



**El recto como órgano espejo carcinogénico para detección precoz de cáncer  
colorrectal por medio de la espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica  
(EBIE)**

**Edelberto Mulett Vásquez  
Médico  
Cirujano General  
Cirujano de Colon y Recto**

**Tesis de Doctorado presentada como requisito parcial para optar al título de  
Doctor (Ph.D.) en Ciencias Biomédicas**

**Director: Carlos Augusto González Correa, Médico, Ph.D.  
Co-Director: David Alejandro Miranda Mercado, Ph.D.**

**Universidad de Caldas  
Facultad de Ciencias para la Salud  
Manizales, noviembre 2016**

## Resumen ejecutivo

**Introducción:** La evidencia científica en el siglo XXI, muestra una vía común para muchas enfermedades crónicas, entre ellas el cáncer colorrectal. La exposición crónica a los factores de riesgo produce cambios epigenéticos en el organismo, especialmente en el tracto gastrointestinal. Tales cambios se inician con la disbiosis de la microbiota, la ruptura de las capas de la barrera mucosa, el incremento en la permeabilidad epitelial, la endotoxemia y la metainflamación. Algunos de estos cambios, principalmente el incremento en la permeabilidad epitelial, se pueden reflejar en cambios en las propiedades eléctricas pasivas de la pared intestinal. Basados en la teoría del campo carcinogénico, algunos autores están explorando la posibilidad de la detección temprana del cáncer colorrectal mediante mediciones ópticas de la pared rectal. Nuestra hipótesis es que las mediciones de espectroscopía de bioimpedancia eléctrica en el recto (REBIS), pueden indicar la presencia de cáncer colorrectal, debido a cambios epigenéticos producidos por el efecto de campo carcinogénico, tales como el aumento de la permeabilidad epitelial intestinal.

Esta técnica podría llegar a ser una herramienta de tamizaje más aceptable que los dos métodos más usados actualmente: los test de sangre oculta y la colonoscopia total, careciendo el primero de una buena sensibilidad y especificidad, y el segundo siendo costoso y no muy aceptado por la población general.

**Métodos:** Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Caldas y todos los participantes firmaron el consentimiento informado. Participaron 77 voluntarios (20 hombres, 57 mujeres; el rango de edad fue de 18 – 80 años cumplidos, con una media de 50 años.), previamente citados para colonoscopia total debido a la presencia de síntomas gastrointestinales variados. Antes de la colonoscopia, se utilizó un anoscopio de plástico para introducir la sonda de medición y tomar las lecturas bajo visión directa en los 4 puntos cardinales de la mucosarectal.

**Resultados:** Después de hacer la colonoscopia, de los 77 procedimientos, en 38 se encontró un colon de apariencia sana (normal), 18 mostraron pólipos, 7 cáncer, 6 colitis, y 8 diverticulosis. Posteriormente, para las lecturas obtenidas, empleando el algoritmo de modelado inverso, se obtuvieron los cuatro parámetros del modelo de Cole-Cole ( $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ,  $\tau$  y  $1-\alpha$ ) para tejidos biológicos. Mediante un test de ANOVA a una vía, se demostró que la resistencia eléctrica a baja frecuencia ( $\rho_0$ ), puede separar los pacientes con cáncer colorrectal de aquellos sin cáncer ( $p=0.002$ ). La curva ROC (curva operador-receptor) muestra un área bajo la curva del 83.7%, con una sensibilidad del 71,4% y una especificidad del 84.3%. También se encontraron diferencias en el parámetro  $\tau$  en el punto de medición 09:00 ( $p=0.002$ ).

**Conclusiones:** La disminución en la respuesta eléctrica pasiva de la mucosa rectal en los pacientes con cáncer colorrectal, probablemente obedezca a un aumento de la permeabilidad, debido a alteraciones en las uniones estrechas, una de las posibles manifestaciones del campo carcinogénico en el cáncer colorrectal. Por lo tanto, se propone la EBIE como una alternativa promisorio para el tamizaje de este tipo de patología.

## Executive Summary

**Background:** XXI century scientific evidence is showing a common pathway for many chronic diseases, colorectal cancer (CRC) among them. Chronic exposure to risk factors produces epigenetic changes in the organism, especially in the gastrointestinal (GI) tract. Such changes begin with dysbiosis of microbiota, rupture of the mucus layer barrier, increases in epithelial permeability, endotoxemia and metainflammation. Some of these changes, most prominently increase in epithelial permeability, can be reflected in changes of the passive electric properties of the intestinal wall. Under the theory of field carcinogenesis, some authors are exploring the possibility of early detection of CRC by optical measurements of the rectal wall. We hypothesize that measurements of electrical bioimpedance spectroscopy in the rectum (REBIS) may indicate the presence of colorectal cancer, due to epigenetic changes produced by the carcinogenic field effect, such as increased intestinal epithelial permeability. This technique could come to be a more acceptable screening tool for CRC than the 2 more commonly used nowadays: fecal occult blood tests and total colonoscopy, the former lacking good sensitivity and specificity, the latter being expensive and not well accepted by the general public.

**Methods:** This study was approved by the Ethics Committee of the Universidad de Caldas and all participants signed a written informed consent. 77 volunteers participated (20 males, 57 females; age range 18-80 years old, median 50 years), all of them previously scheduled for total colonoscopy due to the presence of varied gastrointestinal symptoms. Prior to colonoscopy, a plastic anoscope was used to introduce the electrical probe and take readings under direct vision in 4 cardinal points on the rectal mucosa.

**Results:** By colonoscopy, of the 77 procedures in 38 was found a healthy-looking colon (normal), 18 showed polyps, 7 cancers, 6 colitis and 8 diverticula. Subsequently, to the readings achieved and using inverse modeling algorithm, the four Cole-Cole model parameters ( $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ,  $\tau$  and  $1 - \alpha$ ) for biological tissues was obtained. Through a one-way ANOVA showed that rectal wall electrical resistance at low frequency ( $\rho_0$ ) can separate patients with CRC from those with no-cancer

( $p=0.002$ ). The ROC curve (receiver-operating curve) shows an area under the curve of 83,7% with a sensibility of 71,4% and a specificity of 84.3%. Also differences in the  $\tau$  parameter were found in the measurement point 09:00 ( $p=0.000$ ).

**Conclusions:** The decrease in passive electrical properties of the rectal mucosa of patients with CRC, could probably obey to increased permeability due to alterations of the tight junctions, one of the possible manifestations of colorectal field carcinogenesis. Therefore, we propose EBIS as a promising alternative to explore for CRC screening.

## **Agradecimientos**

A mi esposa, a mi hija, a mis padres y hermanos, porque ellos sacrificaron su tiempo para lograr este cometido. A los que no eran y me dieron todo para lograrlo, a los que eran y se fueron, porque al final se mostraron como eran.

Agradecimiento eterno a mis Profesores... por su sacrificio y paciencia con este ser generalmente irracional.

A mi compañera de estudios... quien me acompañó incondicionalmente en esta aventura.

A todos los que merecen mi agradecimiento eterno...Gracias.

## Tabla de contenido

<b>Resumen ejecutivo.....</b>	<b>I</b>
<b>Executive Summary .....</b>	<b>III</b>
<b>Agradecimientos .....</b>	<b>V</b>
<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
<b>ESQUEMA DE LA TESIS .....</b>	<b>1</b>
Aspectos biológicos .....	1
Aspectos Físicos: en relación con la Espectroscopia de la Bioimpedancia Eléctrica .....	1
<b>Introducción.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Generalidades de la Investigación.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Bioimpedancia eléctrica.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Mediciones eléctricas en colon y recto .....</b>	<b>3</b>
1.3.1. Uso de arreglos tetrapolares.....	4
<b>PRESENTACIÓN DE LA TESIS.....</b>	<b>5</b>
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>6</b>
<b>ASPECTOS BIOLÓGICOS Y NUEVAS PERSPECTIVAS .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Tubo digestivo .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Colon y recto.....</b>	<b>7</b>
2.2.1. Funciones.....	7
2.2.2. Estructura macroscópica del colon .....	8
<b>2.3. Estructura y función del recto.....</b>	<b>10</b>
2.3.1. Estructura macroscópica del recto.....	10
2.3.2. Funciones.....	11
2.3.3. Estructura microscópica.....	11

Epitelio.....	16
Ultraestructura .....	17
<b>2.4. El colon revisitado: la nueva perspectiva .....</b>	<b>19</b>
2.4.1. Microbiota.....	20
2.4.2. Moco .....	21
2.4.3. Uniones estrechas .....	22
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>24</b>
<b>CÁNCER DE COLON Y RECTO Y TEORÍA DEL CAMPO CARCINOGENICO</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Epidemiología del cáncer de colon.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2. Manifestaciones clínicas del cáncer colorrectal .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3. Diagnóstico del cáncer colorrectal .....</b>	<b>25</b>
<b>3.4. Tratamiento del cáncer colorrectal .....</b>	<b>25</b>
<b>3.5. Pronóstico del cáncer colorrectal.....</b>	<b>26</b>
<b>3.6. Tamizaje para el cáncer de colon y recto.....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Teoría del efecto de campo carcinogénico (ECC) y cáncer colorrectal en humanos.....</b>	<b>31</b>
3.7.1 Génesis del cáncer colorrectal.....	31
3.7.2 Secuencia adenoma carcinoma.....	32
<b>3.8. Teoría general del efecto de campo carciogénico: el concepto clásico .....</b>	<b>33</b>
<b>3.9. Teoría del efecto de campo carcinogénico: las nuevas perspectivas, teoría de campo etiogénico .....</b>	<b>36</b>
<b>3.10. Efecto de campo carcinogénico y cáncer de colon .....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>43</b>
<b>ESPECTROSCOPIA DE BIOIMPEDANCIA ELÉCTRICA (EBIE) .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1. Dispersiones .....</b>	<b>44</b>



4.1.1. Dispersión $\alpha$ .....	45
4.1.2. Dispersión $\beta$ .....	45
4.1.3. Dispersión $\gamma$ .....	45
<b>4.2. Origen de la dispersión <math>\beta</math> .....</b>	<b>47</b>
<b>4.3. El Modelo de Cole-Cole .....</b>	<b>49</b>
<b>4.4 Parámetro <math>\alpha</math> .....</b>	<b>50</b>
<b>4.5. ¿Qué cambia en el tejido que pueda alterar la respuesta eléctrica pasiva? .....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 Antecedentes de mediciones eléctricas en la pared del colon .....</b>	<b>52</b>
<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	<b>54</b>
<b>ESTUDIOS .....</b>	<b>54</b>
<b>Capítulo 6 .....</b>	<b>100</b>
<b>Discusión General .....</b>	<b>100</b>
<b>CAPÍTULO 7 .....</b>	<b>103</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES .....</b>	<b>103</b>
7.1 Conclusiones .....	103
7.2 Recomendaciones .....	103
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>105</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>128</b>
Anexo N°1 .....	128
Aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Caldas .....	128
Anexo N°2 .....	129
Consentimiento Informado .....	129
Anexo N°3 .....	130

**Consentimiento informado para participación voluntaria en un proyecto de investigación..... 130**

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> El tubo digestivo.....	7
<b>Figura 2.</b> Intestino grueso.....	9
<b>Figura 3.</b> Corte coronal del recto y el conducto anal.....	10
<b>Figura 4.</b> Disposición del epitelio y la bicapa de moco.....	11
<b>Figura 5.</b> Estructura microscópica del intestino grueso.....	11
<b>Figura 6.</b> Mucosa del intestino grueso. Apariencia histológica.....	12
<b>Figura 7.</b> Figura esquemática que muestra el grosor de las 2 capas de moco in vivo en el tracto gastrointestinal de las ratas.....	13
<b>Figura 8.</b> Vías transepiteliales: Vía transcelular y vía paracelular.....	18
<b>Figura 9.</b> Uniones estrechas.....	19
<b>Figura 10.</b> Relación del epitelio y las uniones estrechas.....	19
<b>Figura 11.</b> Hipótesis para la enfermedad metabólica inducida por bacterias.....	21
<b>Figura 12.</b> Sesgo de anticipación y tiempo de permanencia versus los reales beneficios del tamizaje. (Ver explicación en el texto para mayor claridad)...	31
<b>Figura 13.</b> Secuencia adenoma-carcinoma en carcinogénesis colorrectal ..	32
<b>Figura 14.</b> Cancerización de campo.....	33
<b>Figura 15.</b> Ejemplo de campo carcinogénico en el colon. En donde se observan neoplasias en diferentes estadios de evolución, tumores avanzados y pólipos.	34
<b>Figura 16.</b> La carcinogénesis como un proceso de múltiples pasos.....	35
<b>Figura 17.</b> Evolución de las poblaciones clonales.....	36
<b>Figura 18.</b> Comparación del modelo convencional y el modelo etiológico...	37
<b>Figura 19.</b> Manifestaciones tisulares del efecto de campo carcinogénico ...	42
<b>Figura 20.</b> El modelo simplificado de circuito eléctrico equivalente de tres elementos para los tejidos.....	44
<b>Figura 21.</b> Etapas de dispersión y sus respectivas frecuencias.....	45
<b>Figura 22.</b> Flujo de corriente a diferentes frecuencias. ....	47
<b>Figura 23.</b> Modelo de Debye. Fuente: creación del autor.....	50

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Sobrevida por estadios .....	26
<b>Tabla 2.</b> Características de algunos métodos utilizados en el tamizaje del cáncer de colon y recto.....	27

**Lista de cuadros**

**Cuadro 1.** Capas del colon y el recto. .... **14**

## **CAPÍTULO 1**

### **ESQUEMA DE LA TESIS**

Esta tesis se enmarca en el área de la Física Médica y la estructura conceptual tiene el siguiente orden:

#### **Aspectos biológicos**

- Normales
- Fisiopatológicos: cáncer y efecto de campo carcinogénico

#### **Aspectos Físicos: en relación con la Espectroscopia de la Bioimpedancia Eléctrica**

- Física Médica: la combinación de todos los aspectos anteriores.
- Presentación de trabajos de investigación.
- Conclusiones y recomendaciones finales.

## Introducción

### 1.1. Generalidades de la Investigación

El objetivo general de esta investigación fue estudiar los espectros de impedancia eléctrica rectal de pacientes con y sin neoplasias de colon, para buscar un patrón característico en cada uno de los dos grupos de pacientes evaluados, basados en el concepto de campo carcinogénico.

Los métodos actuales de tamizaje para cáncer de colon varían, desde métodos sencillos como la sangre oculta en heces, hasta métodos invasivos como la colonoscopia total (Eisen *et al.*, 2000). Su fin es identificar los pólipos adenomatosos del colon, considerados como los precursores en el desarrollo del adenocarcinoma del colon y el recto o la identificación del cáncer ya establecido (Trowbridge *et al.*, 2002), idealmente en etapas tempranas.

La investigación actual, a nivel mundial, se enfoca en el desarrollo de herramientas que sean capaces de identificar pacientes con cáncer colorrectal, basados en el análisis de una biopsia de apariencia “normal” de un sitio distante (Patel *et al.*, 2015).

Al final del proyecto, se esperaba, a través de la bioimpedancia eléctrica, encontrar datos para clasificar los pacientes en riesgo para el desarrollo de cáncer de colon, mediante las mediciones del espectro en bioimpedancia en el recto distal y basados en el concepto de campo carcinogénico (Slaughter *et al.*, 1953), y recomendar la realización de colonoscopia total como método de tamizaje e identificación temprana de tumores del colon.

Lo anterior se basa en que los tejidos de órganos que están predispuestos a la formación de tumores tienen cambios estructurales que son diferentes al de los tejidos que no lo están (Dakubo *et al.*, 2007) y ciertos órganos sirven de sustitutos para este fin. En el caso que estudiaremos, el recto como sustituto del colon (Kopelovich *et al.*, 1999).

## 1.2. Bioimpedancia eléctrica

La bioimpedancia eléctrica  $Z$ , representa la oposición que muestran los materiales biológicos al paso de una corriente eléctrica alterna. Ésta tiene dos componentes: uno real, que se comporta como resistencia eléctrica ( $R$ ) y se puede asociar con el paso de la corriente a través de los medios intra y extracelulares, y otro imaginario que se comporta como reactancia ( $X_c$ ), determinado por las propiedades dieléctricas de los tejidos, o bien por la acumulación temporal de cargas sobre las membranas celulares o sobre otras interfaces sumergidas en la solución electrolítica. La bioimpedancia se basa en el principio de que los tejidos biológicos se comportan en mayor o menor medida, como conductores de la corriente eléctrica y/o dieléctricos (aislantes), dependiendo de su composición (Piccoli *et al.*, 2002).

La bio-impedancia eléctrica se ha utilizado en el estudio de los tejidos humanos en múltiples campos, desde mediciones de los componentes bioquímicos de los sistemas biológicos como aminoácidos, péptidos, proteínas o ácido desoxirribonucleico, hasta el agua contenida y electrolitos. Es evidente que los métodos dieléctricos pueden ser un complemento para conocer la estructura y las diferencias entre el tejido normal y las células transformadas (Pethig *et al.*, 1987).

## 1.3. Mediciones eléctricas en colon y recto

Se han utilizado las mediciones de bioimpedancia eléctrica en el intestino y específicamente en el colon, para estudiar las características eléctricas del colon y el recto. La bioimpedancia de las capas de células contiene una importante información de las características del estado de las células y puede ser utilizada para observación y evaluación de diferentes fenómenos fisiológicos como la calidad de la adhesión celular como marca de su estado fisiológico (Krusek *et al.*, 2014). Teóricamente, las células que están enfermas, por cáncer o infecciones, tienen alteraciones en su impedancia eléctrica. Estas alteraciones pueden ser atribuidas, entre otros, a cambios en la permeabilidad de la membrana celular, fluidez y deformabilidad, además de la adhesividad y la actividad de los canales



iónicos. Es importante señalar, también, que la impedancia permite observaciones en tiempo real (Abdolahad *et al.*, 2014).

En estudios en ratones, se han encontrado cambios en las propiedades eléctricas del colon distal después de administrar el carcinógeno dimetilhidrazina, productor de cáncer del intestino grueso. Los cambios en la impedancia pueden representar cambios en las uniones estrechas entre las células o alteraciones en la fluidez de la membrana (Davies *et al.*, 1989). Igualmente se han detectado cambios en la conductancia iónica del epitelio en animales sometidos al carcinógeno (Davies *et al.*, 1987). Las alteraciones en las propiedades eléctricas del epitelio pueden indicar una predisposición para cambios malignos subsecuentes, permitiendo que el estudio de propiedades eléctricas de los tejidos epiteliales sea utilizado como una técnica potencialmente útil para identificar pacientes de alto riesgo de cáncer (Davies R *et al.*, 1986).

### **1.3.1. Uso de arreglos tetrapolares**

Se utilizan sondas de 5.5 mm de diámetro con forma de lápiz con 4 electrodos de oro de 1 mm de diámetro, colocados en la punta de la sonda y en forma de círculo. La corriente pasa entre un par adyacente de electrodos que inyectan la corriente y el potencial resultante, el espectro de impedancia, es medido entre los dos electrodos restantes. La sonda evalúa el área de tejido que está por debajo de los 4 electrodos (Abdul S *et al.*, 2006).

## PRESENTACIÓN DE LA TESIS

**Capítulo 2:** se hace una descripción inicial del tubo digestivo, con especial énfasis en el colon y el recto, que son las estructuras del tubo digestivo que están más relacionadas con el proyecto de investigación. Se analiza inicialmente de estos órganos la estructura macroscópica, las funciones y la estructura microscópica, haciendo una descripción de las diferentes capas que constituyen la estructura de estos órganos. Se describen posteriormente la función de la microbiota, el moco y las uniones estrechas.

**Capítulo 3:** se describe la situación del cáncer de colon y recto desde un punto de vista epidemiológico y el contexto clínico. Se hace énfasis en los métodos de tamizaje para esta patología y las implicaciones que tiene este en relación al tiempo de diagnóstico con la sobrevida del paciente. Se incluye igualmente la génesis del cáncer colorrectal y se explica la teoría del campo carcinogénico con el concepto clásico y se incluyen las nuevas perspectivas en donde se denomina campo etiogénico y su relación con el cáncer de colon y recto y algunas de las teorías que lo sustentan.

**Capítulo 4:** se incluyen las bases físicas de la espectroscopia de bioimpedancia eléctrica (EBIE), que constituyen la sustentación teórica de la investigación.

**Capítulo 5:** se incluyen los artículos y resúmenes presentados que sustentan la investigación realizada.

**Capítulo 6:** discusión general.

**Capítulo 7:** conclusiones y recomendaciones.

## CAPÍTULO 2

### ASPECTOS BIOLÓGICOS Y NUEVAS PERSPECTIVAS

#### 2.1. Tubo digestivo

El tubo digestivo es una estructura tubular continua que va de la boca al ano y está en relación directa con el medio externo. A partir del estómago, una sola capa de células epiteliales cilíndricas integra la barrera semipermeable a través de la cual ocurre la captación controlada de nutrientes. Diversas glándulas vacían su contenido en el interior del intestino en algunos puntos precisos de su trayecto, permiten la digestión de los componentes alimenticios y envían señales a segmentos distales. También se advierten funciones importantes de la motilidad que desplaza el contenido intestinal y que culmina en la producción de sustancias de desecho a todo lo largo del intestino, y en la abundante inervación que regula la motilidad, la secreción y la captación de nutrientes, en una forma que, en muchos casos, no depende del sistema nervioso central. También existe un gran número de células endocrinas que liberan sus hormonas y actúan junto con los neurotransmisores para coordinar la regulación global del funcionamiento del tubo digestivo (Barret *et al.*, 2012).

La primera secreción con la cual tienen contacto los alimentos ingeridos es la saliva; la cual contiene diversos componentes orgánicos, que inician la digestión y protegen la cavidad bucal de bacterias. (Barret *et al.*, 2012). El epitelio de la boca es de tipo escamoso estratificado (Kurago Z, 2016).

El esófago se continúa con la boca después de la faringe y sirve como un conducto entre la boca y el estómago. Es un tubo muscular, cuya función es producir el tránsito del alimento ingerido de la boca al estómago (Gyawali *et al.*, 2013). El epitelio del esófago es escamoso estratificado (Takubo *et al.*, 2003).

El alimento es almacenado en el estómago, mezclado con ácido, moco y pepsina; siendo liberado a una velocidad controlada y constante hacia el duodeno. El epitelio es de tipo glandular y está formado por células columnares, encargadas de la secreción de moco y bicarbonato y, por epitelio glandular (Sánchez *et al.*, 2009).

Luego continúa el intestino delgado, el cual proporciona un ambiente líquido en donde comienzan los procesos de digestión y absorción. Cada día se presenta al intestino alrededor de 2.000 ml de líquido ingerido más 7.000 ml de secreciones de la mucosa del tubo digestivo y de las glándulas que desembocan en el mismo. Noventa y nueve por ciento de este líquido se reabsorbe y hay una pérdida diaria de éste en las heces de sólo 200 ml (Barret A *et al.*, 2012). El epitelio que lo recubre es columnar (Perera *et al.*, 1975).

Como bien lo dice su nombre, todas estas estructuras forman un tubo, en donde se procesan los alimentos hasta que finalmente se eliminan los desechos, después de todos los procesos a que es sometido el alimento (figura 1).



Figura 1. *El tubo digestivo.*

Fuente: tomado de Amandaluz (2013)

## 2.2. Colon y recto

### 2.2.1. Funciones

El colon es el segmento final del tubo digestivo, con una longitud promedio de 150 cm (Carey, 1977), siendo sus principales funciones la absorción de agua y electrolitos del contenido semilíquido que proviene del intestino delgado, con el objetivo de convertirlas en contenido sólido y almacenarlo hasta que se pueda

evacuar. La absorción de agua se hace principalmente en la mitad proximal del colon y el almacenamiento en la porción distal.

La función primaria no-motora del colon es la absorción de ~1.3 - 1.8 L de fluidos ricos en electrolitos por día, lo que corresponde al ~90% de la sal y el agua que entran al colon proximal (Kunzelmann *et al.*, 2002). Respecto al epitelio del colon, se han encontrado, además, células con múltiples funciones y de varios tipos: madre, en copa y enteroendocrinas (Sellers *et al.*, 2014).

### **2.2.2. Estructura macroscópica del colon**

El colon, también denominado intestino grueso (figura 2), se extiende desde el ciego, en la unión ileocecal, a continuación del intestino delgado, denominado íleon terminal. El ciego está situado en la fosa iliaca derecha y algunas veces presenta variaciones anatómicas que lo localizan un poco más arriba hacia el abdomen o más abajo hacia la pelvis. En el ciego se destaca el apéndice cecal, que es una prolongación de este. Al dirigirse hacia arriba, por el borde lateral derecho del abdomen, toma el nombre del colon ascendente, llegando hasta el área denominada hipocondrio derecho, en donde puede tomar contacto con el hígado. Allí cambia de dirección, hacia la línea media, formando la flexura o ángulo hepático, iniciando el colon transverso, el cual se continúa hasta el hipocondrio izquierdo, en donde puede tomar contacto con el bazo. En este sitio se dirige hacia abajo, después de formar el ángulo esplénico, denominándose colon descendente, y llegando a la pelvis en donde se denomina colon sigmoide, teniendo en promedio la totalidad del colon una longitud de 1.5 metros. Allí se dirige hacia abajo en la pelvis y se convierte en el recto cuando sobrepasa la reflexión peritoneal (Standring, 2008).

