

11262



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado
Instituto Nacional de la Nutrición
Salvador Zubirán

Relación entre las concentraciones de insulina en
suero y el índice de saturación de colesterol biliar
en pacientes con litiasis vesicular

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

P r e s e n t a



SEGUNDO MORAN VILLOTA



Tutor: Dr. Misael Uribe Esquivel



Departamento de Gastroenterología y Clínica de
Higado, Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán

INNSZ

México, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

INDICE GENERAL

	Pagina
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Epidemiología	1
1.2. Composición de los cálculos biliares	5
1.3. Factores asociados	11
1.4. Fisiopatología	22
2. JUSTIFICACION	36
3 HIPOTESIS	36
4. OBJETIVOS	37
5. MATERIAL Y METODOS	37
5.1. Diseño	37
5.2. Sujetos y criterios de selección	37
5.3. Variables de interés	39
5.4. Ejecución del estudio	39
5.5. Métodos	39
5.6. Tamaño de la muestra	42
5.7. Análisis estadístico	43

	Pagina
6. RESULTADOS	43
6.1. Características clínicas	43
6.2. Tiempo de nucleación	44
6.3. Perfil de lípidos en suero	44
6.4. Concentraciones de glucosa en suero	45
6.5. Concentraciones de insulina en suero	46
7. DISCUSION	52
8. ETICA	55
9. BIBLIOGRAFIA	56
10. ANEXOS	68

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición de los cálculos biliares de colesterol	6
Cuadro 2. Composición de los cálculos biliares de pigmento	7
Cuadro 3. Característica de los cálculos de colesterol	9
Cuadro 4. Características de los cálculos de pigmento	9
Cuadro 5. Características clínicas y factores de riesgo para litiasis biliar	11
Cuadro 6. Causas de hipersecreción de colesterol biliar	29
Cuadro 7. Características clínicas y factores asociados	45
Cuadro 8. Perfil de lípidos en suero	47
Cuadro 9. Correlación entre las concentraciones de insulina en suero y el ISC	49

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1 Prevalencia de litiasis biliar en México	2
Figura 2. Historia natural de la litiasis biliar	4
Figura 3. Colecistografía oral	8
Figura 4. Distribución de la prevalencia de litiasis vesicular por sexo y edad	12
Figura5. Concentraciones de apolipoproteínas en suero en pacientes con litiasis vesicular	19
Figura 6. Principales componentes de la dieta en pacientes con litiasis vesicular	21
Figura 7. Composición de la bilis de acuerdo al porcentaje de solutos	22
Figura 8. Estructura de las sales biliares	23
Figura 9. Principales agregados de lípidos biliares	25
Figura 10. Regulación de la síntesis de colesterol hepático	27
Figura 11. Contracción vesicular en pacientes ancianos con litiasis vesicular	30
Figura 12. Principales mecanismos en la formación de calculos biliares de colesterol	34
Figura 13. Índice de saturación de colesterol	44
Figura 14. Índice de masa corporal e índice de saturación de colesterol	45
Figura 15. Índice cintura cadera e índice de saturación de colesterol	46
Figura 16. Areas bajo la curva de glucosa e índice de saturación de colesterol	47
Figura 17. Concentraciones de glucosa en suero	45
Figura 18. Areas bajo la curva de glucosa en suero	46

Figura 19.	Areas bajo la curva de insulina e índice de saturación de colesterol	50
Figura 20.	Índice glucosa insulina e índice de saturación de colesterol	50
Figura 21.	Concentraciones de insulina en suero	51
Figura 22.	Areas bajo la curva de insulina en suero	51
Figura 23.	Efectos de la insulina en la expresión del RNAm y transcripción de las enzimas HMG CoA reductasa, 7 α hidroxilasa y 27 hidroxilasa	53

INDICE DE ANEXOS

	Pagina
Anexo 1. Carta de consentimiento para pacientes	68
Anexo 2. Historia clínica	69
Anexo 3. Características demográficas de los pacientes con $ISC < 1$	70
Anexo 4. Características demográficas de los pacientes con $ISC \geq 1$	71
Anexo 5. Valor del ISC en los pacientes con $ISC < 1$	74
Anexo 6. Valor del ISC en los pacientes con $ISC \geq 1$	75
Anexo 7. Areas bajo la curva de glucosa e insulina en suero de los pacientes con $ISC < 1$	76
Anexo 8. Areas bajo la curva de glucosa e insulina en suero de los pacientes con $ISC \geq 1$	77

ad: Los anexos del 3 al 8 contienen los datos descriptivos de cada uno de los pacientes

INTRODUCCION

De acuerdo a los estudios de prevalencia realizados en México se calcula que actualmente existen aproximadamente 10.000.000 de personas con litiasis biliar (LB) y anualmente se practican alrededor de 150.000 colecistectomías , lo cual representa un gasto de más de 1500 millones de pesos (1); estas cifras reflejan el impacto de esta enfermedad en el sistema de salud y en la economía del país.

A pesar del problema que representa la LB ninguna de las estrategias existentes está orientada hacia la prevención primaria de la misma. Considerando que algunos de los factores asociados con el desarrollo de la LB pueden ser modificables, probablemente los cambios que incidan en estos factores permitan disminuir el desarrollo de cálculos biliares.

El avance en la prevención y tratamiento de la LB, se logrará con mejor comprensión de los factores de riesgo y la demostración de su relación con los eventos involucrados en la patogénesis de la enfermedad. Lo anterior sustentado en los resultados de ensayos clínicos que permitan dilucidar los complejos mecanismos que intervienen en la formación de los cálculos biliares (sobresaturación de la bilis por colesterol, nucleación y motilidad vesicular).

RESUMEN

Antecedentes: estudios experimentales sugieren que la insulina puede modular la síntesis de colesterol hepático mediante la inducción de la hidroximetilglutaril coenzima A reductasa y el bloqueo de la 7α hidroxilasa. Sin embargo, se desconoce si en los pacientes con litiasis vesicular (LV), de colesterol existe relación entre la concentración de insulina en suero y el grado de saturación de la bilis expresado en términos de índice de saturación de colesterol (ISC).

Objetivo: evaluar la relación entre las concentraciones de insulina en suero y el ISC en pacientes con LV.

Material y Métodos: se incluyeron 23 mujeres con diagnóstico de LV, vesícula funcionando y cálculos radiolúcidos en la colecistografía oral, candidatas a colecistectomía. Antes de la cirugía se determinaron concentraciones de insulina basal y después de una carga de 75 g de glucosa se continuaron las determinaciones cada 30 minutos durante tres horas. Se tomó muestra de bilis para la determinación del ISC durante la colecistectomía.

Resultados: la correlación entre las áreas bajo la curva de insulina (ABCI) y el ISC fue de 0.53 ($p < 0.05$), similar a la encontrada a los 30, 120 y 180 minutos, después de la carga de glucosa (coeficiente rho de 0.42, 0.56 y 0.48 respectivamente). La mediana de las ABCI de los pacientes con $ISC < 1$ ($n=10$; $ABCI=3026 \mu U/mL/h$) fue significativamente menor ($p < 0.05$) que la de los pacientes con $ISC \geq 1$ ($n=13$; $ABCI=5088 \mu U/mL/h$).

Conclusion: los resultados sugieren que la hiperinsulinemia en los pacientes con LV es uno de los factores que determina sobresaturación de la bilis por colesterol.

1. ANTECEDENTES

1.1. EPIDEMIOLOGIA

1.1.1. Prevalencia

La prevalencia de LB varía ampliamente en el mundo, y aún los índices de prevalencia difieren entre poblaciones de un mismo país (2). En el continente americano, la coleditiasis es una de las causas principales de enfermedad en países como en Chile y Bolivia (3). En los Estados Unidos, se ha informado una alta prevalencia de LB en la población mexicano-americana y entre algunas tribus de indios como los Chipewa y Pimas (4-5).

1.1.2 . Estudio en material de autopsia

La prevalencia de LB en México se investigó a través del muestreo a 21446 necropsias realizadas en el Departamento de Patología del Hospital General de la Ciudad de México durante un periodo de 25 años (1953-1988). Para cada década, fueron seleccionadas aleatoriamente 1000 necropsias. La prevalencia cruda de LB fue de 14.3% (8.5% para los hombres y 20.4% para las mujeres). No se encontró incremento significativo en la prevalencia de LB cuando se compararon las diferentes décadas (6). La prevalencia informada en este estudio es intermedia entre los altos índices reportados en Chile y los bajos encontrados en algunos países africanos. Además, es similar a la encontrada en estudios de necropsia realizados en algunos países europeos como Alemania (7-9).

1.1.3. Estudio con ultrasonido

El advenimiento de la ecografía ha jugado un papel importante en el diagnóstico de litiasis vesicular (LV) y actualmente se considera la mejor herramienta diagnóstica para estudios epidemiológicos, debido a su alta sensibilidad y especificidad, en comparación con los procedimientos tradicionales de rayos X; y por tratarse de un método simple, seguro y no invasivo.

Dos estudios iniciaron la era ecográfica: el GREPCO y el de Sirmione en Italia, en los que se encontró una prevalencia de LV del 9.4% y 8%, respectivamente (10-11).

El primer estudio realizado en México con el propósito de conocer la prevalencia de LV mediante diagnóstico ecográfico se realizó en un grupo urbano, adulto, de nivel socio económico medio y medio alto de la ciudad de México, que incluyeron 2106 personas. Se encontró una prevalencia general de 8.8% (7.2% en hombres y 13.6% en mujeres) (figura 1) (12) que comparada con la prevalencia encontrada en la población de origen mexicano residente en los Estados Unidos (23.2% en mujeres y 7.2% en hombres) (13-15) en estudio similar, difiere únicamente en el grupo de mujeres.

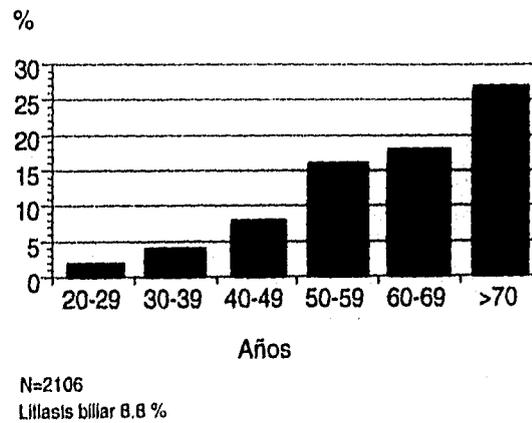


Figura 1. Se muestra la prevalencia de litiasis vesicular, determinada por ultrasonido, en un grupo del estrato socioeconómico medio alto de la ciudad de México.

La diferencia si bien se podría atribuir a los nuevos factores ambientales y dietéticos de los México-americanos en los Estados Unidos, esto no explicaría el por qué esta diferencia esté dada únicamente en el grupo de las mujeres con LV. De todas maneras, este estudio confirma la mayor

predisposición de la mujer para presentar LV, y tal parece que si bien la raza y el estrato socioeconómico son factores determinantes en la prevalencia (16) la mayor frecuencia de LV entre las mujeres se conserva en los diferentes grupos étnicos y entre estratos socioeconómicos. Aún con la limitación principal de que sólo se estudió un grupo selecto de todos los estratos de la población mexicana, estos resultados pueden servir como referencia para detectar cambios temporales en la prevalencia LV en este estrato y para compararlos con los resultados de estudios similares de otros países.

1.1.4. Historia natural de la litiasis vesicular

Recientemente, los estudios de historia natural (figura 2) de los cálculos biliares han recibido considerable atención debido a los siguientes hechos:

- 1) la ultrasonografía ha permitido identificar cálculos biliares incidentalmente,
- 2) el manejo racional de los pacientes con LV dependerá del conocimiento de la historia natural de la enfermedad,
- 3) la disponibilidad de alternativas no quirúrgicas, tales como los ácidos biliares litolíticos, solventes locales y litotripsia extracorpórea.

La literatura informa que hasta un 50% de las personas con LV asintomática desarrollarán síntomas biliares o complicaciones (16). Los estudios que se han llevado a cabo en los últimos 40 años han tratado de definir la historia natural de la LV desafortunadamente, no han cumplido con los siguientes criterios para determinar la historia natural: una cuidadosa definición de la población en riesgo, una cohorte grande de sujetos, períodos prolongados de seguimiento, y principalmente, caracterización inequívoca de lo que se está midiendo. En muchos casos, los síntomas dispépticos se agrupan junto con los síntomas biliares. Existen casos en los cuales los síntomas aparentemente biliares no están relacionados con la presencia de cálculos biliares. La mayoría de los estudios han agrupado a los sujetos con LV realmente asintomática con los sujetos con síntomas infrecuentes o leves. El problema es la definición de "síntomas biliares" y de "cólico biliar". El cólico biliar se define como dolor en el hipocondrio derecho o en el epigastrio que dura más de media hora. Cuando es grave, el dolor puede causar náusea, vómito, fenómenos vasomotores; en 10 a 20% de los pacientes elevación de aminotransferasas, bilirrubina, fosfatasa

alcalina y gammaglutamil transpeptidasa, y en 5% de los casos pueden advertirse rasgos clínicos de colestasis, tal como la coluria.

La historia natural de la LV en pacientes que no tienen historia de dolor biliar o complicaciones es crucial para decidir si los cálculos asintomáticos deben ser tratados profilácticamente. Uno de los hechos más importantes es que la historia natural de los cálculos biliares parece ser benigna. De hecho, hay estudios que demuestran que la incidencia de cólico biliar varía de un 0.5 a un 4% en un tiempo de 5 a 24 años (16). Sin embargo el estudio Sirmione (11) demostró una alta frecuencia de desarrollo de síntomas en sujetos asintomáticos después de 5 años, (15.9% en 5 años); la mayoría de los síntomas se detectaron durante los primeros dos años, y en menor porcentaje posteriormente. La observación de que la probabilidad anual para desarrollar complicaciones biliares disminuye con el tiempo fue corroborada también en un estudio de la Universidad de Michigan, en la que el riesgo de desarrollar síntomas disminuyó del 2% anualmente durante los primeros 5 años a 0.5% por año durante el tercer lustro de observación.

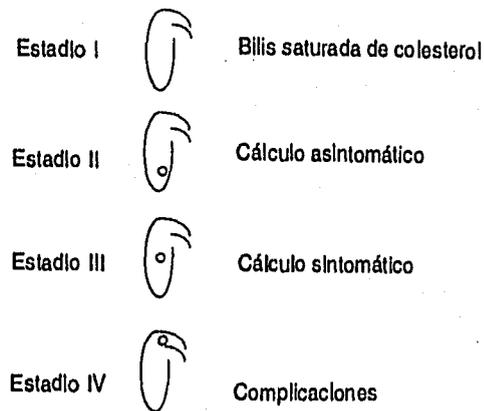


Figura 2. Se muestra la historia natural de la litiasis vesicular. Actualmente se considera que hasta el 50% de los pacientes desarrollan síntomas o complicaciones relacionadas con la presencia de litiasis vesicular después del diagnóstico.

Los estudios disponibles demuestran que ni el sexo, la edad, el tamaño, número y composición de los cálculos o la no visualización de la vesícula biliar tienen un valor predictivo en el desarrollo de síntomas. Por otra parte, muy pocos estudios refieren la forma de presentación de los síntomas en términos de cólico biliar o complicación biliar.

1.2. COMPOSICION DE LOS CALCULOS BILIARES

El interés por la determinación de las características físico-químicas de los cálculos biliares se renovó con la disponibilidad de terapias no quirúrgicas, tales como ácidos biliares litolíticos (urso y quenodesoxicólico), solventes locales (metil-terbutil-éter) y la litotricia extracorpórea con ondas de choque. Actualmente uno de los criterios para la elección de una terapia determinada es el conocimiento previo de la de composición y características físicas de los cálculos.

1.2.1. Clasificación

1.2.1.1. Cálculos de colesterol (cuadro 1)

- a) Puros, cuando el contenido de colesterol es mayor a 90%.
- b) mixtos cuando es de entre 50 y 90%.

Estos litos contienen pocas cantidades de sales de calcio, además de cantidades variables de macromoléculas tales como mucinas, glicoproteínas y otras proteínas (17,18).

2.1.1.2. Cálculos pigmentarios (cuadro 2)

Con contenido de colesterol menor a 50%, que a su vez se subclasifican en:

- a) Cálculos puros de pigmento, llamados también de pigmento negro, que se encuentran localizados generalmente en la vesícula biliar y se asocian primariamente con fenómenos de estasis. Son frecuentes en personas de edad

avanzada, en anemia hemolítica, cirrosis y alimentación parenteral total por más de 4 a 6 semanas de duración, entre otros.

b) Cálculos de bilirrubinato o de pigmento café, los cuales son encontrados predominantemente en la vía biliar y se supone que se forman secundariamente a cambios en la movilidad ductal y están asociados casi siempre con infección por bacterias entéricas, *Escherichia coli*, en la mayor parte de los casos (19). Un componente constante en los núcleos de los cálculos de pigmento café es la ramnosa, un carbohidrato de origen bacteriano (gram negativo). Por lo general, en los cálculos de pigmento negro no se encuentran ni bacterias ni ramnosa (20-23).

