

TUMORES DE LAS VÍAS BILIARES

T Sala

Los tumores benignos de las vías biliares son extremadamente raros y apenas tienen relevancia clínica. Los tumores malignos son relativamente infrecuentes en nuestro medio, aunque se ha evidenciado que está aumentando su incidencia, posiblemente porque se estén aplicando métodos diagnósticos más precisos gracias a las nuevas tecnologías de imagen. El tipo histológico más frecuente es el adenocarcinoma (90%) seguido a distancia del cistoadenocarcinoma. El sarcoma derivado de las capas fibromusculares es excepcional.

Para una mejor comprensión del comportamiento clínico y de las actitudes terapéuticas, los tumores del árbol biliar se clasifican topográficamente en: *Carcinoma de vesícula biliar, de la ampolla de Vater y de la vía biliar principal*, y ésta última dividida en tres tercios: los cánceres proximales de la vía biliar afectan al tercio superior, es decir, a la convergencia de los conductos biliares derecho e izquierdo con el conducto hepático común, justo hasta la inserción aparente del conducto cístico; los del tercio medio comprende el colédoco hasta la entrada del páncreas y; los del tercio distal o del colédoco intrapancreático. Los tumores periampulares son difíciles de clasificar con precisión y de diferenciar su origen primario en la ampolla, en la vía biliar, en el páncreas o en el duodeno, por lo que no es infrecuente denominarles tumores de la encrucijada duodeno- bilio-pancreática.

CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO

Carcinoma de vesícula biliar. Supone alrededor del 2% de todos los carcinomas. Es el más frecuente de los tumores biliares, seguido del de la confluencia hiliar.

Dado que la localización inicial más frecuente del tumor es en el fondo y cuerpo de la vesícula, su diagnóstico es muy tardío, cuando la enfermedad está en fases avanzadas y su pronóstico es infausto. Los síntomas más frecuentes son dolor permanente en abdomen superior, anorexia y pérdida de peso. La manifestación clínica que generalmente motiva la consulta es la aparición de ictericia por infiltración de la vía biliar principal. La presencia de una masa palpable y dolorosa en área vesicular es un hallazgo común. Desafortunadamente, en pocas ocasiones el diagnóstico se establece de forma fortuita en el acto operatorio de una colecistectomía por litiasis sintomática o en el examen histopatológico de la vesícula reseca.

El diagnóstico preoperatorio en los estadios precoces del tumor es muy infrecuente. Solo sería posible ante el hallazgo ecográfico de una masa polipoidea intraluminal de naturaleza adenomatosa que contuviera un carcinoma *in situ*. La presencia en la radiografía de abdomen sin preparación de calcificaciones de la pared vesicular o de una vesícula "en porcelana" obligan a pensar en su posible malignización. En las fases avanzadas, la ecografía puede tener una fiabilidad de más del 80% en presencia de una vesícula de paredes irregulares y de dilatación de las vías intrahepáticas y del hepático común. La tomografía axial computadorizada (TAC) aporta información complementaria de la extensión tumoral a distancia. La ultrasonografía endoscópica (USE) permite establecer el diagnóstico del carcinoma vesicular con una fiabilidad superior al 85% y mayor aún si se asocia punción aspirativa guiada por USE para estudio citológico. La colangiografía transhepática percutánea (CTH) o la colangiografía retrógrada endoscópica (CPRE) son procedimientos diagnósticos más invasivos, pero que tienen una faceta fundamental que es su vertiente terapéutica.

Cáncer del hilio hepático. Debe ser abordado como un grupo heterogéneo de tumores que, no sólo contemple el carcinoma hiliar o tumor de Klastkin, sino otros que afecten a la confluencia hiliar por extensión, por ejemplo, el carcinoma de vesícula, tumores primarios o metastásicos de hígado o infiltración ganglionar de tumores gástricos o pancreáticos.

Representan más de la mitad de las diferentes localizaciones del árbol biliar. La litiasis se ha invocado como causa predisponente del colangiocarcinoma, si bien no es un factor causal cierto. Sí que existe una relación directa con la colangitis esclerosante asociada a colitis ulcerosa, los quistes de colédoco y enfermedades afines como la enfermedad de Caroli, la fibrosis hepática y la enfermedad poliquística del hígado y la administración de thorotrast como medio de contraste, hoy ya en desuso.

