

## Desde la displasia hasta el cáncer de la vesícula biliar

Iván Roa E<sup>1,2</sup>, Sergio Muñoz N<sup>3</sup>, Gilda Ibacache S<sup>2</sup>,  
Xabier de Aretxabala U<sup>4</sup>.

### *Natural history of gallbladder cancer. Analysis of biopsy specimens*

**Background:** There is scarcity of knowledge about the development of gallbladder cancer. **Aim:** To study the features of development and progression of gallbladder cancer. **Material and methods:** Review of histopathological studies of gallbladder obtained in 25,971 cholecystectomies performed in patients aged 45±16 years, 79% females, between 1993 and 2004. Among these, 210 had a dysplasia not associated to cancer and 1,039 had a gallbladder cancer. Clinical and morphological parameters of preneoplastic and neoplastic lesions were analyzed. Ninety five percent of patients were followed. **Results:** All cases of dysplasia were incidental findings. Metaplasia, dysplasia and carcinoma in situ were present in the adjacent mucosa in 66%, 81% y 69% of gallbladder carcinomas, respectively. Twenty five percent of gallbladders studied were carcinomas (mucous carcinoma in 18% and muscular carcinoma in 7%). Ninety two percent of cases had chronic inflammation in the gallbladder wall. Seventy two percent of mucous carcinomas were not detected macroscopically. Five years survival of mucous carcinoma was 92%. There was an association between the intensity of the lesion and the age of the patients. The age difference between chronic cholecystitis and gallbladder cancer was 11 years for women and nine for men. **Conclusions:** From a morphological standpoint, the period in which a dysplasia becomes a carcinoma is approximately 10 years (Rev Méd Chile 2009; 137: 873-80).

**(Key words:** Cholecystectomy; Gallbladder neoplasms; Metaplasia)

Recibido el 22 de diciembre, 2008. Aprobado el 8 de mayo, 2009.

Trabajo financiado por Proyectos Fondecyt 1060375 y Bicentenario PBCT6.

<sup>1</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Clínica Alemana de Santiago. Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo. Santiago de Chile. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Gestión en Salud, Facultad Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile. <sup>4</sup>Departamento de Cirugía, Clínica Alemana de Santiago. Chile.

Chile es uno de los países con mayor frecuencia de cáncer de la vesícula biliar (CVB) en el mundo en ambos sexos<sup>1-3</sup>. En la mujer chilena, representa la primera causa de muerte por tumo-

res malignos desde 1985, con una proporción de 4:1 respecto de los hombres<sup>4,5</sup>.

Aun cuando se reconocen múltiples factores de riesgo del CVB, el conocimiento acerca de esta neoplasia es significativamente menor en comparación con otros tumores malignos como pulmón, mama o colon<sup>6</sup>, probablemente debido a que esta neoplasia es poco frecuente en la mayoría de los países desarrollados, a excepción de algunas áreas

Correspondencia a: Dr. Iván Roa E. Avenida Vitacura 5951, Vitacura. Santiago, Chile. E mail: iroa@alemana.cl

del Japón<sup>7,8</sup>. El diagnóstico de CVB se establece en la mayoría de los casos en estadios avanzados de la enfermedad, por lo cual, el estudio de los mecanismos que participan en su génesis y desarrollo en las etapas tempranas resulta particularmente difícil<sup>9,10</sup>.

Entre los factores de riesgo más importantes de CVB se encuentran los cálculos vesiculares<sup>11-13</sup>, el género, edad, obesidad, paridad<sup>14,15</sup>, tasa de colecistectomías<sup>16,17</sup>, inflamación crónica<sup>6</sup>, los adenomas vesiculares<sup>18,19</sup> y la unión anómala pancreático-biliar<sup>20,21</sup>, entre otros.

Los pacientes con CVB en su gran mayoría son asintomáticos hasta estadios avanzados de la enfermedad. La litiasis sintomática y la inflamación crónica de la vesícula biliar son las manifestaciones clínicas más frecuentes asociadas al CVB<sup>2,22</sup>. Este hecho determina que en Chile, miles de pacientes anualmente sean colecistectomizados<sup>1,5,23</sup>, es en este grupo de pacientes en los que en forma incidental se diagnostican tanto las lesiones precursoras como el CVB<sup>24</sup>.

