



11209.
20/84

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

DISOLUCION DE CALCULOS BILIARES MIXTOS
"IN VITRO" CON ASARONA.

Tesis de Postgrado

CURSO DE ESPECIALIZACION EN CIRUGIA GENERAL

DR. ERIC ISMAEL VALDEZ PIMIENTA

DR. JAVIER CESEÑA ARMENTA

HOSPITAL GENERAL "GRAL. IGNACIO ZARAGOZA"

I. S. S. S. T. E.

1 9 8 2

PALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DISOLUCION DE CALCULOS BILIARES MIXTOS " IN VITRO "
CON ASARONA.

UNIDAD 1

INTRODUCCION

UNIDAD 11

EPIDEMIOLOGIA DE LA COLELITIASIS

2.1.- CONCEPTO

2.2.- PREVALENCIA

2.3.- CAMBIOS EN LA INCIDENCIA

2.4.- HERENCIA

2.5.- DIETA

2.6.- OBESIDAD

2.7.- FARMACOS

2.8.- VAGOTOMIA

2.9.- ASOCIACIONES FRECUENTES

2.10.- CANCER DE VESICULA Y COLELITIASIS

UNIDAD 111

PARTICIPACION DE LA VESICULA EN LA FORMACION DE CAL_
CULOS BILIARES

3.1.- ANATOMIA

3.2.- FISIOLOGIA DE LA VESICULA

UNIDAD 1V

FORMACION Y COMPOSICION DE LA BILIS

UNIDAD V

FISIOPATOLOGIA DE LA COLELITIASIS

- 5.1.- TIPOS DE CALCULOS
- 5.2.- CALCULOS DE PIGMENTOS BILIARES Y SU PATOGENIA
- 5.3.- CALCULOS DE COLESTEROL Y SU PATOGENIA
 - A).- BIOQUIMICA DEL COLESTEROL
 - B).- BIOQUIMICA DE LAS SALES BILIARES
 - C).- BIOQUIMICA DE LOS FOSFOLIPIDOS
 - D).- ESTRUCTURACION DE UN CALCULO BILIAR DE COLESTEROL

UNIDAD VI

DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD LITIASICA

- 6.1.- COLELITIASIS SINTOMATICA
- 6.2.- COLELITIASIS ASINTOMATICA
- 6.3.- COLECISTITIS AGUDA
- 6.4.- COLECISTITIS CRONICA
- 6.5.- EXAMENES DE LABORATORIO
- 6.6.- ESTUDIOS RADIOLOGICOS
- 6.7.- COMPLICACIONES

UNIDAD VII

TRATAMIENTO

- 7.1.- ACIDO QUENODESOXICOLICO
- 7.2.- OTROS AGENTES
- 7.3.- ESTUDIOS " IN VITRO "

UNIDAD VIII

NUESTRA CONTRIBUCION EN LA DISOLUCION DE CALCULOS -
BILIARES MIXTOS " IN VITRO CON ASARONA "

8.1.- PLAN GENERAL DE TRABAJO

8.2.- DESCRIPCION DE LA ASARONA

8.3.- TOXICIDAD DE LA ASARONA

8.4.- HIPOTESIS DE TRABAJO

8.5.- MATERIAL Y METODOS EMPLEADOS EN LA DISOLUCION

8.6.- RESULTADOS. ASARONA CON ETANOL AL 20 % POR --
TRES SEMANAS

8.7.- RESULTADOS. ASARONA CON ETANOL AL 35 % POR --
CUATRO SEMANAS

8.8.- CAMBIOS EN EL PESO Y ASPECTO DE LOS CALCULOS

UNIDAD IX

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

UNIDAD X

CONCLUSIONES

UNIDAD I

INTRODUCCION

La colelitiasis representa un problema importante en México y en resto del mundo. Estimaciones actuales indican que en los Estados Unidos de norte América de 16 a 20 millones de habitantes tienen cálculos vesiculares, que cada año se diagnostican 800 000 casos nuevos y que al año se practican 400 000 colecistectomías, lo que representa un gasto de 1 000 millones de dolares .

En el momento actual se sabe que la enfermedad afecta al 40% de las mujeres y al 24 % de los hombres, de más de 40 años, por lo que es necesario destinar esfuerzos y recursos con el fin de aplicarlos en su tratamiento y prevención.

Se ha observado correlaciones de la colelitiasis con numerosos factores como son: Sexo, edad, dieta, obesidad, raza, herencia, multiparidad, ingesta de fármacos, enfermedades interrecurrentes, por lo tanto su desarrollo es multifactorial. Así mismo, mediante el cuadro clínico, datos de laboratorio y gabinete se hace el diagnóstico de esta entidad nosológica. En la actualidad la colecistectomía es el único tratamiento efectivo de la colelitiasis, y aunque la morbilidad no es muy elevada existen reportes de hasta un 10%, por lo que se han ensayado otros métodos con menos riesgo, tales como la disolución de éstos cálculos obteniéndose en algunos casos excelentes resultados como con el ácido quenodesoxicólico en forma de sal sódica. Al observar que solo un pequeño porcentaje de pacientes responde al tratamiento con ácido quenodesoxicólico, las investigaciones -

se han ramificado hacia el uso de diferentes fármacos para el tratamiento de esta enfermedad, basándose en su fisiopatología. Es por ello conveniente que recordemos los factores que influyen en su formación, composición, crecimiento-evolución, implantación de los cálculos biliares.

Nuestra contribución en esta enfermedad consiste en un estudio realizado en el área de cirugía del Hospital general " General Ignacio Zaragoza " del ISSSTE y en el departamento de Bioquímica de la Universidad Nacional Autónoma de México. En un lapso de tiempo de dos años, se sometieron a colecistectomía por colelitiasis 207 pacientes; De los cuales se escogieron al azar los cálculos de 12 de ellos, practicándose disolución " In Vitro " con Asarona (1, 2, 4 Trimetoxy 5 Propenil Benceno) extraída de la corteza de un árbol Yucateco llamado Yumel (Guatteria Gaumeri). Obteniose resultados positivos y abriendo así un nuevo campo en el tratamiento de la colelitiasis.

UNIDAD II

EPIDEMIOLOGIA DE LA COLELITIASIS

2.1.- CONCEPTO

La colelitiasis y la coledocolitiasis son enfermedades que se caracterizan por la formación de concreciones o cálculos en la vesícula o en la vía biliar. Su presencia -- puede pasar del todo inadvertida hasta en el 40 % de los casos, llamados también cálculos silenciosos y algo más frecuente, es la manifestación clínica del dolor tipo cólico -- y localizado en hipocondrio derecho y/o epigastrio, ocasionado por la movilización de los cálculos, o por "enclavamiento" de los mismos en el tercio distal del colédoco y que en ocasiones produce cuadros asociados de pancreatitis y -- puede acompañarse de ictericia, ó infección de la bilis intravesicular que produzca un piocolecisto. Existen tres tipos de cálculos; Donde predomina el colesterol, donde predomina los pigmentos biliares y los mixtos.

2.2.- PREVALENCIA

La frecuencia de la colelitiasis varía entre grupos étnicos. En los Estados Unidos se observa mayor incidencia entre los Pimas, correspondiendo a 73 % de las mujeres y a 30 % de los varones. Datos similares se han encontrado entre los indios Chippewa y navajos en el norte de los Estados Unidos (71, 72). Las tribus Masai en Africa Oriental están prácticamente exentas de ésta enfermedad a pesar de ingerir una dieta rica en grasas y tienen muy poco colesterol sérico (10, 11, 46, 47). En Francia y Alemania es más frecuente que en Inglaterra .

En Suecia la frecuencia es elevada y casi similar a la encontrada en los indios Norte-Americanos, en el Japón la incidencia es elevada, predominando los cálculos de pigmentos biliares y de localización en las vías biliares (2, 9, 10-25, 32, 51). En Africa los cálculos también son de origen pigmentario, en México se estima que el 9 % de la población adulta padece colelitiasis y que cuatrocientas mil personas mueren al año por esta enfermedad o por sus complicaciones, algunos estudios han confirmado una elevada frecuencia de colelitiasis en ciertas familias, no habiendo surgido un patrón sencillo de herencia (10, 11).

2.3.- CAMBIOS EN LA INCIDENCIA

Existe evidencia de que la incidencia de la colelitiasis va en aumento. La idea resulta difícil de consolidar por la carencia de datos confiables hasta hace relativamente poco tiempo. Para fines del siglo XIX, la colelitiasis se demostró en 11.1 % de los autopsiados de 41 a 50 años y en un 25.2 % de los mayores de 60 años. De 1926 a 1949, la incidencia osciló sin cambios significativos. La colecistectomía se practica con frecuencia de un decenio a otro, en Japón ha ocurrido un cambio notable en el patrón de la enfermedad. La incidencia aumentó de 4.4 % entre 1955 y 1961 a 8.3 % entre 1966 y 1967 y el componente predominante que era de pigmentos ha cambiado a colesterol. Un estudio reciente practicado en área de Dundee en Escocia, no pudo demostrar aumento real en la incidencia de colelitiasis entre los períodos de 1902-1909 y 1953-1973, interesante fué des-

cubrir en este estudio que los pacientes epilépticos tienen una mayor incidencia de colelitiasis.

2.4.- HERENCIA

Las observaciones disponibles sugieren pero no confirman, la impresión de una alta incidencia familiar. En efecto, la enfermedad suele ocurrir en varios miembros de la familia, si bien esto puede interpretarse como una expresión de la herencia. En 33 % de los pacientes sometidos a intervenciones del tracto biliar, se puede demostrar que uno de los progenitores padece enfermedad biliar y hasta 72 % de los consanguíneos tienen colecistopatía. Para algunos observadores la predisposición a la colelitiasis está poligénicamente determinada, tal vez como dominante ligada al sexo. Los cambios en la composición de la bilis que acompaña a la colelitiasis se encuentra casi siempre en los gemelos de los pacientes con colelitiasis (7, 17, 46). También se ha observado que la colelitiasis es más frecuente en el grupo sanguíneo A y menos frecuente en O.

Desde tiempo atrás se ha considerado que la colelitiasis predomina en los grupos económicamente poderosos y con ocupaciones sedentarias (22, 41) .

2.5.- DIETA

La dieta actual en los países occidentales es rica en colesterol y grasas saturadas, abundante en carbohidratos de utilización rápida, el contenido de fibras digeribles es mínimo. El aporte calórico global suele propasar con mucho las necesidades de la economía (1, 5, 7). Las -

dietas hipercalóricas y/o hiperproteicas aumentan la litogenicidad de la bilis. La bilis de los pacientes obesos sin colelitiasis es litogénica. La colelitiasis experimental en animales se logra con cambios en la dieta (14, 17). El colesterol cuando se ministra marcado radiactivamente en la dieta, puede recogerse de los cálculos biliares (29, 30).

En el perro la ministración de una dieta rica en colesterol determina al cabo de dos a tres meses cálculos biliares de colesterol, precedidos por cambios litogénicos en la bilis, encontrándose resultados similares en el primate y el cobayo. La excreción biliar de colesterol es independiente de la de sales biliares y fosfolípidos. De hecho, la interrupción enterohepática, produce mínimo, si es que algún efecto en la eliminación biliar de lípidos, no obstante que ocurra un acusado descenso en la excreción biliar de fosfolípidos y sales biliares (33, 34) . Esto parece ser esencial ya que si aumenta el colesterol de la dieta y este pasa en mayores volúmenes a la bilis, sin el correspondiente aumento de los factores que lo solubilizan (sales biliares y fosfolípidos) la litogenicidad de la bilis aumenta.

Se sabe que la síntesis de colesterol es proporcional al peso corporal, por lo que se eleva en obesos, en ellos la excreción fecal de esteroides excede en mucho a los normales. Así mismo en el indio americano todo sugiere que existe un defecto metabólico que obstaculiza la conversión de colesterol a sales biliares.

Los carbohidratos en la dieta actual y sobre todo en la mexicana aportan del 20 % al 50 % del valor energético .

El consumo de azúcar por persona al año se estima en -
tre 50 Kgr. (59, 81) . Por lo que se afectan los componen-
tes de la bilis ya que aumenta la síntesis de colesterol, -
disminuye la circulación enterohepática de sales biliares y
se abate la síntesis de fosfolípidos teniendo como consecuen-
cia una bilis litogénica.

Las grasas. Existen controversias en relación con el -
posible papel litogénico de las grasas. En la India se ha -
observado que los habitantes más afectados por la enferme-
dad reciben dietas significativamente más ricas en grasas -
de tipo saturado y abundante en ácidos grasos de cadena cor-
ta. En contraposición está la observación de que entre los-
esquimales, quienes consumen dietas riquísimas en grasas, -
practicamente no existe la colelitiasis. Los ácidos grasos-
merecen especial atención, sobre todo aquellos insaturados.
El ácido araquidónico es un precursor de las sales biliares
y aumenta la capacidad de la bilis para mantener el coleste-
rol en solución, posiblemente como consecuencia de lo ante-
rior. El ácido linoleico al adicionario con piridoxina com-
parte las propiedades del anterior.

Las fibras no absorbibles, normalmente proceden de los
vegetales, están constituidos principalmente de celulosa, a
vez formada de pentosas, hemicelulosas, lignina, y pectina.
Las dietas libres de fibras inabsorbibles influyen marcada-
mente en la síntesis de sales biliares en animales y en el
hombre (26, 37), el efecto de éstas fibras no está del to-
do comprobado pero se cree que su efecto de acción radica a

nivel de circulación enterohepática de sales biliares, ya que la celulosa y la lignina tienen la capacidad de fijar sales biliares y con ello retenerlas a la luz del intestino, además al hacer el bolo fecal más voluminoso, aceleran el tránsito intestinal, disminuyen el tiempo de absorción promoviendo de esta manera la excreción fecal de sales biliares por lo que el hígado sintetiza más a partir del colesterol siguiendo un estímulo de retroalimentación. Por lo tanto los niveles de colesterol disminuyen en sangre y bilis, haciendo la bilis menos litogénica.

