

11215



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE M

4
2ej

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

BILIS LITOGENICA

Landst

TESIS DE POSTGRADO EN:
GASTROENTEROLOGIA
Dr. Shamik Chatt Pérez

HOSPITAL GENERAL
CENTRO MEDICO NACIONAL

I. M. S. S.

México, D. F.

TESIS CON
SELLO DE CANCELACION

1980



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 está 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

	Págs.
I. FISILOGIA DEL SISTEMA BILIAR	1
II. METABOLISMO DE LOS LIPIDOS BILIARES	2
III. SOLUBILIDAD DEL COLESTEROL EN LA BILIS	7
IV. MATERIAL Y METODOS	16
V. RESULTADOS	22
VI. COMENTARIO Y CONCLUSIONES	30

PISIOLOGIA DEL SISTEMA BILIAR

La bilis es secretada continuamente por el hígado. La cantidad secretada en 24 horas varía de 1000 a 2400 ml, dependiendo de múltiples factores incluyendo actividad, dieta y la cantidad de líquidos ingeridos (1). Las sustancias que van a ser secretadas en la bilis son captadas por los hepatocitos. Algunas de estas sustancias son sometidas a cambios metabólicos dentro del hígado previo a su secreción en la bilis. La transferencia de las sustancias de los hepatocitos a la bilis se logra por procesos especializados de transporte activo, o más lentamente por difusión pasiva.

Las sustancias pueden entrar al canalículo biliar atravesando la membrana de la microvellosidad que limita el canalículo, o entrando a través del canal intercelular desde el espacio perisinusoidal de Disse (2). El componente canalicular del flujo biliar consta de dos fracciones, una dependiente y la otra independiente de la secreción de ácidos biliares (3). La secreción de ácidos biliares origina un estímulo osmótico efectivo para la formación de la bilis (4). La secreción biliar independiente de ácidos biliares es probablemente debido a secreción activa de sodio y mediado por el sistema ANP cíclico (5).

La bilis fluye desde el canalículo a través de los conductos de mayor calibre al conducto común. Sin embargo, el volumen y la composición de la bilis son modificados por fenómenos de absorción y secreción en los conductos biliares.

La bilis hepática está compuesta de agua, electrolitos, colesterol, fosfolípidos, aniones orgánicos, ácidos biliares y bilirrubina. La concentración de proteínas en la bilis es bajo (30-300 mg/100 ml), dado fundamentalmente por la albúmina.

El sodio, bicarbonato, potasio y calcio se encuentran en la bilis en concentraciones mayores en comparación a los niveles séricos. La concentración del cloro en la bilis puede ser menor que la del plasma. La tabla I muestra la concentración de solutos inorgánicos en la bilis humana.

Otros compuestos de la bilis como fosfato, fosfatasa alcalina, colesterol, fosfolípidos, proteínas, sacarosa e insulina, se encuentran en la bilis en concentraciones menores que las del plasma. Algunos compuestos que aparentemente son secretados directamente del hepatocito a la bilis, se encuentran en concentraciones mil veces mayor de las encontradas en el plasma. Muchas de estas sustancias son aniones conjugados e incluyen ácidos biliares, bilirrubina, tironinas, aminas presoras, porfirinas, hormonas esteroideas y bromosulfoftaleína.

La vesícula concentra la bilis entre el 10 y el 20 porciento de su volumen original por absorción selectiva (6). Los pigmentos biliar-

Tabla I

Concentración de solutos inorgánicos
en la bilis hepática

	mEq/l
Na ⁺	145-165
K ⁺	2.7-4.9
Ca ⁺⁺	2.5-4.8
Mg ⁺⁺	2.4-3.0
Cl ⁻	88-115
HCO ₃ ⁻	27-55

res y los ácidos biliares se encuentran hasta 10 veces más concentrados en la bilis vesicular que en la bilis hepática. En la bilis vesicular, el sodio (200 mEq/l), calcio (25 mEq/l) y potasio (10 mEq/l) se encuentran a mayores concentraciones. El cloro y el bicarbonato (5 a 10 mEq/l) se encuentran a menores concentraciones que en la bilis hepática.

La bilis es almacenada en la vesícula entre los alimentos y despiada al intestino durante la digestión, aunque una proporción de la secreción de ácidos biliares entra al duodeno esporádicamente durante el ayuno (7). La elasticidad y la capacidad de concentración de la vesícula protegen al sistema biliar contra los incrementos de presión intraductal. La colecistoquinina liberada por la mucosa duodenal en respuesta a alimentos o ácido, actúa directamente en el músculo vesicular causando contracción de la vesícula y relajación del esfínter de Oddi.

La presión que impulsa la bilis a través del sistema biliar es la presión secretora del hígado y la presión generada por la contracción vesicular. El principal regulador de resistencia en el sistema biliar es el esfínter de Oddi. La resistencia al flujo puede estar influida además por el estado de contracción de la musculatura duodenal adyacente, la longitud y calibre de los conductos y la viscosidad de la bilis.

METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS BILIARES

La bilis es un líquido complejo que contiene 3 lípidos: colesterol, ácidos biliares y fosfolípidos, además de otros constituyentes como bilirrubina, proteínas, iones inorgánicos. Normalmente estas sustancias se encuentran solubles en la bilis, sin embargo, bajo condiciones anormales algunos de estos constituyentes se pueden volver insolubles y se precipitan. Si estos complejos precipitados

crecen, darán origen a la formación de cálculos.

Los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la formación de cálculos de colesterol, están en relación a ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol. Los mecanismos que intervienen en la formación de cálculos de pigmento involucran a la bilirrubina. El colesterol y los fosfolípidos son importantes en la fisiología de todas las células; sin embargo, la función de los ácidos biliares se encuentra primariamente dentro de la circulación enterohepática y la bilirrubina es un producto de excreción del metabolismo del grupo hem de la hemoglobina.

Colesterol

El origen más importante del colesterol es su síntesis en el organismo y el colesterol en la dieta aporta una cantidad menos importante. Se ha considerado que el hígado y el intestino son los órganos que tienen la mayor capacidad para sintetizar colesterol (26). La síntesis de colesterol se ha estudiado más frecuentemente en tejido hepático y las enzimas que participan en este proceso se encuentran en la fracción microsomal y soluble. Tres fragmentos de Acetil-coenzima A se condensan para formar beta-hidroxi-beta-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA), la que es reducida para formar mevalonato, el cual es sometido a procesos de fosforilación, descarboxilación y condensación, formando farnesil pirofosfato. Dos moléculas de farnesil pirofosfato se condensan para formar escualeno. La ciclización del escualeno a lanosterol es seguida por varios cambios nucleares que dan por resultado la formación de colesterol (Figura 1). La enzima responsable de la reducción de la HMG-CoA a mevalonato es la HMG-CoA reductasa, que es la enzima que limita el grado de síntesis de colesterol (8).



Figura 1. SINTESIS DEL COLESTEROL

El colesterol biliar no está esterificado, en contraste a la mayoría del colesterol plasmático y hemático, el cual está esterificado en la posición 3 con ácidos grasos. En el intestino este colesterol libre de la bilis se mezcla con colesterol esterificado de otros orígenes incluyendo la dieta, secreción intestinal y desorcación de las células de la mucosa intestinal. El colesterol esterificado en la luz intestinal es hidrolizado por esterasa pancreática y el colesterol libre es parcialmente absorbido, mezclándose con la poza intracelular de las células del epitelio intestinal. La mayoría del colesterol es reesterificado, liberado en los linfáticos intestinales como quilomicrones y retorna al hígado. El colesterol que no es absorbido es excretado en la materia fecal como esteroide neutro (figura 2).

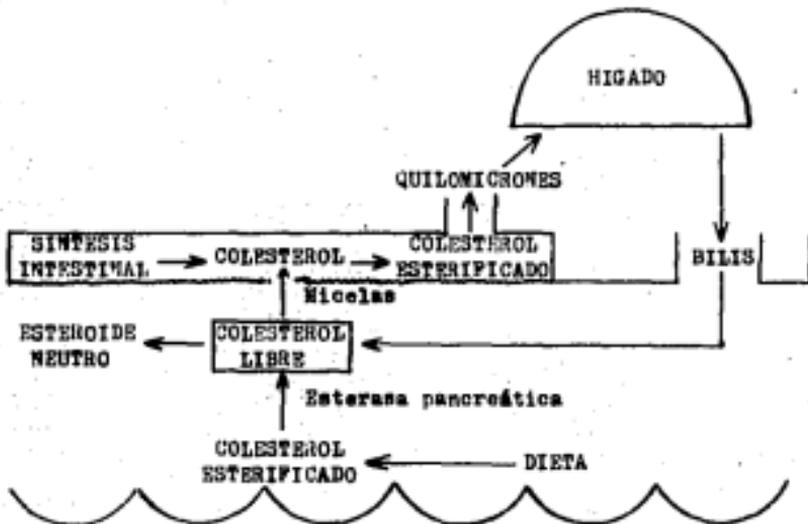


Figura 2. ABSORCIÓN DEL COLESTEROL

El colesterol libre en la luz intestinal se origina principalmente del colesterol biliar y del colesterol de la dieta que ha sido hidrolizado. Las micelas de los ácidos biliares solubilizan el colesterol libre que es absorbido por difusión pasiva. El colesterol no absorbido es excretado como esteroide neutro en las materias fecales. El colesterol absorbido se mezcla con el colesterol libre sintetizado en la mucosa intestinal. La mayor parte del colesterol es reesterificado y transportado como quilomicrones en la linfa hacia el hígado.