La displasia epitelial y los adenomas son lesiones reconocidas como lesiones preneoplásicas en la mucosa de la vesícula biliar, cada una de ellas representante de modelos carcinogénicos diferentes<sup>10,19,25,26</sup>. Evidencias de carácter morfológico y genético-molecular sustentan la validez de ambos modelos<sup>27-29</sup>.

Los criterios histológicos diagnósticos de la displasia asociada o no al CVB, son poco reproducibles<sup>25,30</sup> y han sido reportadas en nuestro país con frecuencias extremadamente variables<sup>10,31</sup>. La displasia de la mucosa vesicular no asociada a la presencia de un cáncer ha sido reportada en porcentajes que fluctúan entre 1% y 20%<sup>10,30,32,33</sup>. Las diferencias que pudiesen existir entre la displasia relacionada a un CVB y la observada en forma aislada no asociada a cáncer no han sido estudiadas, por lo cual, su teórica progresión es sólo una extrapolación de lo observado en la carcinogénesis en otros órganos.

Establecer la relación entre la displasia y el CVB representa una de las mayores dificultades producto de las características del órgano y la imposibilidad en el seguimiento de las lesiones displásicas en la vesícula biliar. No existe información respecto de la existencia de displasia epitelial en vesículas biliares sin litiasis o inflamación crónica a excepción de las observadas en algunas

malformaciones de la unión pancreático-biliar<sup>34,35</sup>.

El objetivo de este trabajo es analizar aspectos relevantes de las lesiones consideradas como precursoras y las formas más precoces de cáncer vesicular intentando establecer la continuidad en el proceso carcinogénico en la mucosa vesicular.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Casos.* Se incluyen todas las piezas de colecistectomías procesadas histológicamente (25.971 casos) del Hospital de Temuco entre los años 1993 y 2004, en las que se diagnosticaron 1.039 CVB, 210 displasias no asociadas a cáncer de la vesícula biliar (0,8%) y 45 adenomas (0,17%).

*Protocolo de procesamiento.* El procesamiento de las piezas de colecistectomía fue realizado en forma uniforme de acuerdo a protocolo establecido en 1987 y reportado previamente<sup>36</sup>. Este protocolo resumidamente consiste en: apertura de la vesícula biliar, fijación y extensión de la pieza quirúrgica en planchas de parafina sólida, fotografía macroscópica (hasta 1995) o digitalización. Para el estudio histológico de rutina se seleccionaron 3 muestras representativas de cada uno de los segmentos de la vesícula biliar. En todos los casos con diagnóstico de displasia o cáncer, las piezas quirúrgicas fueron mapeadas en forma completa y sistematizada (Figura 1).

*Clasificación histológica.* Se utilizó la clasificación de la OMS y de la AJCC de 1977<sup>37</sup> y posteriormente la de 2002<sup>38</sup>, dependiendo del periodo.

*Displasia.* Fue definida como alteración de la maduración del epitelio glandular con frecuente irregularidad nuclear, hiperchromasia, pérdida de la polaridad nuclear, pseudo estratificación, alteración de la relación núcleo/citoplasma o presencia de mitosis atípicas<sup>25,30</sup>.

*Nivel de infiltración.* Posterior al mapeo de la pieza quirúrgica se reconocieron, de acuerdo al nivel de infiltración tumoral de la pared vesicular, los carcinoma incipientes: carcinoma *in situ* (CIS), carcinoma mucoso (CMu) y los carcinomas musculares (CMp) y un grupo de carcinomas avanza-

dos: carcinomas subserosos (CSs), carcinomas serosos (CSe) y metástasis (Me).

*Seguimiento de pacientes.* El 95% de los pacientes tuvo seguimiento, el que fue realizado a través de: a) controles y seguimiento clínico de los pacientes, b) registro nacional de identificación.

*Estadística.* Se realizó mediante los programas Winstat 3.0 y Stata 7.0. Se realizó análisis de la varianza (ANOVA) y t-test para los promedios, chi cuadrado para tablas de contingencia y curvas de supervivencia actuarial de Kaplan-Meier con análisis de significación mediante Log-rank test (Cox-Mantel).

