



6
24.
11262

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

SEDE SUR: INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN

EFFECTO DE LOS ACIDOS BILIARES TERCIARIOS SOBRE LA
COMPOSICION QUIMICA DE LA BILIS, TIEMPO DE
NUCLEACION Y CONCENTRACIONES EN SUERO DE
APOLIPOPROTEINA A-1 Y DEL ARNm EN TEJIDO
HEPATICO EN PACIENTES CON CALCULOS BILIARES DE
COLESTEROL.

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN

T E S I S

QUE PRESENTA PARA OBTENER

EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

EL DR. NAUM MENDEZ SANCHEZ

MEXICO, D. F.

1992.



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 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.

CONTENIDO

I.- MARCO TEORICO

1. Epidemiología
 - 1.1 Prevalencia
 - 1.2 Determinantes de la litiasis biliar en una población
 - 1.2.1 Edad
 - 1.2.2 Sexo
 - 1.2.3 Clase social
 - 1.3 Dieta
 - 1.3.1 Carbohidratos
 - 1.3.2 Dieta baja en calorías
 - 1.3.3 Dieta alta en colesterol
 - 1.3.4 Dieta con grasas polinsaturadas
 - 1.3.5 Dieta rica en fibra
 - 1.4 Influencias genéticas y étnicas
 - 1.5 Asociaciones clínicas
 - 1.5.1 Obesidad
 - 1.5.2 Diabetes mellitus
 - 1.5.3 Cirugía gastrointestinal
 - 1.5.4 Anticonceptivos
2. Clasificación de los cálculos biliares
3. Patogenia de los cálculos biliares de colesterol
 - 3.1 Propiedades físico-químicas de los solutos biliares
 - 3.2 Bilis sobresaturada
 - 3.3 Nucleación
 - 3.4 Trastornos motores de la vesícula biliar
4. Historia Natural de la Litiasis vesicular
5. Tratamiento Médico de la litiasis vesicular
 - 5.1 Recurrencia de litiasis vesicular en pacientes sometidos a tratamiento médico

II.- OBJETIVOS

III.- HIPOTESIS

IV.- JUSTIFICACION

V.- PACIENTES Y METODOS

VI.- RESULTADOS

VII.- DISCUSION

VIII.- CONCLUSIONES

IX.- BIBLIOGRAFIA

Abreviaturas:

AB,	Acidos biliares
ALC,	Acido litocólico
Apo A-1,	Apolipoproteína A-1
AQDC,	Acido quenodesoxicólico
AUDC,	Acido ursodesoxicólico
C,	Colesterol
CB,	Cálculos biliares
CBC,	Cálculos biliares de colesterol
F,	Fosfolípidos
HDL,	Lipoproteínas de alta densidad
ISC,	Indice de saturación de colesterol
LB,	Litiasis biliar
LDL,	Lipoproteínas de baja densidad
SB,	Salas biliares
TN,	Tiempo de nucleación
VB,	Vesícula biliar
VLDL,	Lipoproteínas de muy baja densidad
VU,	Vesículas unilamelares
ARNm,	Acido Ribonucleico

I.- MARCO TEORICO

1. Epidemiología

La presencia de cálculos en la vesícula biliar (VB) y/o vías biliares en el hombre, se conoce como litiasis biliar (LB). La prevalencia de esta enfermedad se ha incrementado hoy en día en todo el mundo, particularmente en los países llamados "industrializados", aunque los países en vías de desarrollo, tales como Chile y México inclusive otros, no han escapado a este fenómeno, donde en algunos casos se ha convertido en un verdadero problema de salud pública. Solo para dar una idea de la dimensión del problema, baste señalar que en los Estados Unidos de Norteamérica actualmente existen aproximadamente 25 millones de personas con este padecimiento. En ese país se practican más de 800 mil colecistectomías anualmente, lo que ocasiona un gasto de más de 5 billones de dólares (1). En nuestro país de acuerdo con la prevalencia informada en material de autopsia (14.3%), hemos calculado una cifra de más de 6 millones de pacientes con LB para 1991 (2-3). Asimismo, considerando la realización de aproximadamente 150 mil colecistectomías, el gasto anual por este padecimiento es de más de 500 mil millones de pesos (4).

Estos datos sin duda, subrayan la importancia de la LB y parecen ser suficientes, para que en el momento actual se realicen un número considerable de trabajos, con el objeto de conocer más sobre su epidemiología, fisiopatología, tratamiento y en el mejor de los casos su prevención.

El primer paso en el estudio de cualquier enfermedad en

particular, es conocer su ocurrencia. En la tabla 1, mostramos la frecuencia con la cual se presenta la LB en diversos países del mundo. Son marcadas las diferencias que existen entre la cifras de prevalencia de LB, entre una área geográfica y otra, así como entre las distintas razas. Aunque la prevalencia de LB de nuestro país es similar a la de algunos países europeos como Alemania (figura 1) e Inglaterra (no indicada). Las preguntas, que surgen entonces son: ¿ A qué se debe que una población sea más susceptible que otra a desarrollar LB y qué factores facilitan su desarrollo ?.

1.2 Determinantes de la distribución de LB en una población.

1.2.1 Edad:

La LB se ha documentado en todos los grupos etarios, desde el feto hasta edades sumamente avanzadas (5,6). Sin embargo, la prevalencia de LB aumenta a medida que progresa la edad. Algunos investigadores han calculado que el incremento en la prevalencia de LB es progresivo en hombres. En la mujeres alcanza un pico en la década de los 40 (7). Las décadas en las que más frecuentemente se practican un mayor número de colecistectomías son la 5a y 6a décadas de la vida respectivamente.

Distintos factores pudieran ser la causa de estos hallazgos (5), tales como: 1) estasis vesicular, la cual está favorecida por la disminución en la ingesta de alimentos, la vida sedentaria, disminución de la función motora de la VB o una reducción en la producción de colecistocinina, 2) mayor viscosidad de la

bilis vesicular que tiende a modificar las estructuras de un estado coloidal-sol hacia otras de tipo gel, 3) disminución de la ingesta de alimentos que reduce la secreción biliar por el hígado y quizás altere los índices de concentración del colesterol (C) en sangre, 5) falta de influencia reguladora de las hormonas sexuales, 6) pérdida rápida de peso en personas obesas y, 7) aumento constante en la esperanza de vida.

1.2.2 Sexo:

En todos los países donde son comunes los cálculos biliares de colesterol (CBC), la prevalencia es más alta en mujeres que en hombres (8). Los estudios en material de autopsia han demostrado que, al menos en occidente, las mujeres tienen una elevada frecuencia de LB. Sin embargo, la relación mujer/hombre ha variado con el tiempo; así, los primeros estudios demostraron una relación de 4-6:1 y en años recientes esa relación parece haber disminuido 2:1 (6). Este cambio en la distribución por sexo es similar al que ha ocurrido en años recientes en el caso de otras enfermedades tales como las cardiovasculares y el cáncer pulmonar.

1.2.3 Clase social:

La información relacionada con la prevalencia de LB y clase socioeconómica es contradictoria. En Japón, los CBC son más frecuentes en profesionistas que en obreros (8). De manera similar en la India, la prevalencia de CB sintomáticos es 20 veces mayor en los oficiales ferrocarrileros que en aquellos trabaja-

dores de grados inferiores (9). En Africa, los casos raros de CB se encuentran, preferentemente en las clases sociales más altas (8), lo que también parece ser cierto para la población sueca (10). Por el contrario, en un estudio prospectivo que incluyó a 17,000 jóvenes inglesas, se encontró una relación inversa aunque no significativa, entre clase social e incidencia de colecistectomías (11). Asimismo, Diehl et al (12) han informado la prevalencia elevada de LB en la población hispanoparlante de bajos recursos económicos que radica en los Estados Unidos de Norteamérica. En México, nosotros hemos observado, que la historia familiar de LB, es más frecuente en la población cuyo estrato socioeconómico es bajo (13).

1.3 Dieta

1.3.1 Carbohidratos:

En la dieta contemporánea los carbohidratos aportan del 20 al 50 por ciento del valor energético. El consumo de carbohidratos por persona durante los últimos años ha aumentado considerablemente en las sociedades occidentales. Se estima que actualmente se consumen 50 kg de azúcar por persona al año (14).

En relación con la litogénesis, los tres componentes (colesterol, ácidos biliares y fosfolípidos) de la bilis parecen afectarse como consecuencia de un consumo excesivo de carbohidratos. La síntesis hepática de C aumenta con un incremento correspondiente en la excreción biliar. La circulación enterohepática de ácidos biliares (AB) se reduce y la síntesis de fosfolípidos

(F) por el hígado se abate (10). Estas alteraciones facilitan la formación de bilis litogénica.

1.3.2 Dieta baja en calorías:

Las dietas bajas en calorías también favorecen la formación de bilis litogénica, sobre todo en aquellos individuos que se someten a dietas reductivas. En la obesidad, la bilis se encuentra sobresaturada debido a una elevada síntesis de C. Durante la restricción calórica y pérdida de peso los porcentajes de secreción de todos los lípidos biliares disminuyen y la poza de AB se reduce. En algunos sujetos la secreción de estos ácidos se reduce más que la de C, lo que da como resultado un aumento en el índice de saturación de la bilis (15).

1.3.3 Dieta alta en colesterol:

El C que se absorbe en el intestino, contribuye junto con el C sintetizado endógenamente, a formar el C biliar. Las dietas ricas en C incrementan su contenido en la bilis y por lo tanto aumentan el índice de saturación (ISC) (10,16). Esto pudiera atribuirse a que a diferencia de lo que ocurre en otras especies, en el hombre la absorción de un exceso de C de origen dietético no incrementa el índice de conversión de C a AB y su exceso es reexcretado a la bilis (17).

1.3.4 Dieta con grasas polinsaturadas:

El contenido de grasa en la dieta ha sido considerado determinante en la formación de CB. Malhotra (9) en la India resaltó

que los habitantes más afectados por LB consumen una dieta más rica en grasa saturada y en ácidos grasos de cadena corta. Aunque en el caso de los esquimales, cuya dieta es rica en grasa, los CB de C son excepcionales (16). Es probable que la acción litogénica de las grasas en la dieta, si es que existe, sea indirecta. Su efecto podría explicarse a través de un incremento en la absorción intestinal de C, ya que estos lípidos proveen los ácidos grasos necesarios para la esterificación del C, paso previo a su incorporación en quilomicrones. Además, las grasas son capaces de modificar la motilidad y el contenido bacteriano del tubo digestivo, lo que quizás influya en la litogénesis.

1.3.5 Dieta rica en fibra:

Normalmente la fibra de la dieta procede de los vegetales, la cual está constituida por celulosa, que a su vez, está formada de pentosas, hemicelulosas, lignina y pectina. Las dietas contemporáneas en el mundo occidental tienen un pobre contenido de fibra como consecuencia de su alta refinación, lo que disminuye la velocidad del tránsito intestinal y favorece el aumento en la frecuencia de ciertas enfermedades digestivas tales como la constipación, el carcinoma de colon, las hemorroides, la enfermedad diverticular y la apendicitis (16).

Las dietas sin fibra, disminuyen marcadamente la síntesis de AB en ratas y en el hombre (17) y elevan el C sérico y biliar lo que permite suponer que la síntesis de AB a partir de C está en alguna medida bloqueada como consecuencia de la dieta. Osuga et al (18) aportaron pruebas que apoyan esta hipótesis al producir

ateromatosis y CB de C en primates alimentados con estas dietas. La adición de fibra a la dieta, además de disminuir el C, permite revertir los efectos nocivos de las dietas sin fibra en estos animales.

El efecto de la fibra en la homeostasis del C y de los AB no se conoce, pero algunas pruebas permiten suponer que su acción radica a nivel de la circulación enterohepática de los AB (19). La celulosa y la lignina tienen la capacidad para fijar AB y por ello de retenerlos en la luz intestinal. Además, al hacer más voluminoso el bolo fecal, aceleran la velocidad del tránsito intestinal lo que disminuye el tiempo de exposición a la superficie de absorción y promueve su excreción fecal. Otras sustancias que aumentan el bolo fecal o fijan AB, también promueven la excreción fecal de AB y producen hipocolesterolemia (16). Al aumentarse la excreción fecal de AB, el hígado sintetiza más AB a través de un sistema de regulación por retroalimentación para conservar concentraciones normales a nivel de la circulación enterohepática. Esta neosíntesis, a nivel de retículo endoplásmico liso ocurre a partir del C por lo cual sus niveles disminuyen en sangre y en bilis. Así la bilis se torna menos litogénica al incrementarse la concentración de AB a expensas de la de C. También se ha demostrado una reducción significativa en la absorción intestinal de C en la rata y en el hombre como consecuencia de la incorporación de fibra en la dieta (20).

Por otro lado, se ha observado una prevalencia baja de LB en mujeres que consumen dietas vegetarianas (21). De manera paradójica, Nervi et al (22) han informado que las leguminosas (Frijol

y lentejas) incrementan la saturación de la bilis con C, al disminuir la concentración de F. Estas observaciones sin duda, son de gran importancia, ya que la dieta en esa población podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de LB. De confirmarse esta teoría, la dieta en nuestra población quizás también sea un factor de riesgo para el desarrollo de LB, pues según Bourges (23), el frijol, es uno de los alimentos que más se consumen en México, siendo importante en la población de bajo estrato socioeconómico.

1.4 Influencias genéticas y étnicas

Superada sólo por los indios norteamericanos, la raza blanca parece ser la que más tendencia tiene a padecer LB. Los índices de prevalencia en adultos publicados en Europa y en los Estados Unidos de Norteamérica varía entre 7.5 y 22 por ciento (8). Numerosas tribus de indios estadounidenses, particularmente aquellos del suroeste, tales como los Pima, Chipewa y Navajos tienen una prevalencia extraordinariamente alta de CBC, la cual llega a ser hasta del 75 por ciento en grupos de edad avanzada (24). Estas cifras son similares a las que se presentan en Sudamérica pero contrastan con la de otros grupos étnicos como los Masai de África en los que la formación CB son muy raros (8).

Las variaciones étnicas y raciales en la prevalencia de LB parecen ser debidas al contenido relativo de C en la bilis de los distintos grupos, además de que existe una variación racial en la composición lipídica de la bilis. Estudios comparativos entre mujeres indias y caucásicas jóvenes sin CB han demostrado que las

primeras tienen una bilis mucho más litogénica lo cual es el resultado de un defecto en la secreción de lípidos a nivel hepático (25).

Asimismo, se han observado diferencias en la concentración de lipoproteínas de alta densidad en el plasma entre las razas negra y blanca. La concentración de estas lipoproteínas es más alta en individuos de la raza negra que son menos susceptibles de formar CB (26). Otros hallazgos de importancia son los elevados niveles de triglicéridos y la disminución en la concentración de lipoproteínas de alta densidad en la población México-Americana en comparación con la población anglosajona de los Estados Unidos de Norteamérica (27), siendo la prevalencia de LB más alta en la primera que en la segunda (28).