Los ácidos biliares y el colesterol, a través de sus efectos en la síntesis de colesterol hepático e intestinal y en la absorción de colesterol, son los reguladores más importantes del metabolismo del colesterol (9). Los ácidos biliares regulan la síntesis hepática de colesterol bien sea directa o indirectamente (por aumento de la absorción de colesterol), inhibiendo la enzima que interviene en la síntesis de colesterol, la HMG-CoA reductasa (Figura 3).

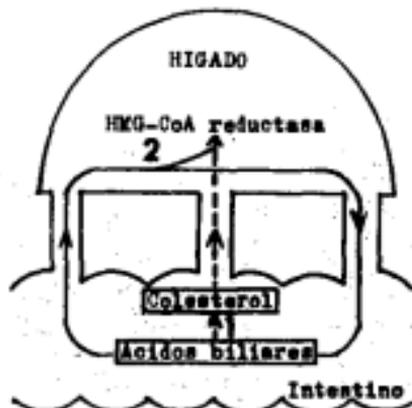


Figura 3. CONTROL DE LA SÍNTESIS DEL COLESTEROL HEPÁTICO

Se han propuesto 2 mecanismos que intervienen en el control de la síntesis de colesterol hepático. 1) Los ácidos biliares facilitan el paso del colesterol desde el intestino a la linfa, así que el colesterol inhibe la HMG-CoA reductasa. 2) Los ácidos biliares a través de la circulación enterohepática inhiben directamente la síntesis de colesterol en el mismo paso enzimático.

Ácidos Biliares

Los ácidos biliares primarios, el cólico y el quenodesoxicólico, se sintetizan en el hígado a partir del colesterol (10). La síntesis de los ácidos biliares primarios se inicia en los microsomas hepáticos con una hidroxilación de colesterol por la enzima colesterol 7 alfa-hidroxilasa. Se conjugan con taurina y glicina y son secretados en el tracto biliar.

En el intestino distal, las bacterias convierten los ácidos biliares primarios en ácido desoxicólico y litocólico, que son los ácidos biliares secundarios. Los tres primeros se absorben activamen-

te en el ileon terminal y participan en el ciclo enterohepático de las sales biliares (11).

Parte del ácido litocólico también se absorbe y al llegar al hígado es sulfatado, conjugado con glicina y taurina y secretado en la bilis en forma de sulfo-lito-colil-glicina y sulfo-lito-colil-aurina, las que tienen un ciclo enterohepático muy reducido y se eliminan por las heces fecales (12).

El 95 por ciento de los ácidos biliares son reabsorbidos en el intestino y solamente el 5 por ciento son excretados en las heces como esterooides ácidos. La poza de ácidos biliares recircula de 6 a 10 veces al día a través de la circulación enterohepática, aportando gran cantidad de ácidos biliares para la solubilización de lípidos biliares e intestinales.

La síntesis de los ácidos biliares depende de la excreción de ácidos biliares, del balance del colesterol y de la ingesta calórica. Bajo condiciones normales, la síntesis hepática de ácidos biliares es de 200 a 500 mg en 24 horas, suficiente para reemplazar la pérdida fecal y mantener una poza de aproximadamente 3 gramos (13).

Si se incrementa la excreción de ácidos biliares por derivación biliar, exclusión ileal o administración oral de resinas fijadoras de ácidos biliares, aumenta la síntesis de ácidos biliares. Por el contrario, la administración de ácidos biliares disminuye su síntesis. No se ha definido el papel preciso del colesterol en la regulación de la síntesis de los ácidos biliares y se ha sugerido que el colesterol puede estimular la síntesis hepática de ácidos biliares (14).

Fosfolípidos

La lecitina constituye más del 90 por ciento de los fosfolípidos en la bilis (15). La síntesis de lecitina biliar se lleva a cabo en el hígado predominantemente por la transferencia de colina a diglicérido. La lecitina dentro del intestino es exógena (dieta) o endógena, siendo la lecitina biliar la mitad de la porción endógena.

La lecitina en el intestino es hidrolizada por fosfolipasa pancreática a lisolecitina, la cual es absorbida y secretada en los linfáticos como quilomicrones. Los ácidos biliares son los reguladores más importantes de la síntesis hepática y secreción biliar de lecitina.

Secreción de Lípidos Biliares

La secreción de lípidos biliares y el flujo de bilis dependen de manera importante de los ácidos biliares, aunque pueden intervenir otros factores independientes de los ácidos biliares.

Los ácidos biliares primarios y secundarios que regresan al hígado a través de la vena porta, son extraídos de la sangre por el hepatocito, transportado a través de las células y secretado en el canalículo biliar.

Los ácidos biliares tienen un efecto estimulador en el flujo de la bilis. El incremento en el flujo está causado por secreción de agua en el tracto biliar con aumento proporcional en la secreción de sodio, potasio y cloro.

Durante períodos de disminución de retorno de ácidos biliares al hígado, como en el ayuno o la interrupción de la circulación enterohepática, resultará en una disminución del flujo biliar. El contenido del colesterol en la bilis será relativamente alto y el contenido de ácidos biliares y lecitina relativamente bajo. Esto es, la composición de los lípidos biliares varía durante el día, con relativamente mayor cantidad de colesterol en la bilis durante períodos de ayuno (16,17).

SOLUBILIDAD DEL COLESTEROL EN LA BILIS

El colesterol es insoluble en agua y la bilis es una solución acuosa. La solubilidad del colesterol en la bilis depende tanto de los ácidos biliares como de la lecitina, que forman agregados coloidales llamados micelas mixtas, que actúan como solventes del colesterol (Figura 4) (39). La formación de micelas está influida no solamente por la concentración de ácidos biliares y fosfolípidos, sino también por la concentración de iones, las estructuras moleculares de los ácidos biliares (posiciones de los grupos hidroxilados), temperatura y pH de la solución.

La primera etapa en la formación de cálculos de colesterol, es la sobresaturación de la bilis con colesterol (18), lo que da origen a una bilis anormal, llamada bilis litogénica. Se ha encontrado una correlación directa entre la saturación de colesterol de la bilis y la prevalencia de cálculos de colesterol en diferentes poblaciones (19) y además se ha observado que las anomalías del metabolismo de los lípidos biliares que favorecen la saturación con colesterol, preceden al desarrollo de los cálculos (20,21).

En base a los datos epidemiológicos y fisicoquímicos, se considera que la bilis saturada es un prerequisite para la formación de los cálculos de colesterol. El exceso de colesterol puede aparecer por aumento en la síntesis y secreción del mismo (22,23), o por disminución de la síntesis y secreción de los ácidos biliares y de los fosfolípidos (24). Se ha considerado que estas alteraciones son debidas a un defecto metabólico a nivel hepático (25,27). Se han reportado anomalías en la regulación de las dos enzimas que par-

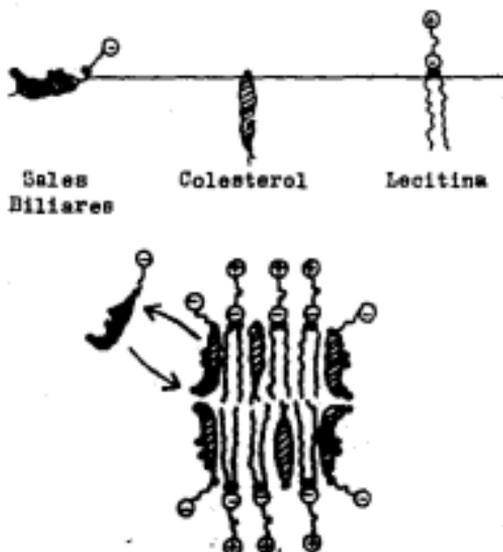


Figura 4. MICELAS MIXTAS LECITINA-ACIDOS BILIARES

En la parte superior del diagrama, las tres moléculas de lípidos están orientadas de tal forma que sus segmentos hidrofílicos se encuentran por arriba de la línea y sus segmentos hidrofóbicos están por debajo de la línea. Los ácidos biliares son anfifáticos y en solución acuosa forman agregados cilíndricos (vistos en sección cruzada en la parte inferior del diagrama) donde los grupos hidrofílicos se dirigen hacia afuera y la porción hidrofóbica está orientada hacia adentro. La lecitina permite el paso de agua a su interior y causa un aumento de volumen de la micela. El colesterol, el cual es virtualmente insoluble en agua es transportado en la bilis dentro del centro hidrofóbico de la micela mixta.

participan en el metabolismo del colesterol hepático en pacientes con cálculos de colesterol, en quienes se ha observado incremento de la actividad de la HMG-CoA reductasa y disminución de la actividad de la enzima hepática colesterol 7 alfa-hidroxilasa. (28). Se han investigado además otros parámetros que pudieran modificar la composición de la bilis y se ha encontrado que las alteraciones en la circulación enterohepática dan por resultado una serie de

cambios en la composición de la bilis (29,30).