Cuadro 1. Composición de los cálculos biliares de colesterol

Componente	% total de sólidos
Colesterol (monohidrato, anhídrido, colesterol II)	95.7
Esteres de colesterol	1.2
Bilirrubina	0.8
Otros: Ácidos biliares, Fosfolípidos, Ca, P, Na, K, Cu, Mg, Fe, Ácidos grasos libres (esteárico, palmítico) Proteínas, mucopolisacáridos	2.3

Cuadro 2. Composición de los cálculos biliares de pigmento (%del peso seco)

Componente	Negros	Cafés
Bilirrubinato de calcio	9 - 80	28 - 79
Fosfato de calcio	0 - 30	0 - 1
Carbonato de calcio	0 - 40	0
Sales cálcicas de ácidos grasos	raro	12 - 67
Colesterol	1 - 11	2 - 28
Sales biliares	2	2
Mucina	10 - 30	5 - 15
No medibles (Incluyendo péptidos, glucosaminoglicanos y otros)	10 - 30	10 - 30

Para la determinación exacta de los componentes de un cálculo biliar, se utilizan estudios como la difracción de rayos X, la espectroscopía con rayos infrarrojos, el análisis en el microscopio electrónico, las radiografías de secciones ultrafinas o bien técnicas de tinción semejantes a las que se utilizan en histoquímica (24). Sin embargo, éstos métodos se aplican sobre litos que ya han sido extraídos de las vías biliares y su interés es puramente académico.

En la evaluación preterapéutica del paciente, se pueden emplear estudios radiológicos con el fin de determinar la composición de los cálculos biliares. En la colecistografía oral (figura 3) el hallazgo de un cálculo radiolúcido que además flota en la bils, orienta hacia una composición básicamente de colesterol (25) y el encontrar un cálculo radio opaco sugeriría un cálculo pigmentario o bien con un componente importante de calcio.

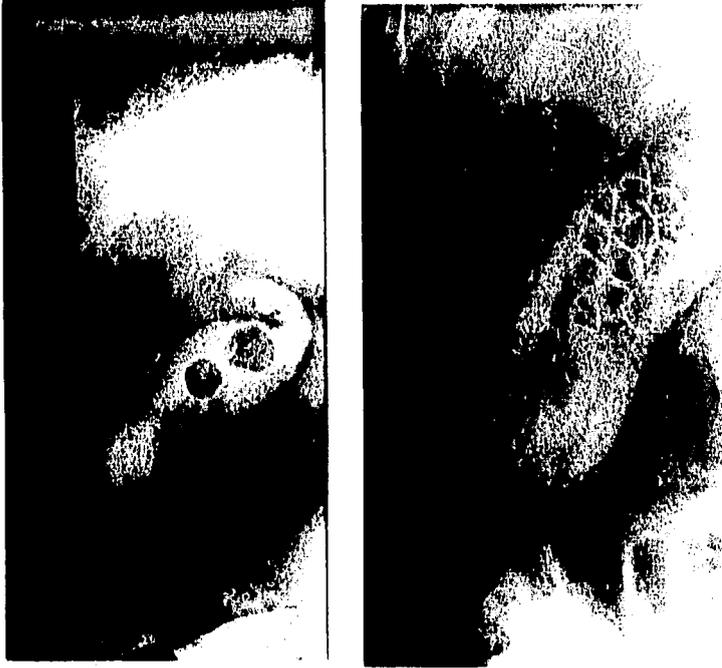


Figura 3. En la colecistografía (A) se observan dos imágenes radio lúcidas correspondientes a cálculos de colesterol y en la (B) múltiples cálculos mixtos con anillo calcificado en la periferia.

También se ha utilizado la tomografía axial computarizada (TAC) (24), en la cual la forma, la presencia de calcificaciones, la existencia de cálculos secundarios pequeños y la densidad en unidades Hounsfield orientan hacia la posible composición de los cálculos.

Pese a ser altamente sensible para la detección de litos biliares, el estudio ultrasonográfico no brinda la capacidad de discernir la composición de los mismos.

Al igual que en la mayoría de los países del mundo occidental, los cálculos de colesterol son los más frecuentes en la población Mexicana y representan aproximadamente el 85% de los casos de LB (1).

Los cálculos de pigmento predominan en Asia y son menos frecuentes en nuestro medio (26), se encuentran en el 15% de los pacientes y están compuestos principalmente de sales de calcio (bilirrubinato, carbonato y fosfato de calcio) y sales de calcio de ácidos grasos.

1.2.2. Hallazgos macroscópicos

Los cálculos biliares extraídos de una misma persona, cuando se observan en un corte transversal, son idénticos en cuanto a su tamaño y características estructurales. No es común encontrar diferentes tipos de cálculos en una misma vesícula biliar, de manera que generalmente se encuentra un solo tipo de cálculo, ya sea de colesterol o de pigmento. Los cálculos en la mayor parte de los casos, mantienen su composición durante el período de crecimiento, sin embargo se pueden observar algunas diferencias en su composición que les dan una apariencia estratificada o de capas. Los cálculos de pigmento negro generalmente no tienen capas, a diferencia de lo observado en los cálculos de colesterol. La formación de los cálculos de colesterol y de pigmentos son mutuamente excluyentes ya que las condiciones de la vesícula biliar generalmente favorecen la formación de un solo tipo de cálculo.

Cuadro 3. Características de los cálculos de colesterol

	Puros	Mixtos
aspecto	amarillo	amarillo-facetado
número	solitarios	múltiples
tamaño	>2.5cm	<2.5cm
localización	vesícula biliar	vesícula biliar
radiosensibilidad	radiolúcidos	radiopacos
composición	>90% colesterol	<90% colesterol

El encontrar cálculos múltiples pero de igual tamaño implica que las condiciones que favorecen su formación, involucran a toda la superficie mucosa de la vesícula biliar (27). Posteriormente, cuando los cálculos ya se han establecido, pueden continuar su crecimiento pero ya no se forman nuevas piedras (28).

En algunos cálculos se observan capas que se localizan en una misma posición, lo que sugiere que durante el crecimiento de los cálculos, las condiciones involucradas en la composición del cálculo cambian con el tiempo.

Cuadro 4. Características de los cálculos de pigmento

	Bilirrubinato	Puros de pigmento
aspecto	café	negro
número	múltiples	múltiples
tamaño	<2 cm	< 1cm
localización	conductos biliares	vesícula biliar
radiosensibilidad	radiolúcidos	50% radiopacos
composición	bilirrubinato de calcio 50%	polímeros de bilirrubina 40%

1.2.3. Hallazgos microscópicos

En el núcleo y en los anillos concéntricos de los cálculos de colesterol, se encuentran cantidades mínimas de pigmento. La microscopía electrónica (29) revela que en los cálculos de pigmento negro, las sales de calcio, se presentan en forma de bastoncillos (30), diferente a la imagen que ofrecen las sales de calcio de los cálculos de colesterol.

Los cálculos de pigmento cafés, contienen capas de bilirrubinato de calcio alternadas con capas de sales de calcio de ácidos grasos que físicamente son diferentes a las capas de bilirrubinato de calcio observadas en los cálculos pigmentarios negros. Cada uno de los tres tipos de cálculos, aún cuando tienen componentes similares (bilirrubinato de calcio), se encuentran en diferentes formas, lo cual sugiere una patogenia diferente para cada caso.

1.3. FACTORES ASOCIADOS

El estudio de la LB ha permitido identificar los factores que se asocian con el desarrollo de cálculos biliares. A continuación se discutirán los principales factores de riesgo para el desarrollo de cálculos de colesterol, los cuales también se han estudiado en la población Mexicana (cuadro 5)

Cuadro 5. Características clínicas y factores de riesgo para litiasis biliar

Factor asociado	CON LB n=186	SIN LB n=1920	Valor de p
Edad (años)	51±11	43±11	<0.0001*
IMC	26±3	25±3	<0.02*
Gestas	3±3	2±2	NS*
Sexo (femenino)	38%	23%	<0.0001**
Tabaquismo	52%	52%	NS**
CEA	5%	5%	NS**
Diabetes mellitus	3%	2%	NS**
Hipertensión arterial	6%	6%	NS**

LB=litiasis biliar

CEA=consumo excesivo de alcohol

*Determinados con la prueba T de Student

**Determinado con la prueba χ^2

IMC=índice de masa corporal

NS= No significativo

1.3.1. Edad

Tanto la prevalencia como la incidencia de la litiasis vesicular aumentan con la edad. Ocasionalmente se encuentran cálculos biliares en niños, y en este grupo etario se asocian principalmente a enfermedades hemolíticas. Comparando los resultados de varios estudios, menos del 5% de las colecistectomías se realizan en personas menores de 20 años de edad (31-33).

La prevalencia de LB aumenta a medida que progresa la edad. El estudio Framingham demostró que tanto la prevalencia como la incidencia de la enfermedad vesicular aumentan con la edad y que la mayoría de las personas con cálculos biliares se encontraban entre la sexta y la séptima décadas de la

vida. En años recientes, tanto los estudios de el GREPCO, Sirmione y el realizado en la ciudad de México (11-12,16), han demostrado que la prevalencia de LV aumenta con la edad en ambos géneros (figura 4) (12).

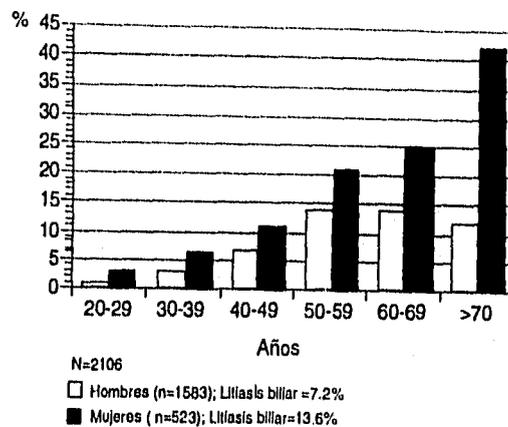


Figura 4. La gráfica muestra el incremento de la prevalencia de litiasis vesicular, de acuerdo a la edad, en estudio realizado en la ciudad de México.

En el estudio Sirmione la incidencia calculada en un período de 5 años fue aproximadamente cuatro veces mayor en el intervalo de edad de 40 a 69 años que en sujetos más jóvenes. Cabe destacar que el punto de corte entre la incidencia relativamente baja y la alta parece ser los 40 años. El riesgo de desarrollar litiasis biliar es realmente mucho más elevado en las personas de edad avanzada que en otros grupos etarios(11,16). En los estudios realizados en México, se observó que la prevalencia de litiasis vesicular en personas mayores de 60 años alcanza el 43% en autopsias y 27% en el estudio con ultrasonido (7,12).

Se considera que la edad avanzada condiciona el desarrollo de LB por diversos factores: (31):

- 1) Estasis vesicular, favorecida por la disminución en la ingesta de alimentos, vida sedentaria, disminución de la función motora de la vesícula biliar o una reducción en la producción de colecistoquinina.
- 2) Mayor viscosidad de la bilis vesicular que tiende a modificar las estructuras de un estado coloidal hacia otras de tipo gel.
- 3) Disminución de la ingesta de alimentos que reduce la secreción biliar y altera el índice de saturación de colesterol biliar (ISC).
- 4) Falta de influencia reguladora de las hormonas sexuales
- 5) Disminución de la síntesis de la enzima 7α -hidroxilasa, con lo que disminuye la conversión de colesterol hacia ácidos biliares, resultando en una hipersecreción de colesterol e hiposecreción de ácidos biliares.

1.3.2. Género

La mayoría de los estudios epidemiológicos han demostrado que, al menos en el mundo Occidental, las mujeres presentan mayor frecuencia de litiasis biliar que los hombres. Sin embargo, la relación mujer/hombre parece variar con el tiempo; así, los primeros estudios demostraron una relación de 4-6:1 y en años recientes la relación parece haber disminuido 2:1 (16). En los grupos de edad avanzada la prevalencia de mujeres y hombres es similar y considerando únicamente las personas con cálculos pigmentarios, la proporción femenino-masculino es aproximadamente 1:1. En México, la proporción informada es de 2-3:1 (6,12).

Hasta la fecha, las causas de las diferencias relacionadas con el género en la prevalencia de los cálculos de colesterol no están completamente dilucidadas. Se considera que las hormonas sexuales y los cambios metabólicos durante el embarazo pueden inducir alteración de la secreción biliar de colesterol y/o motilidad de la vesícula biliar.

1.3.3. Factores genéticos

Sin lugar a dudas, tanto los estudios en autopsias como en población abierta han demostrado claramente la existencia de diferencias raciales en lo que se refiere a la prevalencia de litiasis biliar (34). Aunque algunas de estas diferencias podrían explicarse a partir de factores ambientales, como lo demuestra el aumento en la prevalencia que se observó en Japón después de la Segunda Guerra Mundial, la cual indudablemente se asoció con la occidentalización del país, o por el cambio en la prevalencia después de la inmigración hacia países de alta prevalencia (35)

Sin embargo, existe evidencia de una predisposición para la LB en algunos grupos étnicos, por ejemplo en la población chilena la prevalencia promedio alcanza el 50% y en algunas tribus americanas más del 70% de las personas tienen LB al pasar los 50 años de edad, ésta, posiblemente representa la mayor prevalencia detectada en el mundo (36). La herencia como responsable de la concentración de casos en las familias de pacientes con LB, se ha sugerido teniendo en cuenta los casos detectados durante la juventud (37).

En el estudio de Sirmione, el riesgo relativo de los cálculos biliares fue significativamente mayor (RR 3.3; 95% CL = 0.97-11.47) en hijos e hijas de padres con litos, controlando otros factores confusores como la edad (38). No obstante los resultados de estos estudios, aunque no comprueban la importancia real de los factores genéticos en la LB, no excluyen su asociación con la enfermedad. Los factores genéticos y ambientales no son mutuamente excluyentes y pueden coexistir. Se espera que en el futuro el empleo la ultrasonografía en conjunción con estudios de genética molecular ayuden al esclarecimiento de este interrogante.

13.4. Medicamentos

1.3.4.1. Anticonceptivos hormonales

Se sabe que ciertos medicamentos pueden elevar la saturación de la bilis y, por tanto incrementar el riesgo de desarrollar cálculos biliares.

En la década de los setentas, algunos estudios demostraron mayor frecuencia de LB (basado en la colelitiasis diagnosticada y/o colecistectomía) en mujeres de 20 a 34 años de edad que empleaban anticonceptivos orales. El riesgo no correlacionó con el tiempo de utilización de los mismos (39-40)

Se considera que el riesgo aumenta únicamente durante los primeros años de utilización de los anticonceptivos, el cual se duplica cuando los anticonceptivos contienen 100 o 150 μg de estrógenos en comparación con preparaciones con 50 μg (41).

En el estudio de casos y controles de Scragg (42), el uso de anticonceptivos hormonales se asoció a un mayor riesgo en las mujeres jóvenes que en las mujeres mayores. Tanto el estudio del GREPCO como el de Sirmione (11,16), en los cuales se estudiaron con ultrasonido 1081 y 1047 mujeres respectivamente, no se encontraron diferencias en la frecuencia de litiasis biliar entre las mujeres que empleaban anovulatorios y aquellas que nunca los habían usado. Finalmente, un estudio transversal de LB por ultrasonografía realizado por Jorgensen en población danesa (43) encontró en el análisis univariado una asociación entre el empleo de anticonceptivos hormonales y mayor riesgo en las mujeres de mayor edad respecto a las mujeres jóvenes.

La posible asociación entre el empleo de anticonceptivos hormonales y el desarrollo de LB podría estar condicionada por el incremento en la secreción de colesterol, disminución de la secreción de ácidos biliares y alteraciones en el vaciamiento vesicular causados por los anticonceptivos (44) sin embargo otros autores no han confirmado estos hallazgos.

Solo el estudio en una cohorte de mujeres que empleen dosis diferentes de los medicamentos permitiría aclarar el efecto de los anovulatorios sobre el desarrollo de LB.

1.3.4.2. Otros medicamentos

El clofibrato y otros medicamentos empleados para el control de las hiperlipidemias incrementan la saturación biliar por incremento en la secreción del colesterol biliar y decremento en la síntesis de ácidos biliares (45).

1.3.5. Multiparidad

Los estudios de GREPCO y Sirmione (10,16) han demostrado que existe incremento en el riesgo conforme aumenta el número de embarazos. Al parecer esta asociación está determinada principalmente por los cambios en la composición de la bilis y en la motilidad que ocurren durante el embarazo.

En el tercer trimestre del embarazo la bilis es sobresaturada con colesterol y algunas semanas después del parto la composición de la bilis vuelve a ser normal. En Chile se encontró que la frecuencia de LB en el primer trimestre del embarazo era de 3.1% vs un 11.2% inmediatamente después del parto. Hasta 40% de las mujeres desarrollan todo biliar durante el embarazo (46) y también se ha observado que las mujeres que desarrollan cálculos biliares pequeños (<10 mm) en este período, tienden a disolverlos pocas semanas después del parto (46). El Índice de Saturación de Colesterol (ISC) y el volumen vesicular son mayores durante el embarazo (46).

Es conocido que durante el embarazo aumenta la producción de progesterona, la cual inhibe la actividad de la enzima ACAT, además de favorecer la estasis de la bilis particularmente en la segunda mitad del embarazo.