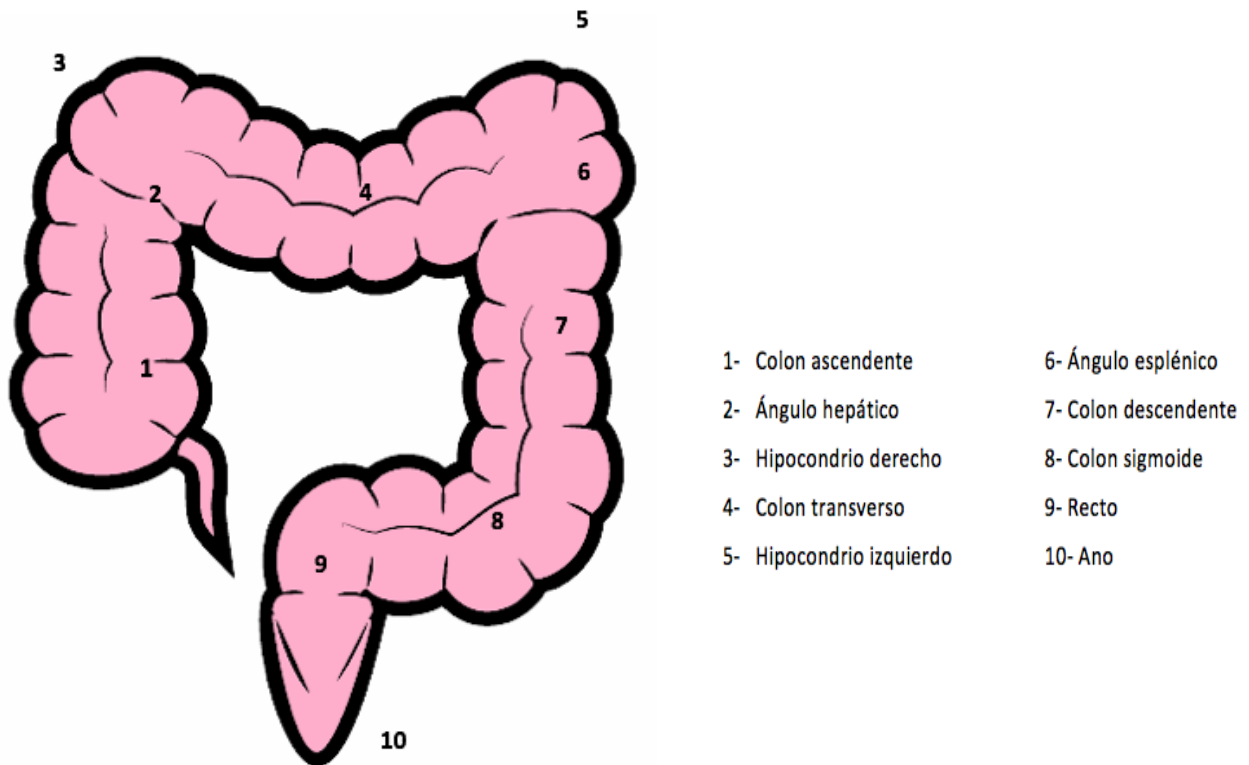


Figura 2. Intestino grueso.  
Fuente: modificado de Tenochrey.

## 2.3. Estructura y función del recto

### 2.3.1. Estructura macroscópica del recto

El recto (figura 3) se encuentra a continuación del colon sigmoide, a nivel de la tercera vertebra sacra, y termina en la parte superior del canal anal. La unión anorrectal está 2 – 3 cm en frente o un poco por debajo de la punta del cóccix. El recto tiene una longitud variable, pero se define una longitud de aproximadamente 15 cm por encima del margen anal externo. El diámetro inicial es similar al del colon sigmoide y se va dilatando en sentido distal hasta convertirse en la ampolla rectal. Las tenías del colon, que son el engrosamiento de la capa muscular longitudinal del colon, formando cintillas que se extienden en toda la longitud del colon, se unen aproximadamente 5 cm por encima de la unión rectosigmoidea, formando dos amplias bandas musculares que descienden anterior y posteriormente en la pared rectal; éstas, al unirse, forman la capa muscular longitudinal del recto. Tiene tres pliegues transversos, que están en una localización variable y que delimitan las tres porciones anatómicas de este, inferior, media y superior (Standring, 2008).

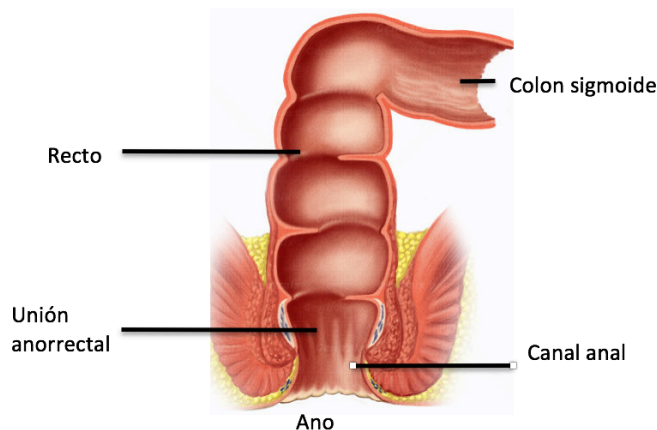


Figura 3. Corte coronal del recto y el conducto anal

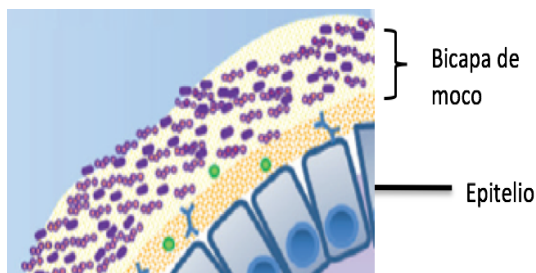
Fuente: modificado de Centralx (2011)

### 2.3.2. Funciones

La distensión del recto por las heces inicia contracciones reflejas de su musculatura y el deseo de defecar. Con el esfuerzo para poder evacuar, los músculos abdominales se contraen, el piso pélvico desciende 1 a 3 cm. y se relaja el músculo puborrectal. Se reduce el ángulo anorrectal a 15 grados o menos. Esto se combina con la relajación del esfínter anal externo y se produce la defecación (Barret A *et al.*, 2012).

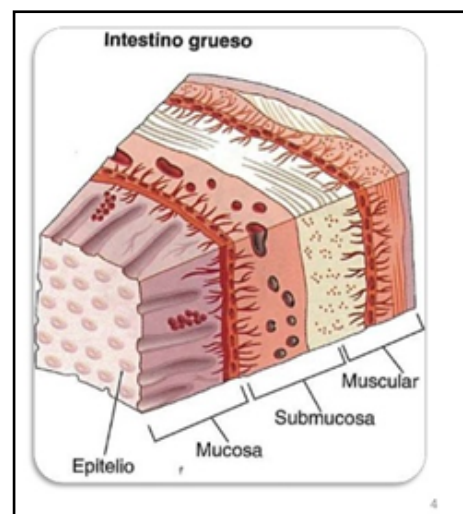
### 2.3.3. Estructura microscópica

El conocimiento de la anatomía microscópica del intestino grueso (figuras 4,5 y 6) es de suprema importancia para entender varios de sus procesos patológicos.



**Figura 4.** Disposición del epitelio y la bicapa de moco.

**Fuente:** Modificado de Khosravi *et al.*, (2013) Curr Opin Microbiol



**Figura 5.** Estructura microscópica del intestino grueso

**Fuente:** tomado de 4.bp.blogspot.com



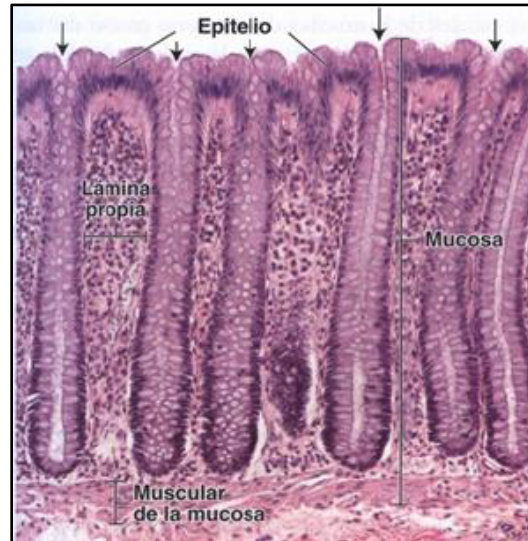


Figura 6. *Mucosa del intestino grueso. Apariencia histológica*  
 Fuente: tomado de Atlas de histología vegetal y animal (2015)

El primer componente de la pared del colon, es la capa de moco que recubre el epitelio (figura 7). El moco es secretado por las superficies epiteliales a lo largo del tracto gastrointestinal desde el estómago al colon. Es una secreción que forma un gel que se adhiere a la superficie y proporciona una barrera protectora entre el epitelio subyacente y el lumen, haciendo contención de agentes nocivos, hidrolasas destructivas y microorganismos (Atuma *et al.*, 2001). Las proteínas del moco son producidas por las células en copa (*goblet cells*) en el epitelio del intestino (Thiagarajah *et al.*, 2014). La capa de moco provee la primera línea de defensa contra xenobióticos, microbios, virus, hongos, y protozoarios, aunque las bacterias probióticas se pueden interpretar como la primera línea de defensa (González Correa, comunicación personal, 2016). El moco es un gel polimérico hidratado con un grosor de 50 a 800  $\mu\text{m}$ , el cual está compuesto por dos capas: una capa poco adherida que se remueve con succión y una capa firmemente unida a la mucosa. El gel mucoso es compuesto principalmente por mucina MUC2 (una glicoproteína), agua (~65%) y otras glicoproteínas (1%-10%) (Corazziari, 2009). Finalmente no parece haber diferencia entre el moco del colon y del recto, compartiendo las mismas características (Filipe, 1969).

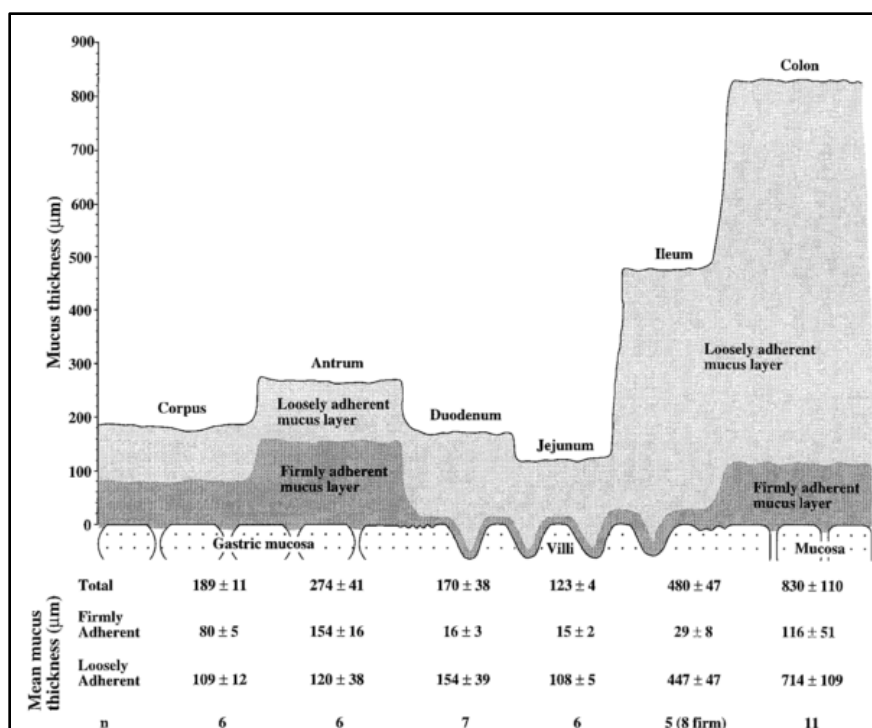
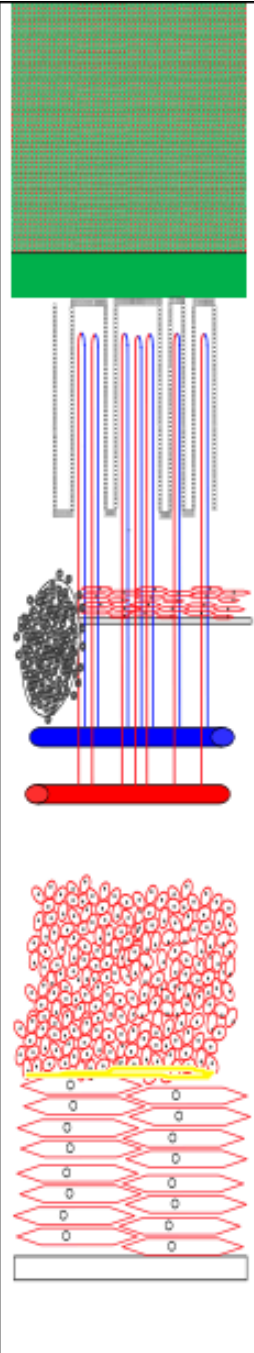


Figura 7. Figura esquemática que muestra el grosor de las 2 capas de moco *in vivo* en el tracto gastrointestinal de las ratas

Fuente: tomado de Atuma *et al* (2001). Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.

En el cuadro 1 se describen las diferentes capas del colon y recto:

Cuadro 1. Capas del colon y el recto.



<b>Moco</b>	<b>Bicapa de moco</b>	<b>Capa de moco externa o luminal (hábitat de la microbiota colónica)</b>	<b>700 <math>\mu\text{m}</math></b>
		<b>Capa de moco interna o epitelial</b>	<b>100 <math>\mu\text{m}</math></b>
<b>criptas</b>	<b>Epitelio</b>	<b>Zonula occludens (uniones estrechas)</b>	<b>700 <math>\mu\text{m}</math></b>
<b>Mucosa</b>		<b>Zonula dherens (uniones intermedias)</b>	
		<b>Macula adherens (desmosomas)</b>	
		<b>Membrana basal</b>	
	<b>Lamina propia Muscular de la mucosa</b>	<b>Tejido conectivo laxo</b>	<b>ND</b>
<b>Submucosa</b>	<b>Tejido conectivo</b>	<b>Tejido conectivo denso</b>	<b>800 <math>\mu\text{m}</math></b>
	<b>Plexo submucoso (o de Meissner)</b>	<b>Tejido nervioso</b>	
<b>Muscular propia</b>	<b>Capa muscular circular</b>	<b>Tejido muscular liso</b>	<b>800 <math>\mu\text{m}</math></b>
	<b>Plexo mientérico</b>	<b>Tejido nervioso</b>	
	<b>Capa muscular longitudinal</b>	<b>Tejido muscular liso</b>	<b>ND</b>
	<b>(Tenias)</b>	<b>(Tejido muscular liso)</b>	
	<b>Serosa</b>	<b>Celulas epiteliales</b>	<b>0.05-0.1 <math>\mu\text{m}</math></b>
	<b>Mesenterio</b>		<b>ND</b>

Fuente: Gonzáles Correa (comunicación personal)

La capa que sigue a continuación es la mucosa con una profundidad aproximada de 700  $\mu\text{m}$  (Stubbs *et al.*, 1998) y la cual está compuesta por tres divisiones. La primera es una capa de células epiteliales de tipo columnar con una serie de hendiduras o criptas caracterizadas por túbulos rectos que se encuentran paralelos y cerca uno del otro y no se ramifican (glándulas de Lieberkün). Las criptas están empaquetadas y estrechamente distribuidas de manera uniforme ( $>6$  por  $\text{mm}^2$ ) (Langner C, 2012). Las criptas colorrectales normales son derechas, paralelas y se extienden inmediatamente por encima de la muscular de la mucosa a la superficie (Jenkins *et al.*, 1997). La superficie del epitelio alrededor de las aperturas de las criptas consiste en células columnares simples con algunas células caliciformes. Los túbulos están rodeados predominantemente por células caliciformes, excepto en la base de las criptas en donde están las células indiferenciadas, así como las células enterocromafines y las captadoras de precursores de las aminas. La segunda división de la mucosa es la lámina propia, compuesta de un estroma de tejido conectivo que contiene capilares, células inflamatorias y folículos linfoides. La tercera división es la muscularis mucosa, que es una delgada lámina de fibras de músculo liso que incluye la red de linfáticos.

Por debajo de la muscularis mucosa está la submucosa, una capa de tejido conectivo y colágeno que contiene vasos, linfáticos y el plexo de Meissner. Sus fibras de colágeno se organizan en capas con un grosor de 0.5 – 2.0  $\mu\text{m}$  (Thomson *et al.*, 1986), el cual varía entre el lado derecho y el izquierdo del colon (Thomson *et al.*, 1987).

La siguiente capa es la muscular propia, que está formada por una capa circular interna y una longitudinal externa. La capa circular interna no es una lámina uniforme, siendo dividida en bandas por hendiduras de tejido conectivo que penetran todo el grosor del músculo. La capa muscular externa cubre todo el colon como una cubierta continua. Las tenias son bandas continuas de músculo longitudinal de grosor variable en el colon (Pace *et al.*, 1969). En la superficie externa del músculo circular hay grupos de células ganglionares con sus ramificaciones, las cuales forman el plexo mientérico de Auerbach. Fibras

postganglionares no mielinizadas penetran el músculo para comunicarse con el plexo submucoso.

La capa más externa, la cual está ausente en el recto, es la serosa o el peritoneo visceral. Esta capa contiene vasos sanguíneos y linfáticos.

### ***Epitelio***

El epitelio, además de ser el sitio en donde se hace la absorción de nutrientes, forma otra línea de defensa, organizado en diferentes capas, bacterias amigables (probióticas), capa laxa de moco (hábitat de las bacterias), capa dura de moco adherida al epitelio (libre de bacterias), epitelio (células y membrana basal) y sistema inmune, separando el cuerpo del lumen del intestino (Yun *et al.*, 2015). La primera y principal característica de esta barrera fisiológica no sólo es separar los fluidos, sino que también interviene en la absorción de solutos de un compartimiento a otro o secretando otros.

Un tejido epitelial tiene varios elementos para ejercer su función. Hay secreciones luminales tales como el moco o capas ordenadas en la parte superior de la superficie apical de la membrana de la superficie del tejido. Hay células epiteliales cuyas membranas plasmáticas lipídicas son sistemas de transporte altamente específicas que constituyen un formidable obstáculo al paso transepitelial de muchas moléculas (Mullin *et al.*, 2005). Otro componente estructuralmente importante es la membrana basal, formada por matrices extracelulares asociadas a las células y que cubre el aspecto basal de las células epiteliales y rodea el músculo, la grasa y las células de Schwann (células que recubren los axones nerviosos de las neuronas). La mayoría de las membranas basales tienen un espesor de 50 – 100 nm, pero algunas especializadas son más gruesas (Hohenester *et al.*, 2013). La función central de la membrana basal es proporcionar resistencia mecánica a los tejidos epiteliales y un soporte sólido de unión a las células que los componen.

### ***Ultraestructura***

Se refiere a la morfología tisular que está por debajo de la resolución de la histopatología del microscopio óptico y engloba las suborganelas y las escalas macromoleculares, típicamente en el orden de cientos a decenas de nanómetros (Yi *et al.*, 2014).

El transporte (Figura 8) de solutos ocurre a través de la membrana celular por la vía transcelular, por los mecanismos de transporte pasivo a través de la membrana, formación de canales o endocitosis (Komin *et al.*, 2016). Otro mecanismo de transporte es por la vía paracelular, en donde las uniones estrechas forman una barrera semipermeable, que controla la difusión de solutos de acuerdo al tamaño y la carga y actúan como una muralla que restringe la difusión de lípidos entre los sitios apical y basolateral de la membrana (Balda *et al.*, 2016).

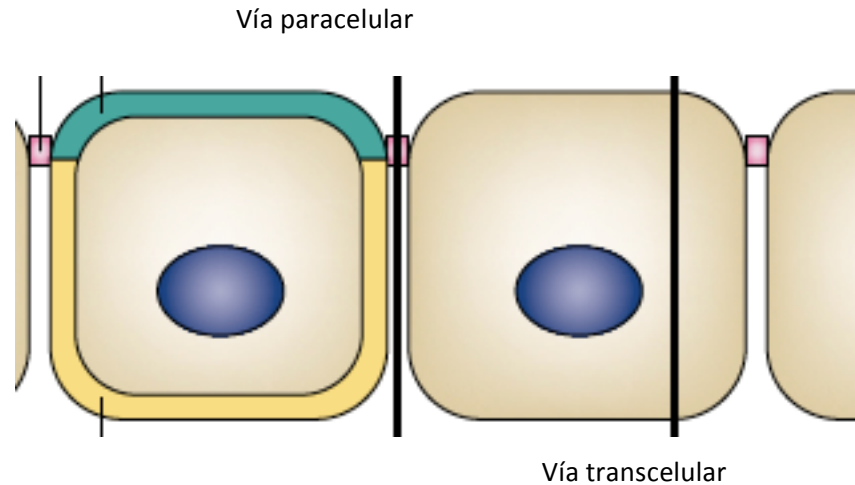


Figura 8. Vías transepiteliales: Vía transcelular y vía paracelular. Fuente: Modificada de Sukita *et al.*, (2001)

Las células epiteliales están unidas por una serie de uniones intercelulares. Las uniones estrechas funcionan como una puerta semipermeable que regula el movimiento pasivo de fluidos lumenales y solutos a través de la vía paracelular. Adicionalmente, las uniones estrechas funcionan como una barrera que limita la difusión pasiva de proteínas y lípidos entre la cara externa de la membrana, en posición apical y basolateral (Laukoette *et al.*, 2006).

Desde el punto de vista ultraestructural, los elementos del complejo de unión se identifican como zonula ocludens (unión estrecha), zonula adhaerens (unión intermedia), y macula adhaerens (desmosoma), seguidas una de otra en una dirección apical-basal (figuras 9 y 10).

**a- La zonula ocludens (unión estrecha):** es caracterizada por la fusión de las membranas celulares adyacentes resultando en obliteración del espacio intercelular a distancias variables.

**b- La zonula adhaerens (unión intermedia):** es caracterizada por la presencia de un espacio intercelular (20  $\mu\text{m}$ ) ocupado por un material homogéneo, aparentemente amorfo de baja densidad.

**c- El desmosoma o mácula adhaerens:** es también caracterizado por la presencia de un espacio intercelular (24  $\mu\text{m}$ ) el cual, en este caso, contiene un disco central de material denso.

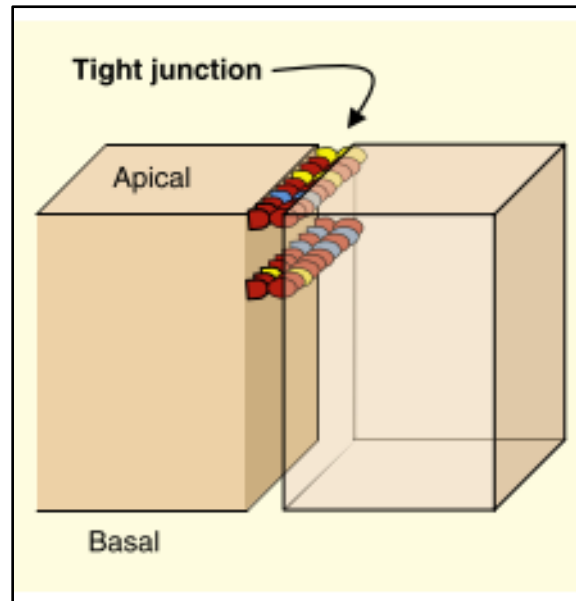


Figura 9. *Uniones estrechas*  
Fuente: Tomado de Anderson *et al.*, (2008)

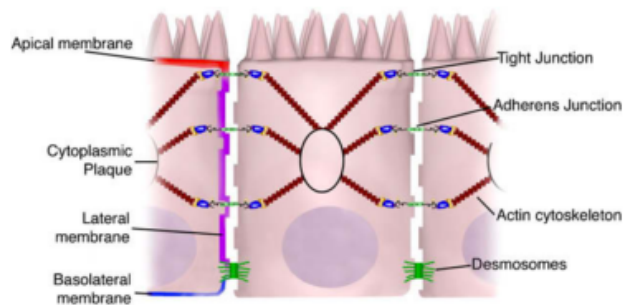


Figura 10. *Relación del epitelio y las uniones estrechas.*  
Fuente: tomado de Groschwitz *et al.*, (2009)

## 2.4. El colon revisitado: la nueva perspectiva

“Toda enfermedad comienza en el intestino”

Hipócrates

En el pasado, se prestaba poca atención a la fisiología normal del colon, quedando limitado a un simple tubo que manejaba el agua y los desechos. Ciertamente, el colon es esencial para la reabsorción de agua, electrolitos y



vitaminas, así como para el movimiento de los desechos para la excreción. Sin embargo, en los últimos años, se ha comenzado a dilucidar la complejidad de la homeostasis colónica y la importancia de los trillones de microbios que viven allí: la microbiota (Sellers *et al.*, 2014).