En base al concepto de un defecto genético o bioquímico como la causa de producción de bilis litogénica y reconociéndose los efectos de la circulación enterohepática en la composición de la bilis, Shaffer y Small promusieron las siguientes anomalías fisiopatológicas, las cuales pueden dar origen a la formación de bilis litogénica:

1.- Pérdida excesiva de sales biliares, como sería el caso en las enfermedades del ileon, ilectomía, o cirugía derivativa intestinal en las cuales existe un incremento en la pérdida de sales biliares que no pueden ser compensadas por la síntesis hepática. Esto conduce a una disminución en la poza de sales biliares y por lo tanto, producción de bilis sobresaturada.

2.- Disminución en la síntesis de los ácidos biliares, dado por defectos en el mecanismo de retroalimentación, las cuales no compensan las pérdidas ordinarias de ácidos biliares, conduciendo a una disminución en la secreción hepática de sales biliares y consecuentemente producción de bilis sobresaturada. Este parece ser el defecto en pacientes no obesos con cálculos de colesterol.

3.- Secreción excesiva de colesterol, lo cual ha sido implicado en la obesidad, nérdida rápida de peso, dieta y uso de clofibrato.

4.- Defectos mixtos, como los observados en los indios americanos, en quienes existe una disminución en la síntesis de ácidos biliares y una secreción excesiva de colesterol.

5.- Trastornos primarios de la vesícula, conducto biliar y del esfinter de Oddi. Se ha considerado que los trastornos de la función motora de la vesícula alteran la dinámica de la circulación enterohepática, dando por resultado modificaciones en la composición de la bilis, predisponiéndose así la formación de cálculos biliares. Al respecto existen dos dudas: A) como la motilidad biliar extrahepática modifica la composición de la bilis y B) cuales son los determinantes de la motilidad biliar extrahepática. En relación al primer punto, se han propuesto una serie de mecanismos que explicarían el papel de la vesícula en determinar la composición de la bilis, sin embargo, esos mecanismos hasta la fecha son especulativos puesto que se desconocen aún algunos aspectos de la circulación enterohepática de los ácidos biliares. En relación a los determinantes de la motilidad biliar extrahepática, éstos son múltiples y su integración es compleja (31), en los cuales participan mecanismos autonómicos y humorales, tanto a nivel vesicular como a nivel del esfinter de Oddi. No se ha logrado describir este sistema en forma integral, ni la manera en la cual una alteración de estos parámetros pudiera afectar la composición de la bilis y secundariamente favorecer la formación de cálculos.

En síntesis, se ha considerado que la patogénesis de la litiasis

vesicular es multifactorial, en la cual participan tanto defectos genéticos como metabólicos, así como trastornos en la función motora de la vesícula y del tracto biliar, los cuales pueden alterar la dinámica de la circulación enterohepática y dar por resultado modificaciones en la composición de la bilis (32).

Admirand y Small (18) expresaron la cantidad relativa de sales biliares, lecitina y colesterol en bilis, como un porcentaje de la cantidad total de los tres componentes. Cada bilis fué representada como un punto en coordenadas triangulares. Este método permite la representación simultánea de las cantidades relativas de sales biliares, lecitina y colesterol en cualquier muestra biliar (Figura 5). Cuando los datos son expresados de ésta manera, se logra una separación entre bilis normal y anormal. La bilis anormal tiene una concentración de colesterol relativamente mayor a sales biliares y lecitina que la bilis normal. Para determinar si la base de esta separación se relacionaba a los límites de la solubilidad del colesterol en soluciones puras de lecitina y sales biliares, los resultados obtenidos en la bilis humana se compararon a un sistema modelo in vitro.

El sistema modelo define la cantidad máxima de colesterol que puede ser solubilizado en micelas mixtas de sales biliares y lecitina. El diagrama triangular mostrado en la figura 6, se llevó a cabo de terminando el estado físico de un gran número de mezclas de sales biliares, lecitina y colesterol en proporciones variables. La cantidad total de éstas tres substancias fué la misma en todas las mezclas. El estado físico de cada mezcla se indicó con círculos oscuros para representar una fase líquida y los círculos claros para indicar dos o tres sistemas de fase (mezclas que contenían colesterol insoluble. Se trazó una línea para separar los círculos claros y oscuros y ésto representaba la solubilidad máxima del colesterol en proporciones variables de lecitina y sales biliares. Por lo tanto, cualquier mezcla por debajo de la línea es insaturada, las mezclas que se encuentran en la línea están saturadas y cualquier muestra por arriba de la línea contienen más colesterol del que puede ser mantenido en solución.

El sistema modelo contenía solamente sales biliares, lecitina, colesterol y agua, excluyéndose muchos de los constituyentes normales de la bilis, como bilirrubina, iones inorgánicos, moco y protina. A pesar de la ausencia de éstas substancias, el sistema modelo aparentemente predice cuales muestras biliares tendrán cristales de colesterol insoluble. Por lo tanto, se consideró que el estado físico de la bilis (presencia o ausencia de colesterol insoluble) está determinado por las concentraciones relativas de sales biliares, lecitina y colesterol y los otros constituyentes de la

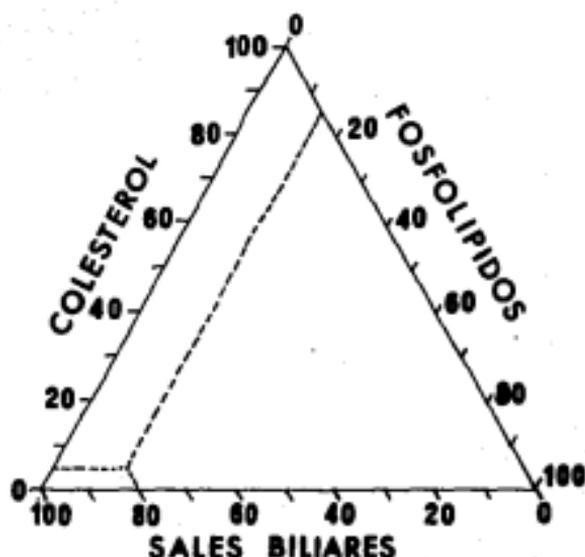


Figura 5. MÉTODO DE REPRESENTAR LA COMPOSICIÓN DE LA BILIS EN COORDINADAS TRIANGULARES. El porcentaje de las molas totales de sales biliares, lecitina y colesterol constituidos por cada uno de estos componentes, se muestran en la escala a los lados del triángulo. Puesto que la suma de sales biliares, lecitina y colesterol equivale a 100 por ciento, la composición de cualquier bilis conteniendo éstos componentes, puede ser representado como un punto dentro de coordenadas triangulares. Es decir, una bilis que contenga 80 por ciento de sales biliares, 15 por ciento de lecitina y 5 por ciento de colesterol, se representa por un punto formado por la intersección de las líneas extendidas del nivel del 80 por ciento en la escala de las sales biliares en la base del triángulo, el nivel 15 por ciento en la escala de la lecitina a la derecha del triángulo y el nivel 5 por ciento en la escala del colesterol a la izquierda del triángulo.

bilis no parece afectar significativamente la solubilidad del colesterol en la bilis.

Holzbach y Colaboradores posteriormente reportaron un límite menor de la curva de solubilidad máxima del colesterol y describieron una zona sobresaturada-metastable (33). Los puntos por debajo del nuevo límite representan bilis que no están saturadas con colesterol. Los puntos dentro de la zona metastable representan bilis sobresaturada con colesterol en fase micelar, cristalina líquida y

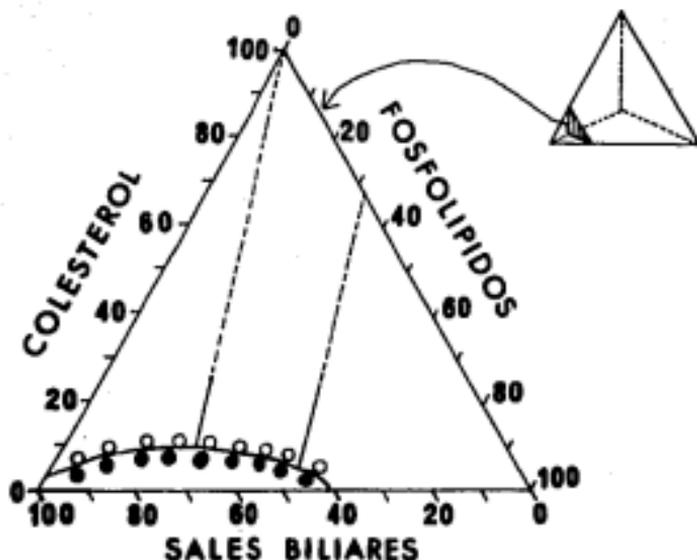


Figura 6. SISTEMA MODELO. El tetrahedro que se encuentra en el cuadrante superior derecho se utilizó para representar el estado físico de todas las posibles combinaciones de sales biliares, lecitina, colesterol y agua. La sección en el tetrahedro tomada a 90 por ciento de agua resulta en un diagrama triangular, el cual se ha ampliado y se muestra a la izquierda. Este diagrama representa el estado físico de todas las posibles combinaciones de sales biliares, lecitina y colesterol en soluciones acuosas conteniendo un total de 10 por ciento de sólidos y 90 por ciento de agua. Los círculos oscuros representan mezclas que forman una fase líquida. Los círculos claros representan mezclas que forman dos o tres sistemas de fase (líquido claro más cristales de colesterol y/o isletos de cristales líquidos laminados). La línea que separa los círculos claros y oscuros, indica la cantidad máxima de colesterol capaz de ser solubilizado por cualquier mezcla de lecitina y sales biliares.