1.3.6. Obesidad

La obesidad se ha identificado como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de LB. La asociación entre la obesidad (IMC >25) y la LB se ha documentado en múltiples estudios de diferentes países del mundo. Se sabe que el riesgo para LB en los pacientes obesos se duplica o triplica sobre todo cuando el peso corporal de los mismos es mayor del 25% de su peso ideal (47), además, se ha encontrado que a mayor grado de obesidad, la asociación con la LB se hace más fuerte.

En Inglaterra, Scragg encontró que el IMC entre pacientes que presentaban cálculos biliares era mayor en las mujeres que en los hombres (48). En los estudios de Jorgensen en Dinamarca, de Diehl en EUA y el GREPCO en Italia se encontró correlación positiva entre el IMC y la presencia de LB en mujeres pero no en hombres (49-50).

También, se ha observado que las mujeres que desarrollan cálculos vesiculares presentan un mayor grado de obesidad que las mujeres obesas sin cálculos vesiculares. En el estudio Sirmione de Italia y el de Hanis en Texas (EUA), encontraron que tanto en hombres como en mujeres de ascendencia mexicana que padecían LV, existía un mayor IMC, comparado con sujetos controles sin cálculos (6,11).

En un estudio realizado en la Ciudad de México en 1000 pacientes con LV provenientes de diferentes estratos socioeconómicos, se encontró un IMC mayor a 25 en 70% de los pacientes.

1.3.6.1. Subtipos de obesidad

La sola determinación del IMC no se considera suficiente para caracterizar a la obesidad, actualmente se tiene en cuenta la distribución del tejido adiposo por medio del índice cintura/cadera (ICC = perímetro cintura/perímetro cadera) en dos tipos: la obesidad de segmento superior, caracterizada por mayor acumulación de tejido adiposo en hombros, abdomen y dorso del cuello y la de segmento inferior con adiposidad predominantemente en la áreas glútea y femoral (51). Existe evidencia de que la obesidad de segmento superior se asocia con otros padecimientos metabólicos degenerativos tales como la hipertensión arterial, diabetes (52) y LB (53) y se acompaña de incremento de las concentraciones en suero de insulina, triglicéridos, glucosa y con disminución de las lipoproteínas de alta densidad (53).

Se ha propuesto que la asociación entre obesidad y LB se debe a que en en estos pacientes se puede detectar una sobresaturación biliar de colesterol. Este factor por se predispone a la formación de LB. Sin embargo, no en todos los obesos se desarrollan cálculos, se requiere de otras condiciones que pueden o no estar presentes, por ejemplo: El predominio del efecto de los factores que promueven la precipitación y cristalización del colesterol (nucleantes) sobre los factores antinucleantes (54-55) y/o la presencia de hipomotilidad vesicular (56). Por otro lado, el hecho de que la asociación entre obesidad y litiasis se fortalezca a medida que es mayor la primera se podría

explicar por la relación entre la obesidad y el mayor grado de saturación de la bilis por colesterol.

1.3.7. Diabetes Mellitus

Estudios en autopsias indican que la prevalencia de LB se encuentra elevada en sujetos diabéticos (57) sin embargo, los estudios epidemiológicos llevados a cabo in vivo, han arrojado resultados contradictorios aún estudiando una misma población. Sampliner (3) entre los indios Pima no encontró una asociación entre la diabetes y LB, en tanto que en la misma población, Knowler y cols. (58) no sólo encontraron una relación entre LB y diabetes, sino también con intolerancia a la glucosa. Diehl y cols. (59) también han informado que las mujeres diabéticas México-americanas, blancas o de color, tenían una mayor prevalencia de LB que los sujetos no diabéticos, controlando otros factores de riesgo como edad y obesidad.

En contraste, en los dos estudios Italianos (GREPCO y Sirmione) (11,16) no observaron una asociación entre la diabetes y la LB.

La inconsistencia en los resultados podrían estar relacionadas con problemas metodológicos, si se tiene en cuenta, que los criterios diagnósticos para la diabetes son diferentes en cada uno de los estudios. Algunos están basados solamente en la diabetes diagnosticada; otros, como el estudio entre los Pima incluyó la realización de una curva de tolerancia a la glucosa y tanto en GREPCO como el de Sirmione se consideraron como diabéticos a los sujetos con historia de diabetes o bien con una glucemia basal mayor a 140 mg/dL. Un segundo problema se refiere al diagnóstico de la LB, el cual en la mayoría de los estudios publicados correspondió a casos sintomáticos que no son representativos de la verdadera prevalencia de la enfermedad.

La causa de LB como complicación de diabetes mellitus aún no se ha establecido. Entre los factores propuestos está la disminución de la contracción vesicular especialmente en aquellos con neuropatía autonómica.

1.3.8. Hiperlipidemia

Se ha considerado que el desarrollo de cálculos de colesterol se asocia con las Hiperlipidemias del tipo IIB y IV, cuya característica común es la elevación de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos (60-61). Sin embargo, los resultados de los estudios acerca de la relación entre las concentraciones de los lípidos plasmáticos y la presencia de LB no son totalmente concluyentes, probablemente debido a los diferentes métodos y diseños empleados.

Entre otros resultados, se ha informado de la presencia de concentraciones elevadas de triglicéridos en plasma, así como de relación inversa de las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el riesgo para desarrollar LB (62). En un estudio de casos y controles en población de la ciudad de México no se encontró diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad de los pacientes con LV y los controles y en el 60% de los pacientes con LV las concentraciones de los lípidos plasmáticos se encontraron dentro de los intervalos de referencia (63). En otro estudio no se encontró diferencia en la concentración de lípidos, lipoproteínas y apolipoproteínas A1 y B (figura 5)(64).

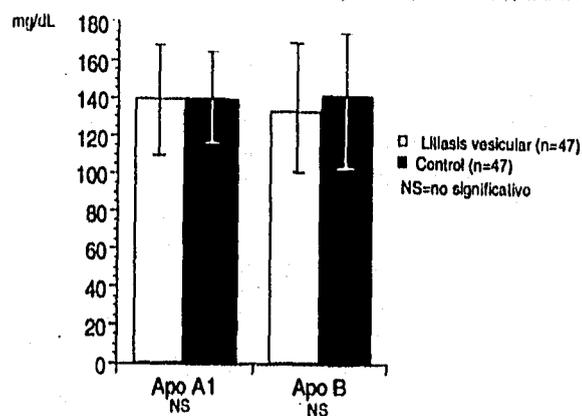


Figura 5. Las concentraciones de apolipoproteínas en suero de pacientes con litiasis vesicular y controles pareados por edad, sexo o IMC fueron similares.

1.3.9. Cirugía Gastrointestinal

Se considera que el desarrollo del LB se presenta después de resección gástrica o vagotomía troncular (65-66) a consecuencia de uno o la combinación de los siguientes eventos: hipotonicidad de la vesícula biliar, disminución en la producción de colecistocinina, formación de adherencias posquirúrgicas o hipertensión en el asa aferente.

La LB también se ha asociado a enfermedades del íleon terminal (67). Se consideraba que por la pérdida de sales biliares se aumentaba la saturación de bills con colesterol. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que después de la resección ileal se disminuye el ISC, se incrementa la concentración de bilirrubina no conjugada y de calcio, lo cual conduce al desarrollo de cálculos pigmentarios y no de colesterol como se había considerado inicialmente (68-69).

1.3.10. Consumo de alcohol

De acuerdo a los estudios existentes a la fecha, el efecto del consumo de alcohol sobre el desarrollo de LB parece relacionado principalmente con la cantidad que se ingiere (48,70). Estudios experimentales y clínicos han demostrado que el consumo de alcohol tiene un efecto protector en el desarrollo de LB cuando se consumen cantidades bajas (5-10 g) de alcohol por día, en cambio el consumo diario de 40 g se asoció con un mayor riesgo para LB. Es posible que a mayor consumo de alcohol, se pierda este efecto protector del alcohol y por el contrario se predisponga al desarrollo y a la aparición de síntomas en los pacientes con LB.

1.3.11. Dieta

Se ha considerado que uno de los factores que determina diferencia en la prevalencia de la LB es la composición de la dieta, lo cual puede ejemplificarse en su baja prevalencia en algunos países africanos donde la dieta consiste básicamente en vegetales, por tanto, su contenido en fibra es alto; por el contrario, en otros grupos étnicos se ha observado un incremento en la prevalencia de la LB como es el caso de la población méxico-

norteamericana, en donde la composición de su dieta es similar a la de los países occidentales, la cual se caracteriza por ser rica en colesterol, grasas saturadas, abundante en hidratos de carbono de utilización rápida y con mínimo contenido de fibra vegetal. Se sabe que en las personas con predisposición para LV, la ingesta de dietas hiperenergéticas promueven la formación de cálculos biliares a través de aumento en la secreción de colesterol hepático lo cual incrementa la saturación de la bilis (71-73). En México no se encontró diferencias significativas en el consumo de los principales componentes de las dietas entre los pacientes con LV y los controles (figura 6) (74).

El consumo de fibra en ambos grupos fue bajo (menos de 20 g/día) (75). Se ha demostrado que las dietas sin fibra disminuyen la síntesis de ácidos biliares en ratas y en el hombre, además elevan el colesterol sérico y biliar lo que ha permitido suponer con dietas bajas en fibra puede disminuir la síntesis de ácidos biliares.

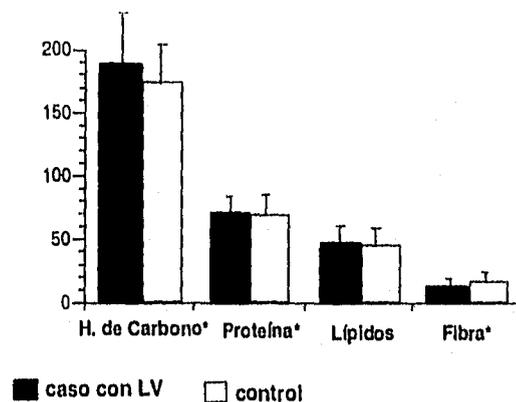


Figura 6. Se muestra los principales componentes de la dieta. No se encontró diferencias significativas al comparar la dieta de pacientes con litiasis vesicular y controles. Llama la atención el bajo consumo de fibra en ambos grupos.

La adición de fibra a la dieta, además de disminuir el colesterol (76-78) tiene la capacidad de fijar ácidos biliares, acelerar la velocidad de tránsito intestinal disminuyendo su exposición a la superficie de absorción y aumentando se excreción fecal. De esta manera el hígado sintetiza más ácidos biliares a través de un sistema de retroalimentación, conservando concentraciones normales en la circulación enterohepática.

1.4. FISIOPATOLOGIA

1.4.1. Clases de lípidos en la bilis

La bilis humana (79) es una solución en la que los principales solutos son las sales biliares, los fosfolípidos y el colesterol (figura 7) . Las sales biliares (figura 8) son una familia de esteroides hidrosolubles derivados del catabolismo hepático del colesterol. El término "ácidos biliares" con frecuencia se usa indistintamente con el de sales biliares, aún cuando los ácidos (que no tienen carga) y las sales (que están ionizadas) tienen diferentes propiedades fisicoquímicas (80) . Estructuralmente las sales biliares tienen un núcleo esteroideo compuesto por cuatro anillos de hidrocarburos fusionados por medio de grupos hidroxilo y una cadena lateral unida por un enlace amida (peptídico) a los aminoácidos glicina o taurina (81).

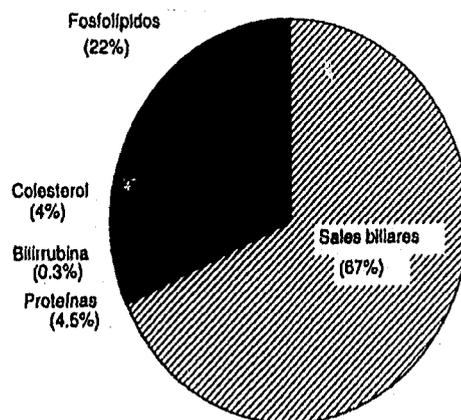


Figura 7. Se muestra la composición de la bilis de acuerdo al porcentaje de solutos.

Las sales biliares son llamadas "anfipáticas " porque tienen tanto una superficie hidrofílica (polar) como una hidrofóbica (no polar). El extremo ionizado de la cadena y los grupos hidroxilo constituyen la superficie hidrofílica mientras que los anillos de hidrocarburos forman la superficie hidrofóbica (figura 8).

Debido a que las regiones hidrofílicas de estas moléculas predominan sobre las regiones hidrofóbicas, estas sales son hidrosolubles, las sales biliares son consideradas como anfipáticas solubles. Estructuralmente, las sales biliares difieren entre sí por el número, la posición y la orientación de los grupos hidroxilo, y metabólicamente difieren en sus mecanismos de formación. Las sales biliares primarias en el hombre (colato y quenodesoxicolato) se sintetizan en el hígado. Las sales biliares secundarias (desoxicolato y litocolato) se derivan de las sales biliares primarias con ayuda del metabolismo bacteriano en el ileon distal y colon. Las sales biliares terciarias (principalmente ursodesoxicolato y sulfolitocolato) son el resultado de las modificaciones posteriores que sufren las sales biliares por bacterias o el propio hígado.

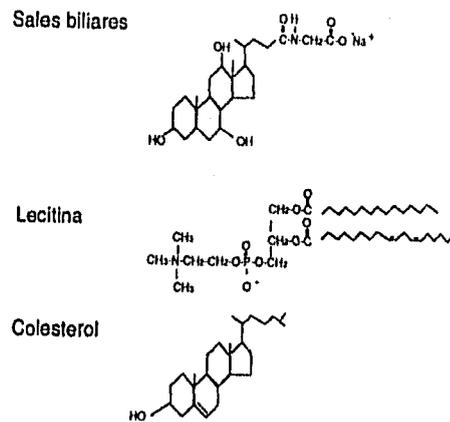


Figura 8. Se indica la estructura de las sales biliares, las cuales comparten características hidrofobas (no polares) e hidrofílicas, que le conceden la característica de moléculas anfipáticas solubles y se muestra además los fosfolípidos biliares (lecitinas).

Las lecitinas son los principales fosfolípidos en la bilis, y son moléculas anfipáticas insolubles en agua. Poseen en un extremo, un grupo terminal hidrofílico de fosfatidilcolina, un esqueleto de glicerol y dos grupos terminales formados por dos cadenas de ácidos grasos (figura 8). Las lecitinas se distinguen unas de otras en la longitud y número de insaturaciones en sus cadenas acilo. Debido a que las cadenas hidrofóbicas son las predominantes en la molécula, las lecitinas no tienen una solubilidad propia apreciable en agua. Sin embargo, estas moléculas anfipáticas insolubles incrementan de manera importante la capacidad de solubilización del colesterol por las sales biliares.

El colesterol, el principal esteroide de la bilis, es una molécula insoluble, anfipática con un solo grupo polar hidroxilo y una gran superficie hidrofóbica compuesta por un núcleo esteroideo y una cadena alquílica lateral. Debido a la polaridad débil aportada por el único grupo hidroxilo, el colesterol tiene una solubilidad en agua despreciable, pero su solubilidad aumenta en presencia de sales biliares y lecitinas (82-85).

1.4.2. Agregados de Lípidos Biliares

El colesterol se vuelve soluble en el sistema acuoso de la bilis por agregación con las sales biliares anfipáticas hidrosolubles y/o con las lecitinas (86). Las estructuras esquemáticas de estos agregados se muestran en la figura 9. Los monómeros de las sales biliares aparentemente solubilizan pequeñas cantidades de monómeros de colesterol en la bilis (87). Cuando la concentración de monómeros de sales biliares aumenta por arriba de la concentración micelar crítica, se forman micelas espontáneamente. Las micelas simples son pequeñas (diámetro aproximado de 30 Å), son partículas termodinámicamente estables que se agregan entre sí, están compuestas principalmente por sales biliares y por un pequeño número de moléculas de colesterol (88). Las micelas mixtas son estables en agregados de sales biliares-lecitina-colesterol y su diámetro varía de 40 a 80 Å (86), dependiendo de las proporciones relativas de los lípidos. El colesterol en la matriz de las micelas mixtas con las moléculas de sales biliares de la periferia, mantiene su solubilidad en agua.

AGREGADOS DE LÍPIDOS BILIARES	COMPOSICION	DIAMETRO	FORMA	TERMOESTABILIDAD
MICELAS SIMPLES	SB + C	30		+
MICELAS MIXTAS	SB + C + FL	40 - 80		+
VESICULAS UNILAMELARES	FL + C	150 - 500		-
VESICULAS MULTILAMELARES	FL + C	> 3000		-

Figura 9. Principales agregados de lípidos biliares: Las micelas simples constituidas por sales biliares (SB) y colesterol (C) son las más pequeñas y termoestables. Las micelas mixtas, están constituidas por SB, C, y lecitina (L), tienen un mayor tamaño que las anteriores. Finalmente las vesículas unilamelares, están constituidas por L y C.