Otras diferencias interraciales se han observado al estudiar la función motora de la VB de sujetos sanos: caucásicos y negros. El vaciamiento de dicho órgano es menor en los sujetos caucásicos lo que podría contribuir a la mayor prevalencia de LB en la raza blanca (29).

1.5 Asociaciones clínicas

1.5.1 Obesidad:

Varios estudios epidemiológicos han confirmado que la LB se presenta con más frecuencia en las personas obesas. Así por ejemplo, se dice que la prevalencia de LB en este grupo de pacientes se duplica o triplica, sobre todo cuando el peso corporal de los mismos es de más del 25% de su peso ideal (15). Esta

asociación entre obesidad y LB se debe probablemente a que la obesidad se acompaña de bilis sobresaturada de C, lo cual determina una predisposición a la formación de CB.

1.5.2 Diabetes mellitus:

La frecuencia informada de LB en pacientes con diabetes mellitus es de 20-30% (30). Así por ejemplo, Feldman (31) observó una prevalencia de LB en 25% de pacientes diabéticos y en 8% de los no diabéticos en un estudio en material de autopsia. Onodera et al (32) diagnosticaron CB en pacientes diabéticos en 2.1% de los hombres en la quinta década de la vida, 4.4% en la sexta y de 6.1 de la séptima en adelante, y de 3.7, 6.4 y 10.3 %, respectivamente en las mujeres. El tipo de CB que presentan estos pacientes es predominantemente de C. Tanno et al (30) encontraron CB en 13% (28 de 212 casos) de pacientes diabéticos, detectándose CB de C en el 11.5% de los casos (24 de 208 casos). En un grupo de nuestros pacientes con LB observamos una frecuencia de diabetes mellitus del 8% (13).

La causa de LB como complicación de diabetes mellitus aún no se ha esclarecido completamente. Se sabe que la contracción de la VB está disminuida en pacientes diabéticos, especialmente en aquellos con neuropatía autonómica, la cual se conoce como "Vesícula Neurogénica del Diabético".

1.5.3 Cirugía Gastrointestinal:

La LB se ha reconocido hoy en día como una complicación de la vagotomía troncular y de la resección gástrica. Bockus et al

(5) observaron una frecuencia de LB mayor a la esperada tras la intervención quirúrgica, especialmente en el caso de las resecciones Billroth II con vagotomía. Lorusso et al (33) han propuesto que la formación de CB en estos pacientes se debe a: 1) hipotonicidad de la VB debida a denervación vagal, 2) exclusión duodenal del tránsito alimentario con una disminución en la producción de colecistocinina, 3) formación de adherencias postquirúrgicas que limitan mecánicamente la motilidad de la VB y por lo tanto dificultan el drenaje de bilis, y 4) estasis del asa aferente acompañada de hipertensión que puede conducir a estasis biliar con infección subsecuente.

Asimismo, se ha observado una elevada prevalencia de LB en pacientes con resección ileal o derivación ileal. En estos casos la formación de CB se ha atribuido a la pérdida excesiva de AB por el intestino. Se sabe que en esta situación la secreción de C es baja, pero la relación que existe entre la secreción de AB y el índice de saturación da como resultado la aparición de una bilis sobresaturada lo que incrementa el riesgo de producir CB.

1.5.4 Anticonceptivos orales:

Dentro de los efectos secundarios de los anticonceptivos orales se encuentra la LB. Existen algunos estudios en donde se ha confirmado una asociación entre LB y el uso de estrógenos exógenos, ya sea como anticonceptivos orales o suplementarios, aquellos utilizados en la menopausia, o administrados a los hombres (34). En estos casos, la sobresaturación de la bilis con C se ha atribuido a una disminución en la proporción de ácido

quenodesoxicólico (AQDC) en la poza de AB debido al que los estrógenos tienen un efecto colestático de los estrógenos que ocasiona un incremento en la secreción de C biliar, así como a una disminución en la cantidad de AQDC que alcanza la bilis. Sin embargo, el riesgo de LB asociada al uso de anticonceptivos parece ser muy pequeño (35,36). De hecho, Bateson (37) señala de manera terminante que los anticonceptivos no deben considerarse como un factor de riesgo para el desarrollo de LB. En México, nosotros al estudiar dos poblaciones de diferente nivel socioeconómico, observamos que en ambas poblaciones el uso de anticonceptivos orales se asoció de manera importante a LB, con una incidencia del 12% en la población de nivel socioeconómico alto del 37% en la de nivel socioeconómico bajo (13).

2. Clasificación de los CB

En términos generales, los CB se han clasificado de acuerdo a sus características físico-químicas en dos tipos: I) CBC de los cuales existen dos variedades: a) puros y b) mixtos, y II) cálculos pigmentarios: a) puros de pigmentos o de color negro y b) de bilirrubinato de calcio o de color café. Las características de ambos tipos de cálculos se resumen en las tablas 2 y 3. En nuestro país, al igual que en los países de occidente predominan los cálculos de colesterol (figura 2) (38).

3. Patogenia

La formación de un CBC en la vesícula biliar (VB) es un

evento dinámico en el que participan varios factores, que al interaccionar en conjunto, facilitan o propician el medio adecuado para que se desarrolle un cálculo en este órgano.

Para comprender mejor la litogénesis, es necesario conocer el medio en el cual tiene lugar la formación de un cálculo, esto es, la composición química de la bilis y la función de la VB. Inicialmente, describiremos las propiedades físico-químicas de los principales componentes de la bilis y posteriormente cada uno de los eventos que teóricamente, participan en la patogenia de un CBC.

3.1 Propiedades Físico-químicas de los principales solutos biliares:

La bilis está constituida principalmente por cuatro tipos de lípidos que se mantienen en solución al interactuar entre ellos. La cantidad de solutos en la bilis es variable. En términos generales, se sabe que ésta oscila entre 3% (en los conductos hepáticos) y 10% (en la VB) (39). Esta variabilidad, está en función de la secreción y reabsorción de agua en los diferentes segmentos del tracto biliar. En la figura 3, se muestra la composición de la bilis de acuerdo al porcentaje de solutos (a) y la relación que guardan éstos entre sí (b). En esta misma figura podemos observar, que los solutos más importantes, son: AB, F y C.

Los términos de sales biliares (SB) y AB, se usan indistintamente en la literatura. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la forma de "sal" (ionizada), se encuentra en la bilis y el intestino, es la más polar, y por lo tanto hidrosoluble y la

que mayor importancia fisiológica tiene. Los AB, no ionizados son poco solubles y en condiciones normales, sólo se encuentran en el colon y sangre venosa portal, siendo transformados completamente por conjugación a "sales" en su paso por el hígado (40).

Los AB, cólicos y AQDC, son producto del catabolismo del C no esterificado. Mientras que los AB secundarios se forman en el colon, al sufrir deshidroxilación en la posición 7-alfa por las bacterias anaerobias en el intestino. Finalmente, los AB terciarios representan modificaciones hepáticas o bacterianas de los grupos funcionales del núcleo esteroideo de los AB secundarios, como es el caso del ácido ursodesoxicólico (AUDC) (figura 4). La mayoría de los AB están unidos a la albúmina (entre 70 - 90%) y una pequeña cantidad lo está a lipoproteínas (41).

Una propiedad importante de las SB, es que son moléculas solubles anfipáticas que poseen propiedades semejantes a la de los detergentes con una parte hidrófoba (no polar) y una parte hidrófila (polar). Las transformaciones estructurales sólo tienen lugar en la zona polar de la molécula y dan lugar a cambios significativos en sus propiedades anfipáticas de las moléculas. De este modo, mediante un cambio en la relación de la forma ionizada con la ácida, de la forma conjugada con la no conjugada, o por de deshidroxilación y deshidrogenación, una molécula de SB, que es completamente hidrosoluble y capaz de formar micelas, puede transformarse en una molécula insoluble e incapaz de formar micelas.

El C no esterificado es insoluble en agua (solubilidad máxima aproximada 10 mol/L), pero en la bilis se mantiene solubi-

lizado en gracias a las SB, con las que forma micelas (42), que pueden ser simples (SB+C) o mixtas (SB+C+F).

De los F biliares, las diacilfosfatidilcolinas (lecitinas) son las que predominan en el hombre y otras especies. La secreción hepática de estas, tiene dos componentes, uno dependiente y otro independiente de la secreción de SB.

La secreción de los lípidos biliares (C y F) aparentemente se lleva a cabo por exocitosis, a través de vesículas unilamelares y posteriormente son "acarreados" al canalículo biliar en forma de micelas simples, mixtas y/o las mismas vesículas unilamelares (figura 5). Mazer et al (43) en 1984, describieron las vesículas unilamelares en animales, como medio de transporte de C y F hasta el canalículo biliar. Somejen et al (44) y Ulloa et al (45) fueron los primeros en observarlas en el hombre. Actualmente se piensa que estas vesículas con C y F, son sintetizadas en la célula hepática y que son la principal fuente del C biliar. El estímulo más importante para la secreción de las vesículas de C y F es la secreción de SB. Asimismo, se ha observado que las SB al llegar al canalículo forman micelas simples.

Una vez que las VU han llegado al canalículo sufren un proceso de maduración (micelación), el cual involucra la transformación de las VU en micelas, este proceso aparentemente se incrementa en la bilis vesicular (46).

Teóricamente, la formación de un CBC en la VB, es secundaria a la participación de cuatro eventos : bilis sobresaturada, nucleación, crecimiento de cristales de C y trastornos motores de la VB.

3.2 Biliis sobresaturada:

La biliis sobresaturada con C, es el primer evento en la patogenia de los CBC, que puede ser secundaria a: a) incremento en la secreción de C biliar; b) disminución de la secreción de SB, o c) defecto mixto (a+b) (47,48).

Se considera que la principal causa de sobresaturación de la biliis con C, es el incremento en la secreción de C biliar. En la figura 6, se muestra la forma mediante la cual se regula la concentración de C hepático. Gran cantidad del C que ingresa al hígado, deriva de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), que al interaccionar con receptores celulares específicos son endocitados por el hepatocito. Mediante esta vía ingresa aproximadamente 70% del C sérico por día (49). Además, existe síntesis endógena de C a partir del acetato (acetil CoA). Esta síntesis es regulada por la HMG-CoA reductasa (50).

La homeostasis del C depende, en primer lugar de que un porcentaje de este lípido en su forma libre, es transformado en SB (aproximadamente 500 mg/día), por la 7-alfa hidroxilasa (51). Otro porcentaje del C libre es secretado como tal en la biliis y el resto es esterificado mediante la acción de acil-CoA-colesterol-acil transferasa. Los esteros de colesteril pueden ser utilizados para constituir el centro de las lipoproteínas, principalmente las de muy baja densidad (VLDL). Finalmente, una pequeña cantidad del C esterificado es almacenado en el hígado (52).

De los datos anteriores, se puede deducir que el aumento en la secreción de C biliar puede ser secundario a: a) un incremen-

to en la captación de LDL por la célula hepática, al aumentar el número de receptores; b) un incremento en la síntesis de C; c) la disminución de la transformación de C a SB y, d) disminución de la cantidad de esteres de C que se almacenan en la célula hepática a favor de la síntesis de VLDL. En la tabla 4 se enlistan algunas de las causas que pueden modificar la composición de la bilis (53).

3.3 Nucleación:

La formación de bilis saturada con C, es un requisito indispensable pero no suficiente para el desarrollo de los CBC.. El siguiente evento necesario en la patogenia de este tipo de cálculos es la nucleación, la cual se puede definir como la precipitación del C en la bilis, debido a que los componentes que normalmente lo solubilizan son incapaces ya de hacerlo. El tiempo de nucleación (TN) es un término que fue introducido por Nolan et al (54), en 1979 observaron que el C presente en la bilis de pacientes con CBC, precipita más rápidamente (24-48 horas), que el contenido en la bilis de pacientes sin cálculos (3 semanas en promedio). Estos datos, han hecho pensar que para que ocurra la nucleación, es necesaria la presencia de factores que la promuevan (factores nucleantes) que sobrepasen a aquellos que la inhiben (factores antinucleantes). En la figura 7, se esquematiza la forma mediante la cual actúan ambos tipos de factores. En el primer caso, se ha propuesto como pronucleantes a las glicoproteínas que se sintetizan en el epitelio vesicular, al calcio, a la bilirrubina y a las proteínas de bajo peso molecular (55).

Se sabe que el principal componente orgánico de la secreción del epitelio vesicular, es la mucina, una glicoproteína de 2×10^6 de peso molecular aproximado (56). Quizá el estudio que más apoye, la acción pronucleante de la mucina es el realizado por Lee et al (57) quienes, utilizando como modelo experimental de CBC al "perro de las praderas" (*Cynomys ludovicianus*), observaron que al administrar una dieta litogénica (productora de CBC), la síntesis y la secreción de mucina se incrementaba notablemente y de forma paralela a la presencia de cristales de C y CBC. Asimismo, basados en estos hallazgos, este mismo grupo de investigadores propuso que la síntesis de mucina aparentemente es mediada por la síntesis de prostaglandinas, ya que cuando administraron la dieta litogénica más aspirina, se bloqueo la hipersecreción de mucina y la formación de CBC (58). Nosotros (59), utilizando como modelo experimental al hamster dorado, y LaMorte et al (60) en un cobayo, observamos que la administración de dieta litogénica más aspirina no previno la formación de CBC. Estas diferencias pudieran atribuirse a diferencias en la fisiopatología de los CBC en estos modelos experimentales. Por otro lado, Smith et al (61), al estudiar el papel pronucleante de las mucinas (humana y bovina) en un modelo de bilis saturada de C (Índice de Saturación de C= 1.4) observaron que la mucina humana acelera el TN. Este mismo grupo, al comparar la actividad de la mucina de pacientes con CBC y sin ellos, observó que esta glicoproteína en ambos tipos de pacientes acelera el TN "in vitro" (62).

En 1983 Burnstein et al (63), informaron acerca de la pre-

sencia de un potente promotor de la nucleación en la bilis, cuyo peso molecular es de aproximadamente 300 kD y es inferior al de la mucina. La importancia de éste en la patogenia de los CBC, fue demostrada en dos estudios de Gallinger et al (64,65). En el primero concluyen que la mucina no tiene efecto sobre el TN. Mientras que en el segundo estudio, este grupo logró aislar una proteína de origen no mucoso en muestras de bilis de pacientes con CBC y sin ellos. Las observaciones que realizaron fueron que, la fracción no proteica de los pacientes con CBC poseía mayor actividad pronucleante, que la fracción proteica de la bilis de los pacientes sin cálculos. Estos hallazgos, ponen en duda el papel que juega la mucina como agente pronucleante, y demuestran, la existencia de otros factores que favorecen la nucleación. Groen et al (66) han aislado otro agente pronucleante de origen proteico, el cual es capaz de unirse a concanavalina A. Este aparentemente consta de tres fracciones de diferente peso molecular, siendo la de mayor peso (130 000 kD) la que posee el efecto pronucleante. Asimismo, Magnusen et al (67) han informado de otro agente pronucleante más, éste de 95 kD de peso molecular. Nosotros hemos observado que la matriz de los CBC esta constituida por material proteico digerible con enzimas proteolíticas como estreptoquinasa y estreptodornasa (68), lo que apoya el papel de material proteico en la nucleación.