cristalina sólida. Los cristales líquidos son inestables y su colesterol puede regresar a la fase micelar o precipitar como cristales sólidos. La formación de cristales de colesterol ocurre lentamente en el límite inferior de la zona y rápidamente en el límite superior. Por arriba de la zona sobresaturada-metastable, el colesterol se encuentra en una fase cristalina o cristalina líquida (f)

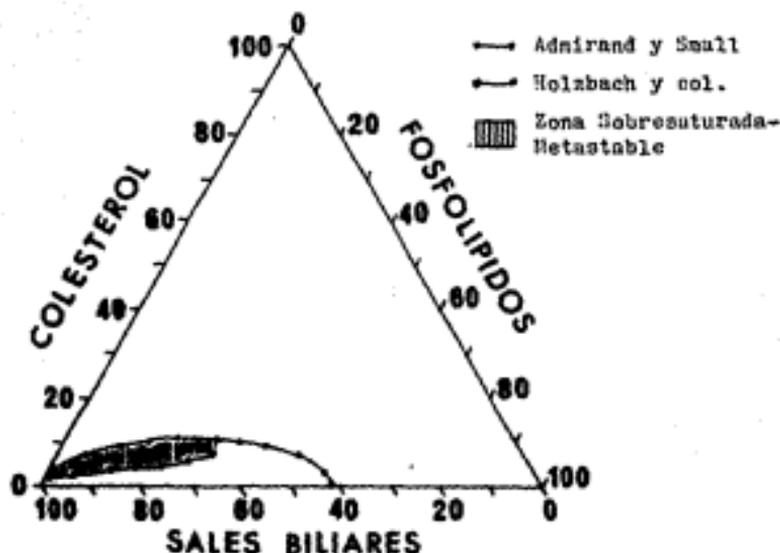


Figura 7. COMPOSICION DE LOS LIPIDOS BILIARES. Las proporciones relativas de ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol son expresadas en coordenadas triangulares como moles por ciento. Por debajo de la zona sobresaturada-metastable, la bilis no está saturada con colesterol y dentro o por arriba de esta zona, la bilis está sobresaturada con colesterol en fase micelar, cristalina líquida o cristalina sólida. La cristalización del colesterol ocurre más rápidamente en el límite superior en comparación al límite inferior de la zona metastable.

gura 7). Holzbach y colaboradores concluyeron que la solubilidad del colesterol es significativamente menor que la previamente reportada y que la bilis normal está comúnmente saturada con colesterol. La sobresaturación de colesterol en la bilis es frecuente en individuos sanos (34), por lo que se requieren otros factores que favorezcan la precipitación del colesterol para que se lleven a cabo los fenómenos de cristalización, nucleación y crecimiento de los cálculos, dado por la presencia de pigmentos biliares, mucoproteínas, cuerpos extraños, bacterias, reflujo del contenido intestinal y agrupación de los cristales precipitados. Recientemente se han utilizado otros métodos para expresar la solu-

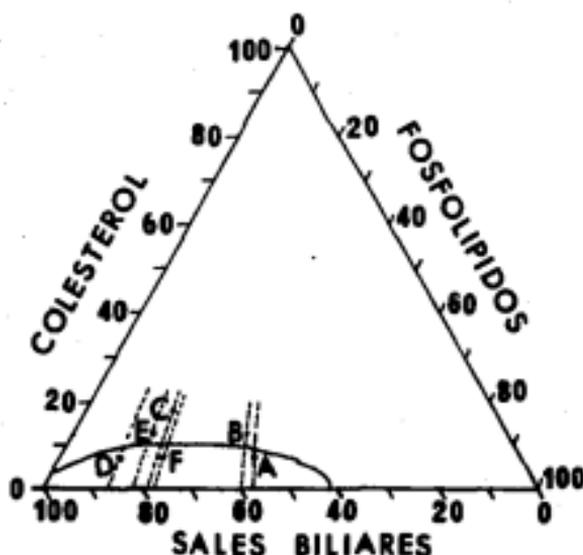


Figura 8. CALCULO DEL INDICE LITOGENICO. La composición de los lípidos de las muestras biliares A a F están graficadas en coordenadas triangulares. La curva de solubilidad máxima del colesterol es la reportada por Admirand y Small (18). La solubilidad máxima del colesterol en cada bilis, está representada por la intersección en esta curva y una línea trazada desde el ápice del triángulo a la base, a través del punto que representa la composición de la bilis.

bilidad del colesterol en la bilis, como es la expresión numérica de la litogenicidad de la bilis, que ha recibido el nombre de índice litogénico el cual se define como la relación entre el contenido de colesterol en la bilis y la cantidad máxima de colesterol que puede ser disuelto (35). La bilis saturada con colesterol tiene un índice litogénico de 1.0, la bilis sobresaturada tiene un índice litogénico mayor de 1 y la bilis no saturada menor de 1.0. El procedimiento para calcular el índice litogénico se muestra en la figura 8 y tabla 11. Estos cálculos son de 6 muestras de bilis analizadas en nuestro laboratorio. El porcentaje molar de colesterol (Ca), sales biliares (SB) y fosfolípidos (P) se representan en la tabla 11, columnas 2, 3 y 4 respectivamente. La composición de

Tabla 11
Cálculo del Índice litogénico en 6 muestras biliares

Muestra	Composición de la bilis Foles por ciento			Cs	Índice litogénico
	Ca	SB	P		
1	2	3	4	5	6
A	7	52.6	40.4	8	0.8
B	12.5	53.2	34.2	8	1.5
C	18	64	17	10	1.8
D	7	80.7	12.3	9	0.7
E	13.4	72.9	13.7	9.5	1.4
F	7.5	72.5	20	10	0.7

Los lípidos biliares se representó en coordenadas triangulares como se muestra en la Figura 8.

Con la finalidad de determinar la cantidad máxima de colesterol que puede ser disuelto en cualquier muestra de bilis, se trazó una línea desde el ápice del triángulo a la base, a través del punto que representaba la composición de la bilis. La línea resultante representa todas las posibles combinaciones de colesterol, sales biliares y fosfolípidos, que tienen la misma constante de la relación sales biliares:fosfolípidos. El punto de intersección entre esta línea y la curva de solubilidad máxima indica el porcentaje molar máximo de colesterol (Cs) que puede ser disuelto por esta mezcla. Los valores de colesterol de estas bilis se muestran en la columna 5 y el Índice litogénico se muestra en la columna 6 de la tabla 11.

En tres de éstas muestras (B,C y E) los valores son mayores de 1.0, indicando que la bilis está sobresaturada con colesterol. En las muestras A,D y F, la bilis no está saturada con colesterol. La representación numérica de la litogenicidad de la bilis es un método cuantitativo que permite expresar la compleja relación entre los varios componentes de la bilis, con lo que se facilita el proceso, interpretación y comunicación de datos.

En el presente trabajo se determinó la composición química de la bilis en la población mexicana, con la finalidad de estudiar el primer estado de la formación de los cálculos de colesterol, que es la sobresaturación de la bilis con éste elemento, tomándose en consideración las siguientes variantes: Edad, sexo, peso corporal, tipo de alimentación y número de embarazos.

MATERIAL Y METODOS

Se estudió la concentración de ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol de la bilis de 33 pacientes con litiasis biliar y de 6 personas sin evidencia de litiasis vesicular. Además, se determinó la composición de los cálculos vesiculares de 7 pacientes. Los estudios se llevaron a cabo en el Laboratorio de Gastroenterología del Hospital General, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

La bilis se obtuvo a través de sonda colocada en colédoco en 21 pacientes, por punción vesicular en 13 y por medio de sondeo duodenal (36) en 5 pacientes. El aspirado duodenal se realizó con una sonda de Drilling, colocada bajo control fluoroscópico en la segunda porción del duodeno. La contracción vesicular se estimuló con colecistoquinina (Kinevac, elaborada por E.H. Squibb & Sons, Inc. Princeton, N.Y. U.S.A.), a una dosis de 0.02 mg/Kg, aplicada por vía endovenosa.