Las vesículas son partículas esféricas unilamelares con un diámetro de 500 a 1000 Å y están compuestas por una bicapa sencilla de lecitina y moléculas de colesterol, y algunas trazas de sales biliares. Es posible que los cristales biliares líquidos (también llamados liposomas o vesículas multilamelares) se formen de la fusión de vesículas unilamelares (89). Estas grandes partículas (diámetro usualmente mayor a 5000 Å) son visibles como pequeñas gotas de lípidos utilizando microscopía polarizada con birrefringencia del tipo *Maltese-cross* (90).

Como se describe en la figura 10, las micelas y vesículas no solo coexisten, sino que también sufren cambios espontáneos y continuos en la bilis (86,89,91). Los cambios se dan cuando se agrega a la solución de micelas un exceso relativo de colesterol o agua, o ambos. Durante el ayuno, cuando la secreción de sales biliares disminuye resultando en una alta proporción de colesterol sobre las sales biliares, el colesterol puede solubilizarse principalmente en las vesículas (91). Las vesículas ricas en colesterol se forman cuando hay más colesterol presente, del que las micelas pueden solubilizar. Las vesículas ricas en lecitina se forman en una solución con agua, porque las sales biliares mantienen la concentración micelar crítica. Las vesículas generalmente se agregan espontáneamente en grandes cristales líquidos multilamelares. Si estos cristales son ricos en colesterol, pueden finalmente producir cristales de colesterol monohidratado (89,92). Por otro lado, los cristales líquidos ricos en lecitina, producen estructuras tubulares que contienen bicapas de lecitina y que son llamados figuras de mielina. La nucleación se produce cuando el colesterol ya no es soluble en las micelas o vesículas de bilis y por lo tanto los cristales de colesterol monohidratado se precipitan en la solución (93).

1.4.3. Mecanismo de la sobresaturación del colesterol

Se considera que el colesterol y la lecitina se incorporan a la bilis hepática en forma de vesículas (94). Aunque el movimiento de las sales biliares hacia el espacio canalicular podría ayudar a la secreción de dichas vesículas estos procesos se consideran independientes (95). Las sales biliares son secretadas hacia el canalículo debido a un gradiente electroquímico generado por el movimiento de proteínas. Las vesículas son transportadas por medio del citoesqueleto a la membrana canalicular, y se secretan después de la llegada de las sales biliares al espacio canalicular (95).

La sobresaturación de la bilis por colesterol es la condición necesaria para el desarrollo de cálculos de colesterol, el grado de saturación de la bilis es cuantificado por medio del ISC que expresa la relación entre el colesterol encontrado en la bilis y el colesterol a saturación (cantidad máxima permisible para conservarse soluble en presencia de fosfolípidos y ácidos biliares de la bilis).

Se puede presentar sobresaturación de la bilis por el colesterol en las siguientes situaciones:

1. Hipersecreción de vesículas ricas en colesterol en presencia de secreción normal de sales biliares.
2. Secreción normal de vesículas asociada con hiposecreción de sales biliares (96).

1.4.4. Mecanismos que regulan el contenido de colesterol libre en el hepatocito

Las fuentes de colesterol hepático están constituidas por los remanentes de quilomicrones provenientes de la dieta, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) de los tejidos extrahepáticos y el acetato sintetizado en los hepatocitos (97-98) (figura 10).

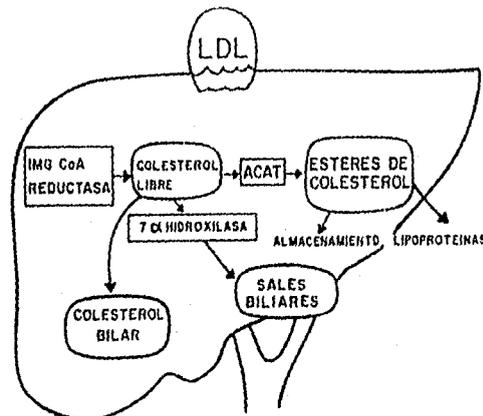


Figura 10. Regulación de la síntesis del colesterol hepático.

A pesar de que las fuentes del colesterol hepático se modifican continuamente, la cantidad de colesterol libre en las membranas del hepatocito permanece constante debido a que se dispone de tres mecanismos para derivar el exceso de colesterol libre del hígado (98). La primera forma de eliminar el exceso de colesterol es formar ésteres de colesterol (99), proceso

regulado por la enzima acil coenzima A colesterol acil transferasa (ACAT) (100). Pocas cantidades de ésteres de colesterol se acumulan en el hígado como pequeñas gotas de grasa (101); sin embargo, la mayoría se eliminan en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (99). La segunda vía de eliminación del colesterol libre es la excreción después de la conversión a ácidos biliares. Esta vía está controlada por la enzima microsomal 7 α hidroxilasa (102). El tercer mecanismo de eliminación hepático es la excreción directa del colesterol libre hacia la bilis (98).

Las alteraciones principales que conducen a la supersaturación de la bilis son la hipersecreción de colesterol con secreción normal de sales biliares y la secreción normal de colesterol con hiposecreción de sales biliares. Existen evidencias que sugieren que la hipersecreción de colesterol es consecuencia del incremento de la poza de colesterol libre, el cual es secretado en la bilis con cantidades normales de sales biliares (97).

Los resultados de varios estudios epidemiológicos confirman que las alteraciones (cuadro 6) que conducen a la sobresaturación de la bilis se deben principalmente a:

1. El incremento en la actividad de los receptores para las lipoproteínas (principalmente las de baja densidad y los remanentes de los quilomicrones) o el aumento de las partículas lipoprotéicas del plasma que liberan adicionalmente colesterol hacia los hepatocitos. Los estrógenos y los anticonceptivos hormonales incrementan la captación de las lipoproteínas y consecuentemente la hipersecreción del colesterol. El incremento en la captación de colesterol por el hígado y la sobresaturación biliar se observa en los casos en que se incrementa la ingestión de colesterol en la dieta (103-104).
2. El aumento en la actividad de la HMG CoA reductasa en obesidad (105) e hipertrigliceridemia (106).
3. La disminución de la conversión del colesterol a ácidos biliares por disminución en la actividad de la 7 α hidroxilasa, se presenta en la medida en que aumenta la edad, esto conduce a hiposecreción de las sales biliares (107).
4. El decremento de la conversión de colesterol a ésteres de colesterol por inhibición de la actividad de la ACAT, observado con la administración de

potentes inhibidores tales como el clofibrato y la progesterona de origen exógeno, o la endógena que se produce durante el embarazo (103).

Lo anterior demuestra que la bilis se satura por varios mecanismos que en general, se expresan con hipersecreción de colesterol. La disminución de la secreción de las sales biliares como causa de sobresaturación biliar es menor. Se ha observado una alteración simultánea de hiposecreción de sales biliares e hipersecreción de colesterol en mujeres indígenas americanas y en pacientes chilenos de sexo masculino. La formación de cálculos de colesterol se puede asociar con alteraciones en la secreción de lecitina.

Cuadro 6. Causas de hipersecreción de colesterol biliar

Causas	Alteración
Constitucional Dieta	Incremento de la captación de lipoproteínas Estrógenos
Obesidad Hipertrigliceridemia	Incremento en la actividad de la HMGCoA reductasa
Edad avanzada Constitucional	Disminución de la actividad 7 α hidroxilasa
Progestágenos	Disminución en la actividad de ACAT

1.4.5. NUCLEACION

Teniendo en cuenta que personas sin LB pueden presentar sobresaturación de la bilis por el colesterol, se considera que se requiere de un evento complementario (nucleación) para desarrollar cálculos de colesterol, El tiempo de nucleación (93); o tiempo en el cual el colesterol se precipita en la bilis en pacientes con LB es más rápido (24-48 horas) que el observado en la bilis de pacientes sin cálculos (tres semanas).

Existen factores que promueven la nucleación (factores nucleantes) y factores que la inhiben (factores antinucleantes). Se consideran pronucleantes a las glicoproteínas que se sintetizan en el epitelio vesicular, las proteínas de bajo peso molecular y algunos iones como el calcio, el magnesio, el potasio y el sodio (108). Los factores antinucleantes que se encuentran en la fracción proteica de la bilis hepática de sujetos normales son las apolipoproteínas A-1 y A-2 (109). La administración de ácido ursodesoxicólico en pacientes con LB induce la expresión de Apo A-1, en tejido hepático (110).

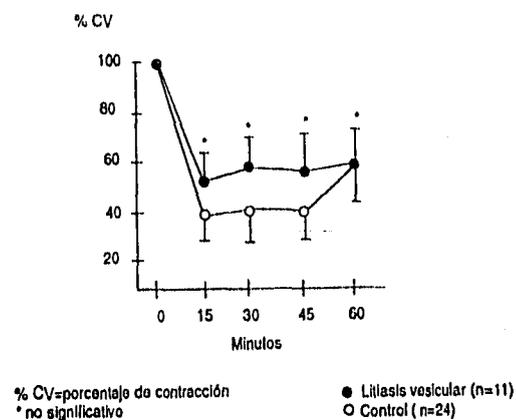


Figura 11. En los pacientes ancianos con litiasis vesicular se observa tendencia a menor contracción de la vesícula después de la ingesta de una comida estandar.

1.4.6. Hipomotilidad de la vesícula biliar

Se ha sugerido que la hipomotilidad puede ser uno de los primeros mecanismos comprometidos en la patogenia de la LB (56,111-114) debido a que se acompaña de un deterioro en el vaciamiento vesicular. Aunque no se ha definido el mecanismo exacto mediante el cual se ve alterada la contracción de la vesícula biliar, se postula podría ser el resultado de un defecto a nivel de los receptores para colecistocinina (115-116) o la disminución en la concentración de proteínas necesarias para la contracción (56), en los pacientes obesos se ha observado disminución en el vaciamiento de la vesícula biliar, pero se desconoce la causa de este hecho. En otras situaciones clínicas en las que existe hipomotilidad tales como la alimentación parenteral total, ayuno prolongado post-cirugía o el uso crónico de análogos de somatostatina, diabetes mellitus (117); se presenta una prevalencia mayor de litiasis biliar que culmina con el desarrollo de cálculos. En un grupo de ancianos de la ciudad de México se observó menor concentración de la vesícula en las personas con LB (figura 11) (118).

1.4.7. Otros factores patogénicos

1.4.7.1 Araquidonil lecitina, Prostaglandinas y Mucinas

La hipersecreción de mucina por la vesícula biliar es un evento primario, crítico en la litogénesis experimental en animales. Existen evidencias que sugieren que la hipersecreción de mucina está mediada por prostanoles y que la mayor disponibilidad de araquidonil lecitinas en la bilis pueden ser parte de la secuencia que desencadena la síntesis de prostanoles por la mucosa de la vesícula biliar (119).

Se ha establecido claramente que en perros de la pradera alimentados con colesterol, la hipersecreción de mucina precede a la formación de cristales de colesterol (120). La hipersecreción de mucina también se ha observado en otros modelos de animales durante la litogénesis (121). La aspirina bloquea tanto la hipersecreción de mucina como la formación de cálculos en los perros de la pradera alimentados con colesterol, sin disminuir el aumento en la saturación de colesterol (122). Este hallazgo, motivó el empleo de

antiinflamatorios para prevenir la recurrencia de litos después de su disolución con ácidos biliares (123). Finalmente, el ácido araquidónico, substrato para la formación de prostaglandina, estimula la hipersecreción de mucina en cultivos de mucosa de vesícula biliar de perros de la pradera, y este efecto se bloquea con la indometacina (124).

El enriquecimiento de la mucosa de la vesícula biliar con ácido araquidónico proporciona el substrato para la síntesis de prostaglandinas, y puede ser liberado por la fosfolipasa A2 en respuesta a un factor desencadenante adecuado. Uno de estos factores desencadenantes para la activación de la fosfolipasa A2 puede ser la difusión en la mucosa de calcio iónico desde la bilis (119). No sólo los prostanoïdes pueden generar los eventos tempranos de la litogénesis mediante la hipersecreción de mucina, sino que también pueden ser importantes en la hipomotilidad de la vesícula biliar.

La hipersecreción de mucina estimula la formación de un gel viscoso fuertemente adherente que recubre la superficie de la mucosa, el cual es probablemente el sitio de nucleación, en donde se promueve el proceso de la fusión de las vesículas y el crecimiento hacia estructuras multilamelares al disminuir las fuerzas de repulsión entre las vesículas en la red de gel. La mucina también aumenta la concentración de las vesículas y las micelas dentro de la capa de mucina adyacente a la mucosa (119).

1.4.7.2. Alteración en el transporte de líquidos y electrolitos

La absorción de sodio y agua a nivel de la mucosa de la vesícula biliar se intensifican antes de la formación de litos en vesículas de animales alimentados con colesterol (125). El aumento en la absorción no parece que sea debida a un cambio irreversible en la función de la mucosa per se, sino a las diferencias en la composición en lípidos de las bilis litogénicas y no litogénicas (126). En los animales que formaron piedras existe un aumento en el calcio total y el ionizado en la bilis vesicular, pero no en la bilis hepática (127). Cuando el transporte iónico se inhibe por la administración de amiloride, disminuye la concentración de calcio iónico y paralelamente la formación de cálculos, aún cuando la saturación de colesterol no se altere (128). Se ha informado el incremento en la concentración del calcio biliar en pacientes con

cálculos de colesterol comparativamente con lo observado en pacientes controles con obesidad mórbida (129).

Los mecanismos por los cuales la administración de amiloride disminuye la formación de cálculos, aún no se han establecido, así como tampoco el mecanismo por el cual el incremento de las concentraciones de calcio se asocian con aumento en la formación de litos. Por otra parte, se ha propuesto que el calcio tiene efecto directo en la nucleación y crecimiento de cristales, probablemente por medio de la activación de la fosfolipasa A2 (121).

1.4.7.3. Cambios en las especies de sales biliares

El aumento en la proporción de la poza de sales biliares formado por la conjugación de los desoxicolatos, sales biliares secundarias muy hidrofóbicas, puede ser importante en la patogénesis de la formación de cálculos de colesterol (130). Los factores de riesgo epidemiológico como la edad, sexo e hipertrigliceridemia parecen estar asociados con un aumento en los conjugados de desoxicolatos; los pacientes con cálculos de colesterol tienen proporciones consistentemente elevadas de productos conjugados de desoxicolatos en su bilis. El incremento en los productos conjugados de desoxicolatos biliares se asocia con aumentos en la saturación de colesterol, y al parecer éstos promueven la nucleación en sistemas de modelos biliares (131). Así, los conjugados de desoxicolatos pueden ser importantes en la producción de cálculos al afectar la saturación del colesterol y por sus efectos en la nucleación e hipersecreción de mucina mediada por prostaglandinas y por la hipomotilidad de la vesícula biliar.

Es claro que la formación de cálculos de colesterol es un proceso multifactorial. (figura 12). Se requiere sobresaturación de la bilis por colesterol pero los cálculos se forman cuando las alteraciones en la nucleación permiten que los cristales monohidratados de colesterol se precipiten. Las posibilidades de formación de cálculos aumentan en mayor proporción por la hipersecreción de mucina y la hipomotilidad de la vesícula biliar, la cual puede estar mediada por prostaglandinas. El aumento en la concentración de prostaglandinas puede estar determinado por alteraciones en las lecitinas biliares secretadas por el hígado. Las alteraciones en el transporte iónico y los cambios en la poza de

desoxicolatos conjugados puede ser importante, pero hasta el momento su papel no es suficientemente claro.

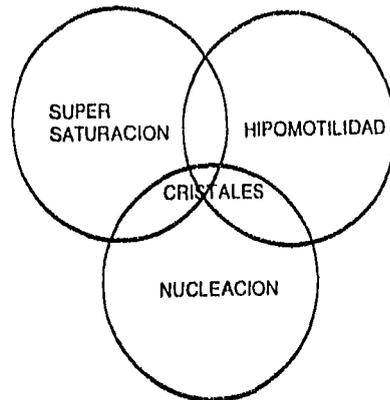


Figura 12. Se indican los principales mecanismos involucrados en la formación de cálculos biliares de colesterol

1.5. LA INSULINA Y EL METABOLISMO DEL COLESTEROL

Las observaciones que apoyan la relación entre la insulina y el metabolismo del colesterol hepático son las siguientes:

- a) La insulina incrementa la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A (HMG CoA) reductasa la cual modula la síntesis del colesterol hepático (132).
- b) La insulina *In vitro* estimula la síntesis de colesterol en fibroblastos y en células mononucleares humanas (133).
- c) En animales se ha demostrado que produce aumento limitado de flujo biliar y modifica la composición de la bilis. La disminución de la concentración en plasma disminuye el flujo biliar y el ISC, los cuales se revierten cuando se logran concentraciones normales o superiores (134).

- d) Existe relación directa entre las concentraciones de insulina en ayunas y después de una carga de glucosa con las concentraciones de colesterol en plasma en pacientes con hipercolesterolemia (133)

2. JUSTIFICACION

Los resultados de los estudios epidemiológicos han permitido identificar factores de riesgo para LB de colesterol, sin embargo el poder de predicción de los mismos en modelos de análisis multivariado es muy bajo (8% en el estudio llevado a cabo en la ciudad de México) (12). Esta situación supone la existencia de otros factores relacionados con el desarrollo de los cálculos de colesterol que aún no se han explorado.