#### **2.4.1. Microbiota**

Respecto a los beneficios para la salud humana, la microbiota contribuye a la digestión de alimentos, a la nutrición, al procesamiento y en algunos casos a la detoxificación de xenobióticos, a la regulación del metabolismo humano, al desarrollo y diferenciación terminal de la mucosa del huésped, la educación y regulación del sistema inmune respecto al reconocimiento y las respuestas, integridad de la función de barrera y prevención de la colonización e invasión del huésped por patógenos (Relman, 2013). Hay  $10^{14}$  bacterias en el intestino humano con un peso equivalente aproximado a 1.5 – 2 kg. Los Bacteroidetes y los Firmicutes son las divisiones principales en la microbiota intestinal del adulto humano seguidas de Actinobacteria, Proteobacteria y Verrucomicrobia (Cipe *et al.*, 2015). Las bacterias comensales residen en dos compartimientos en el intestino grueso, el primero llamado compartimiento luminal, el cual consiste de bacterias transitorias, y el compartimiento adherente a la mucosa, el cual consiste de bacterias residentes (Savage, 1977). Los monosacáridos liberados de la mucina son usados por las bacterias comensales como una fuente de energía, además de los carbohidratos no digeridos del alimento. Estos monosacáridos son convertidos en ácidos grasos cortos por el metabolismo bacteriano y estos pueden difundirse a través de la capa interna de moco. Por esta ruta, los carbohidratos proveen un gran fuente de energía al epitelio y al huésped (Hansson, 2012). Los cambios en la microbiota intestinal controlan la endotoxemia metabólica, la inflamación y los desórdenes asociados por un mecanismo que puede aumentar la permeabilidad intestinal (Cani *et al.*, 2008) (Figura 11).

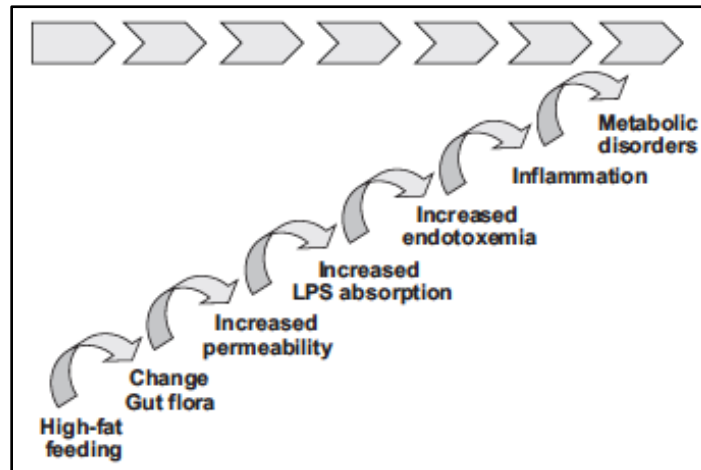


Figura 11. Hipótesis para la enfermedad metabólica inducida por bacterias.  
Fuente: tomado de Cani *et al.* (2008)

#### 2.4.2. Moco

Las superficies epiteliales están revestidas por un gel de moco viscoelástico que lubrica y protege la mucosa del ambiente externo, incluyendo fuerzas mecánicas y físicas, organismos enteroinvasivos y toxinas bacterianas. Las glicoproteínas del moco (las mucinas) son los componentes macromoleculares mayores del moco (Aksoy & *et al.*, 2004), siendo la principal en el colon la MUC2 (Johansson *et al.*, 2013). El moco es una compleja mezcla que contiene anticuerpos, inmunoglobulina A e inmunoglobulina G,  $\alpha$ -defensinas, lisozimas, lectinas y lipopolisacáridos. Estos componentes influyen la microbiota comensal y contribuyen sustancialmente a la capacidad del moco a retener y a eliminar potenciales patógenos (McGuckin *et al.*, 2011). La función biológica primaria asignada a las mucinas secretadas en el tracto gastrointestinal, es actuar como un gel protector entre el epitelio y la luz, constituyendo la capa adherente que es continua y de un grosor de 150  $\mu\text{m}$  en el colon humano, creando un microambiente estable y acuoso el cual es permeable a iones y solutos de bajo peso molecular, formando una barrera física a las moléculas grandes, proteasas y algunas toxinas (Allen *et al.*, 1998). Varias condiciones inflamatorias, benignas (pólipos hiperplásicos), premalignas (adenomas) y malignas del colon, están asociadas con alteraciones en la expresión, organización y glicosilación de la

mucina, lo cual tiene impacto en el funcionamiento de esta. Las aberraciones de la mucina afectan una variedad de actividades celulares, incluyendo el crecimiento, la diferenciación, la transformación, la adhesión, la invasión y la vigilancia inmune (Krishn *et al.*, 2016).

### **2.4.3. Uniones estrechas**

Las uniones estrechas juegan un papel crítico en establecer y mantener la polaridad epitelial celular actuando como una barrera de difusión al movimiento de las proteínas y lípidos dentro de la membrana plasmática. Además juegan un papel fundamental en la organización de diversos procesos tales como morfogénesis, polaridad celular, proliferación celular y diferenciación (Huo *et al.*, 2009).

Una característica del cáncer es la pérdida de la organización celular. El grado histológico de los carcinomas colorrectales es una variable pronóstica importante y depende del grado de diferenciación glandular y de la polaridad celular. Las neoplasias colorrectales pobremente diferenciadas, de alto grado, son usualmente más agresivas que las neoplasias bien diferenciadas de bajo grado y uno de los componentes moleculares clave que rigen la adhesión y la polaridad son las uniones estrechas, reportándose, además, que las células neoplásicas frecuentemente exhiben deficiencias estructurales y funcionales de estas (Resnick *et al.*, 2005). Incluso, se ha encontrado que alteraciones en algunas proteínas constitutivas se convierten en factores pronósticos para el cáncer colorrectal (Kinugasa *et al.*, 2010). También, específicamente en cáncer, se ha propuesto que el incremento en la permeabilidad de las uniones estrechas constituye un factor crítico para determinar el crecimiento de las células epiteliales para su transformación en tumores, actuando como un evento epigenético promocional del cáncer de colon (Soler *et al.*, 1999). La disrupción de la adhesión célula a célula es indispensable para el crecimiento del cáncer. Si las células cancerígenas proliferan mientras mantienen una fuerte adhesión célula a célula tendrán un crecimiento expansivo similar al de los tumores benignos, y nunca harán

metástasis a órganos distantes o invadirán los tejidos vecinos. Algunos carcinomas carecen por completo de la expresión de caderina y muestran una apariencia histológica desorganizada, sugiriendo que la pérdida de la expresión de esta libera las células de la fuerte adhesión célula a célula, dándoles ciertas propiedades específicas relacionadas con el cáncer, permitiendo mayor invasividad y permitiendo la progresión del cáncer (Shimoyama *et al.*, 1992).

Estas alteraciones de las uniones estrechas en cáncer, que se vuelven permeables, se han comprobado con una disminución de la resistencia a la corriente eléctrica (resistencia eléctrica transepitelial) (Shin *et al.*, 2011).

## CAPÍTULO 3

### CÁNCER DE COLON Y RECTO Y TEORÍA DEL CAMPO CARCINOGENÉTICO

#### 3.1. Epidemiología del cáncer de colon

A nivel mundial, el cáncer colorrectal, es la tercera causa más frecuente de cáncer en hombres, después del pulmonar y del prostático, y el segundo más frecuente en mujeres después del de seno, con más de 1.360.000 casos por año (10% de la carga total de cáncer) (Valle *et al.*, 2015). El cáncer colorrectal es también una causa importante de muerte, situándose en cuarto lugar después del de pulmón, hígado y estómago (Stracci *et al.*, 2014). La incidencia de cáncer colorrectal es baja hasta la edad de 45 – 50 años, pero progresivamente se incrementa con la edad, estando los hombres con mayor riesgo que las mujeres (Tarraga *et al.*, 2014). En Colombia, para el año 2.008 se diagnosticaron 60.000 casos nuevos de cáncer y ocurrieron 34.000 muertes por esta causa; de las cuales aproximadamente el 7 % corresponden a cáncer colorrectal (Cortés *et al.*, 2014).

Según la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer, la incidencia de cáncer colorrectal en Colombia es de 7.9% con una mortalidad de 8.5% del total de cáncer en el país. (Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012).

Se han encontrado múltiples factores de riesgo para el desarrollo del cáncer colorrectal: historia personal de pólipos adenomatosos, historia personal de enfermedad inflamatoria intestinal, historia familiar de cáncer colorrectal o pólipos adenomatosos. Además, están los factores ambientales como ciertos hábitos nutricionales, sedentarismo y obesidad, tabaquismo y consumo alto de alcohol (Haggard *et al.*, 2009).

#### 3.2. Manifestaciones clínicas del cáncer colorrectal

Los síntomas gastrointestinales son comunes, aún en ausencia de patología, y hay una amplia sobreposición de sintomatología para causas malignas y benignas

encontrando que sólo 10-14% de los pacientes con sintomatología específica tienen malignidad (Hall, 2011).

Hay síntomas y signos que deben alertar sobre la posible presencia de un cáncer de colon o recto:

- a- Cambios del hábito intestinal principalmente en mayores de 60 años.
- b- Sangrado rectal persistente principalmente en mayores de 60 años.
- c- Cambios del hábito intestinal y sangrado rectal principalmente en mayores de 40 años.
- d- Masa palpable en la parte inferior del abdomen o en el recto.
- e- Anemia por deficiencia de hierro.

### **3.3. Diagnóstico del cáncer colorrectal**

La colonoscopia es el estándar de oro para el diagnóstico de cáncer colorrectal. El estudio de anatomía patológica de la biopsia o el espécimen quirúrgico hacen el diagnóstico definitivo.

### **3.4. Tratamiento del cáncer colorrectal**

Respecto al cáncer de colon el tratamiento es habitualmente quirúrgico, aunque influyen en este el estadio local o las lesiones a distancia. El cáncer de recto superior se trata con las mismas indicaciones del cáncer de colon y el cáncer rectal situado en recto medio e inferior es tratado con radioterapia y quimioterapia, inicialmente, y, posteriormente, con cirugía, también dependiendo del estadio inicial.

### 3.5. Pronóstico del cáncer colorrectal

El pronóstico y, por lo tanto, la sobrevivencia al cáncer colorrectal, dependen del estadio clínico en que se haga el diagnóstico y el tratamiento. En la tabla 1 se muestra la sobrevivencia a 5 años, siendo este el rango de tiempo con el que se estadifica la sobrevivencia general del cáncer.

Tabla 1. *Sobrevivencia por estadios*

<b>TNM</b> (TUMOR-NÓDULO-METASTASIS)	<b>Extensión a</b>	<b>Sobrevivencia global a 5 años</b>
Tis N0 M0	Carcinoma <i>in situ</i>	Probablemente normal
T1 N0 M0	Mucosa o submucosa	> 90%
T2 N0 M0	Muscular propia	> 85%
T3 N0 M0	Subserosa/tejido pericólico	> 80%
T4 N0 M0	Perforación en el peritoneo visceral o invasión a otros órganos	72%
T1-2 N1 M0		60 – 83%
T3 – 4 N1 M0		42 – 64%
T1 – 4 N2 M0		27 – 44%
Cualquier T cualquier N M1	Metástasis a distancia	< 10%

Fuente: modificado de Van Cutsmen (2007)

### 3.6. Tamizaje para el cáncer de colon y recto

La mayoría de las guías de práctica clínica recomiendan la iniciación del tamizaje del cáncer colorrectal a la edad de 50 años, cuando el riesgo empieza a incrementarse, con miras a su detección temprana y remoción de los precursores

del mismo (Lieberman *et al.*, 2014). El cáncer colorrectal es un tipo de cáncer para el cual el tamizaje es particularmente efectivo, lo cual permite detectar pólipos adenomatosos, considerados precursores del cáncer y que pueden ser exitosamente removidos, previniendo de este modo la ocurrencia del cáncer. El tamizaje también puede detectar el cáncer colorrectal en una etapa temprana, cuando este es muy susceptible al tratamiento, evidenciado por el hecho que el 90% de los pacientes diagnosticados con enfermedad localizada están vivos 5 años después del diagnóstico (Tabla 1) (Levin B *et al.*, 2003). Aunque las estrategias de tamizaje (sangre oculta en las heces, colonoscopia) han supuesto un gran avance en la detección temprana de esos tumores, ellos están asociados con inconvenientes tales como costo y morbilidad (Manzano *et al.*, 2012).

Un método efectivo de tamizaje debe: 1) encontrar las malignidades lo más temprano posible, de modo que los tratamientos sean efectivos, y 2) dar más beneficios que daño cuando se aplique a la población objeto (Barret *et al.*, 2011).

La muerte causada por cáncer colorrectal puede ser prevenida por la detección de los estados tempranos de la enfermedad, cuando no ha hecho metástasis. La enfermedad, por si misma puede ser prevenida por la detección y remoción de adenomas colorrectales, de los cuales proviene el cáncer en más del 95 % de los casos (Walsh *et al.*, 2003).

Los exámenes recomendados para el tamizaje del cáncer colorrectal se agrupan en 2 categorías: 1) exámenes que detectan primariamente el cáncer, los cuales incluyen el examen de sangre oculta en heces (guayaco), el análisis inmunohistoquímico de la sangre oculta en heces y los exámenes de materia fecal para ADN exfoliado; y 2) los exámenes que pueden detectar el cáncer y las lesiones avanzadas, los cuales incluyen exámenes endoscópicos y radiológicos (Smith *et al.*, 2015).

Los métodos a considerar para el tamizaje del cáncer colorrectal son (tabla 2):

Tabla 2. Características de algunos métodos utilizados en el tamizaje del cáncer de colon y recto.



Método	Sensibilidad	Especificidad	Costo USD	Dificultad	Ventajas	Desventajas
Sangre oculta en heces	30 – 92%	90 – 99%	22	No	Fácil	Poca aceptación
Colon por enema	86 – 90%	95%	250 - 500	Si	--	Poca aceptación
Sigmoidoscopia flexible	70 – 80%	--	500 - 750	No	Fácil	Poca aceptación
Colonoscopia Total	> 90%	--	1000 - 1500	Si	Standard de oro	Poca aceptación
Colonografía por TAC	85 -90%	85 -90%	400 - 800	No	Fácil	Radiación
Exámenes Inmuno-histoquímicos	76.5%	95.3%	22	No	Fácil	Poca aceptación

Fuente: creación propia

- **Sangre oculta en heces:** los estimativos de múltiples estudios randomizados de tamizaje para el cáncer colorrectal con este método consistentemente muestran una reducción en la mortalidad del 15 – 33% (Shaukat *et al.*, 2013). La sensibilidad reportada para el examen va del 30% al 92%, con una especificidad del 90% al 99%. El valor predictivo de un examen positivo para cualquier cáncer del colon se ha determinado entre el 5% y el 18% (Trowbridge *et al.*, 2002).
- **Colon por enema de bario de doble contraste:** un estudio retrospectivo evaluó la efectividad diagnóstica del colon por enema de doble contraste, encontrando una efectividad del 5.1% para lesiones neoplásicas  $\geq 10$  mm y 6.2% para lesiones neoplásicas avanzadas independiente del tamaño siendo valores más bajos que la colonoscopia (Yee *et al.*, 2014).
- **Sigmoidoscopia flexible:** el tamizaje para cáncer colorrectal con sigmoidoscopia está basado en la capacidad de detectar lesiones

neoplásicas en el colon distal así como en el hecho que los hallazgos distales predicen el riesgo de neoplasias proximales avanzadas (Castells *et al.*, 2013).

- **Colonoscopia total:** se ha propuesto como el mejor método disponible (Serag *et al.*, 2006).
- **Colonografía por tomografía computada:** no ha logrado evidencia suficiente para justificar su uso como un método masivo de tamizaje. (Laghi *et al.*, 2010). La colonografía por tomografía computada tiene una sensibilidad comparable con la colonoscopia para cáncer colorrectal y adenomas precursores grandes ( $\geq 10$  mm) (Haan *et al.*, 2015).
- **Alteraciones del ADN en materia fecal:** los exámenes de tamizaje que buscan el ADN alterado en las heces pueden ser un abordaje promisorio, sin embargo se necesitan más estudios (Ko *et al.*, 2006).
- **Exámenes inmunoquímicos:** cuantifican el nivel de la hemoglobina y han reemplazado el estudio de sangre oculta con sensibilidad en algunos estudios del 76.5% y especificidad del 95.3% para la detección de neoplasias avanzadas, siendo su principal desventaja el alto costo (Huang *et al.*, 2015).

La colonoscopia es el examen dominante para la prevención del cáncer colorrectal. Aunque su superioridad como método diagnóstico y terapéutico no se cuestiona, han habido preocupaciones acerca de su papel como modalidad de tamizaje, debido a que la evidencia ha mostrado una disminución en la efectividad en el lado derecho del colon (Kahi *et al.*, 2013).

Aún si la aceptación del examen se pudiera mejorar, es imposible hacer colonoscopia a toda la población de riesgo debido a la restricción de recursos. Además, parece que sólo el 20% al 30% tienen neoplasias y sólo el 5% de ellos son relevantes en el tamizaje. Por lo tanto, la mayoría de las colonoscopias son retrospectivamente innecesarias, por lo cual se considera que desarrollar un pre-

tamizaje a la colonoscopia es un asunto crítico (Damania *et al.*, 2012; Roy, *et al.*, 2006).

El examen óptimo para el tamizaje debe reducir la necesidad de un procedimiento invasivo, reducir el costo, mejorar la aceptación para el examen, y poder seleccionar adecuadamente aquellos individuos que requieran la remoción colonoscópica de una lesión neoplásica (Link A *et al.*, 2010).

Por lo tanto, sería ideal detectar los pacientes que están en riesgo de desarrollar las lesiones premalignas o el cáncer es decir en una etapa subclínica, o mejor, que la detección óptima sería en una etapa molecular, que es en cuando se podría afectar el curso de la enfermedad. El preámbulo, antes de que una neoplasia se haga visible, es más largo y, probablemente, más importante de lo que generalmente se cree (Rubin, 2011). De acuerdo a la hipótesis planteada, con base en la teoría del efecto de campo carcinogénico, se podría pensar en un tamizaje para detectar personas en riesgo alto de desarrollar cáncer colorrectal, antes que la enfermedad aparezca, o sea, esto sería en el “tiempo de permanencia” (dwelling time) (Rozen, 2004). El esquema siguiente nos da una idea del planteamiento ideal (figura 12): La línea A representa la evolución

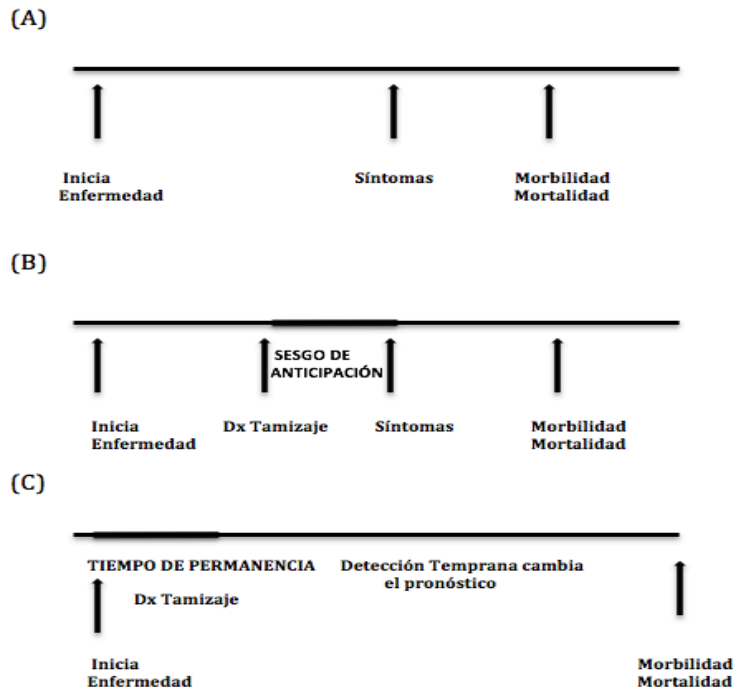


Figura 12. Sesgo de anticipación y tiempo de permanencia versus los reales beneficios del tamizaje. (Ver explicación en el texto para mayor claridad).

Fuente: Rozen (2004).

de la enfermedad sin tamizaje. La línea B representa el sesgo de anticipación. A pesar que el diagnóstico de la enfermedad se hace antes por el tamizaje, debido a este sesgo no cambia el resultado de la enfermedad. La línea C representa el beneficio de un buen tamizaje temprano, el cual cambia el resultado retrasando la aparición de morbi/mortalidad.

### 3.7 Teoría del efecto de campo carcinogénico (ECC) y cáncer colorrectal en humanos

#### 3.7.1 Génesis del cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal es una enfermedad que se origina de factores etiológicos y factores patogénicos complejos y heterogéneos, desarrollándose en múltiples pasos, desde el epitelio normal, pasando por una lesión premaligna (adenoma), hasta una lesión maligna (carcinoma) (Rengucci *et al.*, 2014). La mayoría de los

casos de cáncer colorrectal, están relacionados con factores ambientales más que con cambios genéticos hereditarios. La ocurrencia del cáncer colorrectal puede depender de varios factores, tales como estilo de vida (tipo de dieta y nivel de actividad física) , y otros factores ambientales. Además, se incluye la microbiota intestinal y la inflamación intestinal crónica que precede el desarrollo del tumor. Se cree que la inflamación crónica puede ser causada por una desregulación de la microbiota intestinal (Bardhan *et al.*, 1988). Vogelstein y Fearon describieron un modelo de tumorigénesis en el cual los pasos requeridos para el desarrollo del cáncer a menudo comprometen la activación de mutaciones de un oncogén, acoplándose con la pérdida de varios genes que normalmente la suprimen (Fearon *et al.*,1990; Vogelstein *et al.*, 1988). (figura 13).

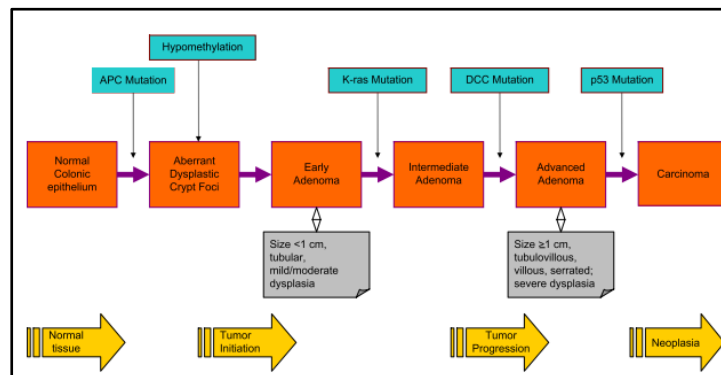


Figura 13. *Secuencia adenoma-carcinoma en carcinogénesis colorrectal*  
Fuente: Kargozaran *et al.* (2008)

### 3.7.2 Secuencia adenoma carcinoma

Estudios recientes han brindado evidencia respecto al camino del desarrollo del cáncer colorrectal, el cual puede empezar mucho antes de la aparición de los focos de criptas aberrantes, considerada como la primera alteración histológicamente reconocible en la secuencia pólipo-cáncer. Las células epiteliales colónicas pueden adquirir mutaciones pro-tumorigénicas que son insuficientes para causar cambios morfológicos, pero que predisponen al desarrollo subsecuente del tumor. La expansión clonal de esas poblaciones mutantes lleva a la formación de grandes parches o campos de tejido que son preparados para

llegar a ser células neoplásicas. Este proceso ha sido denominado cancerización de campo (Luo *et al.*, 2014).

### 3.8. Teoría general del efecto de campo carcinogénico: el concepto clásico

Las primeras aproximaciones que se tuvieron acerca del efecto de campo carcinogénico se originaron en los estudios de Slaughter hacia 1.944 con la publicación del artículo *“The multiplicity of origin of malignant tumors: collective review”* (Slaughter D, 1944) y posteriormente con la publicación del artículo *“Multicentric origin of intraoral carcinoma”* (Slaughter D, 1946), en los cuales se hacía énfasis en el origen multicéntrico del carcinoma oral.

Ya en 1953 se publicó el primer artículo de este autor en donde se utiliza el término de “cancerización de campo”, según las observaciones realizadas en la aparición del carcinoma epidermoide del epitelio estratificado escamoso de la cavidad oral, en el cual un área del epitelio ha sido preconditionada por un agente carcinogénico desconocido. Esta influencia, si se mantiene por suficiente tiempo, produce un cambio irreversible en las células y en grupos de células en un área determinada, este cambio que llevará en una forma inevitable a la aparición de cáncer, con un tiempo de aparición dependiente del tiempo de exposición (figura 14).

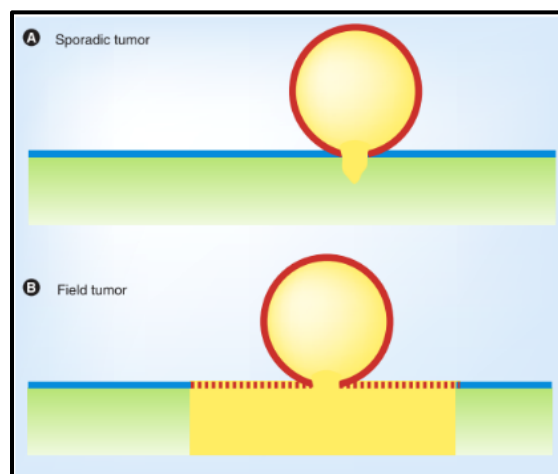


Figura 14. Cancerización de campo

A. *Tumorigénesis sin campo carcinogénico. Las mutaciones ocurren en un área localizada de la mucosa. B: Campo carcinogénico: un clon mutante predispuesto para el crecimiento tumoral repobla la mucosa; las alteraciones genéticas adicionales llevan al crecimiento del tumor en el campo.*

Fuente: Graham et al (2011).