Otros pronucleantes de origen no proteico, incluyen elementos tales como el Ca^{++} (69) Na^+ , K^+ y Mg^{++} (70). En nuestra opinión, estos factores propuestos como pronucleantes, juegan un papel variable para facilitar la nucleación.

La forma como actúan estos factores pronucleantes ha sido recientemente estudiada. Se ha observado que cuando existe hipersecreción de C biliar y por lo tanto de VU, la micelación, que en condiciones normales ocurre en el canalículo biliar, no se presenta, de tal forma que el C incorporado en las VU de la bilis vesicular tiende a precipitar en presencia de los factores nucleantes. Esto es, debido al aumento de VU, éstas tienden a fusionarse, dando origen a la formación de vesículas multilamelares o polisomas, y estas últimas a la formación de cristales de C monohidratado (figura 8).

Por su parte, Holzbach et al (71) han informado acerca de la presencia de factores antinucleantes en la fracción proteica de la bilis hepática de sujetos normales. Estas proteínas fueron identificadas como las apolipoproteínas A-1 y A-2.

La apolipoproteína A-1 (apo A-1) es un polipéptido constituido por 243 aminoácidos y es la proteína más importante de las lipoproteínas de alta densidad. El ARNm de apo A-1, ha sido clonado y se conoce su secuencia de nucleótidos. Asimismo, ha sido identificada la proteína precursora de apo A-1 (pro apo A-1) caracterizada por un péptido señal de 24 aminoácidos en el extremo terminal NH₂ (72).

Recientemente se ha observado que comparativamente con sujetos sin cálculos en los pacientes con CBC, hay un incremento en la concentración de proteínas en la bilis vesicular, particularmente de las apolipoproteínas A-I y A-II (73). Estos hallazgos, sugieren que este incremento en la concentración de apolipoproteínas probablemente sea en respuesta al aumento de los

factores nucleantes. Sin embargo, en la bilis estas apolipoproteínas podrían ser absorbidas o bien degradadas, de tal forma que su actividad antinucleante se podría encontrar disminuida. Asimismo, los pacientes con CBC que han sido sometidos a colecistectomía, y a los que se les ha colocado una sonda en T, el análisis de su bilis hepática ha demostrado la presencia de ambos tipos de factores (promotores e inhibidores) (66). Por lo que es juicioso pensar que estos factores podrían ser sintetizados en el hígado y posteriormente modificados en la VB.

3.3 Trastornos motores de la VB:

Desde 1856 Meckel von Hemsbach propuso a la estasis como un factor importante en la patogenia de los CBC (74). Sin embargo, tuvieron que transcurrir más de 100 años para que esta hipótesis fuera aceptada.

Los estudios en animales sugieren que la hipomotilidad de la VB es uno de los defectos primarios en la formación de los CBC (75-79). Así por ejemplo, en ardillas y en perros de las praderas, alimentados con una dieta litogénica, se ha observado una disminución de la contractilidad del músculo liso de la VB en comparación con el grupo de animales controles. Este defecto se asoció a un incremento en la saturación de la bilis con C y fue precedido por la presencia de cristales y de CBC (76). Otro hallazgo de interés en estos modelos, es la disminución en el vaciamiento de la VB, la cual se ha asociado a un aumento en la resistencia del conducto cístico (80) y a un incremento en las concentraciones de prostaglandinas E y F2 alfa (80). Ahora bien,

aunque no se ha definido el mecanismo exacto mediante el cual, se ve alterada la contractilidad de la VB, se postula que ésta podría ser el resultado de un defecto a nivel de los receptores para colecistocinina (76), a cambios en la excitación de la membrana, en el acoplamiento: contracción-excitación, o en una disminución en la concentración de proteínas necesarias para la contracción (79).

Por otro lado, estudios en humanos han confirmado la hipomotilidad de la VB en pacientes con CBC. Fisher et al (81) en un estudio realizado en sujetos con CBC y controles, observaron una disminución en el vaciamiento de la VB, cuando este fue estimulado con una comida, empleando ácido m-dimetil-iminodiacético marcado con Tecnecio-99. Sin embargo, cuando utilizaron colecistocinina para estimular el vaciamiento, este fue similar en ambos grupos de sujetos. Estas últimas observaciones pusieron en evidencia la existencia de varios grupos de pacientes con CBC, es decir, aquellos que responden en forma normal al estímulo con colecistocinina (82-84) otro subgrupo que no responde a este estímulo, y un subgrupo más en el cual la producción de colecistocinina está disminuida (84).

Otras evidencias que apoyan a la hipomotilidad de la VB como un defecto primario son: 1) que este defecto no es reversible en pacientes que son tratados con litotripsia con ondas de choque extracorpóreas (85), 2) los pacientes diabéticos, que representan un grupo de alto riesgo para el desarrollo de CBC, presentan un defecto en la motilidad de la VB, el cual ha sido demostrado

cuando se comparan a pacientes diabéticos sin CBC y sujetos normales (86). Danion et al (29) al estudiar la función motora de la VB de sujetos sanos, observaron que los sujetos caucásicos normales mostraron un vaciamiento menor que los sujetos de raza negra, la cual tiene una prevalencia de LB menor a la de los caucásicos.

A manera de resumen en la figura 9, esquematizamos los diferentes eventos que participan en la patogenia de los CBC.

4. Historia Natural de la litiasis biliar

El tiempo necesario para que a partir de la bilis saturada de colesterol (figura 10: Estadío I) se desarrolle un CBC asintomático (Estadio II), no se conoce con exactitud. La información disponible sugiere que puede ser en un lapso tan corto como de 30 días como sucede en el caso de los pacientes obesos que se someten a reducción rápida de peso o hasta de 10 años como se ha observado en los indios Pima (87). El tiempo también puede variar en el caso de un cálculo solitario o bien de cálculos múltiples, si son de C o son pigmentarios. Asimismo, existe poca información respecto al que tipo de calculos que aumentarán en tamaño, número y calcificación en la VB, así como de aquellos que migrarán a través del conducto cístico y conducto colédoco.

Por lo anterior, se ha planteado la interrogante de cuál sería el manejo de los pacientes con cálculos asintomáticos. Nuestra opinión, es que se deben observar aquellos pacientes con cálculos asintomáticos (descubiertos en forma fortuita, mediante estudios de imagen); sin embargo, sugerimos tratamiento en los

pacientes mayores de sesenta años, que además de LB presenten enfermedades concomitantes que aumenten el riesgo quirúrgico, tales como diabetes mellitus, cardiopatías, etc. Mientras que los pacientes con LB sintomática deben ser tratados, en la figura 11 indicamos los lineamientos que deberán ser considerados para el tratamiento de este padecimiento.

5. Tratamiento médico de los CBC

Hoy en día, disponemos de varias alternativas no quirúrgicas para el tratamiento de la LB, dentro de las cuales podemos mencionar: 1) disolventes orales (AB: AQDC y AUDC y terpenos), 2) disolventes orgánicos de contacto (metil-terbutil-éter y monooc-tanoína, 3) litotripsia con ondas de choque extracorpóreas y, 4) esfinterotomía endoscópica.

Como hemos mencionado previamente, los CBC son los más frecuentes tanto en países de occidente, como México, lo cual explica en parte el porque las modalidades terapéuticas actuales han sido desarrolladas exclusivamente para este tipo de cálculos.

5.1 Disolventes orales:

Con este tratamiento se pretende impedir la secreción de bilis sobresaturada con colesterol por parte del hígado, así como la disolución de los cálculos. El AUDC es el 7-B epímero del AQDC, fue aislado en la bilis del oso polar en 1907 por Hammarsten y su estructura dilucidada por Iwasaki en Japón en 1936 (88). En 1974 se iniciaron los estudios clínicos con fines de tratar los CBC con este ácido y para 1977 ya se había populariza-

do su empleo en varios países de Europa y en los Estados Unidos de Norteamérica.

La dosis que se ha utilizado de AUDC en pacientes con CBC es de 10-15 mg/kg/día. Con esta dosis se ha logrado la disolución completa en el 80% de los casos (89,90 y recientemente se observó que cuando se combina con AQDC, su eficacia mejora considerablemente, llegando a disolver CBC en un periodo de 6 meses o menos en el 52% de los casos (9).

El mecanismo de acción propuesto para que el AUDC disuelva los cálculos, es a través de la inducción de una bilis insaturada de C. Este efecto se logra al disminuir la secreción de C biliar (92). Así en algunos pacientes se ha observado una disminución importante en la cantidad de C biliar; en otros, en donde no es evidente esta disminución, se observa un incremento en la cantidad de AB secretados. Como mecanismo alternativo se ha propuesto también que al AUDC induzca una mesofase de cristales líquidos de C y lecitina. El término de cristales líquidos significa un estado de agregación que es intermedio entre los sólidos cristalinos y líquidos amorfos, sustancias que en este caso son anisotrópicas ópticamente birrefringentes y exhiben cierto grado de fluidez, que en algunos casos puede ser comparable al de los líquidos comunes (93). Se dividen en termotrópicos y liotrópicos, son termodinámicamente estables, requieren la participación de un disolvente y se observan en lípidos conteniendo agua, como es el caso de los cristales líquidos de C y lecitina en la bilis. Están constituidos por complejos multimoleculares de dimensiones infinitas en una o más direcciones, llamados mesoagregados que

forman enrejados ordenados y son responsables de las características anisotrópicas y de sus propiedades macroscópicas de fluidez y gran movilidad (94).

5.2 Recurrencia (reformación de los CBC):

Uno de los problemas potenciales secundarios al tratamiento médico con AB o litotripsia con ondas de choque extracorpóreas, ésta última recientemente introducida, como una nueva alternativa no quirúrgica para tratar este padecimiento, es la recurrencia, que con el primer tratamiento a los 5 años puede ir del 10-50% (95). Mientras que con el segundo procedimiento, a un año la recurrencia informada va del 10-15% respectivamente (96).

Una posible explicación de este fenómeno, es el TN reducido presente en la bilis de los pacientes, aun después de haber sido sometidos a los tratamientos antes mencionados (97). Con la finalidad de prevenir la recurrencia, se ha sugerido el empleo de AUGC a dosis bajas (250 mg/día) (97). Con esta dosis en fecha reciente, se ha informado que puede incrementarse el "tiempo de nucleación" y disminuir el ISC de la bilis de los pacientes que son tratados con este ácido durante un periodo corto, antes de ser sometidos a colecistectomía (98). Tazuma et al (99) han observado un aumento en el TN, asociado con un incremento en la concentración de HDL y apolipoproteína A-1 (apo A-1) en suero. Sin embargo, se desconoce si existe una correlación entre los niveles de ARNm que codifica para apo A-1 en tejido hepático y los niveles de apo A-1 en suero.

II.- OBJETIVOS

- 1.- Investigar si la administración de AUCD a dosis bajas modifica la composición química y tiempo de nucleación de la bilis en pacientes con CBC.
- 2.- Si los cambios antes mencionados, son secundarios al incremento en las concentraciones de apo A-1 en suero, y del ARNm de esta proteína en tejido hepático.

III.- HIPOTESIS

La administración de AUCD a dosis bajas, modifica la composición química de la bilis, tiempo de nucleación y las concentraciones séricas de apo A-1 en pacientes con CBC.

IV.- JUSTIFICACION

Los beneficios esperados de este trabajo son : a) evitar la neoformación de los cálculos en pacientes que sean sometidos a tratamiento médico con AB o litotripsia, b) evitar en estos pacientes la cirugía, ya que en muchos de ellos, el riesgo quirúrgico es elevado, y de esta forma se podría disminuir la morbimortalidad, c) disminuir costos y, d) contribuir al conocimiento de la patogenia de los CBC.

V.- PACIENTES Y METODOS

Se trata de un estudio clínico controlado por sorteo doble ciego.

1. Población y muestra:

Pacientes de ambos sexos con edad igual o mayor de 20 años, con diagnóstico clínico y ultrasonográfico de litiasis vesicular sintomática, que acudieron a la consulta externa del Instituto Nacional de la Nutrición SZ y del Hospital General de México y que fueron candidatos a recibir tratamiento quirúrgico (colecistectomía electiva).

2.- Criterios de inclusión:

- a) Pacientes de ambos sexos con edad igual o mayor de 20 años, con diagnóstico clínico y ultrasonográfico de litiasis vesicular sintomática no complicada.

- Definición de candidato:

Paciente que desde el punto de vista clínico refiera más de dos episodios de cólico biliar (dolor en cuadrante superior derecho, cuya duración sea entre 30-60 minutos) en un mes; con VB funcionando y con cálculos radiolúcidos por colecistografía oral.

- b) Que sean candidatos a colecistectomía electiva en fecha próxima por su padecimiento.
- c) Que se encuentren exentos de cualquier otra enfermedad concomitante a su padecimiento, como enfermedades hepáticas, hematológicas, artropatías, hiperlipidemias, diabetes mellitus, cardiovasculares, etc.
- d) Que se encuentren libres de cualquier medicación, incluyendo anticonceptivos en mujeres.
- e) Que se encuentren libres de embarazo (mujeres).
- f) Que den su consentimiento de participación por escrito

(anexo 4).

3. Criterios de exclusión:

- a) Pacientes con litiasis vesicular complicada
- b) Pacientes con VB excluida por colecistografía oral.
- c) Pacientes con cálculos radioopacos en la colecistografía oral.
- d) Pacientes con VB escleroatrófica.
- e) Que cursen con alguna enfermedad concomitante a su padecimiento o bajo cualquier medicación incluyendo anticonceptivos orales en mujeres.
- f) Que se encuentren cursando con embarazo.
- g) Que no deseen participar en el estudio.

4. Criterios de eliminación:

- a) Pacientes que por presentar cuadro agudo de su padecimiento, fueron sometidos a colecistectomía de urgencia.
- b) Pacientes que durante el estudio presentaron efectos colaterales al fármaco, como dolor abdominal o diarrea.
- c) Pacientes que durante el estudio desearan salirse del mismo.
- d) Pacientes en los cuales el material biológico (bilis) fue insuficiente para realizar las determinaciones de interés.

5. Variables de interés:

- a) Edad
- b) Sexo
- c) Concentraciones de:
 - AB en bilis.
 - F en bilis.