La probable relación causa efecto con la mayoría de los factores asociados con LB es temporal, *vg* embarazo y empleo de anticonceptivos hormonales entre otros. Por el contrario la hiperinsulinemia representa un condición más constante, la cual podría encontrarse en un subgrupo de pacientes con LB aún al momento de la colecistectomía.

Resulta razonable plantear la asociación entre hiperinsulinemia y LB; no solo en los casos de obesidad, sino en todas las situaciones clínicas que cursan con hiperinsulinemia (135), si se tiene en cuenta que experimentalmente se ha demostrado que la insulina induce la actividad de la HMGCoA reductasa y bloquea la 7 α hidroxilasa, lo cual altera la composición de la bilis (132-134). Sin embargo se desconoce el papel de la insulina en regulación de la síntesis de colesterol y ácidos biliares en los pacientes con LB de colesterol.

3. HIPOTESIS

Existe relación directa entre las concentraciones de insulina en suero y el índice de saturación de colesterol biliar en pacientes con litiasis vesicular de colesterol.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la relación entre la concentración de insulina en suero y el índice de saturación del colesterol biliar en pacientes con LV de colesterol.

4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Analizar la relación que pudiera existir entre el índice cintura/cadera y el índice de saturación de colesterol en la biliar de los pacientes con cálculos biliares de colesterol.
2. Analizar la relación que pudiera existir entre los niveles de insulina, lípidos, y lipoproteínas en suero en los pacientes con LV de colesterol.

5. MATERIAL Y METODOS

5.1. DISEÑO

Se realizó un estudio clínico, prolectivo, transversal.

5.2. SUJETOS Y CRITERIOS DE SELECCION

5.2.1. Pacientes

Mujeres, con diagnóstico clínico y ultrasonográfico de litiasis vesicular sintomática, que acudieron a la consulta externa del Hospital Manuel Gea González, candidatas a colecistectomía electiva.

5.2.2. Criterios de inclusión

1. LV diagnosticada clínicamente y por medio de estudio de imagen, con vesícula biliar funcional y cálculos radiolúcidos por colecistografía oral.
2. Dos episodios de cólico biliar, definido éste como dolor en el cuadrante superior derecho, con una duración entre 30-60 minutos.
3. Colecistectomía electiva en un período no menor a 15 días.
4. Edad mayor a 20 años.
5. Consentimiento para Ingresar al estudio (anexo 1).

5.2.3. Criterios de exclusión

1. Diabetes Mellitus
2. Embarazo
3. Insuficiencia renal (creatinina en suero superior a 2 mg/dL)
4. Insuficiencia hepática (tiempo de protrombina incrementados en más de cinco segundos y/o aumento en el tiempo parcial de tromboplastina superior a 10 segundos (137); transaminasa, glutámico pirúvica y glutámico oxaloacética aumentadas dos veces o más sobre sus valores de referencia) (138).
5. Vesícula excluida por colecistografía oral
6. Cálculos radiopacos por colecistografía oral
7. LV complicada (colangitis)
8. Vesícula biliar esclerótica
9. Utilización actual de anticonceptivos hormonales
10. Hipertrigliceridemia (mayor a 250 mg)

5.2.4. Criterios de eliminación

1. Pérdida del estudio
2. Colecistectomía de urgencia
3. Material biológico (bilis) insuficiente para la realización de las determinaciones correspondientes.

5.3. VARIABLES DE INTERES

Edad, sexo, índice cintura/cadera (ICC), índice de masa corporal (IMC), concentraciones de Insulina en suero, índice de saturación de colesterol (ISC), tiempo de nucleación, colesterol, triglicéridos y las fracciones de lipoproteínas (HDL-colesterol) en suero.

5.4. EJECUCION DEL ESTUDIO

Una vez que los pacientes aceptaron participar en el estudio, se les realizó historia clínica (anexo 2) y los estudios preoperatorios, que incluyeron biometría hemática, química sanguínea, pruebas de coagulación, pruebas de funcionamiento hepático, examen general de orina y se clasificaron de acuerdo al IMC e ICC. Además se indicó una dieta de 30 kilocalorías por kilogramo de peso, la cual proporcionó 60% de la energía en forma de hidratos de carbono, 25% como grasas y el 15% restante como proteínas y sin colesteroquinéticos.

Cinco días antes de la colecistectomía y previo ayuno de 12 horas se tomó una muestra basal de 5 cc de sangre venosa (antebrazo) y después de una carga de glucosa de 75 gramos por vía oral, se tomaron muestras similares cada media hora hasta completar tres horas.

A todos los pacientes durante la colecistectomía y antes de manipular la vesícula biliar se extrajo 10 ml de bilis mediante punción con jeringa estéril y posteriormente se guardó a temperatura de -20°C.

5.5. METODOS

5.5.1. Determinación en bilis:

Las determinaciones de colesterol (139) y fosfolípidos (140) se hicieron por método colorimétrico y para sales biliares se empleó método enzimático (141).

5.5.1.1. Procesamiento de las muestras

Se diluyó la bilis en isopropanol a una concentración 1/10 y se centrifugó a 3.000 rpm durante 20 minutos con el fin de eliminar el sedimento.

Colesterol: a 60 μ l de bilis se agregó 0.5 ml de KOH-Etanol y se colocaron a 40 °C por 60 minutos. Se enfriaron y agregaron 1.2 ml de hexano y 0.5 ml de agua. Se agitó en vortex y se centrifugó a 2000 rpm por 3 minutos a 4 °C.

Se tomó por duplicado 0.8 ml de la fase de hexano y se evaporaron con aire, se agregó 1 ml de reactivo de colesterol, se agitó y colocó a 37°C por 10 minutos. Se leyó la absorbancia a 580 nm. Se corrió una curva patrón de 10 μ g a 80 μ g de colesterol por tubo.

Lecitina: a 75 μ l de bilis se agregaron 3 ml de cloroformo:metanol (2:1) se agitó en vortex. se agregaron 1.5 ml de agua y se volvieron a agitar en vortex. Se centrifugaron a 2000 rpm por 5 minutos. En un tubo pequeño se colocaron 0.4 ml del extracto clorofórmico y se evaporaron con aire. A cada tubo se agregaron 200 μ l de 10 N de ácido sulfúrico y se colocaron en baño de aceite a 150-160 °C por 2 horas. Luego se enfriaron y se agregaron 2 gotas de agua oxigenada al 30% y se colocaron nuevamente a 150-160 °C por 1 hora. A cada tubo se agregaron 750 μ l de agua, más 200 μ l de molibdato de amonio y 50 μ l de solución reductora. Se agitaron y colocaron en baño de agua hirviendo por 10 minutos. Se leyó absorbancia a 700 nm.

Sales biliares: se determinan utilizando con deshidrogenasa 3 α hidroxilesteroldea. El hidrógeno liberado por oxidación se combina con DPN en presencia del amortiguador de pirofosfato (1 ml), El DPNH se midió por espectrofotometría a una longitud de onda de 340 nm y utilizando un filtro azul.

5.5.2. Tiempo de Nucleación (93)

La bilis, se pasó a través de papel filtro de 0.2 μ m Millex filter para retener los cristales de colesterol.

La bilis en tubo estéril se incubó a 37°C, se consideró tiempo cero, dos horas después de iniciada la incubación. Diariamente se tomaron alícuotas de (0.2 ml) que fueron observadas con microscopía de luz polarizante, para determinar la presencia de cristales de colesterol (por lo menos cinco en dos campos) y corroborado por dos observadores. El periodo (días) entre el tiempo cero y la detección de los primeros cristales de colesterol se consideró el tiempo de nucleación.

5.5.3. Determinaciones en suero

Se realizaron entre 3-5 días antes de la colecistectomía.

Insulina: Las mediciones de la concentración de insulina en suero se realizaron por radioinmunoanálisis (RIA), utilizando el método de doble anticuerpo (142) (reactivos de International CIS), se realizaron por duplicado. Se utilizó insulina marcada con I125 y la curva estándar se elaboró con concentraciones conocidas de 0, 25, 50, 100 y 200 U/ml. Se utilizó antisuero de bovino contra gamma globulina de cobayo. Los cálculos de RIA se efectuaron con la transformación log-logit (143). El control de calidad se hizo siguiendo los lineamientos de Rodbard (144). Se tomaron como valores normales de insulina en ayuno de 12 horas 3-15 U/ml. La sensibilidad de esta técnica es de 1.3 U/ml y en cuanto a la especificidad existe una reacción cruzada con proinsulina en 7%, glucagón en 0.2% y péptido C en 0.01%. Se consideran válidos los resultados con una variación inter e intra ensayo menor al 10%.

Colesterol: se determinó mediante prueba enzimática colorimétrica. La esterasa de colesterol hidroliza completamente los ésteres de colesterol a colesterol libre en suero. El colesterol libre en presencia de oxígeno es oxidado para producir peróxido de hidrógeno, el cual forma una quinoneimina colorida. La concentración de color medio es directamente proporcional al colesterol contenido en la muestra de suero (145).

Triglicéridos: Se determinó mediante una prueba enzimática colorimétrica, que consiste en la hidrólisis enzimática de los triglicéridos y determinación subsiguiente del glicerol formado (146-147).

HDL-colesterol: Se determinó por precipitación. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL), que se precipitan con ácido fosfotúngstico en presencia de iones de magnesio y pueden ser eliminadas por centrifugación. El sobrenadante contiene HDL, cuya concentración se determinó enzimáticamente (148).

Todas las determinaciones se hicieron con reactivos de Merck y se les realizó un seguimiento para control de calidad, utilizando sueros controles específicos para lípidos y en donde fueron evaluados parámetros como exactitud y variabilidad intra e interensayo. Todos los métodos fueron reproducibles y con un coeficiente de variación intra ensayo menor del 10 %.

5.5.4. Índices

IMC: Se obtuvo de dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros elevada al cuadrado (149).

ICC: Se obtuvo de dividir la circunferencia a nivel del ombligo entre la circunferencia máxima de la cadera. Las mediciones se hicieron con cinta métrica metálica. Se clasificaron como obesas de segmento superior a las mujeres que presenten un ICC mayor a 0.85.

ISC: Se determinó empleando las siguientes fórmulas (150):

para $x < 0.320$, $ISC = 4.87 + 39.45 (x) - 86.9 (x)^2 + 53.7 (x)^3$

para $x > 0.320$, $ISC = 117.4 - 755.0 (x) + 1.756 (x)^2 - 1.377 (x)^3$

$x = \text{Fosfolípidos} / (\text{Ácidos biliares} + \text{Fosfolípidos})$

5.6. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para el cálculo del tamaño de la muestra se tomó en cuenta que:

1. En un estudio previo realizado en este departamento se determinó un ISC promedio de 1.1 ± 0.3 en pacientes con LV, se calculó el promedio poblacional de la siguiente manera:

$$n = (Z\alpha)^2 V / (d)^2, n = (1,96)^2 \times 0.9 / 0.2$$

$$n = 9$$

2. las concentraciones promedio de insulina determinadas treinta minutos después de una carga de glucosa fueron de 63 ± 35 $\mu\text{U/ml}$ en mujeres sanas con IMC normal y de 160 ± 82 $\mu\text{U/ml}$ en mujeres obesas de la misma población (136). Esperando obtener esas diferencias en los grupos estudiados se consideró un valor $\Delta = 97$.

Para obtener la n por diferencia de promedios, se utilizó la fórmula:

$$n = 2(z\alpha + z\beta)^2 (DE)^2 / (\Delta)^2$$

$$n = 2(1.96 + 1.65)^2 (60)^2 / (97)^2$$

$$n = 10$$

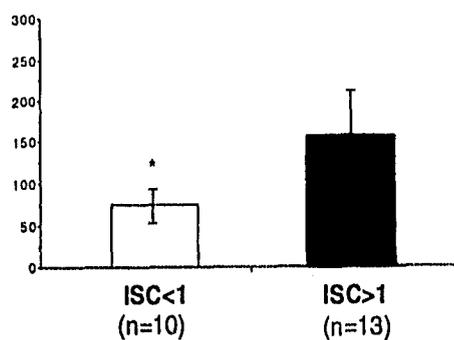
5. 7. ANALISIS ESTADISTICO

La síntesis de los valores obtenidos se hizo en términos de medianas, promedios \pm desviación estándar ($x+DE$). Se correlacionaron las concentraciones de insulina en suero, concentraciones de glucosa, IMC, ICC y concentraciones de HDL-colesterol con el ISC por medio del coeficiente de correlación de Spearman y además, se compararon las características de los pacientes con $ISC < 1$ con las de los pacientes con $ISC \geq 1$ por medio de las pruebas T de Student y U de Mann Whitney. Se consideraron significativas las diferencias con un valor de $p < 0.05$.

6. RESULTADOS

Durante el periodo comprendido entre febrero y diciembre de 1993 se seleccionaron 63 pacientes con diagnóstico de LV sintomática, candidatos para cirugía laparoscópica del Hospital Manuel Gea González, de los cuales 40 fueron excluidos por las siguientes causas: exclusión de la vesícula biliar en la colecistografía oral (23 casos), hipertrigliceridemia (7 casos), diabetes mellitus (3 casos), dificultad para la toma de la bilis durante la cirugía y/o debido a que la muestra fue insuficiente para la realización de las determinaciones de interés en 7 casos.

Se incluyeron 23 mujeres, quienes se clasificaron de acuerdo al ISC en dos grupos: 10 pacientes con $ISC < 1$ y 13 pacientes con sobresaturación de bilis por colesterol, con $ISC \geq 1$ (figura 13).



* $p < 0.05$ (Prueba T de Student)

Figura 13: Se muestra el promedio \pm DE de los Índices de saturación de los pacientes con $ISC < 1$ y el de los pacientes con $ISC \geq 1$

6.1. Características clínicas

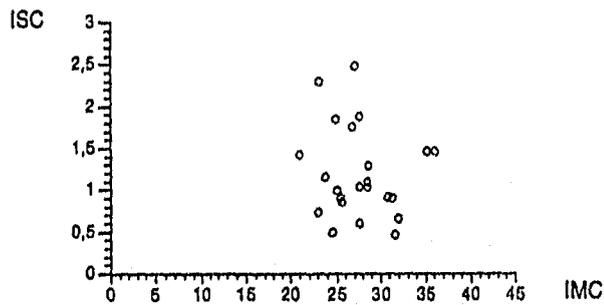
En el cuadro 7 se muestran las características clínicas de las pacientes. No se encontró correlación entre IMC e ICC con el ISC (figuras 14-15) y no se encontraron diferencias significativas al comparar las características clínicas de las pacientes con $ISC < 1$ con las de aquellas pacientes con sobresaturación de la billis por colesterol ($ISC \geq 1$). El promedio de edad para el grupo con $ISC < 1$ fue de 33 ± 8 años (Intervalo 20-47) similar al determinado en pacientes con $ISC \geq 1$ que presentaron un promedio de edad de 37 ± 10 (intervalo 20-48). Tampoco hubo diferencia al analizar los factores asociados. En ambos grupos los factores más frecuentes fueron obesidad, multiparidad, y antecedente de haber utilizado anticonceptivos hormonales. Ninguna de las pacientes presentó antecedente de diabetes mellitus y de hipertensión arterial sistémica.

Cuadro 7. Características clínicas y factores asociados

Condición asociada	ISC<1 (n=10)	ISC≥1 (n=13)	Valor de p
Edad (años±DE)	33±9	37±10	NS*
Antecedente familiar de LB	5	5	NS**
Tabaquismo	4	4	NS**
Anticonceptivos hormonales	5	6	NS**
Embarazos ≥3	6	6	NS**
IMC>25	8	9	NS**
ICC>0.85	5	6	NS**

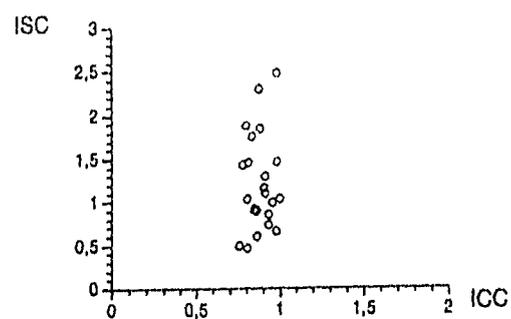
IMC=índice de masa corporal (Kg/m²)
 LB=litiasis biliar
 ICC= índice cintura/cadera
 NS=no significativo

* (prueba T de Student)
 ** (prueba exacta de Fisher)



N=23
 Rho=0,085
 ISC=índice de saturación de colesterol biliar
 IMC=índice de masa corporal

Figura 14. Se indican los valores correspondientes al IMC y el correspondiente ISC de cada uno de los pacientes.



N=23
 Rho=0,088
 ISC=Índice de saturación de colesterol biliar
 ICC=Índice cintura/cadera

Figura 15. Se indican los valores correspondientes el ICC y el correspondiente ISC de cada uno de los pacientes.

6.2. Tiempo de nucleación

El tiempo de nucleación promedio de las pacientes con $ISC < 1$ fue de 3 días (Intervalo 2-3) similar al que presentaron las pacientes con $ISC \geq 1$ que fue de 2 días (Intervalo 1-4).

6.3. Perfil de lípidos en suero

El perfil de los lípidos y lipoproteínas en suero se muestran en el cuadro 8. No hubo correlación entre las concentraciones de HDL-colesterol y el ISC.