Debido a esto, pueden aparecer varios focos de cáncer en el epitelio, produciendo múltiples tumores, es decir un cáncer multifocal (Slaughter *et al.*, 1953). (Figura 15)

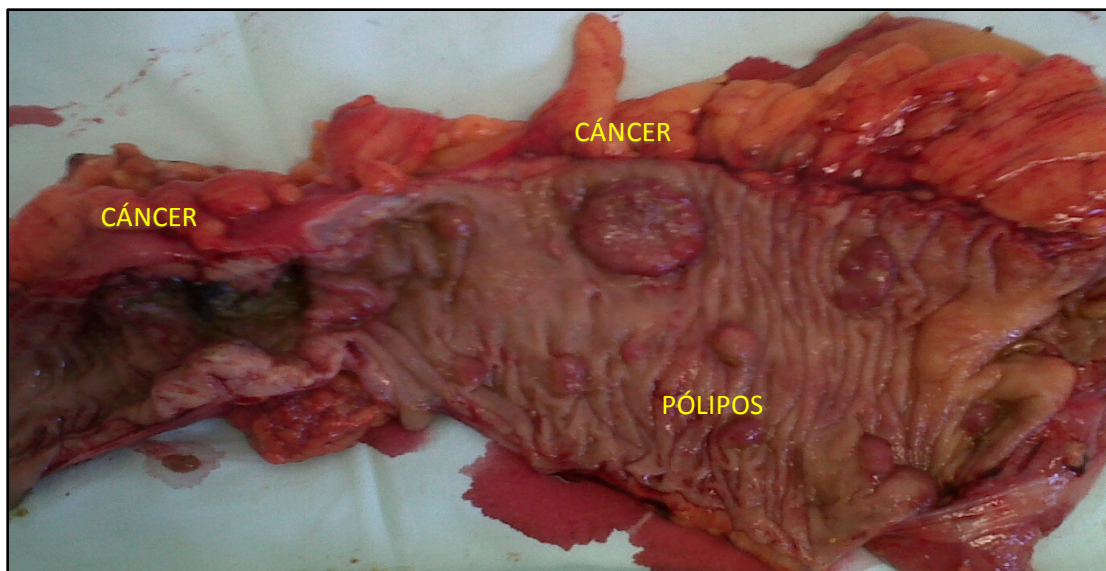


Figura 15. *Ejemplo de campo carcinogénico en el colon. En donde se observan neoplasias en diferentes estadios de evolución, tumores avanzados y pólipos.*

Fuente: Edelberto Mulett Vásquez, MD

El término **cancerización de campo** es usado ampliamente para definir el proceso mediante el cual las células de un tejido en particular están genéticamente o epigenéticamente alteradas pero histológicamente normales, y preceden el desarrollo de una neoplasia (Dakubo *et al.*, 2007). También se utiliza indistintamente el nombre de **defecto de campo** (Graham *et al.*, 2011) o **efecto de campo** (Graham *et al.*, 2011; Damania *et al.*, 2013). Aunque los mecanismos del efecto en cáncer no están completamente entendidos, estudios moleculares recientes sugieren un modelo en el cual la expansión clonal de células genéticamente alteradas (posiblemente con ventajas para el crecimiento), lleva a

la formación de un campo premaligno. Estos campos de células genéticamente alteradas a menudo parecen histológicamente normales y son difíciles de detectar (Foo *et al.*, 2014). La cancerización de campo es inducida por carcinógenos que actúan en amplias áreas de tejido y causan alteraciones moleculares que pueden no expresarse como lesiones clínicas o histológicas, pero que aumentan el riesgo de la transformación maligna, aceptando que es necesario el acúmulo de diferentes alteraciones genéticas para la progresión maligna (Gallegos *et al.*, 2007). Las alteraciones genéticas y epigenéticas son adquiridas de una forma acumulativa, a menudo resultando en una progresión de benigna a premaligna y a estados neoplásicos malignos. A través de este proceso (figura 16), pueden ocurrir olas sucesivas de expansión clonal, así como la población celular puede aumentar en agresividad, teniendo una ventaja de crecimiento selectivo (Ha *et al.*, 2003).

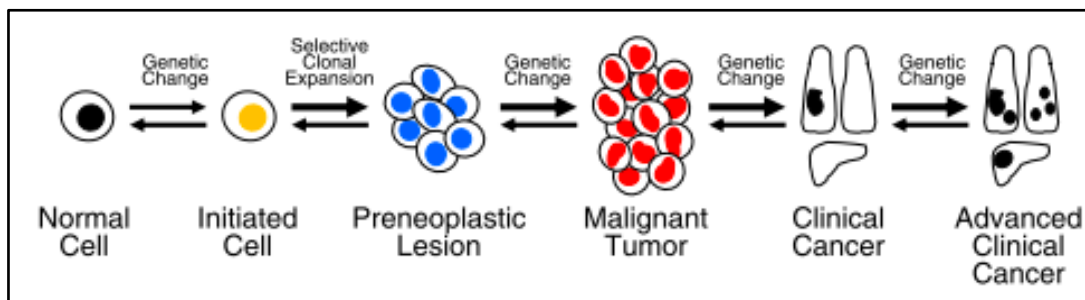


Figura 16. La carcinogénesis como un proceso de múltiples pasos

Fuente: tomado de Rivenbark *et al.*, (2012)

Los cánceres son genómicamente diversos y dinámicos (figura 17). Clones únicos emergen como consecuencia de la acumulación de mutaciones en la progenie de un antecesor común (Yates *et al.*, 2012)



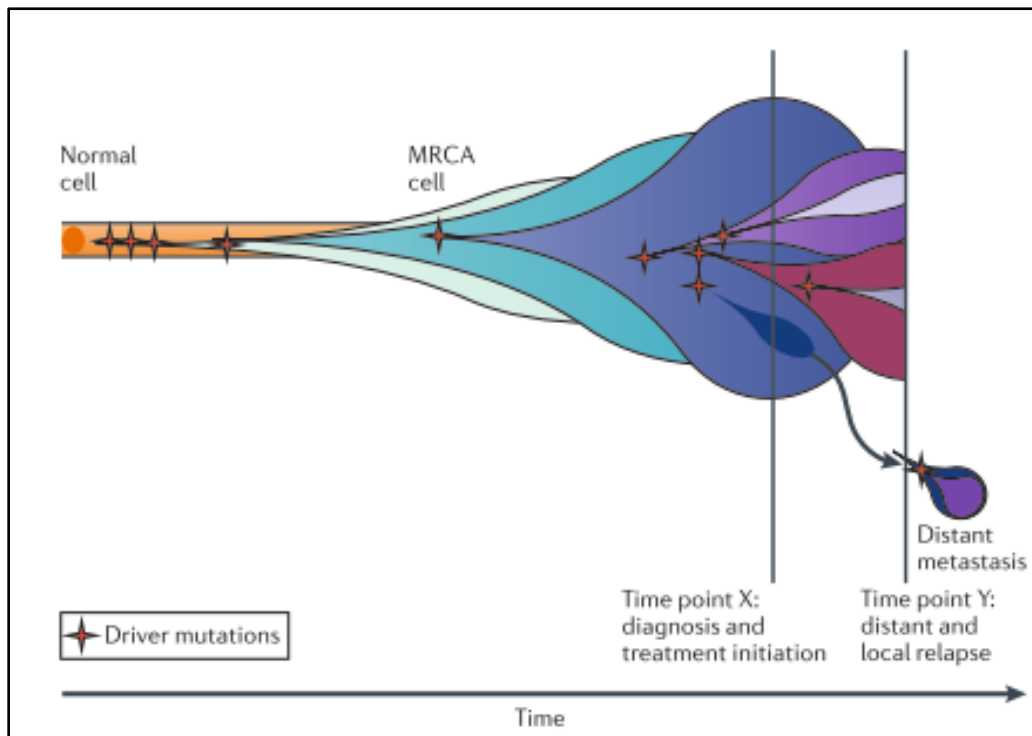


Figura 17. Evolución de las poblaciones clonales.

Fuente: tomado de Yates *et al.* (2012)

### 3.9. Teoría del efecto de campo carcinogénico: las nuevas perspectivas, teoría de campo etiogénico

Como una progresión de la teoría del campo carcinogénico, entendiendo que el medio ambiente tiene una gran influencia en el desarrollo del cáncer, se desarrollan conceptos como el de **efecto de campo etiológico** (o etiogénico). El cáncer es una enfermedad compleja, multifactorial, con componente genético y epigenético; en la cual, respecto a este último, muchos de los factores de riesgo para el cáncer colorrectal están asociados con el estilo de vida “occidentalizado”. En particular, el consumo elevado de grasa animal, alimentos procesados y carnes rojas, combinado con una baja ingesta de vitamina D, fibra y pescado, pueden incrementar el riesgo a desarrollarlo (Tjalsma *et al.*, 2012). Los proponentes de la teoría del efecto del campo etiológico suman a la teoría del efecto de campo carcinogénico esta propuesta, en la cual se conjugan los factores etiológicos externos (estilo de vida, medio ambiente, microbios, hormonas y variaciones

genéticas) y sus interacciones, predisponiendo un microambiente alterado a un tejido anormal que puede influir en todas las etapas de la evolución del cáncer (Lochhead *et al.*, 2015). Se debe tener en cuenta el concepto de la interacción gene-medio ambiente, definida como el efecto conjunto de uno o más genes con uno o más factores ambientales, que no pueden ser adecuadamente explicados por sus efectos separados (Thomas D, 2011). El efecto de campo etiológico se enfoca entonces principalmente, en la interacción dinámica entre los campos de exposición a factores etiológicos, los cuales pueden alterar el microambiente tisular, definiéndose entonces como un campo funcional de tejido alterado, que predispone a la adquisición de cambios moleculares somáticos específicos a través de alteraciones en las interacciones celulares y extracelulares (Lochhead P *et al.*, 2015). (Figura 18).

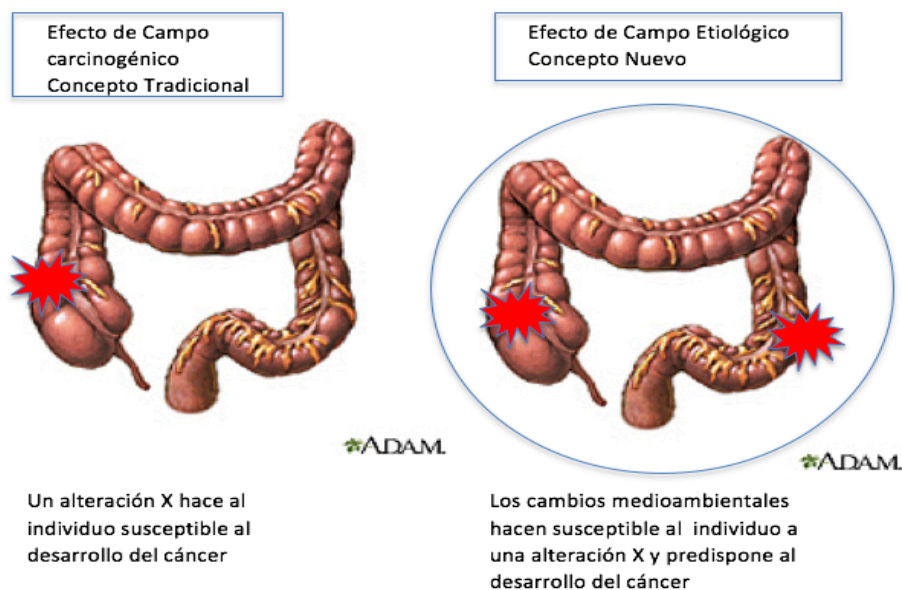


Figura 18.

*Comparación del modelo convencional y el modelo etiológico.*

Fuente: adaptado de Lochhead *et al.*, (2015)

La cancerización de campo, puede tener un papel etiológico en un sustancial número de recurrencias, debido a células genéticamente alteradas en el margen quirúrgico de resección, que explicarían la aparición de recidivas tumorales después del tratamiento (Dakubo D *et al.*, 2007).

### 3.10. Efecto de campo carcinogénico y cáncer de colon

Se han propuesto tres teorías para explicar el origen clonal común de los tumores primarios múltiples: 1) células únicas o pequeños nidos de células migran a través de la submucosa o; 2) son vertidas en la luz del órgano (ej.: cavidad oral, vejiga) en un lugar y crecen en otro. Sin embargo, hallazgos recientes en la cabeza y el cuello, esófago y vejiga, soportan fuertemente una tercera teoría 3): hay una gran continuidad de campos genéticamente alterados existiendo en el epitelio, en el cual múltiples lesiones clonalmente relacionadas se desarrollan, indicando que estas lesiones se originan en un único campo (Braakhuis *et al.*, 2003)

Se han buscado múltiples formas de comprobar este efecto de cancerización de campo en el colon, basados en la recurrencia en la aparición de pólipos adenomatosos en toda su extensión. Se ha encontrado que hay cambios en la angiogénesis tisular según el estadio de la evolución tumoral (Aotake *et al.*, 1999), lo que se convierte en otro factor de detección del riesgo. La importancia de la suplecia sanguínea incrementada (angiogénesis) en el desarrollo del cáncer colorrectal es inequívoca, pero no está claro el estado en el cual ocurre. Aún en un estado premaligno, las células epiteliales tienen una proliferación incrementada (como una manifestación del efecto de campo) y por lo tanto se espera que requiera una suplecia sanguínea mayor, encontrando además que las anomalías en la microvasculatura de la “mucosa transicional” (epitelio de apariencia histológicamente normal adyacente al cáncer colorrectal) sugiere que las alteraciones en el aporte sanguíneo pueden preceder las lesiones neoplásicas macroscópicas, lo cual se ha comprobado incluso antes del desarrollo de los adenomas o incluso de los focos de criptas aberrantes (Wali *et al.*, 2005). Se ha sugerido que, al hacer el examen en la parte más accesible del colon (el recto), se puede predecir la aparición de neoplasia en otros sitios del colon, por las características adquiridas tales como:

- Hallazgo en el recto de focos de criptas aberrantes por cromosendoscopia convencional (bajo visión endoscópica), se constituye como un predictor

potencial de la presencia de neoplasias avanzadas en el colon, es decir, un marcador para colonoscopia total (Seike K *et al.*, 2006).

- Anormalidades proliferativas encontradas en toda la extensión del colon, reflejando el modelo de cancerización de campo, y, lo más importante, examinando la mucosa rectal más accesible como un índice de la actividad en todo el colon. Se ha encontrado que los patrones de proliferación en la mucosa rectal son un índice de la actividad citoproliferativa de toda la mucosa colónica (Anti *et al.*, 1993). También se ha indicado que, en individuos con adenomas colónicos o cáncer, la expansión del compartimiento proliferativo (un desplazamiento hacia la luz de la zona activa de proliferación celular en las criptas) se encuentra en todo el colon, independientemente del sitio de la lesión (Bernstein *et al.*, 2008) y se ha establecido que los cambios en la biopsia rectal reflejan aquellos de todo el colon (Bostick *et al.*, 1997).
- Pacientes con historia previa de cáncer de colon o con poliposis familiar adenomatosa tienen una mucosa aparentemente normal, en la cual, las células tienen una habilidad reducida para ir a apoptosis inducida, comparado con individuos sin historia de neoplasia colónica, encontrando una relación con la resistencia a la apoptosis inducida por ácidos biliares (mediada a 20 cm del borde anal) con el riesgo de cáncer (Bernstein *et al.*, 1999).
- Expresión alterada de algunos genes en mucosa aparentemente normal de pacientes con cáncer de colon, concluyendo que puede ser un indicador importante en la identificación de pacientes de riesgo a desarrollar cáncer a través de una citología o un lavado (Chen *et al.*, 2004). Igualmente, estas alteraciones se han encontrado en mucosa aparentemente normal en el recto-sigmoide de individuos con pólipos y los controles (Hao *et al.*, 2005)
- La expresión proteica en la mucosa aparentemente normal, es modificada en individuos con lesiones neoplásicas en sitios distantes a la lesión,

permitiendo la caracterización a un nivel molecular de biomarcadores de susceptibilidad al cáncer colorrectal (Polley A *et al.*, 2006), permitiendo su uso como marcadores de riesgo para este.

Respecto al riesgo de aparición de neoplasias, se ha encontrado, entonces, mediante varios métodos, que el recto puede ser el órgano sustituto por medio del cual se podrán evaluar los cambios que afecten todo el colon. Se ha definido, por lo tanto, que el órgano sustituto u órgano espejo es un sitio que refleja los cambios o predice el riesgo de cáncer en el órgano o tejido objetivo, que puede o no estar en continuidad (Kopelovich *et al.*, 1999). La estratificación del riesgo puede ser hecha posiblemente a través de la evaluación de la mucosa rectal para cambios de campo carcinogénico (Roy *et al.*, 2011). El concepto del efecto de campo puede permitir una adecuada estadificación del riesgo, teniendo en cuenta que, el medio genético/ambiental que resulta en una lesión en un área del colon, deberá ser detectable, al menos en alguna forma, a través de todo el colon. Por lo tanto, al examinar la porción distal del colon (incluso el recto), se podría predecir una neoplasia proximal (Roy *et al.*, 2006).

El estudio en los métodos de detección de cambios muy tempranos se ha enfocado en la estructura del tejido, inicialmente con los cambios a nivel sub-celular o estructural, basados en el concepto que, antes de ser invasivo, en el estado de displasia, estas células tempranas en la evolución del cáncer alteran su arquitectura. En particular, el núcleo se agranda, se apiña y se hace hipercromático (Cherkezyan *et al.*, 2014). Estos signos de alerta hasta ahora sólo se detectan con el examen histológico de los especímenes de biopsia, pero la espectroscopia de la dispersión de luz ahora ofrece un medio para medir el tamaño y distribución del contenido de cromatina del núcleo de las células epiteliales como un indicador de neoplasia preinvasora (Backman *et al.*, 2000); (Gurjar *et al.*, 2001).

Los cambios más tempranos están en las células madre/proliferativas en el tercio basal de la cripta. Estos cambios intrínsecos en las células las pueden inducir a multiplicarse sin las restricciones usuales dividiéndose frecuentemente o estando

sujetas a menor pérdida, pero, mantienen su territorio normal, formando tumores benignos. Por otro lado, si esos cambios intrínsecos muestran daño de las características propias que mantienen la territorialidad y las células normales adquieren la habilidad de extenderse a otros sitios, locales o distantes, estos tumores son denominados cáncer por su comportamiento maligno (Bronchud, 2002). Backman se han enfocado en tres aspectos de alteraciones en la cancerización de campo (figura 19), cada uno representando un nivel diferente de organización tisular: 1) objetivos fisiológicos tales como el contenido microvascular de sangre (reflejando un estado hiperproliferativo del epitelio premaligno) (Gomes *et al.*, 2009), (Roy *et al.*, 2008); 2) cambios ultraestructurales a nivel tisular y 3) alteraciones en la nanoarquitectura intracelular (Backman *et al.*, 2011). En el colon, la hipótesis del campo carcinogénico, es la razón para la vigilancia post-polipectomía (Hawthorn *et al.*, 2014), debido a que los campos afectan toda la mucosa el colon y no una pequeña porción (Backman *et al.*, 2013). Se ha propuesto otra teoría en la cual los cambios bioquímicos secundarios a la cancerización, alteran la dinámica de las moléculas y las células en los tejidos anormales (Fernández *et al.*, 2016).

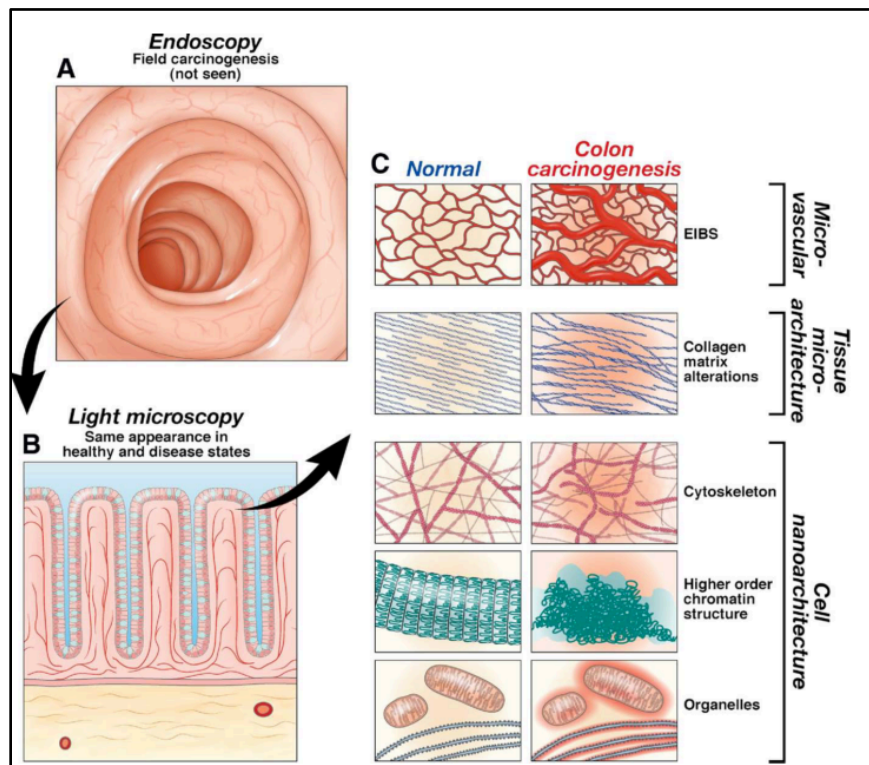


Figura 19. *Manifestaciones tisulares del efecto de campo carcinogénico*  
Fuente: tomado de Backman et al., (2011)

## CAPÍTULO 4

### ESPECTROSCOPIA DE BIOIMPEDANCIA ELÉCTRICA (EBIE)

Los tejidos biológicos tienen impedancia eléctrica, la cual se comporta en función de la frecuencia de la corriente eléctrica aplicada. La razón para esta dependencia es que los tejidos contienen componentes que tienen propiedades de resistencia (oposición del flujo) y capacitancia (almacenamiento de cargas). Ambos componentes de la impedancia, así como la dependencia de la impedancia con la frecuencia, están relacionados con la composición del tejido y la estructura (Abdul *et al.*, 2006).

La impedancia eléctrica es uno de los muchos parámetros utilizados para caracterizar las propiedades de los materiales y, en los tejidos biológicos, está altamente correlacionada con su estructura, incluyendo el tamaño celular, densidad, espaciamiento y los constituyentes de la matrix intra y extracelular (Huang *et al.*, 2013).

La impedancia eléctrica ( $Z$ ) es la medida de la oposición del flujo eléctrico a través de una sustancia. Este valor tiene dos componentes: la parte real, resistencia, ( $R$ ) e imaginaria o reactancia ( $X_c$ ) y su expresión matemática es  $Z = R + jX$  (Aroom *et al.*, 2009; Chanchairujira *et al.*, 2005).

La impedancia ( $Z$ ) es un número complejo que se forma a partir de dos componentes, el cual puede ser expresado como una magnitud (en Ohms) y ángulo de fase en grados o como parte real ( $R$ ) y reactancia ( $X$ ) (Cornish 2006). También puede decirse, que la impedancia equivale a la suma en el plano complejo de la parte real y la reactancia (CA González, comunicación personal). Entonces, en un modelo simple, la resistencia es la característica conductiva de los tejidos tisulares y la reactancia la oposición debido a la capacitancia de las membranas celulares, interfaces tisulares y sustancias no iónicas (Ellis *et al.*, 1999).

El modelo más sencillo para representar las características eléctricas de los tejidos es un modelo de tres elementos (figura 20) con  $R_e$  (resistencia extracelular),  $R_i$



(resistencia intracelular), y  $C_m$  (capacitancia de membrana).  $R_e$  es aportado por la matriz extracelular (la cual está constituida principalmente por agua y electrolitos),  $R_i$  por agua y sustancias intracelulares complejas del citoplasma, y  $C_m$  por la membrana celular (Huang *et al.*, 2013).

El valor de la impedancia es convencionalmente representado como un número complejo, con el componente real siendo la resistencia y el componente complejo la reactancia ( $Z = R + jX$ ). La medición de la impedancia eléctrica toma ventaja de la relación entre impedancia, voltaje y corriente. La Ley de Ohm establece la relación  $V = IZ$ , donde  $V$  es voltaje,  $I$  es corriente, y  $Z$  es impedancia. (Aroom *et al.*, 2009).

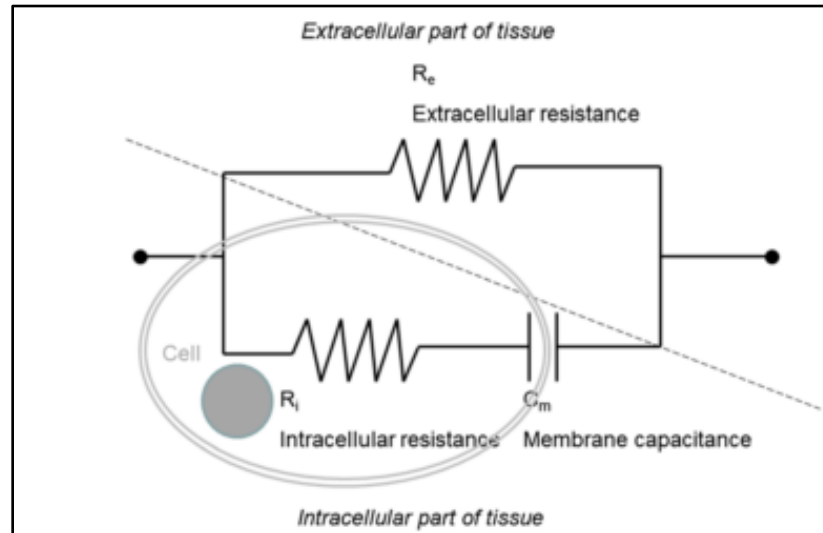


Figura 20. El modelo simplificado de circuito eléctrico equivalente de tres elementos para los tejidos

Fuente: tomado de Huang *et al.*, (2013).