- C en bilis.
- Lípidos en Suero:
 - Triglicéridos y C.
- Lipoproteínas en suero:
 - HDL, LDI y VLDL.
- Apolipoproteína A-1 en suero.
- ARNm en tejido hepático.
- ARNm en tejido vesicular (cuello, cuerpo y fondo).

d) Tiempo de nucleación de la bilis.

6. Tamaño de la muestra:

El tamaño de la muestra fue calculado, tomando en consideración las siguiente fórmula y la siguientes variables de interés:

$$n = \frac{2S^2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{A^2}$$

- a) Error alfa= 5%
- b) Error beta 20%
- c) Pérdidas 15%

Número de pacientes por grupo: 10

7. Diseño experimental:

Una vez seleccionado al paciente, este fue asignado de acuerdo con el sorteo a uno de los siguientes grupos:

Grupo I (Tratamiento con AUDC) = 10

Grupo II (Tratamiento con placebo) = 10

8.- Sorteo:

Se realizó utilizando tablas de números aleatorios y sobres cerrados, no visibles a contraluz, se llevó a cabo ajuste cada 4 pacientes. La asignación al tratamiento correspondiente se realizó inmediatamente después de abrirse el sobre.

9.- Tiempo de estudio:

Tuvo una duración de 15 días a partir del sorteo. Los pacientes fueron asignados a uno de los dos grupos creados y antes (basal) de iniciar el tratamiento correspondiente, fueron citados se para la toma de muestras de: Pruebas de funcionamiento hepático, perfil de lípidos y apo A-1 sérica. Para estas dos últimas determinaciones se les indicó a todos los pacientes ayuno de 12 horas, no ingerir bebidas alcohólicas o medicamentos (antiinflamatorios no esteroideos) 72 horas antes de la toma de muestra.

Tres días después de haber iniciado el tratamiento, el paciente fue citado con el fin de verificar el apego al mismo y para valorarlo clínicamente. Este procedimiento se repitió al finalizar el estudio.

10.- Fármacos:

- AUCD: Fue administrado a una dosis de 4 mg/kg/día/10-15 días, en dosis única, después de la cena.
- Placebo: Fue de las mismas características (forma, tamaño, textura y olor) que el AUCD y fue administrado después de la cena.

- **Presentación y vías de administración:**

Tanto el AUDC (Laboratorios Farmasa, S.A. de C.V., de la Ciudad de México) como el placebo, tuvieron la misma presentación de cápsulas y se administraron por vía oral. Se utilizaron recipientes idénticos con un número conocido de cápsulas. Las cápsulas del fármaco y placebo fueron preparadas en el laboratorio de Gastroenterología del INNSZ y se colocaron en frascos con un número de código. El tipo de tratamiento recibido por cada paciente, no fue del conocimiento del médico, ni del paciente, sino de un monitor externo.

- **Valoración del apego al tratamiento:**

Se cuantificó el número de cápsulas, que se entregó y el número de cápsulas que regresaron.

- **Reconocimiento de los efectos adversos del fármaco:**

Los efectos adversos que se han descrito del AUDC son: dolor abdominal, diarrea y constipación. Sin embargo, dichos efectos se han presentado en aquellos pacientes que llevan un tratamiento por más de seis meses y a dosis de 750 mg/día, o más. Con la finalidad de conocer los efectos adversos atribuibles a la ingestión del AUDC, se les entregó un formato (anexo 3).

11.- Obtención de las muestras:

Se investigó, día y hora de la programación de su cirugía. Los pacientes fueron hospitalizados antes de la cirugía (colecistectomía). Todas las cirugías fueron realizadas entre las 8 y 10 de la mañana previo ayuno de 12 horas. Una vez abierto el abdo-

men, en condiciones estériles y antes de manipular la VB, se tomó una muestra de bilis de 10 ml mediante punción con jeringa estéril y fue colocada inmediatamente a temperatura de - 4°C. Posteriormente, se tomó una biopsia hepática en cuña del lóbulo derecho de aproximadamente 1.5 centímetros cuadrados, la cual fue colocada en un tubo Eppendorf y éste a su vez en hielo seco con acetona para congelar el tejido a - 70 °C hasta su procesamiento para la determinación de ARNm por el método Northern (figura 12) (100).

12.- Exámenes de laboratorio:

A todos los pacientes incluidos al protocolo se les realizaron estudios preoperatorios: biometría hemática, química sanguínea, pruebas de coagulación, pruebas de funcionamiento hepático y examen general de orina, los cuales se encontraron dentro de límites normales.

13.- Métodos de medición de interés:

a) El TN fue determinado por el método de Holan et al (54).

Una vez obtenida la bilis, ésta se filtró través de papel filtro estéril de 0.2 um Millex Filter con el objeto de que la bilis quedará libre de cristales de C. El tiempo cero fue considerado dos horas después de haber sido incubada la bilis en un tubo estéril a 37 °C. Cada 24 horas se tomó una alícuota (0.2 ml) para ser examinada con microscopía de luz polarizante, en busca de cristales de C, por lo menos en dos campos y por dos observadores. El intervalo entre el tiempo cero y la primera detección de cristales de C fue definido como el TN. Los resultados son

informados en días.

b) Determinación de la composición de la bilis (C, F y SB):

Los métodos utilizados fueron: colorimétrico para el C (101), y los F (102) y enzimático para las SB (103).

Procesamiento:

Una vez obtenidas las muestras de bilis vesicular, fueron diluidas de inmediato en isopropanol a una concentración de 1/10 y centrifugadas a 3,000 rpm durante 20 minutos con el objeto de eliminar el sedimento.

El C se obtuvo al evaporar 1 ml de la solución al 1/10 de bilis-isopropanol y agregar después 5 ml de potasa alcohólica (5ml de KOH al 45% en 95 ml de etanol absoluto); esta solución se incubo a 37°C por 55 min. para esterificar todo el C presente y facilitar su extracción. Esto se logró al agregar a la muestra 5 ml de agua bidestilada y desionizada y 10 ml de éter de petróleo y agitar la solución vigorosamente durante un minuto. De la fase de éter de petróleo se tomaron 4 ml, se evaporaron y se aisló el C total .

La lecitina se obtuvo al evaporar 0.1 ml de la mezcla de bilis-isopropanol (1/10), y agregar 0.3 ml de ácido tricloroacético al 1% y 0.5 ml de ácido sulfúrico 10 N. Se carbonizó la materia orgánica al introducir la mezcla en el horno a 150 °C durante dos horas. Para "depurar" las muestras carbonizadas, se utilizó peróxido de hidrógeno al 30% y nuevamente se introdujo al horno . Se añadió reactivo de Kiske-Subbarow y se cuantificó como

fósforo inorgánico en "transmitancia" a 830 um utilizando filtro rojo en un espectrofotómetro Beckman.

Para la determinación de SB se emplea la deshidrogenasa hidroxisteroidea con la cual se oxidan los tres grupos hidroxilo de los C-17, C-19 y C-24 y se obtiene el derivado 3-ceto. El hidrogeno liberado por la oxidación se combina con NAD en presencia del amortiguador de pirofosfato (1 ml), el NADH resultante se cuantifica por absorbencia a 340 nm utilizando filtro azul.

Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado. Los métodos para determinar el C y SB en la bilis son reproducibles en nuestro laboratorio y el coeficiente de variación es menor del 5%.

Para la determinación del ISC se emplearon las siguientes fórmulas (104):

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

para $x > 0.320$, $y = 117.4 - 755.0 (x) + 1,756 (x^2) - 1,377 (x^3)$.

ISC = C en bilis/ C a saturación.

Se considera normal < 1 .

c) Determinación de apo A-1 en suero:

Se realizó por turbidimetría (105):

Principio: Los sistemas turbidimétricos para la detección de proteínas plasmáticas están basados en la medición cinética de la turbidez de las reacciones de precipitación de las proteínas y sus correspondientes anticuerpos específicos.

Los complejos inmunes formados al ser expuestos a una fuente de luz disminuyen, al paso de ésta, su intensidad.

La determinación de la concentración en una muestra es medida por dos parámetros simultáneos: la máxima velocidad de reacción (V_{max}) de formación de precipitado y el tiempo requerido para V_{max} (tV_{max}).

Se utilizan (20 μ l) de suero, se agrega el anticuerpo (turbiquant-apolipoproteína A-1), 500 μ l. La turbidez producida después de la mezcla se mide fotométricamente.

d) Determinación de Lipoproteínas en suero:

Se realizó empleando un ensayo de Behring (106).

c) Método Northern

I.- Separación del ARNm total:

- 1.- Homogeneizar de 20 - 100 mg de tejido hepático en 2 ml de solución A con un politrón.
- 2.- Se transfiere el homogenado a un tubo de vidrio corex de 15 ml.
- 3.- Se agrega la siguiente mezcla:
 - 0.2 ml de acetato de sodio 2M, pH 4.0.
 - 2.0 ml de fecol.
 - 0.4 ml de cloroformo.
- 4.- Agitar y enfriar en hielo durante 15 minutos.
- 5.- Centrifugar a 10,000 rpm por 20 min a 4°C.
- 6.- Obtener la fase acuosa y precipitar con 2.5 vol de etanol durante 30 - 60 min a -20°C. La mezcla debe contener una concentración final de NaCl 0.1 M.
- 7.- Centrifugar durante 20 min a 8,000 rpm a -10°C.
- 8.- Disolver la pastilla en 0.4 ml de solución A, transferirla a un tubo Eppendorf de 1.5 ml y extraer el ARN con un volu-

men igual de una solución del:1 de fecol-cloroformo.

9.- Precipitar la fase acuosa con 2.5 vol. de etanol NaCl 0.1 M final a -20°C por 30 - 60 min y centrifugar como se indica en el paso 7.

10.- Resuspendir la pastilla en el amortiguador Tris 10 mM-EDTA 1mM, pH 7.0.

11.- Determinar la D.O. 260/280 y correr la electroforesis.

II.- Electroforesis de ARN en geles de agarosa:

Preparación de la agarosa:

- Agarosa 1%.
- 0.8 g de agarosa.
- 60 ml de agua desionizada estéril.
- 6.64 ml MOPS 12X (concentración final 0.02M).
- 13.0 Formaldehído 37%.
- 4.0 ug Bromuro de etidio (10 mg/ml).

Disolver la agarosa en agua a 95°C hasta que este transparente la solución, agregar MOPS, formaldehído y bromuro de etidio vaciar en el molde del gel que tiene peine. Se deja solidificar durante 20 min.

III.- Preparación de la muestra:

- 1.- poner el volumen en donde estén contenidos 10 ug de ARN + 23 ul de solución desnaturante a baño maria a 60 °C durante 10 minutos.
- 2.- Sacar y colocar en hielo.
- 3.- Agregar 3 ul de solución de carga a cada muestra.
- 4.- Colocar la muestra en los pozos del gel una vez que se ha montado la cámara de electroforesis y que se ha

agregado el amortiguador de corrida.

- 5.- Se colocan las muestras en los pozos del gel (hasta un máximo de 35 ul) y se completa con amortiguador de corrida. Se conecta a los electrodos y se enciende la fuente de poder, saca el gel del molde y se lava varias veces con agua destilada.

IV.- Transferencia del ARN de los geles de agarosa a las membranas de nitrocelulosa (gene screen):

Etapa A.

- 1.- Eliminar el exceso de formaldehído enjuagando el gel varias veces en agua destilada varias veces en agua destilada.
- 2.- Equilibrar el gel incubándolo con 0.025 M de amortiguador de fosfatos, pH 6.5 durante 20 min. a temperatura ambiente con agitación suave.
- 3.- Cortar la membrana (Gene screen) a la medida exacta del gel).
- 4.- Humedecer la membrana en amortiguador de fosfatos 0.025 M, pH 6.5 durante 15 min antes de colocar en el gel.
- 5.- Humedecer 1-2 piezas de papel filtro #2 con amortiguador de fosfatos 0.025 M, pH 6.5 y colocarlos en el soporte de vidrio elevado de modo que los extremos del papel queden inmersos en el amortiguador.
- 6.- Colocar 4 piezas de papel filtro (de la misma medida del gel), sobre la membrana húmeda.

- 7.- Colocar toalla absorbentes (de la misma medida del gel) a una altura de 5.0 cm sobre el papel filtro.
- 8.- Permitir que continúe la transferencia durante 12 horas. El papel absorbente se cambia frecuentemente y se agrega amortiguador de fosfatos 0.025 M, pH 6.5 cuando sea necesario.

Etapa B

- 9.- Retirar la toallas y el papel filtro sin despegar la membrana.
- 10.- Retirar el gel y la membrana como una unidad.
- 11.- Marcar líneas de referencia con lápiz.
- 12.- Desprender el gel de la membrana para que se pueda lavar.
- 13.- Lavar cuidadosamente la membrana con amortiguador para eliminar el residuo de agarosa, ya que este puede interferir con la autoradiografía.
- 14.- Secar la membrana con papel suave y después a temperatura ambiente.
- 15.- Colocar la membrana que contiene el ARN a 80-100 °C durante 2-4 horas en un horno con vacío.

V.- Prehibridación e hibridación:

- 1.- Prehibridizar la membrana tratándola con la siguiente solución:

- Formamida (desionizada)	50%
- Polivinil pirrolidona (40 kDa)	0.0.4%
- Albúmina sérica bovina	0.04%
- Ficoll (400 kDa)	0.04%

- SSC 5X
- DSS 1%
- ADN esperma salmón desnat. 50 ug/ml

Colocar la membrana y la solución en una bolsa de plástico en donde se pueda poner en agitación constante 15 horas.

2.- Sacar la solución de prehibridización de la bolsa de plástico y colocar 10 ml de la siguiente solución:

- Fosfato de sodio, pH 6.8 50 mM
- Formamida desionizada 50%
- Polivinilpirrolidona, 40 kDa 0.02%
- Albúmina sérica bovina 0.002%
- Ficoll (400kDa) 0.02%

- SSC 5X
- DSS 1%
- ADN esperma de salmón desnat. 250 ug/ml
- ADNc radioactivo (desnat.)

Sellar la bolsa de plástico a incubar con agitación constante a 42°C durante 16-48 horas.

3.- Retirar la solución de hibridización y lavar la membrana de la siguiente manera:

- a) Lavar 2 veces con 100 ml de SSC 2X a temperatura ambiente durante 5 min. con agitación constante.
- b) Lavar 2 veces con 100 ml de una solución que contenga SSC 2X y DSS al 0.5% a 65°C durante 30 min con agitación constante.

4.- Secar la membrana y llevar a cabo la autoradiografía.

Solución SSC 20X:

- Citrato de sodio 0.3 M
- NaCl 3 M

VI.- Preparación del ADNc marcado con fósforo 32:

1.- Agregar a un tubo siliconizado de 1.5 ml

- 2 ul ADNc (200 ug/ml)
- 1 ul NaOH 0.5 N
- 2 ul agua desionizada estéril

Esperar 2-3 min y agregar los siguientes reactivos:

- 1 ul Tris-HCl 1M pH 7.0
- 1 ul ADN de timo de ternera (5 mg/ml)
- 2 ul Amortiguador de polimerasa 10X (Acetato de magnesio 17.5 mM más dCTP 0.5mM).
- 10 ul dCTP-32P
- 0.5 ul Enzimas ADN polimerasa I

2.- Incubar a 37 °C durante 9 min.