RESULTADOS

*Características generales del grupo estudiado.* De un total de 25.971 pacientes incluidos en este estudio, 79% correspondió a mujeres con un promedio de edad de 45,4 años (DE ±15,9 años) y 21% restante a hombres con un promedio de edad de 53,6 años (DE ±16,4 años) (p <0,0001). De los 1.536 pacientes con lesiones preneoplásicas y neoplásicas de la vesícula biliar, 210 (13,6%) correspondieron a displasias no asociadas a cáncer de la vesícula biliar y 1.326 casos de cáncer de la vesícula biliar, cuya distribución por sexo y nivel de infiltración tumoral se muestran en la Tabla 1. En 337 casos los tumores correspondieron a carcinomas incipientes (26,2%), de los cuales 210 casos (16%) eran CMu y los restantes

127 a CMP. El 52% de los tumores (692 casos) eran cánceres avanzados con compromiso de la serosa, metástasis locales o con infiltración de órganos adyacentes.

El promedio de edad de la serie total de los 25.971 pacientes fue de 47,1 años (DE ±16,4 años). En estos pacientes se realizaron los distintos diagnósticos histológicos sin otra selección que la determinada por la indicación quirúrgica antes mencionada. Se observó una diferencia de nueve años en los promedios de edad entre hombres y mujeres en el grupo con diagnóstico de patología vesicular no tumoral (p <0,0001). Las mujeres presentaron promedios de edad significativamente menores que los hombres en todos los grupos de lesiones tumorales y no tumorales (45,4 años versus 53,6 años) (p <0,0001).

*Displasia no asociada a cáncer vesicular.* En nuestros casos constituye una lesión poco frecuente cercana a 1% de las colecistectomías por litiasis. Durante el período de estudio se diagnosticaron 210 casos (0,8%), de los cuales 188 correspondieron a mujeres con un promedio de edad de 50,9 años (DE ±15,8 años) y los restantes 22 a hombres con un promedio de edad de 58,5 años (DE ± 13,2 años) (p =0,008). El promedio de edad de este grupo de pacientes fue mayor que el grupo de pacientes sólo con colecistitis crónica y menor que el promedio de edad de los pacientes con la forma más precoz de los CVB (CMu).

Todas las displasias no asociadas a cáncer fueron un hallazgo incidental en el examen rutinario, sin una expresión macroscópica que

**Tabla 1. Promedios de edad de pacientes. Distribución por género y tipo de lesión**

Tipo lesión	Mujer			Hombre			Total			p
	N	Promedio	DS	N	Promedio	DS	N	Promedio	DS	
C. crónica	19.244	44,7	15,7	5.191	53,1	16,4	24.435	46,5	16,2	0,000
Displasia	188	50,9	15,8	22	58,5	13,2	210	51,9	15,7	0,008
C. mucoso	171	55,6	14,6	39	62,3	12,8	210	56,8	14,5	0,00007
C. muscular	107	60,9	14,0	20	64,5	11,7	127	61,5	13,6	0,281
C. subseroso	259	62,3	12,8	38	67,2	12,9	297	62,9	12,9	0,02
C. seroso	302	61,5	13,3	66	66,9	10,5	368	62,5	13,0	0,002
Metástasis	257	61,8	12,5	67	68	11,2	324	63,1	12,5	0,0002
Total	20.528	45,4	15,9	5.443	53,6	16,4	25.971	47,1	16,4	0,0001

Figura 1. Esquema de mapeo de pieza de colecistectomía en todos los casos de displasia o cáncer de la vesícula biliar.

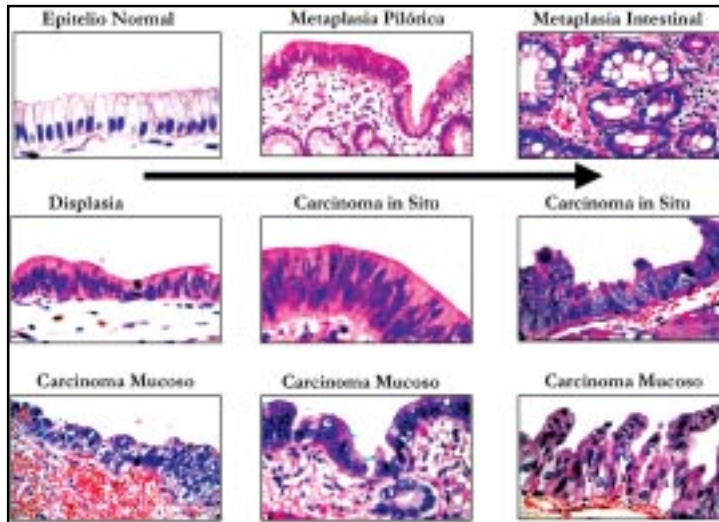
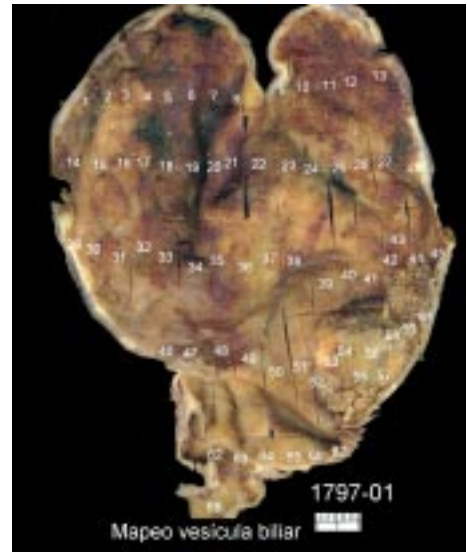


