

R. 15554 0

T.D
E/8
Tomo I

ESTUDIO DE LOS ACIDOS BILIARES EN EL CONTENIDO GASTRICO.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL



Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 65 número 6 del libro
correspondiente.

Sevilla, 27 ABR 1989

El Jefe del Negociado de Tesis,

Aluadafite

TESIS DOCTORAL

HECTOR ESCOBAR CASTRO



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

1989

D. ALBERTO VALLS SANCHEZ DE PUERTA, CATEDRATICO DE PEDIATRIA Y
D. FEDERICO ARGUELLES MARTIN, PROFESOR TITULAR NUMERARIO DE PEDIATRIA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA DE SEVILLA,

CERTIFICAN:

Que bajo su direcci3n, D. H3ctor Escobar Castro, ha realizado el
trabajo de investigaci3n denominado: "Estudio de los 3cidos biliares en el
contenido g3strico", con el que aspira a obtener el GRADO DE DOCTOR.

Y para que conste donde proceda, firmamos en Sevilla a treinta
de marzo de mil novecientos ochenta y nueve.



Fdo. Prof. A. Valls



Fdo. Prof. F. Argüelles

a Lucrecia...

a Inmaculada e Iván...

a Merche...

Al principio de esta tesis quiero agradecer la colaboración de los que han hecho posible que este trabajo pueda ser una realidad, especialmente a los que me han animado a continuar, a pesar del tiempo transcurrido.

A los profesores: Alberto Valls de la Puerta y Federico Arguelles Martín, director y co-director, mi agradecimiento por haberme facilitado el acceso a la realización de esta tesis, así como por la orientación y consejos que me han proporcionado durante su elaboración y por su bien probada amistad.

Mi mayor agradecimiento a los Padres y a los niños que se prestaron voluntariamente a la extracción del contenido gástrico para la determinación de los ácidos biliares, que sin su cooperación nunca se hubiese realizado este estudio.

Mi especial agradecimiento a la Dra Rosa Codoceo por su colaboración en las determinaciones de los ácidos biliares y su valoración, así como por la discusión e interesantes consejos que me ha proporcionado durante la elaboración de este proyecto y por su incesante estímulo para continuar en la investigación.

A la Dra Cristina Martinez C y al Dro. Rafael la Hoz Beltrá del Departamento de Matemática Aplicada de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, que me han facilitado el adecuado enfoque estadístico de los resultados de la tesis.

A los componentes de la Unidad de Gastroenterología del servicio de Pediatría del hospital Ramón y Cajal de Madrid, Dra. Camarero, Dra. Suarez y a la Dra. Perdomo, por su gran ayuda en la realización de los estudios y colaboración que siempre necesité.

Mi agradecimiento a las Ayudantes Técnicos Sanitarios Vicky y Consuelo, por su amable colaboración en la obtención de las muestras.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Carlos Vázquez Gonzalez, con quien aprendí a discernir entre lo útil y lo inútil, lo bien hecho y lo mal hecho, lo esencial y lo superfluo, y a quien debo gran parte de mi reducido conocimiento.

Queda constancia de mi agradecimiento a la empresa de informática INTERLINK por su apoyo técnico en la confección de esta tesis.

Por fin, agradezco de todo corazón a Lucrecia por su insistencia, y a mis hijos Inmaculada e Iván, por el tiempo que no les he podido dedicar.

INDICE.

Agradecimientos.

Abreviaturas usadas en el presente trabajo

INTRODUCCION. 6

I.METABOLISMO, ESTRUCTURA Y FUNCION DE LOS ACIDOS Y SALES BILIARES.

1. Características generales 7

2. Bases químicas 9

3. Elementos principales. 12

4. Conjugación 12

5. Síntesis de ácidos biliares. 15

5.1. Síntesis del ácido cólico. 16

5.2. Síntesis del ácido quenodeoxicólico. 20

5.3. Síntesis de los ácidos biliares secundarios. 20

6. Círculo enterohepático. 21

7. Funciones de los ácidos biliares. 22

II. PECULIARIDADES DE LAS SALES BILIARES EN EL FETO Y EN EL NIÑO.

1. Metabolismo de los ácidos biliares en el feto. 25

2. Metabolismo de los ácidos biliares en el recién nacido y el niño.	27
JUSTIFICACION.	30
OBJETIVOS.	34
MATERIAL Y METODOS.	37
I. SUJETOS ESTUDIADOS.	
1. Grupo I. Recién nacidos.	38
2. Grupo II. Niños de 1 a 14 años.	39
3. Grupo III. Reflujo gastroesofágico.	40
4. Grupo IV. Úlcera duodenal.	41
5. Grupo V. Gastritis.	41
II. DETERMINACION DEL PERFIL DE LOS ACIDOS BILIARES TOTALES.	
1. Preparación de la muestra.	42
2. Determinación de las fracciones	42
3. Cuantificación de los ácidos biliares y fracciones.	43
III. ESTUDIO ESTADISTICO.	
1. Descripción del programa.	43
2. Fases de trabajo.	44

3. Interpretación de los resultados.	44
RESULTADOS.	45
1. DATOS CLINICOS, VARIABLES ANALITICAS Y ESTUDIO ESTADISTICO.	
1.1. Recién nacidos.	48
1.2. Niños de 1 a 14 años.	50
1.3. Reflujo gastroesofágico.	52
1.4. Úlcera duodenal.	59
1.5. Gastritis.	64
2. ANALISIS DE REGRESION LINEAL Y CORRELACION.	71
DISCUSION.	96
1. Aspectos generales.	97
2. Discusión de resultados.	102
A- Comportamiento de los ácidos biliares.	102
B- Análisis de regresión y correlación.	112
CONCLUSIONES.	114
RESUMEN.	117
BIBLIOGRAFIA.	122

ABREVIATURAS USADAS EN EL PRESENTE TRABAJO.

ATP: Adenosin trifosfato.

BAO: Secreción basal de ácido.

C: Acido Cólico.

Co A: Coenzima A.

Cm: Centímetros.

GC: Glicocólico.

DC: Acido Deoxicólico.

GST: Gastritis.

GLI / TAU: Cociente Glicocolatos / Taurocolatos.

GQDC + GDC: Glicoquenodeoxicólico + Glicodeoxicólico.

MAO: Máxima secreción de ácido.

mEq/k/h: miliequivalentes/kilo/hora.

ml: mililitros.

mmol: milimoles.

ng: nanogramos.

P: Probabilidad.

pg: picogramos.

Pka: Constante de disociación.

QDC: Acido Quenodeoxicólico.

RATIO 1: TQDC + TDC.

RATIO 2: GQDC + GDC.

RATIO 3: Cociente triOH / diOH.

RATIO 4: Cociente GLI / TAU.

r: Coeficiente de correlación.

REG 1: Correlación C : QDC.

REG 2: Correlación QDC : DC.

REG 3: Correlación C : DC.

RGE: Reflujo gastroesofágico.

RN: Recién nacido.

SBT: Sales biliares totales.

SEM: Desviación standard de la media.

TC: Taurocólico

TQDC + TDC: Tauroquenodoxicolato + Taurodeoxicólico.

triOH + diOH: Cociente de ácidos trihidroxilados / dihidroxilados.

UD: Ulcera duodenal

μmol/L: micromoles/litro

INTRODUCCION.

I. METABOLISMO, ESTRUCTURA Y FUNCION DE LOS ACIDOS Y SALES BILIARES

1. Características generales.

La presencia de ácidos biliares solamente se detecta en las especies vertebradas y su síntesis solamente se realiza en el hígado a expensas del colesterol (1) (Figura 1).

El componente fundamental de la estructura de las membranas celulares en los vertebrados es el colesterol. Su síntesis se produce en la practica totalidad de los tejidos, por la necesidad de regeneración de las membranas celulares y de la producción de importantes sustancias como los ácidos biliares y las hormonas esteroideas (2, 3,).

Una producción aumentada de colesterol, no acompañada de una eliminación adecuada, da lugar a una hipercolesterolemia con el riesgo de arterioesclerosis (4). El organismo dispone de métodos eficaces de eliminación del colesterol, que sirven de elementos de protección. Esto se consigue químicamente, convirtiendo el colesterol liposoluble en moléculas hidrosolubles que son eliminadas más facilmente, este es el caso de los ácidos biliares que no solo son el producto final de la degradación del colesterol, sino que tambien tienen funciones específicas en la digestión, emulsión y absorción de las grasas y vitaminas liposolubles (5).

Otras funciones específicas de estas sustancias son la formación de micelas (6,7), la determinación del flujo biliar (8,9) y la motilidad intestinal en la que intervienen los ácidos biliares dihidroxilados en la secreción y motilidad intestinales (10,11).

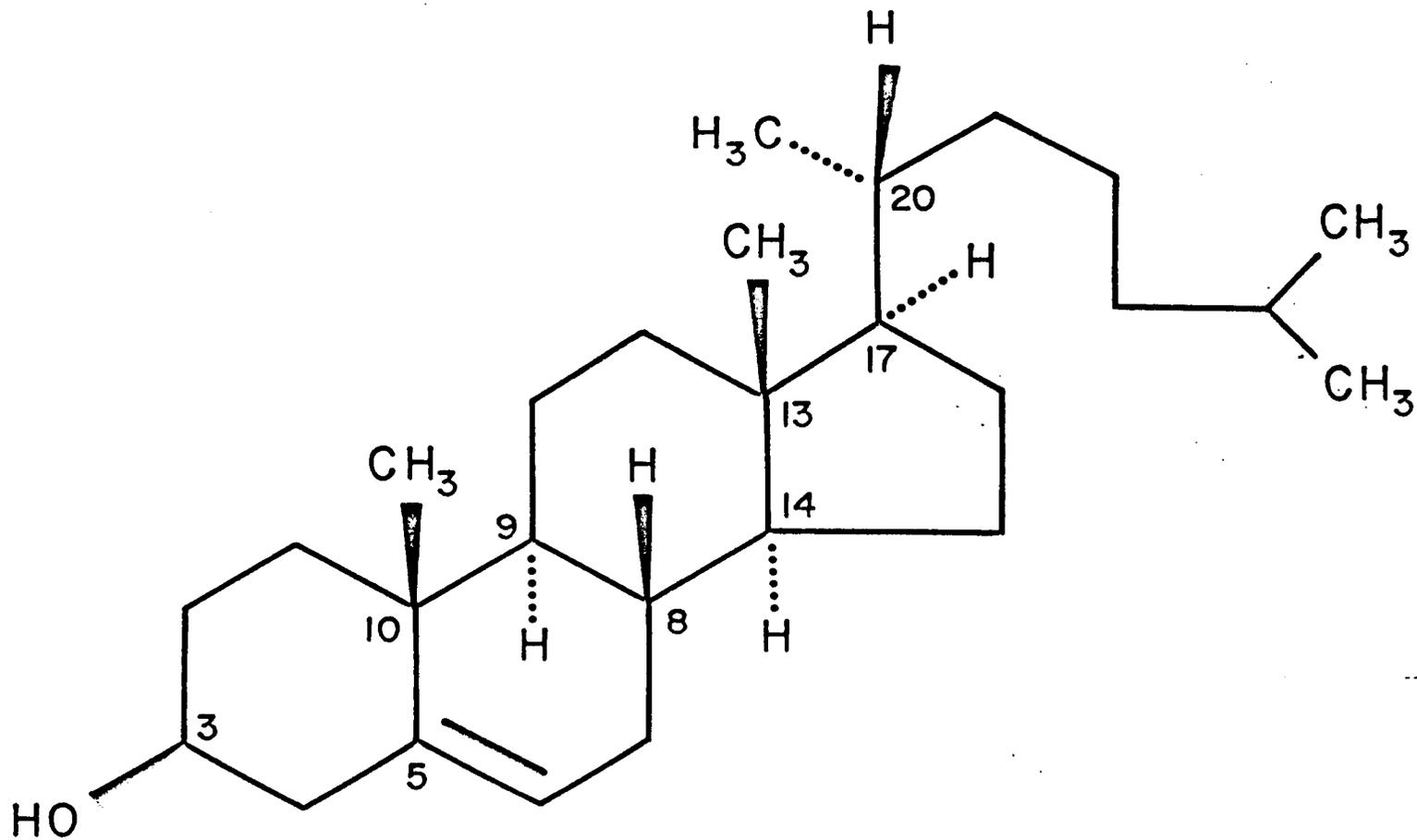


Figura 1

Estructuras químicas del colesterol
(choles-5-en-3 β-ol).



Los ácidos biliares, por medio de un mecanismo de retro control (12-14) regulan su propia síntesis desde el colesterol, en su primer paso metabólico de colesterol a 7α - hidroxicolesterol en los microsomas del hepatocito (15-17). La cantidad de ácidos biliares que retornan al hepatocito por la circulación portal es un factor limitante de la enzima 7α - hidroxilasa (18-21) .

Las amplias funciones que tienen los ácidos biliares hacen que se vean envueltos en la fisiopatología de algunas enfermedades del aparato gastrointestinal (22).

2. Bases químicas.

La propia terminología de los ácidos biliares es compleja y a veces incomprensible excepto para los químicos que trabajan en su estudio.

Los términos ácido y sal biliar son utilizados de forma indistinta habitualmente (23). Se diferencian en el estado de ionización de tal manera que la forma ionizada es la sal y la no ionizada el ácido .

La denominación de ácido biliar se reserva para las formas libres no conjugadas, y la de la sal para las formas conjugadas (2-5, 11). En el hombre la mayoría de las sales biliares están en forma conjugada. En adelante utilizaremos los términos de ácidos o sal biliar indistintamente.

Los ácidos biliares comparten con las moléculas esteroideas el núcleo pentanoperhidrofenantreno, que se identifican con las letras A a la D, (figura 2), diferenciándose de éstas por tener añadida una cadena lateral al anillo D, y dos grupos metilo, con lo cual el total de carbonos es de 24 (5, 7).

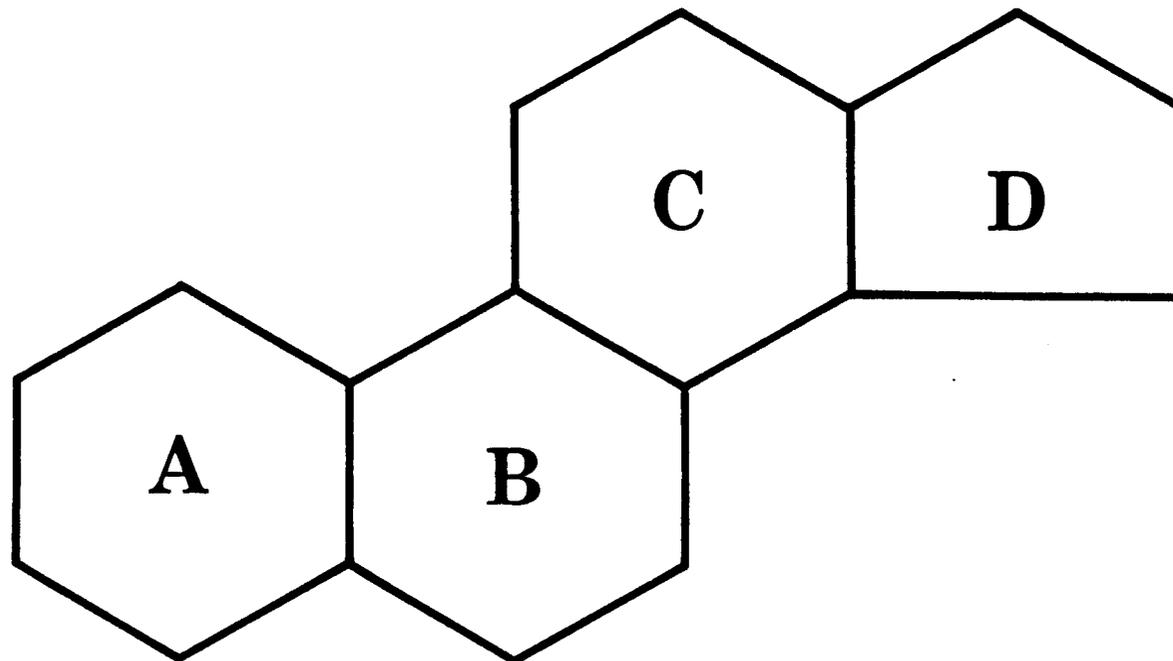


Figura 2

Nucleo esteroideo perhidrociclopentanofenantreno.

El ácido biliar prototipo o base es el ácido 5 β colanólico, siendo los restantes derivados hidroxilados de este .

En los mamíferos, la hidroxilación se produce habitualmente en los anillos A, B y C del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno y de manera predominante, en las posiciones 3 α , 7 α y 12 α (10, 24).

El carácter α o β de las sustituciones se debe al hecho de que al no ser plana la molécula, la angulación del grupo sustituyente respecto al núcleo puede hacerse hacia delante (orientación β), o hacia atrás (orientación α) (10).

En el ácido colanólico ambos grupos metilo tienen una orientación β , situación que se observa en los ácidos biliares de todas las especies.

Es más variable la posición del hidrógeno en el carbono 5; en el hombre y la mayoría de las especies está en orientación β (10). Al estar en el mismo sentido que el metilo del carbono 10 se habla de una molécula A / B cis, opuesta a la molécula trans o aloconfigurada, en la que el hidrógeno del carbono 5, es de orientación α ; este es el caso del ácido 5 α colanólico o ácido alocólico, que se detectan pequeñas trazas en el hombre.

Los ácidos biliares ordinarios, tienen su molécula plegada o L configurada, plegamiento que se produce a nivel de la unión de los anillos A y B, posiblemente determinado por la posición β del hidrógeno del carbono 5. Se ha sugerido (10, 16, 22), que esta configuración hace más resistente a la cristalización a la molécula del ácido biliar.

El hecho de que en el hombre las sustituciones del hidrógeno por grupos hidroxilo sea en orientación α , permite que los grupos

hidroxilo queden en el lado opuesto a los grupos metilo, con lo queda la molécula con un lado totalmente hidrocarbonada o inerte, mientras el otro tiene los grupos fisicoquímicamente activos (10).

3. Elementos principales.

La bilis humana contiene tres ácidos biliares principales: el ácido cólico (ácido 3 α , 7 α , 12 α trihidroxi 5 β colanoico); el ácido quenodeoxicólico (ácido 3 α , 7 α dihidroxi 5 β colanoico); y el ácido deoxicólico (ácido 3 α , 12 α dihidroxi 5 β colanoico). Existe una mínima cantidad de un cuarto ácido biliar, el ácido litocólico (ácido 3 α hidroxilado 5 β colanoico). La diferencia entre ellos está en el número y posición de los grupos hidroxilos; así tenemos que hay: un ácido trihidroxilado(ácido cólico), dos dihidroxilados (los ácidos quenodeoxicólico y deoxicólico), y uno monohidroxilado (el ácido litocólico), (2-4, 10). (Figura 3).

Ultimamente (25-30), han sido identificados en la bilis humana en cantidades insignificantes, los ácidos ursodeoxicólico, allocólico, 3 α , 17 α , 12 α trihidroxicoprostánico y el 3 α , 7 α dihidroxicoprostánico.

Los ácidos biliares que son sintetizados en la célula hepática son considerados como primarios: ácidos cólico y quenodeoxicólico, siendo los secundarios, los productos de la degradación de los primarios por las bacterias intestinales mediante una 7 α hidroxilación, pasando el ácido cólico a deoxicólico y el quenodeoxicólico a litocólico (31- 33,).

4. Conjugación.

Los ácidos biliares hasta que abandonan el hepatocito se encuentran en su forma libre y no conjugada, pero al pasar al árbol biliar la mayoría se encuentran en forma conjugada. Dicha conjugación

consiste en la unión de un enlace amida (-34-36 -) de un aminoácido, glicina o taurina, al grupo carboxílico de la cadena lateral. Este enlace amida o peptídico es especialmente resistente a las peptidasas naturales y a la hidrólisis del laboratorio. La conjugación favorece la solubilidad de los ácidos biliares y disminuye su constante de disociación (10).

Se ha demostrado que los ácidos biliares antes de conjugarse tienen que ser activados mediante la formación de un derivado del coenzima A, activación que se produce por un enzima que precisa de Co A, ATP y magnesio; este proceso está catalizado por la enzima aciltransferasa (2).

El predominio de la conjugación con glicina sobre la taurina parece que está determinado por la disponibilidad hepática de taurina, ya que se ha observado que la administración de taurina aumenta las formas tauroconjugadas de los ácidos biliares, lo que no sucede si se administra glicina (2).

Por lo tanto, las sales biliares presentes en la bilis son: ácido glicocólico, ácido taurocólico, ácido glicoquenodeoxicólico, ácido tauroquenodeoxicólico, ácido glicodeoxicólico y ácido taurodeoxicólico.(Figura 3).

La relación entre las formas glicoconjugadas y las tauroconjugadas (cociente GLI/TAU) varía entre 1 y 6, con una media de 3.2; esto es específico de cada especie y puede ser modificado fácilmente por factores hormonales y nutricionales (37, 38).

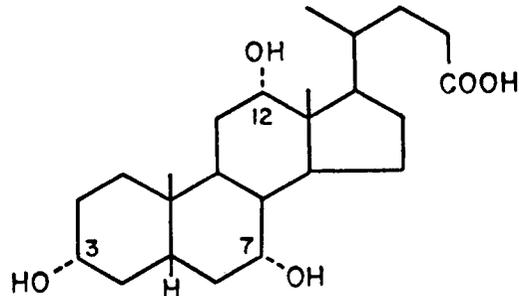
Respecto a la relación entre cólico/quenodeoxicólico/deoxicólico, las proporciones más aceptadas son: 1.1/1/0.6, que es la media obtenida

TRI-HIDROXILADOS

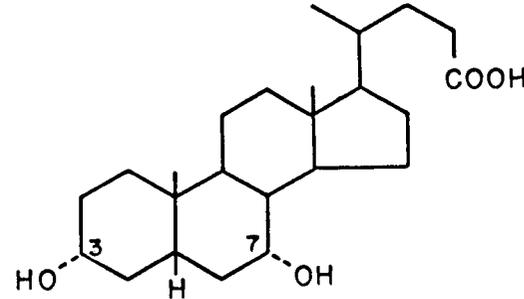
DI-HIDROXILADOS

MONO-HIDROXILADOS

PRIMARIOS

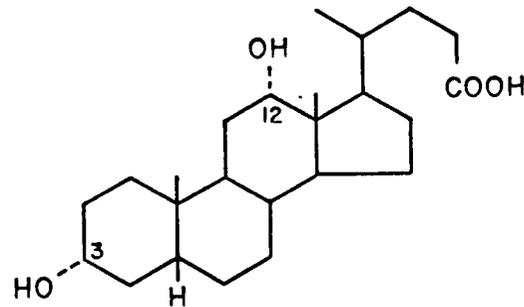


AC. Cólico
(3 α , 7 α , 12 α -trihidroxi-
cólico)

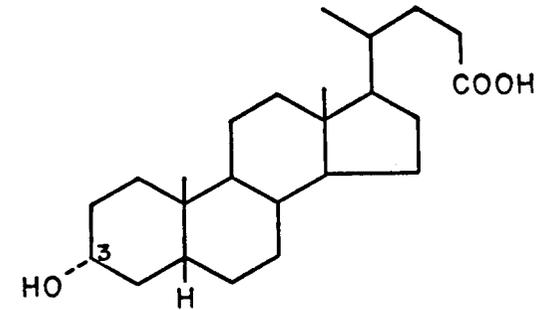


AC. Quenodeoxicólico
(3 α , 7 α -dihidroxicólico)

SECUNDARIOS



AC. Deoxicólico
(3 α , 12 α -dihidroxicólico)



AC. Litocólico
(3 α -monohidroxicólico)

FIGURA 3 ACIDOS BILIARES CLASIFICADOS POR: (a) EL NUMERO DE GRUPOS HIDROXILOS EN EL NUCLEO ESTEROIDEO, Y (b) EN ACIDOS PRIMARIOS Y SECUNDARIOS.

por Sjovall (39), que expresado en porcentajes, el cólico representaría un 41 %, el quenodeoxicólico 37 % y el deoxicólico 22 %.

Con las técnicas de cromatografía de gas líquido se detecta el ácido litocólico en el pool de los ácidos y sales biliares, representando alrededor de un 2 % de dicho pool.

Otro modo de expresar la composición de los ácidos biliares es el cociente trihidroxilados / dihidroxilados, por la dificultad para separar las dos formas dihidroxiladas (40).

5. Síntesis de ácidos biliares.

Los trabajos experimentales, utilizando isótopos marcados, han podido demostrar que el colesterol es el único precursor de los ácidos biliares en los vertebrados, y que el hígado es el único órgano capaz de transformar el colesterol en ácidos colanoicos con sustituciones hidroxiladas (41-44).

Los cambios necesarios en la molécula del colesterol para llegar a los ácidos biliares son los siguientes (figura 4.):

- 1- Introducción de los grupos hidroxilo en las posiciones 7 a 12.
- 2- Cambio de la orientación del grupo 3 hidroxilo de β a α .
- 3- Reducción estereoespecífica del doble enlace del C5 - C6.
- 4- Acortamiento de la cadena lateral en 3 carbonos.
- 5- Oxidación del carbono terminal de la cadena lateral para formar un grupo carboxílico.

La mayoría de los resultados "in vivo" de estos pasos se han podido reproducir "in vitro" mediante experimentos con homogeneizados y fracciones subcelulares; esto ha permitido que se conozca la secuencia de los pasos que conducen del colesterol al ácido cólico, aunque ciertas vías alternativas de su síntesis todavía están por aclarar (2, 41).

Peor conocidos son los enzimas que catalizan estas etapas, aunque se sabe que las cuatro primeras reacciones se dan en los microsomas, la quinta, sexta y octava se deben a enzimas solubles, y la novena en las mitocondrias (45, 46).

Antes del comienzo de la oxidación de la cadena lateral se producen los cambios del núcleo esteroideo. Es llamativo que los últimos compuestos antes del acortamiento de esta cadena y sus equivalentes sin el grupo 12α hidroxilo, son los principales ácidos biliares hallados en los reptiles, lo que indicaría que en la evolución de los mamíferos, se produce un acortamiento de la cadena lateral (6).

Lo establecido anteriormente no parece que se produzca en las vías alternativas propuestas para el ácido quenodeoxicólico (32, 43, 44,), de tal manera que aunque los ácidos biliares primarios sólo se diferencian en que el cólico tiene un grupo hidroxilo más en posición 12, parece que en los mamíferos el ácido quenodeoxicólico no es precursor de aquel, por lo que deben considerarse por separado sus dos vías de síntesis.

5.1. Síntesis de ácido cólico.

5.1.A. Transformación del núcleo esteroideo.

El primer paso es la 7α hidroxilación del colesterol, realizada por el sistema enzimático microsomal. Esta reacción, que es lenta "in

vitro", necesita de la presencia de oxígeno y NADPH y es estimulada por fenobarbital (47). El producto resultante de este paso es el 7 α hidroxicoolesterol (colestén 5 - 3 β - 7 α diol). (Figura 4).

La siguiente reacción es la oxidación del grupo 3 β hidroxilo, y el cambio del doble enlace entre los carbonos 4 y 5, pasando a colestén 4 - 3 α 7 α hidroxil. Esta reacción está catalizada por una o varias enzimas microsomales, sin que se hayan podido aislar hasta el momento. Se habla de dos enzimas: una 3 β - hidroxil C 27 esteroide hidrogenasa (que produciría el colestén 5, 3 α , 7 α hidroxil) y una Δ 3 ceto C 27 esteroide isomerasa (que daría el colestén 4, 3 α , 7 α hidroxil). La reacción requiere NAD o DPN (48). (Figura 4).

La 12 α hidroxilasa , que condiciona el siguiente paso a colestén 3 - 4 α 7 α - 12 α diol ó 12 α diol o 7 α , 12 α dihidroxil colestrol 4 - en-3- α , es semejante a la 12 α hidroxilasa, necesitando oxígeno y NADPH, e inhibiéndose con monóxido de carbono (49). Parece que este enzima es importante en el momento de determinar la síntesis de cólico y quenodeoxicólico. (Ver figura 4).

La hidrogenación estereoespecífica es en el carbono 5, dando el 5 β colestano 3 - α 7 α - 12 α diol ó 7 α , 12 α dihidroxil 5 β colestano 3 α , es catalizada por un enzima soluble, la Δ 3 ceto C 26 esteroide 5 β reductasa. (Ver figura 4).

Hasta esta fase es común la vía metabólica, tanto para el ácido 5 α colanoico como para el 5 β colanoico. Las enzimas que determinan la configuración α o β se diferencian por su localización subcelular, estando la 5 β reductasa en el citosol y las 5 α reductasas en los microsomas (50).

La última reacción es la transformación del núcleo, catalizada por la enzima 3α hidroxilasa C 27 esteroide dehidrogenasa, produciendo el 5β colestano $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ triol. Se desconoce si en la regulación intervienen una o varias enzimas (51). (Figura 4).

En la síntesis del 5β colestano $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ - triol se han propuesto tres vías alternativas que tienen en común que el sustrato de la 12α hidroxilación no es el colesteno $4, 3$ - ona 7α hidroxil, siendo lo característico de cada una de ellas el momento en que se da esa 12α hidroxilación.

En la primera vía pasa el colesteno $5, 3\beta, 7\alpha$ -diol a colesteno $5, 3\beta, 7\alpha, 12\alpha$ - triol, siguiendo los pasos que anteriormente se describieron y que pueden verse en la figura 4.

En la segunda se da primero la reducción del colesteno $4,3$ ona, 7α hidroxil a 5β colestano $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ - triol. (Ver figura 4).

La tercera vía utiliza como sustrato al 5β colestano, $3\alpha, 7\alpha$ -diol, de la 12α hidroxilasa a través de la formación intermedia del colesteno $4, 3\alpha, 7\alpha$ - diol (52).

5.1.B - Degradación de la cadena lateral.

La primera modificación se produce sobre el grupo isopropílico terminal por una hidroxilación, dando el 5β colestano $2\alpha, 7\alpha, 12\alpha, 26$ tetrol (52). El sistema enzimático que cataliza esta reacción se encuentra en la fracción microsómica enriquecida con NADPH (50).

La siguiente etapa es la transformación del $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha, 26$ tetrahidroxi 5β colestano 26 oico por enzimas que están localizados en la fracción hepática soluble. Como paso intermedio está la formación

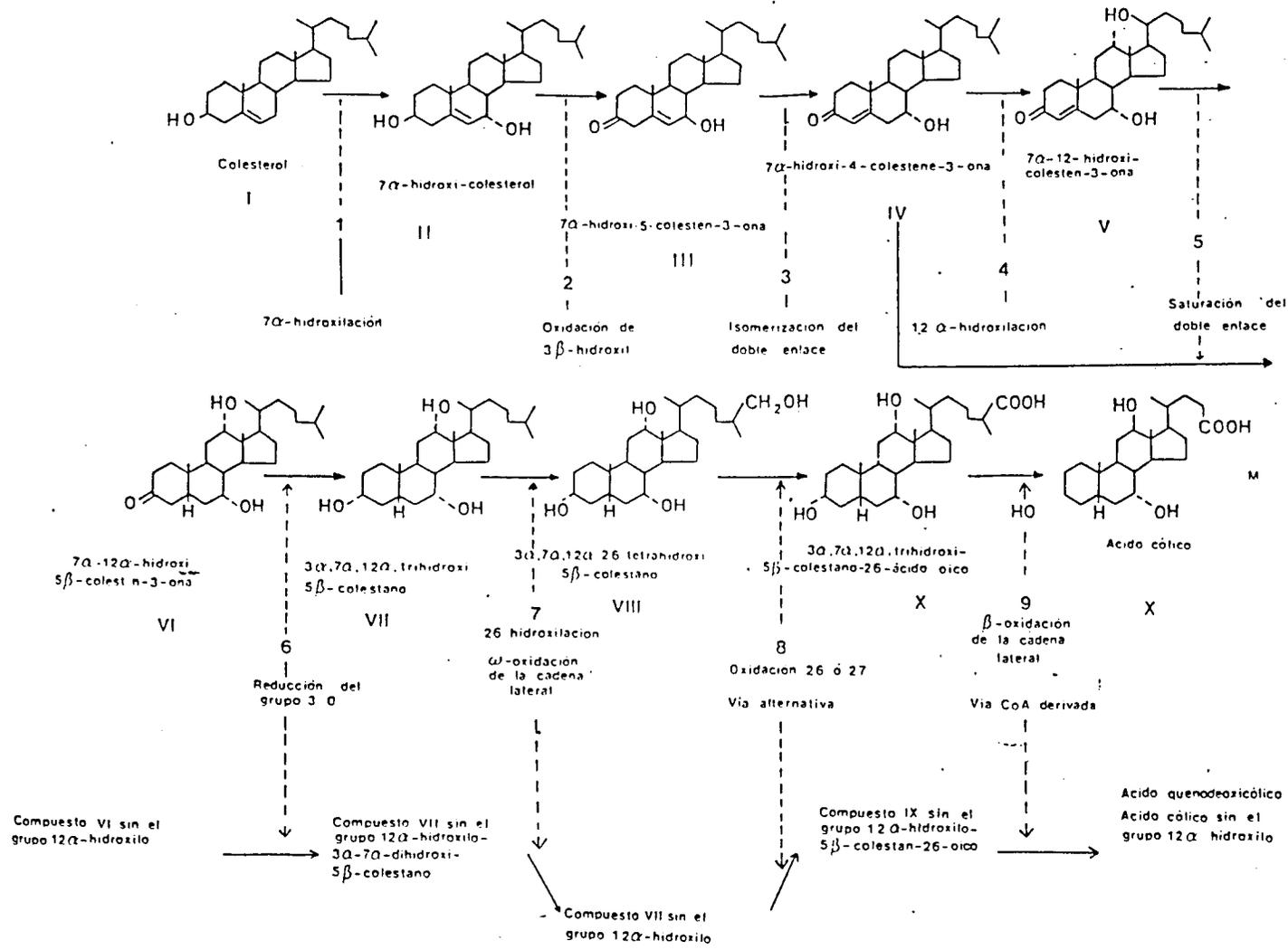


FIGURA 4 ESQUEMA DE LA SINTESIS DE LOS ACIDOS BILIARES



del 3 α , 7 α , 12 α - tetrahidro 5 β colestano aldehído, siendo análoga la conversión del 26 - ol al 26 - oico a la conversión del etanol en acetaldehído y ácido acético por la alcohol deshidrogenasa.