#### 4.1. Dispersiones

Las propiedades eléctricas de los tejidos y suspensiones celulares cambian con la frecuencia en tres etapas diferentes, denominadas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , las cuales fueron descritas por Schwan (Schwan, 1994) (figura 21):

#### 4.1.1. Dispersión $\alpha$

Ocurre a bajas frecuencias alrededor de 10 Hz – 10 kHz y es principalmente afectada por la atmósfera iónica que rodea las células. Esta dispersión es un fenómeno de superficie que no contiene ninguna información relativa al interior de la célula.

#### 4.1.2. Dispersión $\beta$

Está en el rango de frecuencia de 10 kHz – 10 MHz. Es esencialmente debida al mecanismo de carga capacitiva de las membranas celulares, originándose en la estructura básica de la célula en donde la membrana separa dos medios conductores.

#### 4.1.3. Dispersión $\gamma$

Está a frecuencias mayores (>10 MHz) y es influenciada por las moléculas de agua (Tatullo *et al.*, 2015)

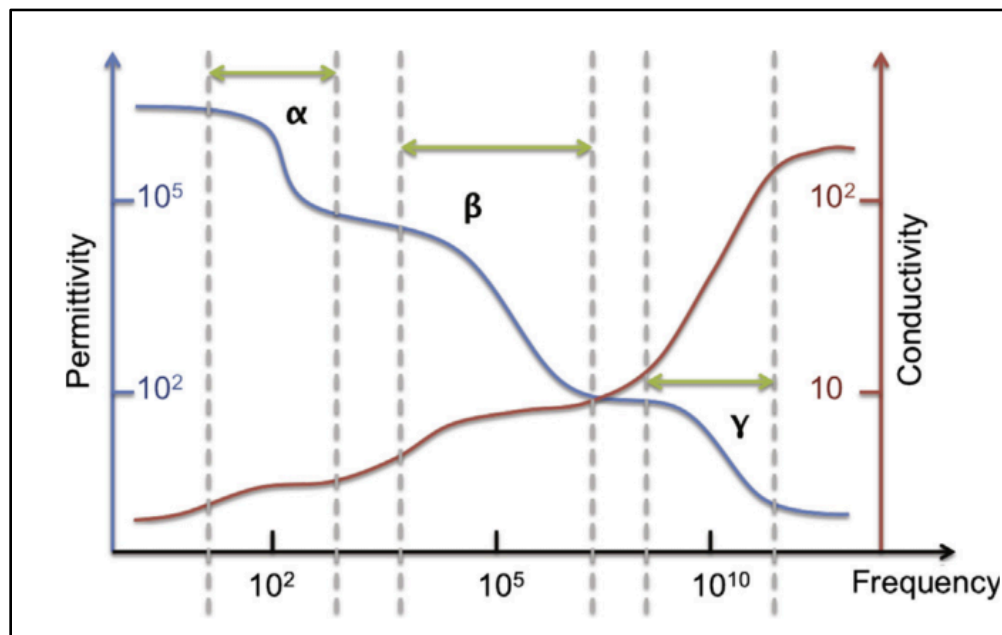


Figura 21. Etapas de dispersión y sus respectivas frecuencias  
Fuente: tomado de Heileman *et al.*, (2013).

A altas frecuencias, la corriente eléctrica también circula al interior de las células y la impedancia será determinada por las estructuras intracelulares y posiblemente el tamaño de los núcleos. A bajas frecuencias ( $\sim 1$  kHz), la corriente eléctrica es incapaz de penetrar las membranas celulares y la corriente fluye principalmente a través del espacio extracelular (Figura 22). La impedancia a bajas frecuencias por lo tanto depende del espacio celular y su disposición (Balasubramani *et al.*, 2009) (Lukaski *et al.*, 1985).

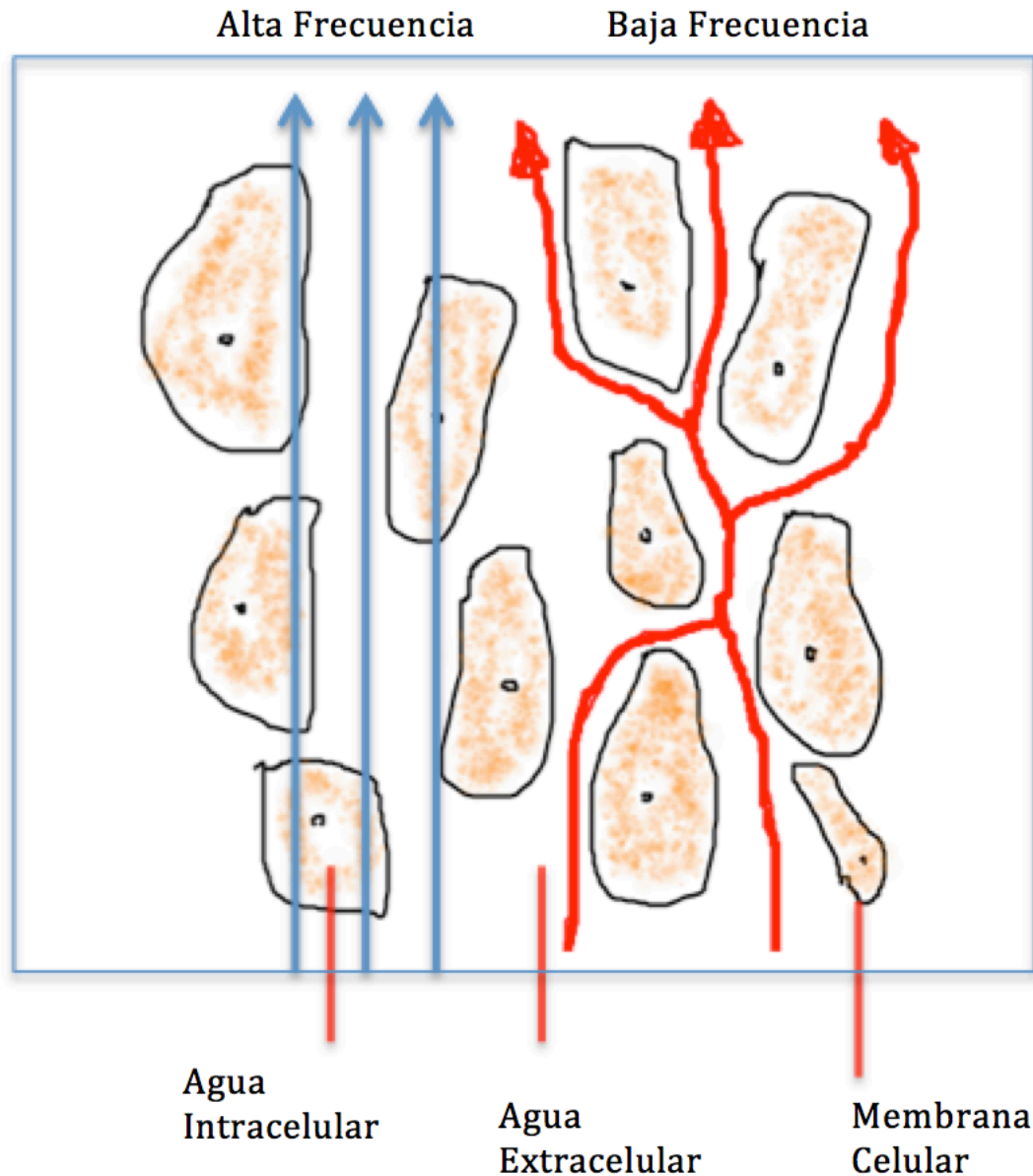


Figura 22. *Flujo de corriente a diferentes frecuencias.*

a) a bajas frecuencias la resistencia de la membrana protege el interior de la célula de la corriente aplicada. b) a altas frecuencias la resistencia de la membrana es progresivamente vencida por la capacitancia de la membrana, de modo que el campo entra a la célula y la corriente también se produce al interior de esta.

Fuente: modificado de Inbody (2014)

#### 4.2. Origen de la dispersión $\beta$

En la región de la dispersión  $\beta$ , la corriente a baja frecuencia pasa alrededor de las células, y la resistencia al flujo dependerá del espacio de las células y del arreglo

celular del tejido (Murdoch et al., 2014). En los tejidos vivos la célula es la unidad básica en la cual la estructura básica de la membrana celular es una bicapa de fosfolípidos que separa el medio intracelular del medio extracelular.

**a. Medio Extracelular:** desde el punto de vista eléctrico, el medio extracelular puede ser considerado como una solución electrolítica (solución iónica). Con mucho, los iones más importantes son el sodio y el cloro.

**b. Medio Intracelular:** la concentración iónica del medio intracelular es diferente a la concentración del medio extracelular (180 meq/L contra 153 meq/L). Los iones de mayor concentración intracelular son el  $K^+$ , proteína y  $HPO_4^{2-} + SO_4 +$  ácidos orgánicos. Además de los iones y otras moléculas cargadas, en el interior de la célula es posible encontrar numerosas estructuras con membranas con una respuesta eléctrica completamente diferente. Estas membranas están formadas por materiales dieléctricos y su conductividad es muy baja. Por lo tanto, la impedancia del medio intracelular deberá ser una mezcla de propiedades conductivas y capacitivas.

**c. Membrana celular:** la membrana celular está compuesta esencialmente de una bicapa de lípidos con un grosor aproximado de 6 nm. La función de las diferentes membranas está típicamente reflejada en la composición relativa de lípidos y proteínas. En muchos casos, el contenido proteico es casi igual o mayor que el de lípidos. Para frecuencias mayores de 100 MHz, las propiedades dieléctricas de los tejidos están determinadas por su contenido acuoso, junto a la presencia de iones y pequeñas moléculas en los fluidos celulares (Pethig, 1984).

El cuerpo puede ser considerado como un volumen conductor que comprende un número de tejidos espacialmente distribuidos con diferentes propiedades eléctricas (Dean *et al.*, 2008). En los mamíferos, aproximadamente el 70% del peso corporal es agua. De esta cantidad, el 50% está dentro de las células que constituyen el organismo y el 20%, es denominada agua extracelular, lo que incluye fluidos como sangre, jugos digestivos, orina, líquido cerebroespinal, linfa y otros. (Geddes, 1967)

En los tejidos, la impedancia se puede medir con una sonda, inyectando corriente alterna en el tejido y registrando el voltaje respuesta, utilizando un set diferente de electrodos en la misma sonda. Esta técnica puede medir el espectro de impedancia dependiente de la frecuencia en el tejido y medir el voltaje de respuesta (Barrow *et al.*, 2007). El espectro de impedancia característico de un tejido viene de la estructura de las células que componen ese tejido y estas vienen, a su vez, del tamaño y capacitancia específica de los constituyentes de la membrana celular, el núcleo, la mitocondria y las proteínas celulares (Stoy *et al.*, 1982).

### 4.3. El Modelo de Cole-Cole

En 1940, Cole y Cole introdujeron una ecuación matemática que ajusta los datos experimentales obtenidos por mediciones de bioimpedancia eléctrica. Esta ecuación no sólo es comúnmente utilizada para representar sino también para analizar los datos. El análisis es basado en los cuatro parámetros contenidos en la ecuación de Cole:  $R_0$ ,  $R_\infty$ ,  $1-\alpha$ ,  $\tau$ , donde:

$$Z(\omega) = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{1 + (j\omega\tau)^{1-\alpha}}$$

El valor generado por la ecuación de Cole es un valor complejo, la impedancia, con una relación no lineal con la frecuencia, lo cual genera un arco en el plano de impedancia. La impedancia se puede descomponer en parte real  $R$  y reactancia  $X$  (Ayllon *et al.*, 2009).

Los componentes utilizados son:  $\omega$ , es la frecuencia angular de la señal de excitación;  $R_\infty$ , la resistividad a alta frecuencia (cuando ésta tiende a infinito);  $R_0$  la resistividad a muy baja frecuencia (cuando ésta tiende a 0);  $\tau$  el tiempo de relajación del tejido, y  $1-\alpha$  el parámetro de dispersión. El parámetro  $R_0$  (resistividad a baja frecuencia) está relacionado fuertemente con la oposición a la conducción

eléctrica por el espacio extracelular. El parámetro  $R_{\infty}$  (resistividad a alta frecuencia) se puede interpretar como la resistencia al flujo de corriente por parte del contenido intracelular. El  $\tau$  mide el tiempo de relajación eléctrica y corresponde al tiempo que demoran las moléculas y agregados polares a estabilizarse ante una excitación externa (Miranda *et al.*, 2006)

El modelo de Debye (figura 23) es el más sencillo y habla de un camino extracelular (representado bien sea por una resistencia pura o una conductancia pura, como se quiera, dado que el uno es el inverso del otro) en paralelo con un camino intracelular que incluye la membrana (que actuaría como un capacitor) y el líquido intracelular (que también actuaría como una resistencia pura o una conductancia pura).

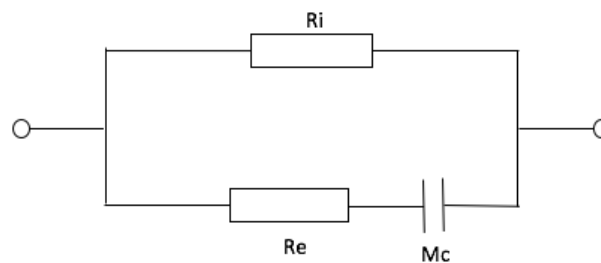


Figura 23. *Modelo de Debye*. Fuente: creación del autor

#### 4.4 Parámetro $\alpha$

La parte real de la impedancia,  $R$ , se asocia a conducción eléctrica por un medio mientras que la parte imaginaria,  $X$ , es la reactancia capacitiva y se asocia más al almacenamiento de energía eléctrica.

Entonces, el elemento de fase constante tiene un comportamiento entre resistencia (para  $\alpha = 1$ ) y capacitor ( $\alpha = 0$ ).

Cuando el comportamiento de la membrana celular es puramente capacitivo, ( $\alpha = 0$ ), se puede asociar a un estado bioquímico donde la membrana celular tiene características capacitivas perfectas y ello se asocia a acumulación de cargas en ambos lados de la membrana celular: medios intra y extracelular. En este caso, el

modelo de Cole-Cole se convierte en el de Debye o, en otras palabras, se puede decir que el modelo de Debye es un caso especial de modelo de Cole-Cole en el cual  $\alpha = 0$ . (CA González-Correa- Comunicación Personal)

Si el comportamiento de una célula es más resistivo ( $\alpha = 1$ ), la membrana celular se comporta más como una resistencia, es decir, deja de ser un aislante eléctrico. Ello se puede asociar con anomalías bioquímicas en la membrana celular, las cuales facilitan el flujo de cargas desde el medio extracelular al intracelular a través de la misma. Una membrana de estas características es anómala y se puede relacionar con fallas en las bombas activas que mantienen el gradiente de concentraciones iónicas y, con ello, el potencial de membrana. Esto es equivalente a decir que, para este caso, la membrana celular es más permeable a los iones que cuando se tiene un comportamiento capacitivo.

#### **4.5. ¿Qué cambia en el tejido que pueda alterar la respuesta eléctrica pasiva?**

Una característica del cáncer es la pérdida de la organización celular. El grado histológico del cáncer colorrectal es una variable pronóstica importante y depende del grado de diferenciación celular y de la polaridad celular. Uno de los componentes moleculares claves que gobiernan la adhesión celular y la polaridad son las uniones estrechas, exhibiendo las células neoplásicas deficiencias estructurales y funcionales en estas (Resnick *et al.*, 2005). La disrupción de las uniones estrechas lleva a una inadecuada barrera tisular y por lo tanto a una pérdida incontrollable de agua y electrolitos (Assimakopoulos *et al.*, 2011). Sin embargo, no es claro cómo las alteraciones en las uniones estrechas pueden contribuir a la tumorigénesis (Hossain *et al.*, 2008). No obstante, actualmente se conoce que la pérdida de la expresión de la E-caderina, una proteína estructural de las uniones estrechas, se relaciona con patrones infiltrativos de crecimiento tumoral y metástasis linfáticas (Kim *et al.*, 2016). En el intestino, la proliferación incrementada y la disminución en la diferenciación, son hallazgos comunes de los tumores en los estadios tempranos. Sin embargo, inicialmente las células permanecen relativamente bien polarizadas y continúan formando estructuras glandulares similares al tejido normal. Solamente en estados tardíos, cuando la



organización tisular es más aberrante, hay pérdida de la polaridad y las células invaden el estroma circundante (Hinck, 2014).

La estructura y la función de las uniones estrechas están a menudo alteradas en los cánceres humanos, en donde la disfunción de estas puede explicar el progreso del cáncer, especialmente a través de la pérdida de la adherencia célula a célula y de la diferenciación celular, llevando a proliferación incontrolada, pérdida de la cohesión e invasividad con pérdida de la polaridad (Oliveira *et al.*, 2007). La bioimpedancia eléctrica, ha permitido encontrar diferencias entre el tejido maligno, en comparación con el tejido sano, cambios atribuidos al incremento en el contenido de agua celular y sal, la permeabilidad alterada de la membrana, los cambios en la densidad del empaquetamiento celular y de la orientación de las células, llevando a una impedancia menor en el tejido neoplásico probablemente debido a un espacio extracelular más amplio por la pérdida de las conexiones intercelulares (Ching *et al.*, 2010).

#### **4.5 Antecedentes de mediciones eléctricas en la pared del colon**

Se han utilizado mediciones de bioimpedancia eléctrica en el intestino, específicamente en el colon, en varios campos, implementándolas para conocer las características eléctricas del colon y el recto. La bioimpedancia de las capas de células brinda importante información de las características de su estado y puede ser utilizada para observación y evaluación de muchos fenómenos fisiológicos como la calidad de la adhesión celular considerada como un biomarcador de su estado fisiológico (Krusek *et al.*, 2014). Teóricamente, las células que están enfermas, por cáncer o infecciones, tienen alteraciones en las propiedades de impedancia. Estas alteraciones son debidas a cambios en la permeabilidad de la membrana celular, fluidez, y deformabilidad, además de la adhesividad celular y la actividad de los canales iónicos. La impedancia eléctrica también permite observaciones en tiempo real (Abdolahad *et al.*, 2014).

En estudios experimentales en animales (ratones), se han encontrado cambios en las propiedades eléctricas del colon distal después de administrar el carcinógeno

dimetilhidrazina, productor de cáncer del intestino grueso. Los cambios en la impedancia pueden representar cambios en las uniones estrechas entre las células o alteraciones en la fluidez de la membrana (Davies *et al.*, 1989). Igualmente, se han detectado cambios en la conductancia iónica del epitelio en animales sometidos al carcinógeno (Davies *et al.*, 1987). Las alteraciones en las propiedades eléctricas del epitelio, pueden indicar una propensión a cambios malignos subsecuentes ofreciendo una técnica potencialmente útil para identificar pacientes de alto riesgo (Davies *et al.*, 1986).

## CAPÍTULO 5 ESTUDIOS

### *IN VITRO* LUMINAL MEASUREMENTS OF COLON ELECTRICAL IMPEDANCE IN RABBITS

Edelberto Mulett-Vásquez<sup>1, 2</sup>, Amilbia Correa-Florez<sup>1</sup>, Cármen Dussán-Lubert<sup>3</sup>, David-Alejandro Miranda-Mercado<sup>4</sup>, Carlos-Augusto González-Correa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Group on Electrical Bio-Impedance. University of Caldas, Manizales, Colombia, South America.

<sup>2</sup> Department of Surgery. University of Caldas, Manizales, Colombia, South America.

<sup>3</sup>Department of Mathematics, University of Caldas, Manizales, Colombia, South America.

<sup>4</sup>CIMBIOS, Santander Industrial University, Bucaramanga, Colombia, South America.

© Springer Science+Business Media Singapore 2016  
F. Simini and B.F. Pedro (eds.), II Latin American Conference on Bioimpedance,  
IFMBE Proceedings 54,  
DOI: 10.1007/978-981-287-928-8\_8

*Abstract.* Until very recently, the colon was a neglected organ in science. During the present century, it has gained much attention, due to its role in health and disease, especially because of the presence of the microbiota. The interaction between the latter and human cells is made basically through the paracellular pathway; therefore, the permeability of the colonic mucosa plays a crucial role in it. Some authors have shown important changes in this function associated to different health disorders. Electrical Bio Impedance (EBI) techniques can be a useful tool for the study of the colon, with measurements taken from the luminal side. In this study, we report passive electrical response along the colon of rabbits ( $n = 7$ ), where EBI measurements were carried out in 6 different segments. The results suggest that there are differences between the proximal and the distal portions of the colon. It is probably due to their differences in structure and functions, as it has been reported in other studies. Resistivity in the first part of the proximal colon seems to be higher than in most of the distal colon (8.7 and 6.6 Ohm m, respectively) with a gradual

decreasing along the former and some fluctuation along the latter.

*Keywords:* Electrical Bio-impedance (EBI), Colon permeability, Rabbits.

#### I. INTRODUCTION

Until very recently, the colon was a neglected organ, where little attention was given to its role in health and disease [1]. In the present century, though, as stated in the title of the article by these two authors, the colon has moved from “banal” to “brilliant”. This is due to the fact that the complexity of its physiology has begun to be studied and better understood, as well as its role (especially in its interaction with the microbiota) not only in “local” diseases, but also in systemic health

problems like metabolic [2], autoimmune [3] and even neurological diseases [4]. Some authors, for instance, call the enteric nervous system (ENS) the "second brain" [5], due to the complexity of cell types and integrated circuits and its relation to the rest of the body, including the "first brain".

Colonic homeostasis is mediated by complex interactions between food, xenobiotics, our own cells, the colonic microbiota (mainly bacteria) and the layer of mucous gel that covers the whole organ [1]. It acts both as its habitat and a barrier against them. The number of the latter exceeds about 10x times the number of cells in our own organism, and has, as a whole, as a metaorgan, more than 2 million genes (the microbiome) [6]. There is a permanent communication and interplay between that microbiota and our own organism, and this crosstalk is of paramount importance for our health status. The permeability of the colonic epithelium, a characteristic mainly controlled by the tight junctions, plays an important role in the functioning of this organ [7] [8]. The paracellular via plays a key role, as it is the pathway by which direct contact is established between that microbiota and the immune system of the host [8]. Some authors have shown how the permeability of the colonic epithelium is augmented in different clinical conditions [9] [10] and we think that Electrical Bio-Impedance (EBI) techniques can be used for the assessment of such permeability. Theoretically, there are three main ways of doing it: from the serosal side [10], transmurally [11] [12] and from the luminal side. The first one has been used in animals, *in vivo* and with implanted electrodes, while the second one has been used *ex vivo*, with samples of resected tissue. The possibility is, though, open for *in vivo* transendoscopic measurements of electrical bioimpedance from the luminal side of the colon [11], in a similar way as Gonzalez-Correa *et al* [13] did in the esophagus. These authors reported resistivity measurements in esophageal and gastric resected tissue from humans and rats, where readings were taken *ex vivo* from the luminal

side of the wall. They also made some *in vivo* transendoscopic measurements in patients with Barrett's esophagus. Both metaplastic intestinal and gastric epithelia are columnar and show relatively low bioimpedance values at lower frequencies, when compared to esophageal tissue (around 5 and 12 Ohm m at 19.2 kHz, respectively). Finally, when studying the colon, it is necessary to take into consideration, that there are important anatomical and physiological differences between its proximal and its distal parts. Snipes *et al* [14], for instance, measured the electrical potential difference between the luminal side of the colon in rabbits and blood (reference electrode placed inside the ear vein), and found that it has high values in the proximal segments of the colon (above 40 mV) that fall to values around 15 mV in the distal segments, and, then, gradually increase to a maximum of 40 mV in the rectum. They speculate that these findings may result from "...regional differences in the transport and permeability properties of the mucosa". This article reports measurements taken *ex vivo* from the luminal side of resected colon from sacrificed rabbits. We chose this experimental model as it is a small animal widely used in experimentation and, in the future, it will allow us to use them *in vivo* transendoscopic impedance measurements. The main aim of this exploratory experimental study was, then, to determine whether or not there are differences in the electrical impedance between the proximal and distal colon of rabbits, using the above mentioned approach.

## II - MATERIAL AND METHODS

In our experiments, we used colon specimens excised from 7 female New Zealand rabbits used in another study approved by the Institutional Animal Ethical Committee of the same Institution. Ages were between 10 and 12 months, they were weighing between 9-10 kg and they were subjected to an experimental Achilles tendinitis. Resection was completed immediately after the animals were sacrificed with an anesthetic overdose of Xilazine 5

mg/kg plus Ketamine 30 mg/kg and measurements were carried out within one hour after it. These were taken on 6 points in the colon: at 10 (Point 1), 20 (Point 2) and 30 (Point 3) cms distally measured from the caecum, and 30 (Point 4), 20 (Point 5) and 10 (Point 6) cms orally measured from the anus (figure 1). Impedance readings at 19.2, 38.4, 76.8, 153.6 and 307.6 kHz were obtained using a Sheffield-Mark3-Multi-Frequency-Tissue-Impedance-Meter, in the same way as reported by Gonzalez-Correa *et al* [13]. The probe was a tetrapolar array of round gold electrodes (0.8 mm diameter), separated 0.4 mm from each other and forming a rectangle embedded in a circle with a diameter of 2.5 mm. A total of 210 data were obtained (7 rabbits x 6 points x 5 frequencies).

