

**INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
FACULTAD DE MEDICINA “GENERAL CALIXTO GARCÍA”**

**INSTITUTO DE GASTROENTEROLOGÍA**

**ÁCIDOS BILIARES TOTALES EN HECES FECALES  
Y SU RELACIÓN CON LESIONES DEL COLON  
EN PACIENTES CUBANOS**

***Tesis en opción al grado científico  
de Doctor en Ciencias Médicas***

Autor:

**Felipe N. Piñol Jiménez**  
*Especialista de 2do. Grado en Gastroenterología*

Tutor:

**Manuel Paniagua Estévez**  
*Doctor en Ciencias Médicas*

Asesores:

**Dra. Elvira Borbolla Busquets**  
**Dra. Diana Cruz-Bustillo Clarens**  
**Dr. Bienvenido Gra Oramas**

**La Habana, 2006**

*A mis padres*

Porque me inspiraron el deseo de ser médico, por llenar de optimismo cada momento de mi vida, por bendecir con sus oraciones todos mis pasos para que pueda alcanzar cada meta que me trace. Gracias por amarme.

*A mis hermanos, sobrinos y cuñados*

Por su lealtad, por compartir la grandeza del hogar.

*A todos mis amigos*

Por su amistad, lealtad y hermandad.

*A mis pacientes*

Por haberme inspirado muchas horas de estudio y dedicación.

## ***Agradecimientos***

### *Al profesor Raimundo Llanio Navarro*

Eminencia de las ciencias médicas y de la gastroenterología cubana y universal, ejemplo de hombre de ciencia, por su apoyo incondicional, por despertarme el deseo de superación constante y por enriquecer los conocimientos que he adquirido en el Instituto de Gastroenterología bajo su dirección.

### *Al profesor Manuel Paniagua Estévez*

A quien admiro y respeto, por haberme brindado su amistad incondicional, por compartir conmigo su sabiduría y experiencias, por inspirarme a continuar adelante con cada meta que me imponga la vida.

### *A las doctoras Elvira Borbolla Busquets y Diana Cruz Bustillo Clarens*

Por sus sugerencias y la dedicación con que aplicaron su experiencia profesional en la valoración estadística y para el buen desarrollo de esta investigación.

### *Al doctor Bienvenido Gra Oramas y la Licenciada Aracelis Cendán Cordoví*

Por su colaboración y las acertadas sugerencias a esta investigación.

### *A la licenciada. Madelayne Leyva Socarrás*

Por tenderme sus manos día a día en el departamento de colonoscopia, contribuyendo de una forma u otra a la realización de esta investigación.

### *A las secretarias y bibliotecarias*

Por su ayuda incondicional, en la búsqueda de toda información para esta investigación.

### *A Silvia Gutiérrez González*

Por poner todo su empeño y experiencia en la edición de esta investigación.

A todos los que a lo largo de mi formación me han ayudado e inspirado para que me capacite constantemente.

## **Abreviaturas fundamentales empleadas en la tesis**

ABTHF	ácidos biliares totales en heces fecales
ABT	ácidos biliares totales
ADN	ácido desoxirribonucleico
AINEs	antinflamatorios no esteroideos
APC	<i>adenomatous polyposis coli</i>
CCR	cáncer colorrectal
DCC	<i>deleted in colorectal cancer</i>
GST	<i>glutation sulfattransferasa</i>
HDL	lipoproteína de alta densidad
IGE	Instituto de Gastroenterología
LDL	lipoproteína de baja densidad
MCC	<i>mutated in colorectal cancer</i>
NAD	nicotinamida adenin dinucleótido
OMEG	Organización Mundial de Endoscopia y Gastroenterología

## **Síntesis**

Se realizaron tres estudios en el Instituto de Gastroenterología (IGE). El primero fue de carácter exploratorio, para determinar presencia de lesiones colónicas en pacientes con colelitiasis o colecistectomizados con niveles elevados de ácidos biliares totales en heces fecales (ABTHF). Se estudiaron 54 pacientes donde los pólipos fueron las lesiones diagnosticadas endoscópicamente con mayor frecuencia y, por lo general, se localizaron en el rectosigma. Todos presentaron colitis inespecíficas en algún segmento del colon. El segundo estudio se refirió a la presencia de displasia en pacientes con colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución y su relación con ABTHF elevados. De los 35 pacientes estudiados, 14 (41%) tenían displasia y de éstos, 78,6 % tuvieron niveles elevados de ABTHF. Por último, se realizó, por primera vez, un estudio descriptivo transversal, con una muestra de casos suficientemente grande para buscar la asociación entre niveles elevados de ácidos biliares totales (ABT) y lesiones del colon. Se contó con 306 pacientes, a los que se les determinó el nivel de estos ácidos y, según fueran elevados o normales, se clasificaron en dos grupos. En ambos grupos se relacionaron los niveles de los ácidos con las lesiones macroscópicas y microscópicas en el colon. También se estudió la relación de estos ácidos con lesiones diagnosticadas histológicamente y la edad de los pacientes, así como, en específico, los adenomas con su grado de displasia y las colitis inespecíficas y su intensidad, según grupo de edad. A los datos obtenidos se les aplicaron las pruebas estadísticas de Fisher, de Mantel-Haenszel, de Chi Cuadrado y la prueba para comparar proporciones. Se presentaron diferencias significativas en la distribución de lesiones del colon entre ambos niveles de ácidos biliares. La influencia de la edad sobre la aparición de lesiones microscópicas fue estadísticamente significativa. Los diagnósticos endoscópicos en pacientes con ácidos elevados fueron pólipos, otras de aspecto maligno y colitis inespecíficas. En los que tenían valores normales, éstos fueron mucosa normal o divertículos. La asociación entre los niveles de los ácidos elevados y los diagnósticos histológicos fue altamente significativa. Las lesiones microscópicas patológicas se localizaron en el rectosigma de pacientes con ácidos biliares totales elevados. No se hallaron diferencias significativas en los adenomas según grado de displasia y nivel de los ácidos. La edad no influyó en los grados de displasia. La distribución de los diagnósticos de colitis inespecífica según su intensidad y de los niveles de ácidos biliares no mostró diferencia significativa. La edad sí parece influir en la intensidad de la colitis inespecífica independiente de los niveles de ABT. Los resultados indican una fuerte asociación entre ABTHF elevados y lesiones en el colon. Se describe por primera vez la colitis inespecífica como una nueva entidad desde el punto de vista histológico. Se recomienda determinar el nivel de estos ácidos en pacientes con sospecha clínica de lesiones de colon premalignas, mediante este método sencillo, rápido y de bajo costo.

# **Índice**

Introducción / 8
Capítulo 1. Revisión bibliográfica / 13
Factores que influyen sobre la incidencia del cáncer colorrectal / 13
Ácidos biliares y su acción tóxica / 16
Ácidos biliares y enfermedades del colon / 25
Lesiones premalignas del colon / 27
Secuencia adenoma-carcinoma / 29
Capítulo 2. Materiales y métodos / 33
Consideraciones éticas / 34
Criterios de inclusión / 34
Criterios de exclusión / 35
Criterios de diagnóstico / 36
Procedimiento del estudio / 37
Variables del estudio / 38
1. Ácidos biliares totales en heces fecales / 39
2. Diagnóstico endoscópico / 39
3. Diagnóstico histológico / 41
4. Localización anatómica de las lesiones (estudios 1 y 3) / 46
5. Edad (estudio 3) / 46
Estadística / 47
Cálculo del tamaño de muestra / 47
Plan de análisis estadístico / 48
Capítulo 3. Resultados / 51
Resultados del estudio 1 / 51
Resultados del estudio 2 / 52
Resultados del estudio 3 / 53
Capítulo 4. Discusión / 65
Conclusiones / 76
Recomendaciones / 78
Referencias bibliográficas / 80
Anexos / 99

## **Introducción**

Según los resultados expuestos en el *Anuario estadístico de salud* del año 2004, en Cuba se informaron 1 648 defunciones por cáncer de intestino grueso, para una tasa anual de 14,6 por cada 100 000 habitantes. Este tipo de cáncer constituye la cuarta causa de mortalidad por tumores malignos en el país. Del total de esas defunciones, en 251 la localización del cáncer estuvo distribuida entre la porción rectosigmoidea y el ano, para una tasa de 2,2 fallecidos por cada 100 000 habitantes, que lo sitúa en la decimotercera causa de muerte entre otros tumores malignos.

En cuanto a la incidencia de cáncer según las principales localizaciones, hasta el año 1998, en Cuba la tasa bruta del adenocarcinoma fue de 13,2 por cada 100 000 habitantes, y ocupa el quinto lugar de frecuencia dentro de las localizaciones de otros tipos de cáncer colorrectal (CCR) (1).

Los componentes de la dieta en relación con el CCR más investigados son: las grasas, las fibras, las frutas, las verduras, el folato, el alcohol, las proteínas de origen animal, las vitaminas y el calcio (2-11).

Se han propuesto varias teorías sobre evidencias científicas, históricas, epidemiológicas y experimentales en el mundo que sugieren que este tipo de cáncer aparece como interacción entre factores medioambientales y genéticos, y que 90% de éstos son precedidos por lesiones consideradas premalignas, las cuales surgen como resultado de un proceso por etapas, lento y de varios años de duración (12, 13, 14).

Múltiples son las lesiones descritas en la mucosa del colon que pueden evolucionar hacia el CCR, entre ellas, úlceras, masas tumorales, lesiones planas, colitis y pólipos adenomatosos.

Los pólipos adenomatosos son las lesiones más estudiadas. Hasta la actualidad, se les considera como lesiones de alto potencial de malignidad para el CCR.

Se han investigado muchos agentes considerados mutágenos, para tratar de explicar el origen de estas lesiones, de todos ellos en los últimos tiempos los más estudiados son los ácidos biliares.

Los ácidos biliares se sintetizan en el hígado, a partir del colesterol, por un proceso de deshidrogenización y reducción de su núcleo, del cual se producen los ácidos biliares primarios (quenodesoxicólico y cólico), éstos, a su vez, por la acción de las bacterias anaeróbicas en el colon, se transforman en ácidos biliares secundarios (desoxicólico y litocólico). Existen evidencias de que los ácidos biliares secundarios pueden incrementar la proliferación celular en el colon y que según su intensidad, su persistencia y la presencia de una predisposición genética en el individuo, pudieran ejercer un efecto promotor de la tumoración (15-21).

En los últimos veinte años se han realizado estudios relacionados con la determinación de los niveles de ácidos biliares totales en pacientes con cáncer y pólipos de colon cuyos resultados han sido contradictorios y, en algunos casos, poco confiables debido al reducido tamaño de la muestra, entre otros factores (21).

Empíricamente, en nuestra práctica clínica en el IGE, hemos observado muchas lesiones de colon en pacientes con niveles elevados de ABTHF.

Teniendo en cuenta la revisión bibliográfica realizada sobre una base crítica y las observaciones empíricas, nos planteamos la siguiente hipótesis de trabajo:

*En los pacientes con niveles elevados de ácidos biliares totales en heces fecales se observan, con mayor frecuencia, lesiones en la mucosa del colon, las cuales pueden ser detectables endoscópicamente o mediante exámenes histológicos.*

Para validar esta hipótesis, se realizó la presente investigación por primera vez

en nuestro país y Latinoamérica, con una muestra suficientemente grande, de la cual se exponen los resultados.

A partir del problema y la hipótesis formulada, se elaboró el objetivo general y los específicos de la investigación:

Objetivo general. Identificar en pacientes cubanos la asociación entre los niveles de ABTHF y la presencia de lesiones del colon observadas endoscópica e histológicamente.

Con el fin de alcanzar este objetivo general nos planteamos los objetivos específicos siguientes:

1. Determinar la frecuencia de lesiones macroscópicas diagnosticadas por endoscopia y del diagnóstico histológico de colitis inespecífica, según localización, en pacientes con litiasis vesicular o colecistectomizados por esta causa y niveles elevados de ABTHF.
2. Determinar la relación entre los niveles de ABTHF y la presencia de displasia en pacientes con colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución.
3. Identificar la asociación entre los niveles de ABTHF y la presencia de lesiones del colon en pacientes con síntomas y signos de enfermedad de colon. Este objetivo lleva implícitas las siguientes tareas:
  - Identificar la asociación entre los niveles de ABT y la frecuencia de lesiones macroscópicas encontradas endoscópicamente y la frecuencia de lesiones microscópicas observadas en las muestras de biopsia histológicamente en el grupo total, según la edad.
  - Describir los diagnósticos endoscópicos e histológicos realizados en estos pacientes.
  - Determinar la presencia y frecuencia de lesiones de la mucosa colónica

observadas mediante exámenes histológicos en estos pacientes, según la localización anatómica.

- Describir la distribución de frecuencia de los adenomas y su grado de displasia, según niveles de ABT y grupo de edad.
- Describir la distribución de frecuencia de los diagnósticos de colitis inespecífica, según su intensidad, niveles de ABT y grupo de edad.

La novedad científica de la investigación reside en que por primera vez en Cuba y Latinoamérica, se confirma en 306 pacientes la asociación entre los niveles de ABTHF y la presencia de lesiones premalignas en la mucosa colónica.

La importancia teórica de este trabajo radica en que los resultados ofrecen perspectivas potenciales que apoyan el uso futuro de terapéuticas dirigidas a disminuir los niveles de ABT y, por consiguiente, disminuir la morbilidad de lesiones premalignas y malignas en el colon asociadas con este hecho.

En el orden práctico, en esta tesis se demuestra que la determinación de ABTHF para diagnosticar lesiones en el colon en la fase clínica puede realizarse mediante un método fácil y aplicable a cualquier nivel de atención médica.

Parte de esta tesis ha sido presentada en el XXVIII Congreso Panamericano de Gastroenterología y Endoscopia, celebrado en Punta del Este, Uruguay, en el año 2003 y, de manera parcial, sus resultados fueron publicados en la *Revista Cubana de Medicina* (ver anexo).

## Capítulo 1. ***Revisión bibliográfica***

### ***Factores que influyen sobre la incidencia de cáncer colorrectal***

Investigaciones epidemiológicas realizadas en varias partes del mundo indican una mayor incidencia de CCR en poblaciones de países industrializados en los cuales la dieta promedio consta esencialmente de gran consumo de carne, grasa animal e hidratos de carbono refinado, y, a la vez, pobre en fibra dietética, la cual es denominada dieta occidental (3, 22, 23, 24).

Estimaciones recientes (3, 25) señalan que el CCR es la tercera neoplasia en orden de frecuencia en la población mundial y representa 15% de todos los nuevos tipos de cáncer. En los países occidentales es la tercera neoplasia más frecuente en los hombres, después del cáncer de pulmón y el de próstata, y la segunda en las mujeres, después del de mama.

En el continente americano, el CCR tiene una alta prevalencia en Canadá, Estados Unidos, Uruguay y Argentina, aunque Chile, Brasil y también algunos países del Caribe presentan cifras no despreciables (26). En los países asiáticos y africanos se reportan las tasas de incidencia más bajas en el mundo (27, 28, 29).

Según reportes de estudios realizados en varias regiones del planeta en cuanto a la localización anatómica del cáncer del intestino grueso, se observa que desde la década de 1970, comenzó a predominar más en el colon que en el recto, contrario a como ocurría anteriormente. La causa de este cambio de frecuencia es desconocida, sin embargo, en alrededor de 10% de los casos y 80% de los fallecimientos por cáncer de intestino grueso éste se localiza en el colon. No obstante, estudios más recientes en los últimos veinte años demuestran un desplazamiento del CCR hacia el colon derecho, altamente significativo

en pacientes con CCR hereditario, y hacia la región rectosigmoidea, en pacientes con cánceres esporádicos (27, 30, 31).

Las investigaciones realizadas por Burt (32), en poblaciones urbanas y rurales, muestran un riesgo mayor de CCR en las zonas urbanas y que la incidencia aumenta exponencialmente con la edad. Tal es así, que cuando se analizan las áreas con alto riesgo, se observa un predominio del CCR en el sexo femenino antes de los sesenta años (mujeres menopáusicas), aunque en la mayoría de los registros de cáncer, la localización rectal es más frecuente en el sexo masculino, en todas las edades. En la actualidad se describen algunas discrepancias entre investigadores que hacen énfasis en la dieta y el estilo de vida.

Otro factor muy estudiado es la raza (32). Hasta el año 1950 la incidencia en personas de la raza negra fue sensiblemente más baja que en las de la raza blanca, posteriormente fue aumentando en los primeros; en los segundos, permaneció constante, de modo que en la actualidad la incidencia es similar en ambas razas, por lo cual la Organización Mundial de Endoscopia y Gastroenterología (OMEG) plantea que no existe ningún argumento sobre el papel de la raza en la génesis del CCR (31).

Los factores relacionados con la génesis del CCR son múltiples, demostrados *in vivo* e *in vitro*. Según la OMEG, se resumen en cuatro grupos:

- *Factores endógenos*: hereditarios y enfermedad intestinal.
- *Factores exógenos*: la dieta rica en grasa, el alcohol, el tabaco y el sedentarismo.
- *Intervenciones médicas*: tratamientos con antinflamatorios no esteroideos (AINEs) y terapias hormonales.
- *Otros*: colecistectomía, irradiaciones pélvicas y anastomosis uretero-cólicas.

La Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos, en 1982 (33), presentó un informe donde hacía énfasis en que la dieta es un factor de riesgo importante en la tumorogénesis del CCR, e incluía una serie de recomendaciones que, en aquellos tiempos, se basaban en la reducción de la ingesta total de

grasa. Estudios de cohorte, caso-control y experimentales, con distintos tipos de intervenciones dietéticas (por ejemplo, incrementando el consumo de fibras, frutas y verduras, y disminuyendo la ingesta de grasas o administrando suplementos con una o varias vitaminas o minerales) muestran resultados satisfactorios en la disminución del desarrollo del CCR (34-40).

Las investigaciones realizadas no incluyen ensayos clínicos aleatorios, no evalúan por separado el efecto de las grasas y el de las fibras, emplean variables subrogadas y, por tanto, han estado sujetas a sesgo. Sólo la investigación realizada por McKeown-Eyseen y colaboradores (11) sobre la influencia del consumo de grasa en la dieta (menos de 25% de la energía en forma de grasa) y la aparición de recidivas de adenomas colorrectales, concluyó que estos últimos aparecían en proporción similar cuando la grasa no estaba controlada en la dieta.

No obstante, de todo el conjunto de grasas existentes, las investigaciones disponibles apuntan a que el elevado consumo de ácidos grasos insaturados (aceite de semillas y de oliva) supone un factor de protección contra el CCR, reafirmado en los estudios realizados por Bautista y colaboradores (41) que muestran que el alto consumo de aceite de oliva (monoinsaturado) ofrece una protección frente a los tumores que tienen el oncogén K-ras tipo salvaje. Esta protección se pierde en los tumores que han sufrido una mutación en este mismo oncogén (42). Los ácidos grasos saturados constituyen un riesgo para este tipo de cáncer (1).

Las investigaciones ecológicas sugieren una disminución de la incidencia de cáncer de mama y de CCR en las poblaciones que tienen un gran consumo de pescado. Fundamentan este efecto protector del pescado por la presencia de los ácidos grasos ω-3, los cuales aumentan la resistencia celular a la transformación maligna originada por radiaciones u otros agentes, en comparación con los efectos de los ácidos grasos ω-6, que no tienen este efecto protector (43-45).

Los estudios con grasas complejas son menos frecuentes. Respecto a los esfingolípidos, se sabe que sufren una hidrólisis en el tracto gastrointestinal mediante la cual se descomponen en ceramidas y bases esfingoides, que las células utilizan para regular diversas funciones, entre las que se encuentran el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis.

Estudios en animales de experimentación han mostrado que el suplemento con esfingolípidos inhibe la carcinogénesis colónica (disminuyendo el número de focos crípticos colónicos aberrantes), además de reducir el colesterol LDL y elevar el HDL. Este efecto antioncogénico es favorable también para las células extracolónicas (46, 47).

Hay reportes de las acciones de las fibras dietéticas sobre la mucosa intestinal que tienen en cuenta sus propiedades fisicoquímicas, señaladas por Trowell y Burtkin (48, 49), entre las que se destacan la capacidad de inhibir la deshidroxilación de los ácidos biliares primarios provocada por las bacterias colónicas, acortar el tiempo del tránsito intestinal y captar e inactivar los ácidos biliares en la luz intestinal.