3.- Detener la reacción adicionando 50 ul de amortiguador A.

4.- Agregar 5 ul de ADN acarreador (5 mg/ml) mezclar bien.

5.- Precipitar el ADN con 2 volúmenes de etanol frío (155 ul) agitar bien .

6.- Mezclar el tubo y precipitar durante 30 min a -50 °C.

7.- Centrifugar a 10,000 rpm durante 15 min.

8.- Pasar el sobrenadante a otro tubo siliconizado;

escurrir la pastilla y disolverla en 200 ul de amortiguador pH 8.

Amortiguador A

- 0.02 M Tris.HCl pH 7.5
 - 10 mM EDTA pH 8.0
 - 0.15 M NaCl
 - 0.1 % DSS
- 9.- Colocar 2 μ l de la sonda marcada con un filtro de vidrio; lavarlo en un quitasato con filtro al vacío con HCl 5N y etanol (3 veces).
 - 10.- Colocar cada filtro en un vial que contenga 5 ml de líquido de centelleo y contar 32P durante 1 min.

VII.- Autoradiografía:

- 1.- Después del lavado, secar la membrana en una pieza de papel filtro y colocarla en una bolsa de plástico.
- 2.- En el cuarto oscuro colocar la membrana sobre la película dentro de un cassette Kodack X-Omat.
- 3.- Colocar a -70 °C durante 24 a 72 horas.
- 4.- Colocar la película en una solución de revelado durante 5 min. en cuarto oscuro.
- 5.- Lavar la película en una charola con agua durante 30 segundos a un minuto.
- 6.- Colocar la película en una solución fijadora de 3 a 5 min. agitando cada minuto.
- 7.- Colocar la película en agua durante 15-20 min primero en el cuarto oscuro y después en el laboratorio.
- 8.- Observar el gel con luz U.V. y tomar fotografía del mismo.

Amortiguador de Corrida:

- MOPS 12X 83.3 ml

- Aforar a 1000 ml con agua desionizada estéril.

Solución Neutralizante:

- Formamida 500 ml
- MOPS 12X 83 ul
- Formaldehído 162 ul

Solución de Carga:

- Azul de bromofenol
- Xileno de Cianol 0.25 %
- Ficoll 400 15 %

Solución A:

- 4 M Tiocianato de guanidina
- 25 mM Citrato de sodio, pH 7.0
- 0.5 % Sarcosyl
- 0.1 M 2 Mercaptoetanol

15.- Análisis estadístico:

Los resultados fueron expresados en promedios, desviación estándar y se representan en tablas y gráficas. Las diferencias entre los promedios de las variables se analizaron empleando la pruebas de t de Student para muestras pareadas y no pareadas, así como U de Mann-Whitney, se consideraron significativas las diferencias cuando el valor de p fue < 0.05 .

VI.- RESULTADOS

Durante el periodo comprendido entre octubre de 1990 y agosto de 1991, ingresaron a la Unidad de Gastroenterología del Hospital General de México en 177 pacientes con diagnóstico de LB

sintomática(representaron el 23.6% de los 750 pacientes ingresados a la Unidad en este periodo. En la tabla 6 se enlistan los diagnósticos por los cuales fueron excluidos de nuestro estudio 139 pacientes. De 38 pacientes restantes sin otra enfermedad concomitante, 25 cumplieron los criterios para ser incluidos en este protocolo. Durante el estudio de los 25 pacientes incluidos 13 presentaron VB excluida en la colecistografía oral, 5 (3 del grupo placebo y 2 del grupo AUDC) fueron eliminados debido a que el material biológico (bilis) de los mismos fue insuficiente para las determinaciones de interés. En este informe se presentan los resultados de 20 pacientes. Los datos demográficos se resumen en la tabla 7. Todos los pacientes fueron del sexo femenino. Su edad promedio fue de 43.6 +/- 14.4 años (rango de 23 - 64); por grupos, tanto la edad como el peso fueron similares. Todas las pacientes toleraron bien la dosis de AUDC, ninguna presentó efectos adversos al tratamiento y todas tuvieron un buen apego al tratamiento.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la composición química de la bilis (C,F, SB) en los pacientes de ambos grupos, (tabla 8). El TN en el grupo tratado con AUDC fue de 6.5 +/- 2.5 días, mientras que en el grupo que recibió placebo fue de 1.3 +/- 0.5 días, diferencia que fue estadísticamente significativa, $p < 0.001$, (figura 13).

Las concentraciones en suero de apo A-1 basales fueron similares en ambos grupos: AUDC y placebo (116.9.13 vs 126.9 +/- 29.07 mg/dl) respectivamente, incluso después del tratamiento (117.70 +/- 28.02 vs 115.6 +/- 25.37 mg/dl) ver tabla 9.

En relación a la concentraciones de los lípidos y lipoproteínas en suero, éstas fueron similares en condiciones basales. (tabla 10). Sin embargo, posteriormente al tratamiento se observó una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de triglicéridos, $p < 0.04$, ver tabla 11.

El gen de apo A-1 en tejido hepático se sobreexpresó (medido como el aumento en los niveles de ARNm) sólo en los pacientes que recibieron AUCD (figura 14) y no en los pacientes que recibieron placebo en los que no se presentó dicho fenómeno. Estos hallazgos, fueron corroborados en 6 de 9 pacientes que recibieron AUCD, en los cuales los niveles estacionarios del ARNm de apo A-1 fueron 6 veces mayores que en aquellos que recibieron placebo. Por otro lado, no se expresó el gen de apo A-1 en el fondo, cuerpo y cuello de la VB (figura 15).

VII.- DISCUSION

En este estudio se observó que el AUCD a la dosis (4 mg/kg/día) utilizada por un periodo relativamente corto (10-15 días) no modifica el ISC; estos resultados son contradictorios a los informados previamente (98) en donde se comunicó que la administración de AUCD, a dosis de 250 mg/día, durante un periodo de 7 - 10 días disminuyó el ISC. Sin embargo, el grupo de pacientes que recibieron AUCD en promedio presentó una mayor concentración de F y de SB, en comparación con el grupo que recibió placebo, aunque esta diferencia no fue significativa. Estos hallazgos, nos hacen suponer que el AUCD, sí modifica la composición química de la bilis al incrementar los niveles de F y SB. En este

estudio quizás, no se observaron diferencias debido a que la dosis administrada se calculó por kilogramo de peso corporal, por lo que en 3 de nuestros pacientes, la dosis total administrada por día fue menor de 250 mg, aunque Tazuma et al (99), utilizando dosis de 300 - 600 mg de AUCD durante 3 meses, no observaron cambios en el ISC. En nuestro estudio, nos llama la atención sin embargo, que a pesar de no haberse observado un cambio en el ISC, sí se observaron diferencias en el TN entre ambos grupos de pacientes, siendo mayor en el grupo de pacientes tratado con AUCD. Al respecto uno de los mecanismos que se han propuesto para que el AUCD disuelva los CBC, es a través de la formación de cristales líquidos, lo que impediría la cristalización del C (92). Este mecanismo pudiera explicar el incremento del TN en nuestros pacientes.

Otro de los hallazgos de interés en este estudio fue el hecho de que el AUCD, no incrementó la concentración en suero de apo A-1 y de HDL, contrario a lo informado previamente (99). En términos generales, se sabe que las apolipoproteínas del suero, desempeñan un papel importante en el metabolismo de los lípidos (107). También se ha propuesto que las apolipoproteínas (apo A-1, A-2 y B, las principales apolipoproteínas de HDL y LDL) son determinantes en la secreción del C biliar en la bilis, y que pueden estar involucradas en la patogenia de los CBC. Thornton et al (108), observaron una correlación inversa entre HDL e ISC, así como una correlación directa entre LDL e ISC en mujeres sanas de mediana edad, por lo que estos autores, sugieren que la principal fuente de C biliar son las LDL. En este estudio no se modifi-

caron las concentraciones de lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL) con la administración de AUCD y por lo tanto no se correlacionaron con el ISC. Marks et al (109), tampoco encontraron una correlación entre los niveles de HDL y los de LDL y el ISC en 189 pacientes sometidos a tratamiento médico en el Grupo Nacional Cooperativo para el estudio de los cálculos biliares de los Estados Unidos de Norteamérica. Más recientemente, Malavolti et al (110) han informado que la administración de AUCD, a dosis de 9 mg/kg/día durante un período de 3 semanas incrementan las concentraciones de HDL, pero no las de apo A-1.

En relación a los lípidos en suero, no se observaron cambios en la concentración de C. En este sentido, en la literatura internacional existen resultados contradictorios. Así por ejemplo (Allesandrini et al (111), Nakagawa, et al (112), Podda et al (113), Salvioli et al (114), refieren que no han observado cambios en la concentración del C en suero en aquellos pacientes con litiasis vesicular, que son sometidos a tratamiento médico con AUCD. Sin embargo, un estudio realizado en Japón en pacientes con hiperlipidemia mostró una reducción en la concentración en suero de este lípido (115). Mientras que Angelin et al (96), en un estudio realizado en pacientes con litiasis vesicular, a quienes les administraron AUCD a dosis de 15 mg/kg/día, durante 4 semanas, observaron una disminución en la concentración de C.

Otro de los lípidos determinado en este estudio fueron los triglicéridos, los cuales no se modificaron con la administración de AUCD, aunque su concentración fue mayor en el grupo tratado que en el grupo placebo, siendo esta diferencia estadísticamente

significativa. Pero la información disponible señala que con dosis de 15 mg/kg, existe un aumento moderado de aproximadamente 10% (116). En nuestra opinión, es posible que las diferencias entre nuestros resultados y los de otros investigadores, obedezcan al tiempo y dosis de AUDC empleados.

Uno de los hallazgos de mayor relevancia en nuestro trabajo, fue la inducción de la expresión del gen de apo A-1 con AUCD en el tejido hepático. Este estudio, es el primero en describir este fenómeno. Staels et al (117), han informado que los estrógenos inducen la expresión del gen del apo A-1 en el hígado e intestino de la rata. Este mismo grupo de investigadores sin embargo, no observó un incremento en la concentración en suero de apo A-1. En nuestro estudio, tampoco observamos un incremento en las concentraciones en suero de apo A-1 en los pacientes que recibieron AUCD, como lo habíamos puntualizado en un análisis preliminar. Es probable que el ARNm de apo A-1 que se está sintetizando no se está traduciendo completamente o bien que no todo sea activo. Sin embargo, no en todos los pacientes que recibieron AUCD, se observó la sobreexpresión del ARNm de apo A-1, siendo posible que esto refleje la existencia de dos tipos de pacientes, es decir los respondedores y los no respondedores. De hecho, clínicamente se han descrito estos dos grupos de pacientes: : 1) aquellos pacientes, en los cuales se puede lograr la disolución de sus CB y 2) pacientes que no responden al tratamiento con AUCD a pesar de reunir los criterios para ser sometidos a tratamiento médico con AUCD (118).

Ahora bien, es probable que el aumento de los niveles

estacionarios de apo A-1 hayan influido sobre la prolongación del TN, en los pacientes que recibieron AUDC. La explicación de estos hallazgos sin embargo no es fácil, ya que no se conoce con exactitud la función de las apolipoproteínas en la bilis no se conoce con exactitud. Swell et al (119) han sugerido que las apolipoproteínas de la bilis derivan de lipoproteínas de plasma y que su paso a la bilis, es a través de un mecanismo de transporte vesicular. En el presente trabajo, no observamos una expresión del ARNm de apo A-1 en la VB (cuello, cuerpo y fondo), lo que apoya, lo propuesto por Swell y sus colegas (119), es decir, la posibilidad de que las apolipoproteínas presentes en la bilis, particularmente la apo A-1, derive del hígado, ya que la VB no es un órgano de síntesis de esta proteína.

Para explicar la actividad de las apolipoproteínas en la bilis se han postulado dos hipótesis. La primera propone que las apolipoproteínas en la bilis representan solo material de desecho de los lisosomas de los hepatocitos y por lo tanto no tienen ninguna función específica en la misma (120). La segunda hipótesis plantea la posibilidad de que las apolipoproteínas biliares, desempeñen un papel importante en el transporte, secreción y solubilización de C y F biliares (121,122). De ser cierta esta segunda hipótesis, esto explicaría en parte la prolongación del TN en los pacientes que recibieron AUDC. El mecanismo probable mediante el cual la apo A-1 ejerció este efecto quizás sea: 1) solubilizando una mayor cantidad de C biliar, 2) incrementando y estabilizando las micelas en las que se encuentra incorporado el C en la bilis y, 3) inhibiendo o prolongando la transición de

micela a vesícula unilamelar. Del que se sabe que al agregarse da como resultado la formación de liposomas que son finalmente los que dan paso a la nucleación (123).

Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que las apolipoproteínas en la bilis, desempeñan el mismo papel que las lipoproteínas en el plasma, es decir, que solubilizan los lípidos. Asimismo, sugieren la posibilidad de poder prevenir la recurrencia de litiasis con AUDC, en los pacientes tratados con procedimientos no quirúrgicos, como los de solventes orales, orgánicos o litotripsia con ondas de choque extracorpóreas y de poder hacer profilaxis en aquellos sujetos que cursen con algún factor o factores de riesgo para el desarrollo de CBC, incrementando los factores antinucleantes como la apo A-1.

En conclusión, la administración de AUDC a dosis de 4 mg/kg/día por vía oral, durante un período de 10 - 15 días, ejerce un cambio en la composición química de la bilis, sin que éste sea significativo, prolonga el TM del C en la bilis, incrementa la concentración de los triglicéridos en suero, sin modificar la concentración de lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL) e induce la expresión del gen de apo A-1 en tejido hepático, pero no en el de la VB en pacientes con CBC.