Su pronóstico es sombrío, al igual que el de la vesícula, con una tasa de supervivencia menor del 10% a los 5 años, falleciendo la mayor parte de los pacientes en el primer año.

Clinicamente se manifiesta por ictericia progresiva (precedida desde unos meses antes de síndrome constitucional), prurito, coluria, acolia y agravamiento progresivo del estado nutricional, metabólico, renal y de los factores de la coagulación. La obstrucción biliar lleva con frecuencia a episodios de colangitis que aceleran el deterioro general clínico y la muerte del paciente en pocos meses. Los exámenes analíticos confirmarán la colestasis. La ecografía percutánea debe ser el procedimiento diagnóstico inicial con cerca de un 90% de seguridad para el diagnóstico topográfico de la lesión y bastante menor para su naturaleza. La TAC no añade mayor información relevante, salvo para detectar lesiones metastásicas en parenquima hepático o a distancia. Ni la ecografía ni la TAC son suficientes para tomar decisiones terapéuticas. Es necesario obtener, por una parte, un buen

mapa radiográfico de las vías biliares y, por otra, conocer la extensión tumoral. Hasta hace muy poco tiempo, la CTH o la CPRE conseguían el primer objetivo, siendo las técnicas de elección. Sin embargo y más recientemente, la colangiografía por resonancia magnética (CRM) las está sustituyendo al tratarse de un método no invasivo y muy seguro para la evaluación del árbol biliar. La ultrasonografía endoscópica (USE) aporta información muy valiosa acerca de la extensión tumoral locorregional. Ambos métodos, la CRM y USE, han demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y estadiaje de la obstrucción biliar maligna, siendo más seguras que la ecografía convencional. Sin embargo, ésta debe seguir siendo la primera técnica de imagen, dado que es no invasiva, barata y fácilmente repetible. En pacientes en los que la ecografía convencional fracasa para la demostración de la causa de la obstrucción, debe realizarse una CRM o una USE para evitar tener que hacer una CPRE o una CTH con intencionalidad exclusivamente diagnóstica. Por el contrario ni la CRM ni la USE pueden reemplazar a la CPRE como método de elección en pacientes de alto riesgo con colangitis y, sobre todo, cuando además de su vertiente diagnóstica se indica como proceder terapéutico. La citología obtenida por cepillado transpapilar por CPRE puede ayudar a diferenciar las estenosis malignas, con una sensibilidad del 56%, una especificidad del 90% y una seguridad del 65%.

Carcinoma subhiliar. Los tumores primarios del tercio medio e inferior del colédoco son mucho menos frecuentes que los del hilio. Lo más común es que se trate de tumores de la cabeza del páncreas que infiltran la vía biliar. De ahí que se les denomine tumores de la encrucijada duodeno-bilio-pancreática. Las manifestaciones clínicas son muy similares, aunque la ictericia puede ser más precoz.

La ecografía percutánea mostrará dilatación biliar retrógrada. La CPRE precisará la longitud y calibre de la estenosis biliar y la morfología del conducto pancreático, permitirá la toma de muestras citológicas y, si es necesario, será el vehículo para drenar los conductos obstruidos.

Carcinoma de la ampolla de Vater. En la ampolla de Vater, accesible a la visión directa de un endoscopio, la presencia de adenomas benignos no es infrecuente. Las tomas múltiples de biopsias o las macrobiopsias con asa diatérmica son de capital importancia para la toma de decisiones terapéuticas y para el pronóstico, incluso cuando la visión endoscópica es dudosa; las tomas de especímenes pueden ser intraampulares tras una esfinterotomía o una simple infundibulotomía endoscópicas, con lo que se alcanza una seguridad diagnóstica cercana al 100%.

Aunque la realización de una TAC es necesaria para detectar metástasis a distancia, la USE es el único método para estadiar preoperativamente estas lesiones tumorales. Las sondas ultrasónicas son una alternativa a los ecoendoscopios, ya que tienen la ventaja de que pueden ser usadas en el curso de una CPRE. En un estudio comparativo sobre 12 adeno-

mas benignos y 15 adenocarcinomas, las sondas ultrasónicas fueron más sensibles (100 % versus 62,5 %) y específicas (75 % versus 50 %) que la USE para el diagnóstico de los tumores ampulares.