En 1990, Chean y colaboradores (50, 51) publicaron un trabajo acerca de la acción de la celulosa sobre los ácidos biliares, demostrando que ésta era capaz de captarlos e inactivarlos, mediante una reacción catalítica, que provoca la poliesterificación de los ácidos biliares y los inactiva, lo que impide su agresión sobre la mucosa del colon, efecto terapéutico protector en las enfermedades digestivas relacionadas con niveles elevados de ABTHF.

### ***Ácidos biliares y su acción tóxica***

En 1933, Wieland y colaboradores (52), y Cook y colaboradores (53), fueron los primeros en reportar que el metilcolantreno era un carcinógeno potente en la mucosa del colon. Posteriormente, Fieser y colaboradores (54) lo sintetizaron químicamente al usar ácido cólico (ácido biliar primario) y obtenerlo como uno de sus metabolitos. Estas observaciones fueron las primeras suposiciones que motivaron a plantear que los ácidos biliares son hidrocarburos aromáticos y

posibles precursores del cáncer de colon (55), señalado en 1939 por Gheron, con el uso del ácido desoxicólico, según reporta Lacassagne, en 1961 (56).

La bilis es una secreción digestiva, y algunos de sus componentes, como los ácidos biliares y los aniones orgánicos, desempeñan un papel clave en la digestión y la absorción de los lípidos. También se considera como un líquido excretor porque el colesterol, la bilirrubina, los metales pesados y muchos aniones y cationes orgánicos se eliminan a través de ella (15).

El componente principal de la secreción biliar lo constituyen los ácidos biliares, sintetizados en el hígado (en los hepatocitos pericentrales), a partir del colesterol, por un proceso de deshidrogenización y reducción de su núcleo, como consecuencia de una acción de hidroxilación catalizada por la enzima colesterol 7- $\alpha$  hidroxilasa, que produce los ácidos biliares primarios: quenodesoxicólico (dihidroxilado) y cólico (trihidroxilado); ambos representan 90% del total de los ácidos biliares contenidos en la bilis. Dentro de la propia glándula hepática, estas sustancias se conjugan con la glicina (3/4 partes) y la taurina (el resto), y constituyen las sales de glicolato y taurocolato, respectivamente, que son más solubles en pH ácido y más resistentes a la precipitación por iones de calcio que los ácidos biliares no conjugados. Desde el punto de vista biológico, la conjugación incapacita a los ácidos biliares para atravesar las membranas celulares (57, 58).

Existen evidencias de que las diferentes enzimas que participan en la síntesis de los ácidos biliares pueden tener deficiencias genéticas que, a su vez, afectan la síntesis normal de los ácidos biliares. Todo esto se expresa clínicamente como enfermedad hepatobiliar presente y letal en los primeros años de la vida, ya que en adultos no se reportan estudios que se refieran a estos trastornos de las enzimas (59, 60).

Los ácidos biliares primarios son secretados hacia el intestino delgado y la mayor parte (85%) se absorbe en el íleon de forma intacta y de manera pasiva retornan al hígado, a través de la circulación enterohepática, donde se reconjugan (figura 1). El resto (15%) comienza a desconjugarse en el íleon y pasa al

colon donde completa la desconjugación, por acción de las bacterias anaerobias colónicas, lo cual conduce a la formación de los ácidos biliares secundarios: litocólico, a partir del ácido quenodesoxicólico, y desoxicólico, a partir del ácido cólico. Este último se absorbe en la mucosa colónica y regresa al hígado, se reconjuga y forma parte del ciclo total enterohepático del metabolismo de los ácidos biliares, y el litocólico se excreta a través de las heces fecales (61-63).

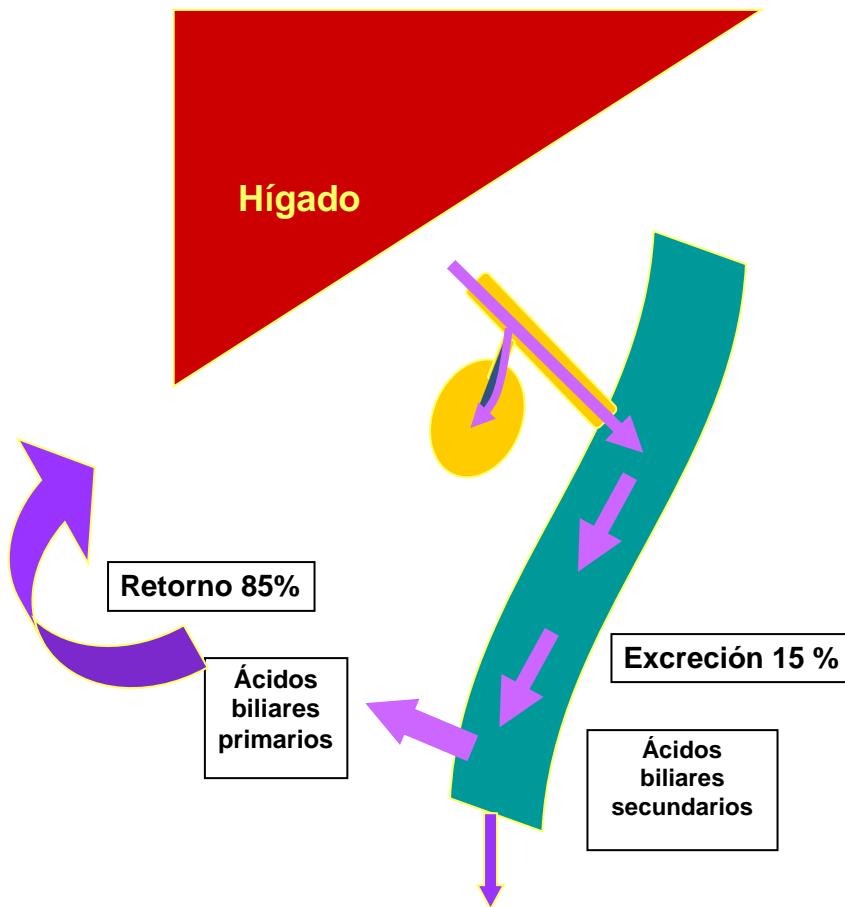


Figura 1. Circulación enterohepática de los ácidos biliares.

Los ácidos biliares son capaces de “desnudar” la mucosa colónica de su capa hidrofóbica protectora, por su acción detergente sobre el soporte lipídico de las membranas celulares. Todo ello acarrea la renovación de la mucosa colónica, inducida por un incremento de la actividad proliferativa a nivel de las criptas de la mucosa del colon que, a la larga, pudiera terminar ejerciendo, según su in-

tensidad, su persistencia y la presencia de una predisposición genética en el individuo, un efecto promotor de la tumoración (16-21).

De todo lo anterior se deriva que los ácidos biliares constituyen uno de los factores intraluminales que modulan la actividad proliferativa del epitelio colónico, por lo cual es importante que se mantenga un balance adecuado en la producción de éstos para evitar sus efectos dañinos sobre la mucosa intestinal (64).

En la práctica, se desconoce la predisposición genética del individuo para padecer de CCR. Por lo tanto, con todo lo informado anteriormente, se pudiera inferir que el control de la producción de ácidos biliares en el organismo contribuye a que no aparezcan lesiones, independientemente de la existencia de una predisposición genética en cuanto a este factor agresivo (65-68).

Es evidente la acción tóxica de los ácidos biliares sobre la mucosa del colon. El aumento de éstos en la luz del órgano desencadena una respuesta inflamatoria que, de acuerdo con su intensidad y persistencia, pudiera traer como consecuencia el desarrollo de lesiones que transitan desde pequeñas alteraciones a nivel de mucosa (lesiones mínimas) hasta el cáncer. Cuando este incremento es de forma transitoria, se desencadena una respuesta inflamatoria aguda de la mucosa con activación del sistema inmunológico, caracterizada, fundamentalmente, por un infiltrado inflamatorio con predominio de neutrófilos, los cuales liberan diferentes mediadores químicos (citoquinas, radicales libres, eucosanoides, etc.) que amortiguan dicho proceso y favorecen la reparación tisular, al estimular la proliferación celular a nivel de las criptas (69, 70). Macroscópicamente, este proceso se traduce en una mucosa eritematosa y edematosa, la cual, una vez eliminado el agente agresor, recupera su aspecto normal. Cuando la elevación de éstos es mantenida, la respuesta inflamatoria se caracteriza por un infiltrado con predominio de linfocitos que transita por diversos grados de intensidad, desde lesiones mínimas de la mucosa hasta lesiones severas.

Los procesos por los cuales cursan estas modificaciones obedecen a una respuesta inmunológica exagerada, no controlada, mediada por sustancias químicas liberadas por las células del sistema inmune, que amplifican y perpetúan la

respuesta inflamatoria. Todo este proceso conlleva un incremento de la proliferación celular con alta probabilidad de mutaciones del ADN, desactivación de genes supresores de tumor y activación de oncogenes (figura 2), que favorecen el crecimiento celular y la aparición de displasia en diferentes grados, de acuerdo con la intensidad y la persistencia del factor agresivo celular, traducido morfológicamente por inflamación y, en el peor de los casos, por la presencia de adenomas, que en más de 90% evolucionan hacia el cáncer (16, 17).

Todo lo anterior se basa en una cantidad considerable de información circunstancial que comprende estudios epidemiológicos, bioquímicos, microbiológicos *in vivo* e *in vitro* y en modelos experimentales con animales, donde se ha demostrado el efecto promotor del CCR por los ácidos biliares (64, 71-77).

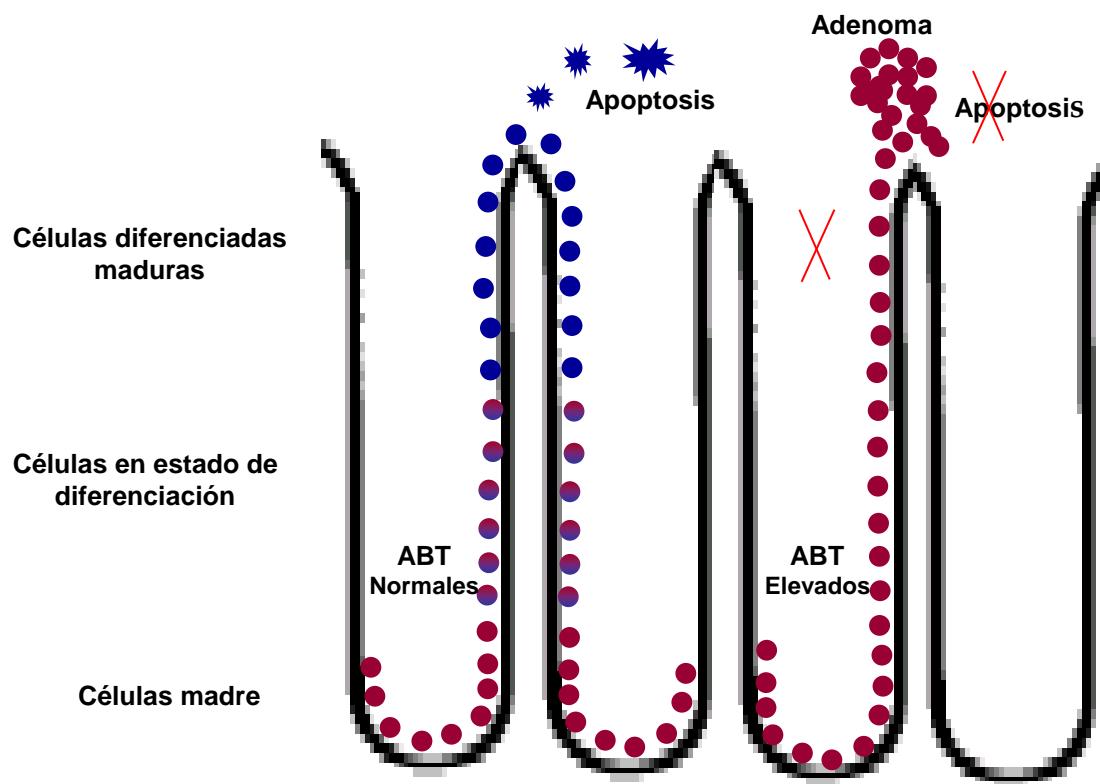


Figura 2. Acción de los ácidos biliares a nivel de las criptas colónicas

Los hechos descritos han permitido formular cinco razones por la cuales los ácidos biliares pudieran ser agentes promotores de tumores en el colon (78):

1. Hay similitud química y estructural entre los ácidos biliares y los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Potencialmente pueden ser transformados en sustancias cancerígenas por los sistemas enzimáticos de la flora bacteriana que, con el tiempo, dañan la mucosa.
2. Estudios epidemiológicos sugieren una alta correlación entre la dieta y la concentración de ABTHF y el cáncer de colon.
3. Estudios de carcinogénesis experimental con animales revelan la existencia de una fuerte actividad de los ácidos biliares en el CCR.
4. Son potentes inhibidores de la actividad *in vitro* de la *glutation sulfat transferasa* (GST), enzima involucrada en la desintoxicación de carcinógenos exógenos. De ahí que cuando se inhibe esta enzima por los ácidos biliares, se modifica la respuesta del huésped ante los agentes cancerígenos y se favorece la tumorogénesis.
5. Tienen una alta actividad biológica potencialmente tóxica sobre los procesos celulares y moleculares: son mutagénicos, provocan la ruptura del ADN celular, transforman la actividad normal de la célula e incrementan la apoptosis en la periferia del tumor.

Las investigaciones dirigidas en Cuba por Paniagua y colaboradores (79) en el año 1990, comenzaron con el estudio descriptivo de la determinación de ABTHF en 40 pacientes con diagnósticos endoscópico e histológico de neoplasia de colon, pólipos adenomatosos y colon normal.

Al analizar el comportamiento de los niveles de ABTHF de estos pacientes, se observó que 85% de los que tenían cáncer de colon presentaron niveles elevados de ABTHF y 15% fueron normales; 60% de los pacientes con pólipos tenían ABTHF elevados y 40% fueron normales. En los pacientes controles sin enfermedades de colon, sólo 30% tenían niveles elevados de ABTHF y 70% fueron normales (79).

Los resultados de esta investigación permitieron establecer una asociación estadísticamente significativa ( $p<0,05$ ) entre los niveles elevados de ABTHF y la presencia de neoplasias de colon y pólipos adenomatosos, acordes con trabajos internacionales que reportan resultados similares pero en pocos pacientes (80, 81).

A partir de esta experiencia, se realizó un ensayo clínico-terapéutico aleatorizado con el objetivo de determinar la acción de la celulosa microcristalina sobre los niveles elevados de los ABTHF y precisar si la celulosa microcristalina podía ser responsable de la aparición de algún efecto adverso desagradable o tóxico para el paciente (82).

Los resultados permitieron concluir que la celulosa microcristalina posee una capacidad significativamente mayor que el almidón para captar los ácidos biliares, inactivarlos en un plazo corto y evitar así la acción agresiva de éstos sobre la mucosa del colon, sin provocar reacciones adversas.

El almidón de maíz demostró una capacidad real para captar ácidos biliares (77,3%) que, aunque en menor grado que la celulosa microcristalina, permite considerarlo como una solución alternativa para el tratamiento de pacientes con ABTHF elevados (82).

En la misma línea de investigación se realizó otro trabajo en pacientes con diagnóstico de síndrome de intestino corto y niveles elevados de ABTHF (83).

Esta investigación fue un estudio experimental fase II, a ciega. Se evaluaron los niveles de ABTHF de estos pacientes después del tratamiento, con el objetivo de comprobar la eficacia terapéutica de la microcelulosa en el síndrome de intestino corto. Se demostró que la celulosa microcristalina es capaz de captar y disminuir los niveles de ABTHF de los pacientes con resección de íleon terminal ( $<100\text{cm}$ ), disminuir la frecuencia de las deposiciones y aumentar la consistencia de las heces fecales, lo cual mejora la calidad de vida de los pacientes y permite, por tanto, disponer de una terapéutica efectiva para éstos.

En la década de 1960, los trabajos revisados y analizados en relación con el tema partían de muestras de casos muy pequeñas, que no tenían en cuenta algunas variables, denominadas en la actualidad confusoras, y que podían modificar los resultados de los estudios de niveles de ácidos biliares en heces fecales y sus correlaciones estadísticas con la presencia de lesiones del colon (84-86).

En la década de 1970, la gran mayoría de los trabajos publicados fueron puramente descriptivos. Dentro de éstos se encuentra el realizado en la unidad de Gastroenterología de la Fundación y Clínica Mayo (Rochester, Minnesota) y el Laboratorio Nacional de Argone, Illinois, por Gersonn y colaboradores, en 1974 (87), en el cual describen cómo las bacterias colónicas incrementaban la degradación de los ácidos biliares presentes en la luz del colon en pacientes con colecistectomía y, a su vez, cómo eran capaces de dañar la mucosa colónica con el decursar del tiempo.

A partir de la década de 1980, las investigaciones publicadas comienzan a ser aleatorias, con estudios caso-control y experimentales, aunque la mayoría continuaba con muestras de pequeño tamaño. No obstante, se logró introducir en la metodología de esas investigaciones aquellas variables capaces de garantizar resultados más precisos para llegar a mejores conclusiones. Dentro de los países destacados en estos estudios están Japón, el Reino Unido, Alemania, Estados Unidos y Canadá, pues es en ellos donde, precisamente se reporta una alta incidencia de CCR, excepto en el caso de Japón que presenta una incidencia baja.

Durante el período 1984-1985, en Japón se determinaron los niveles de ácidos biliares en heces fecales de pacientes con CCR, pólipos de colon e individuos normales, y se demostró que no existía diferencia significativa entre la excreción de estos ácidos en los pacientes con enfermedades de colon y los individuos normales, hecho que atribuyeron a que la dieta asiática es diferente a la occidental, lo cual les permitió confirmar una vez más la relación que existe entre la dieta, el estilo de vida y las enfermedades del colon (88, 89).

Otro estudio relacionó los niveles de excreción de ácidos biliares en pacientes con CCR, pólipos de colon y úlcera péptica, y concluyó que los ácidos biliares en heces fecales pueden estar involucrados en la patogenia del CCR, pero no tanto en la de la úlcera péptica (90).

En 1985, Tanida y colaboradores (91) relacionaron los niveles de excreción de ABTHF en pacientes con pólipos adenomatosos, con especial énfasis en la localización, el número, el tamaño y el grado de displasia de los adenomas. Concluyeron que los adenomas grandes, múltiples, con displasia moderada y severa se asociaban con niveles elevados de excreción de ácidos biliares, no así los pólipos pequeños y únicos. Esto les permitió afirmar que los niveles de ácidos biliares elevados tienen una asociación estadísticamente significativa en el desarrollo y la evolución de los pólipos adenomatosos, en pacientes japoneses con dietas ricas en grasa.

En Alemania se realizó una investigación (92) en la que, a pesar de que el tamaño de las muestras fue pequeño, se demostró la relación entre los niveles de ácidos biliares en heces fecales y los pólipos adenomatosos. Por otro lado, sugirieron que la determinación enzimática del incremento de ácidos biliares se puede realizar por métodos simples, independientemente del tamaño de las muestras de heces fecales.

Breuer (93) describió los diferentes mecanismos por los cuales los ácidos biliares predisponían a la tumorogénesis en el colon. A finales de la década de 1980, se comienzan a reportar trabajos experimentales en animales y en humanos que explican estos mecanismos. A través de métodos bioquímicos y analíticos se demostró un incremento de la actividad proliferativa de la mucosa del recto y niveles elevados de ácidos biliares en pacientes con pólipos y CCR (18).

En 1987, Hill y colaboradores (94) demostraron en 102 pacientes la existencia y expresión de receptores específicos para los ácidos biliares en células tumorales del colon apoyado en los resultados de trabajos experimentales realizados en otras partes del mundo (95).

En la década de 1990, la mayoría de las investigaciones realizadas en Holanda, Canadá, Japón, Italia, Estados Unidos, Argentina y Alemania, incluyó diversos factores como el tipo de dieta (grasa, fibra, etc.), terapias hormonales, entre otras, relacionándolas con el incremento de los niveles de ácidos biliares en heces fecales, la actividad proliferativa de la células colónicas, la ruptura y el daño del ADN en la reparación tisular. Todos concluyeron que los ABT elevados en la luz intestinal pudieran incrementar el riesgo de cáncer de colon (96-103).

A pesar de los resultados obtenidos por todos estos investigadores, el tamaño promedio de las muestras de estudio, tanto de los pacientes con colon patológico como de individuos con colon normal, fue pequeño.