2.6.-OBESIDAD

La obesidad " Per se " se ha considerado un factor importante en la litogénesis (27). Los obesos tienen una mayor frecuencia de colelitiasis que las personas que se encuentran dentro de su peso normal. En los obesos la síntesis, secreción biliar y excreción fecal de colesterol suelen ser mayores que las personas de peso normal, atribuyéndose a una mayor ingesta de colesterol.

2.7.- FARMACOS

Existe un riesgo de 2.5 veces mayor de colelitiasis en mujeres postmenopáusicas que reciben estrógenos y un riesgo dos veces mayor en mujeres que ingieren tabletas anticonceptivas en comparación con las mujeres que no las consumen (11). Los resultados de las investigaciones de los medicamentos para enfermedad coronaria (Coronary Drug Project) señalan una mayor frecuencia de cálculos vesiculares en personas que ingieren clofibrato (11). Al parecer la-

ingestión de estrógenos conjugados, la combinación de estrógenos y progestágenos y el clofibrato aumentan la saturación del colesterol, en relación con los ácidos biliares y fosfolípidos (52), en el ser humano.

2.8.- VAGCTOMIA

Se postula que la vagotomía favorece la formación de cálculos por retardar el vaciamiento vesicular, originando con ello estasis. Aún más comenta Fletcher que la vagotomía altera la secreción de lípidos biliares por el hígado lo cual tiende a disminuir la capacidad solubilizadora de colesterol.

En fecha reciente, Wilbur y cols. pudieron inducir la formación de cálculos biliares en perros sometidos a vagotomía troncular. Sin embargo no se estudiaron los cálculos en cuanto a su contenido de colesterol ni tampoco la bilis estuvo saturada, con base a los criterios de Admirand y Small.

Existe un reporte de 116 pacientes sometidos a vagotomía y antrectomía por enfermedad ulcerosa y el 32 % presentó colelitiasis (29).

2.9.- ASOCIACIONES FRECUENTES

La asociación sindrómica: Colelitiasis, obesidad, hipertensión, diabetes, es un hecho reflejado frecuentemente en la clínica. Algunos tipos de hiperlipidemias se asocian con la formación de cálculos biliares, pancreatitis y otras alteraciones en el metabolismo de los lípidos (1, 17, 18, 56, 57, 58, 59). Los pacientes cirróticos desarrollan co -

lelitiasis con mayor frecuencia que los controles (55).

Como recordatorio debemos tener presente las cuatro --
" F " : Female, Fertility, Fat, Forty.

2.10.- CANCER DE VESICULA Y COLELITIASIS

Los tumores de la vesícula biliar tienen una frecuencia menor del 1 % , pero se ha observado que aumenta la incidencia en pacientes con colelitiasis. Existen reportes de 3.7 % de Ca de vesícula en varones y 9.3 % para mujeres con colelitiasis, y por arriba de los 60 años. Es posible que la presencia de un cálculo en la vesícula, favorezca el desarrollo de cancer; pero también surge la posibilidad de que la neoplasia, promueva por estancamiento el desarrollo de un cálculo. Las sales biliares pudieran ser también cancerígenas; su similitud química con el metilcolantreno, de conocido efecto oncogénico es bien clara. Esta substancia produce cáncer de la vesícula al insertarse en los gatos. No es suficiente la información existente para apoyar la colecistectomía profiláctica.

UNIDAD III

PARTICIPACION DE LA VESICULA EN LA FORMACION
DE CALCULOS BILIARES

3.1.- ANATOMIA

La vesícula biliar es un órgano de forma piriforme, de longitud variable, en promedio de 3 a 10 cm, con una capacidad de 30 a 60 cc, consta de: Cuerpo, fondo y cuello. Se encuentra recubierta de peritoneo que la mantiene en contacto con el hígado, el cuello tiene una dilatación postero-interna llamada bolsa de Hartman. Además de la serosa tiene una capa fibromuscular y mucosa, formando múltiples criptas y glándulas llamadas de Luschka cuya función principal es sintetizar grasas.

La vesícula se encuentra irrigada por la arteria cística, la cual es rama de la arteria hepática derecha, el drenaje venoso se efectúa por medio de la vena cística a la porta y por venas superficiales que drenan a la misma. El sistema linfático que junto con el cístico, hepático, celíaco, colédoco, terminan en la cisterna de Pecquet.

La inervación esta dada por el simpático a través del esplácnico y por el parasimpático a través de los vagos. La anatomía microscópica está basicamente formada por la mucosa que tiene células en forma de "copas" que durante la absorción, los espacios que los separan se encuentran dilatados, siendo esto característico de un epitelio eminentemente de absorción, la muscularis de la vesícula es similar a la muscularis de intestino por lo que juega un papel impor-

tante en la absorción de la vesícula.

En el perro, después de la vagotomía troncular, ocurren cambios degenerativos en el 50% de los axones subserosos en - 25% de los axones intermusculares y en 10% en las áreas sinápticas neuromusculares. También se han observado cambios degenerativos en las arterias después de la extirpación del ganglio celíaco. Por último, el lecho vascular, los conductillos biliares y la mucosa sugieren que son tejidos involucrados -- en el transporte, así como su rica innervación.

El sistema de conductos extrahepáticos se encuentra formado por el conducto hepático común resultado de la confluencia de ambos hepáticos, derecho e izquierdo, mide de 4 a 5 cm de longitud y 0.5 cm de calibre, El conducto cístico mide de 3 a 5 cm de longitud por 3 mm de calibre, formando en su interior por medio de pliegues las válvulas de Heister, que terminan en espiral en la unión con el colédoco. Una de las importancias quirúrgicas de estos conductos es de que forman parte del triángulo de Calot, en donde se encuentran el ganglio cístico y más importantemente la arteria cística. El colédoco mide 8 cm de longitud en promedio y hasta un cm de diámetro como máximo, se distinguen cuatro porciones: La supraduodenal, retroduodenal, infraduodenal y la intraduodenal, terminando finalmente en la ampolla de Vater a nivel de la cara posterointerna de la segunda porción del duodeno.

3.2.- FISIOLOGIA DE LA VESICULA

La vesícula tiene dos importantes funciones en la fisiología del tracto biliar que son: La concentración de la bilis y el vaciamiento dentro del duodeno en un tiempo considerable después de la ingesta de alimentos. La vesícula tiene una capacidad de 40 a 50 cc. La diferencia en la composición de la bilis hepática y la vesicular es de que ésta ha perdido el 90 % de agua y ha sido reabsorbida. Así mismo, la vesícula puede almacenar alrededor de 3 gramos de ácido cólico, el cual es el equivalente del de la reserva total de ácidos biliares. La extirpación de la vesícula produce cambios en el organismo sobre todo la capacidad para digerir grasas, aunque no se ha observado un incremento en la heces fecales. El transporte de la vesícula es un movimiento de agua y electrolitos, se ha observado en el conejo que una solución isotónica de cloruro de sodio fué transportado de la mucosa a la serosa en presencia de potencial eléctrico mínimo (56), siendo el mecanismo de transporte difusión pasiva. Los fosfolípidos también se absorben en la vesícula; en un período de 5 horas se absorbió del 12 al 20 % de lecitina en estudios realizados en el cerdo de nueva guinea. Así mismo una gran cantidad de lisolecitina fué absorbida, pero alrededor del 70 % fué recuperada como lecitina en la pared de la vesícula. La absorción de colesterol ocurrió en cantidad mínima. Otra función de la vesícula es de que acidifica la bilis por mecanismos no conocidos y también mantiene presiones bajas en el tracto biliar.

El vaciamiento de la vesícula dentro del duodeno, ocurre por contracción de la vesícula y relajación del esfínter de Oddi, en el humano el hígado puede secretar bilis contra una presión de 29 a 39 cm de agua, el esfínter de Oddi cede ante una presión de 9 a 23 cm, aunque usualmente es de 12 a 15 cm.

La presión de la vía biliar después de la colecistectomía es de 4 a 16 cm de agua, la presión del cístico es de 1 a 8 cm de agua, la presión de la vesícula biliar al cístico se encontró de 11 a 20 cm de agua como resistencia y la resistencia de la unión coledocoduodenal se encontró de 6 a 22 cm de agua.

El control del vaciamiento de la vesícula biliar se lleva a cabo por acción de una hormona llamada Colecistocinina--pancreatozimina (cck-pz) la cual se encuentra formada por 33 aminoácidos y al parecer actúa sobre las fibras musculares de la vesícula y del esfínter de Oddi y sobre el páncreas causando la secreción que contiene las enzimas pancreáticas. La cck-pz es secretada por las células mucosas del intestino delgado alto (duodeno), siendo el principal estímulo para su secreción la presencia en el duodeno de ácidos grasos que tengan más de 10 átomos de carbono. Su secreción también se ha visto incrementada por triptofano, fenilalanina, calcio e hidrógeno. Otras funciones de la cck-pz es aumentar la acción de la secretina para producir un jugo pancreático alcalino, también inhibe el vaciamiento gástrico, ejerce un efecto trófico sobre el páncreas, aumenta la acción de la enterocinasa y puede reforzar la motilidad de intestino delgado y colon.

La acción de la acetilcolina sobre la contracción de la-

vesícula ha sido ampliamente discutida, por ejemplo cuando se estimula electricamente el tronco vagal derecho en el gato, por un lapso de 10 minutos, se encontró que aumentó la presión dentro de la vesícula y hubo un incremento de la cck-pz, por lo que concluye que existe una interacción neurohumoral. Así mismo se ha observado que aumenta el tamaño de la vesícula despues de la vagotomía troncular y disminuye - en un 80 % la contracción de la vesícula despues de inyectar cck-pz. Así mismo se ha reportado que de 116 pacientes con úlcera peptica sometidos a vagotomía y antrectomía el 23 % presentaron colelitiasis, siendo este campo todavía bastante fértil en cuanto a investigación se refiere.

UNIDAD IV

FORMACION Y COMPOSICION DE LA BILIS

La formación de la bilis se lleva a cabo en el hepatocito, célula cuyo funcionamiento aún no se encuentra del todo comprendida, tiene la forma de un dodecahedro y mide alrededor de 25 micras como diámetro promedio. Las modificaciones estructurales básicas comparadas con el animal primitivo son pocas; a pesar de lo sofisticado y capacidad de funcionamiento. La secreción diaria de bilis por el hígado es alrededor de 500 cc en 24 hrs, la cual se acumula en grandes cantidades en la vesícula biliar y se concentra mediante la absorción de agua. Solo se almacena en la vesícula biliar la cantidad equivalente de dos días de secreción. La bilis se compone de cuatro sustancias de las cuales son principalmente: Agua, colesterol, pigmentos biliares y sales biliares. El agua comprende el 97% y las sales biliares del 1% al 2% de la bilis hepática, el resto se encuentra constituido por pequeñas cantidades de pigmento biliar, colesterol, ácido glucurónico, grasas, jabones, ácidos grasos, lecitina, sulfato soluble e insoluble, fosfatos, mucina, albúmina, gamma-globulina y otras proteínas plasmáticas.

Las sales biliares excretadas se componen principalmente de sales sódicas, de ácido cólico, este último puede hallarse como ácido taurocólico ó glicocólico en su forma ya conjugada, los ácidos biliares son importantes ya que son los que mantienen el colesterol en solución.

En la bilis hepática, además se observan muchas otras sustancias las cuales también se encuentran presentes en la

sangre tales como: Estrógenos, andrógenos, vitaminas A B C, - algunos elementos del complejo "E" y vitamina K. En la vesícula normal, durante la concentración se absorben ciertos - elementos constituyentes como: Agua, cloruros y bicarbonato, están relativamente aumentadas las sales y pigmentos biliares, ésto produce una bilis con un Fh de 7 a 7,4. En las vesículas enfermas este proceso se halla invertido y la bilis tiende a ser alcalina, lo cual se debe a un incremento de - agua, cloro y bicarbonato, con disminución de los ácidos biliares y pigmentos lo cual altera la proporción de sales biliares y colesterol, que desempeña un papel importante en la precipitación de colesterol y la formación de cálculos. - por último tenemos que el flujo de la bilis desde los conductos hepáticos a la vesícula biliar, está sometida a muchas - influencias que activan o retardan su progresión (48).

UNIDAD V

FISIOPATOLOGIA DE LA COLELITIASIS

5.1.- TIPOS DE CALCULOS

Hasta hace poco tiempo la clasificación de los cálculos biliares se basó en aspectos morfológicos. Los estudios analíticos, utilizando procedimientos químicos y cromatográficos - son de valor muy limitado, por la incapacidad de solubilizar todos los componentes de la piedra. Un avance definitivo se ha logrado con técnicas de espectroscopia con rayos infrarrojos y difracción de rayos X .