La transformación final del 3 α , 7 α , 12 α - trihidroxi 5 β colestano 26 oico a ácido cólico y ácido propiónico, está catalizada por la fracción mitocondrial (19, 53).

5.2. Síntesis del ácido quenodeoxicólico.

También proviene del colesterol como el ácido cólico, no conociéndose con claridad en que punto se separan las dos vías de síntesis de los dos ácidos primarios (54). Probablemente sea debido a que se han utilizado sistemas enzimáticos mitocondriales para estudiar la 26 hidroxilasa (55). "In vivo" se ha visto que tanto el colesterol como el colesteno 5, 3 β , 7 α - diol, el colesteno 4,3 ona 7 α hidroxilado y el 5 β colestano 3 α , 7 α - diol han sido 26 hidroxilados, siendo luego transformados en ácido quenodeoxicólico (55). Esto hace pensar que existen varias vías de síntesis cuyo intermediario común, según los estudios de Bjorkhem (19), es el colesteno 4,3 ona 7 α - hidroxilado.

La importancia de estas vías alternativas sugeridas para la síntesis del ácido quenodeoxicólico radica en que no siguen el camino general anteriormente expuesto y que las modificaciones del núcleo son anteriores a las de la cadena lateral (56).

5.3. Síntesis de ácidos biliares secundarios.

La síntesis de los ácidos biliares secundarios es realizada por las bacterias intestinales a partir de los ácidos biliares primarios. Los microorganismos responsables están situados en el íleon distal y el colon, que contienen la enzima 7 α hidroxilasa responsable de la

deshidroxilación de los ácidos biliares no absorbidos, produciendo a partir del ácido cólico el $3\alpha, 12\alpha$ - dihidroxi 5β colanoíco o ácido deoxicólico, y a partir del quenodeoxicólico el 3α - monohidroxi 5β colanoíco o ácido litocólico (57-60).

La mayor parte del ácido deoxicólico producido se reabsorbe para ser conjugado con glicina y taurina en el hígado (3, 4). La síntesis del ácido quenodeoxicólico disminuye cuando se ingiere ácido deoxicólico, ignorándose si es por una supresión selectiva en el hígado o por efecto sobre la reabsorción en el ileon (42, 55).

El ácido litocólico es insoluble a temperatura ambiente y se reabsorbe en pequeñas cantidades. La parte que llega al hígado es sulfatada en la posición 3 y pequeñas cantidades son conjugadas con taurina y glicina. Una vez eliminados estos derivados sulfatados son reabsorbidos y desulfatados en el hígado (61).

El interés del ácido litocólico se inicia a raíz de conocerse su toxicidad sobre la estructura y función del hígado (62, 63).

El ácido ursodeoxicólico, el cuarto ácido biliar, es un epímero 7β del ácido quenodeoxicólico y aunque aislado hace tiempo, se desconocía su importancia en la composición de la bilis humana (61).

6. La circulación enterohepática.

La síntesis de los ácidos biliares por el hígado, su conjugación y excreción por la bilis, la absorción en el ileon y paso nuevamente al hígado, se denomina circulación enterohepática de las sales biliares (64).Anatómicamente está constituida por el hígado, las vías biliares, el intestino y el sistema porta, y se regula por dos procesos fisiológicos: la absorción intestinal y el aclaramiento por el hígado de las sales biliares

provenientes de la circulación portal. Tiene un caracter cíclico, repitiéndose de 6 a 8 veces cada día, en relación con la cantidad y calidad de las comidas. El 88 % de las sales biliares reabsorbidas son reintroducidas en el hígado a través de la vena porta, donde son hidrolizadas en aminoácidos y ácidos biliares para nuevamente ser resintetizados y reexcretados por la bilis (65) (Figura 5).

La síntesis diaria de ácidos biliares en condiciones normales es de 500 miligramos, lo necesario para reponer las pérdidas diarias por heces y orina; pero en aquellos casos en los que se produce deplección de los depósitos de ácidos biliares, como en las fístulas o resección ileal, la síntesis puede aumentar de 5 a 10 veces (61).

La circulación unidireccional de los ácidos biliares en el circulo enterohepático se explica por dos bombas químicas que la regulan: la primera localizada en el hígado mediante un sistema de transporte activo facilitado por la bomba de sodio, y la segunda en el ileon terminal que reabsorbe el 95 % de los ácidos biliares de la luz intestinal (66). Es parcialmente conocido el efecto regulador del esfinter de Oddi y de la válvula ileocecal.

7. Funciones de los ácidos biliares.

Las principales funciones de los ácidos biliares son:

- Constituyen el principal sistema de excreción de colesterol.
- Son los determinantes fundamentales del flujo biliar.
- Intervienen en la formación de micelas de colesterol y lecitina.
- Favorecen la absorción de grasas y vitaminas liposolubles.

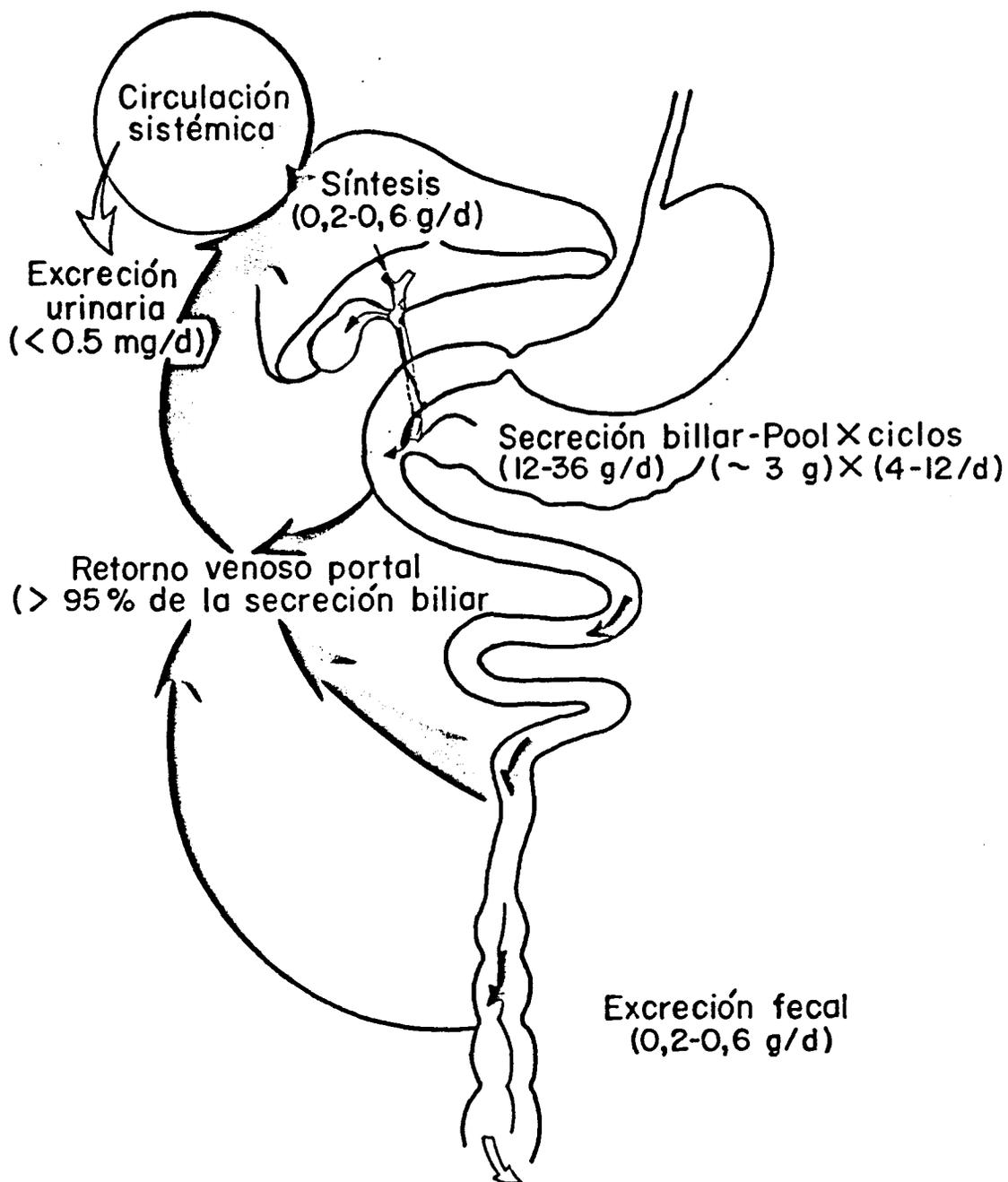


FIGURA 5 CIRCULACION ENTEROHEPATICA DE LAS SALES BILIARES. (2).

- Intervienen en la regulación de la motilidad y secreción líquida intestinal.
- Activan la enteroquinasa intestinal con lo que favorecen la digestión protéica.

II. PECULIARIDADES DE LAS SALES BILIARES EN EL FETO Y EN EL NIÑO.

1. Metabolismo de los ácidos biliares en el feto.

Los ácidos biliares se han detectado en el hígado de los fetos entre las 22 y 26 semanas, con un predominio de ácidos dihidroxilados conjugados con taurina. La ausencia de formas trihidroxiladas, es la consecuencia de la ausencia de la 12 α hidroxilasa en esta época. Hacia las 28 semanas ya están presentes el taurocolato y algo de glicocolato, que es el patrón de ácidos biliares que existe en el nacimiento (67).

El feto sintetiza los ácidos biliares a partir del colesterol y el hecho de encontrar en el meconio ácidos biliares primarios, nos hace pensar que en el útero puede funcionar una circulación enterohepática (68). Recientemente se ha podido demostrar (69) que los ácidos biliares atraviesan la placenta en ambas direcciones, bitransferencia que contribuye al depósito fetal de los ácidos biliares. El paso del feto a la madre puede ser una vía importante para la excreción de los ácidos biliares en el feto. Lo que determina la cuantía del transporte placentario es el grado de madurez del hígado fetal, demostrada por su capacidad de extraer y posiblemente conjugar y secretar ácidos biliares. La placenta representaría en el feto la reserva principal de los ácidos biliares, que en el adulto estaría constituida por la vesícula biliar y la circulación enterohepática en general (67). (Figura 6).

Analizando el meconio podemos comprobar que los ácidos biliares primarios, cólico y quenodeoxicólico, pasan al intestino fetal a través de la bilis (68). La presencia de ácidos biliares secundarios y de ácido ursodeoxicólico, en la bilis y meconio del feto, nos hace pensar que exista una vía metabólica alternativa, con función excretora dentro del

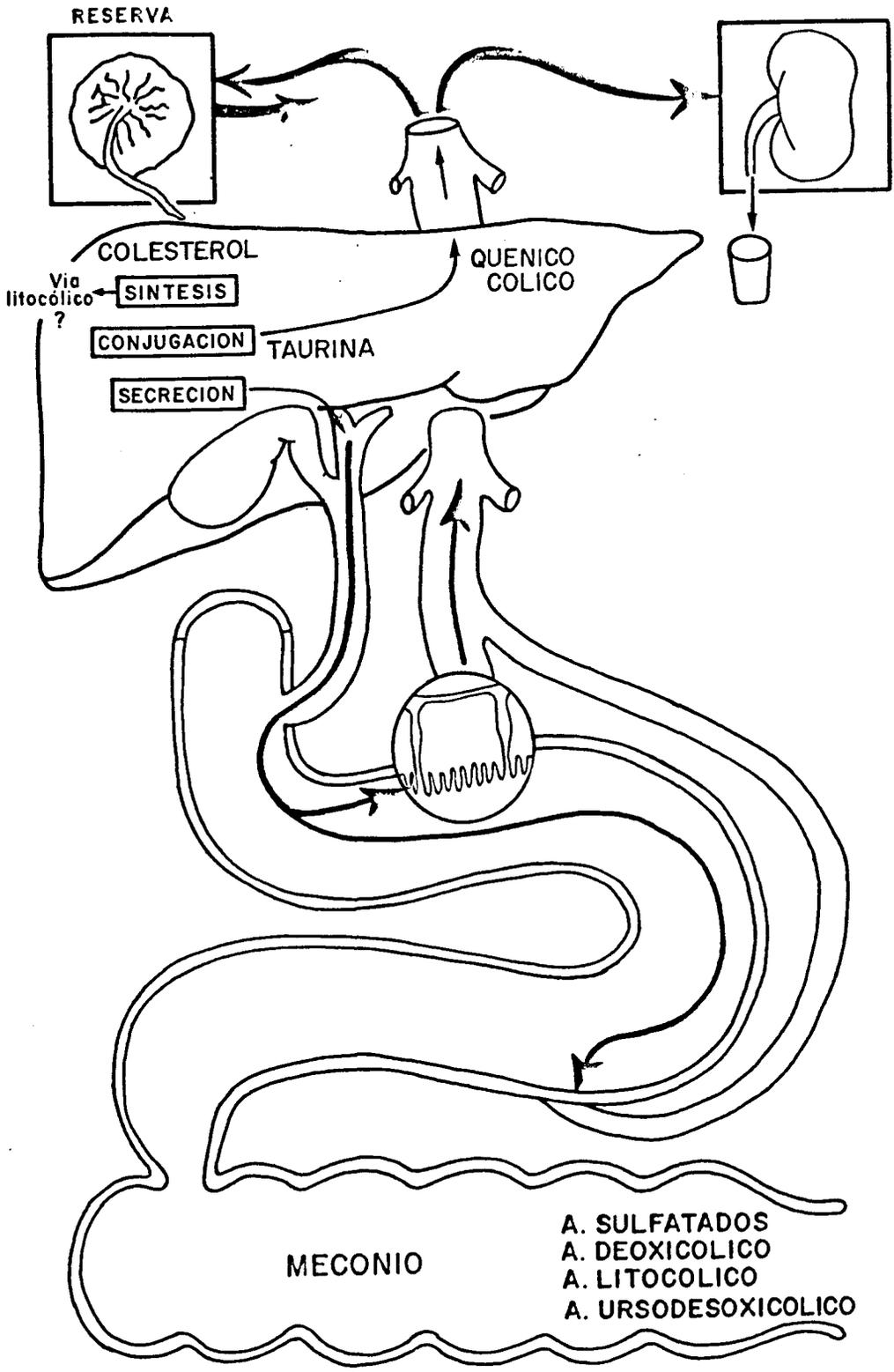


Figura 6 Metabolismo acidos biliares en el feto.

útero, puesto que el intestino fetal no absorbe los ácidos biliares secundarios (68).

Conviene destacar que la conjugación de los ácidos biliares en el feto humano es exclusivamente con taurina. Esta conjugación después del nacimiento se invierte, aumentando gradualmente la conjugación con glicina, para alcanzar a los pocos meses las proporciones del adulto de la relación GLI / TAU (70).

Resumiendo conviene saber que en el feto son poco eficientes: la captación hepática, la fijación intracelular, la conjugación, la secreción de aniones orgánicos lipofílicos y de la bilirrubina. Estas carencias son suplidas por la placenta, que además asume un importante papel de detoxificación y de excreción hasta que se produce el parto.

2. Metabolismo de los ácidos biliares en el recién nacido y en el niño.

Los rasgos fundamentales del metabolismo de los ácidos biliares en el recién nacido y en el niño en el primer año de vida son: una disminución de la capacidad de la vesícula biliar, reducción de su concentración intraluminal y de la reserva total con aumento de los niveles séricos en ayunas.

La conjugación sufre una evolución durante el primer año de la vida, de manera que el patrón fetal de predominio con taurina no desaparece hasta los 2 a 7 meses, adquiriendo a partir de esta fecha el patrón del adulto. En los niños menores de un año, está ausente el ácido deoxicólico, mientras que la relación GLI / TAU permanece elevada (70).

También es progresiva la instauración de la absorción activa de los ácidos biliares en el íleon, anulándose la absorción pasiva del yeyuno.

La α dehidroxilación bacteriana no se establece bien hasta el año de edad, adquiriendo a partir de esta fecha los niveles de ácidos biliares secundarios del adulto (64, 67).

La alimentación recibida repercute en el metabolismo de los ácidos biliares, de forma que la lactancia materna al favorecer la implantación de una flora bifidógena mejora su absorción y disminuye las pérdidas fecales, por tener esta flora un menor poder de deconjugación. Con la leche de mujer predomina la conjugación con taurina, siendo este tipo de conjugados más resistentes al ataque y deshidroxilación por las bacterias intestinales (68).

De forma inversa la lactancia artificial favorece el desarrollo de enterobacterias, que son potentes deconjugadoras, y al tener menor contenido en taurina las formulas artificiales, hace que empiecen a aparecer conjugados con glicina. (Figura 7).

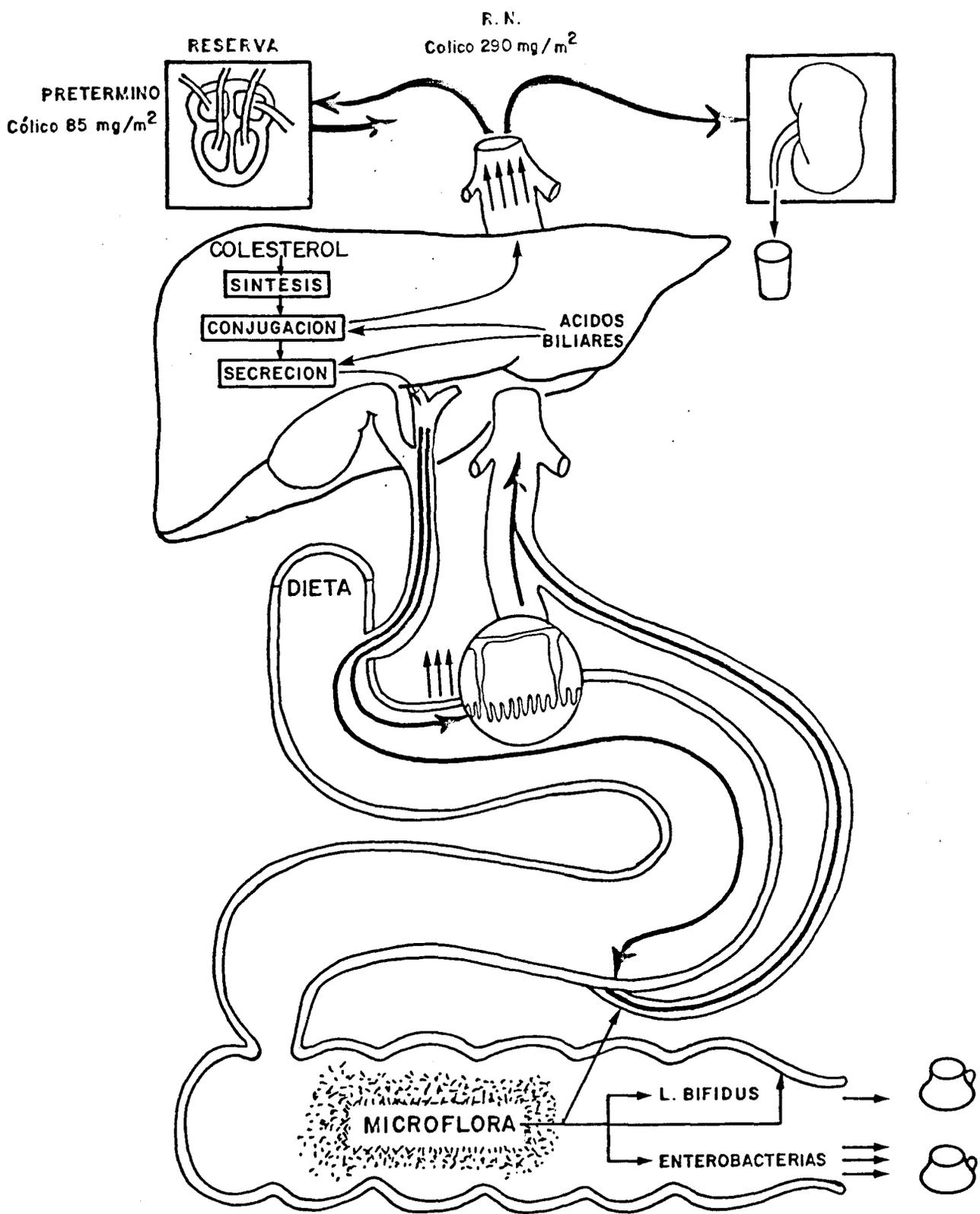


Figura 7 Metabolismo acidos biliares en el niño.

JUSTIFICACION

JUSTIFICACION.

En la patología de adultos, el papel que puedan desempeñar los componentes de la bilis está ampliamente estudiado, si bien, todavía existe cierta polémica, iniciada hace unos 15 años, de si el reflujo de la bilis o de alguno de sus componentes al estómago através del píloro, es responsable de las lesiones de las mucosas esofágica, gástrica o duodenal.

El primer punto de esta polémica comenzó planteando si era normal o no la presencia de bilis en el estómago máxime si la observación de la misma se producía durante una endoscopia, que por el hecho de tener un cuerpo extraño, pudiese inducir el reflujo duodenogástrico. Esta primera duda ha sido bien esclarecida en estudios (71) que demostraron que en individuos sanos existe una mayor cantidad de bilis en ayunas que proviene del intestino, después de las comidas.

El segundo paso para esclarecer el papel de esta bilis refluida al estómago se inició con estudios (72 - 77) que trataban de demostrar la existencia de reflujo y el tiempo de aclaramiento, utilizando sustancias radioactivas y/o bario, midiendo el vaciamiento gástrico y la motilidad, demostrando que en los sujetos normales existe una pequeña cantidad de bilis en el estómago por reflujo. El primero que realizó la cuantificación del contenido del reflujo, fué Muller- Lissner (78), valorando el contenido del material refluído mediante un complejo y sofisticado procedimiento.

La relación que existe entre la presencia de bilis en el estómago y la aparición de úlcera gástrica tipo I, la indicó Muller - Lissner en 1983 (72, 76), demostrando en los sujetos con úlcera gástrica crónica un mayor reflujo duodenogástrico. Partiendo de esta hipótesis, Hoare y

cols (79), cuantificaron los ácidos biliares del estómago diferenciando dos tipos de enfermos: aquellos que tenían síntomas de gastritis muy pronunciada y los que prácticamente no referían molestias. La diferencia entre unos y otros la determinaba la concentración de ácidos biliares: elevada en los primeros y baja en los otros.

Actualmente (80), se sabe con certeza que en la alteración de la mucosa gástrica intervienen varios componentes del material refluído: lisolecitina, fosfolipasa A, secreciones pancreáticas y los ácidos biliares. Dentro de estos los más perniciosos para la mucosa gástrica son los taurocolatos y el ácido deoxicólico.

Lo mismo sucede con el reflujo gastroesofágico. La antigua teoría de si las lesiones en la esofagitis solo eran producidas por el reflujo ácido, se deshizo al demostrarse que para que estas se produzcan es imprescindible la coexistencia de ácido clorhídrico, pepsina y ácidos biliares (81 - 84), siendo los taurocolatos y el ácido deoxicólico los más nocivos para la mucosa (85 - 88).

En la úlcera duodenal es muy verosímil que exista un mecanismo similar, favorecido por las diferencias del pH y de la pKa (89).

A medida que realizábamos más exploraciones endoscópicas, en nuestra Unidad de Gastroenterología pediátrica, observamos con frecuencia la existencia de bilis en el estómago, hallazgo que ya se conocía en los adultos, en los que el reflujo enterogástrico es más frecuente en ayunas que después de las comidas (71).

Lo que en realidad comenzó a despertar nuestra curiosidad fueron los siguientes hechos: 1) la escasa importancia, por no decir nula, que en los tratados de gastroenterología infantil se dá al papel de la bilis y

sus componentes en la patología del aparato digestivo; 2) la observación en algunos niños con reflujo biliar que no teniendo manifestaciones clínicas llamativas, la endoscopia era normal, y en cambio en los estudios histológicos se pudo observar gastritis, duodenitis o esofagitis.

A pesar de conocerse los efectos perniciosos que tienen los ácidos biliares sobre las mucosas esofágica, gástrica y duodenal, todavía quedan numerosos puntos oscuros, como si la acción perjudicial fuese de todos o de algún ácido en especial, del papel del pH o de la constante de disociación (pK_a) de cada uno de los ácidos biliares.



OBJETIVOS.

OBJETIVOS.

En la justificación, explicábamos las lagunas que existen acerca del papel de los ácidos y sales biliares en la Gastroenterología infantil y basándonos en ellos, con este trabajo de investigación nos proponemos alcanzar los siguientes objetivos:

A) Estimar la concentración de los ácidos y sales biliares en niños de 1 a 14 años, sin patología digestiva, que podamos utilizar como grupo control. La razón de escoger este amplio margen de edades, es por considerar que apartir del año de vida las sales biliares son más estables.

B) Repetir esto en un grupo de recién nacidos, comprobando como es el perfil de los ácidos y sales biliares en estos niños que todavía no están maduros.

C) Valorar las diferencias que puedan existir entre el grupo de recién nacidos y de 1 a 14 años.

D) Comprobar las concentraciones de los ácidos y las sales biliares en tres grupos de niños con patología digestiva: reflujo gastroesofágico, gastritis y úlcera duodenal, que presumiblemente tengan alguna relación etiopatogénica con el reflujo enterogástrico, que a menudo advertimos cuando realizamos fibrogastroskopias.

E) Valorar las diferencias que puedan existir entre el grupo de recién nacidos, el de 1 a 14 años(controles) y los niños con reflujo gastroesofágico, gastritis y úlcera duodenal.

F) Tratar de demostrar, si los hallazgos descritos en los adultos con patologías análogas a las estudiadas por nosotros, son similares o diferentes.

G) Pretender comprobar qué parámetros son útiles para valorar la composición del pool de sales biliares.

H) De acuerdo con los resultados obtenidos, intentar diseñar un protocolo de estudio que podamos emplear en el seguimiento futuro de los pacientes con las patologías reseñadas.

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL Y METODOS.

I. SUJETOS ESTUDIADOS.

En el presente trabajo estudiamos un total de 105 niños, distribuidos en los siguientes grupos: 21 recién nacidos (14 hembras y 7 varones) de 3 a 96 horas; 24 niños sanos (11 niñas y 13 varones) de 1 a 14 años; 27 niños con reflujo gastroesofágico (10 hembras y 17 varones) de edades comprendidas entre 1 año 11 meses y 13 años; 21 niños con ulcera duodenal (17 varones y 4 niñas) de 5 años 9 meses y 13 años; y 12 niños con gastritis (6 niñas y 6 varones) de 2 años 7 meses y 13 años 5 meses.

En todos los casos se informó a los padres y se obtuvo el consentimiento para obtener las muestras necesarias.

1. GRUPO I: RECIEN NACIDOS.

Todos los recién nacidos fueron fruto de embarazos únicos, que cursaron dentro de la normalidad, ausencia de enfermedad propia de la gestación: preeclampsia, diabetes gestacional, hiperemesis, anemia o metrorragia; de igual manera, el parto, fué en todos los casos espontáneo (vía vaginal no operatoria), no objetivándose signos de sufrimiento fetal intraparto: alteraciones en el trazado cardiotocográfico, expulsión de meconio, o cifras inferiores a 7,25 en el pH obtenido de sangre de cuero cabelludo extraída mediante amnioscopia. La duración de la fase activa del periodo de dilatación osciló entre cuatro y nueve horas, y el tiempo de bolsa rota fué en todos los casos, inferior a 24 horas. Las edades de las madres estaban comprendidas entre los 20 y 35 años, no presentando antecedentes personales de interés previos a la gestación.

Excluimos aquellos recién nacidos en los que existía una discordancia mayor de una semana entre la edad gestacional, valorada a través del método de Dubowitz modificado (90) y calculada cronológicamente a través de los datos fidedignos obtenidos mediante ecografía realizada antes de la 12 semana de gestación, o por la fecha de la última regla en los casos en los que no disponíamos de esta exploración

De los 21 recién nacidos estudiados, todos fueron a término con una edad gestacional media de 40 semanas, rango entre 38 y 42, una edad media en horas de 33 y un rango de 3 a 96.

Previo ayuno de 3 horas, se obtuvieron muestras de 1.5 a 2 ml de jugo gástrico por aspiración a través de una sonda radiopaca colocada por control fluoroscópico en el antro pilórico, el pH del contenido era de 2.5 a 3.0, medido con una tira de nitrazina, Merck Universal Indicatorpapier. Las muestras se recogieron en tubos de plástico y se almacenaron en un congelador a -50° para su ulterior análisis.

2. GRUPO II: 1 A 14 AÑOS.

Estudiamos 24 niños, con edades comprendidas entre 1 año y seis meses a 14 años, que acudieron al hospital por distintos motivos y que no presentaban signos o síntomas sugestivos de padecer ninguna enfermedad digestiva.

Todos estuvieron en ayunas de seis a ocho horas antes de realizar la aspiración del jugo gástrico, que se hizo por sonda radiopaca colocada a la altura del antro pilórico mediante control fluoroscópico. Obtuvimos de 2 a 3 ml de jugo gástrico en tubos de plástico, el pH osciló entre 1.5 y 2.0, medido con una tira de nitrazina Merck

Universal Indicatorpapier y se almacenaron en un congelador a - 50° para su posterior análisis.

3. GRUPO III: REFLUJO GASTROESOFAGICO.

Realizamos el estudio en 27 niños diagnosticados de reflujo gastroesofágico por criterios clínicos: presencia de vómitos persistentes por periodo mayor de tres meses y más de 6 episodios al día, palidez, pérdida de peso, tos nocturna o bronquitis de repetición, pHmetría de 24 horas con una puntuación de De Meester (91), que emplea un sistema de puntuación, que en los niños debe ser inferior a 11,68 y es el resultado de la valoración de los siguientes parámetros: % del tiempo de pH inferior a 4 en el tiempo total, el tiempo de posición de pie, en posición supina y prona, el número total de episodios de reflujo, duración del episodio de reflujo más largo y de los episodios mayores de 5 minutos. Evidencia de reflujo y/o esofagitis por esofagogastroscoopia según los criterios del Comité de terminología de la Sociedad Mundial de Endoscopia (92), que distingue los siguientes patrones: mucosa normal, pálida, hiperémica, atrófica, congestiva, bulbitis y ulcerada, que son aplicables a los estudios del esófago, estómago o duodeno. Y estudio histológico.

Las muestras se obtuvieron con los niños en ayuno de 8 horas, del antropilórico, a través de una sonda radiopaca colocada por control radiológico. Se obtuvieron de 2 a 2.5 ml de contenido antral, el pH fue de 2.0 a 2.5, medido con tiras de nitrazina Merck Universal Indicatorpapier, recogidos en tubos de plástico que se almacenaron en un congelador a - 50° para su posterior análisis.

4.GRUPO IV:ULCERA DUODENAL.

Estudiamos 21 niños con úlcera duodenal, diagnosticados por criterios clínicos: dolor abdominal epigástrico recidivante, que se aliviaba con la ingestión de antiácidos y/o vómitos, palidez, inapetencia o hematemesis-melenas; analíticos: gastrinemia basal elevada, pepsinogeno I aumentado y secreción gástrica basal y tras estimulación elevada; radiológicos: deformación del bulbo duodenal o nicho patente en el tránsito intestinal baritado y endoscópicos con evidencia de úlcera.

Las muestras se obtuvieron con una sonda radiopaca colocada en el antro pilórico por control radiológico. Se extrajeron entre 1.5 y 2.5 ml, de contenido gástrico con pH fué de 1.5, medido con tiras de nitrazina Merck Universal Indicatorpapier, que se recogieron en tubos de plástico y se almacenaron en congelador a - 50º para su posterior análisis.

5. GRUPO V: GASTRITIS.

En doce niños diagnosticados de gastritis por manifestaciones clínicas: dolor abdominal recurrente, estudio endoscópico y criterios histológicos de Whitehead (93), que por su localización pueden ser de cardias, cuerpo, píloro o transicional, por el grado de gastritis: superficial (latente o activa) o atrófica (leve , moderada o grave), que tambien pueden ser latentes o activas. Se obtuvieron las muestras del antro pilórico con una sonda radiopaca colocada por control radiológico.

Se extrajeron de 2 a 2.5 ml de contenido pilórico, el pH osciló entre 1,5 y 2.0, medido con tiras de nitrazina Merck Universal

Indicatorpapier, que se colocaron en tubos de plástico y se guardaron en congelador a - 50° para su posterior análisis.

II. DETERMINACION DEL PERFIL Y ACIDOS BILIARES TOTALES.

1. PREPARACION DE LA MUESTRA.

Para la preparación de la muestra se utilizó el método de Turberg modificado por Codoceo y cols. (94), que consiste en extraer los ácidos biliares del jugo gástrico mediante una microcolumna (Sep-pack C18, Waters Associates), que adsorbe selectivamente los ácidos biliares y los separa del resto de las sales orgánicas e inorgánicas hidrosolubles.

2. DETERMINACION DE LAS FRACCIONES.

La determinación de las diferentes fracciones se hizo por cromatografía en capa fina. Se utilizaron placas de silicagel G, con zonas preadsorbentes y multicanale (Kontes LQD Quanta / Gram) de 20 x 20 cm .

Las fracciones utilizadas fueron: ácido taurocólico (TC), ácido glicocólico (GC), ácido cólico (C), ácido quenodeoxicólico (QDC), ácido deoxicólico (DC), ácidos tauroquenodeoxicólico + taudeoxicólico (TQDC + TDC), ácidos glicoquenodeoxicólico + glicodeoxicólico (GQDC + GDC) y los cocientes trihidroxilados / dihidroxilados (triOH / diOH), así como glico / tauroconjugados (GLI / TAU).