No se encontró diferencias significativas al comparar las concentraciones de colesterol, triglicéridos, y HDL-colesterol de las pacientes con ISC normal con las correspondientes de las pacientes con $ISC \geq 1$.

Cuadro 8. Perfil de lípidos en suero

Medición*	ISC<1 (n=10)	ISC≥1 (n=13)	Valor de p
Colesterol	195±27	194±34	NS
Triglicéridos	118±53	133±68	NS
Colesterol-HDL	51±14	54±19	NS

* Valores expresados en mg/dL.
NS=no significativo (prueba T de Student)

6.4. Concentraciones de glucosa en suero

No se encontró correlación entre las áreas bajo la curva de glucosa y el ISC (figura 16).

En la figura 17 se muestran las medianas de las concentraciones de glucosa basales y las determinadas después de la carga con 75 gramos de glucosa oral. La figura 18 ilustra las ABC de glucosa.

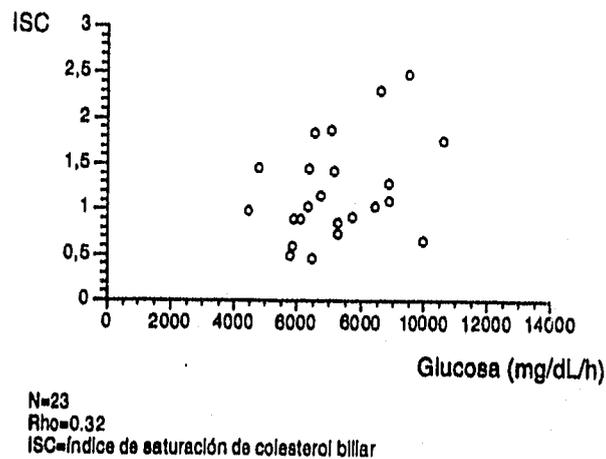


Figura 16. Se puede observar que las áreas bajo la curva de glucosa no guardan correlación con ISC en pacientes con LV

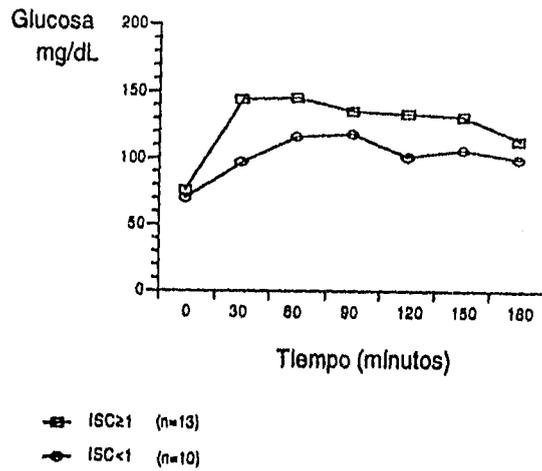
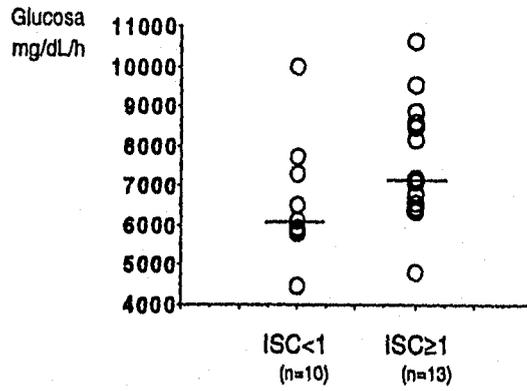


Figura 17. Se muestran las concentraciones de glucosa en suero expresadas en medianas. No se determinó diferencias significativas entre los pacientes con ISC < 1 y aquellos con ISC ≥ 1.



ISC < 1 vs ISC ≥ 1, $p > 0.05$ (prueba U de Mann Whitney)

Figura 18. Se indican los valores correspondientes a cada una de las ABC de glucosa. No se encontraron diferencias significativas entre los pacientes con ISC < 1 y aquellos con ISC ≥ 1.

6.5. Concentraciones de insulina en suero

El coeficiente de correlación determinado entre las concentraciones de insulina a diferentes tiempos con el ISC se muestra en el cuadro 9. Se puede observar que la mayor correlación se encontró entre las concentraciones de insulina determinadas a los 120 minutos y el ISC ($Rho=0.57;p=0.078$), la correlación entre las áreas bajo la curva de insulina se indican en la figura 19 ($Rho=0.53;p=0.0121$). No se encontró correlación entre el índice glucosa insulina (IGI) determinado en ayuno y el ISC (figura 20).

En la figura 21 se muestran las medianas de las concentraciones basales de insulina y las determinadas después de la carga oral con 75 gramos de glucosa; en la figura 22 se ilustra las ABC de insulina. La mediana de las ABC de insulina de las pacientes con $ISC < 1$ ($ABC=3026 \mu U/mL/h$) fue significativamente menor que las de los pacientes con $ISC \geq 1$ ($ABC=5088 \mu U/mL/h$), de igual manera las concentraciones de insulina determinadas a los 30, 120 y 180 minutos (figura 21).

Cuadro 9. Correlación entre las concentraciones de insulina en suero y el índice de saturación de colesterol billar.

Tiempo (minutos)	Coefficiente (rho)	Valor p
0	0.13	0.51
30	0.42	0.04
60	0.40	0.06
90	0.37	0.08
120	0.56	0.01
150	0.39	0.06
180	0.48	0.02

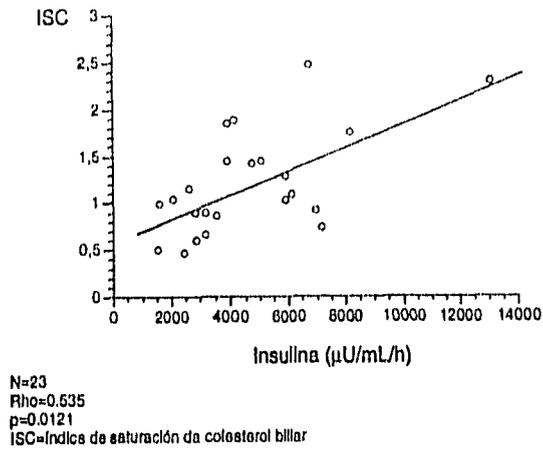


Figura 19. Se muestra la correlación entre las áreas bajo la curva de insulina con ISC en pacientes con LV

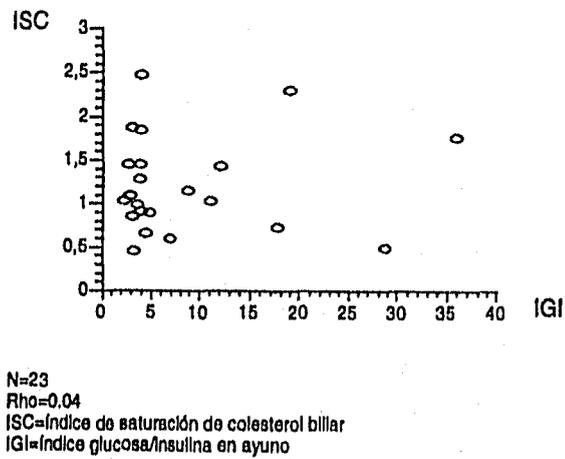


Figura 20. Se puede observar que el índice glucosa/insulina no guardan correlación con ISC en pacientes con LV.

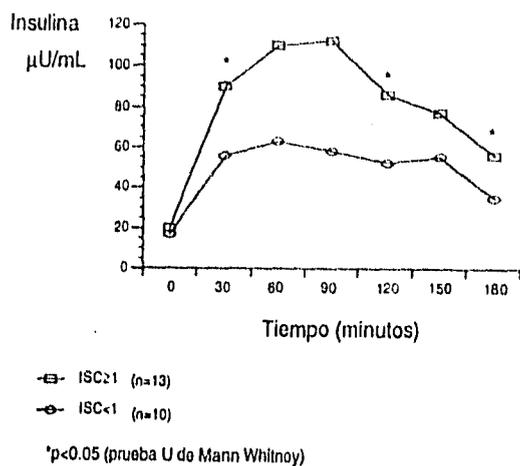
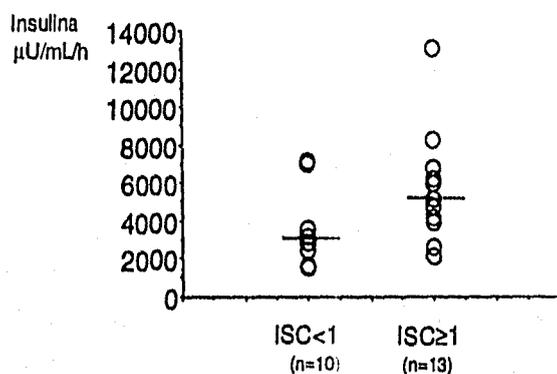


Figura 21. Se muestran las concentraciones de insulina en suero expresadas en medianas. las concentraciones de insulina en suero a los 30, 120 y 180 minutos fueron significativamente mayores en los los pacientes con ISC≥1.



ISC<1 vs ISC≥1, p<0.05 (prueba U de Mann Whitney)

Figura 22. Se indican los valores correspondientes a cada una de las ABC de insulina. Las ABC de insulina fueron significativamente mayores en los pacientes con ISC≥1

7. DISCUSION

Los resultados de este estudio sugieren que el estado de sobresaturación de la bilis necesario para el desarrollo de los cálculos de colesterol no es una condición permanente, si no que por el contrario puede cambiar a través del tiempo (46).

En diez de los casos estudiados, se encontró que a pesar de haber desarrollado LV, el ISC era normal al momento de la cirugía. Es conocido que el ISC se incrementa durante el embarazo (46), lo cual predispone al desarrollo de todo biliar y cálculos, pero que en el puerperio la bilis se puede desaturar y en algunos casos se observa disolución espontánea de los litos (151).

Todas las pacientes que al momento de la cirugía presentaron saturación normal de colesterol en la bilis, tenían antecedente de embarazo y cinco habían utilizado anticonceptivos hormonales por un periodo mayor a seis meses.

Se considera que tanto el desarrollo de todo biliar y cálculos durante el embarazo está condicionado por los cambios hormonales, principalmente por el incremento en la concentración de progesterona que inhibe la enzima ACAT, lo cual ocasiona incremento de la poza de colesterol libre en el hígado, que puede secretarse en esta forma hacia la bilis (46), aunado a la disminución de motilidad vesicular observada durante el embarazo.

En el caso de los anticonceptivos hormonales aunque hasta la fecha es muy discutible su papel en la patogenia de los cálculos biliares de colesterol se considera que está relacionado con el efecto de los estrógenos los cuales inducen mayor síntesis de receptores hepáticos para LDL colesterol y el de la progesterona exógena que como se mencionó anteriormente bloquea la enzima ACAT (39-44).

Es necesario aclarar que la selección de este grupo de pacientes se hizo tomando como referencia la colecistografía oral, es por lo tanto posible que no todos los casos correspondieron a cálculos de colesterol y que algunos de ellos correspondieran a cálculos de pigmentos que también pueden ser radiolúcidos; esta situación podría explicar algunos de los casos con ISC normal al momento de la colecistectomía.

El resultado más importante del estudio consistió en encontrar correlación entre las concentraciones de insulina en suero y el ISC, además de demostrar que las pacientes con bilis sobresaturada de colesterol (ISC>1) al momento de la cirugía tenían concentraciones de insulina mayores que las determinadas en aquellas pacientes con saturación normal, lo cual apoya la hipótesis que considera a la hiperinsulinemia como factor de asociado con el desarrollo litiasis vesicular (53).

El mecanismo por el cual la hiperinsulinemia conduce a mayor sobresaturación de la bilis por el colesterol se apoya en la reciente demostración *in vitro*, en la cual se observó de una mayor expresión del RNAm y mayor transcripción de la HMGCoA reductasa, con disminución de los mensajeros y de la transcripción las enzimas 7 α hidroxilasa y 27 hidroxilasa, cuando se agregó insulina a un cultivo de hepatocitos. Además, la respuesta enzimática fue directamente proporcional a la cantidad de insulina instilada (152) (figura 18).

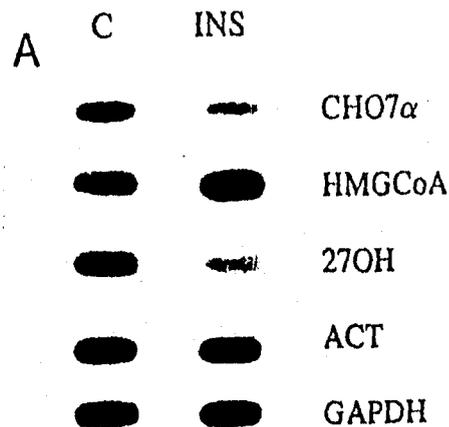


Figura 23. La instilación de insulina a un cultivos de hepatocitos indujo la expresión del RNAm y la transcripción de la HMG CoA reductasa (A) y disminución en la expresión de los mensajeros y de la transcripción de las 27 Hidroxilasa y 7 α hidroxilasa.

Sin embargo es conveniente mencionar que una de las limitaciones en el diseño empleado, lo constituyó la determinación en días diferentes de las concentraciones de insulina y el ISC. Por lo tanto para probar la consistencia de los resultados obtenidos se requiere de otros estudios que permitan la determinación simultánea de insulina del ISC, probablemente excluyendo el factor vesicular; un buen ejemplo lo podrían constituir los pacientes sometidos a colecistectomía y esfinterotomía por LB que requieren controles endoscópicos periódicos.

Debido a la dificultad tanto logística como económica que representa la realización una curva de insulina después de una carga de glucosa, es conveniente tener en cuenta que cada una de las concentraciones de insulina determinadas después de la carga de glucosa guardó correlación similar a la encontrada entre las áreas bajo la curva de insulina y el ISC. Por lo tanto en estudios a gran escala probablemente se requieran únicamente determinaciones basales y una después de la carga de glucosa.

Aunque generalmente se ha descrito que la hiperinsulinemia es característica de la obesidad, ésta puede presentarse independientemente del grado y tipo de obesidad.

En este estudio no se encontró correlación entre el grado de obesidad en términos de IMC y el ISC, además de las 13 pacientes con sobreesaturación de la bilis por colesterol, cuatro tenían IMC normal y paradójicamente en la paciente con menor IMC=23 se determinó la mayor ABC de insulina (13062 $\mu\text{U}/\text{mL}/\text{h}$) y uno de los mayores ISC =2.29. Tampoco se pudo determinar una correlación entre el tipo de obesidad determinado por medio del ICC y el ISC.

Los resultados anteriores muestran que en la cadena causal: factor, alteración fisiológica, enfermedad, la hiperinsulinemia podría jugar un papel importante en la patogénesis de la litiasis biliar, que probablemente explicaría un mayor número casos que los asociados únicamente con obesidad.

Considerando que las vías metabólicas del colesterol plasmático y colesterol biliar comparten mecanismos comunes de regulación, los resultados de este estudio conducen al siguiente planteamiento: la hiperinsulinemia como manifestación de la resistencia a la insulina se puede asociar a hipercolesterolemia (133) y/o sobreesaturación de la bilis por colesterol. En el primero de los casos probablemente la resistencia a la insulina haría parte del síndrome X (intolerancia a la glucosa, hiperlipidemia e hipertensión arterial)

(153) y en el segundo como factor asociado al desarrollo de cálculos de colesterol.

En conclusión los resultados de este estudio sugieren que en pacientes con LV de colesterol la hiperinsulinemia se asocia a sobrecarga biliar, independientemente del grado de obesidad y por lo tanto debe explorarse en estudios epidemiológicos futuros como uno de los factores asociados al desarrollo de LB.

8. ETICA

Todos los pacientes fueron informados del estudio y se incluyeron únicamente los que dieron su consentimiento de acuerdo a las normas establecidas para la realización de la investigación clínica (154-155). Este protocolo fue aprobado por los comités de ética del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán y el Hospital Manuel Gea González.