TRATAMIENTO

Carcinoma de vesícula. Debido al inevitable retraso del diagnóstico, más del 90% de los carcinomas se encuentran en fases avanzadas y las tasas de curación no superan el 10%. La colecistectomía profiláctica de las vesículas litiasicas silentes es ineficaz, aunque está justificada en presencia de una vesícula "en porcelana" o con calcificaciones parietales por el elevado riesgo de degeneración maligna.

El pronóstico del cáncer de vesícula depende fundamentalmente del estadio evolutivo y del tipo histológico y a ellos debería orientarse la actitud terapéutica. Aunque el diagnóstico pudiera establecerse pre o intraoperatoriamente, no existen criterios unánimes acerca de la opción quirúrgica más adecuada: colecistectomía simple o ampliada a una linfadenectomía regional más excisión en cuña del lecho hepático, dado que la supervivencia a los cinco años es prácticamente la misma; incluso se propugna abstenerse de cirugía radical y practicar exclusivamente una colecistectomía simple.

Las metástasis linfáticas regionales se encuentran presentes en 45%-80% de los pacientes, por lo que la linfadenectomía debe contemplar la excisión de los ganglios del triángulo de Calot hacia el ligamento hepato-duodenal y grupos peripancreáticos. Por la peculiar situación de la vesícula, en los tumores avanzados son frecuentes la invasión del lecho hepático y las metástasis hepáticas. Estas circunstancias han dado argumentos a algunos grupos japoneses para recomendar resecciones hepáticas extensas, tales como lobectomía hepática derecha ampliada, trisegmentomía e incluso hepatectomías derechas, tratamientos muy agresivos que comportan una elevada morbimortalidad sin resultados a largo plazo distintos a los obtenidos con la colecistectomía con linfadenectomía. En estos estadios avanzados la supervivencia global a los cinco años es inferior al 5-6%.

Cuando la extensión tumoral desaconseja una cirugía demasiado agresiva y sin posibilidades de ser curativa, las actitudes terapéuticas deben dirigirse a proporcionar la mayor calidad de vida para el paciente con la menor morbimortalidad, ya que la esperanza de vida va a ser corta. Las derivaciones biliodigestivas propugnadas por Longmire o Bismuth o los drenajes quirúrgicos con tubos en T, pueden ser sustituidos hoy por la radiología o la endoscopia intervencionistas mediante implantación de endoprótesis biliares que mantengan la permeabilidad del flujo biliar, con menores costes y tasas de morbimortalidad mucho más bajas.

La quimioterapia y la radioterapia externa no son útiles. La braquiterapia o radioterapia interna mediante inserción de sondas con Iridium¹⁹² es menos eficaz sola que asociada a la radioterapia externa.

Actualmente y con la divulgación de la colecistectomía laparoscópica se ha descrito la aparición de implantes tumorales en los orificios de entrada de los trócares en pacientes con carcinoma de vesícula no reconocido en el acto operatorio. La posibilidad de esta complicación hace recomendable que, de forma sistemática, tras la sección del cístico se introduzca la vesícula en una bolsa de plástico y se extraiga con ella.

Carcinoma hiliar. A pesar del mal pronóstico de los tumores hiliares y del pesimismo con que se aborda su orientación terapéutica, la mayoría de los autores abogan siempre que sea posible por la resección tumoral.

El tratamiento quirúrgico es muy difícil por las características anatómicas de la zona, con la proximidad de la vena porta y de la arteria hepática, además de las posibles variantes anatómicas biliares y vasculares. De ahí, el interés de disponer de la CRM antes de la intervención.

La cirugía de resección contempla la excisión local del tumor y de los conductos biliares extrahepáticos y la limpieza ganglionar. La reconstrucción bilioentérica se lleva a cabo con anastomosis hepático-yeyunal en Y de Roux separando los conductos derecho e izquierdo. La invasión tumoral puede exigir practicar segmentomías, lobectomías o hepatectomías, o incluso ser más radical, con resección en bloque de toda la región hiliar con reconstrucción vascular con autoinjertos.