3. CUANTIFICACION DE ACIDOS BILIARES TOTALES Y FRACCIONES.

La cuantificación de los ácidos y sales biliares totales y sus fracciones se realizó mediante el método enzimático fluorométrico que utiliza el kit de Stepgnost - 3 alfa-PHO (mycomed) AS, Oslo, Noruega.

La fluorescencia se midió con espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 240. La longitud de onda de estimulación fué de 350 nm y la longitud de onda de emisión de 460 nm.

El coeficiente intra-ensayo fué de 2,5 % y el inter-ensayo de 4,5 %. La sensibilidad del método fué de 0.1 mmol / 3ml de reacción. Los valores se expresan en micromoles / litro.

III. ESTUDIO ESTADISTICO.

El análisis de los resultados se realizó con un equipo informático CYBER180 (N. O. S. 2.3), analizándose los datos mediante los programas estadísticos BMDP - Biomedical Computer Programs (Dixón, 1985).

1. DESCRIPCION DE LOS PROGRAMAS.

Programa BMDP 3 D. Este programa efectua un contraste de hipótesis al nivel de significación de 0.05 de igualdad de medias.

Programa BMDP 7M. Este programa realiza un análisis discriminante estimando las funciones de clasificación que significativamente diferencian los grupos.

2. FASES DEL TRABAJO.

El tratamiento de los datos se dividió en cuatro fases:

I. Análisis global de todos los datos.

II. Análisis por parejas de grupos.

III. Análisis robusto.

IV. Análisis de regresión lineal y correlación.

3. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

La interpretación de los resultados es similar a la de la aplicación de la t de Student. Con este método se persigue realizar un estudio global de todos los resultados, la caracterización de cada uno de los grupos estudiados analizando las varianzas, la media de las distintas poblaciones y las t por separado, así como la representación gráfica de la función de densidad y forma de distribución cuando se aplica en test robusto.

Los valores son estadísticamente significativos con P menor de 0,05.

En el cálculo del coeficiente de correlación lineal, los valores de r próximos a 1 indican una alta dependencia en la relación de proporcionalidad directa. No son destacables los resultados con r menor de 0,70.

En los diagramas los asteriscos indican que existen más de 2 individuos en el mismo punto.

RESULTADOS.

RESULTADOS.

La exposición de los resultados se realizó dividiéndolos en dos apartados:

1. Exposición de los datos clínicos y de las variables analíticas estudiadas en cada uno de los grupos estudiados: recién nacidos, niños sanos de 1 a 14 años, reflujo gastroesofágico, úlcera duodenal y gastritis.

2. Tratamiento estadístico de los datos que se dividió en tres fases:

I análisis global de todos los datos que incluye un análisis con todos los datos y análisis robusto

II. Análisis por parejas de grupos que analiza todos los grupos y se aplica igualmente un análisis robusto.

III. Análisis de regresión lineal y correlación.

El tratamiento estadístico de los datos corresponde a 11 variables, 10 analíticas más una de clasificación, distribuidos en cinco grupos de los cuales uno es de control.

Las diez variables analíticas se distribuyen en 8 variables bioquímicas: SBT ,TC, TQDC + TDC (ratio 1), GC , GQDC + GDC (ratio 2), C , QDC , DC, más dos cocientes: ratio 3: triOH / diOH y ratio 4: GLI / TAU).

Las variables de clasificación han sido definidas de la siguiente manera:

Grupos clínicos

1. Recién nacidos.
2. 1 a 14 años.
3. Reflujo gastroesofágico.
4. Úlcera duodenal.
5. Gastritis.

La población estudiada la componen 105 niños distribuidos de la siguiente manera: 21 recién nacidos (14 niñas y 7 varones) de edades comprendidas entre 3 y 96 horas; 24 niños sin patología gastrointestinal, considerados como sanos, (11 niñas y 13 varones) de 1 años 6 meses a 14 años; 27 niños diagnosticados de reflujo gastroesofágico (10 niñas y 17 varones), con edades entre 1 año 11 meses y 13 años; 21 niños diagnosticados de úlcera duodenal (17 varones y 4 niñas), de 5 años 9 meses a 13 años 1 mes; y 12 niños diagnosticados de gastritis (6 niñas y 6 varones), de 2 años 7 meses y 13 años 5 meses.

Analizamos por separado los datos clínicos y las cuantificaciones de las variables analíticas.

En la tabla I pueden observar los valores medios del perfil de los ácidos biliares totales y sus fracciones de todos los grupos estudiados.

TABLA I. Valores medios del perfil de los ácidos biliares totales y fracciones de todos los grupos.($\mu\text{mol/L}$).

PARAMETRO	Recién nacidos	De 1 a 14 años	RGE	UD	GST
SBT	80,07	76,50	200,51	208,93	118,78
TC	13,89	14,43	37,28	41,71	17,43
TQDC+TDC	14,76	10,72	51,64	57,64	15,07
GC	16,04	18,72	6,53	56,17	37,14
GQDC+GDC	23,39	19,67	5,13	88,14	32,73
C	5,20	5,72	2,00	11,51	9,69
QDC	4,20	5,30	54,93	8,43	5,18
DC	3,14	14,76	42,63	2,20	1,73
triOH/diOH	1,01	0,89	0,96	0,90	1,18
GLI/TAU	1,19	2,17	1,24	1,46	2,29

I DATOS CLINICOS Y VARIABLES ANALITICAS.

GRUPO I. RECIEN NACIDOS.

Dentro de este grupo se estudiaron 21 recién nacidos, de los cuales 14 eran niñas, 67 %, y 7 varones, el 33 %; con una proporción niña/varón de 2 a 1. La edad en horas en el momento de realizar el estudio variaba entre 3 y 96, con una media de 32,90.

Ninguno de los 21 recién nacidos tenía patología, requisito que consideramos fundamental para poder incluirlos en el estudio. Tabla II.

TABLA II GRUPO I. Recién nacidos.

NOMBRE	SEXO	GESTACION SEMANAS	EDAD HORAS
EBC	H	41	7
TSA	H	38	3
CGG	H	40	19
JFP	V	40	23
AGG	V	40	17
GMP	V	39	8
GGO	H	41	11
CBJ	H	40	18
PGH	V	38	21
CHL	V	40	57
EGN	V	40	48
RCM	V	39	56
SAP	H	39	46
RSL	H	40	72
CFM	H	40	96
MCD	H	39	48
LVM	H	38	48
CRP	H	42	14
ARC	H	40	48
ABG	H	39	26
MDI	H	40	5

Por tratarse de un grupo especial de referencia no se realizaron estudios analíticos.

I.1. Acidos biliares y fracciones.

En la tabla III se expresan los valores absolutos, media y SEM, de estas determinaciones.

TABLA III. Perfil de los ácidos biliares totales y fracciones del grupo de recién nacidos.

PARAMETRO	VALOR (μmoles/l) (MEDIA\pmSEM)
SBT	80,07 \pm 23,26
TC	13,89 \pm 3,41
TQDC+TDC	14,76 \pm 6,41
GC	16,04 \pm 5,17
GQDC+GDC	23,39 \pm 9,01
C	5,20 \pm 1,16
QDC	4,20 \pm 1,00
DC	3,14 \pm 1,60
TRIOH/DIOH	1,01 \pm 0,07
GLI/TAU	1,19 \pm 0,12

GRUPO II. NIÑOS SANOS DE 1 a 14 AÑOS.

En este grupo se incluyen 24 niños de 1 a 14 años, de los cuales 13 eran varones (54 %) y 11 niñas (46 %), con una proporción varones / niñas de 1,1 a 1.

La edad cuando se inició el estudio oscilaba entre 1 año 6 meses y 4 años, con una media de 6,92. Tabla IV.

TABLA IV. GRUPO CONTROL 1 a 14 años.

NOMBRE	SEXO	EDAD
NMM	H	1a 6m
PPP	V	3a 1m
PGS	H	2a 4m
MGB	H	6a
MCD	H	5a
PPR	V	4a 8m
JMC	V	10a 11m
JMG	V	6a 4m
FTM	V	4a 8m
RAR	V	7a 2m
CAR	V	8a 9m
YCG	V	5a 2m
JGG	H	6a 9m
AEC	V	11a 2m
RVM	H	1aa 3m
RVM	V	9a 11m
DGP	V	2a 11m
DMG	H	7a 2m
ANP	H	8a 8m
EMR	V	5a 9m
SMM	H	6a 3m
SPH	H	7a 4m
IDL	V	10 a 11m
CPR	H	14a

II. 1. Acidos biliares y fracciones.

La determinación de los ácidos y sales biliares totales y de sus fracciones en el contenido gástrico, tras 6 a 8 horas de ayuno, se realizó en todos los casos. Los valores medios absolutos y la SEM pueden observarlos en la tabla V.

TABLA V. Perfil de los ácidos biliares totales y fracciones del grupo de niños de 1 a 14 años.

PARAMETRO	VALOR ($\mu\text{moles/l}$) (MEDIA \pm SEM)
SBT	76,50 \pm 16,16
TC	14,43 \pm 4,73
TQDC+TDC	10,72 \pm 2,37
GC	18,72 \pm 4,52
GQDC+GDC	19,67 \pm 3,36
C	5,72 \pm 1,22
QDC	5,30 \pm 1,16
DC	14,14 \pm 6,40
TRIOH/DIOH	0,89 \pm 0,08
GLI/TAU	2,17 \pm 0,25

II.2. Tratamiento estadístico.

El análisis con todos los datos, por parejas grupos y el posterior análisis robusto, lo describiremos para el grupo I (recién nacidos) solamente, para no incurrir en repeticiones cuando estudiemos los grupos III,IV, y V.

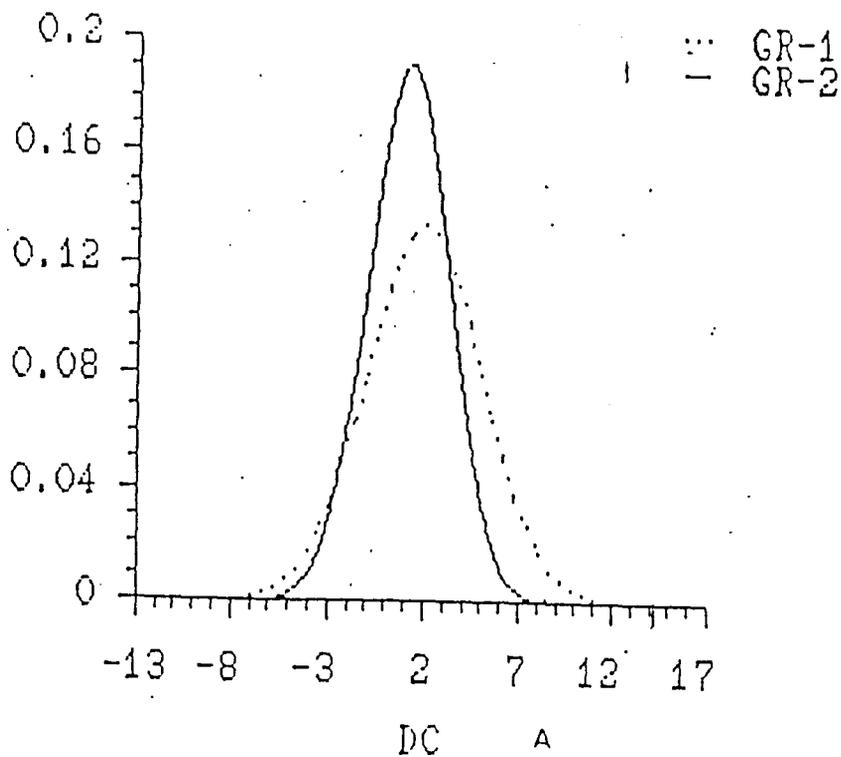
La comparación entre los grupos II y I (RN), arrojó los siguientes resultados: una diferencia en las medias de DC 4,20 y 14,76 y en el cociente GLI / TAU (ratio 4), 1,19 y 2, 17, como puede observarse en los resultados recogidos en los Apéndices A y B y se acentuó cuándo se aplicó el test robusto, como se ilustra en la (gráfica 8 A y B).

GRUPO III. REFLUJO GASTROESOFAGICO.

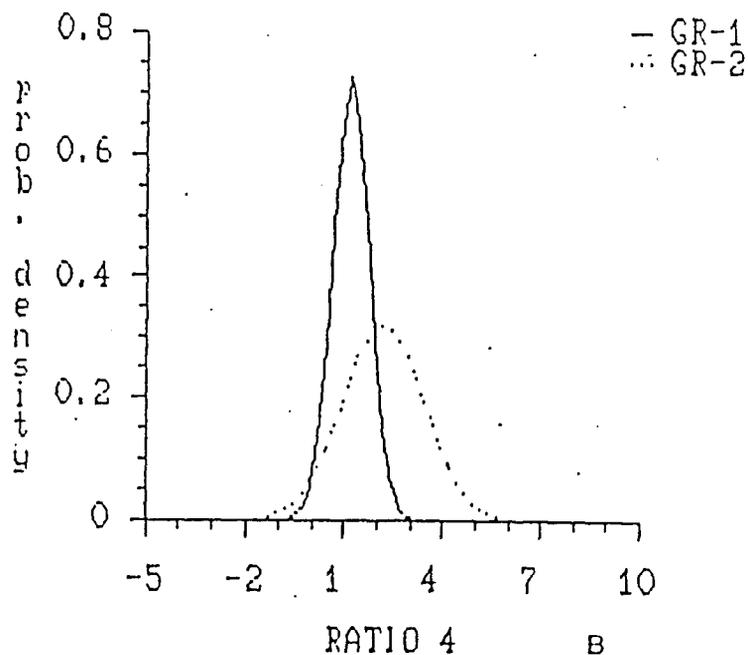
Este grupo lo integran 27 niños, de los cuales 17 son varones (63%) y 10 niñas (37 %), con una relación varones / niñas de 1,7 a 1.

La edad cuándo se inició este estudio osciló entre 1 año 11 meses y 13 años, con una media de 6,71. Tabla VI.

GRUPO 1-2 DC



GRUPO 1-2 RATIO4



GRAFICA 8. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: DC Y RATIO 4. GRUPOS: 1 - 2.

TABLA VI. Reflujo gastroesofágico.

NOMBRE	SEXO	EDAD
SGP	H	5a 3m
VOM	H	2a 4m
PGG	H	4a 8m
COP	V	6a 8m
MGS	V	5a 2m
ISR	V	7a 4m
AAV	V	4a 8m
LCC	V	3a 9m
RGF	V	9a 10m
JES	V	5a 9m
MVS	H	7a 4m
MVG	V	12a 1m
MIG	H	6a
EDT	H	8a 5m
CSM	H	3a 9m
IBG	V	1a 11m
AML	V	2a 9m
ILM	V	6a 7m
RMR	H	12a 2m
ELH	H	6a 9m
EBR	H	6a 8m
JSR	V	6a 2m
JVC	V	3a 8m
ABE	V	10a 2m
NJO	H	8a 4m
JMS	V	13a
JHG	V	9a 4m

III.1. Hallazgos clínicos.

De los 27 pacientes incluidos en este grupo, los signos y síntoma más frecuentes pueden verlos en la tabla VII a.

TABLA VII. Datos clínicos y estudios complementarios en niños con reflujo gastroesofágico.

(a)

SINTOMAS	%
Vómitos	100
Dolor abdominal	85
Tos/neumonías	40
Hematemesis	20

(b)

ESTUDIO	%
pHmetría 24 h (N<11,68)	33
Endoscopia positiva	19
Histología positiva	48

III.2. Estudios complementarios.

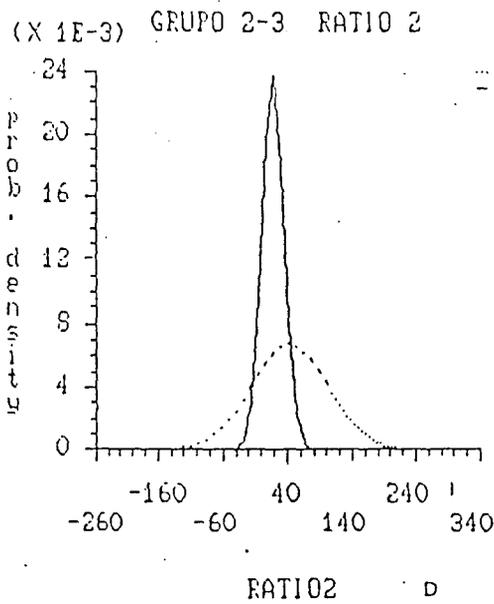
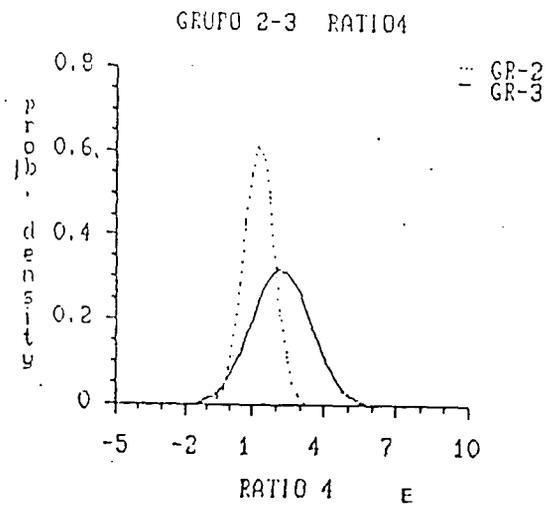
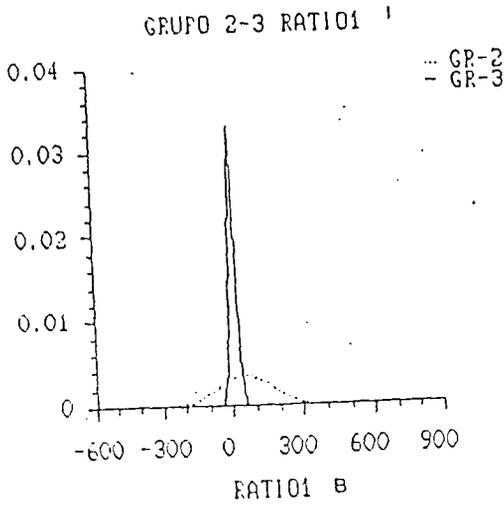
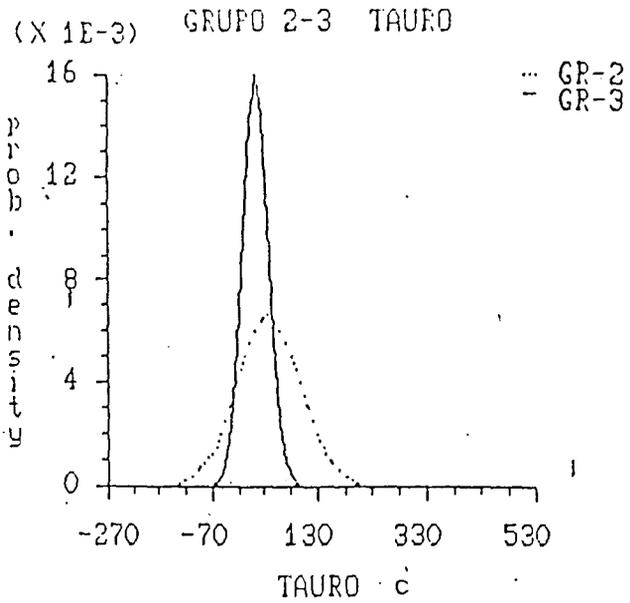
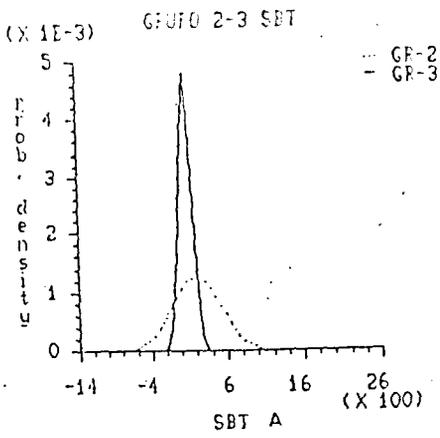
En los estudios complementarios realizados (tabla VII b), encontramos que la monitorización del pH intraesofágico durante 24 horas fué patológico (puntuación de Demester $>11,68$) en el 33 %, signos endoscópicos positivos de esofagitis se encontraron en el 19 % y una histología positiva en las biopsias realizadas con la endoscopia, en un 48 %.

III.3. Estudio de las sales biliares y sus fracciones.

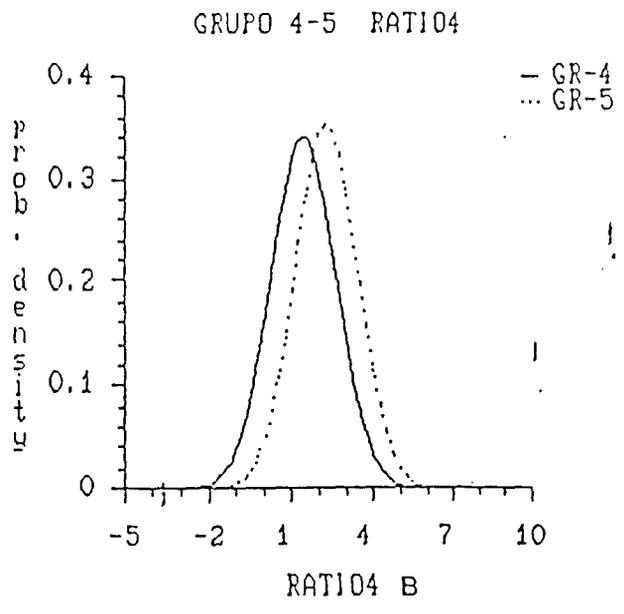
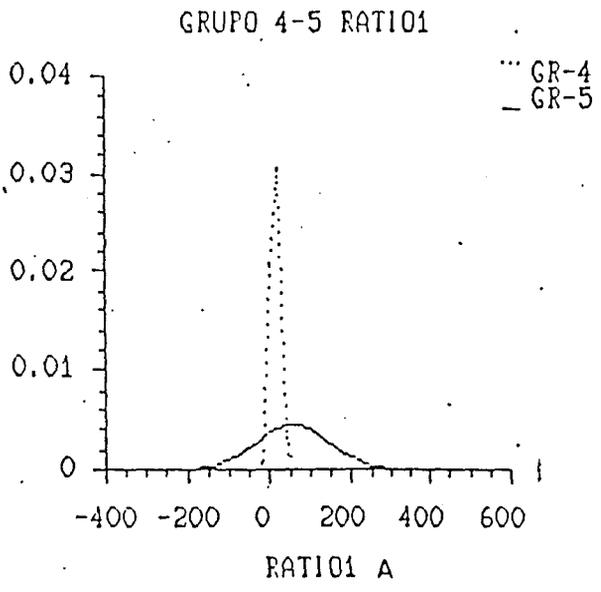
Los valores medios y la SEM de las sales biliares totales y sus fracciones se reflejan en la tabla VIII.

III.4. Tratamiento estadístico.

Comparando los valores medios del perfil de los ácidos y sales biliares y sus fracciones en el análisis global y por parejas de grupos encontramos los siguientes resultados: no existían diferencias



GRAFICA 9. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: SBT, RATIO 1, TC, RATIO 2, RATIO 4. GRUPOS : 2 - 3.



GRAFICA 10. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: RATIO 1 Y RATIO 4. GRUPOS: 4 - 5.

significativas en el grupo I (RN), pero cuando aplicamos el test robusto observamos una diferencia en el límite de las medias para el ácido deoxicólico.

La comparación de los grupos II (controles) y III (RGE), las medias estaban en límite trabajando con todos los datos para: SBT y GQDC + GDC (Ratio 2). Por el contrario, eran iguales para: TC y TQDC + TDC (Ratio 1).

Aplicando el test robusto observamos lo siguiente (apéndices A y B), que se ilustra en la (gráfica 9). La diferencia se acentuaba en el caso de las SBT (gráfica 9-A), eran diferentes las medias en el TC, y TQDC+TDC (ratio 1), (gráfica 9-B y C), desaparece la diferencia en el caso de GQDC+GDC (ratio 2), (gráfica 9-D) y distingue muy bien, el cociente GLI / TAU (ratio 4).(gráfica 9-E). Como nuevas variables diferenciadoras aparecen el TC y TQDC+TDC (ratio 1), apendices A y B, si bien esta última en el límite de decisión de diferencia de medias, mientras que las SBT diferencian claramente los dos grupos.

Grupos IV (UD) y V (GST). Globalmente no se apreciaron diferencias entre estos grupos, excepción hecha para el ácido cólico que se sitúa en límite de decisión (apéndices A y B), (gráfica 10-A), mientras que se distingue muy bien con el cociente GLI / TAU (ratio 4). (Gráfica 10-B).

En estos grupos, las varianzas son iguales y quizás la diferencia entre medias pudiera ser provocado por el reducido tamaño de la muestra del grupo V.

TABLA VIII. Perfil de los ácidos biliares totales y fracciones del grupo de niños con reflujo gastroesofágico

PARAMETRO	VALOR (μmoles/l) (MEDIA\pmSEM)
SBT	200,51 \pm 65,75
TC	37,28 \pm 12,57
TQDC+TDC	51,64 \pm 21,29
GC	6,53 \pm 1,64
GQDC+GDC	5,13 \pm 1,51
C	2,00 \pm 0,62
QDC	54,93 \pm 24,21
DC	42,63 \pm 12,23
TRIOH/DIOH	0,96 \pm 0,06
GLI/TAU	1,24 \pm 0,14

GRUPO IV. ULCERA DUODENAL.

De los 21 niños que componían este grupo, 17 eran varones (81 %) y 4 niñas (19 %), con una relación varón / niña de 4,25 a 1. La edad cuando iniciamos el estudio variaba entre 5 años 9 meses y 13 años 1 mes, con una media de 9,7.

IV.1. Hallazgos clínicos.

El síntoma predominante en estos niños fue el dolor abdominal que lo presentaban todos los casos, el 100% (tabla X-a), dolor que se localizaba en el 80% en el epigástrico y en los hipocondrios en el 20%. Como síntomas acompañantes, en proporción decreciente encontramos: vómitos en el 50%, pirosis el 7%, pérdida del apetito 3% y hematemesis y melena 2%.

TABLA IX. ULCERA DUODENAL

NOMBRE	SEXO	EDAD
VMR	V	10a 3m
IMJ	V	12a 2m
RVG	V	6a 4m
RSP	H	8a 9m
JSM	V	9a 2m
GJS	V	6a 7m
ASL	V	10a 8m
OOP	V	7a 11m
EMA	V	10a 4m
JPI	H	11a
SBG	V	12a 4m
CCM	V	6a 9m
CBB	H	10a 8m
GBR	H	10a 6m
EGR	V	5a 9m
CGM	V	7a 8m
LRH	V	11a 2m
AFC	V	13a 1m
MLF	V	12a 9m
TRJ	V	11a 4m
LAV	V	7a 8m

IV.2. Estudios analíticos.

Los valores de los estudios analíticos: gastrinemia, pepsinogeno I y quimismo gástrico, BAO y MAO, estan expuestos en la tabla X-b. Todos los pacientes tenian aumentados la gastrinemia, el pepsinogeno I y secreción gástrica ácida.

IV.3. Estudios complementarios

Con la fibrogastroscofia y el estudio del tránsito intestinal baritado (tabla X-c), encontramos en la primera exploración nicho ulceroso en el 57 % de los pacientes y eritema o edema en el 43 %. Con el tránsito, observamos deformidades del bulbo en forma de trebol en un 21 %.

TABLA X. Datos clínicos y estudios en la úlcera duodenal.

(a)

SINTOMA	%
Dolor abdominal.	100
Epigástrico	80
Hipocóndrios	20
Vómitos.	50
Pirosis	7
Inapetencia	3
Hematemesis/melenas	2

(b)

PARAMETRO	VALOR (MEDIA ± SEM)	UNIDADES
Gastrina	154,2±36,2	pg/ml
Pepsinogeno I	102,9±15,8	ng/ml
BAO	0,095±0,025	mEq/k/h
MAO	0,527±0,061	mEq/k/h

(c)

ESTUDIO	%
Fibrogastroscoopia:	
Nicho	57
Edema/eritema	43
Tránsito baritado	
Bulbo deformado	21

IV.4. Estudio de los ácidos biliares y sus fracciones. Los valores medios y la SEM de las sales biliares y sus fracciones pueden verlos en la tabla XI.

TABLA XI. Perfil de los ácidos biliares totales y fracciones del grupo de niños con úlcera duodenal.

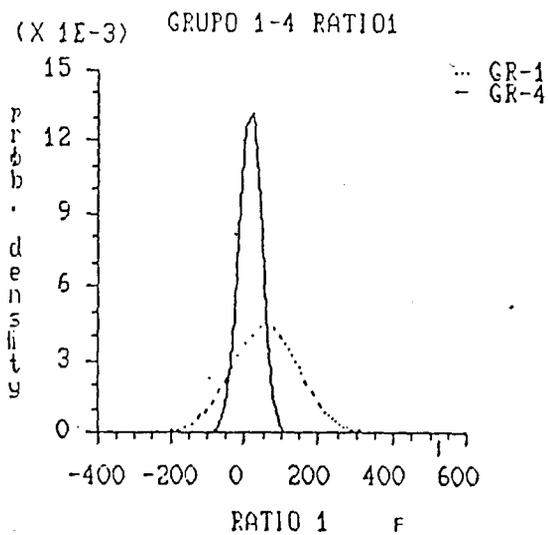
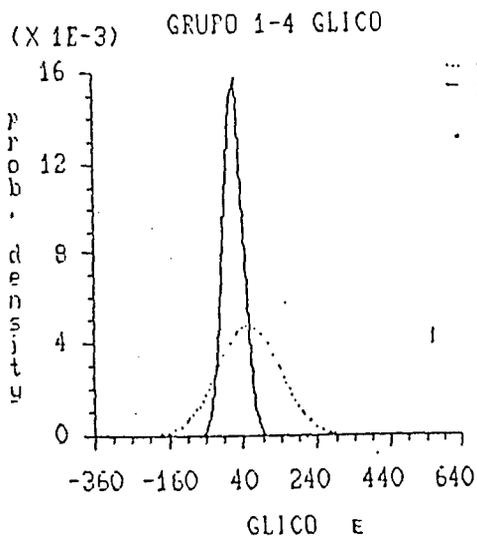
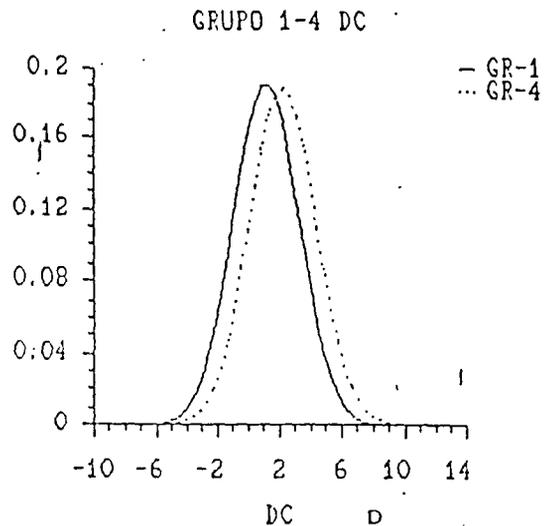
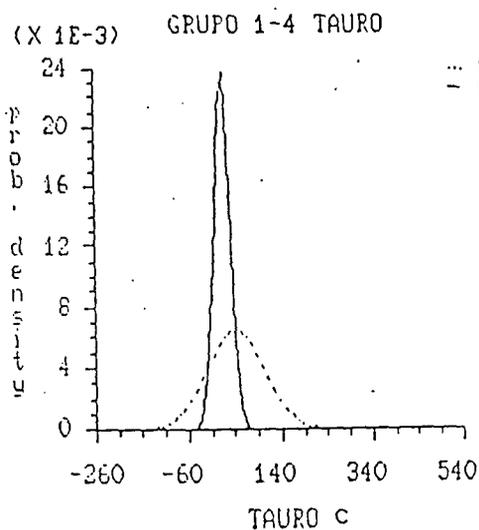
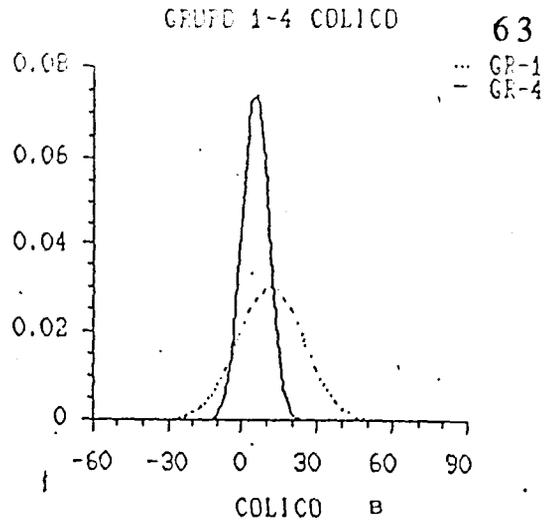
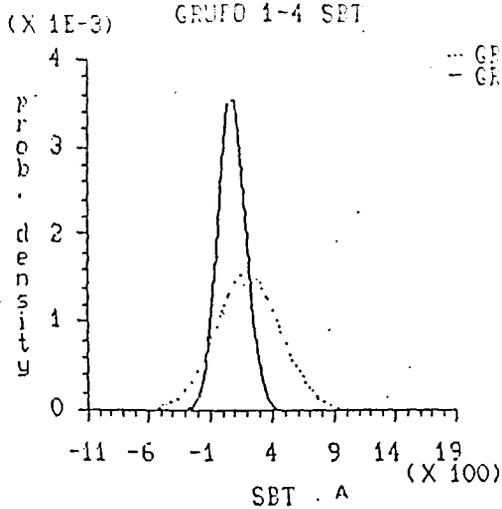
PARAMETRO	VALOR (μ moles/l) (MEDIA \pm SEM)
SBT	208,93 \pm 53,25
TC	41,71 \pm 12,56
TQDC+TDC	57,64 \pm 18,81
GC	56,17 \pm 17,28
GQDC+GDC	88,14 \pm 32,79
C	11,51 \pm 2,76
QDC	8,43 \pm 2,01
DC	2,20 \pm 0,44
TRIOH/DIOH	0,90 \pm 0,09
GLI/TAU	1,46 \pm 0,24

IV.5. Tratamiento estadístico.