### ***Ácidos biliares y enfermedades del colon***

Existen evidencias, cada vez más numerosas, de una relación entre los trastornos del metabolismo de los ácidos biliares y el carcinoma colorrectal, como ocurre en los pacientes con colelitiasis, pues en dichos pacientes se observa una mayor proporción de ácidos biliares secundarios en la luz del colon y, a su vez, mayor absorción colónica de éstos (71, 104, 105).

Cuando se analiza la distribución geográfica de la colelitiasis y el carcinoma de colon es similar, asimismo, los factores patogénicos, dietéticos y químicos son comunes, lo cual condujo a plantear, en estudios independientes, la hipótesis de que una degradación anormal de los ABTHF elevados por las bacterias colónicas, puede ser responsable de las afecciones de la mucosa colónica en pacientes con colelitiasis (105-107).

De manera similar, los pacientes colecistectomizados por colelitiasis presentan y mantienen la alteración del metabolismo de los ácidos biliares y, por tanto, se incrementa aún más la excreción de ácidos biliares secundarios y su exposición sobre la mucosa colónica, lo cual promueve trastornos colónicos, tal como se ha demostrado por estudios experimentales con animales donde se ha inducido esta acción químicamente (108-110).

Por otro lado, es importante destacar que el CCR asociado a las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (colitis ulcerativa idiopática y enfermedad de Crohn), se desarrolla a partir de áreas de mucosa con displasia grave y es poco frecuente que se detecten pólipos adenomatosos (111-113). Asimismo, se infiere que el riesgo de aparición de cáncer de colon en los pacientes con colitis ulcerativa idiopática es mayor que en la población general, en especial, en aquellos casos con más de diez años de evolución de la enfermedad y de localización extensa. Esta complicación se presenta entre la cuarta y la quinta décadas de vida, mientras que en la población general lo hacen entre la sexta y la séptima décadas (112, 114).

Desde la década de 1980 se han venido estudiando los mecanismos que regulan el crecimiento y la maduración de las células del epitelio colónico mediante la síntesis de ADN. Se ha observado que durante este proceso existe aumento del índice mitótico, agrandamiento celular y que, al llegar a la superficie, alcanzan su total maduración. Se ha demostrado que cuando existe un defecto en el control de la síntesis de ADN, se presentan mutaciones que conducen a un crecimiento exagerado de las células, lo cual favorece la aparición de displasia y, en el peor de los casos, de neoplasia de colon (114-116).

En los pacientes con colitis ulcerativa idiopática los cambios descritos están presentes de por sí y, en menor o mayor medida, dependen del grado de intensidad y la persistencia de la respuesta inflamatoria, que lleva a la desregulación de la proliferación celular y, en consecuencia, a mutaciones de las células colónicas.

El conocimiento de los hechos descritos ha motivado que se realicen diversos estudios para precisar de manera precoz este tipo de complicación en pacientes con colitis ulcerativa idiopática y, al mismo tiempo, dejar establecidos en ellos los posibles marcadores de premalignidad.

En el momento actual, los marcadores de premalignidad estudiados y concebidos son (94):

1. Presencia de displasia.
2. Excreción elevada de ácidos biliares secundarios en heces fecales.
3. Trastornos cuantitativos del ADN.
4. Alteración de la mucina.
5. Concentración sérica de selenio disminuida.
6. Trastornos cinéticos de la proliferación celular.

De todos estos marcadores, los ABT y secundarios son los más estudiados, por ser los que en la literatura se reportan altamente asociados con la aparición del cáncer de colon y el aumento de la proliferación celular.

En estudios realizados a pacientes con colitis ulcerativa idiopática, a los que se les ha determinado la concentración de ABT y secundarios en heces fecales, se ha encontrado que se hallan elevados y, al mismo tiempo, se ha comprobado que tienen una alta asociación con la aparición de displasia y cáncer de colon (94).

Todo lo anterior se explica por lo que hemos referido sobre la acción tóxica de los ácidos biliares sobre la mucosa colónica, que en los pacientes con colitis ulcerativa idiopática dañan el ADN e incrementan la apoptosis y la proliferación celular, lo cual, unido al proceso presente en estos pacientes por los trastornos de inmunorregulación, hace que sean más susceptibles a la aparición de displasia y CCR, hecho que se presenta con menos frecuencia en la mucosa no inflamada o en etapas de poca actividad inflamatoria de la enfermedad (19, 64, 65, 66).

### ***Lesiones premalignas del colon***

Múltiples son las lesiones en la mucosa del colon catalogadas como premalignas. Dentro de ellas, se reportan con mayor frecuencia los pólipos adenomato-so neoplásicos, así como otras no menos importantes entre las cuales se pueden mencionar úlceras, masas tumorales y lesiones planas de la mucosa. Según sus características morfológicas los pólipos adenomatosos son considerados como lesiones precursoras de la mayoría de los carcinomas colorrecta-

les, al progresar hacia la displasia grave y el carcinoma invasivo en un tiempo de evolución variable, entre 5 y 15 años, con una serie de factores-pronóstico fácilmente identificables (117, 118).

Al mismo tiempo, se señala que los pólipos adenomatosos se originan por fases en un paso (o pasos) del proceso normal de proliferación y muerte celular programada (apoptosis) y que la aberración inicial se origina en una sola cripta colónica en la cual el comportamiento proliferativo, en lugar de estar limitado a la base de la cripta, se extiende a toda ella. Esta alteración conduce al denominado *adenoma unicríptico* (119, 120). Hay numerosas evidencias (110, 121-126) que confirman esta secuencia y permiten afirmar que el pólipos adenomatoso es la lesión precursora de la mayoría de los CCR.

1. Íntima relación entre la prevalencia de adenomas y las tasas de incidencia del CCR en diferentes áreas geográficas.
2. El riesgo de desarrollar adenomas y cáncer se incrementa con la edad. La edad media de presentación de los adenomas está entre 5 y 7 años por debajo de la de los pacientes con carcinomas.
3. A menudo, el CCR presenta tejido adenomatoso benigno en zonas contiguas y más de un tercio de los pacientes con carcinoma presentan pólipos adenomatosos sincrónicos en otros segmentos del colon.
4. A medida que el adenoma crece, aumentan las atipias celulares, aparece tejido veloso, se desarrolla displasia en grado considerable y se incrementa el riesgo de CCR.
5. La distribución anatómica es similar en adenomas y carcinomas, con mayor frecuencia en el hemicolon izquierdo. En el recto el cáncer es esporádico. En el hemicolon derecho lo más frecuente es el CCR hereditario no polipósico.
6. La resección colonoscópica de los adenomas consigue reducir la incidencia de CCR.

Existen factores-pronóstico que contribuyen a establecer el seguimiento adecuado de todos los pólipos de riesgo (124-127) como son:

1. Tamaño igual o mayor que 1 cm.
2. Histológicamente vellosos y túbulo-vellosos.
3. Displasia grave.
4. Adenomas múltiples.

### **Secuencia adenoma-carcinoma**

Como se ha expresado con anterioridad, se acepta mundialmente que el CCR surge como resultado de la interacción de múltiples factores ambientales y genéticos, que determinan la progresión de un pólipos adenomatosos benigno colo-rectal hacia el carcinoma (128) (figura 3).

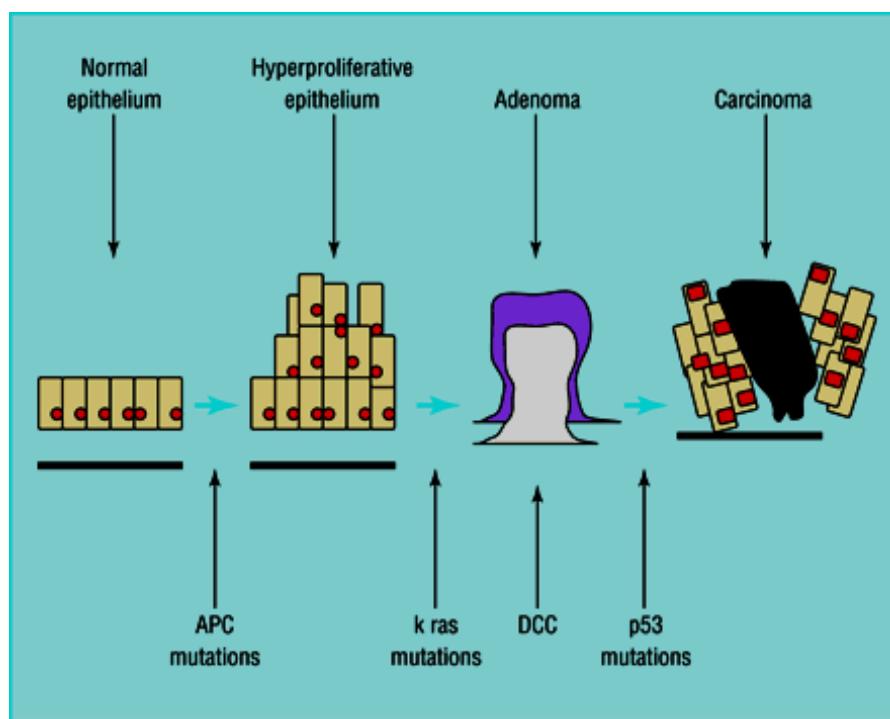


Figura 3. Secuencia adenoma-carcinoma (131). (Tomado de RG Hardy *et al. Molecular basis for risk factors. ABC of colorectal cancer: clinical review. Br Med J. 2000; 321: 886-9.*)

El desarrollo del CCR es un proceso escalonado que implica una serie de mutaciones en genes relacionados con la proliferación celular (oncogenes y genes

supresores de tumores), así como pérdida de cromosomas, lo cual sugiere que en la transición de pólipos adenomatosos a adenocarcinoma hay una acumulación de alteraciones moleculares que conducen a un crecimiento celular anormal y, de esta forma, a la formación de tumor (118, 129, 130).

Estudios biomoleculares han permitido identificar la existencia de un cúmulo de alteraciones genéticas que implican la expresión anormal de protooncogenes y la delección de los llamados genes supresores de tumores. Los protooncogenes son genes involucrados en la regulación del crecimiento celular y su alteración induce un crecimiento celular anormal no controlado, lo cual contribuye con la carcinogénesis (121, 132-133).

Entre los oncogenes más estudiados en el desarrollo del cáncer de colon se encuentra el oncogén K-ras, que codifica proteínas de la membrana celular encargadas de la transducción de señales hacia el núcleo celular. En 40-50% de los tumores primarios de colon se ha observado la presencia de mutaciones puntuales en el oncogén K-ras, mientras que en los adenomas de colon mayores que 1 cm estas mutaciones llegan a alcanzar 58%, lo que sugiere que las alteraciones en el oncogén K-ras son hechos tempranos en la transición de adenoma a adenocarcinoma (124, 125).

Estudios recientes reportan la existencia de determinadas pérdidas alélicas, como son las delecciones 5q, 17p, 18q, que tienen especial importancia en la génesis del CCR, por ejemplo, 20-36% de los pacientes con cáncer esporádico de colon presentan pérdida de uno de los alelos 5q, codificador de una supuesta proteína supresora tumoral que se pierde en etapas tempranas de la carcinogénesis (126, 127).

Existen evidencias, por estudios biomoleculares, de que en los pólipos adenomatosos hay alteraciones moleculares en genes que favorecen el crecimiento celular anormal y los lleva a transformarse en malignos. Los mecanismos biomoleculares presentes durante esta transición se correlacionan con la expresión de protooncogenes (oncogén K-ras) e inactivación de los genes supresores tumorales (APC, P53, DCC, MCC) (134-140).

Una vez revisadas las diferentes acciones de los ABTHF sobre la mucosa colónica, nos propusimos investigar la relación existente entre los niveles de éstos y la presencia de lesiones en la mucosa colónica, en pacientes con colelitiasis o colecistectomizados por esta causa, o con colitis ulcerativa idiopática de diez años o más de evolución y en aquellos con sintomatología del intestino grueso que requerían de una colonoscopia, tema poco explorado hasta el momento en nuestro país y Latinoamérica.

Esta investigación es la primera, tanto en el ámbito nacional como en Latinoamérica donde se cuenta con una muestra de casos, suficientemente representativa, para corroborar la hipótesis y los objetivos propuestos.

## Capítulo 2. ***Materiales y métodos***

Universo de estudio: pacientes adultos de cualquier raza, de uno u otro sexo, que acudieron al IGE por sintomatología del tracto digestivo, en el período comprendido entre enero de 1999 y diciembre de 2003, con los cuales se realizaron tres estudios para determinar la presencia de niveles elevados de ABTHF y enfermedades colónicas.

El estudio 1 fue de tipo exploratorio. En éste se seleccionaron pacientes que presentaban litiasis vesicular o estuvieran colecistectomizados por esta causa, condición que permitió valorar la alta probabilidad de que presentaran trastornos del metabolismo de los ácidos biliares. En ellos se midió el nivel de éstos y en los que los tuvieron elevados, se determinó la frecuencia de lesiones macroscópicas diagnosticadas por endoscopia y se diagnosticaron histológicamente las colitis inespecíficas, determinando, en ambos casos, su localización anatómica en el colon.

El estudio 2 también fue exploratorio. Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución. En ellos se midieron sus niveles de ABTHF y se determinó, por estudio histológico de la mucosa colónica, la presencia de displasia, relacionando ambas variables.

El estudio 3 fue de tipo descriptivo, transversal. En éste se calculó un tamaño de muestra total de un universo de pacientes con un cuadro clínico que justificara la realización de una colonoscopia, solicitando su consentimiento por escrito para participar del estudio donde se realizaría, además, toma de muestra para biopsia de la mucosa del colon y determinación de niveles de ABTHF. Estos últimos fueron clasificados como elevados o normales y dieron lugar a la formación de dos grupos de pacientes con los cuales se procedió a realizar las especificaciones propuestas en el objetivo 3.

## ***Consideraciones éticas***

Los estudios estuvieron justificados desde el punto de vista ético ya que se realizaron conforme a los principios establecidos en la declaración de Helsinki (141).

1. Los pacientes incluidos podrían obtener un beneficio terapéutico posterior a su participación (polipectomía endoscópica, cirugía o tratamiento con fibra dietética).
2. El cuidado que recibieron los sujetos y las decisiones tomadas que los afectaron fueron responsabilidad del equipo médico, debidamente calificado, que participó activamente en la investigación.
3. A los pacientes incluidos se les solicitó su consentimiento por escrito, luego de haber sido instruidos debidamente acerca de las características del estudio, sus objetivos, beneficios y riesgos posibles, e informados sobre su derecho a participar o no y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerlos a limitaciones para su atención u otro tipo de represalia.
4. Se respetó la integridad de los pacientes dentro de la investigación, asegurando la confidencialidad de toda la información personal recogida durante ésta.
5. Ningún investigador participante en el estudio utilizó formas coercitivas ni influyó sobre el paciente para obtener su participación en la investigación.
6. El lenguaje utilizado durante las entrevistas no fue técnico, sino práctico y comprensible.

## ***Criterios de inclusión***

En las tres investigaciones se tuvo, como criterio general de inclusión la conformidad del paciente, por escrito, para participar en ésta.

A continuación se relacionan los criterios de inclusión específicos para cada estudio.

### Estudio 1

1. Pacientes mayores de 16 años con diagnóstico de litiasis vesicular o colecistectomizados por esta causa con ABTHF elevados, y resultados negativos en estudios parasitológicos seriados de heces fecales.

### Estudio 2

1. Pacientes con diagnóstico de colitis ulcerativa idiopática de diez años o más de evolución.

### Estudio 3

1. Pacientes con 20 o más años de edad, que presentaran un cuadro clínico que justificara la realización de colonoscopia, biopsia de la mucosa de colon y determinación de los niveles de ABTHF.

### ***Criterios de exclusión***

En las tres investigaciones se tuvieron en cuenta los siguientes criterios de exclusión:

1. Pacientes con antecedentes de haber recibido tratamiento radiactivo en la región pélvica, por procesos neoproliferativos ginecológicos o prostáticos.
2. Pacientes con síndrome de intestino corto.
3. Pacientes en los que estuvieran contraindicadas la realización de la colonoscopia y la toma de biopsia de colon según las Normas Cubanas de Gastroenterología (142).
4. Embarazadas y puérperas.
5. Pacientes con antecedentes de tratamiento con ácido ursodesoxicólico, colestiramina, fibras dietéticas, calcio, etc., que disminuyen los niveles y la acción de los ácidos biliares en el colon, y con tratamientos que aumenten los niveles de éstos, como son las sales biliares.
6. Pacientes con cuadro clínico de síndrome diarreico agudo con o sin fiebre, inmunodeprimidos referidos y aquellos con antecedentes de consumo de antibióticos, en altas dosis en un período aproximado de 30 días antes el

examen colonoscópico.

7. Pacientes con hepatopatías crónicas conocidas o diagnosticadas (hepatitis, cirrosis hepática de diversas etiologías, etcétera.).
8. Pacientes con colectomía subtotal o con anastomosis íleo-rectal.
9. Pacientes que se nieguen a entrar en el estudio.
10. Pacientes que presenten alguna complicación durante la colonoscopia o cuya muestra de biopsia no sea útil para el diagnóstico.
11. Pacientes con cáncer colorrectal hereditario diagnosticado, poliposis adenomatosa familiar y cáncer colorrectal hereditario no polipósico.
12. Pacientes alcohólicos.
13. Pacientes con resultados positivos en estudios parasitológicos seriados de heces fecales.

Adicionalmente, los estudios 2 y 3 tuvieron otros criterios específicos de exclusión, que son:

#### Estudios 2 y 3

1. Pacientes con litiasis vesicular y colecistectomizados.

#### Estudio 3

1. Pacientes con diagnóstico de enfermedad inflamatoria del colon (enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa idiopática).

### ***Criterios de diagnóstico***

En algunos países los estudios sobre la excreción de ácidos biliares por las heces fecales en relación con enfermedades del colon se han limitado a la medición de los ABT, para lo cual se utilizan técnicas diversas. En países más desarrollados utilizan métodos avanzados para la determinación detallada de los perfiles metabólicos de los ácidos biliares en heces fecales, lo cual permite la detección de un mayor número de fracciones individuales y brinda información sobre su modo de conjugación en la muestra fecal original (143-147).

En nuestra investigación, decidimos utilizar un método enzimático sencillo, de fácil aplicación en la práctica clínica (148, 149) y de bajo costo, si lo comparamos con otros procedimientos tecnológicamente más sofisticados. La cualidad bajo costo no implica disminución de la calidad del método, ya que otros investigadores han obtenido resultados satisfactorios con su utilización (92).

Los niveles de ABTHF se consideraron elevados cuando presentaron cifras de  $\geq 830 \mu\text{mol/g}$ , valor determinado y utilizado en el laboratorio de Investigaciones Bioquímicas del IGE, desde el año 1993. El diagnóstico de las lesiones macroscópicas del colon se realizó por colonoscopia y el estudio microscópico por histología. Se clasificaron según los criterios que se refieren en la descripción de las variables.

### ***Procedimiento del estudio***

En los tres estudios a todos los pacientes seleccionados se les realizó un examen endoscópico del colon, con un equipo Olympus CF-L serie E. Previa preparación del paciente, se le colocó en decúbito lateral izquierdo y se introdujo el equipo a través del canal anal, para visualizar la mucosa del colon hasta el ciego y la válvula ileocecal.

Durante la colonoscopia, se buscó la presencia de lesiones macroscópicas de la mucosa (pólipos, úlceras, colitis, lesiones de aspecto maligno, etc.). Se describieron sus características y localización anatómica.

Una vez en el ciego, se introdujo la pinza de toma de biopsia a través del canal del fibrocolonoscopio, para obtener fragmentos de mucosa en los distintos segmentos anatómicos del colon. En los casos en que no existieron lesiones macroscópicas, se tomaron muestras para biopsia de los cuatro segmentos del colon. Cuando existió alguna lesión macroscópica, sólo se tomó muestra de dicha lesión, independientemente de su localización. Los fragmentos fueron depositados en varios frascos con formol al 10% y rotulados en ese mismo orden. Se taparon y se enviaron al Departamento de Anatomía Patológica, donde fueron procesados y estudiados para el diagnóstico histológico.

En el estudio 1, los pacientes tuvieron un diagnóstico previo de litiasis vesicular o colecistectomizados y en el 2, de colitis ulcerativa idiopática. A ellos se les indicó un examen para determinar el nivel de los ABTHF y, posteriormente, se les realizaron estudios colonoscópicos. En el caso del estudio 3, una vez realizada la colonoscopia, independientemente de sus resultados y de los antecedentes clínicos, a cada paciente se le determinaron los niveles de ABTHF.