La cirugía paliativa puede llevarse a cabo ante la imposibilidad de una cirugía con finalidad curativa cuando ya se está en el campo operatorio y se han valorado exactamente las limitaciones (extensión tumoral, invasión vascular, metástasis hepáticas), o bien con la decisión ya tomada a "priori" por los datos aportados por la TAC, la CRM, la CTH o la CPRE. Su finalidad es la resolución o paliación de la ictericia y consiste en la realización de un *bypass* biliodigestivo para resolver la obstrucción biliar. La anastomosis bilioentérica más utilizada es la que une el conducto intrahepático izquierdo a la altura del ligamento redondo con una asa de yeyuno. Es menos habitual que la anastomosis entérica se aboque al conducto extrahepático izquierdo, al intrahepático derecho o bilateral.

En muchas ocasiones tan solo cabe alguna forma de drenaje paliativo mediante tubos en T. Sin embargo, estas situaciones deben estar previstas de antemano de forma que el paciente no tenga que llegar a la laparotomía para un simple drenaje. La radiología y la endoscopia intervencionistas para la inserción de prótesis deben ser las técnicas de primera opción.

En pocas ocasiones es posible una cirugía de resección. Generalmente se aceptan cifras del 15% al 20%. En una amplia revisión bibliográfica

ca realizada por Boerma, sobre más de 500 resecciones, la mortalidad operatoria fue del 12% y la supervivencia a los dos y cinco años del 30% y 13%, respectivamente. Las resecciones amplias tienen mayor supervivencia que las locales, pero están gravadas de una mayor mortalidad operatoria (15% frente a 8%).

La cirugía paliativa debe pretender dar alivio y calidad de vida sin tasas de mortalidad operatoria que resulten inaceptables. La derivación bilioentérica resuelve total o parcialmente la ictericia en más de un 90% de los casos, sobre todo en la anastomosis hepático-yeyunal izquierda, con supervivencias medias de ocho a nueve meses. Sin embargo, disponemos de alternativas terapéuticas menos invasivas. La dilatación de los conductos biliares intrahepáticos facilita el abordaje percutáneo transhepático y la inserción de endoprótesis. Inicialmente el objetivo de la radiología intervencionista es facilitar el drenaje biliar interrumpido por un tumor inoperable. Se trata básicamente de introducir un catéter de drenaje percutáneo que se deja en el límite proximal de la obstrucción (drenaje biliar externo), o se intenta atravesar la estenosis y dejar el extremo distal en el duodeno (drenaje interno-externo), éste último con las ventajas de no interrumpir la circulación bilioentérica. Por su parte, el acceso endoscópico a la papila de Vater sirve para drenar las vías biliares retrógradamente. Las mejoras metodológicas e instrumentales han reducido cada vez más las tasas de complicaciones del drenaje percutáneo (bilirragias, coleperitoneo) y, en ambos métodos las obstrucciones precoces de los drenajes con la consiguiente colangitis.

Las prótesis biliares, percutáneas o endoscópicas, pretenden resolver el problema de la obstrucción biliar sin tener que dejar un drenaje externo. Básicamente hay dos tipos de prótesis, las de plástico y las metálicas o de malla autoexpandible. En las primeras su mayor inconveniente es la obstrucción, facilitada por el calibre interno y por la producción de mucoproteínas bacterianas que inducen la formación de una película adherida a la superficie del material plástico. El diámetro interno desempeña un gran papel en la incidencia de obstrucciones y colangitis, siendo preferible utilizar las de 10 a 12 French. Los orificios de drenaje son distales, ya que los laterales facilitan la formación de la película bacteriana y su obstrucción. En los tumores hiliares irresecables se ha propuesto la inserción de dos o más prótesis para el adecuado drenaje de los dos lóbulos hepáticos. Sin embargo ello comporta múltiples procedimientos con mayor morbi-mortalidad. No se han demostrado diferencias en el descenso de la bilirrubina, complicaciones, mortalidad a los 30 días y tasas de supervivencia, drenando el lóbulo derecho o el izquierdo. Se recomienda poner una prótesis en la rama intrahepática que resulte más accesible.