Comparando los valores medios del perfil de ácidos y sales biliares y sus fracciones en un análisis global y por parejas de grupos, observamos los siguientes resultados:

Grupo IV (UD) y grupo I (RN): existían diferencias en medias de : SBT, TC, GC, C, DC, y TQDC+TDC (ratio 1). (Apéndices A y B). Al aplicar el test robusto desaparece esta diferencia entre medias para: SBT (Apéndices A y B), (grafica 11-A), disminuía en el caso del C (Apéndices A y B), (grafica 11-B), se acentuaba para el TC (Apéndices A y B), (gráfica 11-C), el GC (Apéndices A y B), (gráfica 11-E) y TQDC+TDC (ratio 1), (Apéndices A y B), (gráfica11-C), y menos acusada para DC (Apéndices A y B), (gráfica 11-D).





GRAFICA 11. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: SBT, C, TC, DC, GC, RATIO 1: GRUPOS: 1 - 4.

Grupo IV (UD) y II (1 a 14 años): En el análisis global y por parejas de grupos existe una diferencia entre medias para: SBT, TC, TQDC+TDC (ratio 1), GC, GQDC+GDC (ratio 2), C y para el cociente GLI / TAU (ratio 4).

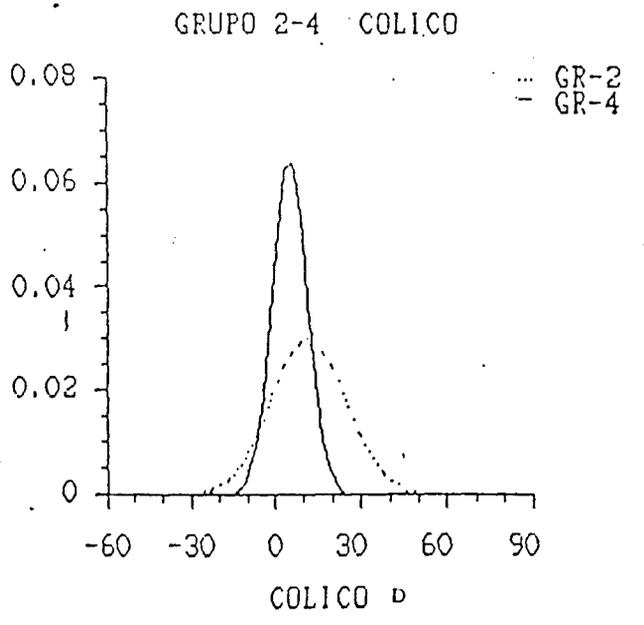
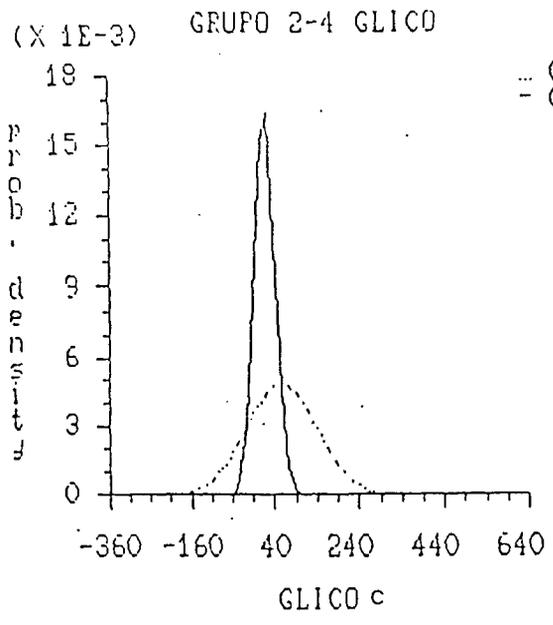
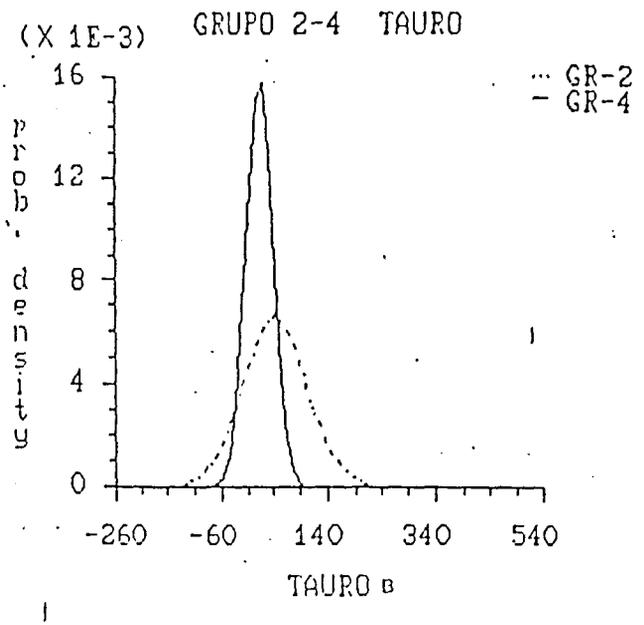
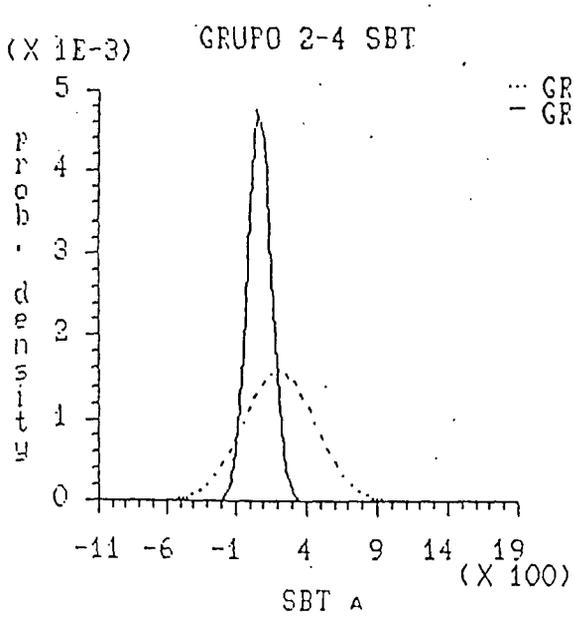
Aplicando el test robusto, esta diferencia se acentuaba en el caso de las SBT (Apéndices A y B), (gráfica 12-A), TC (Apéndices A y B), (gráfica 12-B), GC (Apéndices A y B), (gráfica 12- C), C (Apéndices A y B), (gráfica 12-D), TQDC+TDC (ratio 1), (Apéndices A y B), (gráfica 13-A) y GQDC+GDC (ratio 2), (Apéndices A y B), (gráfica 13- B) Esta diferencia estaba en el límite de decisión en el caso del cociente GLI / TAU (ratio 4), (Apéndices A y B). (Gráfica 13-C).

GRUPO V. GASTRITIS.

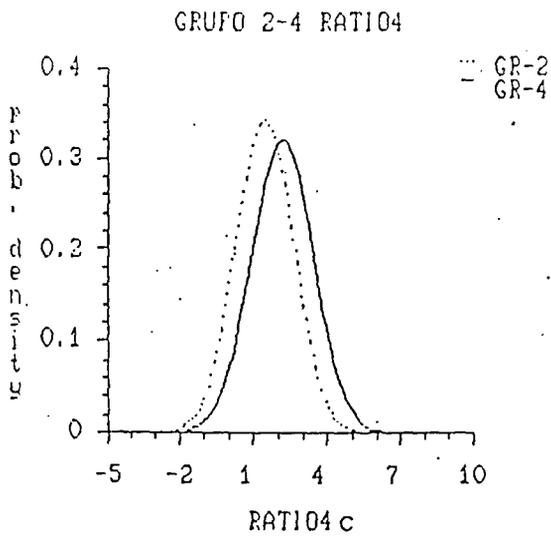
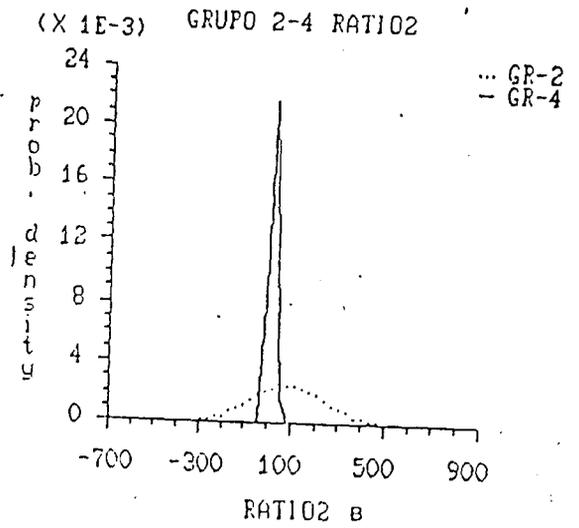
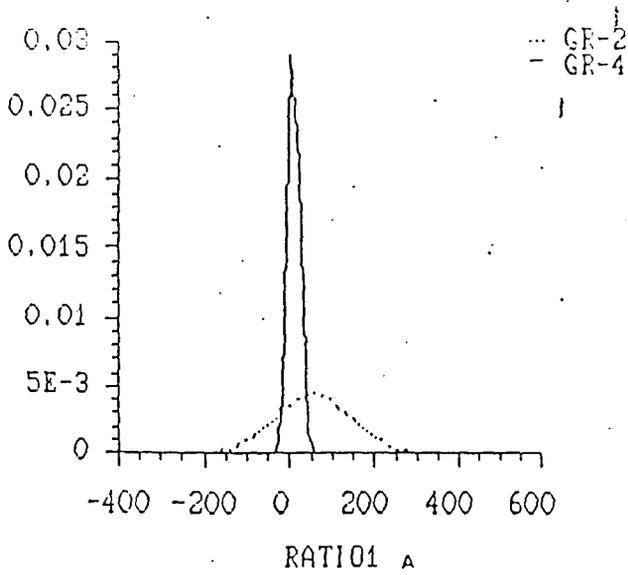
Este grupo lo formaron 12 niños , 6 varones y 6 niñas, con una proporción varón/niña de 1 a 1. Las edades estaban comprendidas entre 2 años 7 meses y 13 años 5 meses, con una media de 7,8. Tabla XII.

TABLA XII. Gastritis.

NOMBRE	SEXO	EDAD
RCP	V	9a 11m
JPI	V	2a 7m
JDB	V	5a 6m
EMP	H	13a 5m
MAO	V	5a 4m
SPH	H	8a 3m
SBH	H	11a 2m
JBS	V	5a 8m
RVB	V	6a 7m
ARM	H	2a 9m
RGB	H	13a 1m
JHV	H	9a 6m



GRAFICA 12. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: SBT, TC, GC, C. GRUPOS: 2 - 4.



GRAFICA 13. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: RATIO 1, RATIO 2, RATIO 4. GRUPOS: 2 - 4.

V.1. Hallazgos clínicos

El síntoma predominante, que se encontró en el 100 % de los pacientes, fué el dolor abdominal. (Tabla XIIIa).

V.2. Estudios complementarios.

Los datos más llamativos de los estudios complementarios, fibrogastroscoopia e histológicos (tabla XIIIb), demostraron lo siguiente: con la fibrogastroscoopia un 50 % tenían una inflamación moderada, en el 20 % era severa y no se observaron lesiones en un 30 %. Los estudios histológicos de las muestras que se obtubieron durante la fibrogastroscoopia demostraron que un 33 % tenían gastritis aguda, un 55 % crónica y en un 12 % la mucosa fué normal.

TABLA XIII. Datos clínicos y estudios complementarios en la gastritis.

(a)

SINTOMA	%
Dolor abdominal recurrente	100

(b)

ESTUDIO	%
Fibrogastroscoopia:	
* Inflamación moderada	50
* Inflamación severa	20
* Inflamación normal	30
Histología:	
* Gastritis aguda	33
* Gastritis crónica	55
* Mucosa normal	12

5.3. Estudio de los ácidos y sales biliares y sus fracciones.

Los valores medios y SEM de las sales biliares totales y sus fracciones pueden verlos en la tabla XIV.

TABLA XIV Perfil de los ácidos biliares totales y fracciones del grupo de niños con gastritis.

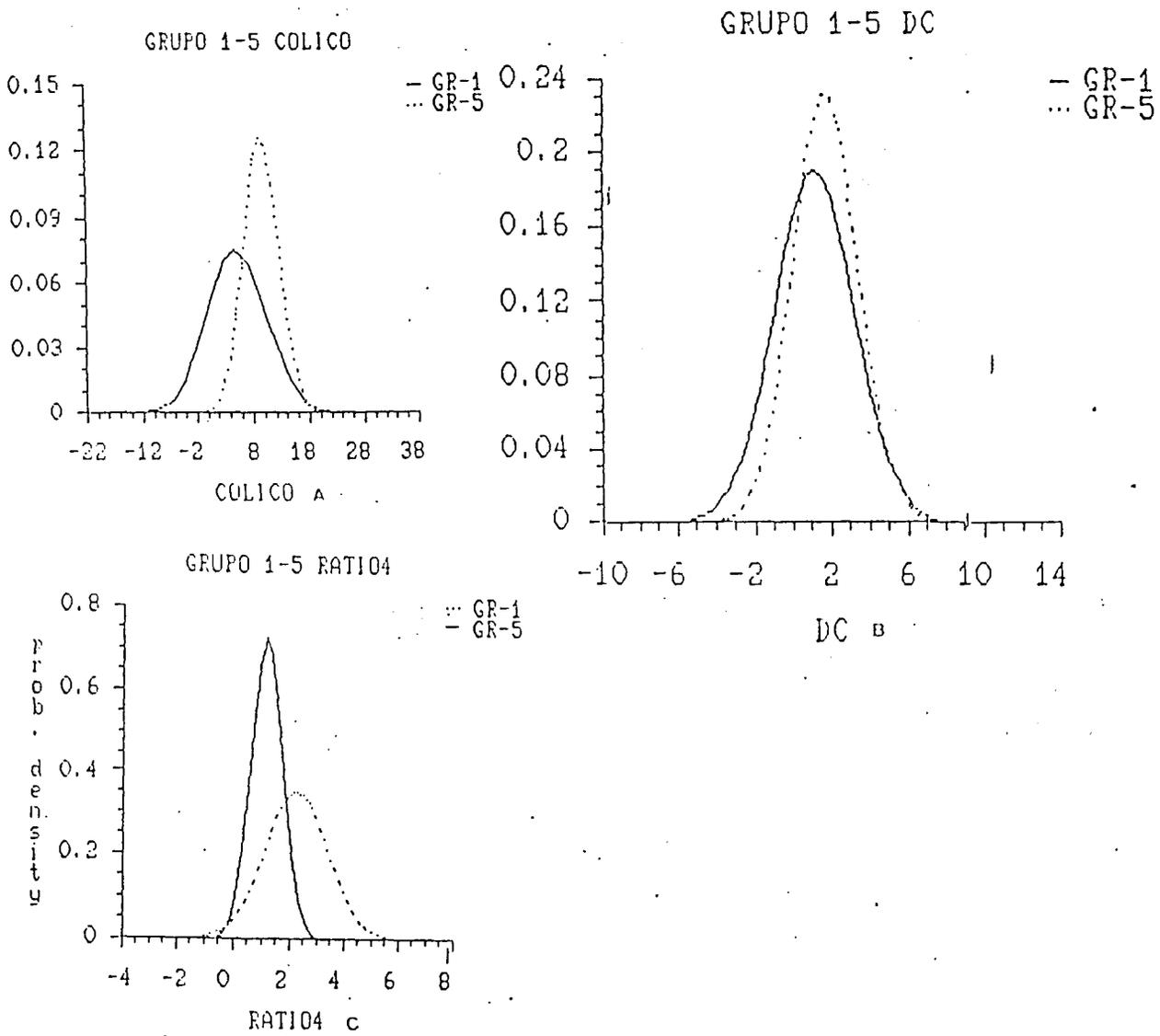
PARAMETRO	VALOR ($\mu\text{moles/l}$) (MEDIA \pm SEM)
SBT	118,78 \pm 23,00
TC	17,43 \pm 3,12
TQDC+TDC	15,07 \pm 3,24
GC	37,14 \pm 10,83
GQDC+GDC	32,73 \pm 5,80
C	9,69 \pm 0,91
QDC	5,18 \pm 1,32
DC	1,73 \pm 0,49
TRIOH/DIOH	1,18 \pm 0,12
GLI/TAU	2,29 \pm 0,33

5.4. Tratamiento estadístico.

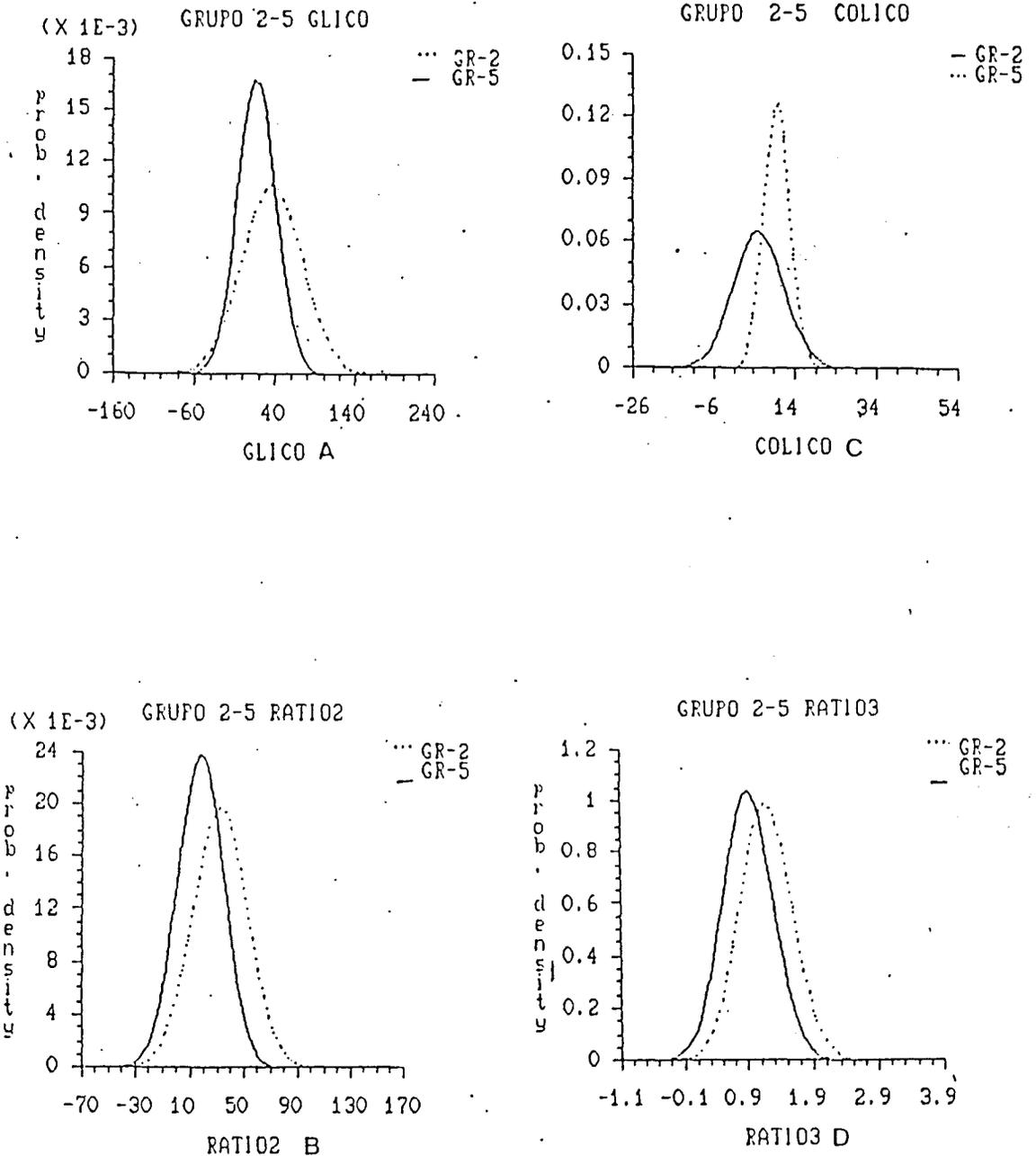
Comparando los valores medios del perfil de los ácidos y sales biliares y sus fracciones, en un análisis global, por parejas de grupos y con el test robusto encontramos:

Grupos V y I (RN): difieren en medias el C (Apéndices A y B), (gráfica 14-A), y el cociente GLI / TAU (ratio 4), (Apéndices A y B), (gráfica14 - B). Con el test robusto, aparece el ácido DC (Apéndices A y B), como elemento diferenciador, que con varianzas iguales proporciona medias muy diferentes. (Gráfica 14-C).

Grupos V y II (1 a 14 años): existen diferencias en medias con C, que distingue muy bien y TQDC + TDC (ratio 1), que distingue menos que el anterior. Aplicando el test robusto, aparecen como nuevos elementos diferenciadores: GC (Apéndices A y B), (gráfica 15-A), y GQDC+GDC (ratio 2) (Apéndices A y B), (gráfica 15- B) y se confirma el C (Apéndices A y B), (gráfica 15-C), no diferencia el cociente triOH/diOH (ratio 3), (Apéndices A y B), (gráfica 15-D); no



GRAFICA 14. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: C, DC, RATIO 4. GRUPOS: 1 - 5.



GRÁFICA 15. GRÁFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: GC, RATIO 1, C, RATIO 3. GRUPOS: 2 - 5.

obstante, como las varianzas en este caso se encuentran justamente en el límite de decisión, no es posible pronunciarse sobre el contraste de medias.

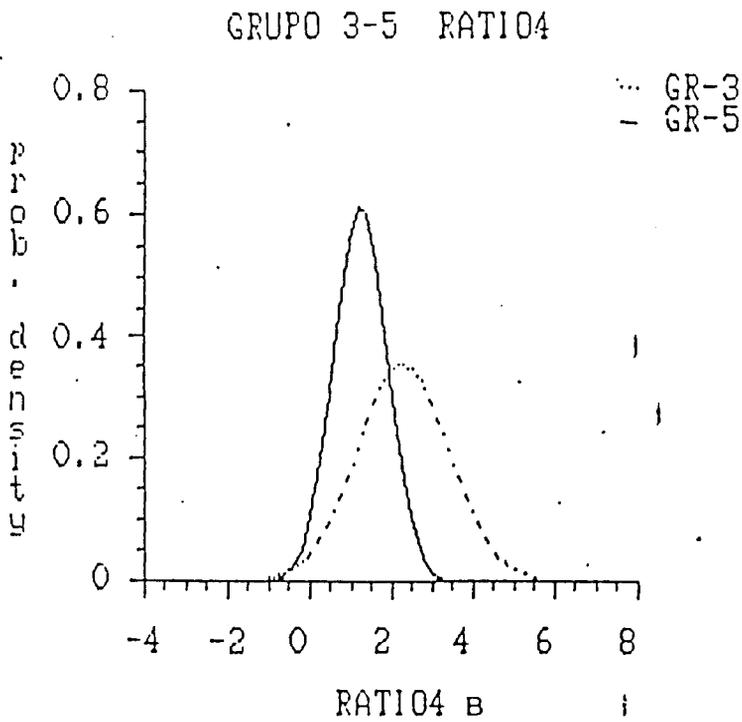
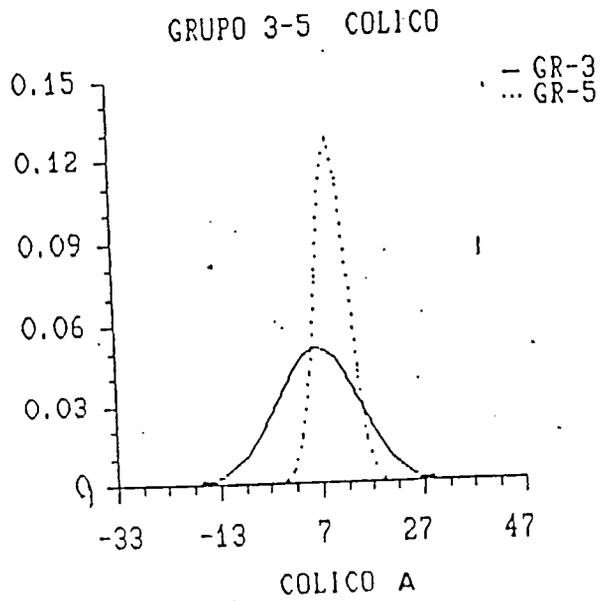
Grupos V y III (RGE). Difieren en medias el C (Apéndices A y B), (gráfica16-A) y el cociente GLI / TAU (ratio 4), (Apéndices A y B), (gráfica 16- B). En estos grupos son iguales las varianzas y posiblemente las diferencias en las medias pudiera deberse a la muestra tan pequeña del grupo V.

Grupos V y IV (UD). Existen diferencias de medias en: TQDC+TDC (ratio 1), (gráfica 17-A) y en el cociente GLI / TAU (ratio 4), (gráfica 17-B). (Apéndices A y B).

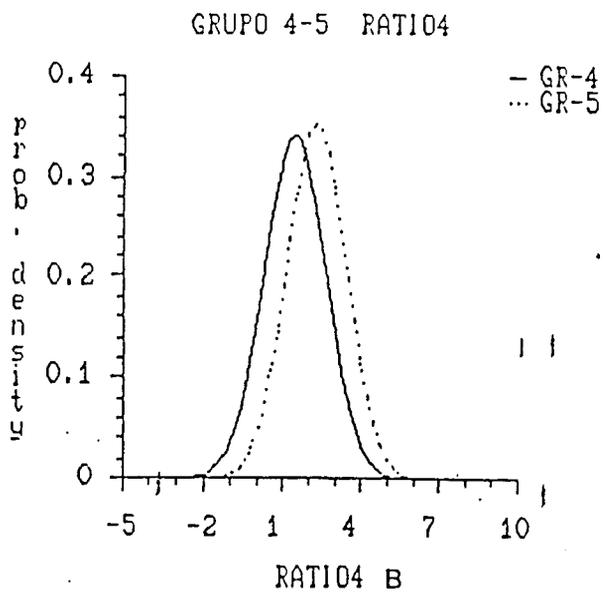
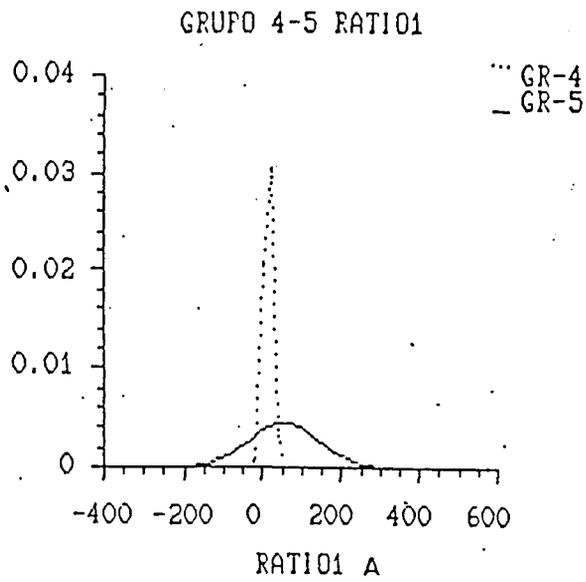
En el análisis robusto aparece el DC (Apéndices A y B), que pudiera indicar que dicha variable es sensible a los valores extremos (outlayers). Se confirma con este test, que el cociente GLI / TAU (ratio 4), es un potente elemento discriminador entre los grupos clínicos.

ANALISIS DE REGRESION LINEAL Y CORRELACION.

Los resultados del análisis del coeficiente de correlación lineal, la ecuación de la recta de regresión, de los cocientes: C / QDC (Reg. 1); QDC / DC(Reg.2); C : DC (Reg.3), en los cinco grupos: recién nacidos, controles de 1 a 14 años, reflujo gastroesofágico, úlcera duodenal y gastritis, los dividimos en dos fases (Apéndice 3): en la primera, hicimos un análisis discriminante de todos los grupos a los que se se les asignó una letra de la A a la E y luego se analizó cada grupo por separado.



GRAFICA 16. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: C Y RATIO 4. GRUPOS: 3 - 5.



GRAFICA 17. GRAFICAS DE DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD DE LAS VARIABLES: RATIO 1 Y RATIO 4. GRUPOS: 4 - 5.

1. Análisis global.

En la tabla XV, puede verse que existe una correlación significativa de las variables estudiadas entre los distintos grupos. Sin embargo, esto debe interpretarse con prudencia por los valores negativos de algunos grupos, como veremos en el análisis individualizado.

TABLA XV. Análisis global de todos los grupos.

	N	r	P	ECUACION
REG 1	103	0,69	0,0001	$C=0,847 \text{ QDC}+2,579$
REG 2	103	0,57	0,0001	$\text{QDC}=1,778\text{DC}+2,664$
REG 3	103	0,65	0,0001	$C=2,500 \text{ DC}+3,124$

2. Análisis en cada grupo, en la tabla XVI se exponen los resultados globales del análisis de las variables por grupos.

TABLA XVI. Análisis en cada grupo.

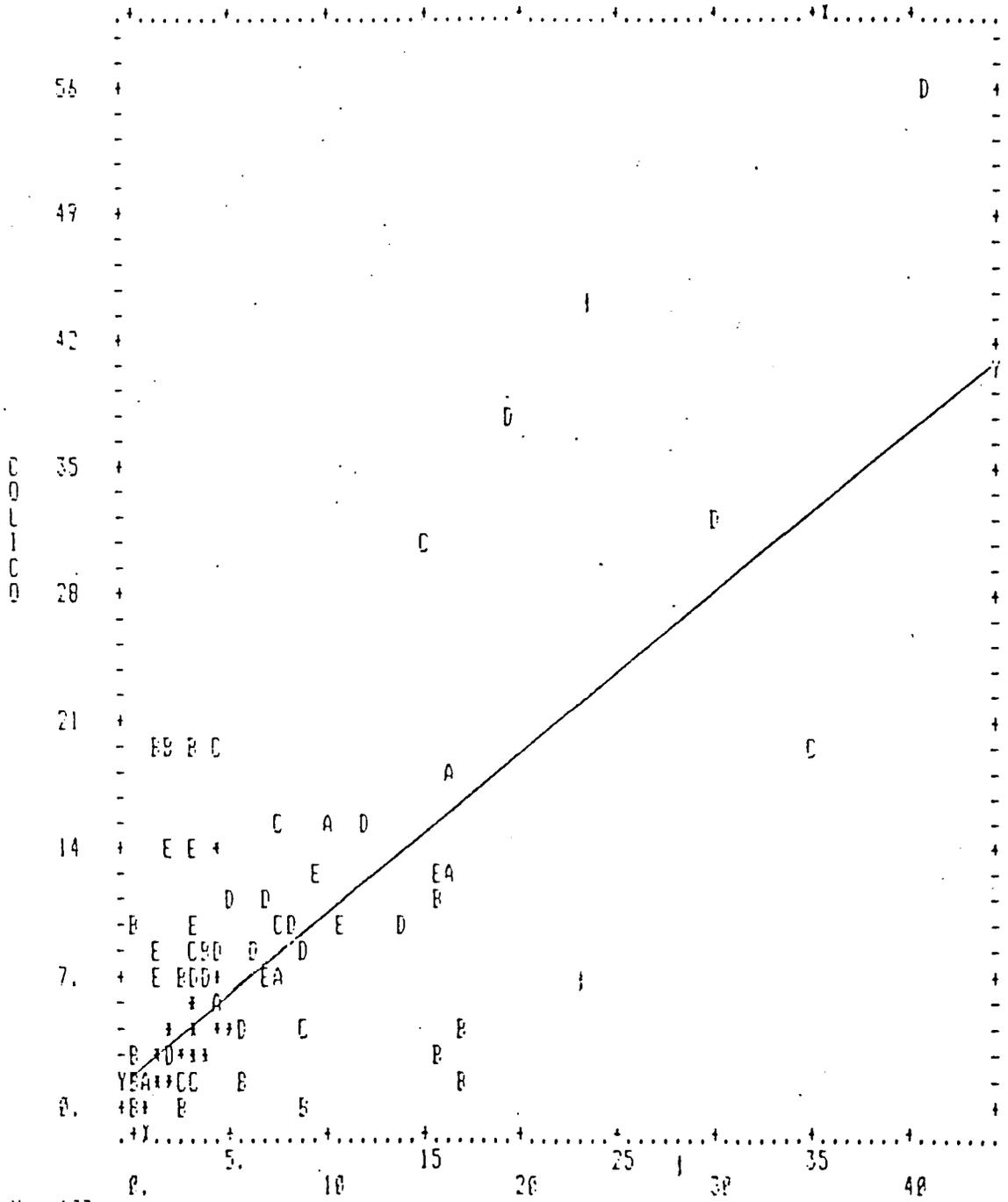
Coefficiente de correlación (r).