Las piedras varían en su composición dependiendo del área geográfica. En Suecia, Alemania y Australia son muy parecidos. En Sudáfrica contienen mucho menos colesterol y más carbonato. En Kuwait las piedras tienen gran cantidad de palmitato de calcio y en la India un exceso de fosfato de calcio. No existen diferencias en relación con la edad, pero sí con el sexo: Las mujeres tienen más colesterol; los hombres, mucho más palmitato de calcio y algo más de carbonato de calcio. La clasificación de los cálculos visualmente permite diferenciar cálculos pigmentarios, de colesterol ó mixtos. Este procedimiento parece ser valioso según se confirma por estudios químicos (?) con lo que se puede demostrar que los cálculos llamados mixtos llegan a contener hasta 70% de colesterol. El colesterol se puede encontrar en cualquiera de sus tres formas: Monohidratado, anhídrido y como colesterol II ; el carbonato de calcio (valerita, argonita, calcita) constituye 15% de peso seco de la piedra, mientras que el palmitato de calcio 6%. 0 --

tros compuestos pueden encontrarse en proporciones menores: - Apatita, cloruro de sodio y ácido palmítico.

Estudios recientes con técnicas de difracción de rayos X (4,10) han ayudado a clasificar las piedras por sus componentes cristalinos orgánicos e inorgánicos. Como los cálculos pigmentarios contienen más de la mitad de sus elementos en forma no cristalina, (11) su análisis por este método es incompleto. Mayor utilidad tiene en estos casos la espectroscopia con rayos infrarrojos, que no requiere cristalización (3) .

Las piedras pigmentarias pueden dividirse de acuerdo con la presencia ó ausencia de carbonato de calcio. Contienen, además, metales pesados, proteínas, fosfatos de calcio y magnesio carbonatos y sulfatos, jabones de ácidos grasos. Su contenido de bilirrubina (7%), sales biliares (3%) y colesterol(2%) es bajo(?). Más de la mitad del peso de la piedra es de compuestos insolubles en solventes orgánicos. La composición exacta de las piedras pigmentarias no se conoce del todo. Esto es -- particularmente cierto en las piedras amorfas negras. El Pigmento en su gran mayoría es bilirrubinato de calcio, pero también otros pigmentos pueden ser importantes. Destacan polímeros polipirrólicos (15), complejos de bilirrubina-metales; derivados del grupo heme, excretados por la bilis en estados hemolíticos (17,18) y los pigmentos que se acumulan en el hígado durante la esquistosomiasis. Los cálculos puros de colesterol probablemente no existan; estudios recientes han demostrado que contienen cantidades variables de calcio, magnesio, fosforo, aluminio, cobre, sodio y titanio (12). El origen -

de estos compuestos y la forma como alcanzan la bilis se desconoce. Se sabe que son constituyentes de buena cantidad de productos farmacéuticos que suelen tomar los pacientes con síntomas abdominales.

En términos generales y con fines de simplificar la exposición, podemos dividir las piedras en puras de colesterol, pigmentarias y mixtas. Las piedras mixtas de colesterol constituyen el 80% de los cálculos biliares. Rara vez son mayores de dos centímetros; pueden ser múltiples, redondas ó fascetadas, como resultado de la presión ejercida por las piedras adyacentes. Su superficie puede ser lisa y rugosa. Si contienen calcio pueden ser radiopacas. Por ejemplo, en la radiografía simple de abdomen las piedras pueden verse con más frecuencia en Japón que en Estados Unidos, por su mayor contenido en sales de calcio.

Las piedras " puras " de colesterol representan 10% de todas ellas, Su tamaño llega hasta cuatro centímetros y son redondas, de superficie nodular o lisa. Usualmente son solitarias. Como no contienen calcio, no suelen observarse radiológicamente en estudios simples de abdomen.

Las piedras pigmentarias constituyen el 10% restante de las piedras humanas. Suelen ser múltiples, de color oscuro y comúnmente negras, pequeñas, irregulares y duras. Son radiopacas en 10% de los casos.

Las diferencias radiológicas no parecen tan simples como tradicionalmente se menciona. El interés en su identificación radiológica ha crecido desde que existe el tratamiento farmacológico, con ácido quénico.

Se afirma, que el procedimiento es eficaz en el caso de cálculos radiolúcidos, presumiblemente de colesterol. Sin embargo, en un estudio retrospectivo y otro prospectivo, se ha demostrado que del 14% al 20% de los cálculos radiolúcidos son pigmentarios. Estos datos podrían explicar el fracaso del tratamiento con ácido quénico, útil solo en litiasis mixtas de - colesterol, que alcanza en algunas series 33%.

Por otro lado se han intentado distinguir radiológicamente los cálculos pigmentarios radiolúcidos de aquellos de colesterol. Se ha dicho que los primeros demuestran contornos irregulares, pérdida de las fascetas y ausencia de flotación.

La opacidad de las piedras depende de su contenido de calcio y metales mayores. Las piedras opacas contienen más de 4% de calcio de su peso seco, mientras que las lúcidas contienen una proporción siempre inferior. Por esto, dos terceras partes de los cálculos radiopacos son pigmentarios, ya que su contenido cálcico es alto.

5.2.- CALCULOS DE PIGMENTOS BILIARES Y SU PATOGENIA

En notable contraste con el avance de los últimos años en el entendimiento de la génesis de cálculos de colesterol, - la patogenia de la formación de un cálculo pigmentario ha permanecido poco menos que ignorada. La bilis de los enfermos con litiasis pigmentaria, cuando se compara con la de aquellos con piedras mixtas o puras de colesterol, suele revelar diferencias muy notables (52). En efecto, su contenido de colesterol es menor, aunque igual en lo concerniente a sales biliares fosfolípidos, bilirrubina total y total de sólidos (53). La

relación de sales biliares más fosfolípidos: Colesterol es -- significativamente mayor, pero muy parecida a la encontrada - en sujetos sin cálculos (53,54). Estos estudios y otros --- sostienen que el problema durante la litogénesis de cálculos pigmentarios, no radica en la saturación biliar con colesterol. Las relaciones de sales biliares trihidroxiladas : Dihidroxiladas y glicino: Taurino conjugadas, están abatidas en pacientes con litiasis (54,55). El significado de esta anomalía y su importancia patogénica no se conoce.

Los cálculos pigmentarios son frecuentes en pacientes -- con hemólisis, obstrucción y estasis biliar (62,66). También los sujetos cirróticos suelen tener litiasis de este tipo con mayor frecuencia (67,68). Los estados hemolíticos determinan una excreción anormal de bilirrubina y esto ha sido considerado como la explicación fisiopatogénica. Algunos estudios han demostrado elevación del pigmento en la bilis vesicular de estos pacientes. Es posible que la sustancia en efecto se eleve en la bilis y que la diferencia de resultados obedezcan al tipo de muestra analizada, ya que en la vesícula la bilis se estratifica por capas cuyo contenido de pigmento varía considerablemente (37).

La gran mayoría de los pacientes con cálculos pigmentarios tienen concentraciones elevadas de bilirrubina no conjugada en su bilis vesicular. En condiciones normales la bilis contiene discretas cantidades del pigmento no conjugado, que oscilan en el orden del 0.5 al 15 %, aunque estimaciones corregidas arrojan valores del orden de 1%. Su concentración -

puede aumentar dramáticamente en circunstancias como la fototerapia o la ministración endovenosa de hemoglobina o bilirrubina. Como esta forma de bilirrubina es prácticamente insoluble en soluciones acuosas, ha sido fácil suponer que esta sea la causa de la litiasis y que su excreción, aumentada en estados hemolíticos, obedezca a un aumento de excreción. Sin embargo, los análisis correspondientes revelan el contenido de este tipo de bilirrubina en la bilis es del orden del 3 %.

Es interesante analizar los factores que participan en la solubilidad de la bilirrubina no conjugada en condiciones normales. En el agua puede solubilizarse apenas 0.1 mgr. de bilirrubina por cada 100 cc, mientras que en la bilis puede mantenerse en solución hasta 2 mgr. en el mismo volumen. Esto sugiere que en la bilis existen sustancias que favorecen la solubilización del pigmento. Es posible que las sales biliares participen.

El mecanismo íntimo de solubilización no se conoce, pero desde luego, no parece ser micelización ya que se demuestra también con sales biliares que no forman micelas, como el taurodehidrocolato y dehidrocolato. El papel de otras -- sustancias solubilizadas, como fosfolípidos y diglucorónidos, se ha sugerido pero no demostrado en forma clara.

Es posible que el origen de la bilirrubina no conjugada que se encuentra en la vesícula, derive de la hidrólisis de la bilirrubina conjugada normalmente presente en la vesícula.

Estudios in vitro han demostrado que la hidrólisis ocurre hasta en un 40 % de los pacientes con cálculos pigmentarios, pero no en aquellos normales (72). Esta reacción que implica la transformación de bilirrubina conjugada con ácido glucurónico, en bilirrubina libre, no ocurre en forma espontánea--sino en presencia de una enzima: Beta glucuronidasa. Esta enzima se ha demostrado en la bilis de pacientes con litiasis, pero no en normales. Su origen pudiera ser vesicular, hepático, o bacteriano y aumenta en presencia de colestasis (46,47) o de daño de epitelio vesicular. La E. coli y Ascarides Lumbricoides, también pueden reproducir la enzima. Es interesante resaltar que en países donde la litiasis pigmentaria es frecuente, la infección por E. Coli en la bilis parece ser común. por último, un compuesto, glucaro-1,4-lactona, que bloquea la actividad de la enzima, evita la precipitación de bilirrubinato de calcio.

Una vez libre en la bilis, la bilirrubina no conjugada, se piensa, debe combinarse con calcio para precipitar como bilirrubinato de calcio. Siendo este compuesto dominante en las piedras pigmentarias. Es posible que la concentración de calcio biliar sea un factor importante. Aunque el contenido total de calcio ionizado en la bilis no se conoce, el calcio total es normal en estos pacientes, de no existir inflamación o trastornos en su motilidad, circunstancias en las que aumenta. Tanto la bilirrubina libre como el bilirrubinato de calcio son menos solubles en presencia de Ph bajo. Esta circunstancia pudiera responsabilizarse de la litogenia, toda vez que ocurre

en la vesícula durante el proceso de concentración normal, aunque no se hayan demostrado diferencias en este sentido entre bilis de pacientes con y sin cálculos (97). Durante la inflamación, o con la obstrucción de la vesícula el Ph disminuye, al igual que en las vesículas no funcionantes. Es posible que también la inflamación contribuya al permitir absorción preferencial de sustancias solubilizadoras.

El papel exacto de la infección es difícil de precisar. Del 5 al 10% de cultivos de bilis con piedras desarrollan bacterias y 1% hongos.

Escherichia Coli predomina en los cultivos de pacientes orientales con cálculos pigmentarios, aunque se puede demostrar, cada vez con menos frecuencia, Salmonella Typhi y coliformes (53,54). Los actinomicetos se aíslan en ocasiones de bilis y piedras(55,56).

El papel de conjugados de bilirrubina en la litogénesis no se conoce. Normalmente los conjugados dominantes son glucuronidos y en menor grado xilósidos y sulfatos. Estos últimos aumentan durante la colestasis, intra o extrahepática, o en el daño hepatocelular, donde también aumentan otros azopigmentos. La bilis de pacientes con piedras suele presentar estos mismos cambios en el patrón de conjugación aunque se desconoce si presentan un efecto y no la causa. Los monoconjugados de bilirrubina constituyen cerca del 40% de conjugados en la bilis normal (15, 17) y aumentan también en las circunstancias mencionadas, sin que su papel litogénico se conozca .

5.3.- CALCULOS DE COLESTEROL Y SU PATOGENIA

En la gran mayoría de las civilizaciones occidentales incluyendo México, predomina este tipo de cálculos (5, 10,- 27). Por tal motivo se hará una revisión de los lípidos biliares: Colesterol, ácidos biliares y fosfolípidos.

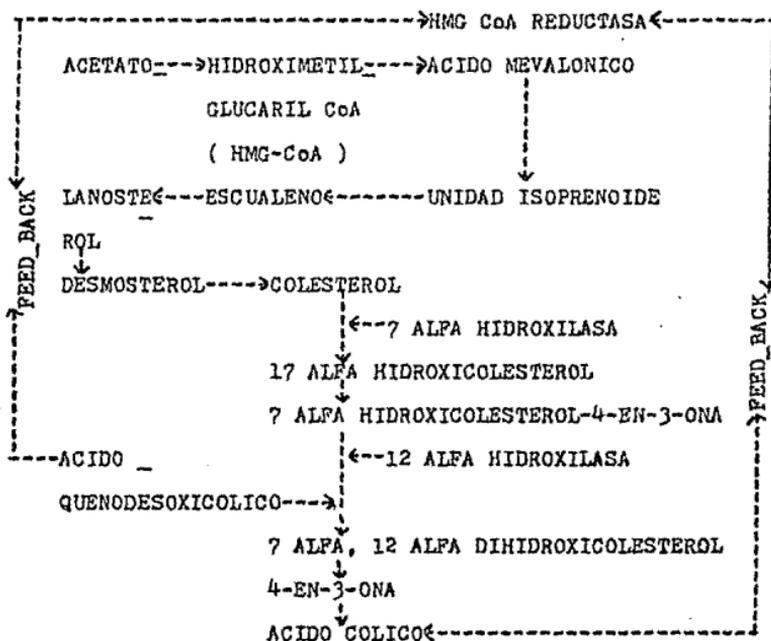
A.- Bioquímica del Colesterol.

Todos los tejidos del organismo humano son capaces de sintetizar colesterol en grado variable, a partir de acetato, algunos con gran actividad biosintética como el hígado y el intestino, otros con menor capacidad como el sistema nervioso central y el tejido placentario. Para degradarlo, son muy escasos los órganos o tejidos que pueden hacerlo, ocupando el primer lugar el hígado, que es responsable de la transformación de un 80 a 90% del colesterol en ácidos biliares. El intestino principalmente el ileon también contribuye al catabolismo del colesterol al excretarlo hacia la luz intestinal-- donde en parte puede ser transformado en coprostanol y coprostanona por la acción bacteriana (17).