BIBLIOGRAFIA

1. Méndez-Sánchez N, Uribe M, Jessurun J, et al: Características de la litiasis biliar en México. *La Rev Invest Clin (Méx)* 1990;42s:48-52
2. Marinovic I, Guerra C, Larach G.: Incidencia de Litiasis vesicular en material de autopsia y analisis de composición de los cálculos. *Rev Med Chile* 1972;100:1320-1327.
3. Ríos J., Correa P. Haenszel W.: Morbidity from cancer in La Paz, Bolivia. *Int J Cancer* 1981;28:307-314.
4. Sampliner RE, Bennet PH, Comess LJ, Rose FA, Burch TA: Gallbladder disease in Pima Indians: Demonstration of high prevalence and early onset by cholecystography. *E Engl J Med* , 1970;283:1358-1364.
5. Hanis CL, Ferrel LE, Tulloch BR, Schull WJ: Galbladder disease epidemiology in Mexican-Americans in Starr County, Texas. *Am J Epidemiol* 1985;122:820-829.
6. Mendez-Sanchez N, Jessurun J, Ponciano-Rodriguez G et al: Prevalence of gallstone disease in Mexicans. A necropsy study. *Dig Dis Sci* 1993;38:680-683.
7. Teilum D, Olsen B: The prevalence of gallstones in autopsies from a Danish Urban Area. *Scand J Gastroenterol* 1988;23:813-816.
8. Zahor Z, Sternby NH, Kagan A, Vernura K, Venecek R, Virchet AM: Frecuency of cholelithiasis in Prague and Malmo. An autopsy study. *Scan J Gastroenterol* 1974;9:3-7.
9. Torvik A, Hoivik B: Gallstone in a autopsy series. *Acta Chir Scand* 1960;120:168-174.
10. GREPCO (Rome group for the epidemiology and prevention of colelithiasis): The epidemiology of Gallstone Disease In Rome, Italy. Part I: Prevalence Data In men. *Hepatology* 1988;8:904-913.
11. Barbara L, Sama C, Morselli AM, et al: A population study on the prevalence of gallstone disease: the Sirmione Study. *Hepatology* 1987;7:913-917.
12. Morán S, Guevara L, Ramos M, Vargas F, Lizardi J, Cruz-gonzález I, Mendez N, De la Mora G, Uribe M: Asymptomatic gallstone disease: prevalence and associated risk factors. *Gastroenterology* 1993;104:A372

13. Diehl A, Stern M: Special health problems of Mexican-Americans: Obesity, gallbladder disease, diabetes mellitus, and cardiovascular disease: *Adv Intern Med* 1989;34:73-96.
14. Diehl AK, Hafner SM, Knapp JA et al: Dietary intake and prevalence of gallbladder disease in Mexican Americans. *Gastroenterology* 1990 97:1527-1533.
15. Diehl AK, Stern MP, Ostrower VS, et al: Prevalence of clinical gallbladder disease in Mexican American, Anglo and black women. *South Med J* 1980;73:438-443.
16. Sama C, Morselli AM, Taroni F, Barbara L: Epidemiology and natural history of gallstone disease. *Sem Liv Dis* 1990;10:149-156.
17. Nagashima H, Masubuchi M, Yosizawa Z. Sulfated glycoproteins capable of coagulating calcium carbonate isolated from pathological human bile. *J Biochem* 1974;75:779-786.
18. Schragar J, Oates MDG, Rosbottom A. The isolation and partial characterization of the principal biliary glycoprotein. *Digestion* 1972; 6:338-355.
19. Crowther R., Soloway R. Pigment gallstone pathogenesis: From Man to Molecules, 1990;10(3):171-180.
20. Stewart L, Smith AL, Pellegrini CA, et al. Pigment gallstones form as a composite of bacterial microcolonies and pigment solids. *Ann Surg* 1987; 206: 242-250.
21. Tabata M, Nakayama F. Bacteria and gallstones. Etiological significance. *Dig Dis Sci* 1981;26: 218-224.
22. Trotman Bw, Soloway RD: Pigment gallstone disease: Summary of the National Institutes of Health-International Work-shop. *Hepatology* 1982; 2:879-884.
23. Soloway RD., Malet PF. Pigment stones. In Berk JE (Ed): *Bockus, Gastroenterology*, 4th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1985:775-779.
24. Choudhuri G., Agarwal D., et al. Brittleness of gallstones to lithotripsy: effect of physicochemical and ultrastructural characteristics. *Eur J Clin Inv* 1994;24:22-27.
25. Lanzinai A., Northfield T. Pharmacological treatment of gallstones. *Drugs* 1994;47(3):458-470.

26. Bennion LJ, Mott DM, Spagnola AM: A biochemical basis for the higher prevalence of cholesterol gallstone in women. (abstr) Clin Res 1978;26:496.
27. Lee SP, LaMont JT, Carey MC. Role of gallbladder mucus hypersecretion in the evolution of cholesterol gallstones. Studies in the prairie dog. J Clin Invest 1981; 67: 1712-1723.
28. Holan KR, Holzbach RT, Hermann RE, et al. Nucleation time: A key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. Gastroenterology 1979;77: 611-617.
29. Malet PF, Weston NE, Trotman BW, Soloway RD. Cyclic deposition of calcium salts during growth of cholesterol gallstones. In: Johari OM (Ed) : Scanning Electron Microscopy, vol 2, Chicago SEM, 1985, pp775 -779.
30. Malet PF, Takabayashi A, Trotman BW, et al: Black and brown pigment gallstones differ in microstructure and microcomposition. Hepatology 1984;4: 227-234.
31. Kalsner MH, Schoenfield LJ, Marks JW and Tompkins RK: Cholelithiasis. In Gastroenterology Bockus. Berk JE Ed, Fourth edition Saunders Company Philadelphia PA, 1987, Chapter 189.
32. Roda E, et al. Epidemiology of gallstone disease. In Biliary lithotripsy. Ferruci JT, Delius M and Burhene HT, Chicago Eds. Publisher Inc, 121:138,1989.
33. Soloway RD et al. Pigment gallstones. Gastroenterology 1977;72:167-82.
34. Brett M, Barker DJP: The world distribution of gallstones. Int J Epidemiol 1976;5:335-341.
35. Nakayama F, Miyake H: Changing state of gallstone disease in Japan. Composition of the stones and treatment of the condition Am J Surg 1970;120:974-979.
36. Van der Linden W. Simonson N: Familial occurrence of gallstone disease. Incidence in parents of young patients. Hum Hered 1973;23:123-127.
37. Sarin S, Negi V, Dewan R, Sasan S, Saraya A: High familial prevalence of gallstones in the first-degree relatives of gallstone patients. Hepatology 1995;22:138-141
38. Barbara L, Festl D, Morselli Labate AM: An increased familial frequency of gallstone disease (Abstr.) Hepatology 1984;4:1086.

39. Honore LH: Cholesterol cholelithiasis in adolescent females. *Arch Surg* 1980;115:62-64.
40. Howat JMT, Jones CB, Schofield PF: Gallstones and oral contraceptives. *J Int Med Res* 1975;33:59-62.
41. Royal college of general practitioners oral contraception study: Oral contraceptives and gallbladder disease. *Lancet* 1982;2:957-959.
42. Scragg RKR, McMichael AJ, Seemark RF: Oral contraceptives, pregnancy, and endogenous oestrogen in gallstone disease. A case-control study *Br Med J* 1984;288:1795-1799.
43. Jorgensen T: Gallstones in a Danish population: fertility period pregnancies, and exogenous female sex hormones. *Gut* 1988;29:433-439.
44. Kern F, Everson GT, De Mark B, et al: Biliary lipids, bile acids, and gallbladder function in the human female: effect of contraceptive steroids. *J Lab Clin Med* 1982;99:789-805.
45. Grundy SM, Ahrens EM Jr, Salen G, et al: Mechanism of action of clofibrate on cholesterol metabolism in patients with hyperlipidemia. *J Lipids Res* 1972;13:531-551.
46. Valdivieso V, Covarrubias C, Slegel F., Cruz F. Pregnancy and cholelithiasis: Pathogenesis and Natural Course of Gallstones Diagnosed in Early Puerperium. *Hepatology* 1993;17:1-4.
47. Maclure KM, Hayes KC, Colditz GA, Stampfer MJ, Speizer FE, Willett WC: Weight, diet, and the risk of symptomatic gallstones in middle-aged women. *N Eng J Med* 1989;32:563-69
48. Scragg RKR, McMichael AJ, Baghurst PA: Diet, alcohol, and relative weight in gallstone disease: A case-control study. *Br Med J* 1984;288:1113-1119.
49. Jorgensen T: Gallstones in a Danish population. Relation to weight, physical activity, smoking, coffee consumption and diabetes mellitus. *Gut* 1989;30:528-534.
50. Diehl AK, Haffner SM, Knapp JA, et al: Dietary intake and the prevalence of gallbladder disease in Mexican Americans. *Gastroenterology* 1989;97:1527-1533.
51. Kissebach AH, Vydellingum N, Murray R, Evans DJ: Relation of body fat distribution to metabolic complication of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:254.

52. Kissebach AH, Peris AN, Evans DJ: Mecanismos asociating body fat distribution to glucose intolerance and diabetes mellitus window with a view. *Acta Med Scand*, suppl 1987;723:79.
53. Heaton KW, Braddon FEM, Emmett PM, et al: Why do men get gallstones? Roles of abdominal fat and hyperinsulinemia. *Eur J Gastroenterol* 1991;3:745-751.
54. Holbach RT: Factors influencing cholesterol nucleation in bile. *Hepatology* 1984;4:173s-176s
55. Holbach RT, Kibe A, Thiel E, et al: biliary proteins unique inhibitors of cholesterol crystal nucleation in human gallbladder bile. *J Clin Invest* 1984;73:35-45
56. Pomeranz IS, Shafer EA. Abnormal gallbladder emptying in a subgroup of patients with gallstones. *Gastroenterology* 1985;88: 787-791.
57. Lieber MM: The incidence of gallstones and their correlation with other diseases. *Ann Surg* 1952.;135:394-405.
58. Knowler WC, Carraher MJ, Pettit DJ: Diabetes mellitus, obesity and cholelithiasis. In: Capocaccia L, Ricci G, Angelico F, Angelico M, Aitili AF (Eds): *Epidemiology and Prevention of gallstone disease*. Lancaster, MTP Press, 1984, pp 85-95.
59. Diehl AK, Stern MP, Ostrover VS, et al: Prevalence of clinical gallbladder disease in Mexican Americans, Anglo and black women. *South Med J* 1980;73:438-441.
60. Ahlberg J: serum lipid levels and hyperlipoproteinemia in gallstone patients. *Acta Chir Scand* 1979;145:373-377.
61. Kadsolka R, Nilsson S, Schersten T: Prevalence of hyperlipoproteinaemia in men with gallstone disease. *Scand J Gastroent* 1977;12:353-355.
62. Pettit DB, Friedman GD, Klatsky AL: Association of a history of gallbladder disease with a reduced concentration of high density lipoprotein cholesterol. *N Engl J Med* 1981;304:1396-1398.
63. Ramos M, Morán S, Guevara L, Méndez N, Lizardi J, Cruzgonzález I, Aguilar A, Arriaga J, Uribe M: Alteraciones de los lípidos plasmáticos en litiasis biliar. *Rev Gastroenterol Mex* 1992;57(3):298.
64. Morán S, Uribe M, Ramos M, Méndez Y, De la Mora G: Apoproteínas A1 y B en litiasis vesicular. *Médica Sur* 1994;1:7-9.

65. Kaiser MH, Schoenfield LJ, Marks JW and Tompkins RK: Cholelithiasis. In Gastroenterology Bockus. Berk JE Ed. Four edition. Philadelphia PA: Saunder Company, 1987, Chapter 189.
66. LoRusso D, Misciagna G, Noviello MR y cols: Cholelithiasis after Billroth II gastric resection. *Surgery* 1988;103: 579-583.
67. Cohen S, Kaplan MM, Norton RA, et al: Liver disease and gallstones in regional enteritis. *Gastroenterology* 1971;60:237-241.
68. Pitt HA, Lewinski MA, Muller EL, Porter-Fink V, Den besten L: Ileal resection induced gallstones: altered bilirubin or cholesterol metabolism. *Surgery* 1984;96:154-160.
69. Méndez-Sánchez N, Brink MA: Biliary secretion of bilirubin and bile salts after ileal resection in the rat: evidence for enterohepatic cycling (EHC) of bilirubin. XIII international meeting of bile acids. San Diego, CA. Septiembre 29-Octubre 2, 1994.
70. Kurtin WE, Schwesinger WH, Stewart RM: Effect of dietary ethanol gallbladder absorption and cholesterol gallstone formation in the PrairieDog. *Am J Surg* 1991;161:470-474.
71. Lagarriaga AJ, Rojas BA: Efectos de la dieta contemporánea en la composición de la bilis y en la formación de cálculos de colesterol. *Rev Clin Esp* 1973;131:87-94.
72. Anderson JN, Linchen OW: Plant fiber, carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr* 1979;32:346-63.
73. Cranston D, McWhinnie D, Collin J: Dietary fibre and gastrointestinal disease. *Br J Surg* 1988;75:508-12.
74. Morán S, Guevara L, Ramos H, et al: Dieta y litiasis vesicular en población mexicana. Efecto de la dieta hiperenergética y baja en fibra: *Rev Gastroenterol Mex* 1994;54 (Supl 2):140.
75. Bourges H: Panorama alimentario de México. *Cuadernos de Nutrición* 1981;5:18-32.
76. Kritchevsky D: Dietary fiber. *Ann Rev Nutr* 1988;75:508-12.
77. Pixley FJ, Wilson DJ, Mc Pherson K, et al: Effect of vegetarianisms on the development of gallstones in women. *Br Med J* 1985;241:11-12.
78. Nervi F, Covarrubias C, Bravo P, et al: Influence of legume intake biliary lipids and cholesterol saturation in young Chilean men. *Gastroenterology* 1989;96:825-30.

79. Carey MC, Cahalane MJ: Enterohepatic circulation. In: Arias IM, Jakoby WB, Popper H, et al. (Eds): *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York. Raven Press, 1988,573-616.
80. Carey MC: Physical-chemical properties of bile acids and their salts. In: Danielsson H, Sjövall J (Eds): *Sterols and Bile Acids*. Amsterdam, Elsevier, 1985,345-403.
81. Hay DW, Cahalane MJ, Timofeyeva N, Carey MC: Molecular species of lecithins in human gallbladder bile: Hydrophilicity of the bile salt pool determines hydrophilicity of the lecithins (Abstr.) *Hepatology*1989; 10:599.
82. Carey MC, Small DM: The physical chemistry of cholesterol solubility in bile. Relationship to gallstone formation and dissolution in man. *J Clin Invest* 1978;61:998-1026.
83. Lin D, Connor W, Phillipson B: Sterol composition of normal human bile. Effects of feeding shellfish (marine) sterols. *Gastroenterology*, 1984;86: 611-617.
84. Miettinen T, Kesäniemi YA, Järvinen H, Hästbacka J: Cholesterol precursor sterols, plant sterols, and cholestanol in human bile and gallstones. *Gastroenterology* 1986;90:858-864.
85. Renshaw PE, Janoff AS, Miller KW: On the nature of dilute aqueous cholesterol suspensions. *J Lipid Res* 1983;24:47-51.
86. Carey MC, Cohen DE: Biliary transport of cholesterol in vesicles, micelles and liquid crystals. In: Paumgartner G, Stiehl A, Gerok W (Eds): *Bile Acids and the Liver*. Lancaster, MTP Press. 1987, 287-300.
87. Chijiwa K, Nagai M: Interaction of bile salt monomer and cholesterol in the aqueous phase. *Biochim Biophys Acta* 1989;1001:111-114.
88. Sömjen GJ, Marikovsky Y, Leikes P, Gilat T: Cholesterolphospholipid vesicles in human bile: an ultrastructural study. *Biophys Acta*, 1986;879:14-21.
89. Halpern Z, Dudley MA, Kibe A, et al: Rapid vesicle formation and aggregation in abnormal human biles. A time-lapse video-enhanced contrast microscopy study. *Gastroenterology* 1986;90:875-885.
90. Olszewski MF, Holzbach TR, Saupe A, Brown GH: Liquid crystals in human bile. *Nature* 1973;242:336-337.

91. Pattinson NR, Chapman BA: Distribution of biliary cholesterol between mixed micelles and nonmicelles in relation to fasting and feeding in humans. *Gastroenterology*, 1986;91:697-702.
92. Halpern Z, Dudley MA, Lynn MP, et al: Vesicle aggregation in model systems of supersaturated bile: Relation to crystal nucleation and lipid composition of the vesicular phase. *J Lipid Res* 1986;27:295-306.
93. Holan KR, Holzbach RT, Hermann RE, et al: Nucleation time: A key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. *Gastroenterology* 1979;77:611-617.
94. Cohen DE, Angelico M, Carey MC: Quasielastic light scattering evidence for vesicular secretion of biliary lipids. *Am J Physiol* 1989; 257:G1-G8.
95. Coleman R, Rahman K, Bellringer ME, Carella M: Biliary lipid secretion and its control. In: Northfield T, Jazrawi R, Zentler-Munro P (Eds): *Bile Acids in Health and Disease*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers 1988:135-153.
96. Thomas PJ, Hofmann AF: A simple calculation of the lithogenic index of the bile: expressing biliary lipid composition on rectangular coordinates. *Gastroenterology* 1973;65: 698-670.
97. Bilhartz LE, SpadyDK, Dietschy JM: Inappropriate hepatic cholesterol synthesis expands the cellular pool of sterol available for recruitment by bile acids in the rat. *J Clin Invest* 1989; 84:1181-1187.
98. Turley SD, Dietschy JM: The metabolism and excretion of cholesterol by the liver. In Arias IM, Jakoby WB, Popper H, et al (Eds): *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York, Raven Press, 1988:617-641
99. Clarke CF, Edwards PA, Fogelman AM: Cellular regulation of cholesterol metabolism. In Gotto AM Jr (Ed): *Plasma lipoproteins*, Amsterdam, Elsevier 1987:261-276.
100. Neri F, Bronfman M, Allalon W, et al: Regulation of biliary cholesterol secretion in the rat. Role of hepatic cholesterol esterification. *J Clin Invest* 1984;74:2236-2237.
101. Brown MS, Goldstein JL: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
102. Danielson H, Wikvall K: Biosynthesis of bile acids. In: Fears R, Sabine JR (Eds): *Cholesterol 7alpha hydroxylase (7alpha Monooxygenase)*. Boca Raton, FL, CRC Press, 1986: 9-19.