*Statistical analysis.* A dual way design was used, in which the dependent variable resistivity was expressed as Ohm m, and the independent variables were six different colon segments with 7 repetitions. We used the following statistics with the program STATGRAPHICS V5.1. multifactor ANOVA, Pearson correlation coefficient and Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test. We looked for differences between the readings at the six different segments and accepted a significant statistical difference when  $P$  was  $< 0.05$ .

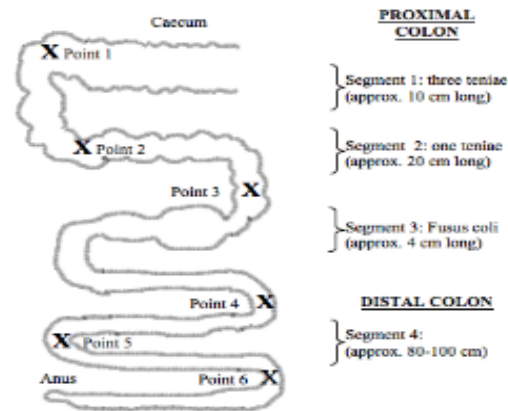


Figure 1. Anatomical placement of the 6 points where electrical impedance measurements were taken. Segments and approximate length estimations according to [14] and [15].

### III - RESULTS

Figure 2 shows the averaged resistivity, at 19.2 kHz, of the six points selected for this study. A two way ANOVA showed that the segment influenced the output variable ( $P < 0.0000$ ), and the Tukey's test demonstrated that segment 1 had the highest average resistivity, followed by segment 2 and segment 3. Segment 4 showed a higher resistivity when compared to segments 3, 5 and 6, and was equal to the average of segment 2. The averaged values of segments 3, 5 and 6 were the same. In figure 2 we represent the values given by the Tukey test for the average of the resistivity discriminated by segments.

### IV. DISCUSSION

When resistivity is measured in the way we did, there are three main factors that can affect the readings: physical characteristics of the

mucus layer (especially thickness and viscosity), status of the paracellular pathway and thickness of the colonic wall.

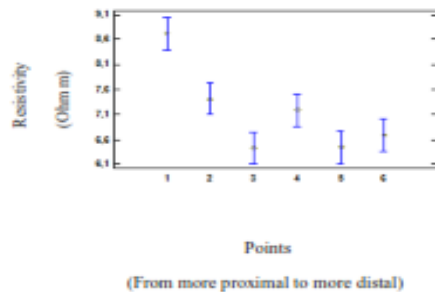


Figure 2. Tukey test for the averaged resistivity measured at 6 different segments on the colon of rabbits.

When two electrodes are used to inject a current in a homogeneous and isotropic medium, the penetration depth of the current is a function of its separation. In other words, the separation between electrodes determines the portion of tissue that can be measured by electrical impedance [16]. Given the very small separation between the two driving (current) electrodes, and considering the reported differences in the thickness of the mucus layer along the colon, we hypothesize that this fact can partially explain the differences in the resistivity found between proximal and distal colon (figure 2). In rats, for instance, thickness of the mucus layers in the colon can reach up to 800  $\mu\text{m}$  [15] and the works by [17] [18] show that it increases distally from the caecum. In studies with monkeys, it has also been found that thickness of the mucus layer increases from 10-80  $\mu\text{m}$  in the proximal colon, up to 250  $\mu\text{m}$  in the distal colon. In pigs, according to [17], there is an increase in thickness from the caecum to the ascending (proximal) colon, and a decrease from here to the descending (distal) colon, although they only took one measurement in

each portion. As the distance between two adjacent electrodes in our system is only about 300  $\mu\text{m}$ , as shown by [13] using Geselowitz theory [19], the penetration of the current can be estimated as approximately 500  $\mu\text{m}$ . This all means that, to a good extent, the difference could be explained by the thickness of the mucus layer. In their article about modeling current distribution in cervical squamous tissue, for instance, [16] have shown how, even very thin layers of mucus on an epithelial surface, can have a large impact on the resistivity measurements. Another known fact that could have a role, though, is that the mucus viscosity increases progressively toward the distal colon, at least in the murine colon, a characteristic that determines a spatial distribution of bacteria [20]. However, it is also possible that differences in the proximal and distal anatomy and physiology can affect the electrical measurements. In the rabbit, for instance, and according to [14], the proximal colon is separated from the distal colon by the *flexus coli*, and has 2 different segments: a first one about 10 cm long and a second one of about 20 cm; the distal colon is between 80-100 cm long. The proximal colon in the rabbit is where the mix and absorption of water and electrolytes takes place, while propulsive forces for excretion are predominant in the distal colon [21]. Fermentative processes take place mainly in the proximal colon. In pathological situations, alterations in the tight junctions as well as edema in the colon wall could also influence the resistivity measured from the luminal side, but, probably, a wider separation of the electrodes would be desirable if we want to consider this aspect. Therefore, it would be interesting to make measurements in altered tissue to see if differences in electrical impedance can be found and can be associated with changes in the tissue. It is well known that, for instance, alteration in the tight junctions can cause or contribute to a wide variety of pathological conditions, including cancer [22] [23]. When edema in the intestinal wall is present, the electrical impedance varies as well [11]. Permeability is also altered when the integrity of the mucosa is lost [24] or when abnormal microbiota activate mucosal innate

immune responses which increase epithelial permeability [25]. Finally, the results of our measurements, are similar to the profiles of the electrical potential difference (PD) in the colonic lumen to blood reported by [17], where we see a gradual decrease in the proximal colon, fluctuations in the distal colon and an increase at the end of the distal colon and rectum.

#### V - CONCLUSIONS

The data obtained in our experiments suggest that the colon mucosa has a relatively low electrical impedance with differences between its more proximal and its more distal parts. We found that electrical resistivity of colon seems to decrease gradually from proximal to distal. We hypothesize that these differences in electrical properties of the colon could also be observed in the human colon and it can be studied in order to determine abnormalities when colon wall thickness or the mucous layer change.

#### COMPLIANCE OF ETHICAL REQUIREMENTS

The animals used in our experiments were treated in accordance with the principles for care and use of experimental animals in the field of physiological sciences, with the approval of the Bio-Ethics Committee of the University of Caldas.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This study was partially supported by the University of Caldas.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors reported no proprietary or commercial interest in any product mentioned or concept discussed in this article.

#### REFERENCES

1. Sellers R, Morton D. *The Colon: From Banal to Brilliant*. (2013) *Toxicol Pathol* 42:67–81.
2. Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, et al. (2013) Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes* 62:3341–3349.
3. McLean M, Dieguez Jr D, Miller L et al. (2014) Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut* 64:332–341.
4. Mayer E, Knight R, Mazmanian S et al. (2014) Gut Microbes and the Brain: Paradigm Shift in Neuroscience. *J Neurosci* 34:15490–15496.
5. Avetisyan M, Schill E, Heuckeroth R. (2015) Building a second brain in the bowel. *J Clin Invest* 125:899-907.
6. Berman S, Petriz B, Kajeniene A et al. (2015) The Microbiota: An exercise immunology perspective. *Exerc Immunol Rev* 21:70–79.
7. Camilleri M, Lasch K, Zhou W. (2012) Irritable Bowel Syndrome: Methods, Mechanisms, and Pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303:G775–G785.
8. Wang X, Tully O, Ngo B et al. (2011) Epithelial tight junctional changes in colorectal cancer tissues. *ScientificWorldJournal* 11:826–841.
9. Peralta A, Miller R, Laughlin K et al. (1999) Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis* 20:1425–1431.
10. Gitter A, Bendfeldt K, Schulzke J et al. (2000) Trans/paracellular, surface/crypt, and epithelial/subepithelial resistances of mammalian colonic epithelia. *Pflügers Arch – Eur J Physiol* 439:477–482.
11. Radhakrishnan R, Shah K, Xue H et al. (2007) Measurement of intestinal edema using an impedance analyzer circuit. *J Surg Res* 138:106–110.
12. Huang Y, Huang E, Cheng K. (2013) The correlation between extracellular resistance by electrical biopsy and the ratio of optical low staining area in irradiated intestinal tissues of rats. *Biomed Eng ONLINE* 12:23–35.

13. González-Correa C, Brown B, Smallwood R et al. (1999) Virtual Biopsies in Barrett's Esophagus Using an Impedance Probe. *Ann N Y Acad Sci* 873:313–321.
14. Snipes R, Clauss W, Weber A et al. (1982) Structural and functional differences in various divisions of the rabbit colon. *Cell Tissue Res* 225:331–346.
15. Atuma C, Strugala V, Allen A et al. (2001) The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280:G922–G929.
16. Walker D, Brown B, Smallwood R et al. (2002) Modelled current distribution in cervical squamous tissue. *Physiol Meas* 23:159–168.
17. Varum F, Veiga F, Sousa J et al. (2010) An investigation into the role of mucus thickness on mucoadhesion in the gastrointestinal tract of pig. *Eur J Pharm Sci* 40:335–341.
18. Swidsinski A, Sydora B, Doerffel Y et al. (2007) Viscosity gradient within the mucus layer determines the mucosal barrier function and the spatial organization of the intestinal microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 13:963–970.
19. Geselowitz D. (1971) An Application of Electrocardiographic Lead Theory to Impedance Plethysmography. *IEEE Trans Biomed* 18:38–41.
20. Corazziari E. (1999) Intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 48 Suppl 2:S54–S55.
21. Dinning P, Costa M, Brookes S et al. (2012) Neurogenic and myogenic motor patterns of rabbit proximal, mid, and distal colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303:G83–G92.
22. Chiba H, Osanai M, Murata M et al. (2008) Transmembrane proteins of tight junctions. *Biochim Biophys Acta* 1778:588–600.
23. Ryan C, Atkins M, Mier J et al. (1995) Effects of malignancy and interleukin-2 infusion on gut macromolecular permeability. *Crit Care Med* 23:1801–1806.
24. Marcon R, Claudino R, Dutra R et al. (2013) Exacerbation of DSS-induced colitis in mice lacking kinin B<sub>2</sub> receptors through compensatory up-regulation of kinin B<sub>1</sub> receptors: the role of tight junctions and intestinal homeostasis. *Brit J Pharmacol* 168:389–402.
25. Simrén M, Barbara G, Flint H et al. (2013). Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* 62:159–176.

Author: Edelberto Mulett-Vásquez  
 Institute: Universidad de Caldas  
 Street: Calle 25 # 48 - 57  
 City: Manizales  
 Country: Colombia  
 Email: emulettv@umc.net.co



Convencion Internacional de Salud, Cuba Salud 2015

**INFORME PRELIMINAR SOBRE USO DE ESPECTROSCOPIA DE BIOIMPEDANCIA ELÉCTRICA PARA TAMIZAJE DE CÁNCER DE COLON Y RECTO**

**MULETT-VÁSQUEZ EDELBERTO<sup>1</sup>, GONZALEZ-CORREA CARLOS-AUGUSTO<sup>2</sup>,**

**MIRANDA-MERCADO DAVID-ALEJANDRO<sup>3</sup>, DUSSAN-LUBERT CARMEN-LUCÍA<sup>4</sup>, OSORIO-CHICA MAURICIO<sup>5</sup>, GONZALEZ-CORREA CLARA HELENA<sup>6</sup>.**

**LINEA:** Desarrollo de los Sistemas de Investigación y de Innovación Tecnológica en Salud

**COLOMBIA.** Presentado por Edelberto Mulett Vásquez

**MODALIDAD:** Presentación Oral (PRESENTACION POWER POINT – VIDEOBEAM)

**RESUMEN**

**INTRODUCCIÓN.** El cáncer de colon y recto es una patología de rápido aumento en la incidencia a nivel mundial. Se han descrito varios métodos de tamizaje y a pesar de esto es una de las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial. Se deben buscar nuevos métodos que lleven a masificar un procedimiento para identificar en una etapa subclínica los pacientes a riesgo de padecer la enfermedad. **OBJETIVO:** Medir, mediante la técnica de espectroscopia de bioimpedancia eléctrica (EBIE), las características eléctricas pasivas de la mucosa del recto, con el fin de establecer si existen diferencias en la resistencia eléctrica rectal de pacientes con mucosa aparentemente normal, con pólipos adenomatosos y cáncer. **MATERIALES Y**

---

<sup>1</sup> Médico, Cirujano General, Coloproctólogo. Docente del Departamento Quirúrgico, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad de Caldas y miembro del Grupo de Bioimpedancia Eléctrica. [emulettv@unc.net.co](mailto:emulettv@unc.net.co) Edificio Miguel Arango Soto Carrera 25 N°48-57 (Manizales- Caldas). Tel +573104221907

<sup>2</sup> Médico, PhD en Física Médica e Ingeniería Clínica. Docente del Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia Coordinador del Grupo de Investigación en Bioimpedancia Eléctrica.

<sup>3</sup> Físico, Ingeniero Electrónico, M.Eng Electrónica, PhD en Química Aplicada. Docente de la Escuela de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Director del Centro de Investigación Científica y Tecnológica en Materiales y Nanociencias, CMN y del Grupo de Investigación CIMBIOS.

<sup>4</sup> Ingeniera Química, MsSc en Estadística, Docente del Departamento de Matemáticas, Universidad de Caldas.

<sup>5</sup> Médico, Cirujano General, MsSc Educación. Docente del Departamento Quirúrgico, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

<sup>6</sup> Médica Nutrióloga, PhD en Física Médica e Ingeniería Clínica. Docente del Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

**MÉTODOS:** Se hace un estudio prospectivo con alcance descriptivo para identificar las características de bioimpedancia de la pared rectal, en sujetos sometidos a colonoscopia total utilizando el Tissue Impedance Meter (Electrical Impedance Spectroscopy Mark III Single Channel System) tomando cuatro (4) mediciones en el recto (4 cuadrantes), a diferentes frecuencias.

**RESULTADOS:** Se muestran los promedios de las mediciones de resistencia eléctrica, realizadas en cada uno de los cuadrantes, para cada uno de los diagnósticos obtenidos.

**CONCLUSIONES:** Se encuentra que hay diferencias en los resultados de las características por bioimpedancia de la pared rectal lo que puede llevar a clasificar los enfermos según el riesgo de aparición de lesiones en el colon.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer, colon, recto, pólipo, tamizaje, efecto de campo carcinogénico, espectroscopia de bioimpedancia eléctrica (EBIE).

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon y recto es una patología cuya incidencia a nivel mundial sigue en aumento, a pesar de que se han descrito y se aplican varios métodos de tamizaje para prevenirlo o al menos detectarlo en estadio temprano. En la actualidad, es una de las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial y se considera necesario buscar nuevos métodos de tamizaje que lleven a masificar un procedimiento para identificar los pacientes en riesgo de padecer la enfermedad. El cáncer de colon y recto, tradicionalmente de alta incidencia en los países desarrollados, ha mostrado un aumento progresivo en Latinoamérica y en Colombia. Es una de las neoplasias malignas más comúnmente diagnosticadas a nivel global, con un estimado de 1.2 millones de casos nuevos en 2008, causando la muerte a 608.700 pacientes (1). Según estadísticas de La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer, de acuerdo al Reporte de Cáncer Global para el año 2012, la incidencia en hombres es del 10%, con una mortalidad del 8%. En Colombia, tiene una incidencia en hombres del 7.7% con una mortalidad del 7.9%, mientras, en mujeres, estas cifras son del 8.2% y del 9.1% (la mortalidad no puede ser mayor que la incidencia), respectivamente, todas muy cercanas a las cifras mundiales. El cáncer de colon y recto, es una enfermedad en la cual intervienen factores del medio ambiente como la dieta y el estilo de vida, factores locales como los alimentos y la microbiota del colon, al igual que alteraciones genéticas y epigenéticas (2). La presente propuesta se basa en dos conceptos fundamentales reportados en la literatura científica, los cuales han sido explorados por distintos grupos a nivel mundial: a) el efecto de campo carcinogénico (3) y b) la evidencia reportada en

algunos artículos científicos en cuanto a que el aumento de la permeabilidad epitelial en el colon precede la aparición fenotípica del cáncer (4) (5).

La teoría del campo carcinogénico (3) dice que la exposición por un largo período de tiempo de tejidos u órganos a un entorno adverso, promueve la aparición de alteraciones carcinogénicas a nivel molecular. En general, se da un juego de mutaciones genéticas y cambios epigenéticos que ocurren en zonas amplias de un tejido u órgano, hasta generar cambios premalignos, displasia y, eventualmente, carcinoma in situ. Esto ha llevado a varios autores a proponer la teoría de que estudiando cambios en órganos lejanos o en partes alejadas de un órgano, se puede detectar, no sólo la presencia temprana de cambios cancerosos en otros órganos o sitios de un mismo órgano, sino, más importante aún, realizar un diagnóstico, más precoz aún, de tejidos o personas en riesgo de desarrollar tales cambios, antes de que aparezcan cambios histológicos o morfológicos evidentes. Esta teoría se ha aplicado en diferentes órganos y tejidos como cabeza y cuello,

pulmón, colon y recto, esófago de Barret, piel, conductos mamarios y vejiga (6). Es así, como se están estudiando diversas estrategias desde el punto de vista físico, utilizando mediciones por óptica (7) o por estudios genéticos (8).

En cuanto a estudios previos que se han reportado sobre el aumento de la permeabilidad de la mucosa colónica en relación al cáncer colorrectal, se tienen los estudios de Davis y colaboradores (9) (10), así como los de Peralta-Soler y colaboradores (4). Los primeros señalan, en primer lugar, que se observan cambios en las propiedades eléctricas de tejidos sometidos a un proceso de cancerización, mucho antes de que se puedan notar alteraciones detectables por microscopía electrónica y óptica. En segundo lugar, que los siguientes cambios tempranos se dan en la estimulación del crecimiento y transformación de células en proceso de cancerización: a) alteraciones en la glicoproteínas de la superficie celular, b) alteración en la permeabilidad de la membrana celular, c) flujo alterado de iones, d) cambios en el acoplamiento intercelular y e) alteraciones en las uniones estrechas celulares. Por su parte, Peralta Soler y colaboradores, señalan cómo, midiendo la resistencia eléctrica transepitelial, se puede corroborar el hecho de que un aumento de la permeabilidad epitelial, y la consecuente disminución de su función de barrera, preceden la aparición de tumores en el colon. Todos estos cambios a nivel molecular y de organelas, afectan, en teoría, la respuesta eléctrica pasiva de los órganos y tejidos. Finalmente, es importante señalar que todos estos estudios se han realizado *in vitro* y primordialmente con modelos animales. El objetivo del presente trabajo es medir, mediante la técnica de espectroscopía de bioimpedancia eléctrica (EBIE), las características eléctricas pasivas de la mucosa del recto, con el fin de establecer si existen diferencias en la resistencia eléctrica rectal (la parte real de la bioimpedancia) de pacientes con mucosa aparentemente normal (es decir, sin patología evidente), con pólipos adenomatosos y con cáncer, después de ser sometidos a colonoscopia total diagnóstica.

## I. Material y método

Se hace un estudio prospectivo con alcance descriptivo, para identificar las características de bio-impedancia eléctrica (parte real) de la pared rectal, en pacientes llevados a colonoscopia total diagnóstica, solicitada en consulta externa. Las mediciones se realizan con un Tissue Impedance Meter (Electrical Impedance Spectroscopy Mark III Single Channel System, producido en Sheffield-Reino Unido, Departamento de Física Médica e Ingeniería Electrónica). Se trata de un equipo experimental grado médico, diseñado inicialmente para estudio de cáncer de cuello uterino, al cual se le coloca una sonda con un arreglo tetrapolar (dos electrodos de corriente y dos de voltaje, todos de oro), y cuyas características han sido descritas previamente (11). Las mediciones se realizan *in vivo*, en la pared del recto de personas que va a ser sometidas a colonoscopia total diagnóstica, previo a la realización de éste procedimiento y cuyo diagnóstico posterior al examen es de: a) pólipo/s, o b) aparentemente normal (sin tumor/s, ni ninguna otra patología evidente), o c) tumor/es de apariencia maligna en la endoscopia. Las mediciones en pacientes que con un diagnóstico diferente, no se tienen en cuenta, salvo un caso de colitis, por considerarlo de interés.

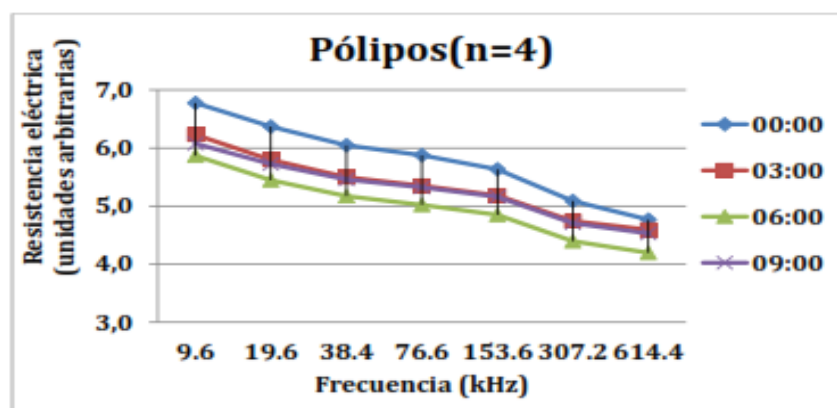
La sonda se pasa a través de un anoscopio de plástico, lo cual permite introducirla fácilmente, bajo control visual. Se toma una medición en cada uno de los 4 cuadrantes (a las 00:00, 03:00, 06:00 y 09:00 horas, tomando como las 00:00 el coxis). El equipo suministra una corriente alterna de 40  $\mu$ A a 7 (siete) frecuencias diferentes: 9.6, 19.2, 38.4, 76.8, 153.6, 307.2 y 614.4 kHz. Por el momento, sólo se comparan los espectros de la parte real de la impedancia a las frecuencias mencionadas. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado, previa aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, Suramérica. Las mediciones se realizan en las instalaciones de la Unión de Cirujanos, en la Clínica La Presentación de la ciudad de Manizales, Caldas, Colombia, Suramérica. Hasta el momento se han realizado mediciones en 14 (catorce) pacientes: 4 con pólipos, 9 con diagnóstico de colon normal (sin patología aparente) y 1 (uno) con colitis por desuso (colostomía), de los cuales 10 eran mujeres y 4 hombres, con edades entre 22 y 67 años, con una edad mediana de 48,5 años. Como se está haciendo un estudio con alcance descriptivo, el cual permitirá orientar la investigación en la detección temprana de cáncer de colon y recto en humanos, los datos presentados son reportados en unidades arbitrarias, sin parámetros de calibración

y el análisis se realiza a manera descriptiva con el objetivo de estudiar diferencias en la forma de los espectros. En la siguiente fase del estudio, la cual no se reporta en este artículo, se analizarán los valores calibrados de los espectros y se harán estudios cuantitativos empleando técnicas de modelado inverso, para lo cual se usarán modelos Cole-Cole.

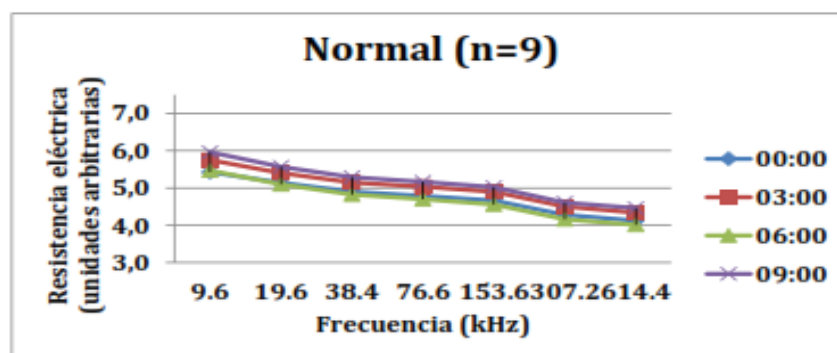
### I. Resultados

En la Figura 1., se muestran los promedios de las mediciones de resistencia eléctrica (en unidades arbitrarias, por tratarse de datos crudos), realizadas en cada uno de los cuadrantes mencionados en Materiales y Métodos, para cada uno de los diagnósticos obtenidos mediante colonoscopia total: a) pólipos, b) normal (sin patología aparente) y c) colitis por desuso debido a que el (paciente portaba una colostomía). En la figura 2., se muestran los promedios de las mediciones realizadas en todos los cuadrantes, de todos los voluntarios/as y según diagnóstico post-endoscópico.