En todos los casos, los pacientes recogieron la muestra de heces fecales en su hogar, la depositaron en un frasco limpio y rotulado con su nombre, y la entregaron en el laboratorio de Investigaciones Bioquímicas del IGE, donde fueron congeladas a -20 °C hasta el momento de hacer el examen de los ácidos biliares por el método de Coraminas modificado (148).

Se pesó 1g de heces, al cual se le adicionaron 5 ml de una mezcla de acetona / metanol (1:1), que se agitó durante 40 minutos en una zaranda. Posteriormente se centrifugó a 5 000 rpm durante 30 minutos y se decantó el sobrenadante que fue evaporado en un baño termostatado hasta su sequedad (149).

Para determinar los ABT presentes en la muestra, se disolvió el extracto en 0,5 ml de metanol. De ahí se tomaron 10 µl que se añadieron a un tubo de ensayo que contenía 2,5 ml de la solución enzimática [3 $\alpha$ - hidroxi-esteroide deshidrogenasa, nicotinamida adenin dinúcleotido (NAD)] y 0,5 ml de metanol, se mantuvieron en agitación continua durante 40 minutos e inmediatamente después se leyeron las densidades ópticas en un espectrofotómetro a 340 nm contra blanco muestra y un blanco reactivo, según método de Fausa (149).

Todos estos reactivos fueron suministrados por Quimefa y SIGMA, con sus respectivos certificados de calidad y mantenidos en condiciones adecuadas.

### **Variables del estudio**

1. Ácidos biliares totales en heces fecales.
2. Diagnóstico endoscópico.

3. Diagnóstico histológico.
4. Localización de las lesiones anatómicas.
5. Edad.

### *1. Ácidos biliares totales en heces fecales*

Como se explica en el proceder de su determinación, se consideró como ABTHF elevados aquellos resultados  $\geq 830 \mu\text{mol/g}$ , y como normales, las cifras por debajo de este valor. Todos los pacientes entregaron una sola muestra de heces fecales, a partir de la cual se determinaron los niveles de ácidos biliares de forma paralela.

Según señalamos anteriormente, el estudio 1 estuvo conformado por pacientes con diagnóstico de litiasis vesicular o colecistectomizados y ABTHF. En el estudio 2 se investigaron pacientes con colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución, con ABT tanto elevados como normales en heces fecales. En el estudio 3 se conformaron dos grupos de pacientes a partir de la muestra total, al realizar la determinación de ABTHF: los que tenían los ABT elevados y los que los tenían normales. El grupo con ABT elevados estuvo constituido por 174 pacientes, de los cuales 120 eran mujeres, con un promedio de edad de 56,0 años, y 54 eran hombres, con un promedio de edad de 49,4 años. El otro grupo quedó conformado por 132 pacientes con ABT normales, de los cuales 97 eran mujeres, con un promedio de edad de 55,4 años, y 35 eran hombres, con un promedio de edad de 49,8 años.

### *2. Diagnóstico endoscópico*

A todos los pacientes de los estudios 1, 2 y 3 se les realizó una sola colonoscopia y se determinó la presencia o no de lesiones en el colon, nuevas o sobreañadidas a la enfermedad de base, como ocurrió en el estudio 2. Los resultados (150, 151) se expresaron de acuerdo con las siguientes categorías:

- *Normal*: Mucosa de superficie lisa, con presencia de algunos pliegues semi-lunares, de color rosado, con la trama vascular visible en toda su extensión. En el estudio 2 esta categoría se empleó en los casos en que la colitis ulce-

rativa idiopática se encontraba inactiva.

- *Pólipo*: Elevación de tejido que protruye hacia la luz del intestino. Macroscópicamente, por su morfología, pueden ser pediculados o sésiles; por su apariencia externa; lisos, irregulares, ulcerados, polilobulados, de color rosado o rojos; por su número, únicos, dobles o múltiples.
- *Úlcera*: Pérdida de continuidad de la mucosa, de variada forma, que por su profundidad puede ser superficial o profunda; por su número, única (úlcera solitaria) o múltiple; por su aspecto, de bordes bien definidos o irregulares, prominentes, necróticos, festoneados, con fondo cubierto por material blanco-amarillento, sangre o coágulo oscuro, con o sin mucosa infiltrada a su alrededor.
- *Colitis inespecífica*: Se caracteriza por presentar discretos signos inflamatorios en la mucosa (eritema y edema) pero cuya etiología no se puede definir macroscópicamente.
- *Lesión de aspecto maligno*: Lesiones que protruyen hacia la luz del órgano que no tienen aspecto de pólipos, o están circunscritas a la mucosa, ulceradas o no, mamelonantes, irregulares, vegetantes, friables (fácilmente sanguíneas).
- *Divertículos*: Pequeños y variados orificios de forma sacular, cubiertos o no por materia fecal. En algunos casos se puede observar un coágulo en su fondo o signos de sangramiento reciente. Pueden o no existir signos inflamatorios a su alrededor.
- *Colitis ulcerativa idiopática*: Excepto en el estudio 3, donde la presencia de ésta constituyó un criterio de exclusión. Esta enfermedad se caracteriza por mucosa eritematosa, edematosa, con pérdida del patrón vascular; donde además se pueden observar sangramientos, petequias, ulceraciones y, en casos avanzados, lesiones pseudopolipoideas o puentes mucosos, que reflejan el tiempo de evolución de la enfermedad y el grado e intensidad del proceso inflamatorio de la mucosa (152, 153).
- *Otras lesiones*: Las no incluidas en las categorías anteriores presentes en la mucosa y observadas durante el proceder colonoscópico.

En el estudio 1 se determinó la distribución de la frecuencia de los diagnósticos endoscópicos en los pacientes estudiados con ABT elevados, mientras que en el estudio 2, sólo se realizó la colonoscopia para tomar muestra de la mucosa para biopsia, independientemente de los niveles de ABT, puesto que ya entraron en el estudio con el diagnóstico endoscópico de colitis ulcerativa idiopática, lo cual no excluyó la descripción de lesiones sobreañadidas a la enfermedad. En el estudio 3 se distribuyó la frecuencia de los diagnósticos endoscópicos según fueran normales o elevados los niveles de ABT.

### *3. Diagnóstico histológico*

A todos los pacientes durante el proceder colonoscópico se les tomó muestras de los diferentes segmentos de la mucosa colónica, referidos más adelante, para estudio histológico, excepto cuando se observó una lesión, en cuyo caso sólo se tomó muestra de ésta para biopsia y no del resto del colon.

En los estudios 1 y 3 se describieron los resultados teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- *Normal*: Tejido que presenta toda la integridad de sus componentes celulares.
- *Pólipos*: Se clasificaron en las categorías que se describen a continuación (154-161):

#### **Pólipos mucosos neoplásicos**

##### **Adenomas**

*Tubulares*. Histológicamente presentan una estructura glandular compleja con múltiples ramificaciones y pueden llegar a contener hasta 25% de tejido vellososo. Las células se observan unidas entre sí, con núcleos de gran tamaño, hiperchromáticas y con aumento del número de mitosis. Por lo general, la producción de moco está disminuida. La membrana basal no se encuentra engrosada.

*Vellosos*. Su arquitectura histológica está compuesta por glándulas que se extienden desde la superficie hacia el centro con una disposición digitiforme.

**Túbulo-vellosos.** Presentan patrones histológicos de los dos anteriores y contienen entre 25 y 75% de tejido veloso. La degeneración en cáncer es de 22%.

Se detectó la presencia de displasia en los adenomas diagnosticados en la tercera investigación, y se definió como la alteración de la célula adulta que se manifiesta por una variación de su volumen, forma y organización (160-163).

Se clasificó en grados de acuerdo con los siguientes criterios:

- *Leve.* Los núcleos mantienen su polaridad basal en la célula, son hiperclómáticos, aumentados de tamaño y alongados, sin nucleolos prominentes y con pérdida de la mucina citoplasmática de las células caliciformes; las glándulas exhiben ramificación y brotación, y se encuentran más agrupadas.
- *Moderada.* Los núcleos tienen gran pleomorfismo, con nucleolos prominentes, gran pérdida de mucina y glándulas desordenadas y apelotonadas.
- *Severa.* El pleomorfismo nuclear es mayor, existe un gran número de nucleolos prominentes, apilamiento de células y gran irregularidad en la disposición glandular, así como una proliferación celular mayor a nivel de las criptas, con pérdida de la polaridad, lo cual produce un aspecto cribiforme desordenado.

En el estudio 3 se evaluó particularmente la distribución de frecuencia de los adenomas según su grado de displasia, la edad de los pacientes y los niveles de ABTHF. Éstas son lesiones con un alto potencial de malignidad y con una frecuencia relativamente alta dentro de la población que presenta lesiones histológicas del colon (164).

### Adenocarcinomas

Los adenocarcinomas pueden ser invasores o no invasores.

#### *No invasores*

- *In situ.* Se caracteriza por no atravesar la capa muscular de la mucosa y, por tanto, carece de potencial metastásico debido a la ausencia de tejido linfático en ese nivel; la proliferación celular ocurre dentro de las criptas y la membrana basal que rodea la glándula se queda intacta.

- Intramucoso. Cuando un foco de células neoplásicas crece más allá de la membrana basal o hacia la lámina propia de la mucosa, pero sin potencial metastásico al no sobrepasar la *musculares mucosae*, lo que hace que el carcinoma permanezca confinado a la mucosa, sin alcanzar la submucosa. Aunque los términos de adenocarcinoma *in situ* e intramucoso colorrectal están perfectamente definidos histopatológicamente, la World Health Organization recomienda que no sean usados en dictámenes anatomicopatológicos debido a su componente emotivo: los términos implican un diagnóstico de cáncer para el paciente a pesar de que la lesión no tiene riesgo de metástasis y está completamente extirpada (165).

#### *Invasor*

Cuando las células neoplásicas invaden la capa muscular de la mucosa.

#### Pólipos mucosos no neoplásicos

##### Hiperplásicos

Se caracterizan histológicamente por una proliferación de glándulas mucosas sin atipias y por carecer de riesgo de malignidad, siempre que no contengan tejido adenomatoso (161).

##### Inflamatorios

No asociados a enfermedades inflamatorias intestinales conocidas ni a parásitismo intestinal de localización colónica.

##### Hamartomatosos

Pueden ser de dos tipos: juveniles y de Peutz-Jeghers(156-159):

##### *Juveniles*

Están constituidos por glándulas dilatadas que forman quistes llenos de moco, motivo por el cual se les conoce como “pólipos de retención”.

##### *De Peutz-Jeghers*

En la mayoría de las ocasiones forman parte del síndrome de poliposis hereditaria.

taria o se presentan esporádicos.

#### Mucosos

Pequeñas excrecencias de la mucosa, constituidas histológicamente por mucosa colónica normal (162).

#### Pólipsos submucosos

#### Linfoïdes

Histológicamente están constituidos por tejido linfoide.

#### Lipomas

Con contenido graso en su interior.

#### Otras lesiones

Suelen presentarse otras lesiones como son los tumores carcinoides y las metástasis, sobre todo las de los melanomas. También, aunque son menos frecuentes, se pueden considerar dentro de este grupo: los leiomiomas, los neurofibromas, los hemangiomas, las endometriosis y los sarcomas de Kaposi, los cuales se tuvieron en cuenta en este estudio (161). Todas estas lesiones malignas fueron denominadas en los resultados como cáncer.

#### – *Colitis inespecífica (estudios 1 y 3)*

Caracterizada por un proceso inflamatorio crónico en el que predominan los linfocitos y plasmocitos, sin presencia de atrofia glandular ni alteraciones histológicas específicas de otras enfermedades, por ejemplo: amebiasis, colitis ulcerativa idiopática, enfermedad de Crohn, colitis microscópica, etcétera.

Se clasificó teniendo en cuenta su intensidad, medida según la cantidad de células inflamatorias y la extensión de ese infiltrado en la mucosa, de la manera siguiente:

- *Leve.* escaso infiltrado inflamatorio en la parte más superficial de la lámina propia de la mucosa.
- *Moderada.* infiltrado inflamatorio que se sitúa en toda la extensión de la mu-

cosa y duplica las cifras normales de células que se observan habitualmente en esta región.

- Severa. infiltrado inflamatorio que ocupa toda la extensión de la mucosa y cuadriplica las cifras normales que habitualmente se observan en esta región.

Se determinó el número de pacientes en los cuales aparecieron lesiones histológicas en, al menos, una de las localizaciones anatómicas descritas anteriormente. En aquellos pacientes donde macroscópicamente no se observó una lesión, se tomaron muestras para biopsia de cada uno de los segmentos referidos en la variable “Localización anatómica de las lesiones histológicas”. Se determinó el número de diagnósticos histológicos de la mucosa colónica.

En el estudio 1 se distribuyó la frecuencia de colitis inespecífica según su localización anatómica. En el estudio 3, se evaluó particularmente la distribución de frecuencia de los diagnósticos de colitis inespecíficas, su grado de intensidad y los niveles de ABTHF.

- Colitis ulcerativa idiopática (estudio 2)

Los signos histológicos de esta entidad son: edema, eritema, hemorragia petequial, ulceraciones, abscesos de las criptas, disminución de los *globex cells* y marcada infiltración difusa de neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y mastocitos que participan en el proceso inflamatorio (166). Es de señalar que cuando se determinó histológicamente la presencia de displasia, se tuvo en cuenta la forma de clasificarla en la colitis ulcerativa idiopática y se excluyeron las llamadas “falsas displasias” que se presentan en las intensas crisis de agudización de la enfermedad. La clasificación es la siguiente:

- *Bajo grado de displasia*: Se observa la presencia de numerosos núcleos aumentados de volumen e hiperchromáticos, situados en la mitad inferior de la célula de forma desordenada, con pérdida de la uniformidad y orientación arquitectónica celular en el epitelio superficial o glandular.
- *Alto grado de displasia*: Presencia de abundantes núcleos aumentados de

volumen e hipercromáticos, situados irregularmente en cualquier lugar de la célula, con pérdida de la uniformidad y orientación arquitectónica celular, en el epitelio superficial o glandular, y presencia de escasas mitosis.

En este estudio, la displasia en la mucosa de los pacientes con colitis ulcerativa idiopática se midió de forma dicotómica como presente o ausente.

#### *4. Localización anatómica de las lesiones (estudios 1 y 3)*

Se estableció la localización según los siguientes segmentos:

- *Colon derecho*: Constituido por el ciego y el colon ascendente hasta el ángulo hepático.
- *Colon transverso*. Es el segmento más largo (40-50 cm). Se extiende desde la flexura del ángulo hepático hasta el ángulo esplénico.
- *Colon descendente*. Se extiende desde la flexura esplénica hasta la unión con el sigmoide, aproximadamente a 20-30 cm del borde anal.
- *Rectosigmoide*. El recto está situado entre el esfínter anal y el sigmoide y mide de 13 a 15 cm. El sigmoide se extiende desde su unión con el recto hasta 30 cm del esfínter, por tanto mide 15 cm aproximadamente (150, 151).

En el estudio 1 se determinó la proporción de lesiones encontradas, mediante estudios endoscópicos, en cada uno de los segmentos anteriormente mencionados, mientras que en el estudio 3 esta determinación se hizo mediante estudios histológicos.

#### *5. Edad (estudio 3)*

En este estudio se consideró la edad como una variable que pudiera influir en los resultados histológicos de los pacientes, ya que existen evidencias de que más de 94% de los casos de cáncer colorrectal se presenta después de los 50 años, a partir de lesiones consideradas como premalignas (pólipos) (32), por lo cual era una variable que se debía tener en cuenta, dado que en la muestra teníamos pacientes con edades entre 20 y 89 años de edad. En el análisis se

consideró el mayor efecto cuando las lesiones fueron moderadas o severas.

Se crearon dos grupos de edad:

- 20-50 años.
- 51-89 años.

Los resultados de las variables medidas en la investigación se recogieron en un modelo de registro de datos creado al efecto.

La información fue procesada de forma computarizada utilizando una Pentium I y el programa MEDISTAT.

## ***Estadística***

### *Cálculo del tamaño de muestra*

Los estudios 1 y 2 fueron exploratorios, por lo cual no se realizó el cálculo para un tamaño de muestra determinado. El estudio 1 quedó constituido por 54 pacientes con litiasis vesicular o colecistectomizados y niveles de ABTHF con edades comprendidas entre 40 y 62 años y un promedio de edad de 49,5 años. En el estudio 2, el grupo se conformó con 35 pacientes que tenían colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución con niveles normales o elevados de ABTHF y presencia o no de displasia. Las edades estuvieron comprendidas entre 30 y 83 años para un promedio de 56,2 años.

En el estudio 3 el cálculo del tamaño de muestra mínimo necesario para comparar dos proporciones poblacionales independientes, se estimó mediante la siguiente fórmula:

Dada la hipótesis:

$$H_0: P_1 = P_2$$

$$H_1: P_1 \neq P_2$$

$$n = \frac{\{Z_{1-\alpha}\sqrt{[2P(1-P)]} + Z_{1-\beta}\sqrt{[P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)]}\}^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Donde:

$P_1$  = Proporción de pacientes con ABTHF elevados.

$P_2$  = Proporción de pacientes con ABTHF normales.

$Z_{1-\alpha}$  = Región crítica para la hipótesis nula ( $H_0$ ).

$Z_{1-\beta}$  = Región crítica para la hipótesis alternativa ( $H_1$ ).

$\alpha = 0,05$

$\beta = 0,10$

y se obtuvo un tamaño de muestra de 133 pacientes para cada grupo, con un tamaño mínimo de muestra total de 266 pacientes.

Al final de este estudio, el tamaño de muestra definitivo fue de 306 pacientes, dado que el período de tiempo de la investigación permitió incorporar a otros pacientes, de los cuales 217 (70,9%) fueron mujeres, con un promedio de edad de 55,4 años, y 89 (29,1%) hombres, con un promedio de edad de 53,3 años.

### *Plan de análisis estadístico*

Para cumplir cada uno de los objetivos de esta investigación, se tuvieron en cuenta los siguientes análisis estadísticos:

- *Objetivo 1.* Se distribuyó la frecuencia de lesiones macroscópicas y del diagnóstico histológico de colitis inespecífica en pacientes con niveles elevados de ABTHF, según su localización anatómica.
- *Objetivo 2.* Se realizó una prueba de  $X^2$  con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$  para determinar la relación entre los niveles de ABTHF y presencia de displasia en la colitis ulcerativa idiopática de diez o más años de evolución.
- *Objetivo 3.* Se realizaron los análisis siguientes:
  - Para identificar la asociación entre los niveles de ABTHF y la presencia de lesiones macroscópica y microscópica en el grupo total, se utilizó la prueba de probabilidad exacta de Fisher con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ .
  - Se utilizó la prueba de Mantel-Haenszel para determinar la influencia de

la edad sobre la aparición de las lesiones microscópicas y la severidad de éstas.

- Se describieron porcentualmente los diagnósticos histológicos realizados en pacientes con ABTHF elevados y normales, y se realizó una prueba de  $X^2$  con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$  para determinar la diferencia entre las frecuencias de distribución de estos diagnósticos en ambos grupos.
- Se describieron las frecuencias absolutas y relativas de los diagnósticos endoscópicos e histológicos de la mucosa colónica, según los niveles de ABTHF y la localización.
- También se realizó una prueba de  $X^2$  con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$  para determinar la diferencia entre los grados de displasia de los adenomas y la intensidad de las colitis inespecíficas, según los niveles de ABTHF, respectivamente.

Todos los resultados de las variables medidas se presentaron en tablas y gráficos.

## Capítulo 3. ***Resultados***

Como esta investigación abarca tres estudios, a continuación serán expuestos los resultados de cada uno por separado, manteniendo la secuencia en cuanto a la numeración de las tablas y gráficos correspondientes.

### ***Resultados del estudio 1***

En los 54 pacientes con litiasis vesicular o colecistectomizados por esta causa, con niveles elevados de ABTHF, que participaron en el estudio se realizaron 39 diagnósticos de lesiones macroscópicas del colon. La distribución de éstas, según su localización, se refleja en la tabla 1. Nótese que cualquier lesión diagnosticada aparece con mayor frecuencia en la región rectosigmoidea y que, de los 21 pólipos encontrados, más de la mitad (57%) aparecieron en este segmento. El pólipo constituyó la única lesión macroscópica que apareció, además, en el resto de las localizaciones descritas, aunque con menor frecuencia que en la región rectosigmoidea.