IX.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Mack E. Role surgey in man of gallstones. *Scand Liv Dis* 1990;222-231.
- 2.- Méndez N, Uribe M, Ponciano G, Jessurun J. Prevalence of gallstones in Mexican population is similar to Western Countries (Abstract) *Gastroenterology* 1989;96:629.
- 3.- Méndez N, Uribe M, Ponciano G, Alonso P, Jessurun J. Litiasis biliar, su prevalencia en el Hospital General de México y su impacto económico en el país. (Resumen) *Rev Gastroenterol Méx* 1987;52:301.
- 4.- Méndez SN, Uribe M, Jessurun J, Cervera E, Bosques F. Características de la litiasis biliar en México. *Rev Invest Clin* 1990;42:48s-52s.
- 5.- Kalser MH, Schoeltnfield LJ, Marks JW, Tompkins RK. Cholelithiasis. In *Gastroenterology* Bockus. Berk JE Ed. Four Edition, Sander Company Philadelphia PA, 1987, Chapter 189.
- 6.- Roda E, Morselli AM, Sama C, Festi D, Barbara L. Epidemiology of gallstone disease. In *Biliary Lithotripsy*. Ferruci JT, Dolius M and Burhenc HT, Eds. Publisher Inc. Chicago, 1989; 121-138.
- 7.- Newman HF, Northup JD. The autopsy incidence of gallstone. *Int Abs Surg* 1959;109:1-13.
- 8.- Heaton KW. The epidemiology of gallstones and suggested aetiology. *Clin Gastroenterol* 1973;2:67-83.
- 9.- Malhotra SL. Epidemiological study of cholelithiasis among railroad workers in India with special reference to causation. *Gut* 1968;84:37-45.
- 10.- Zahor Z, Sternby NH, Kagan A, Vernura K, Venecek R, Virchet AM. Frequency of cholelithiasis in Prague and Malmö. An autopsy study. *Scand J Gastroenterol* 1974; 9:3-7.

- 11.- Layde PM, Veisey MP, Yates D. Risk factors for gallbladder disease: A cohort study of young women attending family planning clinics. *J Epidemiol Commun Health* 1982;36:274-278.
- 12.- Diehl AK, Stern MP, Ostrower VS, Friedman PC. Prevalence of clinical gallbladder disease in Mexican American, Anglo and black women. *South Med J* 1980;73: 224-257.
- 13.- M6ndez N, Jessurun J, Uribe N, Foncino G, Bosques F. Socioeconomic status and gallstone disease. A pilot study in Mexican Population. Second Meeting on the Patochemistry, Pathophysiology and Biliary System. Bologna, Italy, March 19-21,1990.
- 14.- Yaudkin J: Sugar and disease. *Nature* 1972;239:197.
- 15.- Broomfield PH, Chopra R, Sheimbaum R, et al. Effects of ursodeoxycholic acid and aspirin on the formation of lithogenic bile and gallstone during loss of weight. *N Engl J Med* 1988;319:1567-1572.
- 16.- Lagarriga AJ, Rojas BA. Efectos de la dieta contempor6nea en la composici6n de la bilis y en la formaci6n de c6lculos de colesterol. *Rev. Clin Esp.* 1973;131:87-94.
- 17.- Anderson JW, Linchen OW Plant fiber, carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:346-363.
- 18.- Osuga T, Portman OW. Experimental formation of gallstones in the squirrel monkey. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971;136:722.
- 9.- Cranston D, McWhinnie D, Collin J. Dietary fibre and gastrointestinal disease. *Br J surg* 1988;75:508-512.
- 20.- Kritchevsky D. Dietary fiber. *Ann Rev Nutr* 1988;75: 508-512.

- 21.- Pixley FJ, Wilson DJ, McPherson K, et al. Effect of vegetarianism on the development of gallstones in women. *Br Med J* 1985;291:11-12.
- 22.- Hervi F, Covarrubias C, Bravo P, et al. Influence of legume intake on biliary lipids and cholesterol saturations in young Chilean men. *Gastroenterology* 1989;96:825-830.
- 23.- Bourges H. Panorama alimentario de México. Cuadernos de Nutrición 1981;5:18-32.
- 24.- Friedman GD, Kamel WB, Dawber TR. The epidemiology of gallbladder disease. Observation in the Framingham Study. *J Chron Dis* 1966;19:273-292.
- 25.- Thistle JL, Schoenfield LJ. Lithogenic bile among young Indian women: lithogenic potential decreased with chenodeoxycholic acid. *N Engl J Med* 1971;284:177-181.
- 26.- Tyroler HA, Glueck JCH, Christensen B, et al. Plasma high-density lipoprotein cholesterol comparisons in black and white population. *Circulation* 1980;62:99-107.
- 27.- Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Rosenthal M, Knap JA. The role of behavioral variables and fat patterning in explaining ethnic differences in lipids and lipoproteins. *Am J Epidemiol* 1986;123:830-839.
- 28.- Hanis LG, Ferrell ER, Tulloch RB, Schull JW. Gallbladder disease epidemiology in Mexican Americans in Starr County, Texas. *Am J Epidemiol* 1985;122:820-829.
- 29.- Danion T, Tossou H, Delamarre J, et al. Racial differences in gallbladder motor function. *Lancet* 1989;1:724-725.
- 30.- Tanno N, Koizumi M, Goto Y. The relationship between cholelithiasis and diabetes mellitus: Discussion of age, obesity, hiperlipidemia and neuropathy. *Tohoku J Exp med* 1988;154:11-20.

- 31.- Feldman M, Feldman M.Jr. Incidence of cholelithiasis, cholesterolosis and liver disease in diabetes mellitus: autopsy study. *Diabetes* 1954;23: 305-312.
- 32.- Onodera H, Sugawara H, Hirata T, et al. Diurnal profile of gallbladder size in diabetic patients: Ultrasonographic evaluation of diabetic neurogenic gallbladder. *Tohoku J Exp Med* 1983;139:179-186.
- 33.- LoRusso D, Misciagna G, Noviello MR, et al. Cholelithiasis after Billroth II gastric resection. *Surgery* 1988;103:579-583.
- 34.- Bennion LJ, Grundy SM. Risk factors for the development of cholelithiasis in man. *N Engl J Med* 1978;299:1221-1227.
- 35.- Kakar F, Weiss NS, Strite SA. Non-contraceptive estrogen use and the risk of gallstone disease in women. *Am J Pub Helath* 1989;78:564-566.
- 36.- Murand F, Haynes RC. Estrógenos y progestágenos. En: *Las Fases Farmacológicas de la Terapéutica*, Goodman GA, Goodman SL, Rall TW and Murrad Eds. 7Th Ed. Panamericana, México 1986;1340-1365.
- 37.- Bateson MC. Oral contraceptives and Gallstones. *Lancet* 1988;14: 1115-1116.
- 38.- Méndez SN, Uribe M, Ponciano G, et al. Clinical and physical properties of human gallstones in Mexico. *HepatoL Rapid Lit Rev* 1989;7:2786.
- 39.- Donovan JM, Carey MC. Separation and quantitation of cholesterol "carriers" in bile. *Hepatology* 1990;12: 94s-105s.
- 40.- Hofmann AF: Bile acids. In Arias IM, Jakoby WB, Popper H, et al. (Eds). *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York, Raven Press, 1988, pp 553-572.
- 41.- Hofmann AF. Bile acid secretion, bile flow and biliary lipid secretion in humans. *Hepatology* 1990;12: 17s-25s.

- 42.- Carey MC, Small DM. The physical chemistry of cholesterol solubility in bile: relationship to gallstones formation and dissolution in man. *J Clin Invest* 1978;61:998-1026.
- 43.- Mazer HA, Schurtenberger P, Carey MC, Preisig R, Weigand K, Kanning W. Quasi-elastic light scattering of sodium taurocholate bile from the dog: comparison with aggregative behavior of model biliary lipid systems. *Biochemistry* 1984;23:1994-2005.
- 44.- Somjen GJ, Gilat T. A non-micellar mode of cholesterol transport in human bile. *FEBS Lett* 1983;156:265-268.
- 45.- Ulloa N, Garrido J, Nervi F. Ultracentrifugal isolation of vesicular carriers of biliary cholesterol in native human bile. *J Lipid Res* 1985;26:69.
- 46.- McLean LR, Phillips MC. Cholesterol desorption from clusters of phosphatidylcholine and cholesterol in unilamellar vesicle bilayers during lipid transfer or exchange. *Biochemistry* 1982;21: 4053-4059.
- 47.- Méndez SN, Uribe M, Jessurun J, Uscanga L. Patogenia de los cálculos biliares de colesterol. *Rev Invest Clin* 1990;42:53s-57s.
- 48.- Alanís OA, Uscanga DL, Wolpert E. Litiasis Biliar en Mexico. Composición química de la bilis en personas normales y en enfermos con cálculos biliares de colesterol. *Rev Invest Clin* 1978;41-48.
- 49.- Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science (Wash.,DC)* 1986;232: 34-47.
- 50.- 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, pp 617-641.
- 51.- 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, pp 573-616.

- 52.- Carey MC. Formation of cholesterol gallstones: The new paradigm. In: Paumgartner G, Stiehl A, Gerok W (Eds): Trends in Bile Acid research. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1989, pp 249-281.
- 53.- Hay DW, Carey MC. Pathophysiology and pathogenesis of cholesterol gallstone formation. Semin Liver Dis 1986;10:156-165.
- 54.- Holan KR, Holzbach RT, Hermann RE, Cooperman AM, Claffey WJ. Nucleation time: a key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. Gastroenterology 1979;77: 611-617.
- 55.- Holzbach RT. Factors influencing cholesterol nucleation in bile. Hepatology 1984;4:173s-176s.
- 56.- Smith BF, LaMont JT. Hydrophobic binding properties of bovine gallbladder mucin. J Biol Chem 1984;259:12170-12177.
- 57.- Lee SP, LaMont JT, Carey MC. The role of gallbladder mucus hypersecretion in the evolution of cholesterol gallstones: studies in prairie dogs. J Clin Invest 1981;67:1712-1723.
- 58.- Lee SP, Carey, LaMont JT. Aspirin prevention of cholesterol gallstone formation in prairie dogs. Science 1981; 211:1429-1432.
- 59.- Méndez N, Amezcua JL, Lagarriga AJ. Prevención de la coledoclitiasis experimental en el hamster con inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (Resumen). Rev Gastroenterol Méx 1983;43:269.
- 60.- LaMorte WW, Booker MI, Scott TE, et al. Increases in gallbladder prostaglandins synthesis before the formation of cholesterol gallstones. Surgery 1982;98:445-451.
- 61.- Levy PF, Smith BF, LaMont JT. Human gallbladder mucin accelerates *in vitro* nucleation of cholesterol in artificial bile. Gastroenterology 1984;87:270-295.

- 62.- Smith BF. Gallbladder mucin as a pronucleating for cholesterol monohydrate crystals in bile. Hepatology 1990;12:183s-188s.
- 63.- Burnstein MJ, Ilson RG, Petrunka CN, Taylor RD, Strasberg SM. Evidence for a potent nucleating factor in the gallbladder bile of patients with cholesterol gallstones. Gastroenterology 1983;85:801-807.
- 64.- Gallinger S, Taylor RD, Harvey PRC, Petrunka CN, Strasberg SM. Effect of mucous glycoprotein on nucleation time of human bile. Gastroenterology 1985;89:648-
- 65.- Gallinger S, Harvey PRC, Petrunka CN, Ilson RG, Strasberg SM. Biliary proteins and the nucleation defect in cholesterol cholelithiasis. Gastroenterology 1987;92:867-875.
- 66.- Croen AK, Stout JFJ, Noordam C, Hoek JF, Jansen PLM and Tytgat GNJ. Cholesterol influencing activity of T-tube bile. Hepatology 1987;8:347-352.
- 67.- Magnuson TH, Zarkin BA, D'Souza MP, Lillencoe KD, Pitt HA. Differences in human biliary glycoproteins affect nucleation time [Abstract]. Gastroenterology 1989;96:A626.
- 68.- Méndez-Sánchez N, Uribe M. Mucolytic agents and cholesterol gallstones. Gastroenterology 1991;100:581-585.
- 69.- Lichtenberg D, Ragimova S, Bor A, et al: Stability of Mixed micellar systems made by solubilizing phosphatidyl-cholinecholesterol vesicles by bile salts. Hepatology 1990;3:149s-154s.
- 70.- McIvercutt WD. Effect of calcium, magnesium and sodium ions on *in vitro* nucleation of human gallbladder bile. Gut 1989;30:665-670.
- 71.- 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.

- 72.- Breslow JL, Ross D, McPherson J. Isolation and characterization of cDNA clones for human apolipoprotein A-1. *Proc Natl Acad Sci* 1982;79:6861-6865.
- 73.- Swoboda W, Wenz H, Janowitz P, et al. Total protein, mucus glycoprotein, cyclic-AMP, and apolipoproteins in gallbladder bile of patients with cholesterol stones and stone-free controls. *Scan J Gastroenterol* 1991;26:771-778.
- 74.- Meckel von Hemsbach JH: *Mikrogeologie. Über die Concremente im thierischen Organismus Nach des Verfassers. Tode heraus gegeben und bevorwortet von Dr Theodor Billroth.* Berlin, Reimer, 1886.
- 75.- Forgacs JC. Pathogenesis of cholesterol gallstone disease. The motility defect. In Northfield T, Jazrawi R, Zentler-Munro P (Eds). *Bile Acids in Health and disease.* Dordrecht Kluwer Academic Publishers, 1988, 135-153.
- 76.- Fridhandler TM, Davison JS, Shaffer EA. Defective gallbladder contractility in the ground squirrel and prairie dog during the early stages of cholesterol gallstone formation. *Gastroenterology* 1983;85:830-836.
- 77.- Doty JE, Pitt HA, Kuchenbecker SL, DenBesten L. Impaired gallbladder emptying before gallstone formation in the prairie dog. *Gastroenterology*, 1983;85:168-174.
- 78.- Pelligrini CA, Ryan T, Broderick W, Way LW. Gallbladder filling and emptying during cholesterol gallstone formation in the prairie dog. *Gastroenterology* 1986;90:143-149.
- 79.- Li YF, 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* 1987;92:746-750.
- 80.- Chapman WC, Peterkin GA III, LaMorte WW, Williams LF Jr. Alterations in biliary motility correlate with increased gallbladder prostaglandin synthesis in early cholelithiasis in prairie dog. *Dig Dis & Sci* 1989;34:1420-1424.

- 81.- Fisher RS, Stelzaer F, Rock E, Malmund LS. Abnormal gallbladder emptying in patient with gallstones. *Dig Dis & Sci* 1982;27:1019-1024.
- 82.- Pomeranz IS, Shafer EA. Abnormal gallbladder emptying in a subgroup of patients with gallstones. *Gastroenterology* 1985;88:787-791.
- 83.- Forgacs IC, Maisey Mn, Murphy GM, Dowling RH. Influence of gallstones and ursodeoxycholic acid therapy on gallbladder emptying. *Gastroenterology* 1984;87:299-304.
- 84.- 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.
- 85.- Spengler U, Sackmann M, Saurbruch T, et al. Gallbladder motility before and after extracorporeal shock-wave lithotripsy. *Gastroenterology* 1989;96:1479-1484.
- 86.- Stone BG, Cavalier JS, Belle SH, et al. Impairment of gallbladder emptying in diabetes mellitus. *Gastroenterology* 1988;95:170-176.
- 87.- Schoenfield IJ, Carulli N, Dowling RH, Sama C, Wolpers C. Asymptomatic gallstones: Definition and treatment. *Gastroenterol Inter* 1989;2:25-29.
- 88.- Hofmann AF. Medical treatment of cholesterol gallstone by bile desaturating agents. *Hepatology* 1984;4:199s-208s.
- 89.- Lachin JM, Schoenfield LJ. For the National Cooperative Gallstone Study Group. Effects of dose relative to body weight in the National Cooperative Gallstone Study, a fixed trial controlled. *Clin Trials* 1983;4:125-131.
- 90.- Roda E, Bazzoli F, Morselli PM, et al. Ursodeoxycholic acid as cholesterol gallstone-dissolving agents. A comparative randomized study. *Hepatology* 1982;2:804-810.
- 91.- Podda M, Bazzoli F, Morselli PM, et al. Efficacy and safety of a combination of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid for gallstone dissolution. A comparison with ursodeoxycholic acid alone. *Gastroenterology* 1989;96:222-229.