El colesterol sanguíneo es fácilmente medible y su valoración es utilizada frecuentemente como un indicador del estado que guarda la llamada " poza " de colesterol altamente intercambiable. Del colesterol plasmático cuando menos dos terceras partes se encuentran formando ésteres con ácidos grasos generalmente de tipo insaturado que provienen de la posición 2 de la fosfatidil colina (Lecitina) (17). El colesterol es típicamente un producto del metabolismo animal.

La síntesis y el metabolismo del colesterol se exponen

en el siguiente esquema.



Hay una variación entre las especies animales en cuanto a la importancia relativa del hígado como fuente de colesterol endógeno. En el hombre, la síntesis extrahepática, principalmente en el intestino, es más importante; mientras que en el perro y la rata el hígado es el responsable de la mayor parte de la síntesis del colesterol. La enzima que rige la rapidéz de la síntesis del colesterol es la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA reductasa), que reduce HMG-CoA a mevalonato. El colesterol, una vez sintetizado, se secreta sin esterificar en la bilis. La

secreción selectiva en la bilis a partir de un subfondo común microsómico específico ha sido propuesta como un mecanismo que explica la producción de colesterol, al igual que ha sido sugerida para la lecitina (1, 11, 17, 49). La administración de insulina o de hormona tiroidea incrementa la actividad de la enzima HMG-CoA reductasa, en tanto que el glucagón o los glucocorticoides la reducen (52,53).

El colesterol en el interior del intestino es una mezcla de las formas libre y esterificada proveniente de los alimentos y de la producción endógena (bilis, secreciones intestinales y células exfoliadas de la mucosa del intestino). El colesterol esterificado en el intestino es hidrolizado hasta colesterol libre por la esterase pancreática de colesterol. El colesterol libre sigue dos caminos: 1.- Se excreta en las heces en forma de esteroles neutros; 2.- Se solubiliza en micelas mixtas de ácidos biliares y fosfolípidos; Se absorbe, se reesterifica, se dispone en quilomicrones y al final, parte del mismo regresa al hígado. El colesterol en el hombre se absorbe a todo lo largo del intestino delgado, pero más bien en el duodeno y zona superior del yeyuno. El hombre normalmente absorbe 40% de colesterol de los alimentos, pero se ha estimado que el límite superior de la absorción diaria de este compuesto es de 600 mg a 1000 mg al día. Los niveles de colesterol en el plasma son normalmente 200 mg/100 ml como promedio, que aumentan con la edad y más del 50% se encuentra esterificado. De los factores que bajan el colesterol sanguíneo, la sustitución en la dieta de algunos ácidos grasos, por ácidos grasos poliinsatu

rados, ha sido uno de los factores más intensamente estudiados. Los aceites que contienen un porcentaje mayor de ácido linoléico son útiles para bajar el colesterol sanguíneo tales como: cacahuete, aceite de algodón, maiz y cartamo, -- mientras que las grasas más saturadas como la mantequilla y el aceite de coco elevan el nivel .

Se conocen varios fármacos que bloquean la formación de colesterol en varias etapas de la ruta biosintética. El sistosterol es un agente hipocolesterolémico que actúa bloqueando la esterificación del colesterol en el sistema gastrointestinal, reduciendo por lo tanto la absorción del mismo. Los medicamentos que aumentan la excreción fecal de colesterol y ácidos grasos biliares incluyen: La dextrotiroxina, neomicina, clofibrato. la colesteramina evita la resorción de sales biliares y al combinarse con ellas aumentando por consiguiente su pérdida fecal. El clofibrato actúa inhibiendo la síntesis hepática de colesterol. El ácido nicotínico y los estrógenos son también hipocolesterolémicos.

Se sabe que la regulación del metabolismo del colesterol es controlada en forma parcial por un sistema de retroalimentación negativa. El colesterol proveniente de los alimentos inhibe preferentemente la síntesis hepática de este compuesto, pero este efecto es mucho menor sobre la síntesis intestinal.

Los ácidos biliares aumentan la absorción de colesterol en el intestino, disminuyendo por consecuencia de manera indirecta la síntesis de colesterol. Se ha sugerido un efecto directo de los ácidos biliares en la HMG-CoA reductasa, pero

éste no se ha comprobado (10, 11, 51).

La ministración de ácido quenodesoxicólico a los sujetos con cálculos vesiculares disminuye la actividad de la HMG-CoA reductasa.

B.- Bioquímica de los ácidos biliares.

Los dos ácidos biliares principales son el ácido quenodesoxicólico (quénico) y el ácido cólico. Su síntesis es básicamente intrahepática y comienza en la fracción microsómica, por la 7-alfa-hidroxilación del colesterol; la enzima que rige la reacción para que el colesterol se transforme en ácidos biliares primarios es la 7-alfa-hidroxilasa del colesterol. Mayores modificaciones del núcleo y de la cadena lateral completan la síntesis de los ácidos biliares primarios, y después son conjugados con taurina y glicina. Los ácidos biliares conjugados se secretan en las vías biliares, se almacenan en la vesícula y terminan por ser expulsados al duodeno por contracción de la vesícula, mediada por la cck-pz, en respuesta a la llegada de los alimentos.

Una vez en el intestino, un pequeño porcentaje de los ácidos biliares conjugados se absorben en forma pasiva a lo largo del yeyuno y el íleon, pero casi el 80% es absorbido de manera activa en el íleon terminal. El resto de los ácidos biliares es desconjugado por bacterias en la porción distal del íleon y en el colon. Alguna parte de los ácidos biliares primarios desconjugados se absorben en el colon - principalmente, el resto sufre 7-alfa-deshidroxilación para formar los ácidos biliares secundarios, litocólico (prove

niente del ácido quenodesoxicólico) y el desoxicólico (proveniente del ácido cólico) (37, 42). En el cólon se absorben parcialmente por difusión pasiva los ácidos biliares secundarios, y al llegar al hígado se conjugan con taurina o glicina y son secretados por la bilis. El ácido litocólico es sulfatado en el hígado, lo cual lo vuelve menos tóxico y más soluble. En animales que no pueden sulfatar suficiente ácido litocólico se ha demostrado que la ministración oral de los ácidos quenodesoxicólico o litocólico induce hepatotoxicidad, como en el caso del mono Rhesus, éste hallazgo frenó un poco las investigaciones en principios de la década de los setentas, para la utilización del ácido quénico en la disolución de los cálculos biliares en el hombre. Cabe preguntar si los resultados de los estudios en animales son válidos en el hombre. El ácido litocólico constituye menos del 5% de los ácidos biliares totales en hombre, en pacientes tratados con el ácido quenodesoxicólico-éste porcentaje aumenta, pero es casi siempre menor del 8%. El hombre absorbe aproximadamente el 20 % del ácido litocólico formado en el colon, el cual es conjugado en el hígado y probablemente sulfatado también. Varios estudios indican que, en el hombre, 40-75 % del ácido litocólico absorbido; experimenta sulfatación (11).

La eficiencia de la circulación enterohepática es tal, que solamente del 2-5% de los ácidos biliares circulantes se pierden cada día (98% de las pérdidas es por las heces y el resto en la orina o la piel). La poza de ácidos biliares circulantes (de 3-5g.) normalmente recircula de 6-

-10 veces al día. La síntesis de los ácidos biliares es regulada de manera principal por retroalimentación negativa que ejercen los ácidos biliares de la circulación entero-hepática, en la enzima hepática 7-alfa-hidroxilasa de colesterol (10) .

C.- Bioquímica de los fosfolípidos.

La lecitina, que constituye más del 90% de los fosfolípidos en la bilis, se sintetiza predominantemente en el hígado, por la transferencia de colina a diglicérido. Los ácidos biliares dentro de la circulación enterohepática parecen intensificar la síntesis y secreción de lecitina (16). Una vez dentro del intestino, la lecitina es catabolizada por la fosfolipasa pancreática a lisolecitina; después ocurren, en sucesión, absorción, reabsorción, y secreción en los linfáticos, en forma de lecitina en quilomicrones (10, 11). Las consecuencias en éste caso son que a) .- Para la circulación enterohepática se cuenta solo con una cantidad mínima de la lecitina sintetizada por el hígado (10). b).- La lecitina exógena de los alimentos probablemente no ampliará en forma importante la " poza " biliar de la lecitina. Existe controversia sobre éste último punto (11).

D.- Estructuración de un cálculo biliar de colesterol

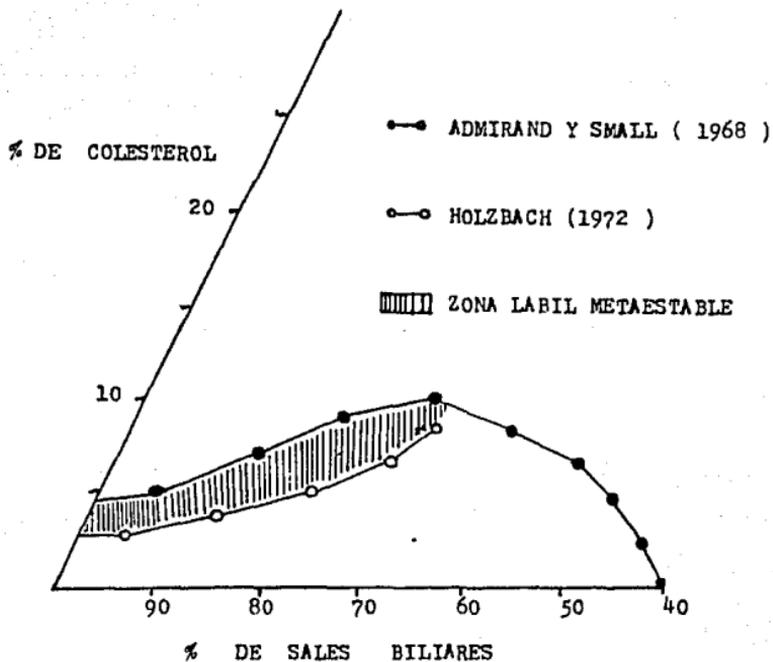
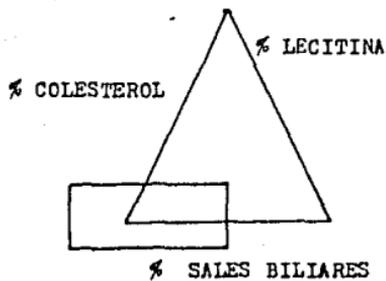
La formación de los cálculos de colesterol pueden ser divididos en tres etapas :

a).- Expresión de un metabolismo anormal que predispone la formación de bilis saturada.

b).- Nucleación de cristales de colesterol de la solución.

c).- Crecimiento de los cristales para la formación de los cálculos macroscópicos.

a).- El colesterol es normalmente soluble en la bilis por la asociación con moléculas polares (ácidos biliares- y lecitina), en forma de agregados moleculares o micelas- que permiten al colesterol ser transportado desde el hígado hasta el intestino (19). Admirand y Small definieron los límites para la solubilización del colesterol mediante experimentos " in vitro " permitiendo la separación de bilis - saturada y bilis supersaturada que contenía los cristales- de colesterol, de la bilis normal (no litogénica). Más - tarde Hegardt y Dam, publicaron datos que sugerían un límite todavía menor de la solubilidad del colesterol. Poco después, Carey y Small introdujeron el concepto de una zona lábil metaestable de saturación situada entre el límite de Holzbach y el de Admirand y Small. Ver dibujo.



SEGMENTO DEL TRIANGULO MOSTRANDO LA ZONA METAESTABLE DE SOLUBILIDAD DEL COLESTEROL

El grado de saturación del colesterol en la bilis muestra normalmente una variación diurna, con una tendencia a la saturación con el sujeto en ayunas. La bilis saturada es un prerequisite para la formación de cálculos, pero por sí sola no basta (45, 46). Las anomalías de la secreción de ácidos biliares y de colesterol en los pacientes con cálculos, han sido verdaderamente identificadas. Se han emprendido muchas investigaciones para identificar las anomalías de los lípidos biliares de los que depende la saturación de la bilis (39, 40, 41, 42, 43, 44, 49). Casi todos los sujetos tienen disminución de la "poza" de ácidos biliares con excepción de los pacientes con enfermedad ileal se ha apreciado que la pérdida de ácidos biliares por las heces es un factor que interviene en la disminución del tamaño de la "poza" de ácidos biliares en sujetos con cálculos. Los datos en cuanto a la rapidez de síntesis, emperson antagónicos. La secreción de colesterol en tales sujetos se encontró muy elevada. En contradicción, Northfied y Hofmann, no encontraron diferencia en la secreción de lípidos biliares o en la composición de la bilis entre sujetos normales y sujetos con cálculos de colesterol, que se observaron por métodos radiológicos. Probablemente las contradicciones se deben a la utilización de diferentes métodos para la cuantificación de los lípidos, ya que existen múltiples métodos para medirlos tanto en sangre, bilis y en heces, algunos ejemplos son (4, 6, 7, 8).

Coney y colbs. así como Salem y colbs. en (11), en-

contraron que la actividad " in vitro " de la 7-alfa-hi---droxilasa de colesterol disminuye en sujetos con cálculos-vesiculares de colesterol, en comparación con los testigos normales. Achenfeld y cols, opinan que la actividad de HMG-CoA reductasa se encuentra elevada en los pacientes -- con cálculos de colesterol.

Se puede concluir hasta la fecha que, la síntesis de colesterol se encuentra elevada en los sujetos con litiasis y disminuida la síntesis de ácidos biliares en los mismos sujetos (39, 40, 41, 42, 44, 46, 49).

2).- Nucleación.