103. Den Besten L, Connor WE, Bell S: The effect of dietary cholesterol on the composition of human bile surgery 1973;73:226-273.
104. Lee DWT, Gilmore CJ, Bonorris G, et al: Effect of dietary cholesterol on biliary lipids in patients with gallstones and normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1985 42:414-420.
105. Angelin B, Backman L, Einarson K, et al: Hepatic cholesterol in obesity: activity of microsomal 3-hydroxy-3 methylglutarylcoenzyme A reductase. *J Lipid Res* 1981; 23:770-773.
106. Ahlberg J, Angelin B, Bjorkhem I, et al: Hepatic cholesterol metabolism of normo and hyperlipidemic patients with cholesterol gallstones. *J Lipid Res* 1979; 20:107-115.
107. Einarson K, Nilsell K, Leijd B, Angelin B: Influence of age on secretion of cholesterol and synthesis of bile acids by the liver. *N Engl J Med* 1985; 313:277-282.
108. Holzbach RT: Factors influencing cholesterol nucleation in bile. *Hepatology* 1984;4: 173s-176s.
109. Holzbach RT, Kibe A, Thiel E, et al: Biliary proteins unique inhibitors of cholesterol crystals nucleation in human gallbladder bile. *J Clin Invest* 1984;73: 35-45.
110. Méndez SN, Panduro A, González L, et al: Low dose of ursodeoxycholic acid induces apolipoprotein A-1 gene expression and prolong nucleation time in patient with cholesterol gallstone. *Hepatology* 1991;14: 148A.
111. Forgacs IC. Pathogenesis of cholesterol gallstone disease. The motility defect. In Northfield T, Jazraqi R, Zentler-Munro P (Eds). *Bile Acids In health and disease*. Dordrech Kluwer Academic Publishers 1988;135-153.
112. Fridhandler TM, Davison JS, Shaffer EA. Defective gallbladder contractility in the ground squirrel and prairie dog during the early stages of cholesterol gallstone formation in the prairie dog. *Gastroenterology* 1983;85: 830-836.
113. Doty JE, Pitt HA, Kuchembebecker SL, DenBesten L. Impaired gallbladder emptying before gallstone formation in the prairie dog. *Gastroenterology* 1983;85: 168-174.
114. Li YK, Weisbrodt NW, Moody FG, et al: Calcium induced contraction and contractile protein content of gallbladder smooth muscle after high-cholesterol feeding of prairie dogs. *Gastroenterology* 1990;92:746-750.1990.

115. Forgas IC, Maisey Mn, Murphy GM, Dowling RH. Influence of gallst and urosdeoxycholic acid therapy on gallbladder emptying. *Gastroenterology* 1984;87: 299-304.
116. Masclee AAM, Jansen JBMJ, Driessen WMM, et al: Plasma cholecystokinin and gallbladder responses to intraduodenal fat in gallstone patients. *Dig Dis & Sci* 1989;34: 353-359.
117. Palasciano G, Portincasa P, Belfiore A, et al: Gallbladder volume and emptying in diabetics: the role of neuropathy and obesity. *J Intern med* 1992;231: 123-127.
118. De La Mora G, Morán S, Cruz-González I, Tanimoto M, Uribe M: Gallbladder Hypomotility is not essential for the development of gallstones (GS) in Senile Individuals. *Hepatology* 1993;18:309A.
119. Carey MC, Cahalane MJ: wither biliary sludge ? *Gastroenterlogy* 1988;95: 508-523.
120. Lee SP, LaMont JT, Carey MC: Role of gallbladder mucus hypersecretion in the evolution of cholesterol gllstones. *Studies in the prarie dog. J Clin Invest* 1981; 67:1712-1723.
121. Moore EW: Pathogenesis of gallstones: Beyond supersaturation. *Gastroenterology* 1990 in press.
122. LaMorte WW, LaMont JT, Hale W, et al: Gallbladder prostaglandins and phospholipids as mediators of mucin secretion during cholelithiasis. *Am J Physiol* 1986; 251:G701-G709.
123. Lee SP, Carey MC, LaMont JT: Aspirin preventlon of cholesterol gallstone formaton in prarie dogs. *Science*1981; 211:1429-1431.
124. Hood K, Gleason D, Ruppin DC, Dowling RH: Prevention of gallstone recurrence by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet* 1988; 2:1223-1225.
125. Conter RL, Roslyn JJ, Porter-Fink, DenBesten L: Gallbladder absortion increases during early cholesterol gallstone formation. *Am J Surg* 1986;151:184-191.
126. Abdou MS, Strichartz SD, Abedin MZ, Rosly JJ: Biliary lipids alter ion transport during cholesterol gallstone formation. *J Surg Res* 1988;44:672-679.
127. Stricchartz SD, Abedin MZ, Abdou MS, Roslyn JJ: Increased biliary calcium In cholesteroli gallstone formation. *Am J Surg*,1988;155:131-137.

128. Strichartz SD, Abedin MZ, Abdou MS, Roslyn JJ: The effect of amiloride on biliary calcium and cholesterol gallstone formation. *Ann Surg* 1989; 209:152-156.
129. Shiffman ML, Sargarman HJ, Kellum JM, Moore EW: Free calcium ion (ca⁺⁺), is increased in gallbladder bile of patients with all types of gallstones (Abstr) *Hepatology* 1989; 10:601.
130. Marcus SN, Heaton KW: Deoxycholic acid and the pathogenesis of gallstones. *Gut* 1988;29:522-533.
131. Marcus SN, Heaton KW: Intestinal transit, deoxycholic acid and the cholesterol saturation of bile - three inter related factors. *Gut* 1986; 27:550-558.
132. Nepokroeff CM, Lakshmanan MR, Ness GC et al: Regulation of the diurnal rhythm of rat liver B hydroxy-B-methylglutaryl coenzyme A reductase activity by insulin, glucagon, cyclic AMP and hydrocortisone. *Arch biophysics* 1974;160: 387-393.
133. Paolisso G, Ferranini E, Saverio Sgambato: Hiperinsulinemia with hypercholesterolemia. *JCE & M* 1992;75:1409-1412
134. González J, Fevery J: Spontaneously diabetic biobreeding rats and impairment of bile acid-independent bile flow and increased biliary bilirubin, calcium and lipid secretion. *Hepatology* 1992;16:426-432.
135. Ruderman NB: "The metabolically obese" normal-weight individual. *Am J Clin Nutr* 1981;34:1617-1621.
136. Morán C, Gómez R, Morán S, Rufz J, et al: Relación glucosa insulina en intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus y obesidad de acuerdo a la distribución del tejido adiposo. *Medicina Interna de México* 1993;9:124.
137. Garzo F: Valoración de la hemostasis en el preoperatorio. *Rev Med Hospital General* 1978;41: 15-20.
138. Sherlock S: Chronic hepatitis. *Gut* 1974;15: 581-590.
139. Abell LL, Levy BB, Brondie BB, Kendall FE: A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J Biol Chem* 1952;195: 357-366.
140. Fiske CH, Subbarow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66: 375-400.
141. Talalay P: Enzymic analysis of steroid hormones *Biochem Anal* 8: 119-143, 1960.

142. Berson SA, Yalow RS: Recent studies on insulin binding antibodies. *Ann NY Acad Sci* 1959;82: 332-334.
143. Rodbard D, Bridson W, Rayford PL: Rapid calculation of radioimmunoassays. *J Clin Med* 1969;74: 770-781.
144. Rodbard D, Rayford L, Cooper JA: Statistical quality control of radioimmunoassays. *J Clin Endocrinol* 1968;28: 1412-1418..
145. Siedel J, Schlumberger H, Klose S, et al: CHolesterol CHOP-PAP *J Clin Chem Biochem* 1981;19: 838.
146. Wahlefeld AW en Bermeyer HU: *Methoden der enzymatische Analyse*, 3a edición, tomo II, Verlag Chemie Weinheim, 1974, pag 1878.
147. Burke JJ, Fisher PM: A clinician's guide to the office measurements of cholesterol: *JAMA* 1988;259: 3444-3448.
148. Assman G: *International lipid simposium*, Viena/Austria. Wiltrock Verlag, Baden-Baden 1979.
149. Bray GA: Overweight is riking fate. Defintion, classification, prevalence and risks. *Ann NY Acad Sci* 1987;499:14-28.
150. Thomas PJ, Hofmann AF: A simple calculation of the lithogenic index of the bile: expressing billary lipid composition on rectangular coordinates. *Gastroenterology* 1973;65: 698-670.
151. Maringhini A, Pia-Marceno M, Lanzarone F, et al: Sludge and stones in gallbladder after pregnancy. Prevalence and risk factors. *J hepatol* 1987;5:218-223.
152. Twisk J, Hoekman M, Lehmann E, Meijer P, Mager W, Princen H: Insulin suppresses bile acidsynthesis in cultured rat hepatocytes by down-regulation of cholesterol 7 α hydroxylase and sterol 27 hydroxylase gene transcription. *Hepatology* 1995;21:501-510.
153. Reaven GM: Role of insulin resitance In human disease. *Diabetes* 1988 37:1595-1607.
154. XVIII Asamblea Médica Mundial, Helsinki, 1964, y XXIX Asamblea Médica Mundial, Tokyo, 1975.
155. Comisión Interinstitucional de Investigación en Salud: Anteproyecto de la ley general en Materia de Investigación para la salud. México, 1985.

Anexo 1. Carta de consentimiento para pacientes

Proyecto: Relación entre las concentraciones de insulina en suero y el índice de saturación de colesterol biliar en pacientes con litiasis vesicular.

He aceptado tomar parte del grupo de estudio para pacientes con litiasis biliar en quienes se está estudiando las concentraciones de insulina, el índice de saturación de colesterol biliar, además de las fracciones de lipoproteínas HDL-colesterol y LDL-colesterol en suero, con la finalidad de ver si existe relación entre ellos.

He sido informado de que el estudio incluye la toma de una muestra de sangre venosa (aproximadamente 25 ml) al inicio del estudio, además de la toma de 10 cm de bilis durante la realización de la colecistectomía.

Estoy consciente de que los riesgos que implica el estudio son mínimos y que siempre podré recurrir al investigador para su apoyo médico en caso de presentar algún problema relacionado con el estudio.

Me permito solicitar que la información de mi caso se maneje en forma confidencial, sin embargo autorizo que la información obtenida sea utilizada para los efectos que la investigación estime conveniente, en beneficio de las personas que presentan este padecimiento.

Por todo lo anterior, estoy de acuerdo en cooperar en el desarrollo del presente estudio, en el conocimiento de que puedo retirarme de él en cualquier momento si así lo juzgo conveniente, sin que ello afecte mi atención subsecuente.

A t e n t a m e n t e

Nombre y firma

Testigo 1, Nombre y firma

Testigo 2, Nombre y firma

Anexo 2. Historia Clínica

No. de Identificación

Nombre:

Sexo: M___ F___ Edad___ Estado Civil:___ Escolaridad:___

Ocupación:

Residencia:

Dirección y teléfono:

Antecedentes Heredofamiliares

Diabetes Mellitus: Si___ No___

Hiperlipidemias: Si___ No___ Tipo___

Otros:_____

Antecedentes Personales no patológicos

Tabaquismo: Si___ Tab/día No___

Consumo de alcohol: Si___ g/día No___

Antecedentes Gineco-obstétricos

Gestas_____ Paras_____

Anticonceptivos: Tipo_____ Tiempo_____

Antecedentes patológicos

Diabetes Mellitus: Si___ No___

Hiperlipidemias: Si___ No___ Tipo___

Otros:_____

Cirugías previas:

Padecimiento Actual:

Síntomas principales:

Tiempo de Evolución:

Exploración física:

IMC:

ICC:

Anexo 3. Características de los pacientes con ISC<1

<u>Paciente</u>	<u>Edad (años)</u>	<u>IMC</u>	<u>ICC</u>
BJG	38	31.6	0.81
NLM	39	24.5	0.76
RRC	31	27.6	0.87
RRG	47	32.0	0.98
MLC	31	20.3	0.94
CHC	27	25.6	0.94
APV	27	25.4	0.87
ZAM	30	31.3	0.85
IHV	41	30.8	0.85
RPO	20	25.1	0.96

*IMC= índice de masa corporal
ICC= índice cintura cadera*

Anexo 4. Características de los pacientes con $ISC \geq 1$

Paciente	Edad (años)	IMC	ICC
SS	45	28.5	1.00
ANS	26	27.5	0.81
ELE	48	28.5	0.92
MAR	20	23.7	0.91
CGG	28	28.6	0.92
MCA	47	20.8	0.78
HIA	43	35.1	0.82
BT	48	36.1	0.99
IC	38	26.8	0.84
PPC	28	24.9	0.89
GH	32	27.6	0.80
ECN	33	23.1	0.88
MDG	48	27.0	0.99

*IMC= índice de masa corporal
ICC= índice cintura cadera*

Anexo 5. Concentración de lípidos en suero de los pacientes con ISC<1

<u>Paciente</u>	<u>Colesterol*</u>	<u>Triglicéridos*</u>	<u>HDL*</u>
BJG	180	170	63
NLM	162	68	55
RRC	215	50	54
RRG	226	135	79
MLC	199	101	42
CHC	174	99	59
APV	232	226	47
ZAM	179	97	54
IHV	219	155	42
RPO	161	82	26

* valores expresados en mg/dL

Anexo 6. Concentración de lípidos en suero de los pacientes con ISC≥1

<u>Paciente</u>	<u>Colesterol*</u>	<u>Triglicéridos*</u>	<u>HDL*</u>
SS	193	104	55
ANS	209	111	55
ELE	237	207	47
MAR	196	83	78
CGG	187	71	70
MCA	228	110	49
HIA	197	109	42
BT	218	183	29
IC	218	183	41
PPC	125	65	49
GH	141	87	54
ECN	220	302	102
MDG	156	115	35

* valores expresados en mg/dL

Anexo 7. Valor del ISC en los pacientes ISC<1

Paciente	Sales biliares*	Colesterol*	Fosfolípidos*	Lípidos totales**	ISC
BJG	86.45	4.53	36.27	7.23	0.47
NLM	59.08	3.09	24.15	4.89	0.50
RRC	126.66	8.80	49.37	10.39	0.60
RRG	113.92	9.39	50.57	9.88	0.66
MLC	69.07	3.75	17.62	4.90	0.74
CHC	55.27	3.91	16.22	4.12	0.86
APV	66.66	6.59	27.52	5.66	0.90
ZAM	158.20	18.15	64.61	13.48	0.90
IHV	51.61	5.10	21.88	4.43	0.92
RPO	142.64	18.99	64.06	12.70	0.99

*Expresados en $\mu\text{mV/L}$

** Expresado en g/dL

ISC=índice de saturación de colesterol

Anexo 8. Valor del ISC en los pacientes con ISC \geq 1

Paciente	Sales biliares*	Colesterol*	Fosfolípidos*	Lípidos totales**	ISC
SS	37.14	4.18	17.71	3.36	1.04
ANS	101.17	14.87	54.87	9.80	1.05
ELE	54.98	6.86	24.96	4.90	1.09
MAR	127.04	17.07	46.68	10.52	1.15
CGG	109.58	10.36	23.37	7.59	1.29
MCA	40.80	5.49	14.68	3.35	1.42
HIA	65.47	12.15	32.03	6.17	1.45
BT	155.11	18.92	34.80	11.05	1.45
IC	77.53	20.44	46.99	8.24	1.75
PPC	111.80	18.20	28.04	8.37	1.85
GH	65.98	7.99	12.81	4.54	1.88
ECN	67.77	24.10	41.44	7.47	2.29
MDG	69.16	13.48	16.02	5.16	2.47

*Expresados en $\mu\text{m/L}$

** Expresado en g/dL

ISC=Índice de saturación de colesterol

Anexo 9. Areas bajo la curva de glucosa e insulina en suero de los pacientes con ISC<1

<u>Paciente</u>	<u>ABCI</u>	<u>ABCG</u>
BJG	2452	6490
NLM	1528	5790
RRC	2883	5875
RRG	3191	9980
MLC	7165	7275
CHC	3565	7295
APV	2845	5930
ZAM	3170	6100
IHV	6985	7700
RPO	1587	4470

ABCI=area bajo la curva de insulina (valores expresados en $\mu\text{U}/\text{mL}/\text{h}$)
ABCG=area bajo la curva de glucosa (valores expresados en $\text{mg}/\text{dL}/\text{h}$)

Anexo 10: Areas bajo la curva de insulina y glucosa de los pacientes con ISC \geq 1

<u>Paciente</u>	<u>ABCI</u>	<u>ABCG</u>
SS	5929	8455
ANS	2.084	6360
ELE	3.146	8860
MAR	2637	6770
CGG	5924	8160
MCA	4737	7165
HIA	5088	4810
BT	3931	6415
IC	8189	10625
PPC	3938	6540
GH	4134	7075
ECN	13062	8580
MDG	6739	9520

*ABCI=area bajo la curva de insulina (valores expresados en μ U/mL/h)
ABCG=area bajo la curva de glucosa (valores expresados en mg/dL/h)*