Tabla 1. Distribución de lesiones macroscópicas del colon, según su localización en pacientes con niveles elevados de ácidos biliares totales (IGE)

LESIONES MACROSCÓPICAS	LOCALIZACIÓN							
	Colon derecho		Colon transverso		Colon descendente		Rectosig- moide	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Pólipo (n = 21)	1	4,8	3	14,2	5	24,0	12	57,0
Divertículos (n = 8)	-	-	-	-	3	38,0	5	62,0
Lesión de aspecto maligno (n = 4)	-	-	-	-	-	-	4	100,0
Colitis Inespecífica (n = 4)	-	-	-	-	-	-	4	100,0
Colitis ulcerativa idiopática (n = 2)	-	-	-	-	-	-	2	100,0
<b>Total (n = 39)</b>	<b>1</b>	<b>2,6</b>	<b>3</b>	<b>7,7</b>	<b>8</b>	<b>20,5</b>	<b>27</b>	<b>69,2</b>

FUENTE: Registro de datos (estudio 1).

En la tabla 2 se presenta la distribución de las colitis inespecíficas diagnosticadas histológicamente según su localización anatómica. Como puede verse, este diagnóstico se dispuso de forma similar en todos los segmentos del colon.

Tabla 2. Distribución de la colitis inespecífica diagnosticada histológicamente, según su localización (IGE)

LOCALIZACIÓN	No.	%
Colon derecho	33	23,7
Colon transverso	34	24,4
Colon descendente	37	26,6
Rectosísmoide	35	25,3
<b>Total</b>	<b>139</b>	<b>100,0</b>

FUENTE: Registro de datos (estudio 1).

## **Resultados del estudio 2**

Al concluir el estudio de los 35 pacientes que padecían colitis ulcerativa idiopática con diez o más años de evolución, se encontró que en uno de ellos fue diagnosticado adenocarcinoma de colon; este paciente tuvo niveles elevados de ABTHF.

De los 34 restantes, 14 presentaron displasia y de éstos, 11 (78,6%) tuvieron los ABT elevados. En los 20 pacientes sin displasia, sólo 3 (15,0%) presentaron los ABT elevados y 17 (85,0%), cifras normales de éstos. Se observó diferencia significativa ( $p<0,01$ ) (tabla 3).

Tabla 3. Distribución de pacientes con displasia presente o ausente, según niveles de ácidos biliares totales (IGE)

DISPLASIA	ÁCIDOS BILIARES TOTALES			
	Normales		Elevados	
	No.	%	No.	%
Presente (n = 14)	3	21,4	11	78,6
Ausente (n = 20)	17	85,0	3	15,0
<b>Total (n = 34)</b>	<b>20</b>	<b>58,8</b>	<b>14</b>	<b>41,2</b>

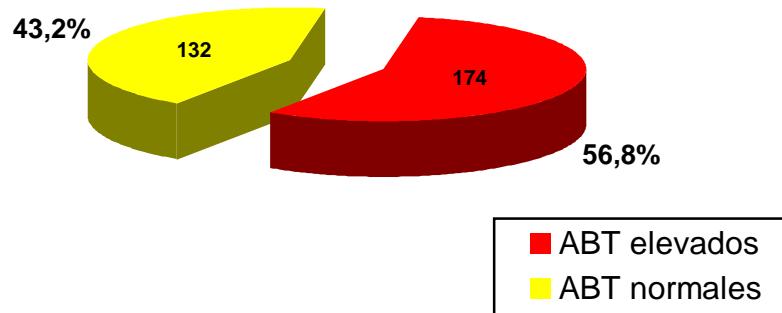
P< 0,01

FUENTE: Registro de datos (estudio 2).

### **Resultados del estudio 3**

En la muestra del estudio 3 quedaron incluidos 306 pacientes. En el gráfico 1 se observa que de ellos, 174 (56,8 %) presentaron niveles de ABT elevados y 132 (43,2%) los tuvieron normales.

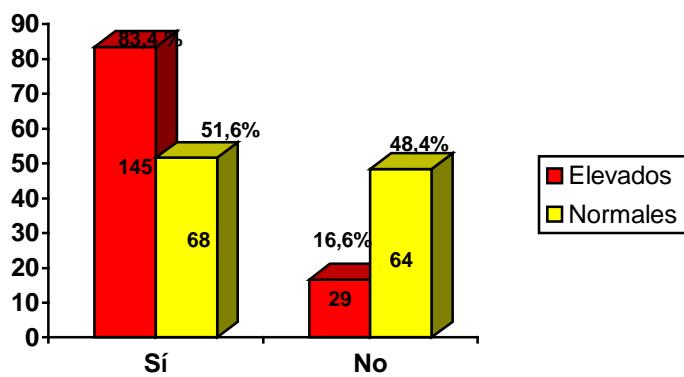
Gráfico 1. Distribución de pacientes, según niveles de ácidos biliares totales (IGE)



Fuente: Registro de datos (estudio 3)

En el gráfico 2, se presenta la distribución de los pacientes de acuerdo con los niveles de ABTHF y la presencia de lesiones macroscópicas de la mucosa del colon, que fueron diagnosticadas endoscópicamente. Se observa que de los 174 pacientes que tuvieron los niveles elevados de ABTHF, 145 (83,4%) presentaban lesiones macroscópicas en la mucosa colónica, cifra ésta muy superior a los 68 pacientes (51,6%) que tuvieron estas lesiones con ABTHF normales. Se observó una diferencia significativa entre el número de lesiones macroscópicas encontradas en ambos grupos ( $X^2 = 35,9197$ ;  $p = 0,000$ ).

Gráfico 2. Distribución de pacientes, según niveles de ácidos biliares totales y presencia o no de lesiones macroscópicas en la mucosa del colon, observadas por endoscopia (IGE)



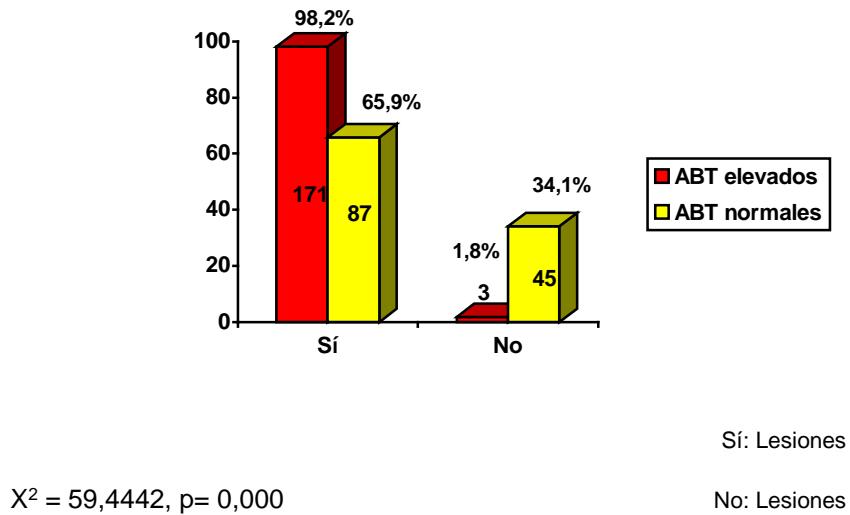
$$X^2 = 35,9197; p = 0,000$$

Sí: Lesiones  
No: Lesiones

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

En el gráfico 3 se describe la distribución de los pacientes según los niveles de ABTHF con o sin lesión microscópica diagnosticada por estudios histológicos.

Gráfico 3. Distribución de pacientes, según niveles de ácidos biliares totales y presencia o no de lesiones microscópicas, observadas por estudios histológicos (IGE)



FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

Cuando analizamos los resultados de este gráfico, se destaca la proporción de pacientes con niveles elevados de ABTHF que tuvieron lesiones en la mucosa colónica (98,2%), mientras que en el grupo de pacientes con niveles de ABTHF normales esta proporción fue menor (65,9%). La proporción de pacientes que presentaban lesiones en el colon fue significativamente mayor cuando los niveles de los ABT estaban elevados ( $X^2 = 59,4442; p= 0,000$ ).

Al analizar la distribución de los pacientes según los niveles de ABT y la presencia de lesiones microscópicas diagnosticadas histológicamente por grupo de edad (tabla 4), se observó que del total de 103 pacientes entre 20 y 50 años, 53 tuvieron niveles elevados de ABTHF, y de ellos, 51 (96,2%) presentaron algún tipo de lesión en el colon. De los 50 en este mismo grupo de edad con niveles normales, 60,0% presentó lesiones.

Tabla 4. Distribución de pacientes según niveles de ácidos biliares totales y presencia o no de lesiones microscópicas observadas por estudios histológicos, por grupo de edad (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	PRESENCIA DE LESIONES MICROSCÓPICAS							
	Edad							
	20-50 años n = 103				51-89 años n = 203			
	Sí		No		Sí		No	
	No.	%	No.	%.%	No.	%	No.	%
Elevados	51	96,2	2	3,8	120	99,1	1	0,9
Normales	30	60,0	20	40,0	57	69,5	25	30,5

$\chi^2 = 79,97$ ;  $p = 0,000$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

En el grupo entre 51 y 89 años de edad, constituido por 203 pacientes, 121 presentaron niveles elevados de ABTHF y en 120 (99,1%) de éstos se diagnosticaron lesiones microscópicas. De los 82 con niveles normales de ABTHF, 57 (69,5%) presentaron este tipo de lesiones. La influencia de la edad fue significativa ( $\chi^2 = 79,97$ ;  $p = 0,000$ ).

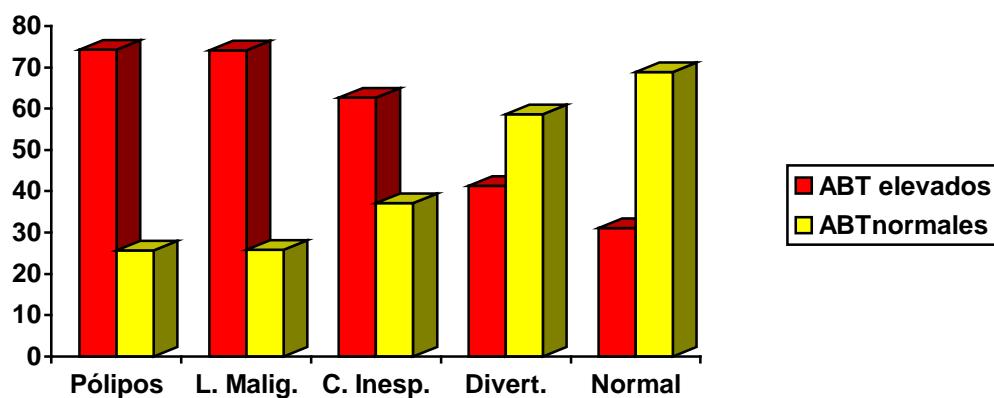
En el gráfico 4 se presenta la distribución de los diagnósticos endoscópicos según los niveles de ABTHF. Obsérvese que el total de diagnósticos realizados endoscópicamente (356) no coincide con el de pacientes estudiados (306). Esto se debe a que en un paciente se realizó más de un diagnóstico endoscópico.

Los pacientes con ABT elevados tuvieron una mayor proporción de lesiones macroscópicas que los pacientes con niveles normales. Dentro de los diagnósticos patológicos más frecuentes en los pacientes con niveles elevados se destacan los pólipos (74,2%), las lesiones de aspecto maligno (74,1%) y las colitis inespecíficas (62,7%). En el grupo de pacientes con niveles normales, los diagnósticos más frecuentes fueron los de aspecto endoscópico normal (68,8%) y los divertículos (58,6%). La frecuencia de los diagnósticos endoscópicos reali-

zados fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con ABTHF elevados ( $X^2= 51,6322$ ,  $p = 0,000$ ).

En el gráfico no se representan la hiperplasia linfoide y las úlceras por tener proporciones insignificantes.

Gráfico 4. Distribución de diagnósticos endoscópicos, según niveles de ácidos biliares totales (IGE)



L. Malig: Lesiones malignas      Divert: Divertículos    C. Inesp: Colitis inespecífica

$$X^2= 51,6322; p = 0,000$$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3)

La tabla 5 presenta la distribución de los diagnósticos histológicos, según los niveles de ABTHF. Obsérvese que el total de diagnósticos realizados histológicamente (870) tampoco coincide con el de los pacientes estudiados (306) debido a que en algunos pacientes se realizó más de un diagnóstico histológico. La proporción de diagnósticos histológicos normales en los pacientes con niveles elevados de ABTHF fue menor (15,2%) que en los pacientes con niveles normales (84,8%). Dentro de los diagnósticos histológicos que más se destacan están los adenomas (72,1%) y los adenocarcinomas (70,2%). En los pacientes con ABTHF normales, estas mismas categorías se comportaron de manera muy diferente a los que tenía esos niveles elevados.

Tabla 5. Distribución de diagnósticos histológicos, según niveles de ácidos biliares totales en heces fecales (IGE)

DIAGNÓSTICOS HISTOLÓGICOS	ÁCIDOS BILIARES TOTALES				
	Elevados		Normales		Total
	No.	%	No.	%	
Pólipo hiperplásico	2	100,0	-	-	2
Pólipo inflamatorio	9	81,8	2	18,2	11
Adenoma	83	72,1	32	27,9	115
Adenocarcinoma	26	70,2	11	29,8	37
Colitis inespecífica	251	59,4	171	40,6	422
Normal	42	15,2	233	84,8	275
Linfoma	-	-	5	100,0	5
Úlcera	-	-	1	100,0	1
Pólipo juvenil	-	-	1	100,0	1
Lipoma	-	-	1	100,0	1
<b>Total</b>	<b>413</b>	<b>47,5</b>	<b>457</b>	<b>52,5</b>	<b>870</b>

$\chi^2 = 189,2358$ ;  $p = 0,000$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

Los adenocarcinomas se presentaron en 26 pacientes (70,2%) con niveles elevados de ABTHF. Esta cifra representa más del doble de los 11 pacientes con el mismo diagnóstico con niveles normales (29,8%). Obsérvese también que los cinco pacientes con diagnóstico de linfoma tuvieron niveles de ABTHF normales. Se obtuvo una diferencia significativa en cuanto al número de diagnósticos histológicos según los niveles de ABTHF ( $\chi^2 = 189,2358$ ,  $p = 0,000$ ).

En la tabla 6, que se refiere a la distribución de las lesiones microscópicas diagnosticadas histológicamente, según los niveles de ABT y su localización en el colon, se observa que cuando éstos se hallaban elevados, la mayoría de las lesiones estaban asentadas en el rectosigmoide, como sucede con los adenomas (68,8%), los pólipos inflamatorios (66,7%) y los adenocarcinomas (50,0%).

Tabla 6. Distribución de lesiones microscópicas, según niveles de ácidos biliares totales y su localización en el colon (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	LESIONES MICROSCÓPICAS	LOCALIZACIÓN ANATÓMICA								
		Colon derecho		Colon transverso		Colon descendente		Rectosigmoide		
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	Total
Elevados	Adenomas	4	4,8	13	15,6	9	10,8	57	<b>68,8</b>	83
	Pólipo Inflamatorio	1	11,1	1	11,1	1	11,1	6	<b>66,7</b>	9
	Adenocarcinoma	4	15,3	4	15,3	5	19,4	13	<b>50,0</b>	26
	Colitis inespecífica	60	23,9	62	24,7	63	25,0	66	<b>26,4</b>	251
	Pólipo hiperplásico	-	-	-	-	-	-	2	<b>100,0</b>	2
Normales	Pólipo juvenil	-	-	-	-	-	-	1	100,0	1
	Adenomas	3	9,3	-	-	4	12,5	25	78,2	32
	Pólipo inflamatorio	1	50,0	-	-	-	-	1	50,0	2
	Colitis inespecífica	38	22,4	39	22,8	41	23,9	53	30,9	171
	Linfoma	1	20,0	2	40,0	1	20,0	1	20,0	5
	Adenocarcinoma	4	36,3	-	-	5	45,4	2	18,3	11
	Úlcera	1	100,0	-	-	-	-	-	-	1
	Lipoma	-	-	-	-	-	-	1	-	1

X<sup>2</sup> = 57,6185, p = 0,000

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

Cuando los niveles eran normales, los adenomas se siguieron localizando en el rectosigma (78,2%), sin embargo, los adenocarcinomas aparecen con mayor frecuencia en el colon descendente (45,4%) y los pólipos inflamatorios se distribuyeron por igual entre el colon derecho y el rectosigma (50,0 %, respectivamente).

La distribución de la colitis inespecífica fue similar en cuanto a su localización, independientemente de los niveles de ABT, y fue el diagnóstico histológico predominante en ambos grupos: 251 en el grupo con los ABT elevados y 171 en

pacientes con niveles normales. Se observó una diferencia significativa ( $X^2 = 57,6185$ ;  $p = 0,000$ ) en la distribución de las lesiones diagnosticadas histológicamente, según la localización anatómica, entre ambos grupos.

En la tabla 7 se describe la distribución de los adenomas según su grado de displasia y los niveles de ABTHF. Tanto en los casos con niveles elevados de ABTHF como cuando éstos eran normales, la mayoría de los adenomas presentó displasia ligera (53,0% y 62,5%, respectivamente). Los grados de displasia moderada (42,1% y 34,3%) y severa (4,8 % y 3,1%) se presentaron con menor frecuencia en ambos grupos. No se observó diferencia significativa en cuanto a la distribución del grado de displasia de los adenomas según los niveles de los ABTHF ( $X^2 = 0,8768$ ;  $p = 0,645$ ).

Tabla 7. Distribución de adenomas, según el grado de displasia y niveles de ácidos biliares totales (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	ADENOMAS GRADO DE DISPLASIA						<i>Total</i>	
	Ligera		Moderada		Severa			
	No.	%	No.	%	No.	%		
Elevados	44	53,0	35	42,1	4	4,8	83	
Normales	20	62,5	11	34,3	1	3,1	32	

$X^2 = 0,8768$ ;  $p = 0,645$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

En la tabla 8 se describe la distribución de los adenomas, según su grado de displasia y los niveles de ABTHF en cada grupo de edad. En el grupo con edades entre 20 y 50 años se diagnosticaron 20 adenomas, 18 de ellos en pacientes con niveles elevados de ABTHF, de los cuales 12 (67,0%) presentaron una displasia ligera y 6 (33,0%), moderada. En este grupo de edad sólo dos pacientes tuvieron niveles normales de ABTHF y ambos se situaron en la categoría de displasia ligera (100%). Ninguno de los pacientes entre 20 y 50 años presentó adenomas con displasia severa. En el grupo entre 51 y 89 años se diagnostica-

ron 65 adenomas en pacientes con niveles elevados de ABTHF. De ellos, 32 (49,3%) presentaron displasia ligera; 29 (44,6%), moderada; y 4 (6,1%), severa. De los 30 adenomas diagnosticados en los pacientes con niveles normales, 18 (60,0%) presentaron displasia ligera; 11(36,7%), moderada, y 1 (3,3%), severa. La edad no es una variable que influye en el grado de displasia de los adenomas ( $\chi^2 = 0,96$ ; no significativo).

Tabla 8. Distribución de adenomas, según grado de displasia, niveles de ácidos biliares totales y grupo de edad (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	EDAD									
	20-50 años				51-89 años					
	GRADO DE DISPLASIA				GRADO DE DISPLASIA					
	Ligera		Moderada		Ligera		Moderada		Severa	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Elevados	12	67,0	6	33,0	32	49,3	29	44,6	4	6,1
Normales	2	100,0	-	-	18	60,0	11	36,7	1	3,3

$\chi^2 = 0,96$ ; no significativo

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

En la tabla 9 se presenta la distribución de los diagnósticos de colitis inespecífica según su intensidad y los niveles de ABTHF. La mayoría de los diagnósticos histológicos de colitis inespecífica realizados corresponde a los de intensidad ligera, con independencia de que los ABTHF estén elevados o sean normales (56,9% y 66,6%, respectivamente). Esta frecuencia disminuye cuando la intensidad es moderada (42,8 % y 33,4 %, respectivamente) y severa (0,3%) en ambos grupos de edad. Los resultados no presentaron diferencias significativas ( $\chi^2 = 4,5126$ ,  $p = 0,105$ ).