El grupo de pacientes con litiasis biliar estaba constituido por 27 mujeres y 6 hombres, con una edad promedio de 49 años (±19.2). 18 pacientes tenían un peso mayor de 10 Kgs de su peso ideal (clasificados como obesos) y 15 tenían un peso menor de 10 Kgs de su peso ideal. 15 mujeres habían cursado con 4 o más embarazos y 12 habían tenido menos de 4 embarazos. 10 pacientes tenían una dieta balanceada, 10 pacientes tenían una dieta fundamentalmente a base de hidratos de carbono y en 13, la alimentación era rica en grasas (Tabla III).

El grupo de pacientes que no tenían litiasis vesicular estaba constituido por 5 mujeres y un hombre, con edad promedio de 55.8 años (± 11.7). Una paciente tenía un peso corporal mayor de 10 Kgs de su peso ideal y 5 tenían un peso menor de 10 Kgs de su peso ideal. 3 pacientes tenían una dieta balanceada, en un paciente la alimentación era fundamentalmente a base de hidratos de carbono y 2 tenían una ingesta predominante de grasas (Tabla IV).

Se calculó el índice litogénico en todas las muestras biliares y se hizo un cálculo estadístico comparativo entre ambos grupos de pacientes y con las diferentes variantes previamente mencionadas.

La determinación de ácidos biliares, colesterol y fosfolípidos se realizaron en un lapso no mayor de 7 días después de haber obtenido las muestras y se conservaron a 4° C. Las bilis fueron mezcladas perfectamente previo a cada determinación.

Composición de los Lípidos Biliares

Ácidos Biliares. La determinación de ácidos biliares se realizó

Tabla 111
Pacientes con litiasis biliar

Paciente	Edad (años)	Sexo	Obesidad	Gesta	Alimentación
A.O.	40	F	no	VIII	Balanceda
I.C.	53	F	si	XIII	Rica en H. de C.
L.O.	21	F	si	1	Rica en grasas
P.K.	18	F	no	0	Balanceda
T.H.	62	M	si	-	Rica en grasas
J.L.	56	F	si	VIII	Rica en grasas
H.A.	57	F	no	VIII	Rica en grasas
I.E.	88	F	si	1	Rica en grasas
M.E.	40	F	no	IV	Balanceda
A.C.	70	F	si	VIII	Rica en grasas
J.M.	68	M	no	-	Rica en grasas
P.R.	59	M	no	-	Rica en H. de C.
F.L.	64	M	si	-	Rica en H. de C.
J.G.	20	F	si	1	Rica en H. de C.
J.V.	75	F	no	IV	Rica en grasas
E.B.	69	F	no	VI	Balanceda
C.M.	19	F	si	1	Rica en H. de C.
S.B.	36	F	si	III	Rica en H. de C.
R.Q.	30	F	si	X	Rica en grasas
C.A.	48	F	si	VIII	Rica en H. de C.
L.A.	58	M	no	-	Balanceda
G.M.	35	F	si	1	Rica en H. de C.
M.H.	69	F	si	VIII	Rica en H. de C.
M.L.	69	F	no	VI	Balanceda
I.J.	22	F	no	0	Balanceda
O.C.	34	F	si	III	Rica en H. de C.
M.C.	49	M	si	-	Rica en grasas
G.R.	27	F	no	1	Balanceda
E.M.	77	F	si	1	Rica en grasas
R.L.	40	F	no	VII	Rica en grasas
L.M.	48	F	si	V	Rica en grasas
M.P.	31	F	no	II	Balanceda
G.C.	65	F	no	VI	Balanceda

con un método enzimático (Sterognost-3) alfa, producto manufacturado por Nyegaard & CO. AS. Oslo, Noruega) basado en la enzima 3 alfa hidroxisteroide deshidrogenasa (37), la cual transfiere el grupo 3 alfa hidroxilo en esteroles de las series C₁₉, C₂₁ y C₂₇ a sus formas cetos correspondientes, con formación posteriormente de

Tabla IV
Pacientes sin litiasis biliar

Paciente	Edad (años)	Sexo	Obedidad	Gesta	Alimentación
M.M.	56	F	si	XI	Rica en H. de C.
J.R.	78	F	no	X	Rica en grasas
V.M.	39	H	no	-	Balanceda
A.S.	49	F	no	X	Rica en grasas
M.Y.	58	F	no	I	Balanceda
L.M.	55	F	no	O	Balanceda

NADH a partir de NAD⁺



Esta reacción es fácilmente reversible a pH alcalino y con agentes fijadores de cetona como el hidrato de hidrazina, la oxidación de 3 alfa-hidroxiesteroides es prácticamente cuantitativa y el NADH formado puede ser medido por espectrofotometría.

La 3 alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa es una enzima formada por *Pseudomonas testosteroni*, cuando éste microorganismo crece en medios que contienen esteroides. La 3 alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa usada en Sterognost-3 alfa no contiene otras deshidrogenasas que pudieran interferir la reacción como 7 alfa hidroxiesteroide deshidrogenasa, 12 alfa hidroxiesteroide deshidrogenasa, 3 beta hidroxiesteroide deshidrogenasa o deshidrogenasa alcohólica. El método enzimático Sterognost-3 alfa es un preparado liofilizado y al ser disuelto en 25 ml de hidrato de hidrazina, se obtienen las siguientes concentraciones:

3 alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa	0.07 UI/ml
NAD	0.4 mmol/l
EDTA	1.32 mmol/l
Ditiotreitol	20 mmol/l
Fosfato de sodio	52 mmol/l
Sacarosa	80 mmol/l

El procedimiento para la determinación enzimática se llevó a cabo como se muestra en el siguiente esquema:

Tubo No.	Sterognost-3 alfa	Hidrato de hidrazina	Metanol	Bilis	NaCl
I	2.5 ml	-	0.5 ml	10 Ml	-
II	-	2.5 ml	0.5 ml	10 Ml	-
III	2.5	-	0.5 ml	-	10 Ml
IV	-	2.5 ml	0.5 ml	-	10 Ml

Los tubos III y IV son para corregir posibles diferencias en absorbancia entre el Sterognost-3 alfa e hidrato de hidraxina.

Los tubos I-IV se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. La absorbancia A_I-A_{IV} en los tubos I-IV se leyeron contra agua en un espectrofotómetro a 340 nm.

La absorbancia neta desarrollada de la oxidación enzimática de los ácidos biliares se calculó con la siguiente fórmula:

$$\Delta A = (A_I - A_{III}) - (A_{IV} - A_{IV})$$

La concentración de ácidos biliares en las muestras se obtuvo a partir de una curva estándar de colato de sodio. Los resultados obtenidos se expresaron en molas por ciento.

Colesterol. La determinación del colesterol se realizó por un método enzimático colorimétrico (colesteroesterasa/colesterooxidasa/reacción de color) elaborado por Boehringer Mannheim.

Fundamento del Método:



Reactivos

contenido	concentración
1. Tampón (fosfato de amonio) metanol/catalasa	0.6 mol/l 1.7 mol/l
2. Acetilacetona/metanol hidroxipoliétoxidodecano	0.42 mol/l 2.1%
3. Colesteroesterasa	=7 U/ml
4. Colesterooxidasa	=4 U/ml

El reactivo 5 se obtuvo mezclando las soluciones 1, 2 y 3. Para determinar un número de 40 muestras, las cantidades de los reactivos 1, 2 y 3 fueron de 200 ml, 10 ml y 0.8 ml respectivamente.

El procedimiento se muestra en el siguiente esquema:

	Blanco de la prueba	Prueba
Bilis	0.07 ml	-
Solución 5	5.00 ml	-
Mezclar el contenido de los tubos de ensayo		
Solución 4	-	0.07 ml
Pipetear del tubo conteniendo el blanco de la prueba	-	2.50 ml

Se incubó el blanco de la prueba y la prueba a 37°C durante 60 minutos. Se leyó la extinción del problema frente al blanco respectivo en un espectrofotómetro a 410 nm.

La concentración de colesterol en mmol/l se calculó multiplicando la extinción del problema por 33.9 (factor dado por el método para lecturas a 410 nm). Los resultados finales se expresaron en molas por ciento.

Fosfolípidos. Los fosfolípidos se determinaron por una prueba colorimétrica en base a la reacción molibdato/vanadato (Farmacéuticos Lakuside, S.A.).

Fundamento de la prueba: Los fosfolípidos se precipitan con ácido tricloroacético y se oxidan a fosfato mediante digestión con ácido perclórico/agua oxigenada. En solución de ácido nítrico, el fosfato forma un complejo coloreado con molibdato y vanadato, el cual es leído a 405 nm.

Reactivos

Contenido	Concentración final de las soluciones
1. Vanadato vanadato amónico ácido nítrico	21 mmol/l 0.28 N
2. Molibdato molibdato amónico ácido sulfúrico	0.40 mmol/l 2.5 N
3. Estándar fósforo	0.5 mg/100 ml
4. Estándar fósforo	5 mg/100 ml

Reactivos adicionales

Ácido tricloroacético, 1.2 N

Ácido perclórico al 70%

Agua oxigenada al 30%

Procedimiento:

Se pipetea en un tubo de centrifuga de 10 ml:

muestra 0.1 ml

Ácido tricloroacético 2.0 ml

Mezclar bien, dejar reposar 10 minutos a 20-25°C y centrifugar a 2000 r.p.m. y se elimina el sobrenadante.