Acidos grasos, ácidos biliares, bilirrubinas, proteínas sales de calcio y cuerpos extraños han constituido el núcleo de los cálculos de colesterol. Aunque es casi indudable que los cuerpos extraños sirven para la formación del cálculo, no se ha confirmado en lo que respecta a las demás sustancias, su participación activa en la génesis del mismo. La mucina pudiera intervenir en la formación del núcleo y en crecimiento calculoso.

Bajo condiciones constantes de presión y temperatura como ocurre en el organismo, la transformación de un líquido (bilis) en sólido (cálculo), ocurre solo por cambios en la composición del medio. Una sustancia precipita de una solución en el momento en que su concentración supera a la máxima capacidad de solubilización de la fase líquida. En bilis pueden ocurrir dos cambios que dan lugar a la precipitación de sustancias: Adición de sustancias insolubles -

como la bilirrubina no conjugada y alteraciones en las proporciones de sus constituyentes normales, de suerte que uno de ellos, satura la solución y precipita en forma de cristales.

Existen evidencias indirectas de que las fuerzas eléctricas de atracción entre los componentes sólidos de la bilis, pudieran contribuir a la agrupación de partículas y - con ello a la estructuración del cálculo. La adición de sustancias de carga positiva a la bilis, aumenta las fuerzas de atracción y dan lugar a la precipitación de partículas mientras que las cargas negativas revierten el fenómeno y favorecen su dispersión (5). También se ha sugerido que el tiempo de nucleación es importante su patogénesis de los cálculos de colesterol (14). Las sales biliares mantienen en solución al colesterol a través de la formación de micelas, lo cual da a la bilis propiedades de una solución coloidal . La estabilidad de estas soluciones depende estrictamente del equilibrio que se establezca entre los potenciales zeta y las fuerzas de Van der Waals. Los primeros antagonizan a las segundas tendiendo a separar las moléculas entre sí. Cuando los potenciales Zeta disminuyen de -20 a -10 mv, ocurre aglomeración de partículas y cuando son inferiores a -10 mv, las partículas se aglutinan (29, 30, 31,).

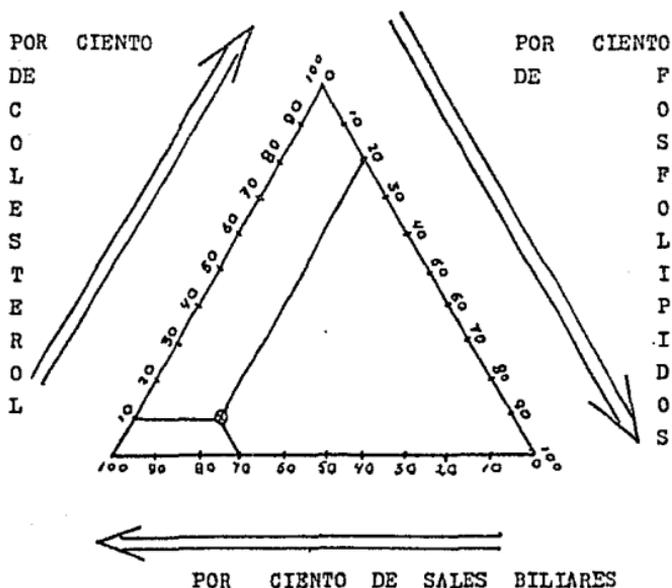
3).- Crecimiento

Una vez que el colesterol monohidratado se ha cristalizado, ocurren una serie de procesos que hasta la fecha no

se han podido determinar bien.

A la observación los cálculos de colesterol por técnicas de microscopía electrónica de barrido, se delimitan -- cuatro zonas diferentes: (12, 35) 1.- Superficie externa 2.- Corteza, 3.- Capa interna, 4.- Núcleo.

La corteza parece ser la parte esencial de la dureza del cálculo y es la que ofrece más resistencia en la disolución " in vitro " de éstos (12, 35).



COORDENADAS TRIANGULARES APLICADAS PARA LA EXPRESION SIMPLE DE LA COMPOSICION LIPIDICA DE LA BILIS. LA CONCENTRACION PORCENTUAL DE CADA UNO DE LOS COMPONENTES CONVERGE EN UN PUNTO. LA ESTRELLA DEL CENTRO DEL TRIANGULO REPRESENTA UNA BILIS CON 65 % DE SALES BILIARES, 10 % DE COLESTEROL Y 20 % DE FOSFOLIPIDOS.

UNIDAD VI

DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD LITIASICA

6.1.- COLELITIASIS SINTOMATICA

Con cierta frecuencia se ha explicado un síndrome, por la presencia de cálculos vesiculares. Los síndromes, -- pueden ubicarse dentro o fuera del sistema biliar; Así mismo, síntomas de otra localización pueden ser atribuidos a ésta. En forma simplista, los síntomas son: Dolor tipo cólico localizado en epigastrio o hipogastrio derecho, y otros síntomas " vagos ": Pirosis, nauseas, vómitos, regurgitaciones, eructos, flatulencia, meteorismo, sensación de plenitud postprandial. El dolor muchas veces es desencadenado por la ingesta de alimentos grasos, este dato se obtiene hasta en el 59 % de los casos, hasta el 83% de los pacientes presentan éstos síntomas. La explicación es poco clara, y desde luego difícil de verificar que obedezcan a la enfermedad. Se ha observado que algunos de los portadores de los síntomas tienen reflujo duodenogástrico que ocasiona lesión de la mucosa gástrica. Los síntomas suelen mejorar con la administración de metoclorpramida. La exploración física puede revelar una masa dolorosa en el hipocondrio derecho, dolor abdominal en hipocondrio derecho, dolor abdominal en hipocondrio derecho (Murphy positivo) e ictericia. La intensidad de los síntomas depende en gran parte de la sensibilidad del propio enfermo. Entre un episodio doloroso y otro pueden transcurrir días o años.

La obstrucción del cístico por un cálculo, puede o no asociarse con inflamación o proliferación bacteriana. La -- obstrucción sostenida, sin complicaciones, puede dar lugar al desarrollo de un mucocele e hidrocolecisto. En estas circunstancias es fácil palpar la vesícula en la exploración -- del abdomen . La causa más común de ictericia es la obstrucción del colédoco por una piedra.

6.2.- COLELITIASIS ASINTOMÁTICA

La litiasis asintomática se suele descubrir en forma incidental, durante una laparatomía o en un estudio rutinario. Con frecuencia se descubre en la autopsia. La evolución a largo plazo de un paciente con litiasis asintomática es -- impredecible, pero puede preceder a cáncer de vesícula y/o vías biliares. Para algunos aparecen síntomas hasta en un 50 % de los casos, en periodos que oscilan entre uno y 20 -- años, aunque predominan en los primeros cinco. En los pacientes añosos, la magnitud de los síntomas y su frecuencia sugieren ser más importantes que en los jóvenes.

Es recomendable que en los pacientes con alto riesgo -- para el desarrollo de colelitiasis, se practiquen colecistografías orales periódicamente con el fin de establecer el diagnóstico. Esto sería en áreas geográficas de alto riesgo, posiblemente en pacientes que reciben medicamentos como el clofibrato, anticonceptivos o fenobarbital (epilepticos -- por ejemplo), que algunos estudios han reconocido como potencialmente litogénicos.

6.3.- COLECISTITIS AGUDA.

El cuadro típico, incluye la presencia de dolor intenso, tipo cólico, de aparición brusca, localizado en hipocondrio derecho o epigastrio, el paciente refiere náuseas o vómito y el dolor se irradia hacia escápula derecha, la presencia de fiebre sugiere infección (piocolecisto). La ictericia ocurre hasta en un 25 % de los casos. Su causa no siempre es clara, aunque lo más frecuente es la obstrucción coledociana por un cálculo, sin embargo es posible pudiera atribuirse a inflamación de la región o por daño hepatocelular secundario.

Si el cuadro agudo persiste puede provocar abdomen agudo por complicaciones inherentes al mismo proceso. La masa palpable en el hipocondrio derecho representa con frecuencia el epiplón sobre la vesícula inflamada. Así mismo deberá hacerse diagnóstico diferencial con : Enfermedad ácido-péptica, hernia hiatal, pancreatitis, hepatitis (si existe ictericia), infarto del miocardio. etc.

6.4.- COLECISTITIS CRONICA

Es tradicional señalar como clásico de la colecistitis crónica a la mujer gorda, multipara, cuarentona, etc. - El dolor, se presenta ulterior a la ingesta de alimentos -- grasos y que incluso puede dar signos de irritación peritoneal. Para concluir la colelitiasis sintomática, puede dar un cuadro de colecistitis crónica en el 70% de los casos.

6.5.- EXAMENES DE LABORATORIO

Los exámenes de laboratorio son poco específicos, generalmente su valor gravita en la ayuda para detectar complicaciones o descartar padecimientos en el diagnóstico diferencial. En la biometría hemática se detectaron cambios solo en presencia de infección, con leucocitosis y desviación a la izquierda del índice Arneth. La cuantificación de bilirrubinas no permite diferenciar entre ictericias hepatocelulares y obstructivas; con frecuencia la fracción conjugada y la libre se elevan. Tipicamente, sin embargo, es de esperarse hiperbilirrubinemia conjugada en los casos de obstrucción coledociana, aunque la regla es que esta se acompaña de elevación simultánea de la forma libre.

La fosfatasa alcalina suele elevarse tempranamente en los casos de obstrucción biliar. La magnitud es muy variable pero siempre superior a lo observado en la enfermedad hepática. El grado de la obstrucción determina su elevación y debe recordarse que la fosfatasa alcalina puede elevarse en otras condiciones, ya que también se sintetiza en otros órganos. La transaminasa sérica no suele elevarse en forma importante. En casos de obstrucción puede elevarse discretamente a menos de 200 UI. Sin embargo, en colangitis es posible descubrir hasta 1000 UI. el valor de la deshidrogenasa láctica es muy limitado. La toma de bilis duodenal por sondeo, eventualmente es de valor para demostrar la existencia de cristales de colesterol.

6.6.- ESTUDIOS RADIOLOGICOS

Los estudios radiológicos son importantes en el diag

tico. La radiografía simple de abdomen permite identificar cálculos radiopacos en el 15 % de los casos. La colecistografía oral es el medio más empleado. Cuando el estudio permite la visualización de la vesícula, puede tenerse la certeza de normalidad en un 95% de los casos. La utilidad de la colecistografía con colecistoquinina simultánea requiere posteriores evaluaciones. Cuando se aprecian cálculos vesiculares en una colecistografía, la opacificación del órgano suele ser defectuosa. Si la vesícula está excluida sugiere enfermedad en un 96 % de los casos, cuando fué técnicamente bien realizada y se tome una placa 24 hrs, después.

La parietografía vesicular permite observar las paredes vesiculares cuando están inflamadas. El procedimiento implica la infusión intravenosa rápida del radiopaco y la toma de cortes tomográficos. Se supone que la zona de inflamación en la pared de la vesícula lentifica el paso del material radiopaco, (10) lo que permite su demostración radiológica.

La colangiografía intravenosa es particularmente valiosa para visualizar conductos biliares y en menor grado la vesícula, por lo tanto, no substituye, sino complementa, la colecistografía oral. Debe realizarse cuando la vesícula no se demuestre en el estudio oral con el fin de poder demostrar la permeabilidad de los conductos, la capacidad del hígado para excretar el material de contraste o bien para (continúa en la próxima página) -

constatar otro tipo de enfermedad del árbol biliar. Debe recordarse que pueden ocurrir reacciones adversas al radiopaco. Además, éste utiliza los mismos sistemas de excreción hepática que la bromosulfaleína, por lo tanto su estudio puede resultar falsamente anormal cuando se realiza dentro de las 48 hrs que siguen a una colangiografía endovenosa.

Cuando los niveles de bilirrubina pasan de 3 mg/dL, es poco probable que el estudio pueda realizarse. Esto obedece a que también el radiopaco comparte mecanismos de excreción con la bilirrubina, por lo que cuando el metabolismo de esta se altera, la excreción del radiopaco se verá disminuida. En estos casos serán de utilidad estudios como la colangiografía percutánea, la retrógrada transendoscópica o ambas. Para algunos, la colangiografía puede lograrse en muchos casos, o por goteo endovenoso continuo, utilizando mayor dosis del radiopaco o cortes tomográficos. La colangiografía percutánea implica la inyección del radiopaco a través de una aguja o un catéter flexible que alcanza un canalículo biliar intrahepático, a través de una punción percutánea. El empleo de la aguja de Chiba, de la universidad de Chiba ha abatido la morbilidad.

La colangiografía transyugular se realiza por punción de un canal que se alcanza con una aguja pasada, por vía de la yugular, hasta las suprahepáticas. El método es poco práctico.

Colangiografía transduodenoscópica. Es posible realizar la canulando el ámpula de Váter a través de un duodenoscopio

flexible, una vez canulada se inyecta medio de contraste -- dentro del árbol biliar. Sus complicaciones son sepsis y pan creatitis hasta en un 2.16 % de los casos.

La duodenografía hipotónica. Es particularmente útil - cuando se sospecha que la ictericia es producida por patología coledocoduodenal y/o pancreática.

La ultrasonografía del hígado y vías biliares es de utilidad ya que pueden demostrarse dilataciones biliares y cálculos vesiculares.