Las prótesis metálicas de malla autoexpandible, introducidas mediante un catéter fino (de 8-10 French), consiguen tener un calibre muy amplio cuando expanden (10 mm), con tasas muy bajas de oclusión a medio plazo y muy escasas complicaciones. Dado el elevado precio de las prótesis

de malla respecto a las de plástico, se recomienda decidir su elección en función de la supervivencia estimada del paciente. Para supervivencias menores de 4 meses, se recomienda utilizar una de plástico de 10-11 French y para supervivencias estimadas más prolongadas, una de malla. Si éstas se obstruyen por crecimiento tumoral o tejido conectivo intraprotésicos es posible insertar otra por dentro, metálica o de plástico.

La inserción de prótesis biliares no excluye otras opciones terapéuticas paliativas complementarias, tales como la endorradioterapia sola o combinada con la radioterapia externa.

Carcinoma subhiliar. La obstrucción biliar extrahepática maligna por carcinoma de colédoco medio o distal, tendrá su opción terapéutica según el estadio evolutivo y las condiciones generales del paciente. Obviamente, la posibilidad de resección tumoral será preferible a las simples derivaciones biliodigestivas paliativas.

La afectación tumoral del colédoco medio debe abordarse mediante la exéresis en bloque del tumor. La reconstrucción biliar se realiza mediante una hepático-yayunostomía en Y de Roux

La resección del carcinoma del colédoco distal se realiza mediante una duodenopancreatectomía cefálica, exactamente igual que para el tumor maligno de la ampolla de Vater o de cabeza de páncreas. La mortalidad de este proceder es inferior al 15%, pero la tasa de supervivencia a los cinco años no supera el 20%.

Si la extensión tumoral no permite la resección con intencionalidad curativa, la derivación biliar paliativa es mucho más sencilla que en los tumores hiliares y si existe afectación duodenal, debe practicarse una derivación gastroyeyunal simultánea. Son intervenciones bien toleradas, con una mortalidad operatoria de un 10%-15%.

En la obstrucción distal, la alternativa a la cirugía paliativa es el tratamiento endoscópico mediante la inserción de endoprótesis biliares. El dilema entre uno u otro proceder persiste todavía hoy. En grupos expertos, los éxitos iniciales para la resolución de la ictericia son similares (más del 90%), las complicaciones son mucho menores con la endoscopia que con la cirugía (11% frente al 29%), al igual que la mortalidad operatoria (3% versus 14%). Sin embargo, la recurrencia de la ictericia es mucho más frecuente y precoz tras la prótesis endoscópica que tras la cirugía, con una media de permeabilidad de aquella de unos cuatro meses. Ello comporta mayor número de actuaciones para la sustitución o la inserción de una nueva prótesis, pero aún así la estancia hospitalaria es más corta con el método endoscópico. La supervivencia media es similar con ambos procederes.

Para algunos autores, debería actuarse quirúrgicamente en los pacientes con buen estado general en los que la esperanza de vida se esti-

ma más larga y en aquellos con necesidad de una gastroenterostomía por obstrucción tumoral duodenal.

Carcinoma de la ampolla de Vater. La duodenopancreatectomía total o subtotal es el tratamiento de elección cuando se practica con intención curativa. La mortalidad del proceder se estima en un 5% y la morbilidad en un 65%, sobre todo por las complicaciones infecciosas. La supervivencia depende sobre todo de la presencia o ausencia de tumor en los márgenes quirúrgicos, siendo a los 5 años del 15% y 60%, respectivamente. El tamaño del tumor, la infiltración tumoral de los ganglios periféricos e incluso el grado de diferenciación celular, tienen una influencia limitada en la supervivencia. Así, tumores muy pequeños, confinados a la ampolla de Vater, pueden ser tratados curativamente mediante una papiloduodenectomía (exéresis de la ampolla con reimplantación de los conductos biliar y pancreático). En tumores de más de 2 cm, con afectación ganglionar o histológicamente mal diferenciados, la supervivencia a los 5 años puede ser superior al 40% con duodenopancreatectomía subtotal. De ahí, la gran importancia de seleccionar adecuadamente los pacientes para no excluirles injustificadamente de un tratamiento quirúrgico con intención curativa.

Las alternativas terapéuticas paliativas en tumores irreseccables se centran fundamentalmente en la práctica de una CPRE para tomas biópsicas, con esfinterotomía o ampulectomía endoscópica en tumores muy vegetantes, seguidas de la inserción de una prótesis, recomendándose colocar prótesis de malla autoexpandible, dado que la supervivencia de estos pacientes es igualmente prolongada.