Tabla 9. Distribución de los diagnósticos de colitis inespecífica, según intensidad y niveles de ácidos biliares totales (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	COLITIS INESPECÍFICA INTENSIDAD						<i>Total</i>	
	<i>Ligera</i>		<i>Moderada</i>		<i>Severa</i>			
	No.	%	No.	%	No.	%		
Elevados	143	56,9	107	42,8	1	0,3	251	
Normales	114	66,6	57	33,4	-	-	171	

$$\chi^2 = 4,5126, p = 0,105$$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

En la tabla 10 se presenta la distribución de los diagnósticos de colitis inespecífica según su intensidad, los niveles de ABT y grupos de edad. En el grupo entre 20 y 50 años se realizaron un total de 121 diagnósticos de colitis inespecífica en pacientes con niveles elevados de ABTHF; de ellos, 80 (66,1%) presentaron intensidad ligera, 40 (33,0%), moderada; y 1 (0,9%), severa. Mientras que de los 81 diagnósticos en pacientes con niveles normales de ABT, 55 (67,9%) presentaron intensidad ligera y 26 (32,0%), moderada. En el grupo entre 51 y 89 años se realizaron 130 diagnósticos de colitis inespecífica en los pacientes con ABTHF elevados; de ellos, 63 (48,4%) tuvieron intensidad ligera y 67 (51,5%), moderada. En los 90 diagnósticos de colitis inespecífica en los pacientes con niveles normales de ABTHF, 67 (74,4%) tuvieron intensidad ligera y 23 (25,5%), moderada. En este grupo de edad no se presentó el diagnóstico de colitis inespecífica de intensidad severa. La edad parece influir en la intensidad de la colitis inespecífica, independientemente de los niveles de ABTHF ( $\chi^2 = 8,48; p = 0,005$ ).

Tabla 10. Distribución de los diagnósticos de colitis inespecífica, según intensidad, niveles de ácidos biliares totales y grupo de edad (IGE)

ÁCIDOS BILIARES TOTALES	EDAD									
	20-50 años						51-89 años			
	COLITIS INESPECÍFICA INTENSIDAD						COLITIS INESPECÍFICA INTENSIDAD			
	Ligera		Moderada		Severa		Ligera		Moderada	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Elevados	80	66,1	40	33,0	1	0,9	63	48,4	67	51,5
Normales	53	67,9	26	32,0	-	-	67	74,4	23	25,5

$\chi^2 = 8,48$ ;  $p = 0,005$

FUENTE: Registro de datos (estudio 3).

## Capítulo 4. ***Discusión***

Se conoce que en la luz del colon, la presencia de niveles elevados de ABTHF es un factor de modificación de la morfología de la mucosa colónica al provocar lisis de la membrana celular y estimular la proliferación celular a nivel de las criptas del colon. Todo lo anterior, nos ha conducido a formular y someter al análisis, mediante diferentes métodos investigativos, la hipótesis de que los niveles elevados de ácidos biliares sobre la mucosa colónica están estrechamente relacionados con la formación de lesiones, tanto premalignas como malignas (167-169).

Una de las consecuencias más temibles de la acción persistente de los ácidos biliares sobre la mucosa del colon es el CCR, el cual se desarrolla a partir de diversos cambios morfológicos que tienen lugar en el epitelio y en sus glándulas anexas (65, 78).

Los cambios morfológicos con los que se inicia este proceso son muy tenues, por lo cual no son detectables, en sus etapas iniciales, mediante exámenes histopatológicos, aunque sí por estudios de varios marcadores de la proliferación celular, de la diferenciación y la apoptosis (170). Con la progresión de estos cambios, las lesiones precursoras del adenocarcinoma se hacen evidentes en forma de criptas aberrantes (microadenomas) así como pólipos de variados tamaños que al crecer protruyen hacia la luz, sobresaliendo de la superficie de la mucosa circundante (119, 171).

Como disponemos de una rica información, estudios de pacientes y una base de datos estadística en el IGE, hemos podido realizar, por vez primera en el país y Latinoamérica, una investigación acerca de la relación de los niveles de ABTHF con la presencia de lesiones en la mucosa del colon, con una muestra suficientemente grande de pacientes, lo cual nos permitió reafirmar que una de las acciones de los niveles normales de ácidos biliares en la luz intestinal es

mantener en equilibrio la proliferación celular, y que la presencia elevada de estos ácidos en las heces fecales pudiera ser un marcador importante para el estudio precoz del CCR (22).

El carácter nacional de nuestro centro de investigación y la atención a la totalidad de casos remitidos por la red del sistema de salud cubano, nos permitió disponer de una población adecuada para los objetivos fundamentales de la investigación. El tamaño de la muestra seleccionada es superior a lo reportado en la literatura internacional, donde la mayoría de los estudios realizados acerca de enfermedades malignas del colon en relación con la excreción de ABT y secundarios en heces fecales, son pequeños por grupo de estudio. Por otra parte, no ocurre así cuando se realiza este mismo estudio en pacientes con enfermedades hepatobiliarias o colecistectomizados, donde los estudios realizados internacionalmente han contado con un mayor número de pacientes (18, 22, 64, 88, 91, 172-174).

A pesar de que el límite inferior de edad en nuestros estudios fue de 16 años, el promedio de edad en uno u otro sexo estuvo por encima de 50 años. Esto coincide con lo reportado internacionalmente respecto a que las personas que acuden con más frecuencia al servicio de colonoscopia, por diversos motivos, tienen más de 50 años. En este grupo de edad, la presencia de lesiones premalignas y malignas se duplica con cada década de vida (175-177).

En los pacientes estudiados se aplicó una gran cantidad de criterios de exclusión que permitió obtener resultados confiables (gráfico 1). La mayoría de los estudios consultados emplean unos u otros pero no todos los criterios de exclusión propuestos en nuestra investigación, aunque también hay estudios que, en dependencia de los objetivos que se propusieron, tuvieron otros criterios de exclusión (18, 22, 64).

Los resultados de la presencia de lesiones macroscópicas y microscópicas en el colon obtenidos en nuestro estudio refuerzan lo reportado en otros países (91, 97, 102) referente a la asociación altamente significativa entre los niveles

de ABTHF y la presencia de lesiones en la mucosa del colon (gráficos 2 y 3). Estas lesiones del colon surgen como resultado de la interacción de múltiples factores ambientales y genéticos. La dieta con alto contenido de grasa desencadena diversos mecanismos que provocan procesos inflamatorios (178). Esto, unido a la predisposición genética del individuo y a la intensidad y persistencia del agente inductor, propicia la aparición de diversos trastornos en la reparación tisular, que van desde daños moleculares hasta compromisos funcionales de la célula epitelial, impidiendo su desarrollo normal, lo cual se expresa macroscópicamente como una lesión de aspecto polipoideo, plano o de masa, y que según el tipo de célula que participa en el proceso inflamatorio se clasifican histológicamente como lesiones inflamatorias agudas o crónicas, adenomas y, en el peor de los casos, adenocarcinomas (179).

Los ácidos biliares constituyen uno de los agentes inductores de estas lesiones, de gran interés clínico, pues atendiendo a su metabolismo, producen efectos bien diferenciados: cuando el metabolismo es normal, actúan como agentes moduladores de la proliferación celular; cuando su producción no está controlada (hiperproducción), es persistente e intensa, su acción sobre la mucosa colónica distorsiona el mecanismo de reparación tisular y, por consiguiente, impide el desarrollo normal de la célula y surgen, de este modo, las lesiones en la mucosa. Este vínculo causal, ampliamente corroborado en la literatura (16, 51), nos permite explicar cómo el exceso de ácidos biliares desencadena una respuesta inflamatoria al interactuar con las células epiteliales a nivel de las criptas colónicas. Esto lleva implícito un recambio celular acelerado y descontrolado en el que los errores de replicación celular, que desde el punto de vista molecular se manifiestan como mutaciones y daños en los cromosomas, hacen que la diferenciación de las células-madre durante la migración, desde la porción basal de las criptas hasta el ápice de las vellosidades, sea anómala (180-183).

La anomalía descrita se expresa en forma de lesiones, que en estadios muy iniciales del proceso no son fácilmente identificables por procedimientos en-

doscópicos y sí por examen histológico. Es por eso que la presencia de ABTHF elevados puede hacer presumir la existencia de lesiones que, aunque no sean visibles por endoscopia, hagan que esta presunción resulte de gran valor predictivo y permita desencadenar un conjunto de acciones en aquellos pacientes que mantienen niveles elevados de ABTHF, como son la toma de muestras para biopsia y, de ser positiva ésta, realizar una acción terapéutica a nivel primario según el Programa de Detección Precoz del CCR (184), encaminada a disminuir los niveles de ácidos biliares y de esta forma interrumpir la evolución de las lesiones.

Una de las variables más importantes a tener en cuenta en los estudios epidemiológicos de la presencia de lesiones en la mucosa del colon es la edad (23, 185, 186). Ésta se reporta en diferentes estudios descriptivos realizados en varias regiones del mundo (187-190). Las edades de los pacientes varían en cada estudio, pero, en general, se realizan a partir de los 40 años. En nuestro estudio la influencia de esta variable sobre la distribución de los pacientes con ABT elevados y la presencia de lesiones microscópicas, en sentido general fue importante (tabla 7). Por lo tanto, esto nos induce a prestar mayor atención a pacientes menores de 50 años con niveles elevados de ABTHF, pues se exponen durante muchos más años a los ácidos biliares.

Los diagnósticos endoscópicos e histológicos reportados en esta investigación refuerzan lo reportado por otros autores en investigaciones realizadas en países desarrollados, utilizando otros procedimientos más costosos para la determinación de los ácidos biliares (92, 93, 96).

En nuestros estudios, los pólipos y el adenocarcinoma fueron los diagnósticos más frecuentes en pacientes con ácidos biliares elevados (tablas 1 y 5, y gráfico 4), lo cual refuerza los resultados de Nakajima y colaboradores (191) y Nakashima y colaboradores (192), quienes al estudiar la presencia de ácidos biliares en tejido de mucosa normal de colon y de pólipos colónicos encontraron un aumento significativo de la concentración de los ABT en los pólipos.

Después de los pólipos observados en los pacientes con ABTHF elevados, aparece con mayor frecuencia el adenocarcinoma, el cual representa más del doble de los pacientes igualmente diagnosticados, pero con niveles normales. Esto coincide con los trabajos realizados por Kamano y colaboradores (98) en los que se reportan resultados muy significativos de pacientes con cáncer de colon avanzado y cifras altas de ABTHF. El diagnóstico de linfoma no se asocia con niveles elevados de ABTHF, ya que éste tiene otro origen, es decir, agentes que afectan el tejido hemolinfopoyético (193).

En nuestro estudio se encontró que las lesiones microscópicas patológicas se localizaron con mayor frecuencia en la región rectosigmoidea de los pacientes con niveles elevados de ABTHF (tabla 6). Esto coincide con los resultados de Stadler y colaboradores (20), quienes estudiaron la actividad proliferativa en la mucosa rectal de 34 pacientes con ácidos biliares elevados en heces fecales y observaron que estaba aumentada a nivel del rectosigmoide cuando los pacientes presentaban pólipos y cáncer, no así en los pacientes con mucosa normal.

La localización de las lesiones en el colon y su relación con los niveles de ácidos biliares es un tema controvertido en la literatura. Algunos señalan que estas lesiones generalmente se localizan indistintamente en el colon derecho y la región rectosigmoidea, coincidiendo con las zonas donde los ABT y secundarios permanecen un tiempo mayor en contacto con la mucosa (108, 109). Según este criterio, en el colon derecho la materia fecal llega con gran contenido de agua y como los ácidos biliares se encuentran diluidos, su efecto es menor. A medida que la materia fecal avanza por los distintos segmentos del colon, la concentración de agua disminuye hasta llegar al rectosigmoide sin gran cantidad de líquido. En esta región es donde la materia fecal permanece por mayor tiempo y los ácidos biliares ejercen su efecto dañino con mayor intensidad. Este mecanismo resulta válido para cualquier tipo de lesión que pueda producirse en la mucosa de esa región, lo cual nos permite plantear que es importante que

se mantenga un flujo continuo de heces fecales por todo el trayecto del colon para contribuir a evitar la aparición de lesiones en su mucosa (194).

Es de destacar, que la distribución de las lesiones a lo largo del colon es congruente con la existencia de otros factores causales como consecuencia de la acción de las bacterias intestinales. Estos factores, que se irán concentrando a lo largo del tránsito colónico, no sólo son los ácidos biliares, sino también los fecapentanos, 3-cetosteroides, aminas heterocíclicas (producto de la pirolisis), y otras sustancias que se forman por acción bacteriana a expensas de un pH favorable, especialmente en el ciego. Los estudios en seres humanos y experimentales en animales han demostrado la actividad mutagénica y cancerígena de dichos factores (195).

Otros trabajos reportan ciertas divergencias al plantear que la localización de las lesiones colónicas puede variar. Incluso se señala que generalmente éstas se localizan en el colon derecho, pero al mismo tiempo no se han obtenido resultados que permitan asociar las lesiones con una determinada región anatómica. Otros relacionan la presencia de las lesiones y su localización anatómica con el sexo, pero concluyen que no existe asociación significativa entre la localización y el sexo (196-199).

En la mayoría de los estudios realizados respecto a la distribución de las lesiones en el colon, se señala que la mayor parte de los pólipos (60-70%) se localiza en la región distal de la flexura esplénica, fundamentalmente en el área rectosigmoidea, donde dicha localización representa 52%. El resto se distribuye de la manera siguiente: colon descendente, 18%; colon transverso, 11%; colon ascendente, 13%; y ciego 7%. Se reporta que en edades avanzadas existe una mayor tendencia hacia las localizaciones proximales (123, 124).

Los resultados de nuestra investigación coinciden con los obtenidos por Tanida y colaboradores (89), al no existir diferencias significativas en cuanto a los niveles de ABTHF y la severidad de la displasia (tabla 7). Tampoco cuando se estudió la influencia de la edad (tabla 8). Podemos plantear que el grado de displasia de los adenomas es resultado de un proceso multifactorial. Esto pudiera

explicar que nuestros resultados sean similares a los obtenidos por Tanida y colaboradores (89), a pesar de las diferencias entre dietas y estilos de vida.

Existen evidencias suficientes que explican que el pólipos neoplásico adenomatoso es la lesión precursora de la mayoría de los carcinomas colorrectales al progresar hacia la displasia grave y el carcinoma invasivo en un tiempo de evolución variable, entre 5 y 15 años (200). A la vez son considerados como lesiones frecuentes con una distribución mundial similar a la del CCR.

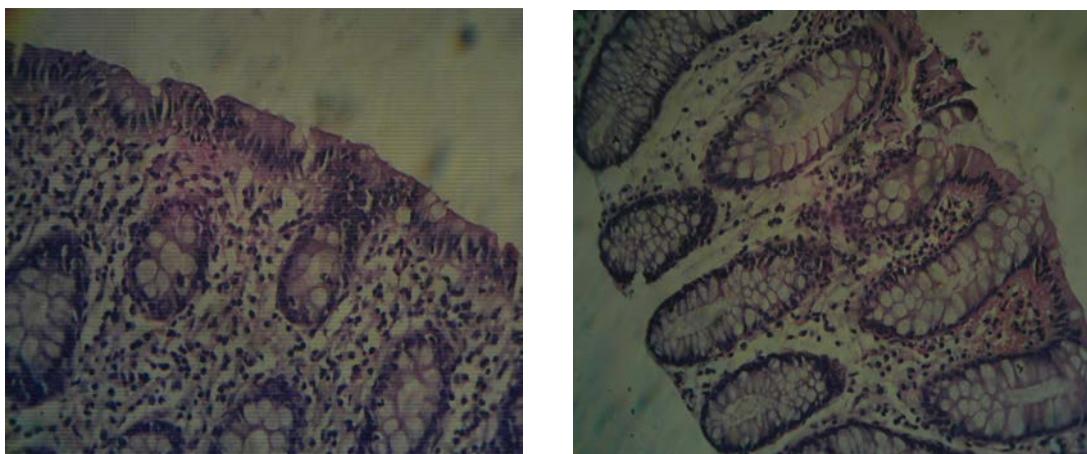
La mayoría de los pólipos es asintomática y éstos se diagnostican al realizar pruebas de detección precoz del CCR o como hallazgos casuales en estudios rectocolónicos practicados por otros motivos.

Los adenomas se originan por fallas en un paso (o pasos) del proceso normal de proliferación y muerte celular programada, motivo por el cual se han realizado diversas investigaciones que tratan de correlacionar, entre otros factores causales, a los ácidos biliares en heces fecales con su génesis, presencia y evolución hacia el CCR. En este aspecto se destaca el trabajo de Makino (90), que reporta una asociación altamente significativa entre los niveles de ácidos biliares elevados y la presencia de pólipos en la mucosa del colon. Pero esto no ocurre así cuando se estudia la influencia de los niveles elevados de ABTHF y el grado de displasia de los adenomas, sobre la base de que los ácidos biliares en exceso incrementan la proliferación celular.

Investigaciones realizadas en Japón reportan que no existen diferencias significativas en el aumento de excreción de ABT en pacientes con pólipos en comparación con sujetos normales (89, 91). Esto se atribuye a que el grado de displasia de los adenomas no sólo se asocia a la acción de los ácidos biliares sobre las células epiteliales, sino que en este proceso interactúan otros factores causales que, en conjunto, incrementan la proliferación celular y favorecen la aparición de mutaciones y pérdidas de cromosomas. Por otro lado, los japoneses atribuyen estos hallazgos al tipo de dieta que consumen y a su estilo de vida que resultan ser muy diferentes a los de los países occidentales.

Wynder (201), encontró diferencias significativas al detectar un incremento de la excreción de ácidos biliares en heces fecales en pacientes con pólipos adenomatosos en comparación con un grupo de control. De igual modo, Hill (202), reporta que el tamaño de los adenomas sí se correlaciona con la concentración de ácidos biliares elevados en heces fecales y no con el grado de displasia. Se debe tener presente que ambos trabajos fueron realizados en países occidentales donde la incidencia de esta enfermedad es significativamente alta.

En los pacientes con colitis ulcerativa idiopática, el estudio de los niveles de ácidos biliares en heces fecales arroja que éstos se encuentran en proporciones elevadas (202). En nuestra investigación existe una asociación significativa entre los niveles de ABTHF y la presencia de displasia en la colitis ulcerativa idiopática de 10 años o más de evolución (tabla 3), lo cual coincide con los resultados de Tanida y colaboradores (203), quienes al estudiar 14 pacientes con colitis ulcerativa idiopática en fase activa, encontraron marcado aumento de la excreción de ABT y secundarios en heces fecales, reportando una alta significación. Dada la persistente e intensa presencia de los ácidos biliares en la luz del colon, éstos incrementan el daño de la mucosa colónica, lo cual constituye un factor potencialmente mayor para la progresión hacia la malignidad en este tipo de pacientes. Sin embargo, cuando se excluyeron en el estudio 3 de nuestra investigación las colitis por causas diversas, entre ellas la ulcerativa idiopática, en los diagnósticos histológicos encontrados, se presentó la colitis inespecífica, entidad que desde el punto de vista histológico se caracterizó por la presencia de un infiltrado linfoplasmocitario distribuido difusamente y de intensidad variable (ver foto). Nuestros resultados no arrojaron diferencias en cuanto a niveles de ABTHF y la presencia de colitis inespecífica y su grado de intensidad (tabla 9). No obstante, cuando se estudió la influencia de la edad, ésta fue significativa, lo cual nos induce a pensar que esta variable pudiera ser un factor más a tener en cuenta en el análisis de estos resultados (tabla 10).



Presencia de infiltrado linfoplasmocitario difuso y de intensidad variable en pacientes con colitis inespecífica.

El diagnóstico de colitis inespecífica se describe por primera vez en nuestro estudio, y aparece histológicamente aislado o acompañando otros diagnósticos que difieren en su potencial de malignidad. No se encuentran referencias a esta entidad en la literatura. Recientemente se concluyó un estudio en el IGE, que dio a lugar a una tesis para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Gastroenterología, en la cual se encontró que 72,9% de las colitis inespecíficas diagnosticadas con los mismos criterios que en adultos, por examen histológico, en niños con edades comprendidas entre 3 y 19 años, presentaban niveles altos de ácidos biliares en heces fecales (204). En este caso se confirma lo planteado anteriormente en el presente trabajo respecto a la importancia del tratamiento que se debe seguir con pacientes jóvenes que presenten niveles de ácidos biliares elevados en heces fecales.