El procedimiento se muestra en el siguiente esquema:

	Blanco	Estándar	Fósforo de fosfolípidos
Muestra	-	-	Precipitado
Ácido perclórico (70%)	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Solución 4	-	0.1 ml	-
Agua oxigenada (30%)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml

Se realiza digestión a 180-200°C durante 15 minutos en un baño de aceite. El contenido del tubo de centrifuga debe ser absolutamente claro e incoloro. En caso contrario deberá añadirse otros 0.2 ml de agua oxigenada y repetirse la operación.

	Blanco	Estándar	Problema
Agua destilada	2 ml	2 ml	2 ml
Solución 1	1 ml	1 ml	1 ml
Solución 2	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar y al cabo de 10 minutos medir la extinción de la prueba (Eprueba) y la extinción del estándar (Estándar) contra el blanco a una longitud de onda de 405 nm.

La concentración de fósforo de fosfolípidos en mmol/l se determinó dividiendo la Eprueba entre la Estándar y posteriormente multiplicado por 1.6 (Factor dado por el método para obtención de mmol/l). Los resultados finales se expresaron en milas por ciento.

Análisis de los cálculos vesiculares

Se analizaron los cálculos vesiculares de 7 pacientes, de acuerdo al método microanalítico de tipo cualitativo descrito por Holt y Tarnoky (38). Los cálculos fueron finamente molidos y se determinaron los siguientes compuestos:

Proteínas. Una pequeña cantidad de polvo se coloca en 2 portaobjetos, se les agrega una gota de HNO₃ al 2 N y los portaobjetos se calientan aproximadamente 20 segundos en un microsecchero y se permite que el líquido hierva por uno a dos segundos. Los portaobjetos se colocan sobre una superficie blanca durante unos minutos. 2 gotas de NaOH 2N se colocan en el más pálido de los portaobjetos (reacción xantoproteica). La proteína se hace evidente por un oscurecimiento marcado dando un color café amarillento, comparado con el portaobjetos no tratado.

El resto del polvo se disuelve con unas cuantas gotas de cloroformo en un tubo de reacción, dejando que la solución se aciente.

Grasa. 2 gotas del líquido sobrenadante se colocan en un portaobjetos, permitiendo la evaporación del cloroformo. El residuo se disuelve en 2 gotas de eter y ésta otra vez es evaporado. El residuo

se tinge con Sudán III (solución de Sudán III saturada aproximadamente 2% peso/volumen, en volúmenes iguales de acetona y etanol al 70%). Después de 5 minutos el portaobjetos se lava con agua, etanol al 70% e inmediatamente otra vez con agua. La grasa aparece como una mancha roja vista sobre una superficie clara.

Pigmentos biliares. Una gota de la muestra se coloca en un papel filtro tratado con una gota del reactivo de Fouchet (Un ml de una solución acuosa de cloruro férrico al 10% peso a volumen, se agrega a 10 ml de una solución de ácido tricloroacético en agua al 25% peso/volumen). En presencia de pigmentos biliares (principalmente bilirrubina), se presenta en unos cuantos minutos una reacción verde oscura.

Colesterol. El reactivo de Liebermann-Burchard se prepara inmediatamente antes de la prueba mezclando 10 gotas de anhídrido acético con una gota de ácido sulfúrico. Dos gotas de la solución problema se colocan en un portaobjetos y la solución puede ser diluida con unas cuantas gotas de cloroformo. Se le agrega una gota del reactivo. La presencia del colesterol se muestra por un color violeta el cual cambia al color azul o a mayores diluciones a un azul verdoso en unos cuantos minutos.

Carbonato. El tubo de reacción se calienta para evaporar el solvente sobrante y se deja enfriar por unos minutos. Una gota del indicador carbonato-fenolftaleína se introduce en el capilar de un embudo. Se agrega al tubo tres gotas de HCl 2N y el embudo es rápidamente colocado. El tubo se mezcla por rotación y se mantiene a temperatura ambiente por 15 minutos con agitación ocasional. Una decoloración de la solución de fenolftaleína muestra la presencia de CO_2 . Pequeñas cantidades pueden provocar una decoloración incompleta.

RESULTADOS

La concentración de ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol (por ciento molar), así como el cálculo del índice litogénico en los pacientes con litiasis biliar y en el grupo testigo, se muestran en la tabla V y VI respectivamente.

El 69.7% de los pacientes con litiasis biliar tenían una bilis saturada con colesterol, en comparación al 50% de los pacientes del grupo testigo (tabla VII). La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P < 0.001$).

El porcentaje de bilis saturada con colesterol en pacientes obesos y no obesos con litiasis biliar, se muestra en la tabla VIII. El 77.8% de los pacientes obesos tenían una bilis saturada con coles-

Tabla V
Pacientes con litiasis biliar

Paciente	Acidos Biliares % Holas	Fosfolípidos % Holas	Coolesterol % Holas	Indice litogénico
A.O.	80.7	12.3	7.0	0.7
I.C.	71.6	18.4	10.0	1.0
L.O.	53.2	34.3	12.5	1.5
P.H.	44.8	2.7	52.5	7.5
T.H.	77.8	17.5	4.7	0.5
J.L.	48.5	18.5	33.0	3.3
H.A.	78.0	16.6	5.4	0.5
I.E.	75.5	13.3	11.2	1.2
H.S.	70.5	25.8	3.7	0.4
A.C.	35.6	6.6	57.8	6.4
J.M.	69.8	0.0	30.2	10.0
P.R.	64.3	27.9	7.8	0.8
F.L.	68.5	11.5	20.0	2.1
J.G.	59.6	20.5	19.9	2.0
J.V.	53.4	12.8	33.8	3.3
E.B.	97.9	2.05	0.05	0.01
C.M.	65.8	19.0	15.2	1.5
S.B.	71.7	23.9	4.4	0.4
R.W.	63.0	16.4	20.6	2.0
C.A.	66.2	28.4	5.4	0.5
L.A.	75.8	18.3	5.9	0.6
G.M.	72.9	13.7	13.4	1.4
M.Y.	82.9	8.8	8.3	1.0
V.L.	74.1	14.9	11.0	1.1
I.J.	40.0	32.5	27.5	3.9
O.C.	53.1	19.7	27.2	2.7
M.C.	78.5	11.0	10.5	1.2
G.R.	81.0	9.0	10.0	1.1
E.N.	52.6	40.4	7.0	0.8
R.L.	68.6	11.1	20.3	2.2
L.N.	42.8	34.6	22.6	2.8
M.P.	20.7	35.7	43.6	43.6
G.C.	65.0	17.0	18.0	1.8

terol en comparación a 60% de los pacientes no obesos. La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P < 0.001$). Las bilis saturadas con coolesterol de los pacientes con litiasis biliar, con dietas balanceadas y ricas en hidratos de carbono se muestran en la tabla IX. El 60% de los pacientes con dieta balanceada tenían una bilita saturada con coolesterol, en comparación a

Tabla VI
Pacientes sin litiasis biliar

Paciente	Acidos Biliares	Fosfolípidos	Colesterol	Indice litogénico
	% Molas	% Molas	% Molas	
K.M.	95.5	2.6	1.9	0.4
J.R.	88.3	4.5	7.2	1.2
V.N.	92.0	0.5	7.5	1.8
A.S.	72.9	19.0	8.1	0.8
K.Y.	88.6	6.7	4.7	2.6
L.M.	71.5	17.0	11.5	1.2

70% de los pacientes con alimentación rica en hidratos de carbono. La diferencia entre ambos grupos no es significativa ($P = 0.07$).

Tabla VII
Saturación de la bilis con colesterol en pacientes con litiasis biliar y en el grupo testigo

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
	Pacientes con litiasis biliar	23		
Pacientes sin litiasis biliar	3	3	6	50

$P < 0.001$

Tabla VIII
Saturación de la bilis con colesterol en pacientes obesos y no obesos con litiasis biliar

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
	Obesos ¹	14		
No obesos	9	6	15	60

¹ peso corporal mayor de 10 Kgs de su peso ideal

$P < 0.001$

Tabla IX
Saturación de la bilis con colesterol en pacientes con dieta balanceada y con dieta rica en hidratos de carbono

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
	Dieta balanceada	6		
Dieta rica en hidratos de carbono	7	3	10	70

$P = 0.07$

Las bilis saturadas con colesterol de los pacientes con litiasis biliar, con dietas balanceadas y ricas en grasas se muestran en la Tabla X. El 60% de los pacientes con dieta balanceada tenían una bilis saturada con colesterol, en comparación a 76.9% de los pacientes con alimentación rica en grasas. La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P = 0.001$).

