	<i>Válidos</i>	<i>Estadísticos</i>			
AH	282	X	DS	Mínimo	Máximo
		6.8032	2,6986	0.1700	12.9800



Tabla No. 2 Resultado de los diámetros máximos

<i>Variable</i>	<i>Valor</i>
Distancia máxima anteroposterior	4.36 mm
Distancia máxima anteroposterior	2.82 mm

Tabla No. 3 Estadísticos de la variable Volumen Hepático.

<i>Variable</i>	<i>Válidos</i>	<i>Estadísticos</i>				
VH	282	X	DS	Mínimo	Máxim	Suma
		68,0319	26,9867	1,73	129,77	19,185