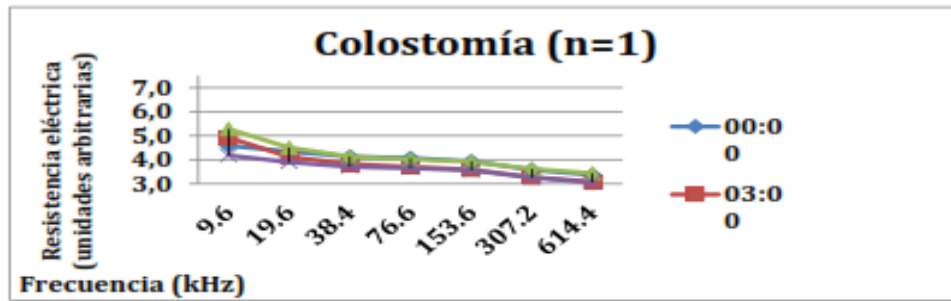
a)



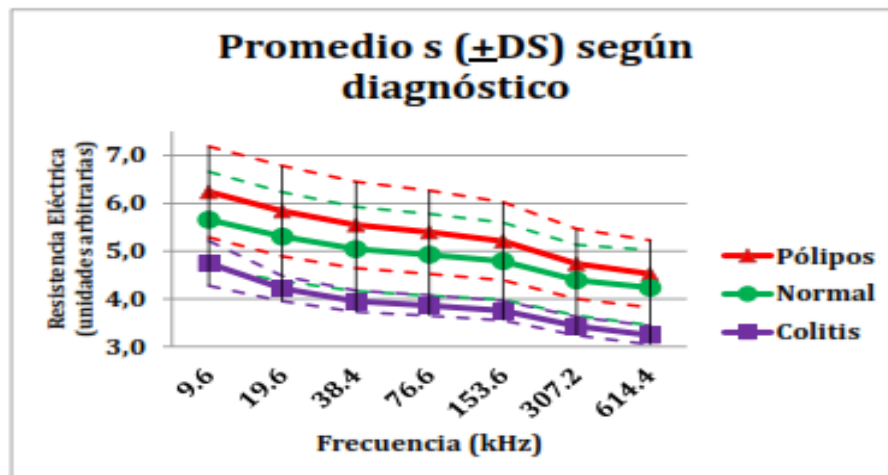
b)



c)



**Figura 1.** Resultados preliminares de mediciones de resistencia eléctrica según diagnóstico post-colonoscopía total, discriminados por sitio de la medición. Las barras negras indican el rango de las mediciones en cada frecuencia, incluyendo las desviaciones estándar.



**Figura 2.** Resultados preliminares de resistencia eléctrica del recto según diagnóstico post-colonoscopía total, discriminados por sitio de la medición y presentados como promedio de todas las mediciones de todos los pacientes, de acuerdo a cada diagnóstico. Los datos se presentan como promedio + 1DS (líneas discontinuas del mismo color de cada tipo de diagnóstico). Las barras negras indican el rango de las mediciones en cada frecuencia.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio preliminar parecen indicar que hay diferencias en los resultados de las características bio-impedanciométricas de la pared rectal, lo cual podría llevar a clasificar los enfermos según el riesgo de aparición de lesiones en el colon. Los resultados presentados en este informe son muy alentadores, especialmente por cuanto muestran la viabilidad técnica de realizar las mediciones de la manera propuesta. Podría pensarse que, a mediano plazo, la EBIE podría usarse como una herramienta de tamizaje para diagnóstico precoz, no sólo de cáncer de colon, sino, más importante aún, para determinación de personas en mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, antes de que ésta se manifieste fenotípicamente. La EBIEC tiene las ventajas de ser segura, fácil de usar, mínimamente invasiva y de bajo costo

## REFERENCIAS

1. Brezden-Masley Ch, Polenz Ch. Current practices and challenges of adjuvant chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2014;23:49–58.
2. Bardhan K, Liu K. Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers* 2013;5:676–713.
3. Slaughter D, Southwick H, Smejkal W. “field cancerization” in oral stratified squamous epithelium. *Cancer*. 1953;6:963–8.
4. Peralta A, Miller R, Laughlin K, Carp N, Klurfeld D, Mullin J. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis*;20:1425–31.
5. Rozen P. Cancer of the gastrointestinal tract: early detection or early prevention? *Eur J Cancer Prev*. 2004;13:71–5.
6. Bernstein C, Bernstein H, Payne C, Dvorak K, Garewal H. Field defects in progression to gastrointestinal tract cancers. *Cancer Lett* 2008;260:1–10.
7. Roy H, Gomes A, Ruderman S, Bianchi L, Goldberg M, Stoyneva V, et al. Optical measurement of rectal microvasculature as an adjunct to flexible sigmoidoscopy: gender-specific implications. *Cancer Prev Res* 2010;3:844–51.
8. Sandler R, Baron J, Tosteson T, Mandel J, Haile R. Rectal Mucosal Proliferation and Risk of Colorectal Adenomas: Results from a Randomized Controlled Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9:653–6.
9. Davies R, Joseph R, Kaplan D, Juncosa R, Pempinello C, Asbun H, et al. Epithelial impedance analysis in experimentally induced colon cancer. *Biophys J* 1987;52:783–90.

10. Davies R, Joseph R, Asbun H, Sedwitz M. Detection of the Cancer-Prone Colon, Using Transepithelial Impedance Analysis. *Arch Surg.* 1989;124:480–4.
11. Brown B, Tidy J, Boston K, Blackett A, Smallwood R, Sharp F. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet.* 2000;355:892–5.
12. Vietto V. Actualización: La problemática del cáncer colorrectal y su rastreo (segunda entrega). *Evidencia.* 2013;16:32–7.
13. Barouni M, Larizadeh M, Sabermahani A, Ghaderi H. Markov's Modeling for Screening Strategies for Colorectal Cancer. *Asian Pacific Cancer Prev* 2012;13:5125–9.
14. Barret B, Mckenna P. Communicating Benefits and Risks of Screening for Prostate, Colon, and Breast Cancer. *Fam Med* 2011;43:248–53.
15. Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger U, Lippert H. Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Dis Colon Rectum* 2010;53:57–64.
16. Shaukat A, Mongin S, Geisser M, Lederle F, Bond J, Mandel J, et al. Long-term mortality after screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013;369:1106–14.
17. Castells A, Bessa X, Quintero E, Bujanda L, Cubiella J, Salas D, et al. Risk of advanced proximal neoplasms according to distal colorectal findings: comparison of sigmoidoscopy-based strategies. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:878–86.
18. Schoen R, Pinsky P, Weissfeld J, Yokochi L, Church T, Laiyemo A, et al. Colorectal-Cancer Incidence and Mortality with Screening Flexible Sigmoidoscopy. *N Engl J Med.* 2012;2012:2345–57.
19. El-Serag H, Petersen L, Hampel H, Richardson P, Cooper G. The Use of Screening Colonoscopy for Patients Cared for by the Department of Veterans Affairs. *Arch Intern Med.* 2006;166:2202–8.
20. Baxter N, Goldwasser M, Paszat L, Saskin R, Urbach D, Rabeneck L. Association of Colonoscopy and Death From Colorectal Cancer: A Population-Based, Case-Control Study. *Ann Intern Med.* 2009;150:1–8.
21. Laghi A, Iafrate F, Rengo M, Hassan C. Colorectal cancer screening: The role of CT colonography. *World J Gastroenterol* 2010;16:3987.
22. Link A, Balaguer F, Shen Y, Nagasaka T, Lozano J, Boland C, et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol biomarkers Prev* 2010;19:1766–74.

23. Levin B, Brooks D, Smith R, Stone A. Emerging Technologies in Screening for Colorectal Cancer: CT Colonography, Immunochemical Fecal Occult Blood Tests, and Stool Screening Using Molecular Markers. *CA Cancer J Clin* 2003;53:44–55.
24. Franceschi S, Wild Ch. Meeting the global demands of epidemiologic transition - the indispensable role of cancer prevention. *Mol Oncol* 2013;7:1–13.



## ***In vivo* Electrical-Impedance Spectroscopy (EIS) Readings in the Human Rectum**

Mulett-Vasquez Edelberto<sup>1</sup>, Gonzalez-Correa Carlos-Augusto<sup>2</sup>, Miranda-Mercado David-Alejandro<sup>3</sup>, Osorio-Chica Mauricio<sup>1</sup>, Dussan-Lubert Carmen<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidad de Caldas/Department of Surgery, Manizales, Colombia.

<sup>2</sup> Universidad de Caldas/Director of the Research Group on Electrical Impedance, Manizales, Colombia.

<sup>3</sup> Universidad Industrial de Santander, Department of Physics, CIMBIOS, Bucaramanga, Colombia

<sup>4</sup> Universidad de Caldas, Department of Mathematics, Manizales, Colombia.

© Springer Science+Business Media Singapore 2016  
F. Simini and B.F. Pedro (eds.), II Latin American Conference on Bioimpedance, IFMBE Proceedings 54.  
DOI:10.1007/978-981-287-928-8\_18

**Abstract-** Worldwide, colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of morbidity and mortality, ranking third among the most common cancers. Although screening programs are useful in reducing its impact, the screening tools available at present are far from being ideal. This justifies the search for new screening tools, and the authors think that Electrical Impedance Spectroscopy (EIS) could be a good candidate. It is a non- or minimally-invasive technique, safe, low cost and easy to use. At present, it is being introduced in cervical cancer screening programs in the UK, and has been tested in other types of cancer. In this preliminary study with a small sample of 17 human patients undergoing diagnostic total colonoscopy, we report the feasibility of using EIS for taking *in vivo* rectal readings. Four quadrant measurements were taken on each volunteer, a procedure that, in total, takes no more than 2 minutes, with minimal additional discomfort for the volunteers. After colonoscopy, 10 volunteers were considered as normal, 5 had polyposis, 1 had diverticulosis and 1 had disuse colitis. None was diagnosed as having cancer anywhere in the colon or rectum. A Multiple Range Test with Tukey HSD (Honest Significant Difference) shows a statistical significant difference between the readings obtained from the volunteer with disuse colitis when compared to the readings obtained from patients of the other three groups. *In vivo* EIS readings in humans can be obtained very easily and this opens the possibility of using it for further studies in the search of its possible application as an effective screening tool.

**Keywords--** Colorectal Cancer, Electrical Impedance Spectroscopy, Screening Tools.

### **I. INTRODUCTION**

With 9.7% (1.361.000) of all new cancers diagnosed worldwide in 2012, colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer [1]. As with many other cancers, in the search for

reducing CRC associated morbidity and mortality, screening programs have been implemented in different parts of the world [2]. Although there are different tests available for early diagnosis of CRC, screening programs usually use one or both of the two following: detection of fecal occult blood (FOB) and endoscopy, either by flexible sigmoidoscopy or by colonoscopy [2] [3]. The former has as major disadvantage, its low sensitivity for both CRC and advanced adenomas. While the later is invasive, expensive, time-consuming, associated with possible pain, requires rigorous peroral bowel cleansing and good trained specialized personnel [2], making it difficult to implement worldwide. Ideally, a screening test should be able to detect not only CRC at an early stage, but rather identify persons with cancer-prone colorectum, so that prevention and closer follow up programs can be implemented [4] [5]. In the literature, there is published evidence that increased transepithelial permeability, leading to a decrease of its electrical impedance, is associated with the development of cancer [4] [6] [7] [8]. However, it seems that, regrettably, this line of research has not been explored further after this pioneering work. EIS is an inexpensive, easy to use, non- or, at most, minimally-invasive technique that is being commercialized in the UK and other parts of the world to improve the diagnosis of cervical cancer as an adjunct to colposcopy [8]. It has also been used in research for early detection of cancer in other organs as oesophagus [10], bladder [11] and skin [12]. In this preliminary report, we show initial results of an ongoing project on the application of EIS for early detection of CRC. Through readings taken from

the distal rectum, with a procedure that takes no more than 2 minutes, where the patient doesn't need preparation/sedation. It can be considered as a completely safe and minimally invasive procedure, with no need for a specialist being involved and of very low cost. The main aim of this paper is to report these findings, showing the feasibility of this approach.

## II. MATERIALS AND METHODS

Volunteers were recruited among patients sent for diagnostic colonoscopy to "Union de Cirujanos SAS" at Clínica La Presentación in Manizales, Caldas, Colombia, South-America, between December 2014 and February 2015. Readings were collected from 17 volunteers attended by the endoscopist surgeon involved in the project (MOCh), after signing the informed consent approved by the Ethical Committee from the University of Caldas. Gender, number of subjects, and ages of the sample are shown in table 1.

Table 1. Gender and ages of the volunteers

Gender	n	Median age	Minimum age	Maximum age
Female	12	48,5	22	67
Male	5	64,0	24	67
Total	17	49,0	22	67

Using the same equipment as Brown *et al* [13] [14] and Gonzalez *et al* [15], and with the same type of pencil-probe used on the cervix, an electrical current of 40  $\mu$ A peak-to-peak at 7 different frequencies was passed between two adjacent electrodes. The probe had a diameter of 5.5 mm with four gold electrodes (1 mm diameter each) equally spaced on a circle of radius 1.65 mm and mounted flush with the face of the probe. The 7 frequencies used went from 9.6 kHz to 614.4 kHz, each frequency being the double of the previous one. The real part of the resulting potential was measured between the two remaining electrodes and the transfer impedance was calculated as the ratio of the measured potential to the amplitude of the imposed current. Electrical readings were taken prior to colonoscopy by the colorectal surgeon participating in the project (EMV). With the patient in fetal position and after lubrication of the anus, a disposable anoscope was gently introduced. The surgeon proceeded then to take

measurements at positions 00:00 (posterior, i.e. middle line immediately below the coccyx), 03:00 (right lateral), 06:00 (anterior), and 09:00 (left lateral) (Figure 1.). Subsequently, the colonoscopy was carried out but no biopsies were taken from the rectum, as that would be unacceptable from the clinical and ethical point of view.

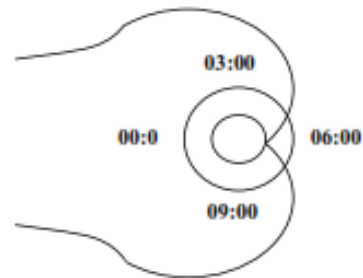


Figure 1. Positions where readings were taken. See text for more details.

The Student's t-Test was used to assess the statistical significance of the differences between the resistances at the different frequencies, on the different points. To assess the differences between data of the four groups of patients in the sample (colitis, diverticulosis, polyps and normal), we used the Multiple Range Test with Tukey HSD (honest significant difference).

## III. RESULTS

The first answer that we wanted to resolve was if there was any statistical significant difference in the readings obtained in the four different sites described above, as it is shown in Figure 1. The averages of all readings at each site and at all frequencies are practically the same (Figure 2) and there is no statistically significant difference between points of measurement at each frequency (Table 2).

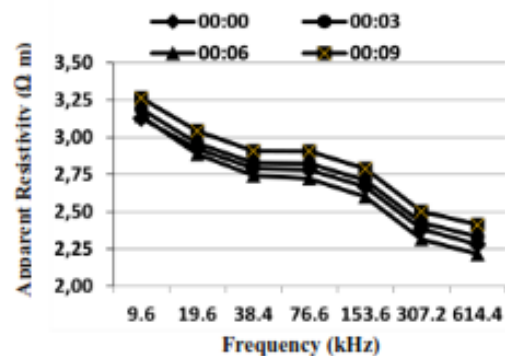


Figure 2. Electrical Impedance Spectra of the mean resistivity at each frequency for the four different positions where readings were taken (n = 17).

Table 2. P values for the differences between the means of the readings obtained on the four point at seven frequencies.

Frequency (kHz)	P-Value
9.6	0,90
19,6	0,86
38.4	0,83
76.6	0,77
153.6	0,72
307.2	0,64
614.4	0,60

After colonoscopy, of these initial 17 volunteers, 10 were considered as normal (no apparent lesion), 5 had polyposis, 1 had diverticulosis and 1 had disuse colitis. The differences between the averages of the readings from patients with polyposis, diverticulosis and normal are statistically no-significant (Figure 3). Table 3, shows the mean of the readings for each group of volunteers, where those pertaining to diverticulosis, colitis and normal are homogeneous, i.e. they can be considered as equal. The Multiple Range Test with Tukey HSD shows that the difference is significant when Colitis-Diverticulosis, Colitis-Normal and Colitis-Polyposis are compared (Table 4).

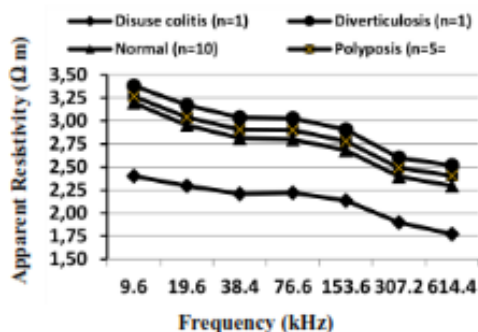


Figure 3. Electrical Impedance Spectra of the mean resistivity for the four groups of volunteers.

Table 3. Mean of the readings obtained in each group.

Group	Total readings	Mean
Colitis	28	3,88
Diverticulosis	28	4,95
Normal	280	5,06
Polyposis	140	5,27

Table 4. Comparison of the means between the four groups of patients.

Contrast	Difference	+/- Limits
Colitis - Diverticulosis	*-1,06	0,69
Colitis - Normal	*-1,17	0,51
Colitis - Polyposis	*-1,39	0,53
Diverticulosis - Normal	-0,11	0,51
Diverticulosis - Polyposis	-0,33	0,53
Normal - Polyposis	-0,22	0,27

\* denotes a statistically significant difference.

#### IV. DISCUSSION

The number of subjects of the study is very small, but, as its main aim was to see the viability of obtaining the readings, we think that it is enough for that purpose. Obtaining EIS readings from patients undergoing diagnostic total colonoscopy was carried out very easily, with practically very little additional discomfort for the subjects. In all cases, it took, in total, less than two minutes to have the readings in the four selected positions. Although there seems not to be statistically significant differences among the readings obtained in them, we still consider that, given the easiness of the procedure, it is worth having all four measurements and averaging them to obtain a single value for each patient. In his PhD thesis, Gonzalez-Correa [16] reported median values of apparent resistivity in columnar epithelia from the stomach and from esophageal areas with intestinal metaplastic mucosa (Barret's esophagus) at the five lower frequencies used in this study (9.6, 19.6, 38.4, 76.6 and 153.6 kHz) of 4.2, 4.0, 3.7, 3.4, 3.1 Ω m, respectively. The medians of the readings obtained for the rectal mucosa from all subjects in this study gave an

averaged apparent resistivity of 3.2, 2.9, 2.8, 2.8, 2.7, 2.4 and 2.2,  $\Omega$  m at the same frequencies. Our values are lower (almost by a third), but this is something that could probably be explained by the presence of a thicker layer of mucus in the colon. Values for this variable have been reported to go up to 800  $\mu$ m in the colon of some experimental animals [17]. Another factor that could contribute to these differences is the size of the probes used in both studies, as the one used in the esophagus was thinner (diameter of 3.2 mm with electrodes with diameter of 0.8 mm, equally spaced on a circle of radius 1.35, compared to ours with a diameter of 5.5 mm and four gold electrodes with diameter of 1 mm each, the same used by Brown *et al* [13] in the human cervix. Based on Geselowitz's theory [18], it is known that the size and the separation of the electrodes influence the penetration depth of the applied current [16,19].

#### V. CONCLUSIONS

With this initial small study, we now know that it is feasible to obtain EIS *in vivo* readings from the rectum of human patients undergoing colonoscopy. As, if this technique were to be used

on its own, there would be no need, neither for previous preparation of the patients, not for sedation, and the examination is minimally invasive, safe, easy to perform and consumes very little time. It makes this technique a very good candidate as a possible screening tool. We will explore this possibility in the future, and will also consider the use of different probe sizes, as they can give information about structures at different depths of the rectal wall.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully thank to Unión de Cirujanos SAS, especially to Mr. Lázaro-Antonio Arango-Molano for authorizing to carry out this initial study in their facilities.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

#### COMPLIANCE OF ETHICAL REQUIREMENTS

All subjects gave their informed written consent in accordance with the guidelines of the Ethical Committee of the University of Caldas.

#### REFERENCES

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 20/03/2015.
2. Garborg K, Holme Ø, Løberg M, et al. (2013) Current status of screening for colorectal cancer. *Ann Oncol* 24:1963-1972.
3. Rozen P, Winawer S, Waye J (2002) Prospects for the worldwide control of colorectal cancer through screening. *Gastrointest Endosc* 55:755-759.
4. Davies R, Joseph R, Asbun H, et al. (1989) Detection of the cancer-prone colon, using transepithelial impedance analysis. *Arch Surg* 124:480-484.
5. Rozen P. (2004) Cancer of the Gastrointestinal tract: early detection or early prevention?. *Eur J Cancer Prev* 13:71-75.
6. Davies R, Joseph R, Kaplan D, et al. (1987) Epithelial impedance analysis in experimentally induced colon cancer. *Biophys J* 52:783-790.
7. Soler A, Miller R, Laughlin K, et al. (1999) Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis* 20:1425-1431.
8. Davies R, Sandle G, Thompson S. (1991) Inhibition of the Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase pump during induction of experimental colon cancer. *Cancer Biochem Biophys* 12:81-94.
9. Tidy J, Brown B, Healey T, et al. (2013) Accuracy of detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia using electrical impedance spectroscopy with colposcopy. *BJOG* 120:400-410.
10. Gonzalez-Corea CA, Brown BH, Smallwood R, et al (2003) Low frequency electrical bioimpedance for the detection of inflammation and dysplasia in Barrett's oesophagus. *Physiol Meas* 24:291-296.
11. Keshtkar A, Mesbahi A, Mehnati P, et al. (2008) Surface fluids effects on the bladder tissue characterisation using electrical impedance spectroscopy. *Med Eng Phys* 30:693-699.
12. Ramos A, Bertemes-Filho P. (2011) Numerical sensitivity modeling for the detection of skin tumors by using tetrapolar probe. *Electromagn Biol Med* 30:235-245.
13. Brown BH, Tidy JA, Boston K, et al. (2000) Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet* 355:892-895.
14. Brown BH, Milnes P, Abdul S, et al (2005) Detection of cervical intraepithelial neoplasia

- using impedance spectroscopy: a prospective study. *Br J Obstet Gynaecol* 112:802-806.
15. Gonzalez-Correa CA, Brown BH, Smallwood RH, et al (2003) Low frequency electrical bioimpedance for the detection of inflammation and dysplasia in Barrett's oesophagus *Physiol Meas* 24:291-296.
  16. Gonzalez-Correa, CA. (2001) Endoscopic measurement of Electric Impedance Spectra and their Dependence on Tissue Properties in Barrett's Oesophagus. Thesis. University of Sheffield. pp. 184, 82.
  17. Atuma C, Strugala V, Allen A (2001) The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; 280: G922-G929.
  18. Geselowitz D (1971). An application of electrocardiographic lead theory to impedance plethysmography. *IEEE Trans Biomed Eng BME* 18: 38-41
  19. Grimmes S, Martinsen (2000) *Bioimpedance & Bioelectricity Basics*. Academic Press, NY. Chap. 5 Geometrical Analysis, 133-134.

Author: Edelberto Mulett-Vásquez  
Institute: Universidad de Caldas  
Street: Calle 25 # 48 - 57  
City: Manizales  
Country: Colombia  
Email: emulettv@une.net.co

16th International Conference  
on Electrical Bioimpedance

ICEBI

17th Conference on  
Electrical Impedance Tomography

EIT

June 16-23, 2015, Stockholm, Sweden  
Welcome to Stockholm—home of Nobel festivities

Clinical applications

Id: 160604-122

### Rectal impedance parameters in various colorectal conditions

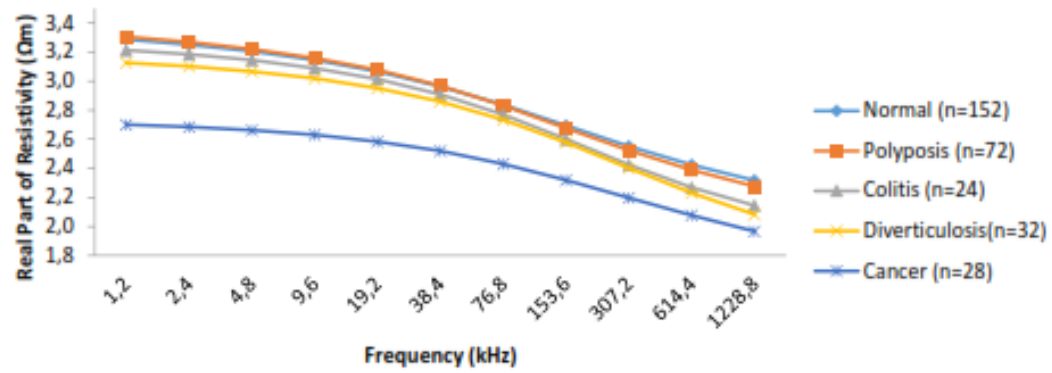
E Mulett-V<sup>1</sup>, Mauricio Osorio-Ch<sup>1</sup>, C Dussán-L<sup>1</sup>, David A. Miranda<sup>2</sup>, CA González-C<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Universidad de Caldas-Colombia; <sup>2</sup>Universidad Industrial de Santander- Colombia.

**Introduction:** Colorectal cancer (CRC) is the 3<sup>rd</sup> most common cancer worldwide, and better screening tools are required. We hypothesize that Electrical Impedance Spectroscopy (EIS) readings in the rectum could be used for CRC screening. This hypothesis is based on the evidence that intestinal mucosal permeability increases with CRC, as well as on the theory of field carcinogenesis (FC). **Objectives:** To determine the electrical profiles of different colorectal conditions found in a group of adult patients scheduled for total colonoscopy due to different gastrointestinal symptoms. **Methods:** Rectal EIS readings were taken in 77 patients who underwent total colonoscopy in a private clinic between 12/2014 and 01/2015. Prior to colonoscopy, EIS readings were taken in four cardinal points on the rectal mucosa of the lower rectum, under direct vision through a plastic anoscope. **Results:** Endoscopic findings were classified as: 38 normal, 18 polyposis, 8 diverticulosis, 7 with cancer (1 anal, 3 rectal and 3 colonic) and 6 with colitis. From each reading (4 per patient) parameters for the Cole-Cole model were obtained (Table 1):  $R_o$  the resistivity of extracellular fluid ( $\Omega m$ );  $R_i$ , resistivity at high frequencies ( $\Omega m$ );  $\tau$ , mean relaxation time in seconds and  $\alpha$ , a heterogeneity parameter. The impedance profiles obtained with those parameters are shown as Figure 1. The results suggest that cancer and polyposis could be separated from all other conditions by  $R_o$  ( $p=0.00$ ). **Conclusion:** Initial findings suggest that EIS could be used for separating patients with CRC with readings taken in the rectum, what could be explained by FC. Normal and polyposis show practically the same behavior. Work with much larger samples is needed in order to further develop this hypothesis.