RESUMEN

- Los tumores benignos de las vías biliares son extremadamente raros.
- El tipo histológico más frecuente de los tumores malignos es el adenocarcinoma.
- El carcinoma hilar representa más de la mitad de las diferentes localizaciones del árbol biliar.
- En el carcinoma subhilar la colangiografía retrógrada endoscópica (CPRE) es el método diagnóstico de confirmación más adecuado y puede además ser terapéutica.
- La colecistectomía simple es una opción terapéutica adecuada en el carcinoma de vesícula.
- La cirugía paliativa mediante derivaciones biliodigestivas puede

ser sustituida por la radiología o la endoscopia intervencionistas mediante implantación de endoprótesis biliares, con menores costes y tasas de morbilidad más bajas.

- En los tumores avanzados, la quimioterapia y la radioterapia externa no son útiles. Pueden aplicarse si se asocian a la radioterapia interna.

- El carcinoma hiliar, pese a su mal pronóstico, debe ser tratado mediante resección tumoral siempre que sea posible. La cirugía paliativa consiste en la realización de un bypass biliodigestivo para resolver la obstrucción biliar.

- La alternativa terapéutica a las derivaciones biliodigestivas es la inserción de endoprótesis mediante radiología o endoscopia intervencionistas.

- Las prótesis biliares, percutáneas o endoscópicas, pueden ser de dos tipos: de plástico y metálicas o de malla autoexpandible. La inserción de unas u otras dependerá esencialmente de la esperanza de vida.

- En los tumores de la ampolla de Vater, la duodenopancreatectomía total o subtotal es el tratamiento de elección con intención curativa.

- Las alternativas terapéuticas paliativas en tumores irresecables se centran fundamentalmente en la esfinterotomía o la ampulectomía endoscópicas, seguidas de la inserción de una prótesis de malla autoexpandible.

BIBLIOGRAFÍA

Boerma EJ. Research into the results of resection of hilar bile duct cancer. *Surgery* 1990; 108:572-580.

Cherqui D. Traitement des icteres par obstruction tumorale de la voie biliaire principale sous-hilaire. *Gastroenterol Clin Biol* 1993; 17:626-628.

Donahue JH, Nagorney DM, Grant CS, et al. Carcinoma of the gallbladder: does radical resection improve outcome?. *Arch Surg* 1990; 125: 237-246.

Glasbrenner B, Ardan M, Boeck W, et al. Prospective evaluation of brush cytology of biliary strictures during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Endoscopy* 1999; 31:712-717.

Jonas S, Bechstein WO, Keck H et al. Partial or total resection of the biliary tract surgical strategies for hilar cholangiocarcinoma. *Acta Chir Austriaca* 1998; 30:211-214.

Launois B. Cancer proximal des voies biliaires: attitudes thérapeutiques. *Ann Chir* 1993; 47:221-233

Materne R, Van Beers BE, Gigot JF et al. Extrahepatic biliary obstruction: Magnetic resonance imaging compared with endoscopic ultrasonography. *Endoscopy* 2000; 32:3-9.

Menzel J, Hoepffner N, Sulkowski U et al. Polypoid tumors of the major duodenal papilla –preoperative staging with intraductal US, EUS, and CT: a prospective, histopathologically controlled study. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 349-357.

Prat F, Chapat O, Ducot B et al. A randomized trial of endoscopic drainage methods for inoperable malignant strictures of the common bile duct. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 1-7.

Prat F, Chapat O, Ducot B et al. Predictive factors for survival of patients with inoperable malignant distal biliary strictures: a practical management guideline. *Gut* 1998; 42: 76-80.

Rösch T, Allescher D. *Digestive Diseases Week Report*, Orlando, 16-19 May 1999. *Review. Endoscopy* 1999; 31:768-827.

Smith AC, Dowsett JF, Russell RCGG et al. Randomized trial of endoscopic stenting versus surgical bypass in malignant low bile duct obstruction. *Lancet* 1994; 344: 1655-1660.

Yeoh KG, Zimmerman MJ, Cunningham JT et al. Comparative cost of metal versus plastic biliary stent strategies for malignant obstructive jaundice by decision analysis. *Gastrointest Endosc* 1999; 49:466-471.