Tampoco se han reportado referencias de este tipo de colitis en cuanto a su expresión como enfermedad, pero se sabe que ésta, como proceso inflamatorio y de acuerdo con los factores causales tanto ambientales como genéticos del individuo, pudiera ser sitio de aparición de mutaciones que favorecen la formación de pólipos y cáncer de colon. Existen reportes de colitis bien identificadas, clasificadas como microscópicas (colitis colágena y linfocítica), entre cuyos mecanismos fisiopatológicos se encuentran los trastornos del metabolismo de los

ácidos biliares, pero histológicamente están bien diferenciadas de la que se describe en nuestra investigación (205, 206).

Finalmente, podemos decir que en la práctica clínica la determinación de los niveles de ABTHF y su asociación con la presencia de lesiones en la mucosa de colon, permite emprender estudios para encontrar los mecanismos fisiopatológicos que los pudieran situar como posible factor causal de las lesiones premalignas en el colon.

## **Conclusiones**

1. Se demostró, por primera vez en Cuba y Latinoamérica, la asociación entre los niveles elevados de ácidos biliares totales en heces fecales y la aparición de lesiones macro y microscópicas del colon en pacientes adultos.
2. La edad es un factor que se debe tener en cuenta cuando se estudia la presencia de lesiones microscópicas en el colon, así como la intensidad de la colitis inespecífica, en pacientes con niveles elevados de ácidos biliares totales.
3. Las lesiones endoscópicas e histológicas más frecuentemente diagnosticadas fueron los pólipos adenomatosos, los adenocarcinomas y las colitis inespecíficas.
4. Las lesiones microscópicas patológicas se localizaron con mayor frecuencia en la región rectosigmoidea de los pacientes con niveles elevados de ácidos biliares totales.
5. El comportamiento y el grado de displasia observados en los adenomas no parece depender de los niveles de ácidos biliares totales en heces fecales ni de la edad.
6. La intensidad de la colitis inespecífica se comportó de forma similar en todos sus grados, independientemente de los niveles de ácidos biliares totales.
7. Una alta proporción de pacientes con colitis ulcerativa idiopática y displasia tuvo ácidos biliares totales elevados en heces fecales.
8. La detección de lesiones premalignas mediante la determinación de niveles elevados de ácidos biliares totales en heces fecales por este método pudiera ser de gran valor en la prevención del cáncer colorrectal.

## ***Recomendaciones***

1. Proponer estudios multifactoriales donde se pueda probar que los ácidos biliares totales en heces fecales elevados son un factor de riesgo más para la aparición de lesiones colónicas.
2. Determinar ácidos biliares totales en heces fecales en aquellos pacientes con sospecha clínica de lesiones premalignas, por ser una prueba sensible y factible de realizar en la práctica clínica, que permitiría aplicar una terapéutica adecuada para evitar la evolución de éstas hacia el cáncer colorrectal.
3. Hacer un estudio multifactorial en pacientes con colitis inespecífica para precisar su origen.
4. Sensibilizar a médicos generales integrales, cirujanos generales y endoscopistas sobre la asociación existente entre los niveles de ácidos biliares totales en heces fecales y las lesiones de colon.
5. Realizar un estudio de los niveles de ácidos biliares totales en heces fecales, así como de la presencia de lesiones en el colon, en pacientes con colecistitis antes del tratamiento quirúrgico y establecer pautas de seguimiento en pacientes colecistectomizados.
6. Establecer pautas de seguimiento en pacientes jóvenes con niveles elevados de ácidos biliares totales por el peligro de exposición a su acción durante más tiempo.
7. Realizar estudios experimentales para determinar las alteraciones metabólicas y genéticas que pudieran existir en la síntesis de los ácidos biliares.

## **Referencias bibliográficas**

1. Cuba. Ministerio de Salud Pública (MINSAP). Dirección Nacional de Estadística. Anuario estadístico de salud 2000. La Habana: Ecimed; 2004.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Globocan 2000. Cancer incidence, mortality, and prevalence world-wide, Version 1.0. IARC Cancer Base No. 5. Lyon: IARC Press, 2001.
3. Hawk ET, Umar A. Colorectal cancer chemoprevention: an overview of the science. *Gastroenterology*. 2004; 126: 1423-47.
4. Slattery ML. Diet, lifestyle, and colon cancer. *Semin Gastrointest Dis*. 2000; 11: 142-6.
5. Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. *Lancet*. 2005; 366 (9465): 527-30.
6. Bruce WR, Giacca A, Medline A. Possible mechanisms relating diet and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9: 1271-9.
7. Ferrís I, Tortajada J, García I, Castell J, Berbel Tornero O. Dieta y cáncer pediátrico. *Rev Esp Pediatr*. 2001; 1: 75-92.
8. Kono S. All epidemiological evidence is important in colorectal cancer. *Br Med J*. 2001; 322: 611.
9. Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Mandel JS, Molt JA, Greenberg ER. Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking and risk of colorectal adenoma. *J Natl Cancer Inst*. 1998; 90: 57-62.
10. Zhang SM, Moore SC, Lin J, Cook NR, Monson JE, Lee IM, Buring JE. Folate, Vitamin B<sub>6</sub>, multivitamin supplements, and colorectal cancer risk in women. *Am J Epidemiol*. 2006; 163 (2): 108-15.
11. McKeown-Eyseen GE, Bright-See E, Bruce WR, Jazmaji V. The Toronto Polyp Prevention Group: a randomized trial of a low fat, high fiber diet in the recurrence of colorectal polyps. *J Clin Epidemiol*. 1994; 5: 525-36.
12. Kushi LH, Giovannucci E. Dietary fat and cancer. *Am J Med*. 2002; 113: 635-705.

13. Norat T, Riboli E. Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence. *Eur J Clin Nutr.* 2003; 57: 1-17.
14. Chao A, Thun M J. Meat intake, metabolic genes and colorectal cancer. *JAMA.* 2005; 293: 172-82.
15. Dowling HR. Los ácidos biliares y el intestino. En: Truelove SC, Jewell DP, editores. *Problemas gastroenterológicos.* Santiago de Cuba: Ed. Oriente; 1980. p. 123-37.
16. Cheng K, Raufman JP. Bile acids-induced proliferation of a human colon cancer cell line is mediated by transactivation of epidermal growth factor receptor. *Biochem Pharmacol.* 2005; 70(7): 1035-47.
17. Tocchi A, Basso L, Costa G, Lepre L, Liotta G, Mazzoni G, et al. Is there a causal connection between bile acids and colorectal cancer? *Jpn J Surg.* 1996; 26: 101-4.
18. De Kok TMCM, Van Faassen A, Glinghammar B, Pachen DMFA, Eng M, Rafter JJ, et al. Bile Acids concentrations, cytotoxicity, and pH of fecal water from patients with colorectal adenomas. *Dig Dis Sci.* 1999; 44: 2218-25.
19. Meance S, Boutron-Ruault MC, Myara A, et al. Fecal primary bile acids and serum cholesterol are associated with colorectal adenomas. *Dig Dis Sci.* 2003; 48 (9): 1751-7.
20. Stadler J, Yeung KS, Furrer R, Marcon N, Himal HS, Bruce WR. Proliferative activity of rectal mucosa and soluble fecal bile acids in patients with normal colons and patients with colonic polyps or cancer. *Cancer Lett.* 1988; 38: 315-20.
21. Hill MJ. Bile, bacteria and bowel cancer. *Gut.* 1983; 24: 871-5.
22. Casimiro C. Factores etiopatogénicos en el cáncer colorrectal. Aspectos nutricionales y de estilo de vida. *Nutr Hosp.* 2002; 3: 128-38.
23. Viñez JJ, Ardanaz E, Aráosla A, Gaminde I. Epidemiología clínica del cáncer colorrectal: la detección precoz. *Cir Esp.* 2003; 73: 2-8.

24. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today (review). *J Natl Cancer Inst.* 1981; 66: 1191-308.
25. Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, et al. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale—Update base on new evidence. *Gastrointestinal Consortium Panel. Gastroenterology.* 2003; 124: 544-60.
26. Rainoldi JL. Diagnóstico del cáncer colorrectal en la Argentina. Estado actual de acuerdo a la encuesta nacional prospectiva realizada en 2002-03. *Congreso Argentino de Gastroenterología y Endoscopia Digestiva 2004. Libro de relatos y conferencias.* p. 31-2.
27. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer.* 2001; 94: 153-6.
28. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL. Cancer incidence in five continents. Comparability and quality of data. *IARC Sci Publ.* 1992; 120: 45-173.
29. Burt RW, Winawer SI, Band JH. Preventing colorectal cancer: a clinician's guide. *American Gastroenterological Association,* 2004.
30. Matzakos T, Lawrence SP, Ahnen DJ. Epidemiological and risk factors for colorectal cancer (monographic on the internet). 2002 Up to Date. Available from: <http://www.uptodate.com>
31. OMGE—Guidelines and Publications Committee. Colorectal cancer prevention. Available from: <http://www.omge.org.com> [2005].
32. Burt RW. Colon cancer screening. *Gastroenterology.* 2000; 119: 837-53.
33. Committee on Diet, Nutrition and Cancer, Assembly of Life Sciences, National Research Council. *Diet, nutrition and cancer.* Washington; DC: National Academy Press; 1982.
34. Raju R, Cruz-Correa M. Chemoprevention of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2006; (1): 113- 24.
35. Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, Bergquist L, et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA.* 2005; 294(22): 2849-57.

36. Maclean CH, Newberry SJ, Mojica WA, Khanno P, Issa AM, Suttorp MJ, Lim YW, et al. Effects of omega—3 fatty acids on cancer risk: a systematic review. JAWA. 2006; 295 (4): 403-15.
37. Sandhu MS, White IR, McPherson K. Systematic review of the prospective cohort studies on meat consumption and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001; 10: 439-46.
38. Reddy BS, Narisawa T, Maronpot R. Animal models for study of dietary factors and cancer of the large bowel. Cancer Res. 1975; 35: 3421-6.
39. Ahmed FE. Effect of diet, life style, and other environmental/ chemoprevention factors on colorectal cancer development, and assessment of the risks. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2004; 22 (2): 91-147.
40. Giacosa A, Crespi M. The rules for cancer prevention. World Gastroenterology News. 2004; 9: 39-40.
41. Bautista D, Obrador A, Moreno V, Cabeza E, Canet R, Benito E et al. Kras mutation modifies the protective effect of dietary monounsaturated fat and calcium on sporadic colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1997; 6: 57-61.
42. Gonder U. Diet and prevention of cancer (letter). Br Med J 1999; 319:186.
43. Baber MD. Consumption of fish oil should be encouraged. (letter). Br Med J, 1999, 319: 186.
44. McKelvey W, Greenland S, Sandler RS. A second look at the relation between colorectal adenomas and consumption of foods containing partially hydrogenated oils. Epidemiology. 2000; 11: 469-73.
45. McKelvey W, Greenland S, Chen MJ, Longnecker MP, Frankl HD, Lee ER, et al. A case-control study of colorectal adenomatous polyps and consumption of foods containing partially hydrogenated oils. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1999; 8: 519-24.

46. Duan RD. Anticancer compounds and sphingolipid metabolism in the colon. *In Vivo*. 2005; 19(1): 293-300.
47. Lemonnier LA, Dillehay DL, Vespremi MJ, Abrams J, Brody E, Schmelz EM. Sphingomyelin in the suppression of colon tumors: prevention versus intervention. *Arch Biochem Biophys*. 2003; 419 (2): 129-38.
48. Trowell HC, Southgate DAT, Wolevwr TMS. Dietary fiber redefined (letter). *Lancet*. 1976; 1: 1967- 68.
49. Burkitt DP. Related disease-related cause? *Lancet*. 1969; 2: 1229-31.
50. Chean PY, Berstein H. Colon cancer and dietary fiber: cellulose inhibits the DNA-damaging. Ability of bile acids. *Nutr Cancer*. 1990; 13: 51-70.
51. Chean PY. Hypothesis for the etiology of colorectal cancer: an overview. *Nutr Cancer*. 1990; 14: 5-13.
52. Wieland H, Dane E. The constitution of the bile acids. II. The place of attachment of the side Chain. *Z Physiol Chem*. 1933; 219: 240-4.
53. Cook JW, Haslewood GA. Conversion of a bile acid into a hydrocarbon derived from 1, 2-benzanthracene. *Chem Ind Rev*. 1933; 11: 758-9.
54. Fieser LF, Newman MS. Methylcholanthrene from colic acid (letter). *J Am Chem Soc*. 1935; 57: 96.
55. Cook JW, Kennaway EC, Kennaway NM. Production of tumors in mice by deoxycholic acid. *Nature*. 1940; 145: 627.
56. Lacassagne A, Buu-Hoi NP, Zajdela F. Carcinogenic activity of apocholic acid. *Nature*. 1961; 190: 1007-8.
57. Hofmann AF. Bile secretion and the enterohepatic circulation of bile acids. In: Sleisenger MH, Edman M, Sharschmidt BF, editors. *Gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management*. 6<sup>a</sup> ed. Bnos. Aires: Panamericana; 1998. p. 937-96.
58. Hofmann AF. Biliary secretion and excretion: the hepatobiliary component of the enterohepatic circulation of bile acids. In: Johnson LR, Alpers DH, Christensen J, editors. *Physiology of gastrointestinal tract*. New York: Raven Press; 1994. p. 1555-76.

59. Setchell KD, Street JM. Inborn errors of bile acid synthesis. *Semin Liver Dis.* 1987; 7: 85-99.
60. Collins JC. Bile acid synthesis in fetal and neonatal life: expression of cholesterol 7 alpha-hydroxylase and 27-hydroxycholesterol-7 alpha- hydroxylase activities. *Pediatr Res.* 1994; 35: 126A.
61. Hofmann AF. Intestinal absorption of bile acids and biliary constituents: the intestinal component of the enterohepatic circulation and the integrated system. In: Johnson LR, Alpers DH, Christensen J, editors. *Physiology of gastrointestinal tract.* New York: Raven Press; 1994. p. 1845-66.
62. Arias IM, Che M, Gatmaitan Z, Leveille C, Nishida T, St Pierre M. The biology of the bile canaliculus, 1993. *Hepatol.* 1993; 17: 318-29.
63. Hofmann AF. The cholehepatic circulation of unconjugated bile acids: an update. In: Paungasther G, Stiehl A, Gerok W, editors. *Bile acids and the hepatobiliary system.* Boston: Kluwer Academic; 1993. p. 143-60.
64. Sesink AL, Termont DS, Kleibeuker JH, Van Der Meer R. Red meat and colon cancer: dietary haem, but not fat, has cytotoxic and hyperproliferative effects on rat colonic epithelium. *Carcinogenesis.* 2000; 21(10): 1909-15.
65. Hill MJ. Bile flow and colon cancer. *Mutat Res.* 1990; 238: 313-20.
66. Jeremy RJ. Pathogenesis of colorectal cancer *Surg Clin North Am.* 2002; 82: 891-904.
67. Milovic V, Teller IC, Faust D, Caspary WF, Stein J. Effects of deoxycholate on human colon cancer cells: apoptosis or proliferation. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32 (1): 29-34.
68. Schlottmann K, Wachs FP, Christian Krieg R, Kullmann F, Scholmerich J, Rogle G. Characterization of bile salt-induced apoptosis in colon cancer cell lines. *Cancer Res.* 2000; 60: 4270-76.
69. Troll W. Prevention of cancer by agents that suppress oxygen radical formation. *Free Radic Res Commun.* 1991; 12: 751-57.
70. Breen AP, Murphy JA. Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18: 1033-37.

71. Kemp JA. Cholecystectomy and colon cancer. Am J Gastroenterol. 1999; 94:1-2.
72. Henrikson CK, Argenzio RA, Liacos JA, Khosla J. Morphologic and functional effects of bile salt on the porcine colon during injury and repair. Lab Invest. 1989; 60: 72-87.
73. Sakaguchi M, Minovra T, Hiramatsu Y, Takada H, Yamamura M, Hioki K, et al. Effects of dietary saturated and unsaturated fatty acids on fecal bile acids and colon carcinogenesis induced by azoxymethane in rats. Cancer Res. 1986; 46: 61-5.
74. Dolara P, Cademi G, Salvadori M, Morozzi G, Fabiani , et al. Fecal levels of short-chain fatty acids and bile acids as determinants of colonic mucosal cell proliferation in humans. Nutr Cancer. 2002; 42 (2): 166-90.
75. Samaha H, Bernstein C, Payne C, Garewal H, Sampliner R, Bernstein H. Bile salt induction of apoptosis in goblet cells of the normal human colonic goblet cells: relevance to colon cancer. Acta Microsc. 1995; 4: 43-58.
76. Garewal H, Bernstein H, Bernstein C, Sampliner R, Payne C. Reduced bile acid-induced apoptosis in “normal” colorectal mucosa: a potential biological marker for cancer risk. Cancer Res. 1996; 56: 1480-3.
77. Mamianetti A, Garrido D, Carducci CN, Vescina MC. Excreción de ácidos biliares en pacientes con litiasis vesicular. Medicina (Bnos. Aires). 1999; 59: 269-73
78. Padmanabhan PN. Role of bile acids and neutral sterols in carcinogenesis. Am J Clin Nutr. 1988; 48: 768-74
79. Paniagua EM, Roque LJ, Cerdán CA, Rodríguez MA. Determinación de ácidos biliares totales en heces fecales en pacientes con neoplasia de colon y pólipos adenomatosos. Acta Gastroenterol Latinoam. 1994; 24: 99-104.
80. Hill MJ. Endogenous carcinogens. Practitioner.1981; 225: 803-9.
81. De Rubertis FR. Bile, eicosanoides and proliferation of colonic cell. Gastroenterology 1985; 89: 443-4.

82. Paniagua M, Valdés L, Cendán A. Acción de la celulosa microcristalina en la excreción de los ácidos biliares totales en heces fecales. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 1996; 26: 173-6.
83. Paniagua M, Piñol F, Acosta E, Borbolla E, Cendán A. Acción de la celulosa microcristalina en pacientes con síndrome de intestino corto y ácidos biliares totales elevados en heces fecales. *AIGE.* 2002; 2: 4-7.
84. Doll R. The geographical distribution of cancer. *Br J Cancer.* 1969; 23: 1-8.
85. Wynder EL, Shigematsu T. Environmental factor of cancer of the colon and rectum. *Cancer.* 1967; 20: 1520-61.
86. Grudy SM, Ahrens EH, Miettinen TA. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total faecal bile acids. *J Lipid Res.* 1965; 6: 397-410.
87. Hepner GW, Hofmann AF, Malagelada JR, Szczepanik PA, Klein PD. Increased bacterial degradation of bile acids in cholecystectomized patients. *Gastroenterology.* 1974; 66: 556- 64.
88. Hikasa Y, Tanida N, Ohno T, Shimoyama T. Faecal bile acid profiles in patients with large bowel cancer in Japan. *Gut.* 1984; 25: 833- 8.
89. Tanida N, Hikasa Y, Shimoyama T, Setchell KD. Comparison of faecal bile acid profiles between patients with adenomatous polyps of the large bowel and healthy subjects in Japan. *Gut* 1984; 25: 824-32.
90. Makino T. Faecal bile acid excretion in patients with colon cancer, colon polyp and peptic ulcer. *Tokai J Exp Clin Med.* 1984; 9: 297-305.
91. Tanida N, Hikasa Y, Shimoyama T, Setchell KD. Faecal bile acid profiles of Japanese patients with adenomatous polyps of the large bowel: special reference to distribution, multiplicity, size and degree of dysplasia of the polyps. *Jpn J Cancer Res.* 1985; 76: 104-112.
92. KaleK HD, Stellard F, Kruis W, Paumgartner G. Detection of increased bile acid excretion by determination of bile acid content in single stool samples. *Clin Chim Acta.* 1984; 140: 85-90.