Figura 2. Gradiente de cambios histológicos observados en la mucosa de la vesícula biliar asociados al desarrollo y progresión desde el epitelio normal y metaplásico al carcinoma *in situ* y carcinomas mucosos.

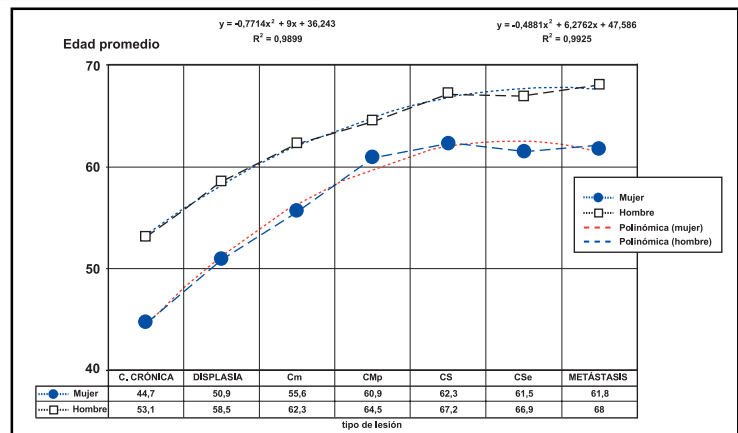


Figura 3. Relación entre la edad de los pacientes e intensidad de las lesiones en hombres y mujeres.

permitiese diferenciarlas de las alteraciones observadas en la mucosa vesicular crónicamente inflamada. La colesterosis, se asoció negativamente a la presencia de displasia epitelial ( $p < 0,001$ ) y la más frecuente alteración epitelial asociada a la displasia fue la metaplasia intestinal. Microscópicamente las alteraciones fueron más frecuentemente observadas en la superficie mucosa que en las estructuras glandulares.

*Lesiones epiteliales asociadas al cáncer vesicular.*

La displasia epitelial ha sido considerada como la lesión preneoplásica a partir de la cual se desarrollaría el CIS que evolucionaría a un carcinoma infiltrante a través de un modelo morfológico continuo desde la displasia leve hasta la displasia intensa y CIS (Figura 2). De acuerdo a nuestros hallazgos, en la vesícula biliar con un carcinoma infiltrante la metaplasia, displasia y CIS están presentes en la mucosa adyacente al cáncer en 66%, 81,3% y 69%, respectivamente. La localización de las lesiones intraepiteliales en relación al carcinoma infiltrante se observa en estrecha relación de vecindad en la mayoría de los casos (85%), observándose focos de displasia o CIS aislados en menos de 10% de los casos. Estos elementos apoyan fuertemente que la carcinogénesis vesicular se realizaría a través de la transformación del epitelio propio de la mucosa.

*Carcinoma mucoso, la forma más precoz de cáncer vesicular.* De un total de 1.326 cánceres vesiculares, 25% de los diagnosticados eran carcinomas incipientes (18% CMu y 7% CMp). El promedio de edad de los 210 casos de CMu fue de 56,8 años ( $DE \pm 14,5$  años). La paciente más joven tenía 16 años y la mayor tenía 92 años. En sólo 3 casos se planteó el diagnóstico preoperatorio de cáncer. La supervivencia actuarial de los pacientes con CMu fue de 92% a cinco años.