- 92.- Igimi H, Asakawa S, Watanabe D, Simura H. Liquid crystals formation in ursoxycholate rich human gallbladder bile. *Gastroenterol Jpn* 1983;18:93-97.
- 93.- Bonet M, Fabiani F, Valladolid JM, Blanca F, Herreras JM. Formación de cristales de colesterol líquidos en el mecanismo de disolución del ácido ursodesoxicólico en la litiasis biliar. *Gastroenterol Hepatol* 1987;10:448-452.
- 94.- Corrigan OI, Su CC, Higuchi WI, Hofmann AF. Mesofase formation during cholesterol dissolution in ursodeoxycholate lecithin solution: a new mechanism for gallstone dissolution. *J Pharm Sci* 1980;69:869-870.
- 95.- ODonell LDL and Heaton KW. Recurrence and rerecurrence of gallstone after medical dissolution a long term follow-up. *Gut* 1988;29:655-658.
- 96.- Sackman M, Ippisch E, Saurbruch T, Holl J, Brendel W, Paumgartner G. Early gallstone recurrence rate after successful shock-wave therapy. *Gastroenterology* 1990;98:392-396.
- 97.- Angelin B, Nilsson K, Einarsson K. Ursodeoxycholic acid treatment in humans: effects on plasma and biliary lipids metabolism with special reference to very low density lipoprotein triglyceride and bile acid kinetics. *Eur J Clin Invest* 1986;16:169-177.
- 98.- Jungst D, Brenner G, Pratschke E, Paumgartner G. Low dose ursodeoxycholic acid prolongs cholesterol nucleation time in gallbladder bile patients with cholesterol gallstones. *J Hepatol* 1989;8:1-6.
- 99.- Tazuma S, Sasaki H, Mizuno S, Sagawa H, Hashiba S, Horiuchi I, Kejiyama G. Effect of ursodeoxycholic acid administration on nucleation time in human gallbladder bile. *Gastroenterology* 1989;97:173-178.
- 100.- Thomas PS. Hybridization of denatured RNA and small DNA fragments transferred to nitrocellulose. *Proc Natl Acad Sci* 1980;77:5201-5205.

- 101.-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.
- 102.-Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem.* 1925,66:375-400.
- 103.-Tallal P. Enzymatic analysis of steroid hormones. *Biochem Anal* 1960,8:119-143.
- 104.-Thomas PJ, Hofmann AF. A simple calculation of the lithogenic index of bile: expressing biliary lipid composition on rectangular coordinates. *Gastroenterology* 1973;65:698-700.
- 105.-Kladetzky R. Lipoprotein and Apolipoprotein values in coronary angiography patients. *Artery* 1980;7:191-205.
- 106.-Assmann G. International lipid symposium. Vienna, Austria, Witzstrock Verlag, Baden-Baden, 1979.
- 107.-Tall AR, Small DM. Body cholesterol removal: role of plasma high density lipoproteins. *Adv Lipid Res* 1988;17:1-51.
- 108.-Thornton JR, Heaton KW, MacFarland DG. A relation between high-density-lipoprotein cholesterol and bile cholesterol saturation. *Br Med J.* 1981;1:1352-1354.
- 109.-Marks JW, Cleary PA, Albers JJ. Lack of correlation between serum lipoproteins and biliary cholesterol saturation in patients with gallstones. *Dig Dis & Sci* 1984;29:1118-1122.
- 110.-Malavolti M, Morselli AM, Sama C, Rusticali AG, Talarico R, Venturoli R, Barbara L. Ursodeoxycholic acid (UDCA) administration increases the HDL/LDL cholesterol ratio in the hypercholesterolemic man (Abstract). *Hepatology* 1991;14:256.
- 111.-Alesandrini A, Ripoli F, Boscalini M, et al. A multicentre clinical trial on ursodeoxycholic acid: Effect of different doses upon cholesterol gallstones dissolution. *Ital J Gastroenterol* 1980;12:185-188.

- 112.-Hakawaga S, Makino I, Ishizaki T, Dohi I. Dissolution of cholesterol gallstones by ursodeoxycholic acid. *Lancet* 1977;2:367-369.
- 113.-Podda M, Zuin M, Carulli N, et al. Gallstone dissolution after 6 months of ursodeoxycholic acid (UDCA): Effectiveness of different doses. *J Inter Med Res* 1982a;10:59-63.
- 114.-Salvioli G, Salati R, Lugli R, Fratolocchi A. litholysis and changes in bile and plasma lipid composition in cholesterol gallstones patients treated with ursodeoxycholic acid. *Gaz Med Intal* 1977;36:517-530.
- 115.-Ohtani R. Efficacy of urosan tablets against HDL-cholesterol. *Med Cons & New Rem* 1980;17:877-881.
- 116.-Ward A, Brogden RN, Heel RC, Speight TM, Avery GS. Ursodeoxycholic acid. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1984;27:95-131.
- 117.-Staels B, Auwerx J, Chan L, Van Tol A, Rosseneu M, Verhoeven G. Influence of development, estrogens, and food intake on apolipoprotein A-I, A-II, and E mRNA in rat liver and intestine. *J Lipid Res* 1989;30:1137-1145.
- 118.-Bachrach WH, Hofmann AF. Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholesterol cholelithiasis. *Dig Dis Sci* 1982; 27:833-856.
- 119.-Swell RD, Mao SJ, Kawamoto T, LaRusso NF. Apolipoproteins of high, low, and very low density lipoproteins in human bile. *J Lipid Res* 1983;24:391-401.
- 120.-Thomas P, Toth CA, Zamcheck N. The mechanism of excretion of alpha-1-glycoprotein in the rat. *Gastroenterology* 1981;80: 1302.
- 121.-Schwartz CC, Halloran LG, Vlahcevic ZR, Gregory DH, Swell L. Preferential utilization of free cholesterol from high density lipoproteins for biliary cholesterol excretion in man. *Science* 1978;200:62-64.

122.-Portman OW, Alexander M, O'Malley JP. Metabolism of free and esterified cholesterol and apolipoproteins of plasma low-and high-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1980;619:545-548.

123.-Holzabach RT, Busch N. Nucleation and growth of cholesterol crystals. *Gastroenterol Clin North Am* 1991;20:67-84.

ANEXO 1

TITULO DEL PROYECTO: EFECTO DE LOS ACIDOS BILIARES TERCIARIOS SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA, TIEMPO DE NUCLEACION DE LA BILIS Y CONCENTRACIONES DE APOLIPOPROTEINA A-1 EN SUERO Y EN TEJIDO HEPATICO EN PACIENTES CON CALCULOS BILIARES DE COLESTEROL.

Historia Clínica

Ficha de Identificación:

Nombre:

Sexo: M ___ F ___ Estado Civil: C ___ S ___ Escolaridad:

Ocupación:

Lugar de residencia:

Dirección y teléfono:

Antecedentes Heredofamiliares:

Litiasis Biliar: Si ___ No ___

Diabetes Mellitus: Si ___ No ___

Hiperlipidemias: Si ___ No ___ Tipo:

Antecedentes Personales no Patológicos:

Tabaquismo: Si ___ No ___

Alcoholismo: Si ___ No ___

Antecedentes Gineco-Obstetricos:

Gestas ___ Paras ___

Anticonceptivos: Tipo _____ Tiempo _____

Padecimiento Actual:

Síntomas principales:

Tiempo de evolución:

Exploración Física:

Índice de Masa Corporal (IMC):

ANEXO III

TITULO DEL PROYECTO: EFECTO DE LOS ACIDOS BILIARES TERCIARIOS SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA, TIEMPO DE NUCLEACION DE LA BILIS Y CONCENTRACIONES DE APOLIPOPROTEINA A-1 EN SUERO Y EN TEJIDO DE HEPATICO EN PACIENTES CON CALCULOS BILIARES DE COLESTEROL.

Efectos adversos

Nombre del Paciente:

Número de Código:

Fecha:

Descripción del los efectos:	Intensidad	Duración
------------------------------	------------	----------

Día: 1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

Nombre y Firma del Investigador

ANEXO IV
TITULO DEL PROYECTO: EFECTO DE LOS ACIDOS BILIARES TERCARIOS
SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA, TIEMPO DE NUCLEACION DE LA BILIS Y
CONCENTRACIONES DE APOLIPOPROTEINA A-1 EN SUERO Y EN TEJIDO
HEPATICO EN PACIENTES CON CALCULOS BILIARES DE COLESTEROL.

Forma de Participación Voluntaria al Proyecto:

A QUIEN CORRESPONDA:

Declaro libre y voluntariamente que mi nombre es _____
_____ y que acepto
participar en el proyecto de investigación clínica que se reali-
zará en _____
cuyos objetivos son _____

Se me ha informado que de esta investigación se espera obtener el
siguiente beneficio _____

Entiendo que estaré sometido a los siguientes procedimientos _____

Se me ha informado explícitamente que soy libre de retirarme del
estudio en el momento en que así lo decida, y estoy consciente que
puedo solicitar mayor información acerca del presente estudio si
así lo deseo. Además de mi persona, firma como testigo _____

Datos del Paciente

Datos del Testigo

Dirección: _____

Nombre _____

Teléfono _____

Firma _____

PREVALENCIA DE LITIASIS BILIAR INFORMADA EN DIFERENTES PAISES

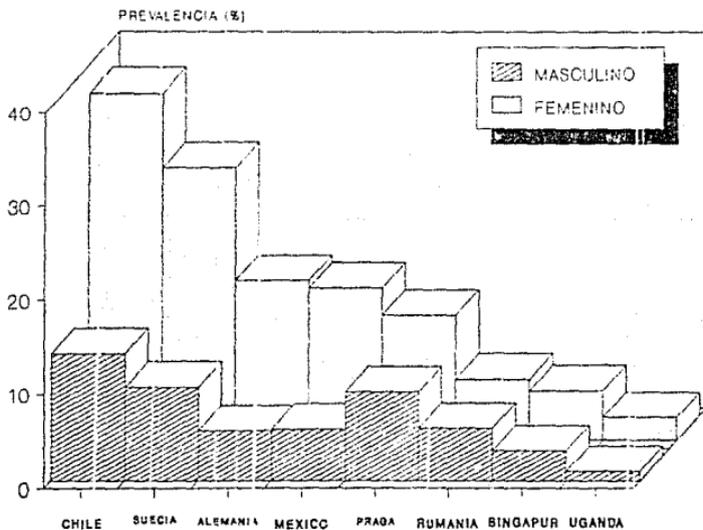


Figura 1 Estudios realizados en material de autopsia.

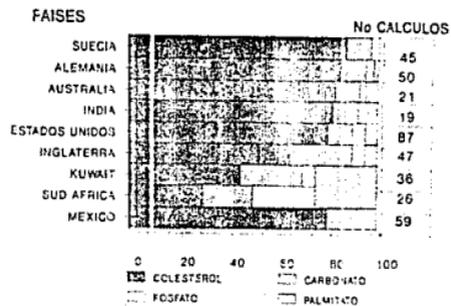
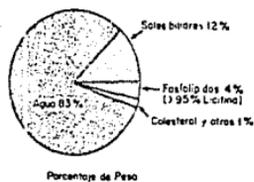


Figura 2: Composición química de los cálculos biliares en diversos países del mundo. En México, al igual que otros países el colesterol es el principal constituyente.

BILIS: SOLUCION ACUOSA



COMPOSICION DE SOLUTOS

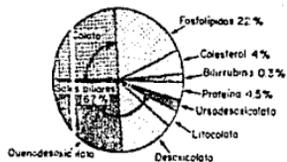


Figura 3: Composición química de la bilis de acuerdo al porcentaje de peso (a) y de solutos (b).

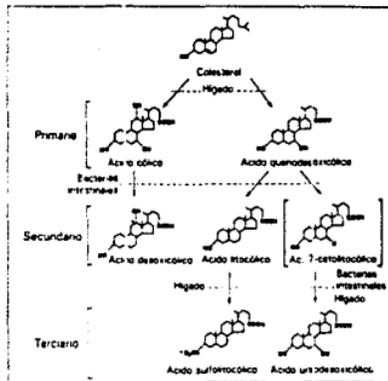


Figura 4: Acidos Biliares (AB) de la bilis humana. Los AB primarios se sintetizan a partir del coles- terol en el higado. Las modificaciones que sufren en el intestino por parte de las bacte- rias dan lugar a los AB secundarios o tercia- rios.

ACARREADORES DE LIPIDOS BILIARES

AGREGADOS DE LIPIDOS	COMPOSICION	DIAMETRO	TERMOESTABILIDAD
MICELAS SIMPLES	SB+ C	30 A	+
MICELAS MIXTAS	SB+C+L	40 - 80 A	•
VEVICULAS UNILAMELARES	L + C	500-1000 A	-

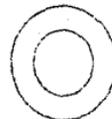


Figura 5: Representación esquemática de las moléculas que transportan lípidos en la bilis.

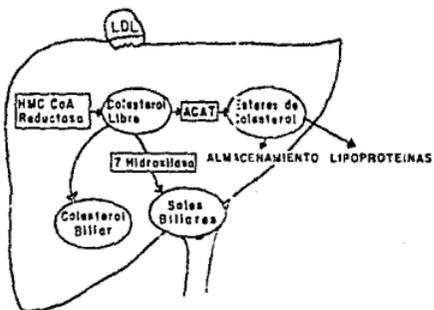


Figura 6: Regulación intracelular del flujo de colesterol hepático (ver texto).