Tabla X
Saturación de la bilis con colesterol en pacientes con dieta balanceada y con dieta rica en grasas

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
Dieta balanceada	6	4	10	60
Dieta rica en grasas	10	3	13	76.9

$P = 0.001$

La bilis saturada con colesterol de los pacientes con litiasis biliar, con dieta rica en hidratos de carbono y alimentación rica en grasas, se muestra en la Tabla XI. El 70% de los pacientes con dieta rica en hidratos de carbono tenían una bilis saturada con colesterol en comparación a 76.9% de los pacientes con dieta rica en grasas. La diferencia entre ambos grupos no es significativa ($P=0.1$).

Tabla XI
Saturación de la bilis con colesterol en pacientes con dieta rica en grasas y dieta rica en hidratos de carbono

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
Dieta rica en grasas	7	3	10	70
Dieta rica en hidratos de carbono	10	3	13	76.9

$P = 0.1$

Se determinó la saturación de la bilis en mujeres con litiasis biliar, en relación a número de embarazos. Se establecieron 2 grupos: En el primero se incluyeron pacientes con 4 o más embarazos y en el segundo se incluyeron pacientes con menos de 4 embarazos. Los re--

sultados se muestran en la tabla XII. El 66.7% de los pacientes con 4 o más embarazos tenían una bilis saturada con colesterol, en comparación a 83.3% de los pacientes con menos de 4 embarazos. La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P = 0.001$).

Tabla XII
Saturación de la bilis con colesterol
en relación a número de embarazos

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
Pacientes con 4 o más embarazos	10	5	15	66.7
Pacientes con menos de 4 embarazos	10	2	12	83.3

$P = 0.001$

La saturación de la bilis con colesterol en relación a edad se determinó en pacientes con litiasis biliar, estableciéndose dos grupos: En el primero se incluyeron pacientes menores de 50 años y en el segundo grupo se incluyeron pacientes mayores de 50 años. Los resultados se muestran en la tabla XIII. El 76.5% de los pacientes menores de 50 años tenían una bilis saturada con colesterol, en comparación a 62.5% de los pacientes mayores de 50 años. La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P = 0.003$).

Tabla XIII
Saturación de la bilis con colesterol
en relación a edad

Pacientes	Bilis saturada	Bilis no saturada	Total	% Bilis saturada
Pacientes menores de 50 años	13	4	17	76.5
Pacientes mayores de 50 años	10	6	16	62.5

$P = 0.003$

El índice litogénico de los pacientes con litiasis biliar fué de 2.07 ± 2.16 y el de los pacientes del grupo testigo fué de 1 ± 0.46 (Tabla XIV). La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($P = 0.01$).

Tabla XIV
Índice litogénico de pacientes con litiasis biliar y del grupo testigo

Pacientes	Índice litogénico
Pacientes con litiasis biliar	2.07 ± 2.16
Pacientes sin litiasis biliar	1 ± 0.46
	$P = 0.01$

En la Tabla XV se muestra el índice litogénico de las mujeres con litiasis biliar. Los resultados obtenidos se comparan con el grupo testigo y la diferencia entre ambos es estadísticamente significativa ($P = 0.01$).

Tabla XV
Índice litogénico en relación a sexo

Pacientes del sexo femenino	Índice litogénico
Pacientes con litiasis biliar	1.96 ± 1.75
Pacientes sin litiasis biliar	1 ± 0.46
	$P = 0.01$

En la tabla XVI se muestra el índice litogénico de los pacientes del sexo masculino con litiasis biliar. Los resultados obtenidos se comparan con el grupo testigo y la diferencia entre ambos no es significativa ($P = 0.2$).

Tabla XVI
Índice litogénico en relación a sexo

Pacientes del sexo masculino	Índice litogénico
Pacientes con litiasis biliar	2.53 ± 3.38
Pacientes sin litiasis biliar	1 ± 0.46
	P = 0.2

Se analizaron los cálculos vesiculares de 7 pacientes: 5 estaban compuestos predominantemente de colesterol y 2 correspondieron a cálculos de pigmento. Los 5 pacientes con cálculos de colesterol tenían una bilis saturada y los 2 pacientes con cálculos de pigmento tenían una bilis no saturada (Tabla XVII).

Tabla XVII
Análisis de los cálculos

Tipo de cálculo	No.	Bilis saturada	Bilis no saturada
Colesterol	5	5	0
Pigmento	2	0	2

Se hizo una comparación de la composición de la bilis de la población mexicana sin cálculos (Figura 9), con la reportada en otros grupos étnicos (19). Se observó que la población mexicana tenía una bilis saturada con colesterol, puesto que su composición se encontró a nivel de la curva de solubilidad máxima de colesterol (índice litogénico de 1).

Existe una correlación estrecha entre la composición de la bilis y la prevalencia de cálculos vesiculares de colesterol. Los Masai, que no forman cálculos de colesterol tienen una bilis con una concentración de colesterol relativamente baja y las mujeres indias de Norte America, quienes tienen una alta prevalencia de cálculos, presentan una bilis con una concentración elevada de colesterol.

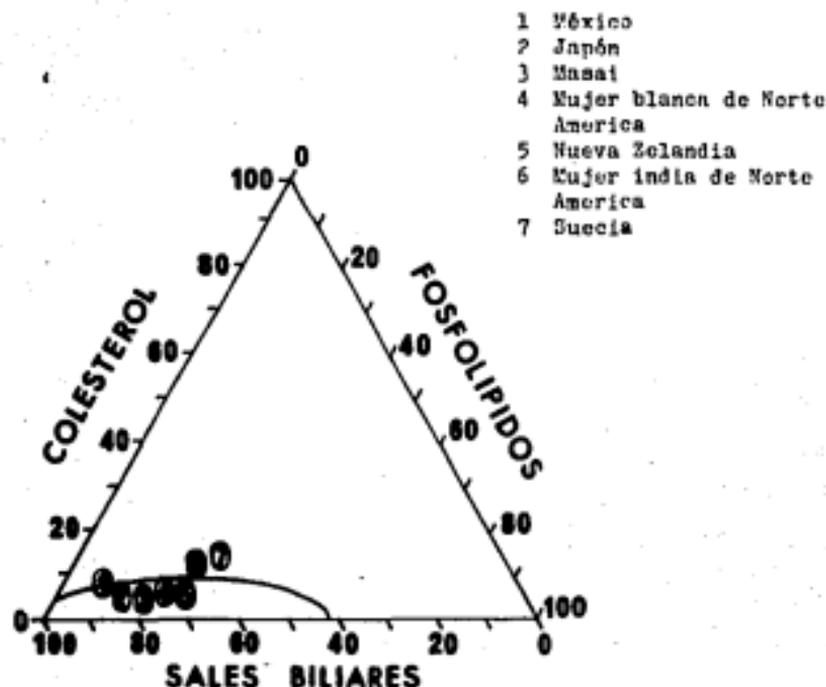


Figura 9. COMPOSICION DE LA BILIS DE PACIENTES SIN CALCULOS EN DIFERENTES POBLACIONES. La composición de la bilis de pacientes sin cálculos de diferentes países, se ha graficado en coordenadas triangulares. El límite de solubilidad máximo de colesterol es el reportado por Admirand y Small (18). La composición de la bilis de la población mexicana se encuentra en la curva de solubilidad máxima del colesterol, por lo que se considera que es una bilis saturada (índice litogénico de 1). La bilis de la mujer india norteamericana y la de los individuos de suecia está sobresaturada de colesterol; por el contrario, los bilis de las poblaciones de Masai, Japón, Nueva Zelandia y de la mujer blanca norteamericana, no está saturada de colesterol.

COMENTARIO

La primera etapa en la formación de los cálculos de colesterol es la sobresaturación de la bilis con éste elemento, la segunda etapa es la cristalización del colesterol y la tercera, el crecimiento de los cálculos. Estos pueden tener un núcleo de pigmento biliar, bacterias o material de reflujo intestinal.

La solubilidad del colesterol en la bilis está determinada por las proporciones relativas de ácidos biliares y fosfolípidos. Si la proporción de éstos dos elementos solubilizantes del colesterol desciende por debajo de un nivel micelar crítico, entonces se origina una bilis saturada, que es la llamada bilis litogénica.

En base a datos epidemiológicos y fisicoquímicos, se ha considerado que la bilis saturada es un prerequisite para la formación de los cálculos de colesterol. El exceso de colesterol puede aparecer por aumento en la síntesis y secreción del mismo o por disminución de la síntesis y secreción de los ácidos biliares y los fosfolípidos. Estas alteraciones dependen probablemente de trastornos del metabolismo hepático de las mencionadas sustancias, cuya naturaleza no se conoce con exactitud todavía.

Se ha observado además que las alteraciones en la circulación enterohepática de las sales biliares dan por resultado una serie de cambios en la composición de la bilis. La vesícula, bien sea principalmente favoreciendo la producción de una bilis sobresaturada, o secundariamente actuando como un reservorio donde se lleva a cabo la nucleación y crecimiento de los cálculos, tiene un papel importante en la patogénesis de los cálculos de colesterol.