6.7.- COMPLICACIONES

Las complicaciones de la colelitiasis suelen ser debidas a obstrucción, al paso de cálculos hacia el colédoco, a través de una perforación vesicular, hacia la cavidad peritoneal o, más frecuente, hacia el tubo digestivo. Los cálculos pueden causar obstrucción e inflamación secundaria, en cualquier parte del árbol biliar, intestino o vías pancreáticas. Los cálculos formados en la vesícula biliar, pueden permanecer indefinidamente dentro de ella, aunque es muy posible que muchos cálculos, mientras su tamaño lo permita, pasen al duodeno por vía del colédoco. Existen evidencias indirectas que permiten sospecharlo por ejemplo la pancreatitis aguda se ha relacionado con obstrucción por piedras que han pasado al colédoco, así la colelitiasis se demuestra entre 35 y 54 % de los pacientes con pancreatitis.-

Cuando un cálculo se enclava en el cístico puede ocurrir que la obstrucción revierta espontáneamente y el cálculo regrese a la vesícula, esto puede ocurrir hasta en un-

85 % de los casos. Clínicamente el enclavamiento en el cístico se manifiesta por dolor tipo cólico en el hipocondrio derecho, y que cede totalmente cuando el fenómeno obstructivo desaparece, como ocurre en la colelitiasis sintomática, ya que no existe daño estructural subyacente. Cuando ocurre fenómeno inflamatorio, mediado por infección o por acción química de la isolecitina, persiste la molestia dolorosa -- después de que la obstrucción ha cedido. Esto es resultado de la inflamación. Algo similar puede ocurrir en la colecistitis crónica.

Si persiste la obstrucción del conducto cístico por un cálculo enclavado en el mismo; esto puede dar lugar a una vesícula atrófica, esclerosada, no funcionante, que en ocasiones puede formar un mucocele, si se infecta la bilis se puede formar un piocolecisto. Puede ocurrir perforación de la vesícula cuando la obstrucción es persistente, sepsis biliar, inflamación secundaria, edema, isquemia parietal y necrosis. Cuando la perforación ocurre hacia la cavidad peritoneal (24 % de los casos), produce un cuadro de abdomen agudo. En 64 % de los casos de las perforaciones vesiculares el orificio es sellado por epiplón, y en 12 % la perforación ocurre hacia otra viscera, siendo el duodeno (60, 95 %) el sitio más frecuente. Una vez en el tubo digestivo, puede ocasionar un ileo biliar, es decir una oclusión a nivel de ileon terminal (Cálculo mayor de 3.5 cm.) con una incidencia del 0.5 % de los casos de colelitiasis y hasta 2.5 % de los casos de colecistitis aguda.

Los cálculos retenidos en el colédoco pueden permanecer asintomáticos, sin embargo la colestasis puede provocar colangitis, o pancreatitis, o que pase al duodeno sin ocasionar problemas. Un 10 % de los casos de colecistitis aguda se acompañan de coledocolitiasis, siendo el origen coledociano hasta en un 20 %.

UNIDAD VII

TRATAMIENTO

En términos generales, el tratamiento de la colelitiasis se considera quirúrgico, aunque existen numerosas controversias al respecto. La colecistectomía sigue siendo hoy por hoy el método más seguro y eficaz para curar la enfermedad litiásica de la vesícula. La experiencia con esta intervención es enorme, con lo que se ha logrado abatir sensiblemente su morbilidad, según estadísticas de Instituto Patológico de Zurich, reporta hasta un 10 % de letalidad. La colecistectomía, además, elimina el riesgo potencial de oncogénesis vesicular, existiendo reportes de un 3.8 % de los varones y 9.3 % de las mujeres con colcitis, por encima de los 60 años, desarrollan cáncer de este órgano. Se ha señalado que la colecistectomía normaliza la composición de la bilis, dado que la reincidencia de litiasis después de colecistectomía es prácticamente despreciable, sin embargo, al practicarse colecistectomía se eliminan los factores litogénicos vesiculares. En nuestro hospital los cuadros de colecistitis agudas se intervienen quirúrgicamente de inmediato. En otros hospitales se tratan con succión nasogástrica, antiespasmódicos y antibióticos (45, 47, 48, 49, 54, 55, 59, 61, 62). La posibilidad de tratamiento médico ha resultado atractiva para numerosos estudiosos y empíricos. En nuestro país, por ejemplo existen

varias docenas de productos que se refieren, sin bases algunas como útiles para estos fines.

Cualquier procedimiento médico que pretenda disolver cálculos biliares deberá modificar el defecto metabólico -- subyacente en el hígado, corregir la composición de la bilis ó ambas. La administración de sales biliares con el objeto de aumentar su secreción por la bilis y así lograr incrementar la capacidad del colesterol biliar, se sabe que tiene un efecto benéfico.

7.I.- ACIDO QUENODESOXICOLICO

En el año de 1957, el doctor Charles Johnston, en -- Detroit propuso que el ácido quenodesoxicólico debía ser -- probado en el hombre con fines de disolver " litos " vesiculares.

En la actualidad este ácido es el fármaco que ha sido objeto de los estudios más extensos, para valorar su capacidad de disolución de cálculos de colesterol, por medios no quirúrgicos. Este ácido ministrado en forma de sal sódica a una dosis de 13 a 15 mg./ Kg. de peso (aproximadamente un gramo por día) durante 8 a 16 meses a resultado eficaz en más del 50 % de los casos sometidos a este tratamiento (9, 10, 11, 13, 21, 22, 23, 24, 28, 34, 38, 39, 41, 42, 43, 49, 50, 53, 54, 55, 60, 61) . La respuesta biológica es muy favorable, reproducible y constante, y suele asociarse con la aparición de cambios benéficos en la composición de la bilis. El efecto --- principal del ácido quenodesoxicólico es que inhibe la actividad de la enzima HMG-CoA reductasa disminuyendo con ésto la saturación de la bilis.

El efecto profiláctico de este medicamento es útil en aquellos pacientes que tienen los lípidos biliares por fuera de la zona lábil metaestable de las coordenadas triangulares de Carey y Small (19,25) .

Existe hasta hoy una experiencia mayor a los 1000 pacientes sin evidencia de efectos nocivos significativos (64). En más de 140 biopsias de pacientes bajo el tratamiento (64,65) no se han registrado importantes alteraciones.

En cuanto a toxicidad se refiere, un riesgo potencial de la terapia con ácido quenodesoxicólico es la formación de su derivado monohidroxiado: el ácido litocólico. En varias especies animales este ácido es sumamente hepatotóxico y posiblemente teratogénico. En el macaco mulato, la ministración de 100 mgrs. de ácido quénico (quenodesoxicólico) durante un mes condiciona elevación hasta de un 14 % de del litocólico biliar, pero sin alteraciones histológicas en el hígado . Sin embargo , cuando la ministración se prolonga-- por seis meses se han observado hiperplasias ductulares con inflamación de mononucleares. En el conejo, el ácido quénico al igual que el ácido litocólico producen necrosis y cirrosis hepática. Estos fenómenos no se han observado en el humano, ya que es capaz de sulfatar el ácido litocólico reabsorbido, con lo que se limita su absorción intestinal y se elimina fácilmente por las heces. La diarrea es un trastorno observado durante el tratamiento, por efectos tóxicos del ácido sobre la mucosa intestinal tanto del humano como del ser macaco , careciéndose en la actualidad de biopsias de intestino de los sujetos sometidos a tratamiento.

En el humano no se han encontrado alteraciones de las pruebas de funcionamiento hepático, excepto en las transaminasas que ocasionalmente se han reportado elevadas. Como la ministración de sales biliares suprime la síntesis de ellas a partir del colesterol, cabría la posibilidad de que el colesterol se acumulase en el cuerpo, aunque no existe confirmación, la posibilidad de que al ácido quénico predisponga a la aterosclerosis es demasiado endeble. Por otro lado se ha mencionado que durante el tratamiento, un "lito" pudiera pasar a través del cístico y ocasionar problemas, aunque las posibilidades de que pase durante la disolución son las mismas de que pase durante su génesis.

Cuando se suprime el tratamiento con el ácido quénico la bilis recobra sus características de sobrosaturación, -- por lo que se estima que deberá prolongarse el tratamiento indefinidamente.

7.2.- OTROS AGENTES

El ácido ursodesoxicólico (epímero 7 beta-hidroxi - del ácido quénico) se forma a partir del ácido quénico por acción bacteriana. Representa un mecanismo de detoxificación que controla la concentración de ácido quénico en el hígado humano.

El Fenobarbital en buen número de especies el medicamento es capaz de aumentar la síntesis de colesterol, sales biliares y fosfolípidos, sin embargo en el humano disminuye la eficacia del ácido quénico y no previene la desaturación de la bilis. No existe evidencia suficiente de que

el fenobarbital sea efectivo en el tratamiento de la colelitiasis. Si bien es cierto que reduce el índice litogénico de la bilis, al aumentar la actividad de la hidroxilasa de 7-alfa la cual aumenta la HMG-CoA y con ello la síntesis de colesterol.

El clofibrato, induce una aceleración en la síntesis de colesterol y sales biliares en el hámster y previene la colelitiasis inducida experimentalmente con dieta, pero en el humano solo ha demostrado ser litogénico (66,67).

El glicerofosfato, es un precursor de los fosfolípidos capaz de duplicar la concentración biliar de ellos, al ministrarlo por vía oral en animales y el hombre (68,69). Se estudiaron 10 pacientes, ministrando 6 gramos diarios de glicerofosfato por seis días, mejorando el índice litogénico en 9 pacientes, encontrándose un aumento en los fosfolípidos y sales biliares el colesterol no reporta cambios --- en la rata el glicerofosfato previene la formación de cálculos (69) .

El ácido glucarico se ha utilizado en el tratamiento de cálculos de pigmento y su nivel de acción es inhibiendo la actividad de la betaglucoronidasa.

El colato de sodio, fué usado por primera vez en 1891 por el doctor Walker, a través de una sonda en "T", hasta la actualidad se han reportado 84 infusiones por existir -- cálculos residuales, reportandose 0 de letalidad y discretas elevaciones de las transaminasas (70) .

En cuanto a la utilidad del colato de sodio se refiere todavía es discutible.

7.3 ESTUDIOS IN " VITRO "

Muchas substancias han sido evaluadas en su capacidad para disolver cálculos vesiculares in " vitro " .

La heparina es probablemente uno de los medicamentos más estudiados " in vitro ", los efectos más marcados se observan cuando el solvente contiene agua, la adición de dosis diarias de heparina en el medio, potencializa la acción solvente con mayor intensidad que cuando se emplea la dosis total en una sola aplicación, fragmentándose los cálculos a la sexta semana, su efecto disolvente de la heparina se ha explicado por su capacidad para incrementar la fuerza de separación micelar y con ello la separación de los componentes de la piedra, aumenta los potenciales zeta de separación micelar por sus características de ión de carga electronegativa. El efecto disolvente de la heparina se bloquea parcialmente con la adición de un antagonista electropositivo como la protamina, siendo esto lo que hace pensar que su nivel de acción radica en su naturaleza eléctrica, que determina incremento en los potenciales de separación micelar.

La protamina, es capaz de reducir el peso hasta en un 4 % de las piedras de colesterol, teniendo un efecto disolvente pero no fragmentador, su nivel de acción no se conoce lo que se ha observado es que la protamina precipita la bilis humana "in vitro", y que en el precipitado se encuentra colesterol biliar, y que a su vez disminuye en el sobrenadante.

El deoxicolato no conjugado con solución de lecitina -

es aparentemente el más eficaz, esta capacidad de disolución de cálculos por las sales biliares parece radicar en la polaridad doble de su molécula, que permite la solubilización de los componentes de la piedra, al establecer micelas compuestas.

Otros medios utilizados en la disolución de cálculos son detergentes, como tween 20 (monolaurato de polioxietileno sorbitán). Mezclas de aceites esenciales (eucaliptol , mentol, mentona) , canfenos y terpenos. Etanol y ether.

UNIDAD VIII

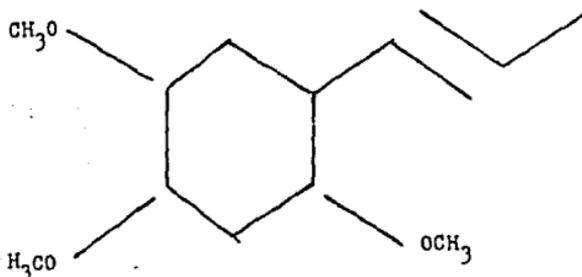
NUESTRA CONTRIBUCION EN LA DISOLUCION DE CALCULOS --
BILIARES MIXTOS IN VITRO CON ASARONA.

8.1.- PLAN GENERAL DE TRABAJO.

En el Hospital General del ISSSTE, " GENERAL IGNACIO ZARAGOZA ", en el área de Cirugía, se intervinieron 207 pacientes por colelsto-coledocolitiasis, en un lapso de tiempo, comprendido de marzo de 1980 a noviembre de 1981. Se -- obtuvieron los cálculos biliares de 12 pacientes tomados al azar, y se practicó disolución " in vitro " con una nueva -- droga llamada ASARONA, (1, 2, 4-Trimetoxi-5-propenil-ben -- ceno) en el departamento de Bioquímica de la Facultad de Me -- dicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

8.2.- DESCRIPCION DE LA ASARONA

La asarona es una substancia con un peso molecular -- de 208, que ha sido obtenida de la corteza del Yumel cuyo -- nombre genérico es el de Guatteria-Gaumeri (1, 2, 4, tri -- metoxy - 5 Propenil - Benceno).



Las principales características del Yumel: Es un árbol que mide entre 10 y 15 metros de altura, de corteza -- negra, con hojas oval-lanceoladas, acuminadas, enteras y -- glabras, de color verde oscuro, de 9 a 11 centímetros de -- largo, con un pecíolo de 88 mm. Tiene flores solitarias de color blanco, que miden 4 centímetros. Su fruto es compuesto, redondo y mide 2 centímetros de diámetro, tiene olor desagradable. En el estado de Yucatán la corteza del Yumel, -- al igual que las hojas son tomadas en forma de te para la -- disolución de todos los tipos de cálculos.