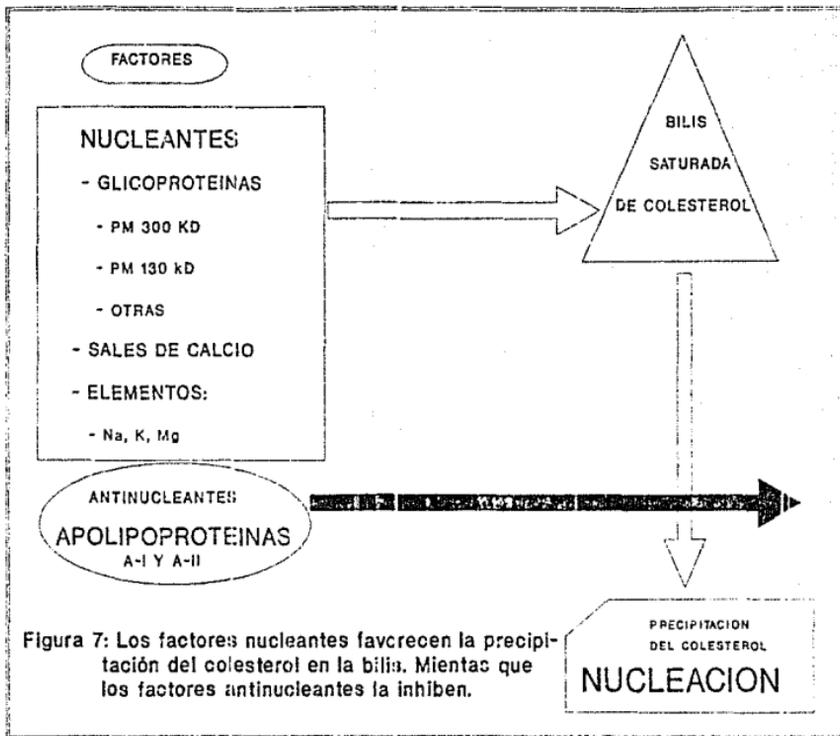


Figura 7: Los factores nucleantes favorecen la precipitación del colesterol en la bilis. Mientras que los factores antinucleantes la inhiben.

NUCLEACION



FUSION DE VESICULAS UNILAMELARES



VESICULAS MULTILAMELARES
(POLISOMAS)



CRISTALES DE COLESTEROL
MONOHIDRATAO



CALCULO DE COLESTEROL

Figura 8: La nucleación en uno de los eventos más importantes en la patogenia de los cálculos biliares.

PATOGENIA DE LOS CALCULOS DE COLESTEROL

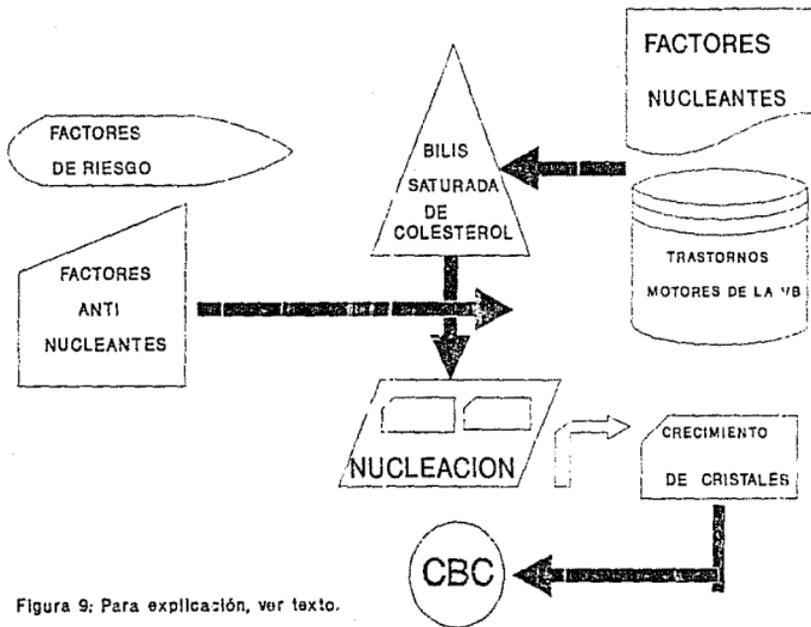


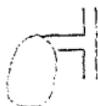
Figura 9: Para explicación, ver texto.

HISTORIA NATURAL DE LA LITIASIS BILIAR

VESICULA BILIAR

NORMAL

ESTADIO I



BILIS SATURADA
DE COLESTEROL

ESTADIO II



CALCULO
ASINTOMATICO

ESTADIO III



CALCULO
SINTOMATICO

ESTADIO IV



COMPLICACIONES

Figura 10: Historia natural de la litiasis biliar desde el punto de vista clinico.

LINEAMIENTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA LITIASIS VESICULAR

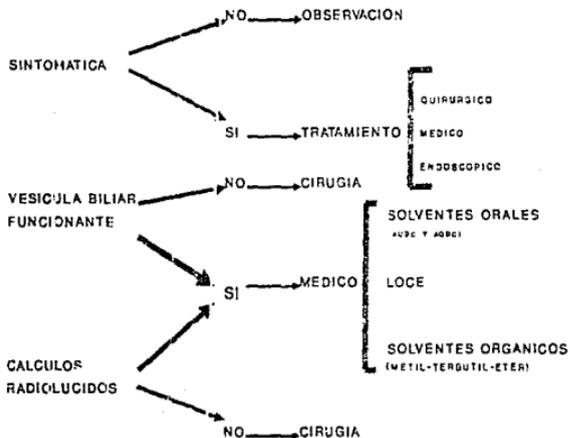


Figura 11.

LOC* LITOPPIPIPIA CON ONDAS DE CHOQUE ULTRASONICAS
 AUC* ACIDO URSODESIRICO; ABCI* ACIDO QUINOLINICO

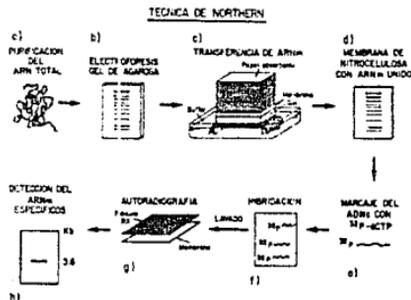


Figura 12: Se ilustra la técnica de Southern: La técnica de Northern nos permite detectar niveles de ARNm e específicos. La primera etapa de este procedimiento es la purificación del ARN total mientras que las etapas subsiguientes son muy similares a aquellas de la técnica de Southern.

TIEMPO DE NUCLEACION

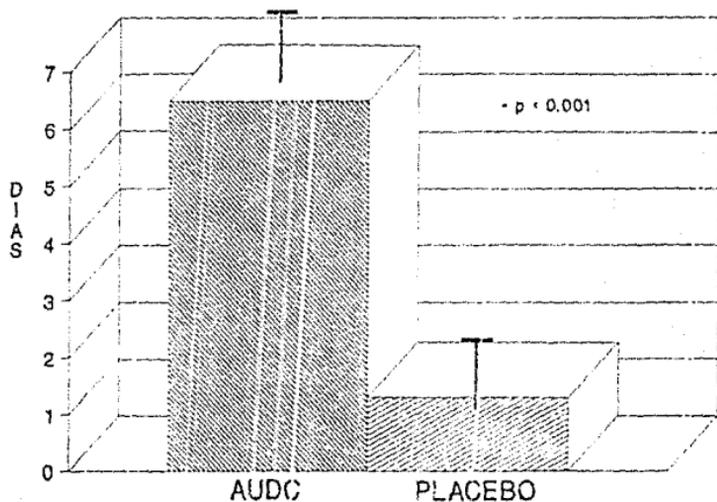


Figura 13: El tiempo de nucleación se prolonga en el grupo que recibió AUDC.

AUDC, Acido Ursodesoxicólico.

HIGADO

C 1 2 3 4 5 6 7 8 9



Figura 14: SE PRESENTAN LOS NIVELES ESTACIONARIOS DE ARNm EN TEJIDO HEPATICO DE APO A-1 DE AMBOS GRUPOS DE PACIENTES. NOTESE QUE EN LOS PACIENTES 1,2,3,6,8, 9, SE ENCUENTRAN INCREMENTADOS EN COMPARACION CO LA POZA DE CONTROLES.

VESICULA BILIAR

HIGADO

C Cu F C Cu F



**Figura 15: La expresión del gen de apolipoproteína A-1
no se detecto en la vesícula biliar, en
comparación con el hígado.
C, Cuerpo; Cu, Cuello; F, Fondo**

Tabla 1

FRECUENCIA DE LITIASIS BILIAR EN VARIOS PAISES DEL MUNDO

(30-70%)	(10-30%)	(≤ 10%)	(0-1%)
E.U.A. (indes)	E.U.A. (blancos)	E.U.A. (negros)	Africa oriental
Sudamérica (indios)	México	Japón (población urbana)	Africa Occidental
Ecuador	Reino Unido	Tailandia	Indonesia
Bolivia	Europa Occidental	India, Norte	Nueva Guinea
Chile	Nueva Zelanda	Canadá (esquimales de zonas urbanas)	Japón (rurales)
Canadá (indios)	Zimbabwe (blancos)	China	Canadá (esquimales de zonas rurales)
Suecia	Australia	Grecia	Egipto
Checoslovaquia	Finlandia	Asia (sudeste)	India Meridional
Dinamarca	Japón	Sudáfrica (bantúes)	
	Sudáfrica (blancos)		
	Unión Soviética		

E.U.A. = Estados Unidos de Norteamérica.

Tabla 2
CARACTERISTICAS DE LOS CALCULOS DE COLESTEROL

	<u>PUROS</u>	<u>MIXTOS</u>
ASPECTO	Amarillo	Amarillo-facetado
NUMERO	Solitarios	Múltiples
TAMANO	> 2.5 cm	< 2.5 cm
LOCALIZACION	Vesicula Biliar	Vesicula Biliar
RADIOSENSIBILIDAD	Fadiolúcidos	Radiopacos
COMPOSICION	> 30% colesterol	< 90% colesterol

Tabla 3
CARACTERISTICAS DE LOS CALCULOS PIGMENTARIOS

	<u>BILIRRUBINATO</u>	<u>PUROS DE PIGMENTO</u>
ASPECTO	Caré	Negro
NUMERO	MULTIPLES	Múltiples
TAMAÑO	< 2 cm	< 1 cm
LOCALIZACION	Conductos Biliares	Vesicula Biliar
RADIOSENSIBILIDAD	Raciolúcidos	50% Radiopacos
COMPOSICION	Bilirrubinato de calcio 50%	Polimeros de bilirrubina 40%

Tabla 4

CAUSAS QUE MODIFICAN LA COMPOSICION DE LA BILIS

COLESTEROL (C)



- Obesidad.
- Hiperlipoprotei-
nemia tipo IV.
- Clofibrato.
- Consumo excesivo de calorías.
- Consumo excesivo de C.
- Estrógenos.

SALES BILIARES (SB)



- Enfermedades del
Ileon:
 - Ileotomía
 - Ileitis regional
- Fibrosis quística
- Insuficiencia pan-
creática.
- Colestasis crónica
- Agentes que se-
cuestran SB

Estas entidades clínicas o la administración de estos fármacos causan aumento del C o disminución de las SB.

Tabla 5

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE LITIASIS BILIAR EXCLUIDOS POR HABER PRESENTADO ENFERMEDAD CONCOMITANTE.

Diagnóstico	n
Diabetes Mellitus II	27
Litiasis vesicular coledocolitiasis	21
Hipertensión arterial	19
Diabetes Mellitus II Hipertensión arterial	15
Cálculos radiopacos	10
Colecistitis aguda	8
Control con anticoncéptivos	7
Pancreatitis crónica	6
Hiperlipidemia	4
Enfermedad Pulmonar Obstructiva crónica	4
Obesidad Morbida	2
Antecedentes de resección intestinal	2
Esferocitosis hereditaria	1
Total	139

Tabla 6
CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE LOS PACIENTES

	<u>AUDC*</u>	<u>PLACEBO</u>
n	10	10
Sexo	Femenino	Femenino
Edad (años)		
Promedio +/- D'E**	43.6 +/- 14.4	38.9 +/- 10.5
(Intervalo)	(23 - 64)	(20 - 54)
Peso (kg)		
Promedio +/- DE**	62.2 +/- 6.14	63.30 +/- 9.44
(Intervalo)	(38 - 71)	(53 - 71)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas
en edad y peso, en ambos grupos de pacientes.

* Acido Ursodesoxicólico; ** Desviación Estándar.

Tabla 7
COMPOSICION DE LA BILIS EN AMBOS GRUPOS

	AUDC	PLACEBO
	Promedio +/- DE	
a) Colesterol (mmol/l)	43.42 +/- 10.68	33.86 +/- 12.05
b) Fosfolpidos (mmol/l)	45.46 +/- 22.96	25.17 +/- 5.17
c) Sales Biliares (mmol/l)	537.20 +/- 273.56	432.00 +/- 132.98
d) Índice de saturación	1.01 +/- 0.39	1.10 +/- 0.30

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de los tres componentes más importantes de la bilis, así como en el índice de saturación de colesterol.

AUDC: Acido ursodesoxicólico.

Tabla 8
CONCENTRACIONES EN SUERO DE APO A-1
Y TN E ISC EN LA BILIS

n	AUDC		PLACEBO	
	10		10	
Apo A-1 (mg/dl)				
Promedio +/- DE	117.70	+/- 28.02	115.6	+/- 25.37
TN (días)				
Promedio +/- DE	3.50	+/- 2.6*	1.3	+/- 0.4*
ISC				
	1.01	+/- 0.3	1.1	+/- 0.3

TN, Tiempo de Nucleación; ISC, Índice de saturación de colesterol.

* $p < 0.001$ ("t" de Student).

Tabla 9

CONCENTRACIONES BASEALES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEINAS EN SUERO DE PACIENTES TRATADOS CON ACIDO URSODESOXICOLICO.

	AUDC (10) mg/dl (promedio +/-DE)	PLACEBO (10)	Valor de p
Colesterol	160.20 +/- 50.82	55.90 +/- 34.41	NS
Triglicéridos	155.00 +/- 88.82	140.10 +/- 47.81	NS
HDL	40.90 +/- 9.70	33.80 +/- 7.42	NS
LDL	86.90 +/- 46.65	94.90 +/- 35.27	NS
VLDL	23.00 +/- 12.84	27.60 +/- 9.47	NS

AUDC, Acido ursodesoxicólico; HDL, Lipoproteínas de alta densidad; LDL, Lipoproteínas de baja densidad; VLDL, Lipoproteínas de muy baja densidad; DE, desviación estándar.

Tabla 10

CONCENTRACIONES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS EN SUERO DE PACIENTES TRATADOS CON ACIDO URSODESOXICOLICO

	AUDC (10) mg/dl (promedio +/-DE)	PLACENO (10)	Valor de p
Colesterol	171.20 +/- 53.68	146.40 +/- 37.19	NS
Triglicéridos	151.50 +/- 42.46	107.20 +/- 53.48	0.04
HDL	35.30 +/- 7.90	33.40 +/- 5.46	NS
LDL	108.00 +/- 48.50	92.00 +/- 28.46	NS
VLDL	25.80 +/- 8.64	21.00 +/- 10.79	NS

AUDC, Acido ursodesoxicólico, HDL, Lipoproteínas de alta densidad; LDL, Lipoproteínas de baja densidad; VLDL, Lipoproteínas de muy baja densidad; DE, Desviación estándar.