La sobresaturación de colesterol en la bilis es frecuente en individuos sanos. La ausencia de una correlación absoluta entre el grado de saturación de la bilis y la formación de los cálculos es debido parcialmente a técnicas inadecuadas para determinar la saturación de colesterol biliar y en parte al hecho de que deben existir ciertas condiciones que favorezcan la cristalización y el crecimiento de los cálculos, para que la bilis saturada origine la formación de cálculos.

En el presente trabajo se estudió la composición química de la bilis de la población mexicana, tomándose en consideración varios parámetros y en base a los resultados obtenidos se concluye:

1. Los pacientes con cálculos de colesterol tienen una bilis sobresaturada con colesterol.
2. Los pacientes obesos tienen un incremento en el grado de saturación de la bilis.
3. La dieta rica en grasas se asocia a una secreción excesiva de colesterol biliar.

4. Las mujeres tienen un mayor grado de saturación de la bilis con colesterol en relación a los hombres.
5. La multigravidad no se asocia con un mayor grado de saturación de la bilis. La mayor frecuencia de litiasis biliar en pacientes multiparas puede ser debido a trastornos en el vaciamiento vesicular, más que a un incremento en la saturación de la bilis con colesterol.
6. La edad avanzada no se correlaciona directamente con el grado de saturación de la bilis. En este trabajo se encontró que los pacientes más jóvenes tenían un mayor grado de saturación de la bilis con colesterol. La mayor frecuencia de litiasis biliar en pacientes de edad avanzada puede ser debido a la presencia de otros factores aún no bien conocidos, que participan en la patogénesis de la litiasis biliar.
7. La bilis saturada con colesterol es frecuente en individuos sanos. Esto sugiere la presencia de otros componentes biliares cuantitativamente menores, así como agentes nucleantes que puedan participar en la precipitación del colesterol; sin embargo, el mayor grado de sobresaturación de colesterol en las bilis de los pacientes con cálculos de colesterol, sugiere fuertemente que éste es el origen predominante de la precipitación del colesterol.

REFERENCIAS

1. Schoenfield, L. J.: *Physiology of the Biliary System. En: Diseases of the Gallbladder and Biliary System.* John Wiley & Sons, Inc., New York, 1977. pp. 44-72.
2. Ashworth, C. T. y Sanders, E.: Anatomic pathway of bile formation. *Amer. J. Path.* 37:343, 1960.
3. Javitt, N. B.: Hepatic bile formation. *New Eng. J. Med.* 295:1464, 1976.
4. Wheeler, H. O.: Secretion of bile acids by the liver and their role in the formation of hepatic bile. *Arch. Int. Med.* 130:533, 1972.
5. Erlinger, S. y Dhumeaux, D.: Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes. *Gastroenterology.* 66:281, 1974.
6. Onstad, G. R.; Schoenfield, L. J. y Higgins, J. A.: Fluid transfer in the everted human gallbladder. *J. Clin. Invest.* 46:606, 1967.
7. O'Brien, J. J.; Shaffer, F. A.; Williams, L. J.; Small, D. M.; Lynn, J. y Wittenberg J.: A physiologic model to study gallbladder function in primates. *Gastroenterology.* 69:119, 1974.

8. Siperstein, K. D. y Pagan, V. M.: Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol. *J. Biol. Chem.* 241:602, 1966.
9. Grundy, S. M.; Hofmann, A. F.; Davignon, J. y Ahrens, E. H.: Human cholesterol synthesis is regulated by bile acids. *J. Clin. Invest.* 45:1018, 1966.
10. Mosbach, E. H.: Hepatic synthesis of bile acids. *Arch. Int. Med.* 130:478, 1972.
11. Krag, E. y Phillips, S. P.: Active and passive bile acid absorption in man. *J. Clin. Invest.* 53:1686, 1974.
12. Palmer, R. H. y Bolt, H. G.: Synthesis of lithocholic acid sulfates and their identification in human bile. *J. Lipid Res.* 12:671, 1971.
13. Danielsson, H. P.; Eneroth, P.; Hellstrom, K.; Lindstedth, S. y Ejovall, J.: On the turnover and excretory product of cholic and chenodeoxycholic acid in man. *J. Biol. Chem.* 238:2299, 1963.
14. Den Besten, L.; Connor, W. E. y Bell, S.: The effect of dietary cholesterol on the composition of human bile. *Surgery.* 73:266, 1973.
15. Wilson, S.: Synthesis and secretion of biliary phospholipids in man: An experimental study with special reference to the relevance for gallstone formation. *Acta Chir. Scand.* (suppl.) 405:1, 1970.
16. Soloway, R. D. y Schoenfield, L. J.: Effects of meals and interruption of the enterohepatic circulation on flow, lipid composition and cholesterol saturation of bile in man after cholecystectomy. *Amer. J. Dig. Dis.* 20:99, 1975.
17. Metzger, A. L.; Adler, R.; Heymsfield, S. y Grundy, S.: Diurnal variation in biliary lipid composition. Possible role in cholesterol gallstone formation. *New Eng. J. Med.* 288:333, 1973.
18. Adirand, W. W. y Small, D. W.: The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J. Clin. Invest.* 47:1043, 1968.
19. Redinger, R. W. y Small, D. W.: Bile composition, bile salt metabolism and gallstones. *Arch. Int. Med.* 130:618, 1972.
20. Thistle, J. y Schoenfield, L. J.: Lithogenic bile among young indian women. *New Eng. J. Med.* 284:177, 1971.
21. Bell, C. C.; Vlahcevic, Z. R.; Praxish, J. y Swell, L.: Evidence that a diminished bile acid pool precedes the formation of cholesterol gallstones in man. *Surg. Gyn. Obstet.* 136:961, 1973.
22. Grundy, S. M.; Metzger, A. L. y Adler, R. D.: Mechanisms of lithogenic bile formation in American indian women with cholesterol gallstones. *J. Clin. Invest.* 51:3026, 1972.

23. Bension, L. J. y Grundy, S. M.: Effects of obesity and caloric intake on biliary lipid metabolism in man. *J. Clin. Invest.* 56: 996, 1975.
24. Swell, L.; Bell, C. C. y Vlahcevic, Z. N.: Relationship of bile acid pool size to biliary lipid excretion and the formation of lithogenic bile in man. *Gastroenterology.* 61:716, 1971.
25. Small, D. E. y Rapo, S.: Source of abnormal bile in patients with cholesterol gallstones. *New Eng. J. Med.* 281:53, 1970.
26. Dietzsch, J. y Wilson, J. D.: Regulation of cholesterol metabolism. *New Eng. J. Med.* 280:1129, 1970.
27. Vlahcevic, Z. N.; Bell, C. C. y Swell, L.: Significance of the liver in the production of lithogenic bile in man. *Gastroenterology.* 59:63, 1970.
28. Salen, G.; Nicolau, G.; Shefer, S. y Mosbach, S. H.: Hepatic cholesterol metabolism in patients with gallstones. *Gastroenterology.* 69:676, 1975.
29. Redinger, M. W.: The effect of loss of gallbladder function on biliary lipid composition in subjects with cholesterol gallstones. *Gastroenterology.* 71:460, 1976.
30. Redinger, M. W.; Grace, D. F. y Hawkins, J. W.: The effect of bile sequestration and pool return on biliary lipid metabolism in the baboon. *Gastroenterology.* 70:974, 1976.
31. Ryan, J. y Cohen, S.: Gallbladder pressure-volume response to gastrointestinal hormones. *Am. J. Physiol.* 230:1461, 1976.
32. Iacorte, E. W.; Schoetz, D. J.; Birkett, D. H. y Williams, L.F.: The role of the gallbladder in the pathogenesis of cholesterol gallstones. *Gastroenterology.* 77:590, 1979.
33. Halzbach, R. T.; Marsh, E.; Olaszewski, M. y Holan, K.: Evidence that supersaturated bile is frequent in healthy man. *J. Clin. Invest.* 52:1467, 1973.
34. Carey, F. C. y Small, D. E.: The physical chemistry of cholesterol solubility in bile. Relationship to gallstone formation and dissolution in man. *J. Clin. Invest.* 21:998, 1978.
35. Metzger, A. L.; Heymsfield, S. y Grundy, S. M.: The lithogenic index - a numerical expression for the relative lithogenicity of bile. *Gastroenterology.* 62:499, 1972.
36. Vlahcevic, Z. N.; Bell, C. C.; Juttijudata, P. y Swell, L.: Bile rich duodenal fluid as an indicator of biliary lipid composition and its applicability to detection of lithogenic bile. *Dig. Dis.* 16:797, 1971.
37. Talalay, P.: Enzymatic analysis of steroid hormones. *Math. Biochem. Anal.* 8:119, 1960.
38. Holt, F. F. y Tarasny, A. I.: The analysis of calculi using microchemical methods. *J. Clin. Path.* 6:114, 1953.

39. Carey, E. C. y Scull, D. M.: Micelle formation by bile salts: Physicochemical and thermodynamic considerations. Arch. Int. Med. 130:506, 1972.