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
REG 1	0,86	=	=	0,94	=
REG 2	=	=	0,91	=	0,8
REG 3	=	0,89	0,7	0,72	=

Resultado no destacable ($r < 0,70$)

A. CORRELACION ENTRE LOS ACIDOS C : QDC.

1. Análisis de correlación global de todos los grupos. El valor del índice de correlación $r = 0.6901$, es estadísticamente significativo, $P = 0.0001$. (Gráfica 18). Esto nos indica que contemplando todos los



N = 103
 R = .6901
 F(R) 0.000
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES.MS.
 X 5.7184 6.9673 $X = .55224 * Y + 1.5469$ 25.674
 Y 7.4194 8.5523 $Y = .84714 * X + 2.5751$ 30.663

GRAFICA 18. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. EN TODOS LOS GRUPOS.

grupos existe un aumento lineal del QDC al aumentar el valor de C, que difícilmente es atribuible al azar. No obstante, esta interpretación tiene que ser cauta ya que pueden existir factores que la modifiquen en alguno de los grupos estudiados. Esto se comprobará en el análisis de grupo a grupo.

2. Recién nacidos (A). Existe en este grupo una fuerte correlación $r=0.8642$, con una significación de $P = 0.0001$. (Gráfica 19). El hecho de que la elevación del C con relación al QDC sea de 0.25 %, indica que los aumentos del cólico no son explicables por el azar.

3. Niños de 1 a 14 años. (B). En este grupo no existe correlación entre las variables C : QDC y la la recta de regresión prácticamente es igual. (Gráfica 20).

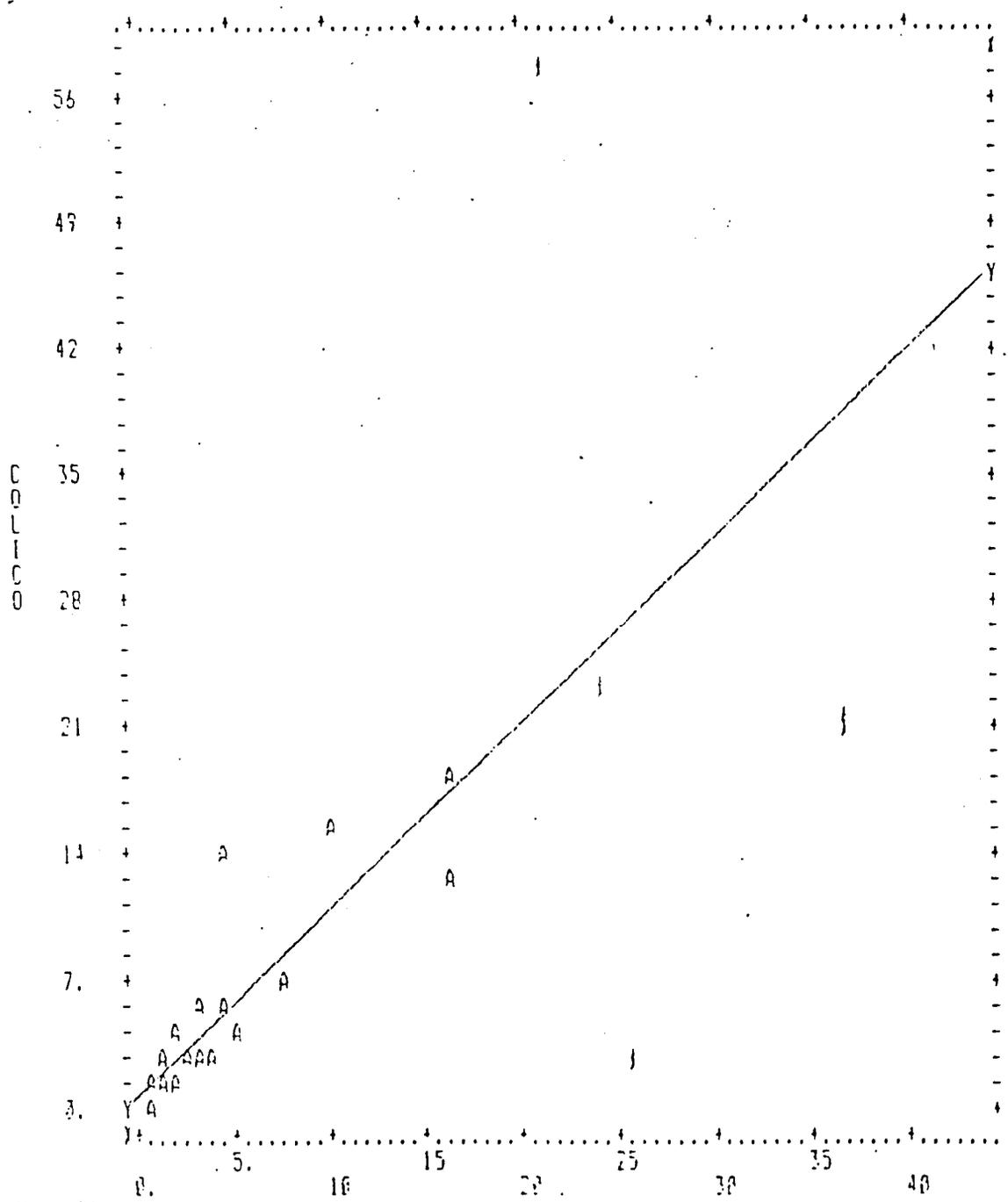
4. Reflujo gastroesofágico. (C). Este grupo presenta una correlación de: $r = 0.6575$, que no es significativa: $P = NS$. (Gráfica 21).

5. Úlcera duodenal. (D). Este grupo (gráfica 22), es el que tiene un coeficiente de correlación más fuerte $r = 0.9437$, con una significación de $P=0.0001$. Mostrando que el ácido cólico se incrementa en una proporción mayor que el quenoodeoxicólico.

6. Gastritis. (E). El coeficiente de correlación es negativo en este grupo y por lo tanto sin significación. (Gráfica 23).

B. CORRELACION ENTRE LOS ACIDOS QDC : DC.

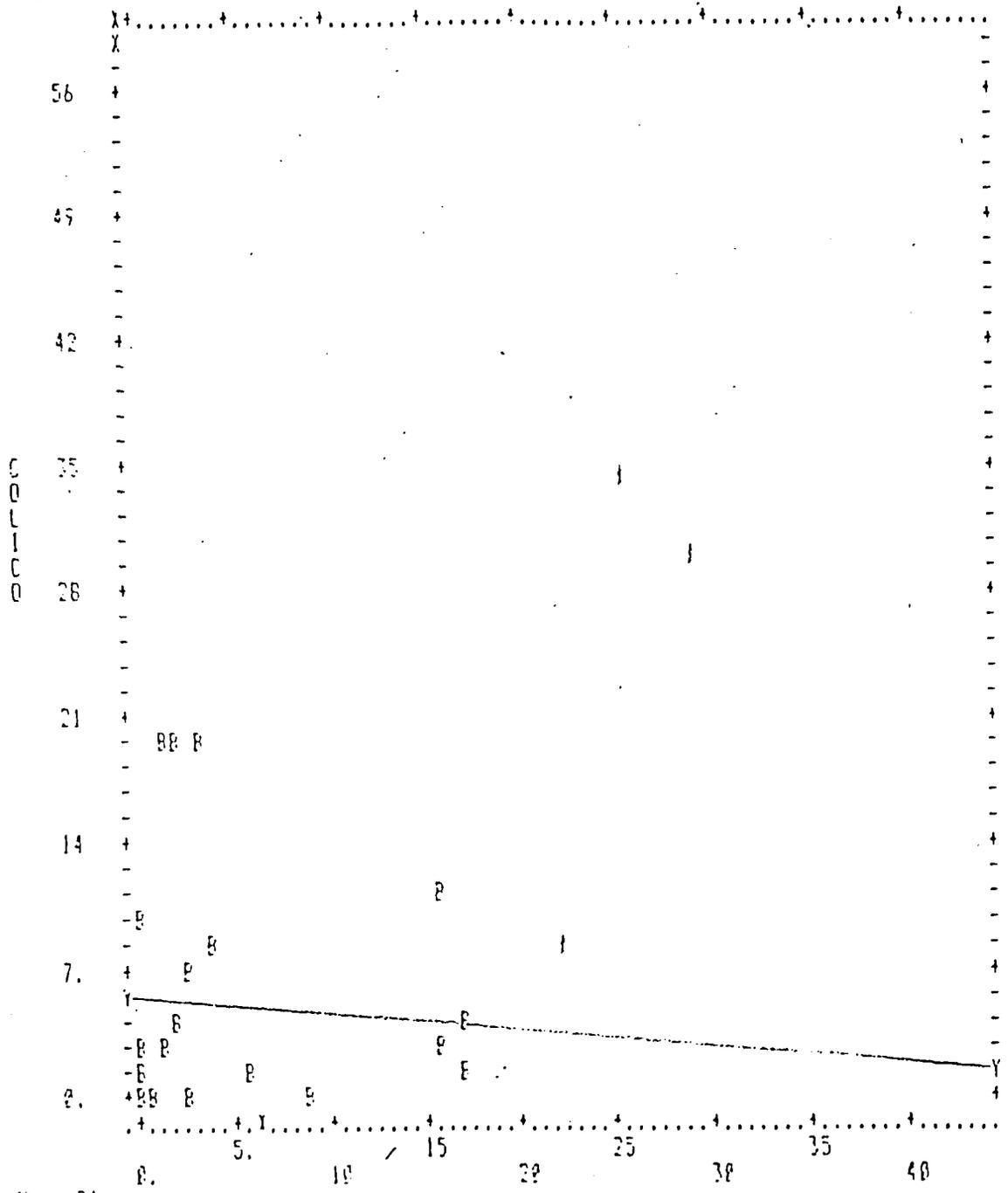
1. Análisis de correlación global de todos los grupos. Este análisis que incluye los 5 grupos (gráfica 24), muestra un coeficiente de correlación $r=0.5733$, que es significativa $P = 0.0001$. Probablemente



N = 21
R = .9652
F(R) 0.000

	MEAN	ST. DEV.	REGRESSION LINE	RES. MS.
Y	4.2000	4.5699	$X = .74432 \cdot Y + .32962$	5.5226
Y	5.2000	5.3120	$Y = 1.3057 \cdot X + .97627$	7.4658

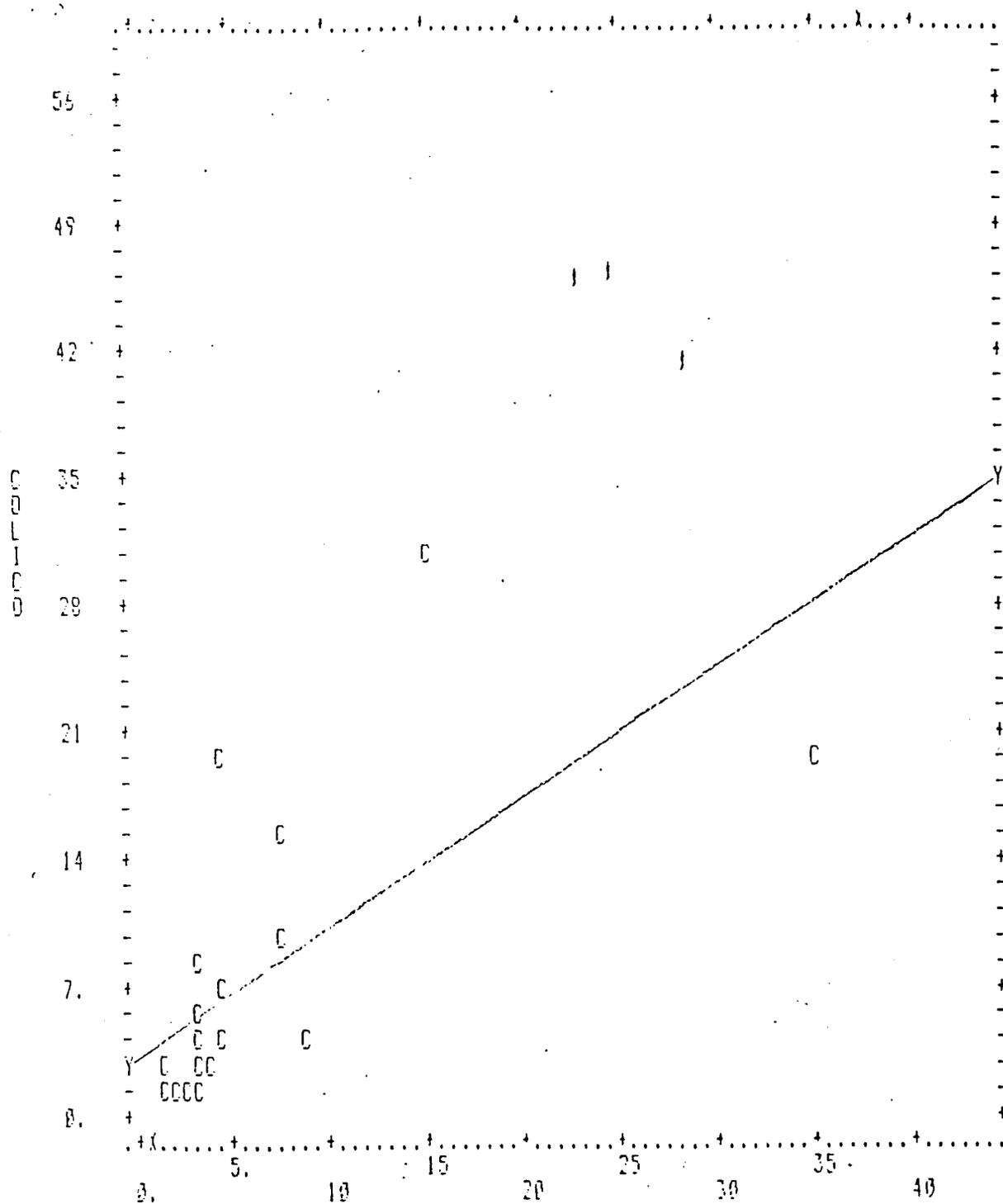
GRAFICA 19. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. GRUPO: A. (RN).



N = 24
R = -.1097
F(R) .5974
DSC

	MEAN	ST. DEV.	REGRESSION LINE	RES. MS.
X	5.2792	6.1629	$y = -.10945x + 5.8448$	39.278
Y	5.1583	6.1736	$y = -.10997x + 5.7364$	39.366

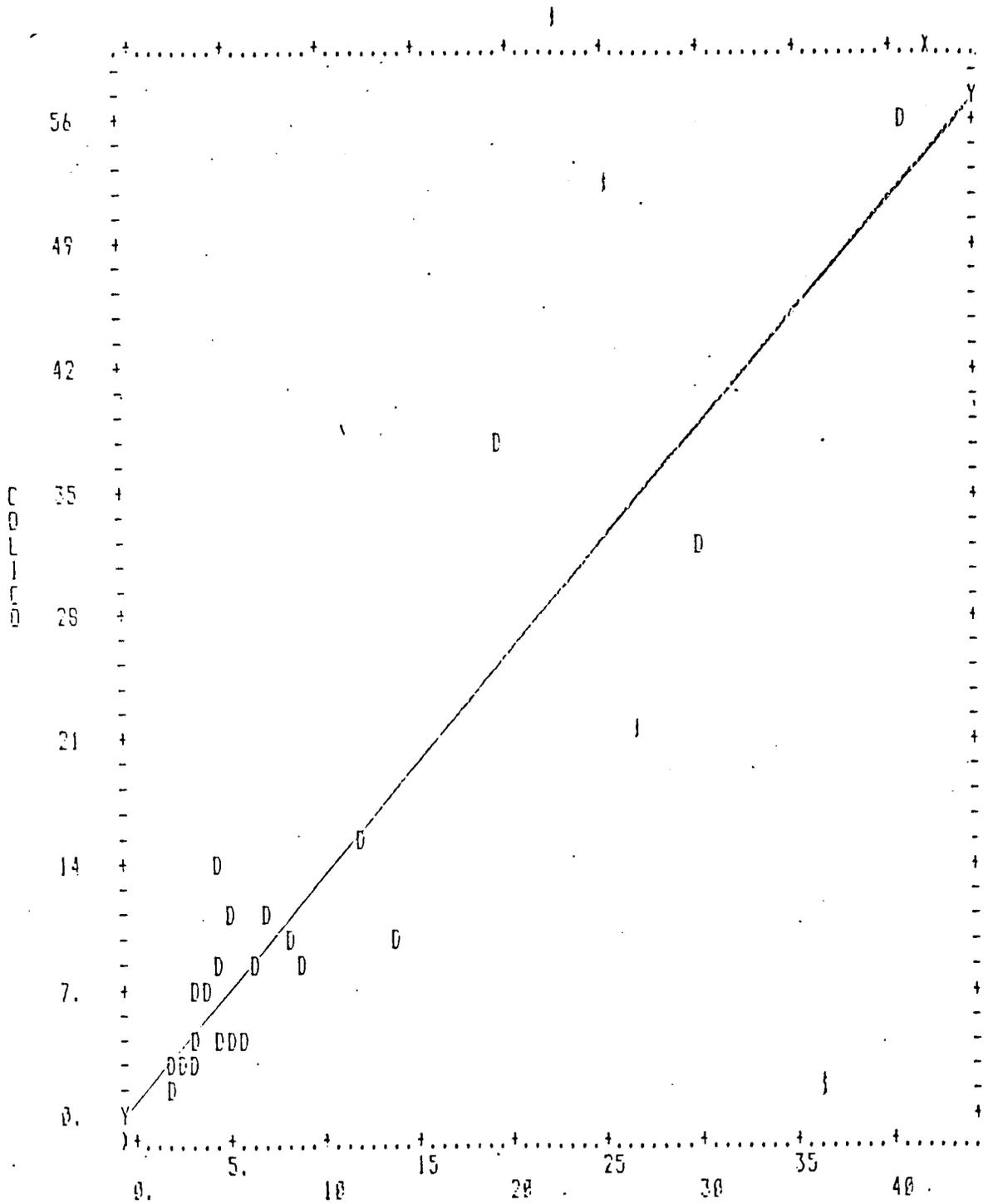
GRAFICA 20. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. GRUPO: B. (1-14 años).



$N = 23$
 $R = .8575$
 $F(R) = 22E-5$

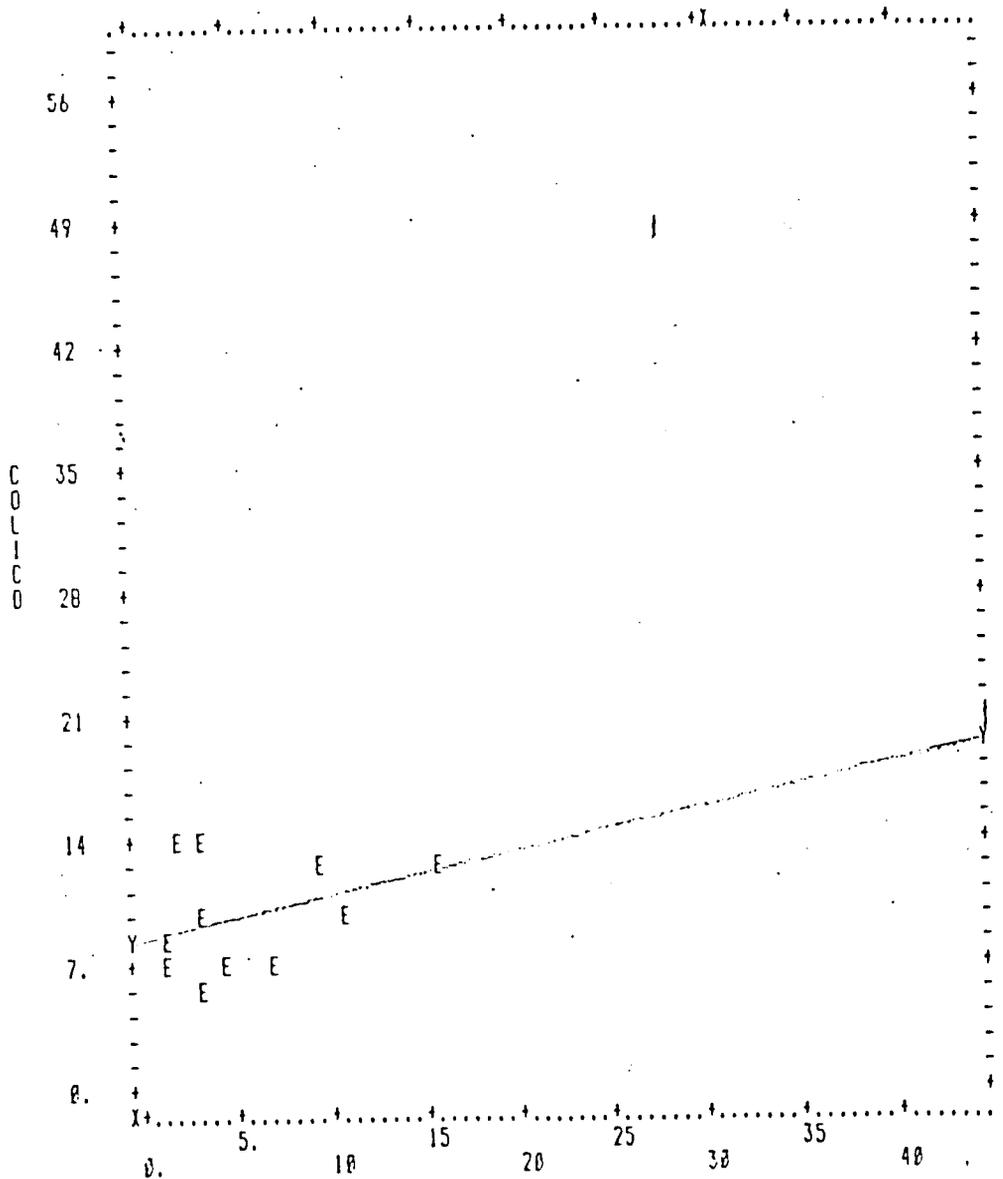
	MEAN	ST. DEV.	REGRESSION LINE	RES. MS.
X	5.1348	7.2275	$X = .60374 + Y + 1.1947$	31.066
Y	6.5261	7.8712	$Y = .71607 + X + 2.8492$	36.946

GRAFICA 21: RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. GRUPO C. (RGE).



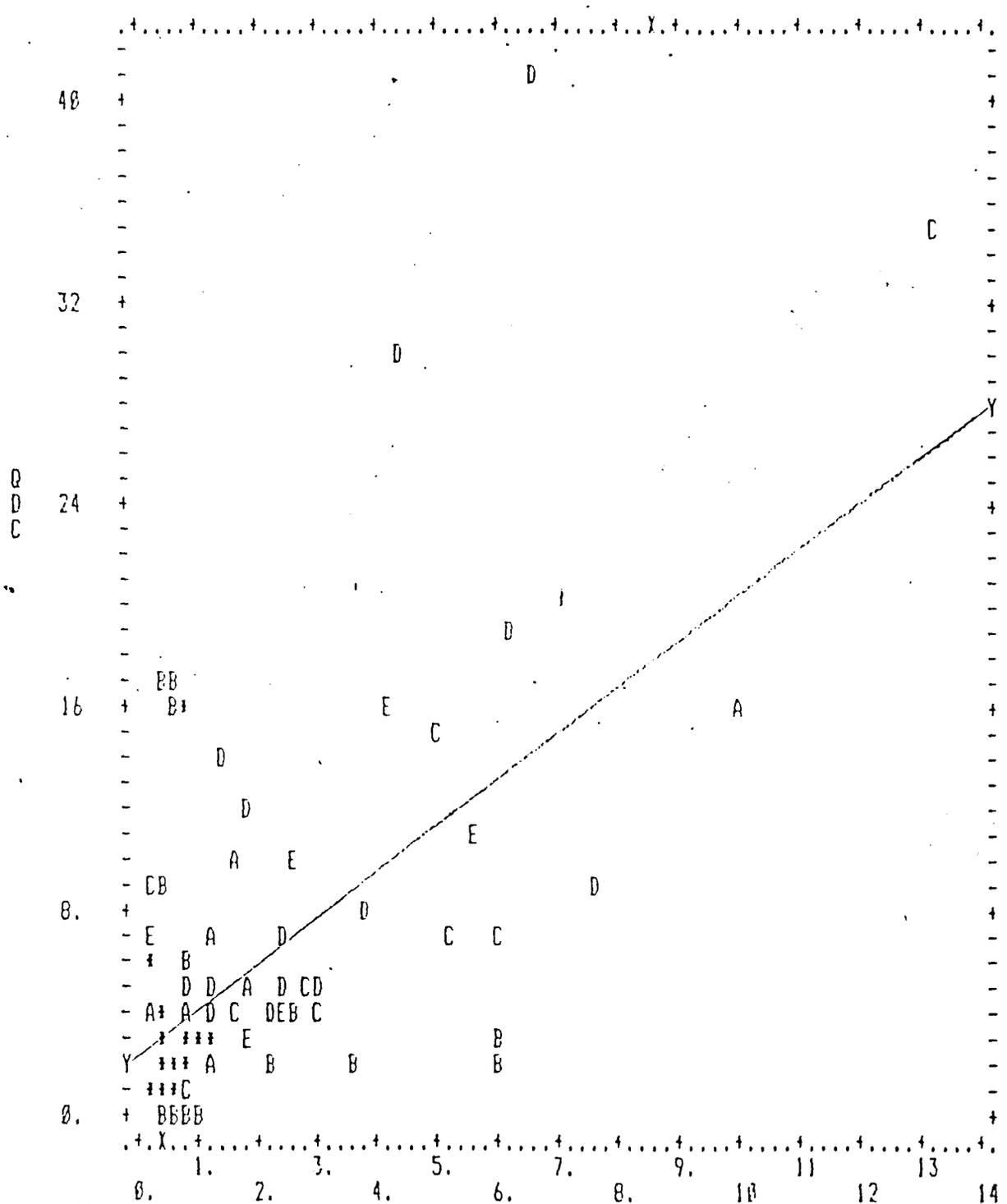
N = 23
 R = .9417
 F(R) 0.000
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 8.4261 9.6479 $X = .62629 * Y + .52482$ 11.034
 Y 11.513 13.239 $Y = 1.2922 * X + .62447$ 20.776

GRAFICA 22. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. GRUPO D. (UD).



N = 12
 R = .3439
 F(R) .2345
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 5.1833 4.5748 $X = .56259 + Y + .33181$ 28.388
 Y 9.6917 3.1425 $Y = .23621 + X + 8.4673$ 9.5785

GRAFICA23. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y QDC. GRUPO: E. (GST)



N = 103
 R = .5733
 F(R) 0.000
 MEAN ST.DEV. REGRESSION LINE RES.MS.
 X 1.7175 2.2466 $X = .18486 + Y + .66836$ 3.4218
 Y 5.7184 6.9673 $Y = 1.7780 + X + 2.6648$ 32.911

GRAFICA 24. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION
 PARA LAS VARIABLES: QDC Y DC. EN TODOS LOS
 GRUPOS.

sucedan lo mismo que en el grupo anterior, puede haber algún grupo que falsee el resultado, lo que se apreciará cuando se haga el análisis por grupos.

2. Recién nacido. (A). El coeficiente de correlación es negativo $r=0.6603$, y por lo tanto no es significativa: $P = NS$. (Gráfica 25).

3. Niños de 1 a 14 años. (B). De manera similar al análisis anterior, en este grupo fueron negativas la correlación y no hubo significación. (Gráfica 26).

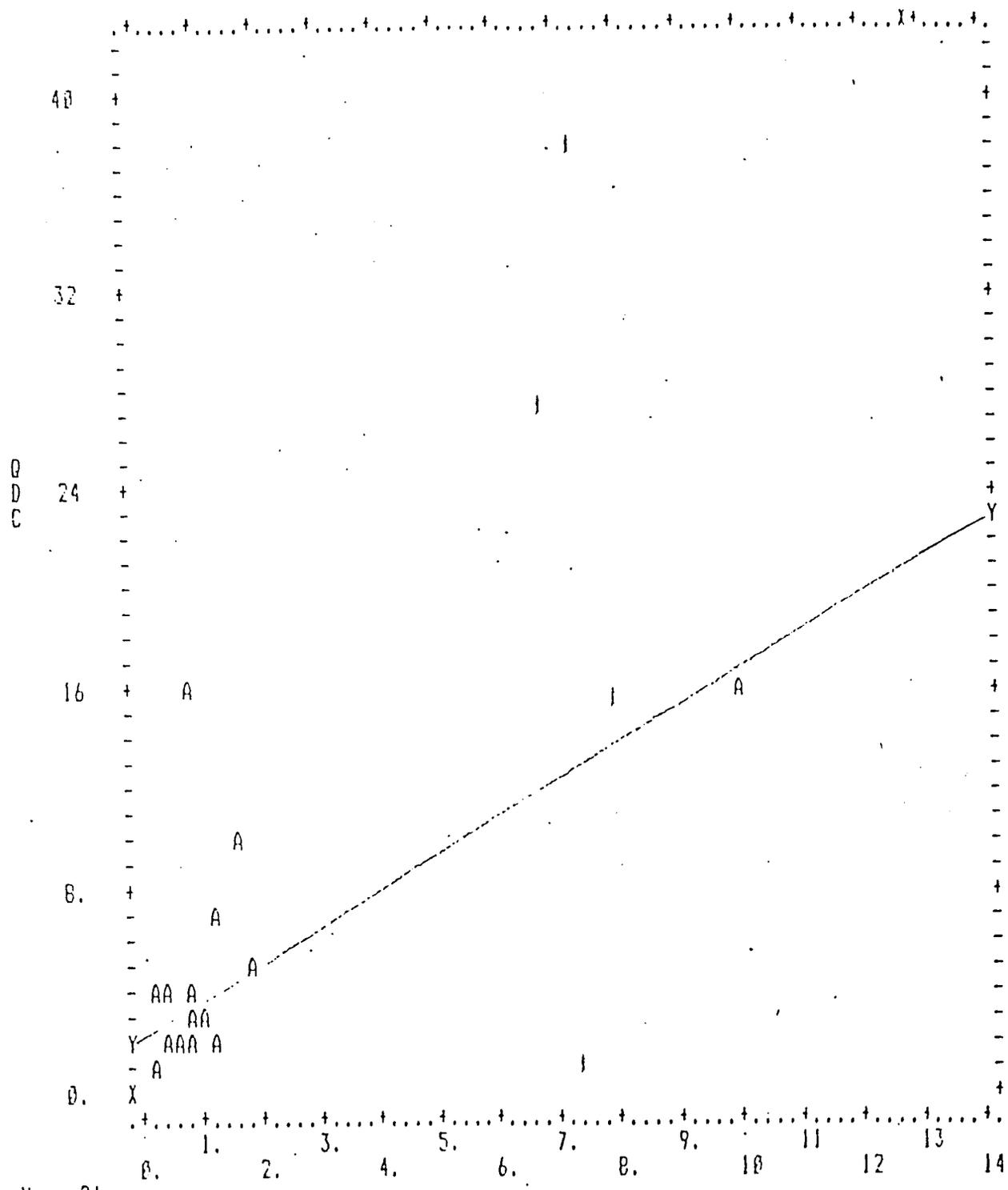
4. Reflujo gastroesofágico. (C). En este grupo, existe una fuerte correlación, $r = 0.9114$, que es significativa: $P = 0.0001$. (Gráfica 27). Se puede apreciar que los aumentos del DC son seguidos de incrementos del QDC de casi el doble.

5. Úlcera duodenal. (D). En este grupo fué negativa la correlación $r = 0.69$, pero era significativa $P = 0,0028$.(Gráfica 28). Aumentos de QDC son seguidos de incrementos lineales de DC.

6. Gastritis. (E). Encontramos en este grupo, una fuerte correlación entre estos dos ácidos: $r = 0.8051$, que es significativa $P = 0,00022$.(Gráfica 29). Esto indica que los incrementos del QDC son muy superiores a los del DC.

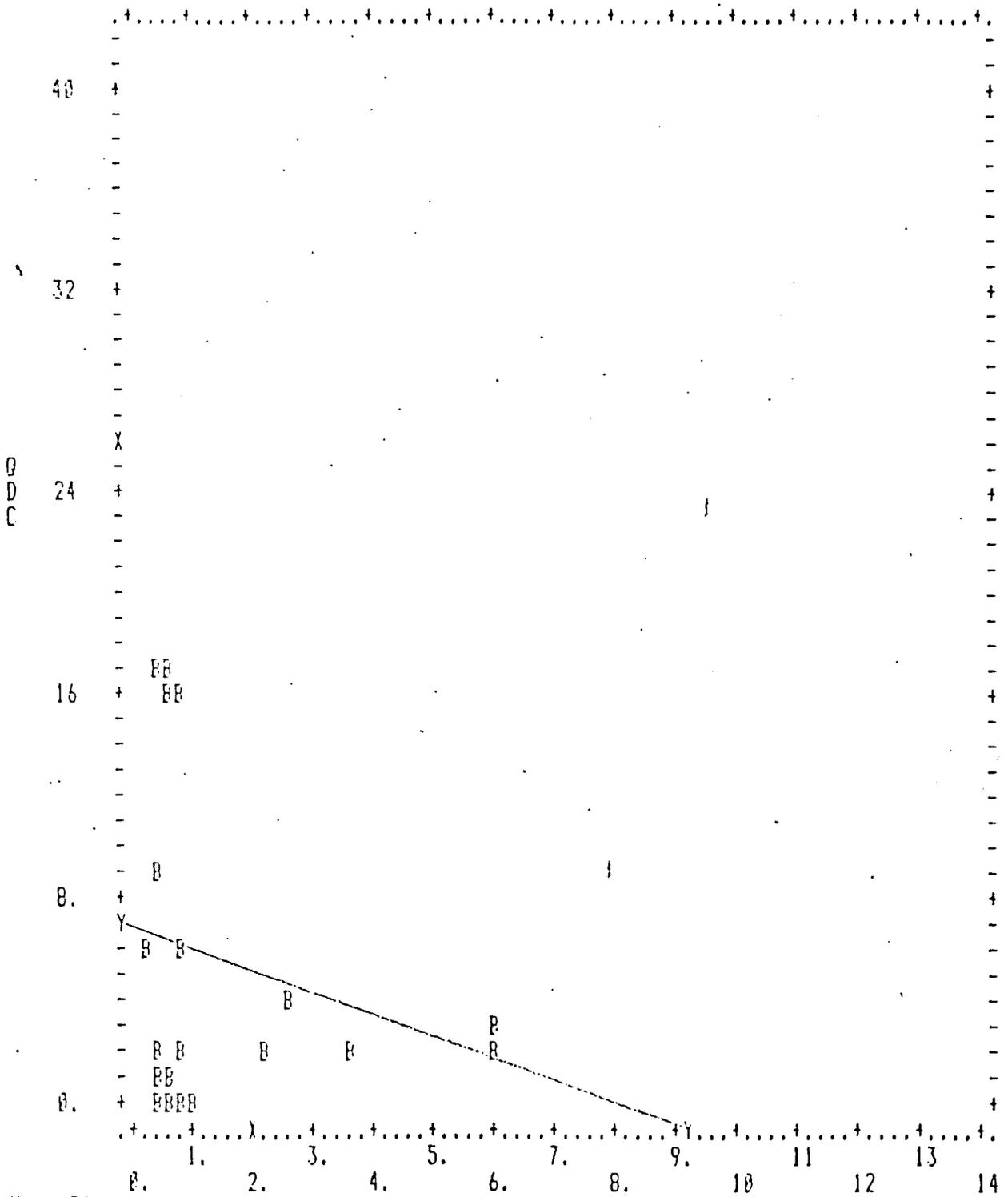
C. CORRELACION ENTRE LOS ACIDOS C : DC.