Existen dos compuestos: Cis-asarona y Trans-asarona. -- En el Yumel predomina principalmente la Trans-asarona, no -- comprobándose aún si existen pequeñas cantidades de Cis-a- -- sarona. Este dato es importante ya que tiene propiedades -- carcinogénicas en forma potencial, siendo así señalado -- por la FDA (Food and Drug Administration). El estado fí- -- sico de la Cis-asarona es líquida a la temperatura ambiente -- en cambio el estado físico de la Trans-asarona es cristalí- -- no.

8.3.- TOXICIDAD DE LA ASARONA.

La toxicidad de la asarona es aún desconocida, sin -- embargo en la rata se han aplicado por vía subcutánea 60 -- mgrs. por día por un lapso de 28 días, observando que ésta -- dosis no produjo la muerte en las ratas y en cambio se pre- -- sentó disminución de la colesterolemia en 18 a 24 %. Por -- el contrario con dosis de 300 mgrs / Kgr / día, se observó

alta toxicidad, muriendo el 100 % de las ratas y no se encontraron alteraciones macroscópicas e ignorando la causa de la muerte.

8.4.- HIPOTESIS DE TRABAJO

En dos soluciones alcohólicas (Etanol); una al 20 % Más 5 MM (Mili Molar) de Asarona y otra al 35 % más 10 MM, 20 MM y 40 MM de asarona , se pretende disolver cálculos mixtos obtenidos de vesícula y vías biliares de pacientes intervenidos quirúrgicamente. Los cálculos permanecerán durante tres y cuatro semanas respectivamente, en las soluciones mencionadas.

8.5.- MATERIAL Y METODOS EMPLEADOS EN LA DISOLUCION DE CALCULOS.

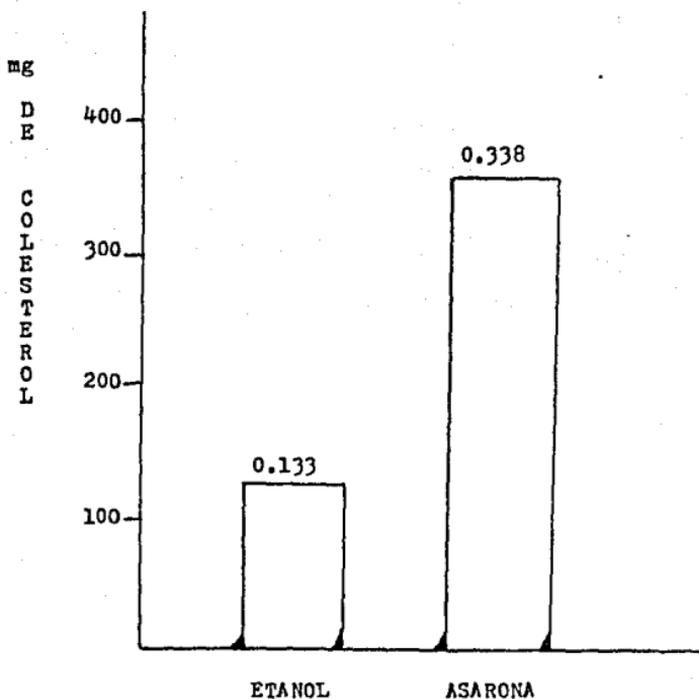
La obtención de la Asarona para nuestro estudio fué por medio de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, que a su vez la obtuvo de una fuente comercial (S.CH.C.). El punto de fusión de los preparados fué de 60 a 62 grados centígrados y 57 a 59 grados centígrados respectivamente.

Preparación de la solución. Dado que las Trans-asarona es una sustancia insoluble en agua se disolvieron los cristales en Etanol al 20 y al 35 % . Los cálculos se pesaron en una balanza analítica y se colocaron en frascos con tapón esmerilado, agregándose la solución alcohólica de Asarona o en el caso de los controles solamente la solución alcohólicas en las mismas concentraciones o porcentaje.

El volumen que se adicionó a los cálculos fué aproximadamente de 18.4 cc del solvente de la Asarona, se dejó a temperatura ambiente durante tres y cuatro semanas, al cabo de éste tiempo los cálculos fueron sacados, secados en un horno a una temperatura de 50 grados centígrados y nuevamente fueron pesados. El líquido donde estuvieron los cálculos, se midió el volumen total y se tomó una muestra para hacer determinación colorimétrica del colesterol, previa separación del colesterol y la Asarona por cromatografía en capa fina.

Para la determinación del colesterol se practicó con el método de Abell (70). La separación cromatográfica fué necesaria porque el color de la Asarona interfiere -- cuando se emplea el método de Abell.

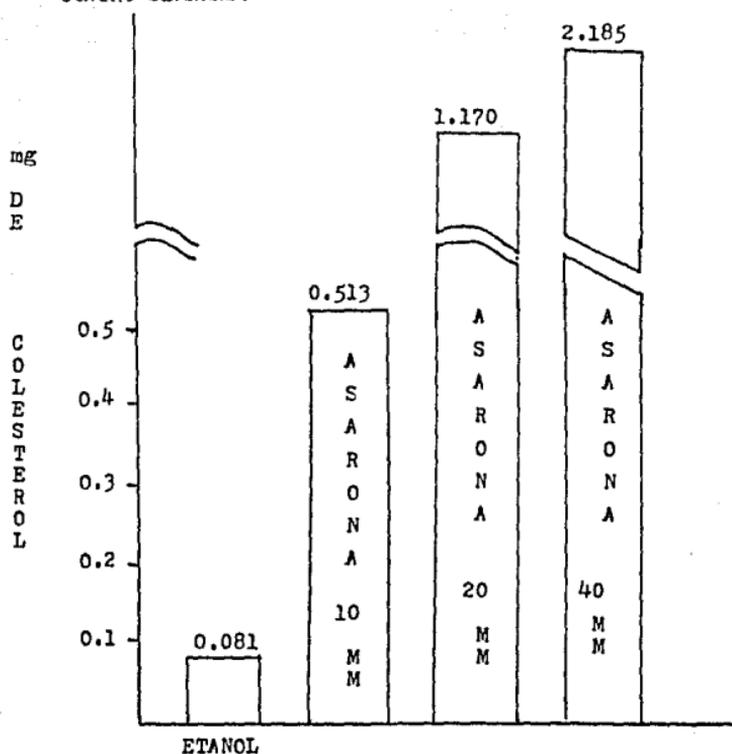
8.6.- RESULTADOS. ASARONA EN ETANOL AL 20 % POR TRES SEMANAS.



DISOLUCION DE CALCULOS BILIARES DE COLESTEROL " IN VITRO " EN ASARONA AL 5 MM (Mili Molar) Y ETANOL AL 20 % - POR TRES SEMANAS.

Como se aprecia en la gráfica, el efecto de la asarona es aparente, encontrándose dos volúmenes más de colesterol en el líquido que bañó los cálculos cuando se empleó la asarona al 5 MM, con relación al control, con etanol solo al 20 %.

R.7.- RESULTADOS. ASARONA EN ETANOL AL 35 % POR CUATRO SEMANAS.



DISOLUCION DE CALCULOS BILIARES DE COLESTEROL CON ASARONA, EN ETANOL AL 35 % EN CUATRO SEMANAS.

Aumenta la concentración de asarona hasta 40 MM (Milli Molar), por lo que fué necesario aumentar la concentración en etanol a un porcentaje de del 35 % para poder mantener soluble la asarona.

8.8.- CAMBIOS EN EL PESO Y ASPECTO DE LOS CALCULOS.

Los cambios en el peso de los cálculos se pueden observar en las siguientes tablas.

Etanol al 20 % más Asarona 5 MM, disolución a 3 semanas.

NC	SOLUCION	PI	PF	PP	% PP
1	Etanol al 20 %	112	111.867	0.1333	0.11
1	Etanol al 20 % + Asarona 5 MM	179	178.658	0.342	0.19
1	Etanol al 20 % + Asarona 5 MM	352	351.665	0.335	0.10

Etanol al 35 % Más Asarona al 10 MM, 20 MM y 40 MM, disolución a 4 semanas.

NC	SOLUCION	PI	PF	PP	% PP
1	Etanol al 35 %	066	65.919	.081	0.12
1	Etanol al 35 % + Asarona 10 MM	104	103.487	0.513	0.49
1	Etanol al 35 % + Asarona 20 MM	104	102.830	1.170	1.11
1	Etanol al 35 % + Asarona 40 MM	077	74.815	2.185	2.80

En cuanto al aspecto del cálculo se refiere, se presentó un cambio de color amarillo oro a un color blanquecino.

El tamaño macroscópico persistió sin cambios aparentes.

NC Número de cálculos
 SOLUCION Soluciones de las disoluciones de cálculos.
 PI Peso inicial
 PF Peso Final
 PP Peso perdido
 % PP porcentaje del peso perdido de los cálculos.

UNIDAD 1X

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

1.- Asarona, no es hidrosoluble, pero se encontró - que si es soluble en Etanol, sin embargo es menester, encontrar un medio soluble menos " agresivo " para los tejidos- y en ésta forma intentar la disolución de cálculos residuales por infusión a través de sonda en "T".

2.- Asarona (5 MM) más Etanol al 20 %, en un lapso de tiempo de tres semanas, demostró ser más efectiva en la disolución de cálculos biliares " In Vitro " que el grupo-control, tratado solo con Etanol, siendo la Asarona efectiva en una proporción dos veces mayor. En cuanto al peso de los cálculos en este grupo no fué significativo.

3.- Al aumentar la concentración de Asarona (10,20, y 40 MM), hubo la necesidad de aumentar la concentración - de Etanol hasta un 35 % y en un lapso de 4 semanas, se encontró una mayor concentración de colesterol en el líquido- que bañó a los cálculos, la pérdida de peso de los cálculos, aumentó al incrementar la concentración de Asarona en la solución, sin embargo no es significativo y no observaron cambios macroscópicos.

4.- El mecanismo de acción de Asarona aún es desconocido , abriendo de ésta forma un amplio campo en la investigación de esta droga.

5.- Las dosis de Asarona que se emplearon en el estudio fueron 20 veces menores que las utilizadas con el ácido

quenodesóxicólico, por lo que se tendrán que realizár estudios comparativos con éstas drogas.

UNIDAD X

CONCLUSIONES

La colelitiasis es una enfermedad multifactorial, como se ha podido analizar a través de la elaboración y revisión de ésta Tesis. Donde concluimos que intervienen -- principalmente : a).- Vesícula, b).- Hígado c).- Las - enzimas microsomales, responsables de la síntesis del co- lesterol y su transformación en sales biliares y es así -- como tenemos que : a).- La vesícula juega un papel impor- tante en la litogénesis. Los cálculos biliares son más --- frecuentes en la vesícula que en cualquier otra parte del- árbol biliar.

Su recurrencia es infrecuente después de la colecistec- tomía. La concentración de la bilis en la vesícula quizá- favorezca indirectamente a la litogénesis de colesterol, -- ya que si bien mejora su solubilidad, al aumentar el tama- ño de la zona micelar, el prolongar la permanencia de la - bilis en la vesícula favorece la precipitación del coleste- rol de la bilis supersaturada o metaestable. En el humano - se ha observado de que hay secreción de bilis diferente -- en el mismo día y de que ésta bilis se encuentra sobresatu- rada, sin que necesariamente se formen cristales. Esto pa- rece obedecer a la movilización de sales biliares por la - contracción vesicular postprandial. Por lo que es posible- que para que un humano desarrolle colelitiasis debe secre- tar bilis litogénica frecuentemente todo el día. Así mismo su contracción permite la recirculación enterohepática de- sales biliares y con ello una mayor concentración biliar.-

La colecistectomía elimina el reservorio vesicular y posiblemente favorezca la continua circulación entero-hepática, lo que mejoraría la capacidad de solubilización de la bilis. También se ha observado que en las vagotomías tronculares, podrían influir en la litogenia, aunque no existen evidencias suficientes. Los cristales de colesterol con frecuencia se disponen alrededor de un nido, para dar lugar a la piedra, y éste nido se encuentra en la vesícula. b) El hígado, es el responsable de la anomalía y fuente de la bilis sobresaturada con colesterol y relativamente deficiente de factores solubilizadores (sales biliares y lecitina). c) Enzimas microsomales. En condiciones normales, las sales biliares se forman en el hígado a partir de colesterol, por la acción de una hidroxilasa de posición 7 alfa, que es reguladora de su tasa de formación, habiéndose observado que ésta enzima se encuentra a batida en pacientes con colelitiasis. Además, la síntesis de colesterol se encuentra aumentada por una mayor actividad de la reductasa-3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A- por lo tanto se puede concluir que existe un doble defecto enzimático y por lo tanto un incremento en la síntesis y excreción biliar de colesterol y una reducción de la síntesis y excreción de las sales biliares.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Ahlberg J, Angelin B, Bjorkhem I, Einersson K, and Leijó B; Hepatic cholesterol metabolism in normo and hyperlipidemic patients with cholesterol gallstones. *J Lipid Res* 20 (1):107-15 Jan. 1979.
- 2.- Masuda H, and Nakayama F; Composition of bile pigment-- in gallstones and bile and their etiological significance : *J. Lab. Clin. Med.* 93 (3):353-60 Mar. 1979.
- 3.- Ruiz L.J, Calva L.D, Hill J.J, y Servin F.H; Cultivo y antibiograma de bilis de 59 pacientes con colecistitis crónica litíásica; *Rev. Med. Hosp. Gral.* 42 (7): 286-89- julio 1979.
- 4.- Lerdo T.A, Briones E, Guzman Ma.L, Lerdo T.E, Karchmer S. Comparación entre la determinación de alfa lipoproteínas por electroforesis y ultracentrifugación. *Rev. Med. Hospital Gral.* 42 (7): 290-91 Julio 1979.
- 5.- Lagarriga A.J, Mendez S.N, Chiprut O.R, Cohen y J; Colelitiasis experimental en animales. *Rev. Gastroen. Mex.* - sep. Nov. 1978 p.p. 147-61.
- 6.- Gottfried S.P. and Rosemberg B; Improved manual spectrophotometric procedure for determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* 19 (9): 177-78 1973.