Respecto de la localización, 74% de los CMu eran inaparentes y no fueron detectados macroscópicamente. En aquellos casos en que fue posible identificar lesiones sospechosas, éstas estaban localizadas predominantemente en el fondo y cuerpo (21%) y sólo 4,3% (9 casos) eran lesiones solevantadas o polipoideas. En 95% (196 casos) se observó signos de inflamación crónica de la pared vesicular con lesiones de carácter proliferativo (hiperplasia de la mucosa, infiltración linfocitaria),

lesiones metaplásicas (gástrica e intestinal), o bien, de tipo cicatricial (esclerosis vascular, fibrosis, atrofia). Todos los casos correspondieron a adenocarcinomas. En 96 casos se examinó histológicamente el ganglio cístico, en ningún caso se encontró tumor. En sólo 6 casos, en los bordes del tumor se encontraron focos adenomatosos en la mucosa adyacente. En los restantes 204 casos el mapeo sistematizado de la vesícula biliar no logró demostrar evidencias histológicas de un adenoma preexistente.

*Gradiente morfológica displasia-carcinoma.* En todos los grupos desde la colecistitis crónica, displasia hasta los distintos estadios de los CVB, se observó una clara gradiente entre la intensidad de la lesión y los promedios de edad de los pacientes (Figura 2). Las diferencias observadas entre los promedios de edad en el cual las lesiones fueron diagnosticadas fueron significativas en todos los grupos con un coeficiente de correlación de  $R2 = 0,9899$  en los hombres y de ( $R2 = 0,9925$ ) en las mujeres (Figura 3).

La diferencia de los promedios de edad entre la colecistitis crónica y el CVB fue 10,3 años en el grupo general, 10,9 años en las mujeres y de 9,2 años en los hombres. Desde el punto de vista morfológico, el estudio de las características histológicas de vesículas biliares con displasia epitelial no asociada a cáncer, lesiones intraepiteliales atípicas asociadas a un CVB y el estudio sistematizado de la forma más precoz de CVB, nos permiten afirmar que los patrones histológicos que se observan en la displasia epitelial asociada o no a cáncer son congruentes con los observados en los CMu. Por el contrario, la ausencia de focos adenomatosos en los bordes de la forma más precoz de CVB, sustentan a la secuencia displasia-carcinoma como la vía más importante en el desarrollo de un CVB.

DISCUSIÓN

Al igual que otras neoplasias malignas epiteliales, el CVB es producto de la transformación del epitelio normal en lesiones consideradas como preneoplásicas y finalmente neoplásicas. En los órganos de fácil acceso es posible el seguimiento de estas lesiones, sin embargo, en la vesícula biliar

esto no es posible, ya que una vez extraído el órgano el proceso se interrumpe. Escasa información existe respecto de la forma más precoz del CVB y que corresponde al CMu<sup>39-43</sup>. En países con alta incidencia de cáncer vesicular como Chile, India y Japón, el carcinoma mucoso puede llegar a representar hasta 15% del total de cánceres vesiculares diagnosticados en colecistectomías<sup>36</sup>.

Entre los dos modelos actualmente válidos para explicar la transformación maligna del epitelio vesicular displasia-carcinoma y adenoma-carcinoma<sup>25,28,44</sup>, los hallazgos morfológicos<sup>36,45</sup> y genético-moleculares<sup>27,46-48</sup>, han demostrado que corresponden a dos eventos biológicos distintos e independientes. De acuerdo a nuestras observaciones, la secuencia displasia-carcinoma es la más verosímil desde el punto de vista morfológico<sup>28,39,49,50</sup>. Por su parte, los adenomas son lesiones poco frecuentes en la vesícula biliar, su rol en la patogénesis del CVB es escasa.

La metaplasia es un hallazgo muy común en la mucosa vesicular crónicamente inflamada en sobre 50% de las vesículas biliares. Dos tipos de metaplasia son las que más frecuentemente se observan en la mucosa vesicular, la de tipo pilórica o gástrica y la de tipo intestinal<sup>10,30,51,52</sup>. Los CVB se asocian a la presencia de ambos tipos de metaplasias, especialmente la de tipo intestinal<sup>10,53</sup>. La secuencia sería metaplasia-displasia-CIS<sup>25,52,54</sup>. Algunos CVB presen-

tarían un fenotipo "gástrico" con expresión de pepsinógenos I y II por parte de las células tumorales<sup>55,56</sup>. Aun cuando, la metaplasia intestinal y gástrica, parecen ser las lesiones previas a la displasia epitelial, no existen estudios concluyentes al respecto. Se ha demostrado inestabilidad microsatelital, LOH e inactivación de genes como p53, CDH1, p16 con mayor frecuencia en los focos de metaplasia intestinal en la mucosa asociada a cánceres que en la mucosa de colecistitis crónica<sup>47</sup>.