1. Análisis de correlación global de todos los grupos. El resultado de este análisis es parecido al de los grupos precedentes: correlación positiva $r=0.6569$ con $P=0.0001$ significativa. (Gráfica 30). También como veremos posteriormente es falaz por los valores negativos del grupo E.



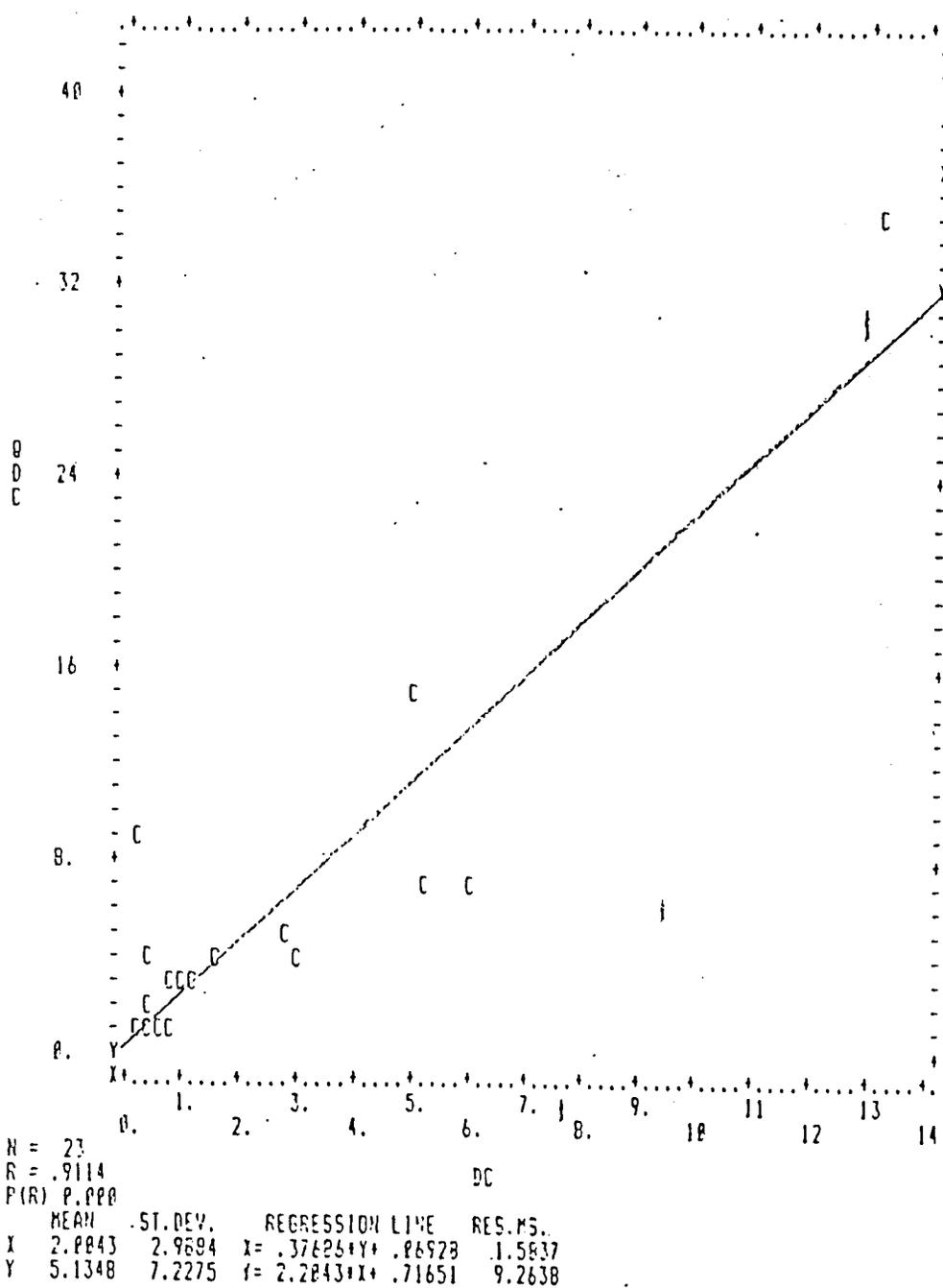
N = 21
 R = .6503
 F(R) 39E-5
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 1.1429 2.0824 $X = .30088Y - .12002$ 2.5748
 Y 4.2000 4.5699 $Y = 1.4490X + 2.5441$ 12.399

GRAFICA 25. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: QDC Y DC. GRUPO: A. (RN).

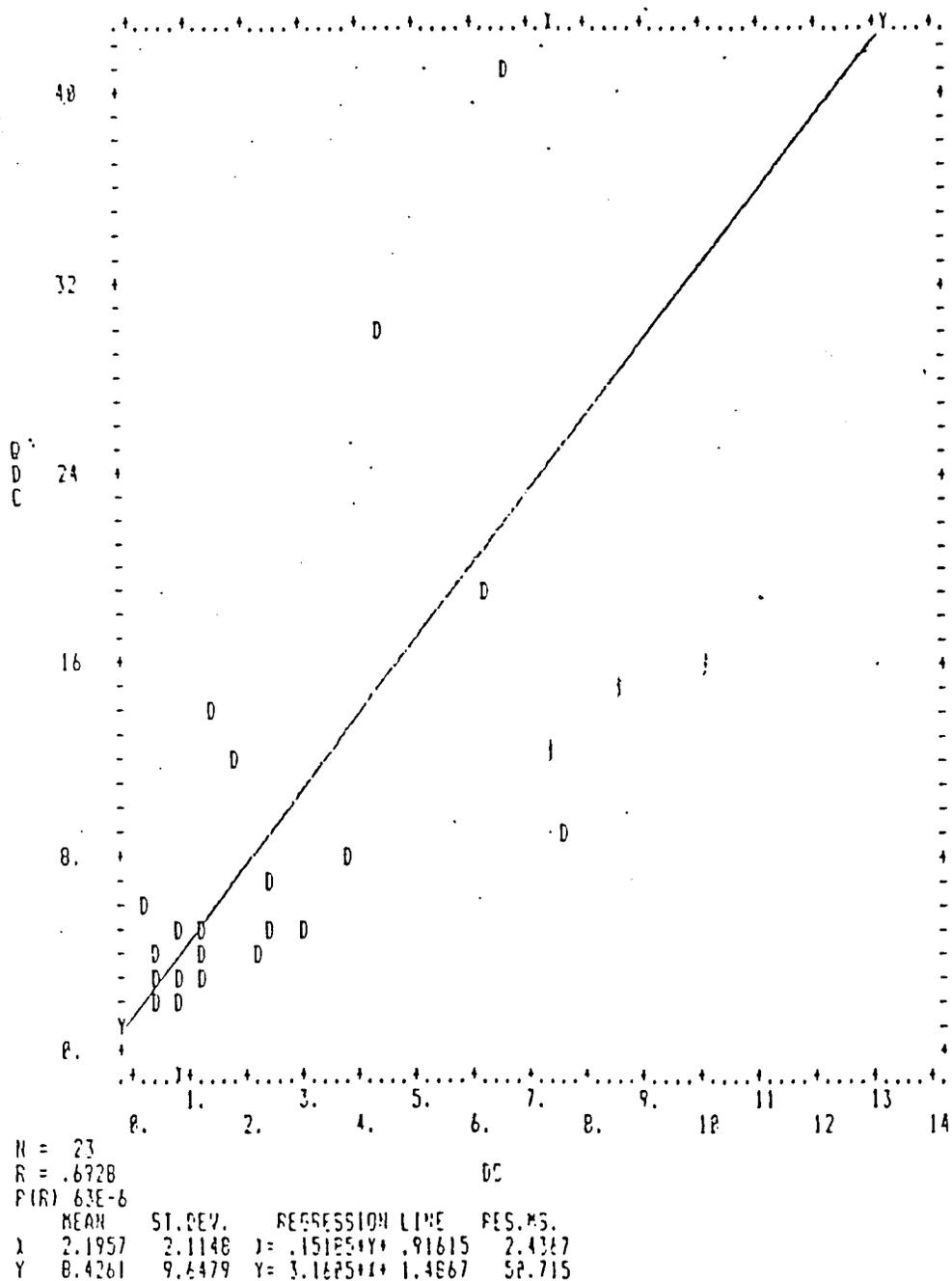


N = 24
 R = -.2576
 F(R) .2062
 MEAN ST.DEV. REGRESSION LINE RES.MS.
 X 1.4792 1.9283 $X = -.08861 * Y + 1.7847$ 3.6293
 Y 5.2792 6.1629 $Y = -.82344 * X + 6.4972$ 37.072

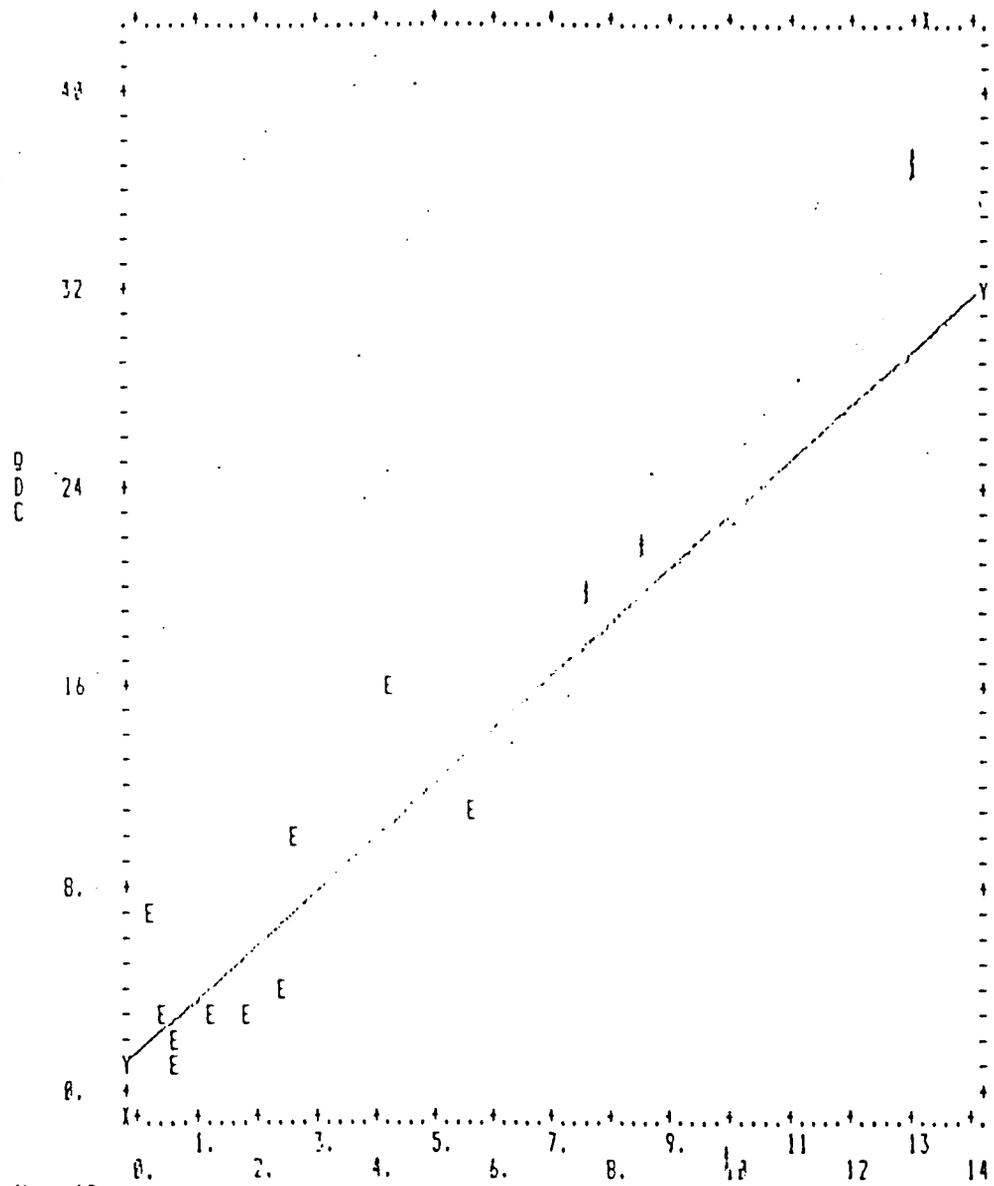
GRAFICA 26. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION
 PARA LAS VARIABLES: QDC Y DC. GRUPO: B.
 (1-14 años).



GRAFICA 27. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: QDC Y DC. GRUPO: C. (RGE).

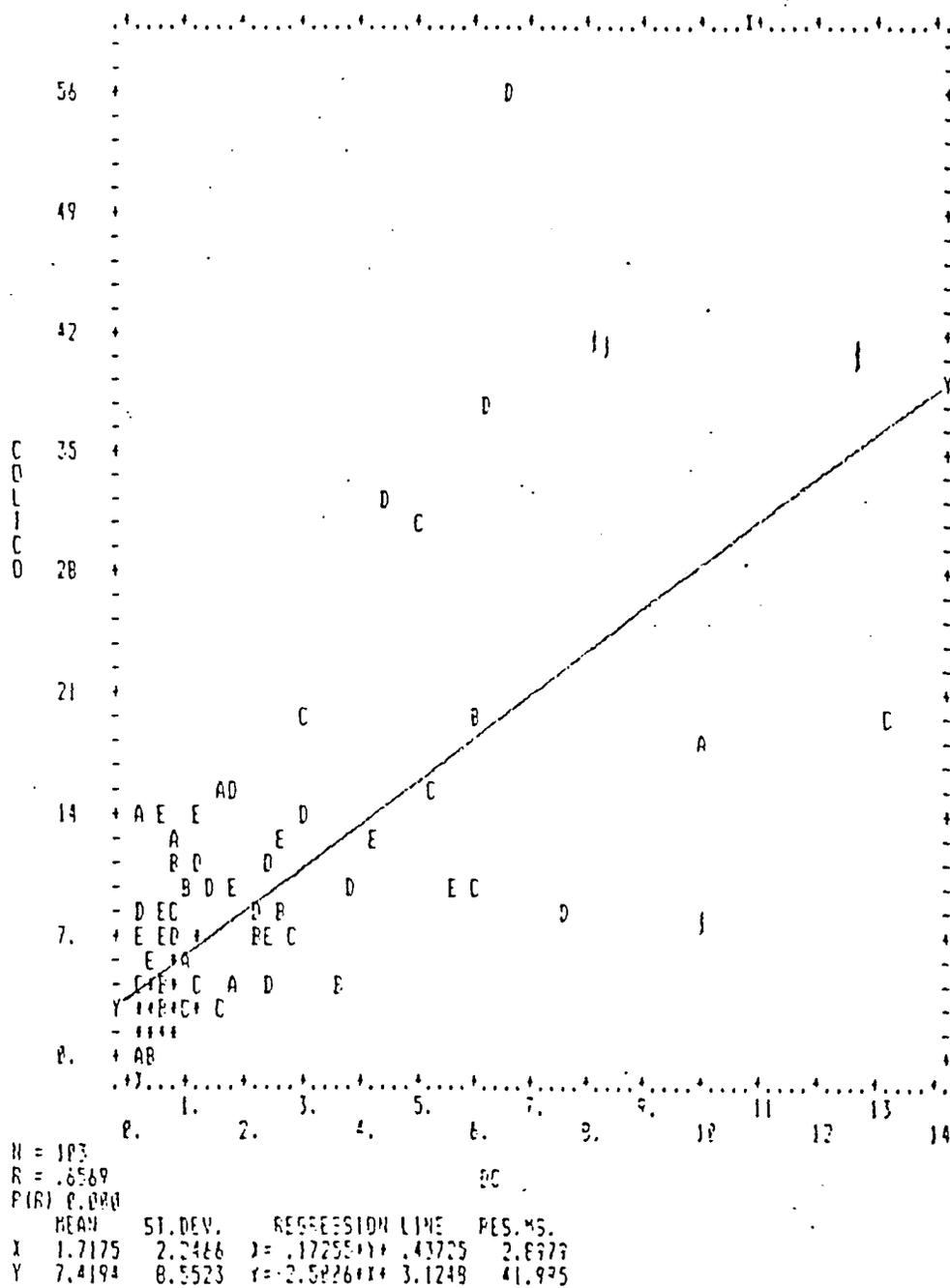


GRAFICA 28. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES : QDC Y DC. GRUPO D. (UD).



N = 12
 R = .8251
 F(R) 22E-5
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 1.7233 1.7122 $\hat{Y} = .391314X + .17154$ 1.1346
 Y 5.1833 4.5748 $\hat{Y} = 2.15111X + 1.4547$ 8.1228

GRAFICA 29. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION
 PARA LAS VARIABLES: QDC Y DC. GRUPO E. (GST).



GRAFICA 30. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y DC. EN TODOS LOS GRUPOS.

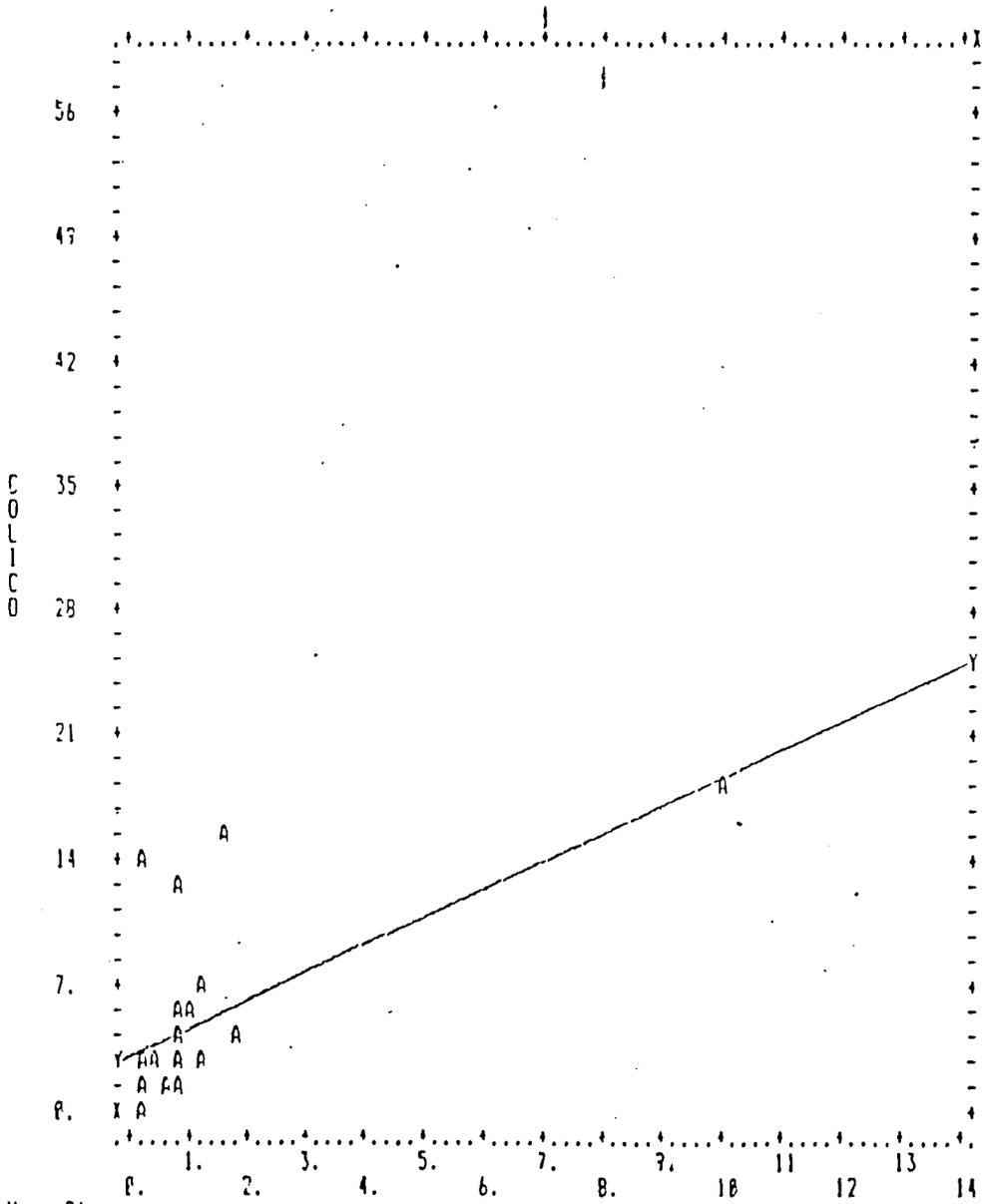
2. Recién nacidos. (A). En este grupo no existe correlación entre las dos variables: $r = 0.6055$, sin embargo si hay significación $P = 0.0017$.(Gráfica 31).

3. Niños de 1 a 14 años. (B). Este cociente (gráfica 32), pone de manifiesto que existe una fuerte correlación entre las dos variables estudiadas $r = 0.8924$, que es significativa, $P = 0.0001$. Indicando que es superior la síntesis de ácido cólico como se observa en los adultos.

4. Reflujo gastroesofágico. (C). En este grupo, a diferencia de lo descrito para los grupos anteriores, existe una correlación en el límite $r = 0,7015$, que es significativa $P = 0,000045$. (Gráfica 33).Indicando que existe un incremento lineal del ácido DC cuando aumenta el cólico. Estos incrementos no son tan llamativos como los de la correlación B y son similares a los de la A.

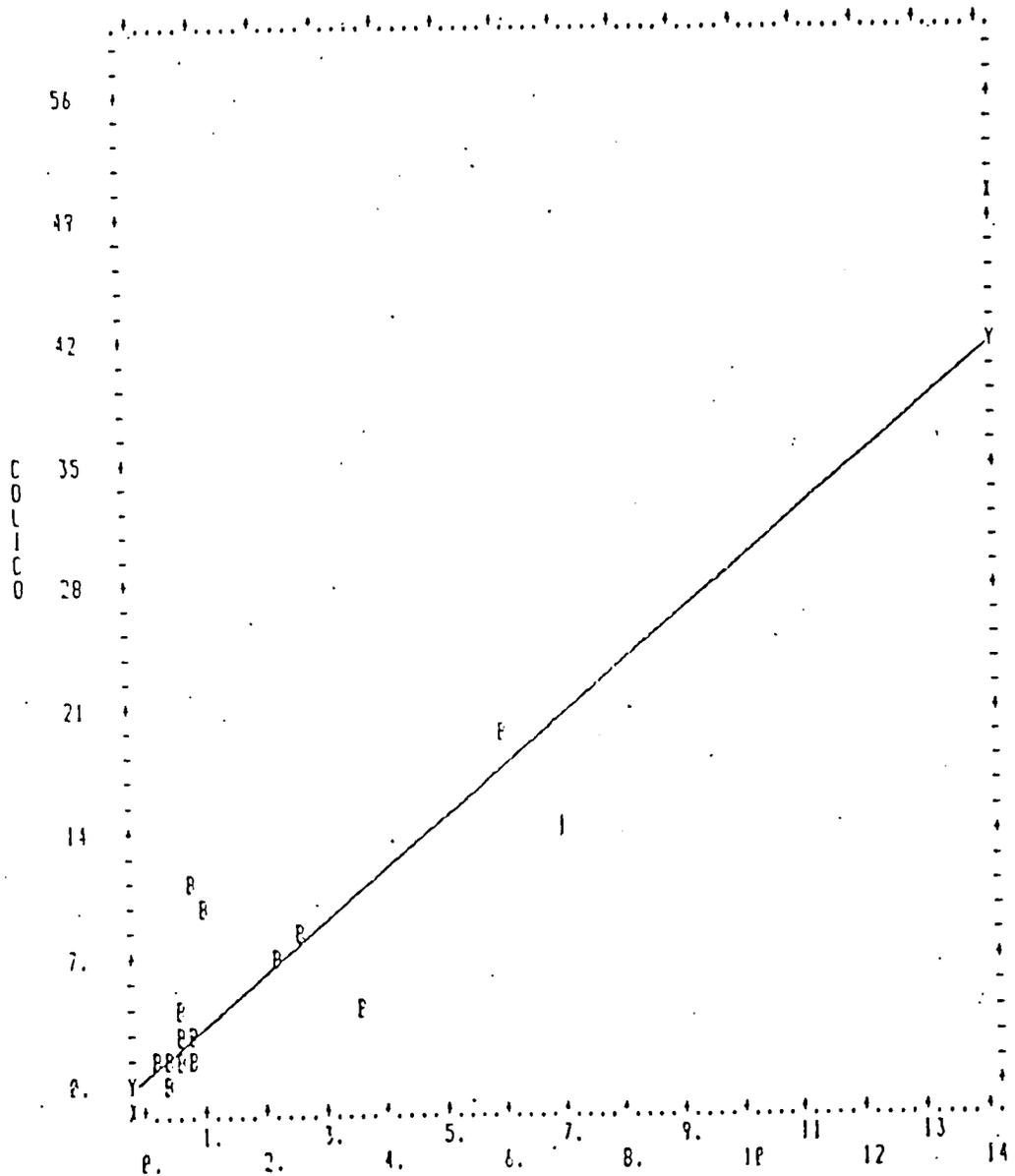
5. Úlcera duodenal. (D). El coeficiente de correlación y la significación en este grupo fueron de : $r = 0.7243$ y $P = 0.000017$, respectivamente. (Gráfica 34).Llama la atención que los incrementos del C pueden ser hasta 4,5 veces superiores a los del DC, lo que debe tenerse en cuenta para hacer una valoración de la presencia de estos ácidos en el residuo gástrico.

6. Gastritis. (E). En este grupo no encontramos correlación ni significación entre estas dos variables. (Gráfica 35).



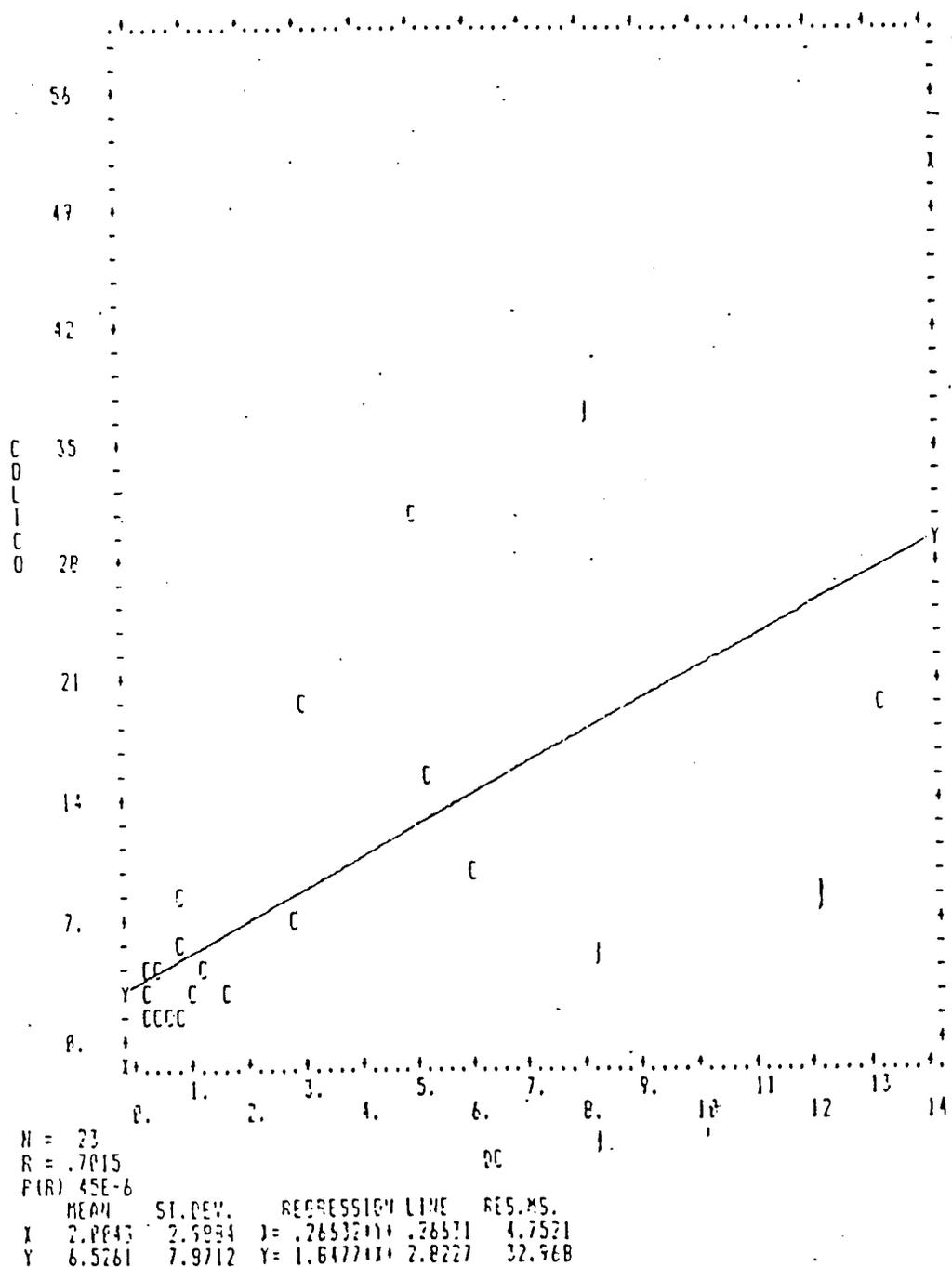
N = 21
 R = .8255
 P(16) .0017
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 1.1429 2.8924 $X = .23736 + Y - .09148$ 2.8914
 Y 5.2822 5.3128 $Y = 1.5444 + X + 3.4349$ 18.814

GRAFICA 31. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y DC . GRUPO: A. (RN).

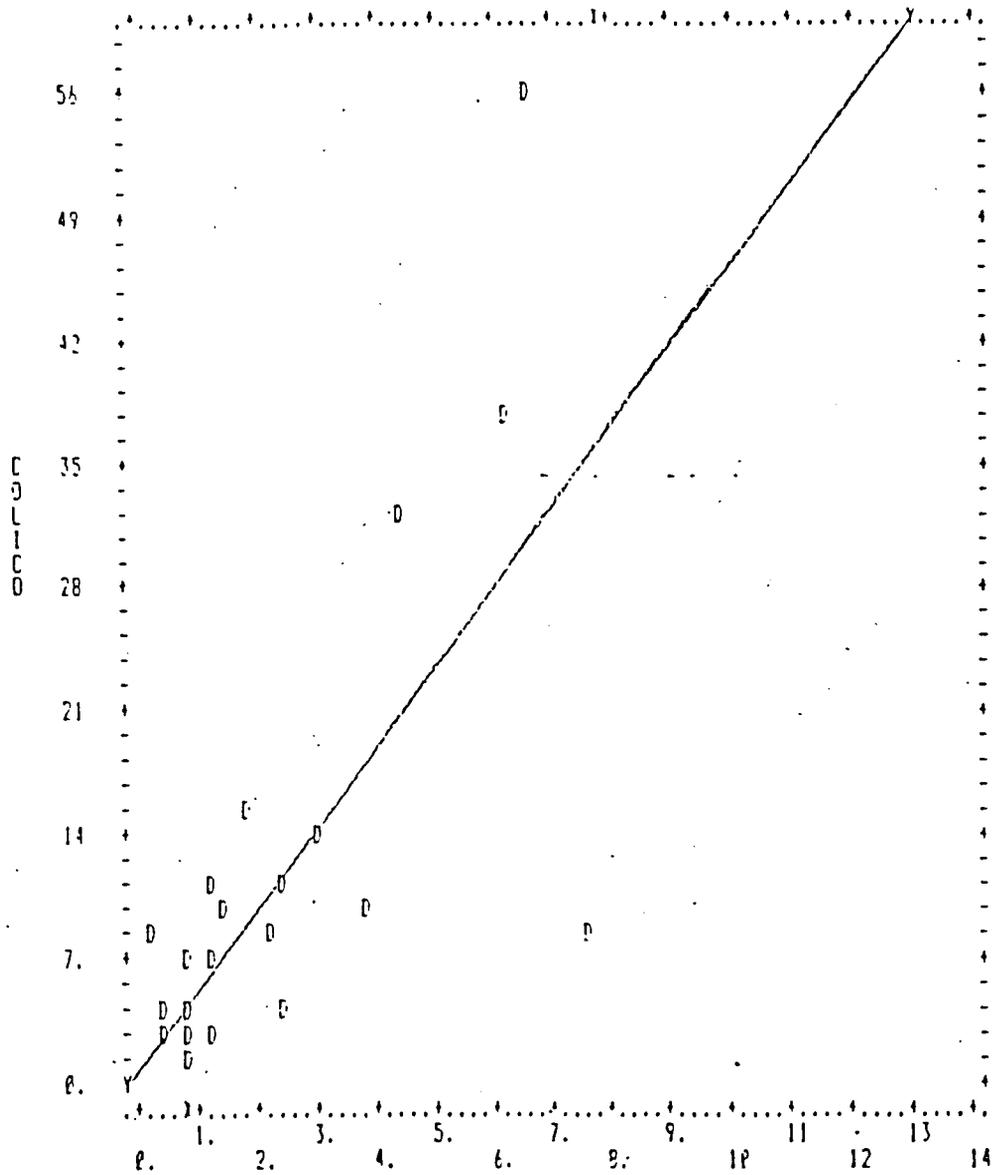


N = 24
 R = .8724
 F(R) 8.808
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 1.4792 1.5283 $b_1 = .27575100$.84119 .77127
 Y 5.1553 6.1736 $b_0 = 2.8572400$.93201 9.1127

GRAFICA 32. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION
 PARA LAS VARIABLES: C Y DC. GRUPO: B.
 (1-14 años).