- 7.- Siperstein M.D, Jayko M.E, Chaikoff I.L, and Dauben W.G.
Nature of the metabolic products of C 14 cholesterol ex-
creted in bile and feces. Proc. Soc. Exper. Biol. E Med.
81: 720-24 1952.
- 8.- Irvin J.L. Johnston Ch. G, and Kopala J.: A Photometric
for the determination of cholates in bile and blood.,J.
Biol.Che. 153:439-57 1944.
- 9.- Redinger R.N.: Cholelithiasis. Review of advances in re-
search: Postgraduate Medicine. 65 (6): 56-71 June 1979.
- 10.- Pearlman B.J. Schoenfield L.J.: Cálculos vesiculares:-
presente y futuro de su disolución por medios médicos.
- 11.- Pearlman B.J. Marks J.W. Bonorris G.G.: Schoenfield L.J.
Gallstone dissolution a progress report, Clinics in gas-
troenterology. 8 (1): 123-40 Jan 1979.
- 12.- Phillips M.J. Funatsu K. Oda M. Edwards B, and Mickle, D.
A.G.: Dissolution of human cholesterol gallstones in vi-
tro With ethanol and ether, A scanning and Stereoscanning
Electron Microscopic Study, Laboratory investigation. 39
(5): 497-504, 1978.
- 13.- Sohrabi A, Max M.H. Hershey Ch. D: Cholate sodium infu-
sion for retained common bile ducts stones. Arch. Surg.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

114 :1169-1172 oct. 1979.

- 14.- Holan K.R. Holzbach R.T. Hermann R.E. Cooperman A.M. and claffey J. Nucleation Time: A key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. Gastroenterology 77: 611-17 1979.
- 15.- Schwaler A. Weis H.J. And Linden J. Tupais (tree Schrews), A new animal model for gallstone research. Res. = Res. Exp. Med. (Berl) 176:157-72 1979.
- 16.- Holan K.R. Holzbach T, Maieh J.Y.K. Welch D.K. an turcotte J.G: Effect of oral administration of essential phospholipid, beta-glycerophosphate, and linoleic acid on biliary lipids in patients with cholelithiasis. Digestion 19: 251-58 1979.
- 17.- Juan c. Díaz Zagoya, Hugo castañeda Adriano y Susana Ramirez Robles: Estudio de un caso de hiperbetalipoproteinemia familiar. Temas Bioquímicos de Actualidad. Editores: Piña, Peña, Chagoya, Martuschelli. UNAM, 1978 p.p. - 15-29.
- 18.- Fevery J. Van Damme B, Michiels R, De Groote J. And Heirwegh K.P.M.: Bilirrubin Conjugates in bile of man and rat in the normal state and in liver disease. J. Clin.-investigation. 51: 2482-92 sep. 1972.
- 19.- Carey M.C. And Small D.M. The physical chemistry of Cho-

- lesterol solubility in bile. Relationship to gallstone formation and dissolution in man. *J. Clin. Invest.* 61: 998-1026 1978.
- 20.- Sandblom P, and Mirkovitch V: Minor hemobilia, clinical significance and pathophysiological background, *Ann. Surg.* 190 (2): 254-64 Aug. 1979.
- 21.- Pitt H.A. And Cameron J.L.: Sodium Cholate infusion of retained biliary stones: Mortality rate following intrahepatic infusion. *Surgery*, 85 (4) N 457-60 April 79
- 22.- Dowling R.H. and Meaton P.N. Dose of chenodeoxycholic acid for gallstone dissolution (letter). *Lancet.* August 12. 1978. P.P. 378-79.
- 23.- Bateson M.C. Murison. J.C. Ross P.E. And Bruchler I.-- A. D: Comparacion of fixed doses of chenodeoxycholic acid for gallstone dissolution. *Lancet.* May 27, 1978 P.P. 11-14.
- 24.- Marks J.W. Sherman J.H. Bonorris G.G. Chung A. Coyne M. J. and shoenfield L.J: Gallstone dissolution by chenodeoxycholic acid phenobarbital, *Am.J.Gastroenterology.* 69:160-65 Feb. 1978.
- 25.- Portman C.W. Osuga T. Tanaka N: Biliary Lipids and cholesterol gallstone formation. *Adv. lipids. Research.* 12 7^a.

- 26.- Thiistle J.L. Larusso N.F. and Carlson G.L: Dissolu --
tion of retained common bile duct cholesterol galls -
by T tube perfusion of medium chain glycerides.
- 27.- Lagarriga A.J. y Rojas B.A: Efectos de la dieta contem
poránea en la composición de la bilis y en la formación
de cálculos de colesterol. Rev. Clin. Esp. 131.(2):87-
94 abril de 1973.
- 28.- Bell G.D. Treatment of gallstones. J. Royal college of
Physicians of london, 13 (1) Jan. 1979.
- 29.- Lagarriga A.J. Gil D Aquino A: Dissolution of gallsto-
ne in vitro, Effects of Heparine. Rev. San. Milit. Mex.
29 (4) 135-138 Julio-Agosto de 1975.
- 30.- Ostrowitz B.A. Gardentr B: Studies of bile as suspending
medium and its relationship to gallstone formation. Sur
gery. 68(2):329-33 August 1970.
- 31.- Lagarriga A.J. Gil D y Valdez C: Precipitación experi-
mental de la bilis humana, Prensa médica. Mex. Año XXI,
Nos. 9-10, sept.-oct. 76.
- 32.- Sconenfield L.J. Sjeval J. K.: Bile acid composition of
gallstone from man, J. Lab.E. Clinic. Med. 68 (2):186-
94 august. 1966.

- 33.- Nakayama F: Quantitative microanalysis of gallstone, J.Lab E. Clini.Med. 72 (4): 602-11 October 1968.
- 34.- Whiting M.J. and Watts J. Mck: Prediction of the bile acid composition of bile from serum bile acid analysis during gallstone dissolution therapy. Gastroenterology 78: 220-25 1980.
- 35.- Funatsu K, and Phillips M.J: Dissolution of human cholesterol gallstones in vitro with bile salts: A scanning and stereoscaning electron microscopic study; Lab. invest. 40 (2):166-71 1979.
- 36.- Quintos A.C. Reinoso R.J. Trujillo R.J. y Muñoz K.R.- Ileo biliar. Rev. Invest. Clin. (Mex.). 30:927-31.78.
- 37.- Yahiro K. Setoguchi and Katsuki T: Effect of cecum and appendix on 7 alfa dehydroxilation and 7 beta epimerization of chenodeoxycholic acid in the rabbit . J. Lipid Research 21:215-22 Feb. 1980.
- 38.- Ahlberg J. Angelin B, Bjokhem I. Einarsson, Gustaffson J.A. and Rafter J: Effects of treatment with chenodeoxycholic acid on liver microsomal metabolism of steroids in man. The J. Lab. And clinic Medic. 95 (2):Feb. 1980 P.P. 188-94.

- 39.- Key P.H. Bonorris G.G., Marks J.W. Chung A, And shoep
field L.J: Biliary lipid synthesis and secretion in -
gallstone patients before and during treatment with -
chenodeoxycholic acid, L. Lab.Clinic.Medic.95(6) June
1980 P.P. 816-26.
- 40.- Swell L, Gustafsson J, Schwart C.C. Halloran L.G. Da-
nielsson H, and Vlahcevic Z.R: An in vivo evaluation-
of the quantitative significance of several potential
pathways to cholic and chenodeoxycholic acids from --
cholesterol in man .J. lipid. Research 21:455-66 May-
1980.
- 41.- Carulli N.Ponz de Leon M. Zinori F, Pinetti Z, Smerie
ri A, Lori R. and Loria P.: Hepatic cholesterol and bi
le acid metabolism in subjects with gallstones:Compara
tive effects of short term feeding of of chenodeoxycho
lic and ursodeoxycholic acid, J. Lipid acid Research-
21:35-43 Jan. 1980.
- 42.- Einarsson K. and Grundy S.M: Effects of feeding cholic
acid and chenodeoxycholic acid on cholesterol absorp-
tion and hepatic secretion of biliary lipids in man.-
J. Lipid Research. 21:23-34 Jan 1980.
- 43.- Igimi H. and Carey M.C. Ph-Solubility relation of che
nodedeoxycholic and ursodeoxycholic acids: Physical -

chemical basis for dissimilar solution and membrane -
phenomena, J. lipid Research 21:72-90, Jan 1980.

- 44.- Reno V.Z. Schwartz Ch.C, Gustafsson J. Gregg H.L. Danielsson H. Swell L: Biosynthesis of bile acids in man multiple pathways to cholic acid and chenodeoxycholic acid. The J. of biological Chemistry 255 (7): 2952-33_a pril 1980.
- 45.- Sedaghat A, and Grundy S: Cholesterol crystals and the formation of cholesterol gallstones, The new England - of medicine 302 (23)-1274-77 June 5, 1980.
- 46.- Small D.M. (Editorial): Cholesterol nucleation and - growth in gallstone formation, The New England Journal of Medicine 302 (23): 1305-1307 June 5 1980.
- 47.- Ferreras Rozman. Medicina Interna. Ed. Marín. Tomo 1- P.P. 282-288, 292-300. Mexico, 1981.
- 48.- Bockus. Gastroenterología. Ed. Interamericana tomo 111 capitulos 107,113. Mexico. 1976.
- 49.- Faumgartner G, Stihel A. Gerok W: Falk symposium 26: - Biological Effects Of Bile Acids. University Park press. Baltimor great Britain 1979.

- 50.- Hoffman A.F. Faumgartner G. (Moderadores); El ácido -
quenodesoxicólico en el tratamiento de la litiasis bi-
liar (Mesa redonda celebrada en Friburgo en octubre -
1973).
- 51.- Harding A.J. Gallstones Cause y Treatment. Ed. Williams
Heinemann. Médical Boox Limited London, 1964.
- 52.- Harper. Manual de Química Fisiologica. Ed. El Manual -
moderno S.A. 5.Ta. Edición. PP. 17,261-5,354-62.Mex. -
1976.
- 53.- Conn y Stumpf; Bioquímica Fundamental. Ed. Limusa 3 er.
edición.pp. 350-2 México. 1977.
- 54.- Stewart H. Gástric antiacids and Digestant. In: Goodman
and Gilman's; The Pharmacological Basis Of Therapeutics
Ed. Mac. Millan Publishing Co. Inc. 6 Ta, Edición. New
York, 1980.
- 55.- Avery G.S. Drug Treatment.Principles and Practice Of-
Clinical Pharmacology And Therapeutics. 2 a. Edición.
Ed. Adis Press Sydney And New York, 1980.
- 56.- Greten H. Lipoprotein Metabolism. Ed. Springer-Verlang/
Berlín Heildelberg New York, 1976.

- 57.- Dietschy J.M. Gotto A.M Jr. Ontko J.A. Disturbances in lipid and Lipoprotein Metabolism. Ed. Clinical Physiology Series. American Physiological Society. Bethesda, Maryland, 1978.
- 58.- Makin H.L.J. Biochemistry OF Steroid Hormones. Ed. Blackwell Scientific Publications. London, 1975.
- 59.- Lewis B: The Hiperlipidemias. Clinical And Laboratory-Practice. Ed. Blackwell Scientific Publications. London 1976.
- 60.- Ballin J.C. Ama Drug Evaluations. Ed. American Medical Association. 4 Ta. Edición. Cap. 60 pp. 1002-2 New York. 1980.
- 61.- Cooperberg P.L. Burhene H.J.: Real-Time Ultrasonography Diagnostic Technique of Choice in calculous gallbladder Disease. The New England Journal Of Medicine. 302 (23) 1277-78. June 5, 1980.
- 62.- Linden, W. y Sunzel, H: Acute Cholecystitis. Amer. J.-Surg. 120:7, 1970.
- 63.- Payne, R.A. Evaluation of the management of acute Cholecystitis. Brit. J. Surg. 56:200, 1979.

- 64.- Shaffer, E.A. Braasch, J.W. y Small, D.A.: Bile composition at and after surgery in normal persons and patient with gallstones. N. Eng. J. Med. 287: 1317. 1972.
- 65.- Kernahan, J. y Danzinger, R.G. Biliary Lipid composition after cholecystectomy. Ann R. Coll. Physicians and surgeons, 8:29, 1975.
- 66.- Freston, J.W. y Bouchier, I.A.D.: Experimental Cholelithiasis. Gut.9, 1968.
- 67.- Dam, H.: Determinants of Cholesterol Cholelithiasis in man and animals. Amer. J. Med. 51:596, 1971.
- 68.- Mosbache, E, H, y Bevans M: Early Pathological and biochemical changes in rabbits fed dihydrocholesterol. - Am. J. Pathol. 37:631, 1960.
- 69.- Fed. Regist Vol 33 (91) 69-67- 1968.
- 70.- Abell J. Biol. Chem. 195- 357- 366- 1952.