Otro elemento que sustenta este modelo de progresión, guarda relación con las edades de los pacientes a las cuales estas lesiones son diagnosticadas. Se observa una correlación casi exacta entre el aumento de la edad y la intensidad de las lesiones, hasta es posible sugerir una estimación del tiempo requerido en esta transformación<sup>28</sup>. De acuerdo a estos hallazgos el período de transformación desde la colecistitis crónica hasta el CMu sería de 10,9 años para la mujer y 9,2 años para el hombre. También se debe mencionar que el extrapolar estos hallazgos a la población con litiasis asintomática pudiese ser no necesariamente acertado.

Finalmente, es posible señalar que el CVB representa un modelo especial en la carcinogénesis humana que requiere mayor atención y del cual valiosa e importante información se pudiese obtener para el estudio y comprensión de los procesos neoplásicos en el ser humano.

#### REFERENCIAS

1. LAZCANO-PONCE EC, MIQUEL JF, MUNOZ N, HERRERO R, FERRECCIO C, WISTUBA II ET AL. Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. *CA Cancer J Clin* 2001; 51: 349-64.
2. PANDEY M. Risk factors for gallbladder cancer: a reappraisal. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 15-24.
3. ANDIA ME, HSING AW, ANDREOTTI G, FERRECCIO C. Geographic variation of gallbladder cancer mortality and risk factors in Chile: a population-based ecologic study. *Int J Cancer* 2008; 123: 1411-6.
4. SERRA I. ¿Ha disminuido la mortalidad por cáncer de la vesícula biliar en Chile? *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1079-84.
5. ANDIA KM, GEDERLINI GA, FERRECCIO RC. Gallbladder cancer: trend and risk distribution in Chile. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 565-74.
6. WISTUBA, II, GAZDAR AF. Gallbladder cancer: lessons from a rare tumour. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 695-706.
7. MISRA S, CHATURVEDI A, MISRA NC, SHARMA ID. Carcinoma of the gallbladder. *Lancet Oncol* 2003; 4: 167-76.
8. KODAMA K, NAKADAIRA H, ENDOH K, YAMAMOTO M. Geographic clustering patterns in mortality from biliary tract cancer in Japan. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 6-11.
9. ROA I, DE ARETXABALA X, ARAYA JC, ROA J. Preneoplastic lesions in gallbladder cancer. *J Surg Oncol* 2006; 93: 615-23.
10. DUARTE I, LLANOS O, DOMKE H, HARZ C, VALDIVIESO V.