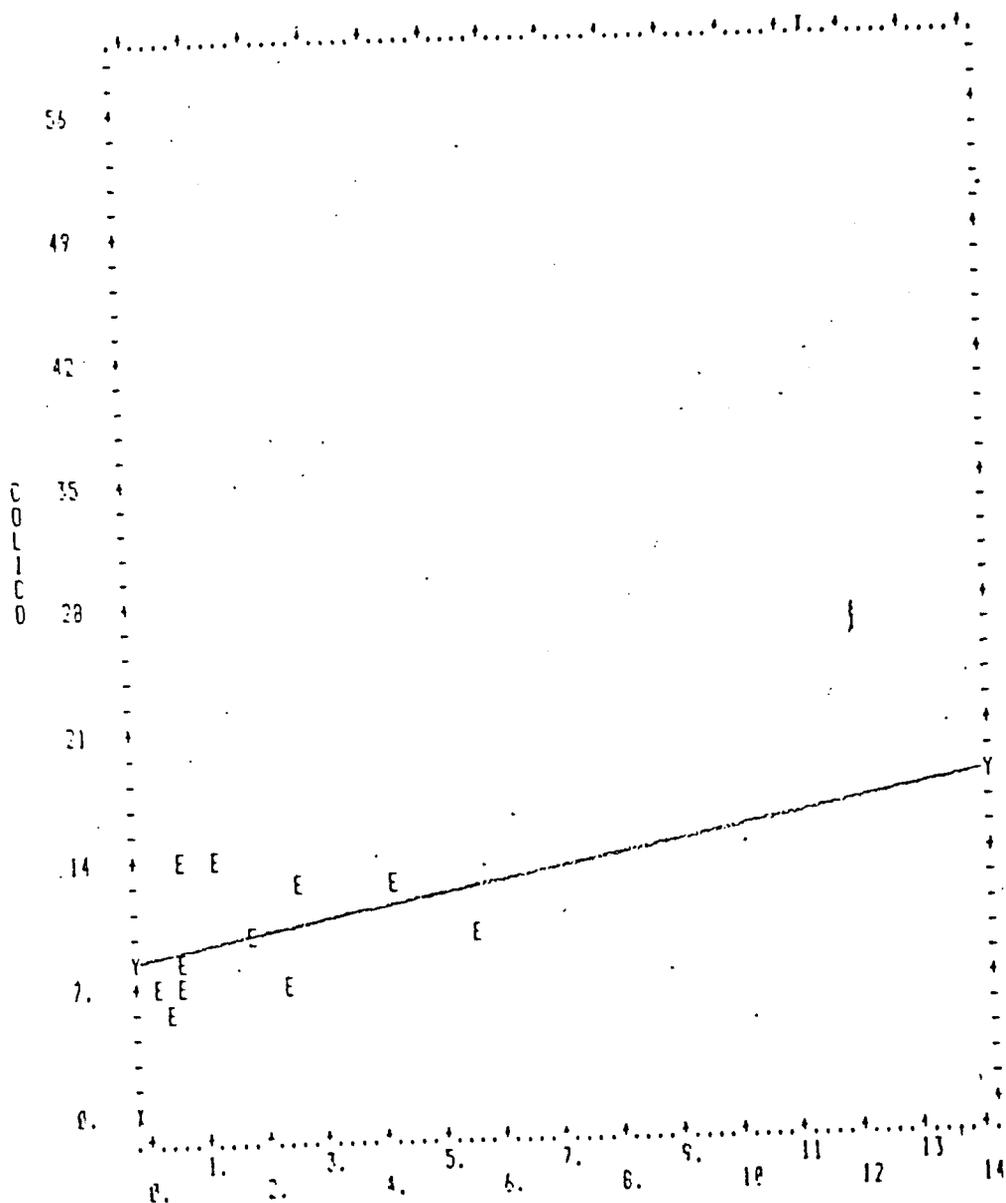


GRAFICA 33. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y DC. GRUPO C. (RGE).



N = 23
 R = .7243
 F(R) 17E-6
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 2.1957 2.1143 Y = .1157P + 1.2636P 2.2273
 Y 11.513 13.239 Y = 4.5343 + 1.1.5572 87.287

GRAFICA 34. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y DC. GRUPO D. (UD).



N = 12
 R = .3479
 F(R) .2285
 MEAN ST. DEV. REGRESSION LINE RES. MS.
 X 1.7333 1.7122 $X = .187571Y - .10396$ 2.8343
 Y 9.6917 3.1425 $Y = .633621X + 8.5947$ 9.5478

GRAFICA 35. RECTA DE REGRESION Y DIAGRAMA DE DISPERSION PARA LAS VARIABLES: C Y DC. GRUPO E. (GST).

DISCUSSION.

1. ASPECTOS GENERALES.

Desde hace unos 40 años se comenzó a especular sobre la influencia que podría tener el reflujo enterogástrico en determinadas alteraciones de la mucosa del aparato digestivo.

Los primeros trabajos (71,72) que dedicaron su atención a este tema resaltaban que los sujetos diagnosticados de gastritis solían tener una mayor concentración de bilis en el residuo gástrico en ayunas, fenómeno que no es infrecuente en el hombre. Este hecho hizo pensar que la bilis o alguno de sus componentes serían responsables de la gastritis.

Este mayor contenido de bilis en el estómago se intentó explicar con varias hipótesis: trastornos del vaciamiento gástrico (73), alteraciones de la motilidad del antro y/o duodeno (74), disregulación motora que permitiría el paso del contenido duodenal al estómago en un momento en que el píloro se encuentra abierto y que produce cambios de la actividad motora y secretora de los tramos superiores del aparato digestivo durante el ayuno, el reflujo enterogástrico. Se atribuyen estas modificaciones a una estrecha relación con los ciclos motores interdigestivos, que por mediación de los complejos migratorios motores, producen un reflujo cíclico de bilis y de jugo pancreático, reflujo que suele ser más elevado durante la última parte de la fase II (cuándo la actividad secretora también está en ascenso), disminuyendo después de la fase III.

Todo esto hace pensar que una de las principales funciones del complejo motor migratorio debe ser la de aclarar el estómago de las secreciones refluidas desde el duodeno.

Trabajos posteriores (80) han demostrado que el reflujo duodeno-gástrico tiene un porcentaje de igual magnitud en ayunas y post-prandial, siendo este último unas 5 a 10 veces menor que el porcentaje del vaciamiento y es independiente de este, que aparentemente es mayor después de una comida grasa que protéica. El acúmulo del material refluído en el estómago está directamente relacionado con el vaciamiento gástrico.

Las implicaciones clínicas del reflujo enterogástrico las analizaremos individualmente en las tres entidades clínicas donde parece que pueden tener implicaciones patogénicas más estrechas: reflujo gastroesofágico, gastritis y úlcera duodenal.

1.1. REFLUJO GASTROESOFAGICO.

La relación entre el reflujo gastroesofágico y la esofagitis es a través de la pirosis que acompaña al reflujo (94), observándose que en muchos de estos enfermos existe una incompetencia del píloro, al revés de lo que sucede en los que no tienen pirosis (95). Esto claramente hace pensar que intervengan en esta situación la incompetencia de los esfínteres pilórico y gastroesofágico (81,95).

Esta hipótesis se ha tratado de demostrar con numerosos estudios experimentales(96, 97): ligadura a nivel de la unión esofagogástrica, anástomosis en Y de Roux del estómago al intestino, de la vesícula biliar al estómago y del conducto biliar común, observándose dos situaciones diferentes. En los dos primeros casos, no existen alteraciones de la pared del esófago por no detectarse sales biliares en el estómago, mientras en los dos restantes, eran evidentes las lesiones esofágicas y el contenido gástrico de sales biliares era mayor, lo cual

indudablemente hace pensar que la bilis debe tener alguna importancia en el desarrollo de la esofagitis.

Estudios posteriores (98,99), demostraron que este tipo de alteraciones se producían en sujetos gastrectomizados y vagectomizados, a los que se les había resecado o conservado el cárdias (100). Se pudo observar en estos casos, que existía una correlación, después de la cirugía gástrica, entre la presencia de bilis en el esófago y la existencia de síntomas de esofagitis, con un contenido medio de bilis en los asintomáticos de 13 mmol/l, mientras que era de 826 mmol/l en los sintomáticos. La prevalencia del reflujo biliar no estaba influenciada por la conservación o no del cárdias. En condiciones normales la mucosa del esófago es impermeable al paso de iones H⁺.

El mecanismo fisiopatológico de las alteraciones de la mucosa esofágica en casos de reflujo ácido o alcalino es el siguiente (101, 102): cuándo existe un pH intraluminal ácido (inferior a 3.5), los taurocolatos y la pepsina, y en menor grado la lecitina, producen un daño de la mucosa del esófago al penetrar una mayor cantidad de iones hidrogeno. Por el contrario, si el pH intraluminal es alcalino (pH 7.4), la tripsina y las sales biliares deconjugadas: cólico, quenodeoxicólico y deoxicólico, afectan a la mucosa, desempeñando un importante papel en la patogénesis de la esofagitis por reflujo alcalino.

1.2.GASTRITIS.

En la alteración de la mucosa gástrica han sido propuestos los siguientes mecanismos: un reflujo enterogástrico en cantidades superiores a las que se observan habitualmente (73), alteraciones del vaciamiento gástrico (74,77), aumento de la citotoxicidad del material



refluído y una disminución de los factores de citoprotección de la mucosa gástrica (80).

Yvey (103), apoyándose en una antigua teoría de que en condiciones normales existe un intercambio de H^+ por Na^+ , observó que la presencia de sales biliares en el estómago (taurocolatos y taurodeoxicolatos) aumentaba el flujo de hidrogeniones y de cloro de la luz a la mucosa. Estos cambios eran más llamativos cuando predominaba el ácido taurocólico. Black (87) experimentalmente encontró alteraciones similares estudiando cambios de las diferencias de potencial transmucosos, antes, durante y después de la instilación de sales biliares a diferentes concentraciones y de Ph.

Posteriormente se pudo demostrar (104) que los ácidos biliares no dañaban por igual la mucosa del estómago, dando como un hecho seguro que la presencia de bilis en el residuo gástrico producía gastritis, pero que en esta alteración algunos eran más nocivos que otros. Se observó en estos estudios que las sales biliares conjugadas con taurina (TC y TDC) que tienen una constante de disociación (Pka) de 1.9, en presencia de un pH inferior a 3.0, originaban llamativas diferencias de potencial a nivel de las membranas de las células mucosas y aumentaban la retrodifusión de hidrogeniones, alteraciones que no se observaron con los ácidos biliares deconjugados (C y DC) con un pH similar, pero con diferentes constantes de disociación: 5.0 y 5.3. Cuando se repetía el experimento con pH cercano a 7.0, tanto los ácidos biliares conjugados como los no conjugados producían una mayor difusión de H^+ , indicando claramente que intervienen dos factores en el daño de la mucosa: la presencia de una sal biliar o sus derivados en la bilis refluida y el pH del interior del estómago.

Estos hallazgos experimentales también han sido demostrados posteriormente en humanos (105 - 107).

1.3. ULCERA DUODENAL.

Los primeros trabajos acerca del papel que pudieran desempeñar las sales biliares en la úlcera duodenal se iniciaron de la observación de que en el vómito con bilis suelen coincidir una retroperistalsis del duodeno y la apertura del píloro que permite un doble flujo: de bilis al estómago y de ácido al duodeno (108). La retroperistalsis se demostraba cuando se instilaba ácido en el duodeno, fenómeno que constituye un factor de primera magnitud en el desencadenamiento del reflujo duodenogástrico.

Esto hizo pensar que de manera parecida a lo que acontecía con la gastritis o el reflujo gastroesofágico, las sales biliares estarían implicadas en las alteraciones de la mucosa duodenal, y que posiblemente su papel pudiese estar minimizado por el protagonismo concedido a la secreción ácida, demasiado magnificado en numerosos trabajos.

A pesar de estas primitivas afirmaciones, no se han podido demostrar en los sujetos con úlcera duodenal muchas de las alteraciones referidas anteriormente: cuantía del reflujo duodenogástrico, concentración de las sales biliares del estómago, ni la competencia del píloro (91, 92).

En recientes trabajos(109,110) se reafirmó que no suele existir un aumento de la concentración intragástrica de sales biliares en los individuos con úlcera duodenal. Lo que sí parece que pueda existir, es una cierta relación entre la cuantía del reflujo duodenogástrico y la

erradicación del campylobacter pilori en los ulcerosos previamente vagectomizados (111-113).

2. DISCUSION DE RESULTADOS.

A.- COMPORTAMIENTO DE LOS ACIDOS BILIARES.

Antes de comenzar la discusión del análisis de los resultados de los ácidos biliares y sus fracciones del contenido gástrico en los grupos estudiados, conviene puntualizar que el contraste de nuestros datos es difícil ya que no existen estudios publicados del residuo gástrico en los niños. Solo se han descrito en sangre (94) y uno solo que conozcamos en el contenido duodenal (118). Son más numerosos los realizados en adultos con metodología similar.

A.1. Recién nacidos y niños de 1 a 14 años. En los recién nacidos los niveles medios de glicoconjugados: GC y GQDC + GDC, fueron de 16,04 y 23, 93, que son superiores a los tauroconjugados: TC y TQDC+ TDC: 13,98 y 14,76. Estas diferencias eran mínimas en el grupo de 1 a 14 años con cifras medias de GC y GQDC + GDC de 18,72 y 19,67 y para TC y TQDC + TDC: 14,43 y 10,72 respectivamente, no siendo significativas en el análisis global ni por pareja de grupos, pero cuando se aplicó el test robusto resaltaba como factor diferenciador el cociente GLI/TAU.

Esto indica que el perfil de los ácidos biliares en el recién nacido, tiene un patrón similar al del adulto, de predominio de los conjugados con glicina, muy diferente del comportamiento fetal en donde predominan la conjugación con taurina, ya que en la escala filogenética la conjugación con glicina es más tardía y es exclusiva de los mamíferos. Watkins (69) explica que este patrón se consigue entre

los 2 y 27 meses. En nuestro estudio, si tenemos en cuenta que la media de edad cuando realizamos la determinación en los recién nacidos fué de 29 días, cabe suponer que la glucoconjugación se alcance mucho antes de lo que referia Watkins, posiblemente a los pocos días del nacimiento.

El paso de la conjugación de un aminoácido a otro, se debe a la deplección de taurina, por una disminución de actividad de la cistationasa y del ácido cistein-sulfínico-decarboxilasa (68, 119).

Tampoco observamos diferencias en los dos grupos de los valores medios de los ácidos primarios cólico y quenodeoxicólico: 5,20 y 5,72 frente a 4,20 y 5,30. Por el contrario, estaba disminuido el valor medio del ácido secundario deoxicólico en los recién nacidos: 3,14 contra 14,76 en los niños de 1 a 14 años. Esto se puede interpretar como una inadecuada implantación de la flora bacteriana durante el periodo neonatal, motivo por el cual la 7α hidroxilación bacteriana no está establecida, lo que según otros autores (68, 120) suele acontecer cerca del año de vida.

A.2. Reflujo gastroesofágico.

(a) Aspectos clínicos. Los vómitos fueron el síntoma predominante en este grupo evidenciandose en el 100 % de nuestros casos, seguido del dolor abdominal localizado en epigástrico en el 85 %, neumonias y hematemesis en el 40% y 20 % respectivamente. (Tabla VII a). No difieren nuestros hallazgos con los descritos en la literatura.

La monitorización del pH de 24 horas, la endoscopia y el estudio histológico (tabla VII b) demostró que en el 33 % fué positiva la pHmetría, la endoscopia en el 19 % y la histología el 48 %.

Esta elevada positividad de la histología nos confirma que en un número no despreciable de casos en los que son negativas la endoscopia y pHmetría, pueden existir lesiones que pasarían desapercibidas si no se hubiese realizado el estudio histológico, con el riesgo que a largo plazo puede llevar una lesión del esófago. La realización conjunta de estas tres pruebas es sostenida por numerosos autores (121 - 125).

(b) Comportamiento de los ácidos biliares. El análisis para comparar el perfil de los ácidos biliares de l grupo de RGE fué el siguiente:

b.1. Reflujo gastroesofágico y recién nacidos: los valores medios de: SBT: 200,51 y 80,07, TC: 37,21 y 13,89, TQDC + TDC: 54,93 y 14,76, GC: 51, 64 y 16,04, GQDC+GDC: 42,63 y 23,39, C: 6,53 y 5,20, QDC: 5,13 y 4,20, cociente GLI/TAU:1,24 y 1,19 fueron diferentes. (Tablas III y VIII).

No obstante no encontramos diferencias significativas en el estudio estadístico global ni por parejas, pero aplicando el test robusto, se pudo apreciar una diferencia de medias en el límite de decisión para el ácido cólico. Esto indica que existe una mayor síntesis hepática de este ácido, que es el que se encuentra en mayor cantidad en la composición de la bilis. Este hecho lo hemos corfirmado en el recién nacido donde las correlaciones entre el ácido cólico y el quenodeoxicólico son más significativas, demostrándose al mismo tiempo, que la síntesis del ácido cólico es un 25 % superior a la del ácido quenodeoxicólico que suele aumentar en una proporción de 1 mol por 1,25 de ácido cólico.

b.2. Reflujo gastroesofágico y niños de 1 a 14 años: cuantitativamente eran mayores los valores medios en el reflujo en: SBT:200,51 y 76,50, TC:37,28 y 14,43, TQDC + TDC: 51,64 y 10,72, QDC: 54,93 y 5,30, DC: 42,63 y 14,76. Y cociente triOH/diOH: 0,96 y 0,89.(Tablas V y VIII).

En el estudio estadístico cuando se aplicaba el test robusto se observó que se acentuaba la diferencia en las SBT (Apéndices A y B), (gráfica 9-A), que es el elemento diferenciador por excelencia entre estos dos grupos. Aparecían además como nuevas variables diferenciadoras: TC y TQDC + TDC, este último en el límite de decisión y distinguiendo muy bien el cociente GLI/TAU.

Estos resultados confirman las teorías de Kivilaakso y Salo (105, 106), que dicen se pueden dar en el reflujo gastroesofágico dos situaciones, que dependen de la concentración total de las sales biliares y sus derivados y del pH intraluminal. Cuando el pH intraluminal es inferior a 3.5, los ácidos biliares conjugados con taurina, la pepsina y en menor grado la lecitina, serían los responsables del daño de la mucosa.

Por el contrario, si el pH está situado alrededor de 7.4, la tripsina y las sales biliares deconjugadas, cólico, quenodeoxicólico y deoxicólico, son las que producen el daño de la mucosa. A pesar de esta sugestiva teoría Harmond (104) es de la opinión de que los tauroconjugados pueden alterar la mucosa cuándo el pH intraluminal es inferior a 3 o cercano a 7.

Nuestros resultados concuerdan con estas hipótesis por que se dan los dos condicionantes: un pH inferior a 3.5 y una mayor concentración de SBT, TC y TQDC + TDC, que indudablemente serían los responsables

de las lesiones de la mucosa esofágica, explicando por otra parte, porqué aparecen más lesiones histológicas que endoscópicas en este tipo de pacientes. A la vista de estos resultados me atrevo a proponer que al tiempo que se realiza una endoscopia con biopsia para estudio histológico, se realice una cuantificación de las sales biliares y sus fracciones con la finalidad de poder correlacionar las lesiones con el posible factor etiológico.

Mención especial merece el análisis del ácido cólico, que con cifras medias elevadas, 42,63, tiene un efecto muy nocivo sobre las membranas de las células de la mucosa (106), aunque todavía existen dudas acerca de su mecanismo de acción.

En el perfil de los ácidos biliares observamos que existe una disminución del ácido cólico en relación con el deoxicólico, 2,00 y 42,63. La explicación que podemos dar a este hallazgo, es que la flora intestinal debe estar mejor establecida y parte del ácido cólico, que se sintetiza en el hígado, pasa por la bilis al intestino, donde es degradado por la flora intestinal y se reabsorbe en forma de ácido deoxicólico, y como el pool de los ácidos biliares tiene una concentración constante en moles, aumentos de concentración del deoxicólico se producen a expensas de disminuir la del ácido cólico.

b.3. Gastritis y úlcera duodenal. Globalmente no encontramos diferencias entre estos dos grupos, sin embargo, en el análisis de correlación esta era significativa entre los ácidos QDC y DC, en la gástritis, no siendolo en la úlcera duodenal. No encontramos explicación para este hallazgo, lo que queda como un problema para investigar en el futuro.

A.3. Úlcera duodenal.

(a) Aspectos clínicos. Los síntomas que presentaron nuestros enfermos: dolor abdominal de localización en epigástrico, vómitos, pirosis, hematemesis y melena (tabla X a) no difiere sustancialmente de otros trabajos que se han ocupado del tema (126, 127, 128,).

También se puso de manifiesto que todos tenían una hipersecreción ácida: BAO: 0,095 y MAO: 0,527 mEq/k/h, con valores superiores a los considerados como normales (129 - 131), así como una hiperpepsinogenemia I: 102,9 y una hipergastrinemia en ayunas: 154,2.(Tabla X b).

Los valores de la MAO en la úlcera duodenal de los niños, para algunos suele estar aumentada en un 65 % de los casos, en nuestro caso se apreció en el 100 %. También han sido descritas amplias oscilaciones en las elevaciones del pepsinogeno I, variaciones que van desde un 42 %, 65 % y 77 % (130, 132). En todos nuestros enfermos estaba elevado, con la gastrina ocurre lo mismo. La elevación del pepsinogeno I es el factor desencadenante del estado de hipersecreción ácida y de la hipargastrinemia.

Los escasos hallazgos radiológicos y la elevada positividad de los estudios fibroendoscópicos (tabla X c), confirman que esta última exploración es más específica y de mayor utilidad para el diagnóstico de la úlcera duodenal.

(b) Comportamiento de los ácidos biliares y sus derivados. (Tabla XI). Globalmente las cifras medias de los ABT: 208,93, TC: 41,71, TQDC + TDC: 56,17, QDC: 57,64 y DC: 88,17, estaban más elevadas

en este grupo que en los cuatro restantes. El análisis estadístico grupo a grupo nos permite hacer las siguientes matizaciones:

b.1. Úlcera duodenal y recién nacidos. Efectivamente existen diferencias en medias para SBT: 208,93 y 80,07, TC:41,71 y 13,89; GC: 11,51 y 16,04; C:2,20 y 5,20; DC: 88,14 y 3,14 y TQDC +TDC: 56,17 y 14,76; pero cuando se aplicó el test robusto, desaparecían estas diferencias para las SBT (Apéndices A y B) y disminuía en el C (Apéndices A y B),(gráfica 11 A). Por el contrario, se acentuaba la diferencia para TC, TQDC + TDC, GC y DC (Apéndices A y B), (Gráfica 11 B, C, D, E).

b.2. Úlcera duodenal y niños de 1 a 14 años. La diferencia de medias es superponible a las encontradas en el grupo anterior para: SBT:208,93 y 76,50; TC: 41,71 y 14,83; TQDC + TDC: 56,17 y 10,72; QDC: 57,64 y 5,30 y DC: 88,14 y 14,76. Estas diferencias se acentuaron cuando se aplicó el test robusto para: SBT, TC, TQDC + TDC, GC y cociente GLI/TAU (Apéndices A y B), (Gráfica 12 A, B, E, G).

El marcado predominio de las sales biliares totales y de los conjugados con taurina, que claramente se reflejan en el cociente GLI/TAU, difieren bastante de lo descrito hasta el momento en la literatura que afirman que en la úlcera duodenal las SBT prácticamente se encuentran en concentraciones similares a los controles (92), con amplias oscilaciones individuales sin significaciones llamativas (133) e incluso en algunos casos estaban disminuidas (113), en franca discrepancia con los hallazgos de Naesdal (134) que encontró un aumento de las SBT en el contenido gástrico después de la

administración de omeprazol, inhibidor de la secreción de hidrogeniones, lo que difiere notablemente con nuestros resultados.

También encontramos que en la úlcera duodenal existía una correlación significativa entre los ácidos cólico: quenodeoxicólico y el cólico : deoxicólico.

A la vista de estos hallazgos, no cabe duda que en la patogénesis de la úlcera duodenal, las sales biliares deben tener un papel más relevante que el que se les ha estado dando máxime si, como se aprecia en nuestro estudio, lo que predominan son las sales biliares conjugadas con taurina.. Es bien conocido que la pKa de los tauroconjugados es de 1,9, y que con pH inferior a 3.5 tienen una mayor capacidad de ionización y de atravesar con más facilidad la membrana celular y llegar a la mucosa.

Una explicación parecida puede darse al aumento del ácido deoxicólico, que por poseer un grupo hidroxilo menos que el ácido cólico, es más lipofílico y por lo tanto penetra con más facilidad através de la porción lipídica de la membrana.

La justificación que puede darse a la correlación significativa entre C y QDC quizá esté en relación con la inflamación a nivel del bulbo duodenal que condicionaría un mayor reflujo de bilis hacia el estómago. Este aumento del reflujo repercutiría en la circulación enterohepática de las sales biliares, que posiblemente sea defectuosa, ya que gran parte de los ácidos refluyen al estómago y por lo tanto no lleguen al ileon.

A.4. Gastritis .

(a) Aspectos clínicos. El dolor abdominal se presentó como síntoma predominante en el 100% de nuestros pacientes. Los hallazgos fibroendoscópicos demostraron en un 50 % signos inflamatorios moderados, severos en el 20% y sin hallazgos en un 30 %. Los estudios histológicos fueron positivos en un 88 %, de los cuales el 33% correspondían a gastritis agudas y 55 % a crónicas con diferentes grados de actividad. (Tabla XIII a y b). Estos resultados son superponibles a los descritos por Ortiz y cols. (135).

(b) Comportamiento de los ácidos biliares y derivados. Comparando los valores medios de los ácidos biliares y sus fracciones (tabla XII), en un análisis global y por parejas de grupos encontramos:

b.1. Gastritis y recién nacidos. Una diferencia de medias para: SBT: 118,78 y 80,07; TC: 17,43 y 13,89; TQDC + TDC: 37,14 y 14,76; QDC: 15,07 y 4,20; DC: 32,73 y 3,14; triOH/diOH:1,18 y 1,01; GLI/TAU: 2,29 y 1,19. Aplicando el test robusto aparece como elemento diferenciador el DC, que a pesar de tener varianzas iguales proporcionan medias diferentes.

b.2. Gastritis y niños de 1 a 14 años. Los hallazgos en el aumento de medias son similares a los de los grupos precedentes para: SBT: 118,78 y 76,50; TC: 17,43 Y 14,43; TQDC + TDC: 37,14 Y 10,72; QDC: 15,07 Y 5,30; DC: 32,73 Y 14,76; triOH/diOH: 1,18 y 0,89. En el análisis simple destaca la elevación de medias de TQDC + TDC y al aplicar el test robusto aparece como nuevo elemento diferenciador el cociente GLI/TAU.

b.3. Gastritis y reflujo gastroesofágico. Existe un moderado aumento de medias de GC: 9,69 y 6,53; y cociente GLI/TAU: 2,29 y 1,24.

b.4. Gastritis y úlcera duodenal. Se observa un moderado aumento de medias de los cocientes GLI/TAU: 2,29 y 1,46; triOH/diOH: 1,18 y 0,90.

El análisis que podemos hacer de estos resultados es el siguiente:

- 1) El elemento diferenciador con los 4 grupos es el cociente GLI/TAU que refleja un predominio de los conjugados con taurina: TC y TQDC + TDC, cuando se comparan los resultados con el grupo de niños de 1 a 14 años considerado como controles.
- 2) La presencia de ácidos no conjugados: cólico y deoxicólico.

Es bien conocido desde los trabajos de Harmond (84), que el comportamiento de los ácidos y sales biliares en su acción sobre las mucosas, es diferente para cada uno de ellos en función de dos factores: el pH intraluminal y su constante de disociación pKa, lo que condiciona que unas veces se ionicen y otras precipiten. En el primer supuesto, serían altamente perjudiciales para las mucosas, mientras no lo son el segundo. Por lo tanto, aquellas sales biliares que tengan una pKa baja, 1,9, TC y TDC a pH inferior a 3,5, ionizan con facilidad liberando gran cantidad de hidrogeniones que atacarán fácilmente las membranas celulares. También se ha podido demostrar (84) que el ácido deoxicólico, que tiene un grupo hidroxilo menos que el ácido cólico, tiene un alto efecto lipofílico y es muy tóxico cuando está libre (136).

De manera similar se ha demostrado que los ácidos deoxicólico y cólico a concentraciones mayores de 5 mM y con pH 2 o pH 7, pueden

tener efectos citotóxicos similares a los descritos para el TC que genera un mayor flujo de hidrogeniones que el TDC.

Recientemente se ha demostrado (107) que algunos ácidos biliares, cólico y deoxicólico, aumentan la permeabilidad de las membranas de las células epiteliales del estómago para los iones H^+ a pH 7 más que a pH 2, lo que viene a confirmar la importancia del reflujo alcalino en la patogénesis del grado de gastritis, en estrecha relación con su concentración y el pH intraluminal.

B. ANALISIS DE REGRESION LINEAL Y CORRELACION.

1. Análisis global.

En la tabla XV, puede verse que existe una correlación significativa de las variables estudiadas. Sin embargo, esto debe interpretarse con prudencia por los valores negativos de algunos grupos, como pudimos comprobar en el análisis por grupos.

Fue significativa la correlación entre C y QDC en los recién nacidos, grupo 1 y en la úlcera duodenal, grupo 4.

En el primer caso, pone de manifiesto el funcionamiento de la síntesis hepática de estos dos ácidos primarios que son constituyentes habituales de la bilis. Por otra parte, en el recién nacido, es más manifiesta la correlación entre los ácidos: cólico y quenodeoxicólico.

En el caso de la úlcera duodenal, el aumento del material refluido desde el duodeno, consecuencia de la inflamación a nivel del bulbo duodenal, permite que se detecten estos ácidos en mayor cuantía en el estómago.

La correlación QDC : DC fué significativa en el grupo 3,(reflujo gastroesofágico) y en el grupo 5 (gastritis). (Tabla XVI).

En el caso del reflujo gastroesofágico es posible que pueda existir una relación entre la mayor concentración de conjugados con taurina, TC y TQDC + TDC, que como ya se explicó, son responsables de la desnaturalización del moco y del daño de la célula del epitelio daño que permitiría una mayor difusión no solo de iones H+, sino también de ácido cólico (2). Otra probable explicación (4), puede estar relacionada con una contaminación por bacterias o un factor químico, que metabolizan o degradan el ácido cólico. La consecuencia final de las dos hipótesis es una disminución del ácido cólico a favor del deoxicólico lo que explicaría el aumento del DC y una buena correlación entre los dos ácidos.

En la gastritis, el comportamiento es muy parecido al de los sujetos normales: el reflujo biliar es de escasa cuantía y como en la bilis hay más deoxicólico y menos cólico, no es extraño que exista una buena correlación entre estos dos ácidos: QDC y DC.

Fuó significativa la correlación entre los ácidos C y DC en los grupos 2, 3 y 4 (niños normales de 1 a 14 años, reflujo gastroesofágico y úlcera duodenal).

Esto solo viene a confirmar que la flora intestinal en los tres grupos está perfectamente implantada y es capaz de sintetizar el deoxicólico en el intestino a partir del ácido cólico (7,12,15).

CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos de este trabajo se pueden sacar las siguientes conclusiones:

1- SBT. Las sales biliares totales estaban aumentadas en el residuo gástrico en ayunas en la úlcera duodenal, reflujo gastroesofágico y en la gastritis. No encontramos diferencias entre los recién nacidos y los niños de 1 a 14 años.

2- CONJUGADOS CON TAURINA (TC Y TQDC + TDC). Estaban muy aumentados en la úlcera duodenal y en el reflujo gastroesofágico, este aumento era menos manifiesto en la gastritis. Las concentraciones prácticamente fueron iguales en los recién nacidos y en los niños de 1 a 14 años.

3- CONJUGADOS CON GLICINA (GC Y GQDC + GDC). Los recién nacidos tenían concentraciones similares a las de los niños de 1 a 14 años. Detectamos una mayor concentración en la úlcera duodenal y en la gastritis. En la úlcera las concentraciones era unas 4 veces mayores a las del grupo control y en la gastritis dos veces. En el reflujo gastroesofágico fueron muy bajas las concentraciones.

4- C. El ácido cólico lo encontramos en mayor cantidad en la úlcera duodenal y en la gastritis.