93. Breuer NF, Dommes P, Jaekel S, Goebell H. Faecal bile acid excretion pattern in colonic cancer patients. *Dig Dis Sci.* 1985; 30: 852-9.
94. Iwasaki Y, Arai K, Katayanagi S, Takahashi K, et al. Biomarkers for neoplasms in digestive organs. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2004; 31 (7): 1015-20.
95. Summerton J, Flynn M, Cooke T, Taylor I. Bile acid receptors in colorectal cancer. *Br J Surg.* 1983; 70: 549-51.
96. Lapré JA, Van der Meer R. Diet-induced increase of colonic bile acids stimulates lytic activity of fecal water and proliferation of colonic cells. *Carcinogenesis.* 1992; 13: 41-4.
97. Latta RK, Fiander H, Ross NW, Simpson C, Schneirder H. Toxicity of bile acids to colon cancer cell lines. *Cancer Lett.* 1993; 70: 167-73.
98. Kamano T, Matsumoto M, Kano M. Diagnostic significance of measurement of fecal bile acids in colorectal cancer patients. *Curr Therap Res.* 1994; 55: 997-1001.
99. Kaibara N, Sasaki T, Ikeguchi M, Koga S, Ikawas S. Fecal bile acids and neutral sterol in Japanese with large carcinoma. *Oncology.* 1983; 40: 255-58.
100. Perogambros A, Legakis NJ. Faecal bile acids in patients with colon cancer. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg (B).* 1982; 176: 346-48.
101. Capron JP. Cholelithiasis and colon cancer. *Concours Med.* 1983; 105: 1935-50.
102. Haives A, Hill MJ, Thompson MH, Owen RW, Williams RE. A prospective study of faecal bile acids and colorectal cancer. *Eur J Cancer Prev.* 2000; 9: 317-23.
103. Ochsenkuhn T, Bayerdorffer E, Meining A, Schinkel M, Thiede C, Nussler V, et al. Colonic mucosal proliferation is related to serum deoxycholic levels. *Cancer.* 1999; 85: 1664-9.
104. Lagergren J, Ye W, Ekbom A. Intestinal cancer after cholecystectomy is bile involved in carcinogenesis? *Gastroenterology.* 2001; 121 (3): 542-7. 1992; 35: 24-8.

105. Novell F, Moral A, Pascual S, Trias M. Is there a relationship between cholelithiasis and colorectal cancer? *Rev Esp Enferm Dig.* 1995; S7 (4): 294-7.
106. Zeng ZS, Zhang ZF. Cholecystectomy and colorectal carcinoma in China. *Surg Oncol.* 1993; 2 (6): 311-9.
107. Goldbohm RA, Van Den Brandt PA, Van't P, Dorant E, Sturmans F, Hermus RJ. Cholecystectomy and colorectal cancer: evidence from a cohort study on diet and cancer. *Int J Cancer.* 1993; 53 (5): 735-9.
108. Ekbom A, Yuen J, Admi HO, McLaughlin JK, Chow WH, Persson I, et al. Cholecystectomy and colorectal cancer. *Gastroenterology.* 1993; 105: 142-7.
109. Giovannucci E, Colditz GA, Stamper MJ. A meta-analysis of cholecystectomy and risk of colorectal cancer. *Gastroenterology.* 1993; 105:130-41.
110. Soltero E, Cruz NI, Nazario CM, López RE, Alonzo A. Cholecystectomy and right colon cancer in Puerto Rico. *Cancer* 1990; 66: 2249-52.
111. Alonzo G, Lozzi D, Szram H, Romero I, Danadee Ras N, Fernández JL, et al. Factores asociados con displasia de alto grado y cáncer en adenomas colorrectales. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 1995; 25: 131-5.
112. Delaunoit T, Limburg PJ, Goldberg RM, Lymp JF, Loftus Jr EV. Colorectal cancer prognosis among patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006; 4 (3): 335-42.
113. Munkholm P, Loftus Jr EV, Reinacher-Schick A, Kombluth A, Mittmann V, Esendal B. Prevention of colorectal cancer in inflammatory bowel disease: Value of screening and 5- aminosalicylates. *Digestion.* 2006; 73 (1): 11-19.
114. Kiesslich R, Hoffman A, Neurath HF. Colonoscopy, tumors, and inflammatory bowel disease-new diagnostic methods. *Endoscopy.* 2006; 38 (1): 5-10.

115. Dixon A, Wusm P, art A, Robinson R. Distal adenomatous polyps are rare in patients with inflammatory bowel disease. Postgrad Med J. 2006; 82 (963): 76-8.
116. Moum B, Ekbom A. Ulcerative colitis, colorectal cancer and colonoscopy surveillance. Scand J Gastroenterol 2005; 40 (8): 881-5.
117. Bafandeh Y, Daghestani D, Esmaili H. Demographic and anatomical survey of colorectal polyps in an Iranian population. Assian Pac J Cancer Prev. 2005; 6 (4): 537-40.
118. Odom SR, Duffy SD, Barone JE, Ghevariga V, Mc Clane SJ. The rate adenocarcinoma in endoscopically removed colorectal polyps. Am Surg. 2005; 71(12): 1024-6.
119. Alrawi SJ, Schiff M, Carroll RE, Dayton M, Gibbs JF, et al. Aberrant crypt foci. Anticancers Res. 2006; 26 (1A): 107-19.
120. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Kukitsn T, et al. Aberrant crypt foci: detection, gene abnormalities, and clinical usefulness. Clin Gastroenterol Hepatol. 2005; 3(7): 542-5.
121. Yabana T, Goto A, Arimura Y, Shimonura Y, Imai K. Genetic testing and gene based testing for colorectal cancer. Nippon Rinsho. 2005; 63 (12 Suppl): 217-22.
122. Homa K. Acceptance of screening colonoscopy for the prevention of colorectal cancer. Ann Acad Med Stelin. 2004; 50 (2): 55- 63.
123. Horford WV. Colorectal cancer screening and surveillance. Sur Oncol Clin N Am. 2006; 15 (1): 1-20.
124. Bernstein MA, Feczko PJ, Halpert RD, Simms SM, Ackerman LV. Distribution of colonic polyps: increased incidence of proximal lesions in older patients. Radiology. 1985; 155: 35-8.
125. Bond JH. Adenomatous polyps and adenocarcinoma of the colon. In: Di-marino AJ, Benjamin SB, editors. Gastrointestinal disease: an endoscopic approach. Oxford: Blackwell Science; 1997. p. 610-34.
126. Norgaard M, Iversen LH, Sorensen HT. Colorectal cancer. Incidence and risk factors. Ugeskr Laeger. 2005; 167 (44): 4157-9.

127. O' Brien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, Gottlieb LS, Sternberg SS, Díaz B, et al. The National polyp study: patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 1990; 98: 371-90.
128. Arnold CN, Goel A, Blum HE, Baland CR. Molecular pathogenesis of colorectal cancer: implications for molecular diagnosis. *Cancer*. 2005; 104 (10): 2035- 47.
129. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kernse SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorrectal tumor development. *New Engl J Med*. 1988; 319: 525-32.
130. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990; 61:759-67.
131. Hardy RG, Meltzer SJ, Jankowski JA. Molecular basis for risk factors. ABC of colorectal cancer: clinical review. *Br Med J*. 2000; 321: 886-9.
132. Cruz-Bustillo D. Genética molecular del cáncer colorrectal. *Rev Esp Enferm Dig (Madrid)* 2004; 96(1): 48-59.
133. Lynch HT, Lynch JF. Genetics of colorectal cancer. *Digestion* 1998; 59: 481-92.
134. Mecklin JP, Peltomaki P. Genetic changes associated with colon tumor development. *Ann Chiru Gynaecol* 2000; 89: 211-15.
135. Hoops TC, Traber PG. Molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Surg Clin North Am*. 1997; 11: 609-33.
136. Woodward M, Bordogna W. Cell cycle and cancer. *Rev Oncol* 2000; 2: 12-22.
137. Barry EL, Baron JA, Grau MV, Wallace K, Haile RW. K- ras mutations in incident sporadic colorectal adenomas. *Cancer*. 2006; 106 (5): 1036-40.
138. Hsieh JS, Lin SR, Chang MY, Chen FM, LuCY, et al. APC, K-ras, and p53 gene mutations in colorectal cancer patients: correlation to clinicopathologic features and postoperative surveillance. *Am Surg*. 2005; 71 (4): 336-46.

139. Kinzler KW, Nilbert MF, Vogelsteins B, Bryam TM, Levy DB, Smith KJ, et al. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers. *Science*. 1991; 251: 1366-70.
140. Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H. MADRZ maps to 18q21 and encodes a TGF beta-regulated protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* 1996; 86: 543-52.
141. World Medical Association. The Declaration of Helsinki: Recommendations. Guiding Physicians in Biomedical Research Involving human Subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Philander, 1964. Revised in 29th World Medical Assembly, Tokyo, 1965.
142. Llanio Navarro R. Gastroenterología: principios básicos y pruebas diagnósticas. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1991. p.349
143. Van Munster IP, Tangeman A, De Haan AFJ, Nagengast FM. A new method for the determination of the cytotoxicity of bile acids and aqueous phase of stools. The effect of calcium. *Eur J Clin Investig*. 1993; 23: 773-7.
144. Malchow-Moller A, Arffmann S, LaRusso NF, Krag E. Enzymatic determination of total  $3\alpha$ -hydroxy bile acids in faeces. Validation in healthy subjects of a rapid method suitable for clinical routine purpose. *Scand J Gastroenterol*. 1982; 17: 331-3.
145. Roseleur OJ, Van Gent CM. A simplified method for the determination of steroids in diets and faeces. *Clin Chim Acta*. 1978; 82: 13-23.
146. Gelb AM, McSherry ChK, Sadowsky JR, Mosbach EH. Tissue bile acids in patients with colon cancer and colonic polyps. *Am J Gastroent* 1982; 77: 314-17.
147. Kano M, Wada S, Matsumoto M. Human fecal bile acids and fractions with enzyme linked immunosorbent assay. *Showa Univ J Med Sci*. 1993; 5: 183-91.
148. Coramina VA. Los lípidos: Laboratorio y clínica. Barcelona, 1973 ed. Tory, S. A. p. 1-459.

149. Fausa O, Skalhegg BA. Quantitative determination of bile acids and their conjugates using thin layer chromatography and purified 3 hydroxy-steroid dehydrogenase. *Scand J Gastroenterol*. 1974; 9: 249-59.
150. Maratka Z. Terminología, definiciones y criterios diagnósticos en endoscopia digestiva. 3<sup>a</sup> ed. Madrid: Normed Verlag; 1994. p. 50-55.
151. Ruiz de León A, Sevilla MC, Pérez de la Sierra JA. Anatomía y fisiología del colon. En: Díaz Rubio M editor. *Intestino I. Plan de actualización en gastroenterología*. Madrid: Ed. Médica Internacional; 1998. V.3. p. 73-5.
152. Modigliani R. Endoscopic management of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1994; 89 (Suppl 8): 553-65.
153. Modigliani R. Endoscopic assessment of disease activity in IBD. In: Rachmilewitz D; editor. *Inflammatory bowel disease-1994*. Dordrecht: Kluwer. Academia Publishers, 1994. 124-30.
154. Robbins SL, Ramzi SG, Vinay K, Tuckes C. Anomalías del crecimiento celular. En su: *Patología estructural y funcional*. 6<sup>a</sup> ed. Madrid: McGraw-Hill/ Interamericana, 2000, p 68-76.
155. Rigau J, Saló J. Poliposis rectocolónica. *JANO*. 1997; 1213: 35-43.
156. Markowitz AJ, Winawer SJ. Management of colorectal polyps. *CA Cancer J Clin*. 1997; 47: 93-112.
157. Bond JH. Polyp guideline: diagnosis, treatment and surveillance for patients with nonfamilial colorectal polyps. The practice parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Ann Intern Med*. 1993; 119: 836-43.
158. Winawer SJ, St John DJ, Bond JH, Rozen P, Burt RW, Wage JD, et al. Prevention of colorectal cancer; guidelines based on new data. *Bull World Health Organ*. 1995; 73: 7-10.
159. Konishi F, Morson BC. Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey. *J Clin Pathol*. 1982; 35: 830-41.
160. Riddell RM, Goldman H, Randsohoff DF. Dysplasia in inflammatory bowel disease: Standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol*. 1983; 14: 931-68.

161. Steven HI, Young SK. Colonic polyps and polyposis syndromes. In: Slesinger MH, Fedman M, Sharschmidt BF, editors. Gastrointestinal and liver disease. Pathophysiology, diagnosis and management. 6<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Panamericana; 1998. p. 1865-87.
162. Waye JD, Lewis BS, Frankel A, Geller SA. Small colon polyps. Am J Gastroenterol. 1988; 83: 120-22.
163. Bosman FT. Dysplasia classification: pathology in disgrace? J Pathol. 2001; 194: 143-4.
164. Mutto T, Bussey HJR, Morson B. The evolution of cancer of the colon and rectum. Cancer 1975; 36: 2251-70.
165. Jass JR, Sabin LH, editors. International histological classification of tumors. Berlin; Springer 1989.
166. Shanahan F. Pathogenesis of ulcerative colitis. Lancet 1993; 342: 407-11.
167. Debruyne PR, Bruyneel EA, Karaguni IM, Li X, Flatau G, Muller O, Zimber A, Gespach C, Mareel MM. Bile acids stimulate invasion and haptotaxis in human colorectal cancer cells through activation of multiple oncogenic signaling pathways. Oncogene. 2002; 21, 6740-50.
168. Dolara P, Cademi G, Salvadori M, Morozzi G, Fabianai R, Cresci A, Dipianesi C, Tivallori G, Russo A, Palli D. Fecal levels of short-chain fatty acids and bile acids as determinants of colonic mucosal cell proliferation in humans. Nutr Cancer. 2002; 42: 186-90.
169. Biasco G, Paganelli GM, Owen RW, Hill MJ. Faecal bile acids and colorectal cell proliferation. The ECP colon cancer Working Group. Eur J Cancer Prev. 1991; 1 (Suppl 2): 63-8.
170. Riddell RM. Premalignant and early malignant lesions in the gastrointestinal tract: definitions, terminology, and problems. Am J Gastroenterol 1996; 91: 864-72.
171. Cooper HS, Deppisch LH, Gourley WK, Kahn EI, Leu R, Marley PN, Pascal RR, et al. Endoscopically removed malignant colorectal polyps: clinicopathologic correlations. Gastroenterology. 1995; 108: 1657-65.

172. Todoroki I, Friedman GD, Slattery HL, Chow WH, Persson I, et al. Cholecystectomy and colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1993; 105: 142-47.
173. Shao T, Yang YX. Cholecystectomy and the risk of colorectal cancer. *Am J Gastroenterology* 2005; 100: 1813-20.
174. Shernhammer ES, Leitzmann MF, Michard DS, Sprizer FE, Giovannucci E, Colditz GA, Fuchs CL. Cholecystectomy and the risk for developing colorectal cancer and distal colorectal adenomas. *Br J Cancer*. 2003; 88: 79-83.
175. Lallemand RC, Vakil PA, Person P, Box V. Screening for asymptomatic bowel cancer in general practice. *Br Med J*. 1984; 288: 31-3.
176. Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY, Larhn GN, Rogge JD, Ransohoff DF. Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *N Engl J Med*. 2000; 343: 169-74.
177. Lieberman DA, Weiss DG, Band JH, Ahnen DJ, Garewal H, Cheifec G. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. *New Engl J Med*. 2000; 343: 162-68.
178. Juste C. Dietary fatty acids, intestinal microbiota and cancer. *Bull Cancer*. 2005; 92: 708-21.
179. Bruce WR. Recent hypotheses for the origin of cancer. *Cancer Res*. 1987; 47: 4237-42.
180. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and population. *J Nat Cancer Inst*. 1999; 91: 916-32.
181. Hahn M, Saeger HD, Schackert HK. Hereditary colorectal cancer: clinical consequences of predictive molecular testing. *Int J Colorectal Dis*. 1999; 14: 184-93.
182. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology*. 2000; 119: 854-65.
183. Carethers JM. The cellular and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am*. 1996; 25: 737-54.
184. Inadomi JM, Sannenberg A. The impact of colorectal cancer screening on life expectancy. *Gastrointest Endosc. Clin North Am*. 2000; 51: 517-23.

185. Fearly J, Bray F, Sankila R, Parkin DM. EUCAN: Cancer Incidence, mortality and prevalence in the European Union 1997; version 4.0. IARC Cancer Base No. 4. Lyon: IARC Press, 1999. [Limited version available from: URL: <http://www-dep.iarc.fr/eucan.html>].
186. Martínez C, Sánchez MJ. Registros de cáncer de población en los países europeos de lengua latina del sur de Europa. Comunicación en XXVII Reunión del Grupo Epidemiología y Registros de Cáncer de países de lengua latina. Nápoles, mayo 2002.
187. National Cancer Institute. Surveillance, epidemiology and end results: colon and rectum cancer. [Limited version available from: [http://ser.cancer.gov/faststats/html/inc\\_colorectal.html](http://ser.cancer.gov/faststats/html/inc_colorectal.html)] 2005.
188. Fabio L, Lalao R, Effect of age risk on second-primary colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 4-7.
189. Rainoldi JL. Epidemiología del cáncer colorrectal. En: Zapata CS, editors. Avances en la Gastroenterología en las Américas. AIGE. 2005. p. 168-74.
190. Piñol V, Bessa X, Salo J, Elizalde JI, Castells A. La detección precoz del cáncer colorrectal. *Med Intg.* 2001; 37: 118-26.
191. Nakajima T, Nakagawa Y, Sano A, Okuno T, Takino T. Tissue bile acids in the intestinal mucosa and colonic polyps. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi.* 1983; 80: 1814.
192. Nakashima T, Sero Y, Nakajima T, Shima T, Sakamoto Y, Sano A, Takino T. Distribution of tissue bile acids in the human alimentary tract and colon polyps. *Jpn J Med.* 1989; 28: 25-9.
193. Crump M, Gospodarowicz M, Shepherd FA. Lymphoma of the gastrointestinal tract. *Semin Oncol.* 1999; 26: 324-37.
194. Rainey JB, Davis PW, Bristol JB, Williamson RC. Adaptation and carcinogenesis in dysfunction rat colon: divergent effects of faeces and bile acids. *Br J Cancer.* 1983; 48: 477-84.
195. Vennit S. Mutagens in human faeces and cancer of the large bowel en: Rowland IR, editors.: Role of the gut flora in toxicity and cancer. London: Academic Press; 1988. p. 399-460.

196. Hladik V, Nozicka Z, Maslowska M. Colorectal carcinoma and cholecystectomy. *Neoplasma* 1987; 34: 361-6.
197. Launoy G, Pottier D, Gignoux M. Cancer du côlon proximal et cancer du côlon distal: deux cancers épidémiologiquement différent. *Gastroenterol Clin Biol*. 1989; 13: 255-59.
198. Alley PG, Mc Nee RK. Age and sex differences in right colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 1986; 29: 227-9.
199. Vobecsky J, Leduc C, Devroede G. Sex differences in the changing anatomic distribution of colorectal carcinoma. *Cancer*. 1984; 54: 3065-69.
200. Leslie A, Carey FA, Pratt NR. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg*. 2002; 89: 845-60.
201. Wynder EL, Reddy BS. Metabolic epidemiology of colorectal cancer. *Cancer*. 1974; 34: 801-6.
202. Hill MJ, Melville DM, Lennard-Jones JE, Neale K, Ritchie JK. Faecal bile acids, dysplasia and carcinoma in ulcerative colitis. *Lancet*. 1987; 2: 185-6.
203. Tanida N, Hikasa Y, Dado M, Sawada K, Kawaura A, Shimoyama T. High concentration and retained anidation of fecal bile acids in patients with active ulcerative colitis. *Jpn Gastroenterol*. 1986; 21: 245-54.
204. Alonso ML. Relación entre la morfología de la mucosa intestinal y ácidos biliares totales elevados en heces fecales de pacientes pediátricos. [Tesis]. La Habana, 2005. Instituto de Gastroenterología.
205. Ung KA, Gillberg R, Kilander A, Abrahamsson H. Role of bile acids and bile acid binding agents in patients with collagenous colitis. *Gut*. 2000; 46: 170-5.
206. Ung KA, Kilander A, Willen R, Abrahamsson H. Role of bile acids in lymphocytic colitis. *Hepatogastroenterology*. 2002; 49: 432-37.

## **Anexos**

### **Bibliografía del autor, relacionada con la tesis**

- Paniagua M, Piñol F, Chao L, Borbolla E, Cendán A. Displasia en pacientes con colitis idiopática de 10 o más años de evolución. Rev Cubana Med. 2005; 44 (5-6) //<http://www.infomed.sld.cu>
- Piñol F, Paniagua M, Liborio R, Borbolla E, Cendán A. Presencia de lesiones histomorfológicas del colon en pacientes con ácidos biliares totales elevados en heces fecales. Rev Cubana Med. 2005; //<http://www.infomed.sld.cu>

### **Eventos**

- Piñol F. Presencia de lesiones histomorfológicas del colon en pacientes con ácidos biliares totales elevados en heces fecales. XXVIII Congreso Panamericano de Enfermedades Digestivas, XV Congreso Panamericano de Endoscopia Digestiva y XII Congreso Uruguayo de Gastroenterología. 28 de septiembre a 2 de octubre de 2003. Punta del Este, Uruguay.