- Metaplasia and precursor lesions of gallbladder carcinoma. Frequency, distribution, and probability of detection in routine histologic samples. *Cancer* 1993; 72: 1878-84.
11. LOWENFELS AB, MAISONNEUVE P, BOYLE P, ZATONSKI WA. Epidemiology of gallbladder cancer. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 1529-32.
  12. CHOW WH, JOHANSEN C, GRIDLEY G, MELLEMKJÆR L, OLSEN JH, FRAUMENI JF Jr. Gallstones, cholecystectomy and risk of cancers of the liver, biliary tract and pancreas. *Br J Cancer* 1999; 79: 640-4.
  13. LOWENFELS AB, WALKER AM, ALTHAUS DP, TOWNSEND G, DOMELLOF L. Gallstone growth, size, and risk of gallbladder cancer: an interracial study. *Int J Epidemiol* 1989; 18: 50-4.
  14. PANDEY M, SHUKLA VK. Lifestyle, parity, menstrual and reproductive factors and risk of gallbladder cancer. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 269-72.
  15. LOWENFELS AB, WALKER AM, ALTHAUS DP, TOWNSEND G, DOMELLOF L. Gallstone growth, size, and risk of gallbladder study. *Int J Epidemiol* 1989; 18: 50-4.
  16. SERRA I, CALVO A, MATURANA M, MEDINA E, SHARP A. Changing trends of gall-bladder cancer in Chile, a high-risk area. *Int J Cancer* 1990; 45: 376-7.
  17. CHIANALE J, DEL PINO G, NERVI F. Increasing gallbladder cancer mortality rate during the last decade in Chile, a high-risk area. *Int J Cancer* 1990; 46: 1131-3.
  18. ROA I, DE ARETXABALA X, MORGAN R, MOLINA R, ARAYA JC, ROA J ET AL. Pólipos y adenomas de la vesícula biliar: características clínico-patológicas. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 673-9.
  19. KOZUKA S, TSUBONE N, YASUI A, HACHISUKA K. Relation of adenoma to carcinoma in the gallbladder. *Cancer* 1982; 50: 2226-34.
  20. JUNG YS, LEE KJ, KIM H, KIM WH, KIM IG, YOO BM ET AL. Risk factor for extrahepatic bile duct cancer in patients with anomalous pancreaticobiliary ductal union. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 946-9.
  21. MATSUMOTO Y, FUJII H, ITAKURA J, MATSUDA M, NOBUKAWA B, SUDA K. Recent advances in pancreaticobiliary maljunction. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 45-54.
  22. DONOHUE JH. Present status of the diagnosis and treatment of gallbladder carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8: 530-4.
  23. SHAFFER EA. Epidemiology and risk factors for gallstone disease: has the paradigm changed in the 21st century? *Curr Gastroenterol Rep* 2005; 7: 132-40.
  24. ROA I, DE ARETXABALA X, ARAYA JC, VILLASECA M, ROA J, GILDA IT ET AL. Elementos morfológicos pronósticos en el cáncer de la vesícula biliar. *Rev Méd Chile* 2002; 130: 387-95.
  25. ALBORES-SAAVEDRA J, ALCANTRA-VÁZQUEZ A, CRUZ-ORTIZ H, HERRERA-GOEPPERT R. The precursor lesions of invasive gallbladder carcinoma. Hyperplasia, atypical hyperplasia and carcinoma *in situ*. *Cancer* 1980; 45: 919-27.
  26. ALBORES-SAAVEDRA J, VARDAMAN CJ, VUITCH F. Non-neoplastic polypoid lesions and adenomas of the gallbladder. *Pathol Annu* 1993; 28 Pt 1: 145-77.
  27. WISTUBA, II, MIQUEL JF, GAZDAR AF, ALBORES-SAAVEDRA J. Gallbladder adenomas have molecular abnormalities different from those present in gallbladder carcinomas. *Hum Pathol* 1999; 30: 21-5.
  28. ROA I, ARAYA JC, VILLASECA M, DE ARETXABALA X, RIEDEMANN P, ENDOH K ET AL. Preneoplastic lesions and gallbladder cancer: an estimate of the period required for progression. *Gastroenterology* 1996; 111: 232-6.
  29. WISTUBA, II, SUGIO K, HUNG J, KISHIMOTO Y, VIRMANI AK, ROA I ET AL. Allele-specific mutations involved in the pathogenesis of endemic gallbladder carcinoma in Chile. *Cancer Res* 1995; 55: 2511-5.
  30. LAITIO M. Histogenesis of epithelial neoplasms of human gallbladder I. Dysplasia. *Pathol Res Pract* 1983; 178: 51-6.
  31. SMOK G, CERVILLA K, BOSCH H, CSENDES A. Lesiones precancerosas asociadas al carcinoma invasor de la vesícula biliar. *Rev Méd Chile* 1986; 114: 954-8.
  32. OJEDA VJ, SHILKIN KB, WALTERS MN. Premalignant epithelial lesions of the gall bladder: a prospective study of 120 cholecystectomy specimens. *Pathology* 1985; 17: 451-4.
  33. MUKHOPADHYAY S, LANDAS SK. Putative precursors of gallbladder dysplasia: a review of 400 routinely resected specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129: 386-90.
  34. TSUCHIDA A, ITOI T, AOKI T, KOYANAGI Y. Carcinogenetic process in gallbladder mucosa with pancreaticobiliary maljunction (Review). *Oncol Rep* 2003; 10: 1693-9.
  35. MATSUBARA T, SAKURAI Y, ZHI LZ, MIURA H, OCHIAI M, FUNABIKI T. K-ras and p53 gene mutations in noncancerous biliary lesions of patients with pancreaticobiliary maljunction. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 312-21.
  36. ROA I, ARAYA JC, VILLASECA M, ROA J, DE ARETXABALA X, IBACACHE G. Gallbladder cancer in a high risk area: morphological features and spread patterns. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 1540-6.
  37. Gallbladder. In: American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven Publishers 1997; 5<sup>th</sup> ed.: 103-108.
  38. Gallbladder. In American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York, NY: Springer. 2002; 139-44.
  39. ROA I, DE ARETXABALA X, ARAYA JC, VILLASECA M, ROA J, GUZMÁN P. Carcinoma incipiente de la vesícula biliar. Estudio clínico, patológico y pronóstico en 196 casos. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1113-20.
  40. DE ARETXABALA X, ROA I, BURGOS L. Gallbladder cancer, management of early tumors. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 1547-51.
  41. TSUCHIYA Y. Early carcinoma of the gallbladder: macroscopic features and US findings. *Radiology* 1991; 179: 171-5.