5- QDC. En el reflujo gastroesofágico detectamos los niveles más elevados de este ácido biliar no conjugado. En la úlcera duodenal existía un moderado aumento.

6- DC. Este ácido secundario, que se sintetiza en el intestino por la flora intestinal, estaba muy disminuido en los recién nacidos, encontrándose cifras más altas en los niños de 1 a 14 años y en el

reflujo gastroesofágico. La úlcera duodenal y la gastritis tenían cifras inferiores a las del grupo control (1 a 14 años).

7- COCIENTE diOH / triOH. Este parámetro no tuvo ninguna significación en los grupos estudiados, siendo en todos los grupos análogos los valores.

8- COCIENTE GLI / TAU. El factor discriminante por excelencia y que estaba presente en todos los grupos estudiados ha sido este cociente.

9- CORRELACION C : QDC. Encontramos una fuerte correlación entre estas dos variables en los recién nacidos y en la úlcera duodenal.

10- CORRELACION QDC : DC. Existe una fuerte correlación entre estas dos variables en el reflujo gastroesofágico y en la gastritis.

11- CORRELACION C : DC. Fué positiva la correlación en el grupo de niños de 1 a 14 años (grupo control).

RESUMEN.

Del análisis de todos los resultados podemos hacer el siguiente resumen:

1- El factor discriminante más importante y que estuvo presente en todos los grupos estudiados ha sido el cociente GLI/TAU.

2- Recién nacidos

En los recién nacidos el papel de los ácidos biliares y sus fracciones tienen un patrón similar al del adulto, predominio de conjugados con glicina. En este grupo, el ácido biliar no conjugado predominante fué el ácido deoxicólico, lo que indica una inadecuada 7 a dehidroxilación debida a una escasa implantación de la flora intestinal en este periodo de la vida.

3- Niños de 1 a 14 años

En este grupo el perfil de los ácidos biliares y sus derivados es en todo superponible al de los adultos: predominio de los conjugados con glicina y un ascenso manifiesto del ácido secundario deoxicólico, demostrando que se ha alcanzado una maduración de la 7 a dehidroxilación por existir una flora intestinal estable.

Existe una fuerte correlación entre los ácidos cólico y deoxicólico demostrando, que de manera parecida a lo que acontece en los adultos, la síntesis del ácido cólico es 3 veces superior.

4- Reflujo gastroesofágico.

Las SBT son un factor discriminante en el grupo de niños de 1 a 14 años, por lo que pueden ser consideradas como un factor nocivo para la mucosa del esófago.

Existe una fuerte correlación entre el pH intraluminal y el grado de patogenicidad de las sales biliares: los conjugados con taurina (TC y TQDC + TDC) son más nocivos cuándo el pH es igual o inferior a 3.5. Con este pH también son nocivas la pepsina y lecitina. Por el contrario, cuándo el pH intraluminal es igual o superior a 7.0, los conjugados con glicina (GC y GQDC + GDC), suelen ser más dañinos, así como los ácidos no conjugados: cólico, quenodeoxicólico y deoxicólico.

Así mismo es llamativa la correlación que existe entre los ácidos quenodeoxicólico y deoxicólico, con incrementos del QDC de unas dos veces y media más que el DC, lo que consolida la teoría anterior.

Las lesiones producidas por los ácidos y sales biliares se ponen de manifiesto por los estudios histológicos, que siempre deben realizarse en estos enfermos, muchos de ellos con estudio endoscópico y monitorización del pH negativos.

5- Úlcera duodenal

La hiperpepsinogenemia I puede considerarse un marcador subclínico de hipersecreción que se expresa por valores elevados de secreción ácida basal y después de una estimulación (BAO y MAO), así como por niveles elevados de gastrina en ayunas.

La fibrogastroscofia es el estudio más específico para el diagnóstico de la úlcera duodenal.

Existe en estos pacientes un aumento en el residuo gástrico en ayunas de SBT y de los conjugados con taurina (TC y TQDC + TDC), siendo un parámetro muy diferenciador el cociente GLI/TAU.

En la úlcera duodenal existe una correlación significativa entre los ácidos cólico : quenodeoxicólico y cólico : deoxicólico, con incrementos muy importantes del cólico de unas 4 veces más, lo que debe tenerse en cuenta para hacer una valoración de la presencia de estos ácidos en el residuo gástrico.

Esto nos permite afirmar, que contrariamente a lo que hasta el momento se ha estado propugnando, las sales biliares totales y especialmente los tauroconjugados deben tener un papel muy importante en la producción de las lesiones de la mucosa duodenal, por lo que recomendamos se incluya en el estudio de los pacientes con úlcera duodenal, la cuantificación de las sales biliares y sus derivados.

6- Gastritis.

El estudio histológico debe ser un complemento de la fibrogastroscoopia, debido al elevado índice de positividad que encontramos en enfermos que tenían endoscopias negativas y también para valorar el grado de actividad de la gastritis.

Existe en estos pacientes una elevación de las SBT y de los conjugados con taurina (TQDC + TDC), que se pone de manifiesto por la elevación del cociente GLI/TAU que es un elemento muy diferenciador.

Los tauroconjugados son altamente nocivos para las células epiteliales por tener una constante de disociación baja, 1.9, que unido a un pH bajo en la luz gástrica de 1.5, permiten una mayor ionización de los ácidos biliares con cuantiosa liberación de iones H⁺, que son los que finalmente atacan las células de la mucosa.

El ácido taurocólico libera mayor cantidad de hidrogeniones que el ácido taurodeoxicólico.

Las concentraciones de ácidos no conjugados, cólico y deoxicólico, superiores a 5 mM y con pH de 2 o 7, tienen efectos citotóxicos similares a los descritos para los tauroconjugados, lo que viene a confirmar que el reflujo alcalino tiene una gran importancia en la patogénesis de la gastritis.

7- Nuestros hallazgos son superponibles a los descritos en los enfermos adultos para el reflujo gastroesofágico y la gastritis. Sin embargo, difieren en el caso de la úlcera duodenal.

8- Nos proponemos continuar profundizando en el estudio de los ácidos biliares totales y sus derivados como rutina en estas enfermedades y poder valorar con un número mayor de pacientes, si los actuales resultados se mantienen o si se detectan otros parámetros que puedan ser útiles, tal es el caso de la valoración del pool total de las sales biliares o en particular de los ácidos no conjugados: cólico, deoxicólico y quenodeoxicólico.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1- Javitt NB. Haptic bile formation. *New Engl J Med* 1976; 295: 1464 - 69.
- 2- Jenkins MJ, Billing B. Fisiología del Hígado. En: *Gastroenterologia Bockus*, 4a ed, vol V. editado por Berk JE, Haubrich WS, Kalser MH, Roth JL, Schaffner F. Barcelona: Salvat, 1987: pgs: 2917-48.
- 3- Labadie P. Les sels Biliares .*Rev du Pract* 1972; 22: 3449-64.
- 4- Palmer RS. Bile salts and the liver. En: *Progress in Liver Disease*, Vol VII, editado por Popper H, Schaffner F. Grune & Stratton, New York, 1982; pags: 233-53.
- 5- Danielson H, Sjovall J. Bile Acid metabolism *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 233-53.
- 6- Carey MC and Small DM. The characteristics of mixed micellar solutions with particular reference to bile. *Am J Med* 1970; 49: 590 - 608.
- 7- Rautureau MM, Rauturea J. Les Acides et les Sels Biliares. *Arch Fr Mald App Digest* 1971; 60: 445-6.
- 8- Erlinger S and Dhumeaux D. Mechanisms and control of secretion of bile-water and electrolytes. *Gastroenterology* 1974; 66: 281 - 304.
- 9- Boyer JJ, Bloomer JR,. Canalicular bile secretion in man. Studies utilizing the biliary clearance of (14C) manitol. *J Clin Invest* 1977; 54: 773 - 81.

10-Heaton KW. BileSalts. En: Healt and Disease. ChurchillLivingstone, Edimburg,1972,pags: 14-23.

11- Gorin JP, Souciet G. Les Acides Biliaires. Nouv Press Med 1972; 1: 1425-30.

12- Einarsson K, Hellstrom K and Kallner M. Feedback regulation of bile acid formation in man. Metabolism 1973; 22: 1477 - 83.

13- Shefer S, Hauser S, Bekersky I and Mosbach EH. Feedback regulation of bile acid biosynthesis in the rat. J Lip Res 1969; 10: 646 - 55.

14- Kubasck WM, Gurley EC, Hylemon PB, Guzelian PS and Vlahcenic ZC.,Absence of negative feedback control of bile acid biosynthesis in cultured rat hepatocytes.J Biol Chem 1985; 260: 13459 - 63.

15- Bojorkhem I, Danielsson H. Biosynthesis and metabolism of bile acids in man. En: progress in liver Diseases, editado por Hans Popper, Fenton Chaffer. Grune & Stratton, New York,1976: pags: 215 - 33.

16- Paumgartner G. Bile acids. Saunders Company, London W B,1977;pag: 250.

17- Einarsson K, Angelin B, Ewerth S, Nilsell K and Bjorkhem. Bile acid syntesis in man: assay of hepatic microsomal cholesterol7a - hydroxylase activity by isotope dilution mass spectrofotometry. J Lip Res 1986; 27: 82 - 8.

18- Dive C, Heremans JF. Nature and origen of proteins of bile. I. A comparative analysis of serum bile proteins in man. Eur J Clin Invest 1974; 4: 235.

19- Bjorkhem I. Mechanistic aspects on the different steps in bile acid biosynthesis. En: Bile Acids and the liver. Falk Symposia, editado por: Paumgartner G, Stiehl A, Gerck W. Lancaster, MTP Press, Basel, Switzerland, 1986, pp: 3 - 12.

20- Davis RA, Musso Ca and Lattier GR. Regulation of bile acid synthesis by microsomal cholesterol. En: Enterohepatic circulation of Bile Acid and Sterols Metabolism. Editado por: Paumgartner G, Stiehl A, and Gerok W, Lancaster, MTP Press, 1985: pp: 37 - 45.

21- Redinger RN and Grace DM. Specificity and interrelation of bile acids on bile acid synthesis in the baboon. *Gastroenterology* 1977; 72: A-141.

22- Heaton KW. Bile Salts. En: Liver and Biliary Disease. Pathology. Diagnosis. Management. Editado por: Wraight R, Alberti KGMM, Karran S, Millward GH, Leri SAD, WB Saunders, London, 1979, pp: 233-54.

23.- Lester R, Pyrek JS, Little JM, Adcock EW. What is meant by the term bile acid ?. *Am J Physiol* 1983; 244: G 107-10.

24- Mosbach EH. Hepatic Synthesis of Bile Acids. *Arch Intern Med* 1972; 130: 478 - 87.

25- Parmentier GG, Janssen GA, Eggermont EA, Eyssen HJ. C27 bile acids in infants with coprostanic acidemia and occurrence of 3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -C29 dicarboxylic acid as major component in their serum. *Eur J Biochem* 1979; 102: 173-83.

26- Clayton PT, Leonard LV, Lawson AM, Setchell KAR, Anderson S, Egestand B, Sjoval J. Giant cell hepatitis: familial form with formation of 3b,7a-dihydroxy and 3b,7a,12a-trihydroxy-5-cholenoic acids. *J Clin Invest* 1987; 79: 1031-8.

27- Goto J, Kato H, Nambara T. Separation of monosulfated bile acids by high performance liquid chromatography. *J Liq Chromatogr* 1980; 3: 645-55.

28- Eyssen H, Parmentier G, Compennolle F, Boon J and Eggermont E. Trihydroxy coprostanic acid in the duodenal fluid of two children with intrahepatic bile duct anomalies. *Biochem Bioph Act* 1972; 273: 212 - 22.

29- Hanson RR, Iseberg JN, Williams GC, Hachey D, Szczepanik P, Klein PD and Sharp HL. The metabolism of 3a, 7a, 12a- trihydroxy -5B-cholesta 26-oic acid in two siblings with neonatal cholestatic liver disease: an apparent inborn error of cholic acid synthesis. *J Clin Invest* 1975; 56: 577 - 87.

30- Pyrek J, Sterzycki R, Lester R, Adcock E. Constituents of human meconium II. Identification on steroidal acids with 21 and 22 carbon atoms. *Lipids* 1982; 17: 241 - 9.

31- Hofmann AF. La circulación enterohepática de los ácidos biliares en el hombre. En: *Acidos biliares. Clinica Gastroenterológica* 4/3, Salvat Editores, Barcelona, 1978, paginas: 1 - 24.

32- Vlahcevic ZR, Schwartz CC, Gustafsson J, Halloran LG, Danielsson H and Swell L. Biosynthesis of bile acids in man. Multiple pathways to cholic acid and chenodeoxycholic acid. *J Biol Chem* 1980; 255: 2925 - 33.

33- Anderson KE, Kok E and Javitt NB. Bile Acids synthesis in man: metabolism of 7 α hidroxycholesterol-14-C and 26 hidroxycholesterol-3H. *J Clin Invest* 1972; 51: 112 - 17.

34- Ekdamil PH., Bemmike T. On the conjugation of bile acids in the human liver. *Acta Chir Scand* 1958; 115: 203 - 9

35- Schersten T. The synthesis of cholic acid conjugates in human liver *Acta Chir Scand* 1967; suppl 3: 373 - 81.

36- Nair PP, Gordon M and Reback J. The enzymatic cleavage of the carbon nitrogen bond in 3 α ,7 α ,12 α trihydroxy-5 β -cholan-24-oylglycine. *J Biol Chem* 1967; 242: 7 - 11.

37- Garbutt J, Heaton KW, Lack L and Tyor MP. Increased ratio of glycine to taurine-conjugated bile salts in patientes with ileal disorders. *Gastroenterology* 1969; 56: 711 - 20.

38- McLeod MG and Wiggins HS. Bile salts in small intestinal contents after ileal resection and in other malabsorption syndroms. *Lancet* 1968; 1: 873 - 76.

39- Sjovall J. Bile Acids in man under normal and pathological conditions. *Clin Chem Acta* 1960; 5: 33 - 41.

40- Vlahcevic ZR, Miller JR, Farrar JT and Swell L. Kinetics and pool size of primary bile acid in man. *Gastroenterology* 1971; 61: 85 - 90.

41- Mosbach EH. Hepatic syntesis of Bile Acids. *Arch Intern Med* 1972; 130: 478 - 87.

- 42- Danielsson H., Sjovell J. Bile acid metabolism. *Rev Biochem* 1975; 44: 233 - 53.
- 43- Elliot WH, Hyde PM. Metabolic Pathways of bile Acid Synthesis. *Am J Med* 1971; 51: 568-79.
- 44- Mosbach EH, Salem G. Bile Acid Biosynthesis. Pathways and Regulation. *Digest Dis* 1974; 19: 920- 9.
- 45- Einarsson K, Angelin B, Ewerth S, Nilseel K, and Bjorkhem I. Bile Acid synthesis in man. Assay o hepatic microsomal cholesterol 7 α -hydroxylase activity by isotope dilution mass spectrometry. *J Lip Res* 1986; 27: 82 - 8.
- 46- Lester R, Pyrek JS. Diversity of Bile Acids in the Fetus and Newborn Infant. *J Pediatr Gastroent Nutr* 1982; 2: 355 - 64.
- 47- Shefer S., Hauser S., Mosbach EH. Stimulation of cholesterol 7 a hidroxilasa by phenobarbital in two strain of rats *J Lip Res* 1972; 13: 69 - 70.
- 48- Anderson KE., Kok E., Javitt NB. Bile acid sinthesis in man. Metabolism of 7 a hidroxysterol 14 - C and 26 a hidroxysterol. *J Clin Invest* 1972; 51: 112 - 17.
- 49- Eynarsson K. On the properties of the 12 hidroxilase in cholic acid biosynthesis. *Europ J Biochem* 1968; 5: 101 - 8.
- 50- Crommholm T, Johansson G. Oxidation of 5 b cholestane 3 a 7 a 12 a triol by rat liver microsomes. *Eur J Biochem* 1970; 16: 373 - 81.

51- Schefer S, Cheng FW, Dayal B, Hauser S, Tint GS, Salem G and Mosbach EH. A 25- hidroxylation pathway of cholic acid biosynthesis in man and rat. *J Clin Invest* 1976; 57: 897 - 903.

52- Bjorkhem I., Danielsson H. Biosynthesis and metabolism of bile acids in man. En: *Progress in Liver Diseases*, editado por Popper.H., Chaffer F., Grune - Stratton , NewYork, 1976; pgs: 215 - 33.

53- Diettschhy JM. Symposium of Bile Acids. *Arch Intern Med* 1972; 130: 473 - 8.

54- Berge-Henegouwen GP and Hofmann AF. Pharmacology of chenodeoxycholic acid II. Absorption and metabolism. *Gastroenterology* 1977; 73: 300 - 9.

55- Molino G. Current Knowledge and theory in chenodeoxycholic Acid liver uptake. En: *Recente advances in Bile Acid research*, editado por Barbara L, Dowling RH, Hoffmann AF, Roda E. Raven Press, New York, 1985; pgs: 43 - 48.

56- Erlinger S. Hepatic Trnasport of Bile Acids. Intracellular events. En : *Recent advances In Bile Acid Research*, editado por Barbara L,Dowling RH, Hoffmann AF, Roda E. Raven Press, New York 1985: pgs: 5-9.

57- Lewis R, Gorbach S. Modification of bile acid by intestinal bacteria. *Arch Inter Med* 1972; 13: 545 - 49.

58- Gobach SL, Tabaqchali S. Bactaeria, bile and small bowel. *Gut* 1072, 10: 963 - 72

59- O' Maille ERL, Richards TG and Short AH. The influence of conjugation of cholic acid on its uptake and secretion: hepatic extraction of taurocholate and cholate in the dog. *J Physiology* 1967; 189: 237 - 50.

60- Pomare EW and Low-Beer TS. The selective inhibition of chenodeoxycholate synthesis by cholate metabolites in man. *Clin Sc Mol Med* 1975; 48: 315 - 21.

61- Hoffman AF. The Enterohepatic Circulation of Bile Acids in Health and Disease. En : *Gastrointestinal Disease. Pathophysiology. Diagnosis. Management. Fourth Edition*, editado por Sleisenger MH, Fordtran JS. WB Saunders, Philadelphia, 1989; pgs: 144 - 61.

62- Jenner RE, Howard ER. Unsaturated monohydroxy bile acids as cause of idiopathic obstructive cholangiopathy. *Lancet* 1975; 11: 1073.

63- Palmer RH. Bile Acids, Liver Injury and liver Disease., *Arch Intern Med* 1972; 130: 606 - 17.

64- Barbara L, Festi D, Bazzoli F, Aldini R, Roda A, Roda E. Serum Bile Acids as a Minor of the Enterohepatic Circulation. En: *Recent advances In Bile Acid research*, editado por Barbara L, Dowling RH, Hoffmann AF, Roda E. Raven Press, New York, 1985; pgs: 29 - 31.

65- Hanson RI and Pries JM. Synthesis and enterohepatic circulation of the bile salts. *Gastroenterology* 1977; 73: 611 - 18.

66- Matern S and Gerog W. Pathophysiology of enterohepatic circulation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1979; 85: 126 - 204.

67- Little M, Smallwood RA, Lester R, Piasecki GP and Jackson BT. Bile salt metabolism in the primate in fetus. *Gastroenterology* 1975; 69: 1315 - 20.

68- Watkins JB and Perman JA. Bile acid metabolism in Infants and Children. *Clinics in Gastroenterology* 1977; 6: 201 - 18.

69- Watkins JB. Placental transport: Bile Acid conjugation and sulfation in the fetus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983; 2: 365 - 73.

70- Watkins JB, Szczepanik P and Klein PD. Sulfated bile acid conjugated in human fetal tissue. *Gastroenterology* 1976; 70: 996 - 8.

71-Heading RC. Leading article. Duodenogastric reflux. *Gut* 1983; 24: 507 - 9.

72- Muhammed I, Mc Loughlin GP, Holt S, Taylor TV. Non - invasive estimation of duodenogastric reflux using technetium-99m p-butyl- iminodiacetic acid. *Lancet* 1980; 2: 1162 - 5.

73- Rees WDW, Go VLW, Malagelada JR. Simultaneous measurement of antroduodenal motility, gastric emptying and duodenogastric reflux in man. *Gut* 1979; 20: 963 - 70.

74- Keane FB, Dimagno EP, Malagelada JR. Duodenogastric reflux in humans: its relationship to fasting antroduodenal motility and gastric, pancreatic and biliary secretion. *Gastroenterology* 1981; 81: 726 - 31.

75- Muller-Lissner SA, Fimmel CJ, Will N, Muller-Duysing W, Heinzl F, Blum AL. Effect of gastric and transpyloric tubes on gastric emptying and duodenogastric reflux . *Gastroenterology* 1982; 83: 1276- 9.

76- Capper WM, Airth GR, Kilby JO. A test for pyloric regurgitation and gastric ulcer. *Lancet* 1966; 2: 621 - 3.

77- Flint FJ, Greech P. Pyloric regurgitation and gastric ulcer. *Gut* 1970; 11: 735 - 7.

78- Muller-Lissner SA, Fimmel CJ, Sonnenberg A, Will N, Muller-Duysing W, Heinzel F, Blum AL. A novel approach to quantify duodenogastric reflux in healthy volunteers and in patients with Type I gastric ulcer. *Gut* 1983; 24: 510 - 8.

79- Hoare AM, Keighley MRB, Starkey B, Alexander-Williams J. Measurement of bile acids in fasting gastric aspirates: an objective test for bile reflux after gastric surgery. *Gut* 1978; 19: 166 - 9.

80- Richardson CHT. Gastric ulcer. En: *Gastrointestinal Disease. Pathophysiology. Diagnosis. Management.*, editado por Sleisenger MH, Fordtran JS, fourth edition. WB Saunders Company, Philadelphia, 1989; pg: 882.

81- Rhodes J . The Clinical significance of bile reflux. *Scand J Gastroent* 1981; 16 supp 67: 173 - 5.

82- Davenport HW. Effect of lysolecithin, digitonin and phospholipase A upon the dog's gastric mucosal barrier. *Gastroenterology* 1970; 59: 505 - 9.

83- Davenport HW. Destruction of the gastric mucosal barrier by detergents and urea. *Gastroenterology* 1968; 54: 175 - 81.

84- Harmod JW, Johnson LF and Maydonovitch CL. Effects of acid and Bile Salts on the rabbit Esophageal mucosa. *Dig Dis Sci* 1981; 26: 65 - 72.

85-Safaie SS, Den Besten L and Zike WL. Effect of bile salts on the ionic permeability of the esophageal mucosa and their role in the production of esophagitis. *Gastroenterology* 1975; 68: 728 - 33.

86- Chung RS, Johnson GM and Den Bensten L. Effect of sodium taurocholate and ethanol on hidrogen ion absorption in rabbit esophagus. *Am J Dig Dis* 1977; 22: 582 - 8.

87- Black RB, Hole D and Rhodes J. Bile damage to the gastric mucosal barrier: the influence of Ph and bile acid concentration. *Gastroenterology* 1971; 61: 178 - 84.

88- Black RB, Roberts G and Rhodes J. The effect of healing on bile reflux in gastric ulcer. *Gut* 1971; 12: 552 - 58.

89- Rydning A and Berstand A. Intra gastric bile acid concentration in healthy subjects and patients with gastric and duodenal ulcer and the influence of fiber enriched wheat bran in patients with gastric ulcer. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20: 801 - 4.

90- Dubowitz LM, Dubowitz V and Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the Newborn Infant. *J Pediatr* 1970; 77: 1.

91- De Meester TR, Johnson LF, Joseph GL, Toscano MS, Hall AW, Skinner DB. Patterns of Gastroesophageal reflux in health and disease. *Ann Surg* 1976; 184: 459 - 70.

92- Maratka Z. Terminologia, Definiciones y Criterios Diagnosticos en Endoscopia Digestiva. Edición en Español 1986. Merck Sharpa & dohme.

93- Whitehead R. Mucosal biopsy of gastrointestinal tract. Secod Edit. Mayor Problems in Pathology, vol 3, WB Saunders Company, Philadelphia 1979.

94- Codoceo R, Hernanz A, Gasalla R. Determinación enzimática de ácidos y sales biliares por cromatografía en capa fina. Rev Diag Biol 1980; 29: 345 - 52.

95- Gotthard R, Bodemar G, Tjadermo M, Tobiasson P, Walan A. High Gastric Bile Acid Concentration in Prepyloric Ulcer Patients. Scand J Gastroent 1985; 20: 439 - 46.

96- Calvo C, Ortiz P, Milos CR. Cuantificación de ácidos biliares y lisolecitina en úlceras gástricas y duodenales. Rev Med Chile 1983; 111: 247 - 50.

97- Clemencon GH, Fehr HF, Finger J. The Role of Bile Salts in Cysteamine-Induced Duodenal Ulcer in the Rat and the Ulceroprotective Property of Lysolecithin. Scand J Gastroent 1984; 19 Suppl 92: 116 - 20.

98- Thompson DG. Duodenogastric reflux: is there any progress ? Br Med J 1982; 284: 845 -6.

99- Kaye MD, Showalter JP. Pyloric incompetence in patients with symptomatic gastroesophageal reflux. J Clin Med 1974; 83: 198 - 206.

100- Schweitzer EJ, Bass BL, Batzri S, Harmond JM. Bile Acid accumulation by Rabbit Esophageal mucosa. Dig Dis Sci 1986; 31: 1103 - 13.

101- Mittal RK, Reuben A, Whitney JO, McCallum RW. Do bile acids reflux into the esophagus? A study in normal subjects and patients with gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1987; 92: 371 - 5.

102- Velasco N, Hill L, Gannan R, Pope IIC. Gastric emptying and gastroesophageal reflux. Effects of surgery and correlation with esophageal motor function. *Am J Surg* 1982; 144: 58 - 62.

103- Hollinger A, Ammann R, Sialer G, Pellika R. Quantitative Assessment of Duodenogastric Reflux. After Vagotomy With or Without Pyloroplasty-A Clinical Investigation. *Scand J Gastroent* 1981;16 suppl 67: 55 - 7.

104- Papazian A, Minaire Y, Lambert R, Moulinier B. Esophageal Bile Reflux After Gastric Surgery. *Scand J Gastroenterol* 1981; 16, suppl 67: 177.

105- Kivilaakso E, Fromm D, Silen W. Effect of Bile Salts and Related Compounds on Esophageal Mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1981; 16, Suppl, 67: 119 -21.

106- Salo JA, Kivilaakso E. Role of bile salts and trypsin in the pathogenesis of experimental alkaline esophagitis. *Surgery* 1983; 93: 525 - 32.

107- Ivey KJ. Bile Salt Induced back diffusion of hydrogen ions across gastric mucosa in man. Fact or Fiction. *Scand J Gastroent* 1981,16 suppl 67: 75 - 8.

108- Harmond JW, Doong T and Gadacz R. Bile acids are not equally damaging to the gastric mucosa. *Surgery* 1978; 84: 79 - 86.

109- Cherli R, Giacosa A, Molinari F. Chronic Atrophy Gastritis and Duodenogastric Reflux. *Scand J Gastroent* 1981, 16 suppl 67:125-7.

110- Emmanouilidis A, Nicolopoulou-Stamati P, Manouso O. The histologic Pattern of bile gastritis. *Gastrointestinal Endoscopy* 1984; 30: 179 - 82.

111- Graffner H, Floren CH, Nilsson A. Conjugated Bile Salts in Gastric Aspirates after Gastric Resection. *Scand J Gastroent* 1984; 19: 116 - 18.

112- Ehrlein HJ. Retroperistaltism and Duodenogastric Reflux in Dogs. *Scand J Gastroent* 1981; 16 Suppl 67: 29 -32.

113- Strom M, Bodemar G, Gotthard R, Walan A. Duodenal, prepyloric, and combined duodenal / prepyloric ulcer disease: three distinct entities of juxtapyloric ulcer disease ? *Scand J Gastroenterol* 1986; 21: 1105 - 10.

114- Gotthard R, Strom M, Sjodahl R, Walen A. 24-h study of gastric acidity and bile acid concentration after parietal cell vagotomy. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21: 503 - 8

115- Connor HJ, Dixon MF, Wyatt JI, Axon AT, Ward DC. Effect of duodenal ulcer surgery and enterogastric reflux on *Campylobacter pyloridis*. *Lancet* 1986; 2: 1178 - 81

116- O Connor HJ, Wyatt JI, Ward DC, Dixon MF, Dewar EP, Johnston D. Effect of Duodenal Ulcer Surgery and Enterogastric Reflux on *Campylobacter Pyloridis*. *Lancet* 1986, ii: 1178 - 81.

117- Witz M, Schneider A, Novis B, Engelberg M, Dinbar A. Bile composition and bile acid pool size Comparison after truncal, selective, and highly selective vagotomy. *Arch Surg* 1985; 120: 1306 - 9.

118- Challacombe DN, Edkins S, Brown GA. Duodenal bile acids in infancy. *Arch Dis Child* 1975; 50: 837 - 43.

119- Berenguer La puerta J. *Acidos Biliares en Gastroenterologia*. Jarpio Editores, Madrid, 1984.

120- Barbara L, Lazzari R, Roda R, Aldani F. Serum bil acid in Newborns and children. *Pediatr Res* 1980; 14: 1222 - 25.

121- Biller JA, Winter HS, Grand RJ, Allred EN. Are endoscopic changes predictive of histologic esophagitis in children ? *J Pediatr* 1983; 103: 215 - 8.

122- Leluyer B. Papel del reflujo gastroesofágico en la génesis de los accidentes agudos y crónicos respiratorios del lactante. *M T A- Pediatría* 1985; 6: 246 - 7.

123- Wehlrauch TR. Gastroesophageal reflux- pathogenesis and clinical implications. *Eur J Pediatr* 1985; 144: 215 - 8.

124- Vandeplass Y, Sacre-Smits L. Continous 24-hour esophageal pH monitoring in 285 asymptomatic infants 0 to 15 years old. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 220 - 4.

125- Cucchiara S, Gobio-Casali L, Balli F, Magazzú G, Staiano A, Astolfi R, Amarri S, Conti-Nibali S, Gualdalini S. Cimetidine Treatment of Reflux Esophagitis in Children: An Italian Multicentric Study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 150 - 6.

126- Murphy MS, Eastham EJ, Jimenez M, Nelson R, Jackson RH. Duodenal ulceration: review of 110 cases. *Arch Dis Child* 1987; 62: 554 - 8.

127- Murphy MS, Eastham EJ. Peptic ulcer disease in childhood: long-term prognosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 721 - 4.

128- Chiang BL, Chanang MH, Lin MI, Hsu JY, Wang CHY, Wang TH. Chronic Duodenal Ulcer in Children: Clinical Observation and Response to treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 161 - 5.

129- Christie DL, Ament ME. Gastric acid hypersecretion in children with duodenal ulcer. *Gastroenterology* 1976; 71: 242 - 4.

130- Oderda G, Altare F, Dell'olio D, Ansaldi N. Prognosis value of serum Pepsinogen I in Children with Peptic ulcer. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7: 645 - 50.

131- Hyman PE, Hassall E. Marked Basal Gastric Acid Hypersecretion and Peptic Ulcer Disease: Medical Management with a Combination H₂-Histamine Receptor Antagonist and Anticholinergic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7: 57 - 63.

132- Tam PKH, Saing H. Gastric acid secretion and emptying rates in children with duodenal ulcer. *J Pediatr Surg* 1986; 21: 129 - 31.

133- Rydning A, Berstad A. Intragastric bile acid concentrations in health subjects and in patients with gastric and duodenal ulcer and the influence of fiber-enriched wheat bran in patients with gastric ulcer. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20: 801 - 4.

134- Naesdal J, Bankel M, Bodemar G, Gotthard R, Lundquist G, Walan A. The effect of 20 Mg omeprazole daily on serum gastrin, 24-h intragastric acidity, and bile acid concentration in duodenal ulcer patients. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 5 - 12.

135- Ortiz JP. Afecções Gastroduodenais. En: *Gastroenterologia Pediatrica*, editado por: Penna FJ, Wehba J, Facundes Neto U, MEDSI, Rio de Janeiro, 1983; pgs: 46 - 59.

136- Silen W, Forte JG. Effects of bile salts on amphibian gastric mucosa. *Am J Physiol* 1975; 228: 637 - 44.

FE DE ERRATAS

- Página 31 : Cita bibliográfica 72-76, corresponde a la 78
Página 32 : Cita bibliográfica 81-84, corresponde a la 82-83
Página 52 : En la 2ª línea, 2º párrafo, donde pone DC 4,20 debe poner 3,14
Página 67 : Segundo cuadro, donde dice inflamación normal, debe decir normalidad
Página 102: Segunda línea, las citas 111-113, deben decir 111-117
Página 105: Línea 22, la cita 104, corresponde a la 108
Página 106: Línea 8, donde dice C, quiere decir DC
Página 107: Última línea, QDC en lugar de 57,64 es 8,43 y DC en vez de 87,17 es 2,20
Página 108: Línea 5, DC 88,14 es 2,2. Línea 14: QDC en vez de 57,64 es 8,43 y DC 88,14 es 2,20
Página 110: Línea 14, QDC en vez de 15,07 es 5,18; DC en vez de 32,76 es 1,73
Línea 20, TQDC + TDC en vez de 37,24 es 15,07
Línea 21, TDC en vez de 15,07 es 15,18 y DC en vez de 32,73 es 1,73
Página 111: Segunda línea, GC en vez de 9,69 es 3,14



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. Hector Escobar Castro

titulada Estudios de los aceros bálticos
en el contenido gasístico

acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE

Sevilla, 13 de Septiembre de 1989

El Vocal,

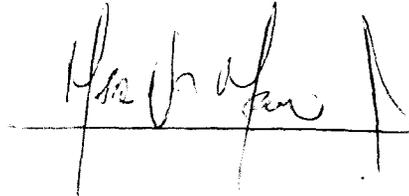


El Presidente

El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