42. LAITTO M. Early carcinoma of the gallbladder. *Beitr Pathol* 1976; 158: 159-72.
43. WAGHOLIKAR GD, BEHARI A, KRISHNANI N, KUMAR A, SIKORA SS, SAXENA R ET AL. Early gallbladder cancer. *J Am Coll Surg* 2002; 194: 137-41.
44. ALBORES-SAAVEDRA J, HENSON DE, SOBIN LH. The WHO Histological Classification of Tumors of the Gallbladder and Extrahepatic Bile Ducts. A commentary on the second edition. *Cancer* 1992; 70: 410-4.
45. ROA I GP, IBACACHE G, ARAYA J, VILLASECA M, DE ARETXABALA X, ROA J, MUÑOZ S. Cáncer de la vesícula biliar en colecistectomías por litiasis. *Rev Esp Patol* 2004; 37: 279-85.
46. YANAGISAWA N, MIKAMI T, SAEGUSA M, OKAYASU I. More frequent beta-catenin exon 3 mutations in in carcinomas indicate different lineages. *Cancer Res* 2001; 61: 19-22.
47. ROA JC, ROA I, CORREA P, VO Q, ARAYA JC, VILLASECA M ET AL. Microsatellite instability in preneoplastic and neoplastic lesions of the gallbladder. *J Gastroenterol* 2005; 40: 79-86.
48. WISTUBA, II, ALBORES-SAAVEDRA J. Genetic abnormalities involved in the pathogenesis of gallbladder carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999; 6: 237-44.
49. ROA I, ARAYA JC, WISTUBA I, DE ARETXABALA X. Cáncer vesicular: consideraciones anatómicas y anatomopatológicas. *Rev Méd Chile* 1990; 118: 572-9.
50. ROA I, ARAYA JC, WISTUBA I, VILLASECA M, DE ARETXABALA X, BUSEL D ET AL. Lesiones epiteliales asociadas al cáncer carcinoma de la vesícula biliar. Estudio sistematizado de 32 casos. *Rev Méd Chile* 1993; 121: 21-9.
51. KOZUKA S, KURASHINA M, TSUBONE M, HACHISUKA K, YASUI A. Significance of intestinal metaplasia for the evolution of cancer in the biliary tract. *Cancer* 1984; 54: 2277-85.
52. DOWLING GP, KELLY JK. The histogenesis of adenocarcinoma of the gallbladder. *Cancer* 1986; 58: 1702-8.
53. YAMAGIWA H. Mucosal dysplasia of gallbladder: isolated and adjacent lesions to carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1989; 80: 238-43.
54. ALBORES-SAAVEDRA J, NADJO M, HENSON D, ZIEGELS-WEISSMAN J, MONES J. Intestinal metaplasia of the gallbladder: A morphologic and immunocytochemical study. *Hum Pathol* 1986; 17: 614-20.
55. ROA I, ARAYA JC, SHIRAIISHI T, YATANI R, WISTUBA I, VILLASECA M ET AL. Demostración inmunohistoquímica de pepsinógenos I and II en el cáncer de la vesícula biliar. *Rev Méd Chile* 1992; 120: 1351-8.
56. TATEMATSU M, ICHINOSE M, MIKI K, TATEMATSU K, KISHIKAWA H, ITO N. Gastric phenotypic expression in human gallbladder cancers revealed by pepsinogen immunohistochemistry and mucin histochemistry. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1988; 413: 25-32.