**Keywords:** Electrical Bioimpedance, Colorectal cancer, screening.

Diagnosis	$R_o$ ( $\Omega m$ )	$R_i$ ( $\Omega m$ )	$\tau$ (s)	$\alpha$
Normal (n=152)	3.41 (0.62)	1.93 (0.57)	46.56 (556.77)	0.46 (0.17)
Polyposis (n=72)	3.43 (0.61)	1.88 (0.63)	1.33 (1.38)	0.45 (0.18)
Colitis (n=24)	3.28 (0.70)	1.82 (0.37)	1.44 (2.47)	0.39 (0.14)
Diverticulosis (n=32)	3.21 (0.70)	1.64 (0.52)	0.70 (0.48)	0.45 (0.15)
Cancer (n=28)	2.75 (0.67)	1.61 (0.65)	0.71 (0.61)	0.39 (0.16)

**Table 1.** Means (SD) of the four basic Cole-Cole parameters for impedance readings in the distal rectal mucosa from 77 volunteers undergoing total colonoscopy.



**Figure 1.** Means of EIS profiles (4 per patient) of 77 volunteers undergoing total colonoscopy for diverse causes. Values for the curves were obtained using the calculated parameters shown in table 1.

Abstract submitted to the 18 World Congress on Gastrointestinal Cancer 2016, Barcelona, June 29- July 2. (ESMO: European Society on Medical Oncology)

### Rectal Bioelectrical impedance (REBI) as a possible screening tool for colorectal cancer (CRC)

Gonzalez-Correa CA<sup>2</sup>, Miranda-Mercado DA<sup>2</sup>, Mulett-Vasquez E<sup>3</sup>, Osorio-Chica MP, Dussan-Lubert C<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidad de Caldas/Research Group on Electrical Impedance, Manizales, Colombia.

<sup>2</sup> Universidad Industrial de Santander, Department of Physics, CIMBIOS, Bucaramanga, Colombia

<sup>3</sup> Universidad de Caldas/Department of Surgery, Manizales, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad de Caldas, Department of Mathematics, Manizales, Colombia.

**BACKGROUND:** There are two main methods widely used for CRC screening: Fecal occult blood tests (FOBT) and total colonoscopy (TC). Although not very expensive, the former lacks of good sensitivity and specificity, whereas the latter is expensive and not very well accepted by the general public. We hypothesize that REBI could be a good candidate for CRC screening or prescreening purposes based on two main concepts: a) known evidence that intestinal mucosal permeability increases with CRC (Mulin *et al* 2000, Ann NY Acad Sci;915:231-6), which should decrease the electrical impedance of the mucosa, and b) the theory of field carcinogenesis (Backman *et al* 2013, J Cancer;4(3):251-61), which states that there is a wide cell transformation affecting whole organs or systems before cancer appears, allowing to interrogate more accessible parts of organs or surrogate organs that mirror what is going on in organs prone to or already affected by carcinogenic alterations. **METHODS:** 77 volunteers scheduled in a private clinic for total colonoscopy due to varied gastrointestinal symptoms participated in this initial study. It was approved by the Ethics Committee of the Universidad de Caldas and all volunteers signed an informed consent. Prior to starting the colonoscopy a plastic anoscope was used to introduce the electrical probe and take readings under direct vision in 4 cardinal points on the rectal mucosa of the lower rectum. This process took less than 2 minutes, the colonoscopist proceeded immediately after to perform the colonoscopy and the results were later correlated with the REBI data. **RESULTS:** 35 out of the 77 volunteers (27 male, 8 females; overall age range 18-89 y, median 46 y) were diagnosed either as normal (n=28) or with cancer (n=7: 3 in colon and rectum each, 1 in the anus). Statistical analysis showed that there was no significant difference between readings taken in the four sites selected for this study ( $P=0.90$ ). Resistivity was different at all frequencies between both groups (Fig. 1), being lower in those with cancer, as expected (6,1 and 5,1  $\Omega$ m at 4,7 kHz and 4,6 and 4,0  $\Omega$ m at 614,4 kHz). **CONCLUSIONS:** The results of this study are very encouraging in that they seem to show that, irrespective of the site of CRC, there is a decrease in the passive electrical properties of the rectal mucosa in persons with CRC. This could probably be due to a decrease in mucosal permeability associated to changes in the nanoarchitecture of tight junctions, one of the possible manifestations of colon field carcinogenesis. We propose, therefore, that EIS can be another alternative to explore for CRC screening.



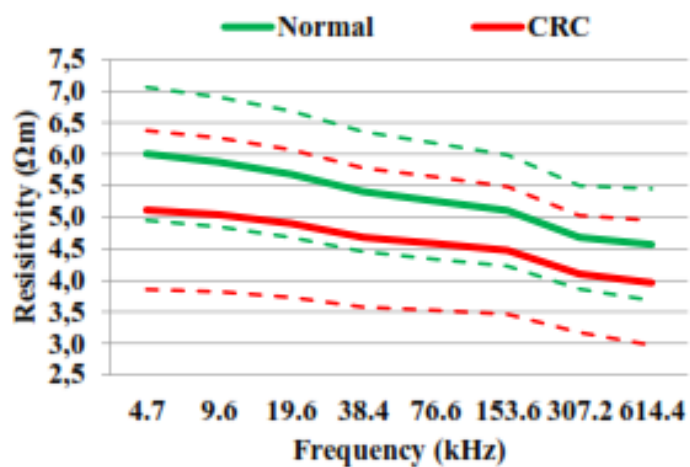


Figure 1. REBI measurements on patients with (red,  $n=28$ ) and without (Green,  $n=112$ ) CRC. Dashed lines indicate  $\pm 1$  SD.



### **Rectal Electrical Bio-Impedance Spectroscopy (REBIS) as a possible screening tool for colorectal cancer (CRC) and other chronic diseases**

Gonzalez-Correa CA<sup>1</sup>, Miranda-Mercado DA<sup>2</sup>, Mulett-Vasquez E<sup>1-3</sup>, Osorio-Chica M<sup>1-3</sup>, Dussan-Luberth C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidad de Caldas (UC), Research Group on Electrical Bio-Impedance, Manizales-Colombia.

<sup>2</sup> Universidad Industrial de Santander, Department of Physics, CIMBIOS, Bucaramanga-Colombia.

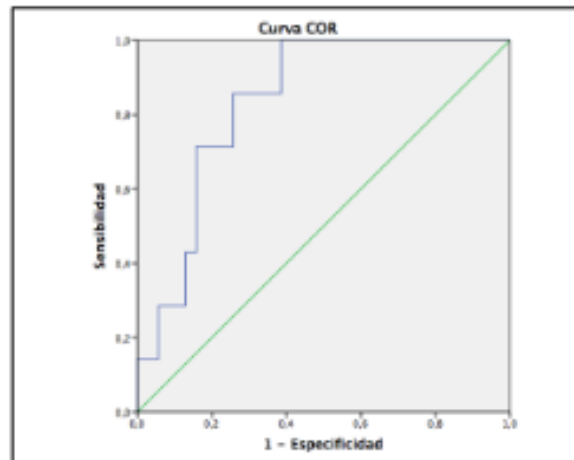
<sup>3</sup> Union de Cirujanos, IPS, Manizales-Colombia

**BACKGROUND:** XXI century scientific evidence is showing a common pathway for many chronic diseases, CRC among them. Chronic exposure to risk factors produces epigenetic changes in the organism, especially in the gastrointestinal (GI) tract. Such changes begin with dysbiosis of microbiota, rupture of the mucus layer barrier, increases in epithelial permeability, endotoxemia and metainflammation. Some of these changes, most prominently increase in epithelial permeability, can be reflected in changes of the passive electric properties of the intestinal wall. Under the theory of field carcinogenesis, some authors are exploring the possibility of early detection of CRC by optical measurements of the rectal wall. We hypothesize that the same could be obtained by REBIS, a more easy to operate and lower cost technique. Eventually, It could be a more acceptable screening tool for CRC than the 2 more commonly used nowadays: fecal occult blood tests and total colonoscopy, the former lacking good sensitivity and specificity, the latter being expensive and not well accepted by the general public. **METHODS:** This initial study was approved by the Ethics Committee of the UC and all participants signed a written informed consent. 77 volunteers participated (20 male, 57 females; age range 18-80 y, median 50 y), all of them scheduled for total colonoscopy in a private clinic due to varied GI symptoms. Prior to colonoscopy, a plastic anoscope was used to introduce the electrical probe and take readings under direct vision in 4 cardinal points on the rectal mucosa. **RESULTS:** By colonoscopy, of the 77 volunteers 38 were normal, 18 had polyps, 7 cancer, 6 colitis and 8 diverticula. After obtaining the Cole-Cole model parameters for biological tissues, a one way ANOVA showed that rectal wall electrical resistance at low frequency can separate patients with CRC from those with no-cancer ( $p=0.014$ ). The ROC curve shows an area under the curve of 83,7% with a sensibility of 71,4% and a specificity of 84.3%. **CONCLUSIONS:** Results are very encouraging, in that they seem to show a decrease in passive electrical properties of the rectal mucosa of patients with CRC. This could probably be due to alterations of the tight junctions, one of the possible manifestations of colorectal field carcinogenesis. Therefore, we propose REBIS as a promising alternative to explore for

CRC screening and, probably, for other chronic diseases associated with increasing epithelial permeability.

Table 1: One way ANOVA analysis

ANOVA						
		Sum of Squares	gl	Mean square	F	Sig.
RO	Between groups	27,007	4	6,752	3,372	,014
	In groups	144,182	72	2,003		
	Total	171,189	76			
RI	Between groups	5,173	4	1,293	1,649	,171
	In groups	56,468	72	,784		
	Total	61,641	76			



Curva COR para el parámetro  $p_0$ .

Variable(s) de resultado de prueba:  $R_0$

Área bajo la curva

Área
,837

## ARTICULO FINAL ENVIADO A GASTROENTEROLOGY

Rectal Electrical Bio-Impedance Spectroscopy (REBIS) as a screening tool candidate for Colorectal Cancer (CRC).

Carlos-Augusto González-Correa<sup>1</sup>, Edelberto Mulett-Vásquez<sup>2</sup>, Mauricio Osorio Chica<sup>3</sup>, Carmen Dussán-Lubert<sup>3</sup>, David-Alejandro Miranda-Mercado<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidad de Caldas, Research Group on Electrical Bio-Impedance, Manizales, Colombia.

<sup>2</sup> Universidad de Caldas, Department of Surgery, Manizales, Colombia. Unión de Cirujanos SAS- Manizales, Colombia, South America.

<sup>3</sup> Universidad de Caldas, Department of Mathematics, Manizales, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Industrial de Santander, Department of Physics, Research Group on the Science of Biological Materials and Semi-Conductors (CIMBIOS), Bucaramanga, Colombia.

This work was done at Unión de Cirujanos SAS- Manizales, Colombia, South America.

**Grant Support:** The study was partially financed by Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, South America.

### Abbreviations

CRC: colorectal cancer; CFE: carcinogenic field effect; EBIS: electrical bioimpedance spectroscopy; FOBT: faecal occult blood test; HSD (honest significant difference); REBIS: rectal electrical bioimpedance spectroscopy.

**Correspondence to:** Carlos-Augusto González-Correa, [c.gonzalez@ucaldas.edu.co](mailto:c.gonzalez@ucaldas.edu.co), (+57-6)-8781500 extensión 14160, Fax (+57-6)-8781501.

**Disclosures:** the authors have nothing to disclose.

**Writing Assistance:** No writing assistance was required.

### Abstract

**BACKGROUND & AIMS:** Colorectal cancer is the third most common cancer worldwide. Tests available for screening have low sensitivity or are difficult and costly to implement. Based on the concept of carcinogenic field effect, we wanted to explore the possibility of carcinogenic field effect detection by electrical bioimpedance spectroscopy measurements on the rectum. **METHODS:** For this cross sectional study, data were collected in the private endoscopic clinic. Seventy-seven subjects who attended the clinic for total colonoscopy were examined, and readings were taken at 8 frequencies with an electrical probe. One reading per quadrant was taken from the rectum of each subject, with the electrical probe being introduced in the rectum through an anoscope, before total colonoscopy. Readings were converted into resistivity and parameters for the Cole-Cole model were obtained by inversion modelling. **RESULTS:** After colonoscopy, 38 subjects were diagnosed as normal, 18 with polyps, 8 with diverticulosis, 6 with colitis, and 7 with cancer. Of the four Cole-Cole parameters for electrical resistivity ( $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ,  $r$  and  $\alpha$ ), resistivity at zero frequency ( $\rho_0$ ) seems to be a good marker of the presence of cancer either in the rectum or in the colon (P value = 0.002) **CONCLUSIONS:** This would support the hypothesis that carcinogenic field effect in the colon and rectum are detectable with electrical bioimpedance spectroscopy readings taken in the rectum. This opens de possibility for proposing it as a possible tool for Colorectal cancer screening programs.

### Keywords

Colorectal cancer neoplasms; carcinogenesis; electrical impedance; early detection of cancer; mass screening.

### Introduction

According to Globocan-2012 (WHO-IARC 2012), colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer and the fourth most common cause of cancer deaths worldwide. Mainly due to wider screening coverage, CRC incidence and mortality declined approximately by 2% and 3% per year in the United States during the 1990s and during the past decade, respectively (1). It is estimated that at least fifty percent of these declines can be attributed to the increases in

CRC screening and the use of more effective tests to detect advanced adenomas and cancers at an early stage (2). Among the different test available (3), colonoscopy, flexible sigmoidoscopy and faecal occult blood tests (FOBTs) are the most commonly screening tools used and the "...prime candidates for effective and cost-effective options..." (4). However, all three tests have major disadvantages (5) that we mention briefly. Colonoscopy is considered as the gold standard, but this screening test is expensive, invasive and not well

accepted by the general population. In less developed countries, sharing about 60% of the burden posed by CRC (6), costs are a very critical issue. The major disadvantage of flexible sigmoidoscopy is that it cannot detect polyps or cancers located in the right side of the colon. FOBTs, although non invasive and not expensive, lack of high sensitivity and specificity. Additionally, in many cases, when the latter two methods are used, there is a need to perform total colonoscopy. Another criticism in relation to CRC screening is related to the lead time bias (7), which means a perceived survival time without actually affecting the course of the disease. Therefore, an ideal screening test should be able to detect the disease at a very early stage or, much better, before it begins, i.e., to detect people who are at an increased risk of developing the disease, what would be more in line with prevention. The search for new more cost-effective, more likely to be accepted by the public and easy to use pre-screening and screening tools is therefore justified. Based on known evidence that intestinal mucosal permeability increases with CRC (8) (9) (10), as well as on the theory of field carcinogenesis, we hypothesize that REBIS could be used for CRC pre-screening or screening and a good candidate to fulfill the above mentioned requirements.

Among the different studies that have been dedicated to the detection of "field effect" in the colon, those by the research group lead by Roy & Backman (11) are among the most prominent. They have explored the use of different optical techniques, especially what they call low-coherence enhanced backscattering (LEBS) spectroscopy "...in order to detect the presence of adenomas throughout the colon via optical interrogation of the rectal mucosa..." (12). For the presence of advanced adenomas, they have reported, an overall accuracy of 89.5% with *in vivo* readings taken from 619 patients.

In this paper, we propose that rectal measurements in the rectum with the technique known as rectal electrical bioimpedance spectroscopy (REBIS) could be useful for detecting early changes in the rectal mucosa associated with field effect carcinogenesis of the colon. Changes as increases/decreases in the microbial population; thickness, ultrastructure and composition of the mucus layer; disruption of the paracellular pathway (distortion of the tight junctions and increased epithelial permeability); and all those associated with inflammation, may will alter the passive electrical properties of the intestinal wall. EBIS is a very safe, easy to use and low cost technique that has been used to explore early diagnosis of cancer in different organs such as cervix (13), esophagus (14), skin (15) and bladder (16) (17). A couple of years ago, the British firm Zilico has launched a device called ZedScan®, as an adjunct to colposcopy to help in early detection of cervical cancer (18).

EBIS is based on the injection of a small electrical current (40  $\mu$ A in our study) at different frequencies,

and the measurement of the real part of the electrical resistance associated to this interrogation of the tissue. Although most of the studies published with this technique only consider the real part, especially at low frequencies (typically around 10 kHz), we decided to obtain the four parameters of the Cole-Cole model by inverse modelling, using the algorithm proposed by Miranda-Mercado & Lopez-Rivera (19). If electrical resistivity is being using, these four parameters are: resistivity at frequency zero ( $\rho_0$ ), resistivity at infinite frequency ( $\rho_\infty$ ), a time constant called  $\tau$  and an exponential parameter called  $1 - \alpha$  ( $1 - \alpha$  *alpha*).

For this *in vivo* application, we used a minimally invasive 5.5 mm diameter metallic probe previously developed in Sheffield for research on cervical cancer. We hypothesize that, under the umbrella concept of field cancerization, the small ultrastructural changes reported in the literature for premalignant lesions, must change the electrical impedance proprieties of the rectum. REBIS should be sensitive to such changes and eventually could differentiate between rectal mucosa not presenting them from rectal mucosa with them, even if the tissue may be classified as normal either histologically or by macroscopic appearance under direct or endoscopic visualization. The main aim of this study was to provide initial evidence to support this hypothesis, as a proof of principle.

## Materials and methods

### A. Subjects

This cross-sectional study was approved by the Institutional Ethical Review Board at Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, South America. Patients were eligible for recruitment into the study if they were already scheduled for diagnostic colonoscopy screening or surveillance as recommended by their general practitioner or gastroenterologist. Volunteers were recruited among patients sent for diagnostic colonoscopy to "Unión de Cirujanos SAS" at Clínica La Presentación in Manizales, Caldas, Colombia, South-America, between December 2014 and February 2015. All measurements were acquired through the point-of-care instrument Sheffield-Mark3-Multi-Frequency-Tissue-Impedance-Meter (assembled by the Department of Medical Physics at the Royal Hallamshire Hospital, in Sheffield-UK). Before colonoscopy, the 5.5-mm diameter EIS probe (figure 1) was introduced into the rectal vault via an anoscope.



**Figure 1.** Tip of the 5.5 mm probe used. (Photograph by JCMG).

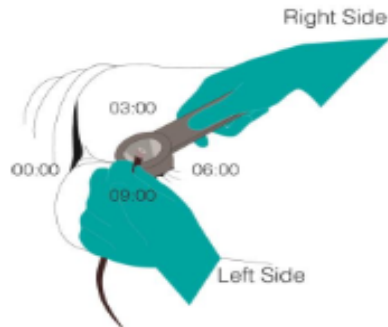
The colorectal surgeon involved in the study (EMV) then took 4 readings from locations identified as 00:00, 03:00, 06:00 and 09:00 hours within the rectum (see figure 2), applying gentle contact to the tissue surface.

Each reading recorded the impedance readings at 8 different frequencies (from 4.8 up to 614.4 kHz) and took less than 10 seconds. The entire procedure from probe insertion to extraction typically took less than 1-2 minutes. At the time of data acquisition, the colorectal surgeon was blinded to the colonoscopy findings. After the measurements were acquired, the surgeon gave place to the endoscopist in order to carry out the procedure. Data analysis was performed in post-processing by the investigators. For diagnostic purposes, patients were classified into five categories according to the findings during colonoscopy: normal (no apparent lesion,  $n=38$ ), polyps ( $n=18$ ), diverticulosis ( $n=8$ ), colitis ( $n=6$ , 1 collagenous, 1 diffuse, 4 ulcerative) and cancer ( $n=7$ , 1 in the anus, 3 in the colon, 3 in the rectum).

#### **B. Electrical Bio-Impedance measurements and parameter calculation**

Using the same equipment as Brown *et al* (20)(13) and Gonzalez *et al* (14) and with the same type of pencil-probe used on the cervix, an electrical current of 40  $\mu$ A peak-to-peak at 8 different frequencies was passed between two adjacent electrodes. The probe had a diameter of 5.5 mm with four gold electrodes (1 mm diameter each) equally spaced on a circle of radius 1.65 mm and mounted flush with the face of the probe. The 8 frequencies used went from 4.8 kHz to 614.4 kHz, each frequency being the double of the previous one. The real part of the resulting potential was measured between the two remaining electrodes and the transfer impedance was calculated as the ratio of the measured potential to the amplitude of the imposed current. Raw data was converted into resistivity using conversion factors obtained from calibration of the equipment and probe with saline solutions of known conductivities. Electrical readings were taken prior to colonoscopy by the colorectal surgeon participating in the project (EMV). With the patient in foetal position and after lubrication of the anus, a disposable anoscope was

gently introduced. The surgeon proceeded then to take measurements at positions 00:00 (posterior, i.e. middle line immediately below the coccyx), 03:00 (right lateral), 06:00 (anterior), and 09:00 (left lateral) (see figure 2).



**Figure 2.** Positions where readings were taken (view from the back). See text for more details. (Drawing by JCMG)

To obtain the four parameters of the Cole-Cole model ( $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ,  $\tau$  and  $1 - \alpha$ ), the algorithm by Miranda-Mercado & Lopez-Rivera (2008) was used. Parameters were individually compared to all others as well as grouped in three different ways: a) cancer against the rest of the groups, and b) normal against the rest of the groups and c) five different diagnoses among themselves.

#### **C. Data Analysis:**

For data analysis, the IBM® SPSS® Statistics 2013 was used. A one-way ANOVA with repeated measures on one factor was used to assess the statistical significance of the differences between the parameters on the different points, and between data of the five groups of patients (cancer, colitis, diverticulosis, polyps and normal). When there was a P value < 0.05, the Fisher's Least Significant Difference (LSD) test was performed as a post hoc analysis, in order to specify where the differences were.

#### **D. Results**

Seventy seven patients were recruited into the study after providing written informed consent. Mean and standard deviation of ages by gender are given in table 1.

Gender	n	Mean age (SD)
Female	57	50.0 (15.6)
Male	20	51.5 (15.8)
Total	77	50.4 (15.8)

Table 1. Gender and ages of the volunteers

The parameters obtained with all readings at the four different points (table 2) were compared among them.

Site	$\rho_0$ [ $\Omega$ ]	$\rho_{\infty}$ [ $\Omega$ ]	$\tau$ [s]	1-alpha
0:00	5.3 (1.2)	1.2 (0.6)	0.00006 (0.00005)	0.22 (0.17)
3:00	5.2 (1.0)	1.3 (0.6)	0.00005 (0.00005)	0.23 (0.15)
6:00	5.1 (1.1)	1.1 (0.3)	0.00005 (0.00005)	0.20 (0.08)
9:00	5.5 (1.2)	1.3 (0.5)	0.00007 (0.00005)	0.20 (0.11)

Table 2. Mean (SD) of Cole-Cole parameters by site of measurement.

The ANOVA gave a P value = 0.00 for the parameter  $\tau$ , and the Fisher's test showed that the mean value of the point identified in this study with 09:00 (see figure 2), has a statistically different value when compared to the other three points (00:00, 03:00 and 06:00). No differences were found between the means of the other three parameters.

In addition, the means of the parameters of the Cole-Cole model (table 3) for the five sub groups of volunteers showed statistically significant differences in  $\rho_0$  in the three different groupings proposed in this study (a. cancer versus non-cancer, b. normal versus disease, c. all five subgroups against each other), and a difference in  $\tau$  when comparing normal versus disease, as well as comparing the subgroups formed by the five different endoscopic diagnoses (table 4). The post-hoc analysis with the Fisher's test showed that, for  $\rho_0$  (P value = 0.002), the group with cancer is different from those with either colitis (P = 0.007), normal (P = 0.007) or polyps (P = 0.042). For  $\tau$ , the group with diverticulosis is different from those with either colitis (P = 0.029) or normal (P = 0.023).

Site	$\rho_0$ [ $\Omega$ ]	$\rho_{\infty}$ [ $\Omega$ ]	$\tau$ [s]	1-alpha
Normal	5.47 (1.81)	1.28 (0.50)	0.00007 (0.00005)	0.20 (0.04)
Polyps	5.39 (1.88)	1.25 (0.58)	0.00005 (0.00005)	0.22 (0.11)
Diverticulosis	4.89 (1.36)	1.05 (0.29)	0.00004 (0.00004)	0.23 (0.12)
Colitis	5.59 (1.87)	1.16 (0.25)	0.00008 (0.00005)	0.20 (0.09)
Cancer	4.58 (1.18)	1.09 (0.65)	0.00005 (0.00005)	0.24 (0.24)
No cancer	5.39 (1.88)	1.24 (0.49)	0.00006 (0.00005)	0.21 (0.11)
No disease	5.16 (1.21)	1.17 (0.51)	0.00003 (0.00004)	0.22 (0.15)

Table 3. Mean (SD) of Cole-Cole parameters by type of diagnosis. See text for more details.

Diagnosis	$\rho_0$ [ $\Omega$ ]	$\rho_{\infty}$ [ $\Omega$ ]	$\tau$ [s]	1-alpha
Cancer vs. no-cancer	0.002	0.258	0.279	0.491
Normal vs. disease	0.044	0.086	0.036	0.372
Diverticulosis, colitis, cancer, polyps, normal	0.005	0.255	0.009	0.861

Table 4. P values for the comparison of the Cole-Cole parameters by type of diagnosis.

Impedance spectra, calculated from the Cole-Cole parameters obtained in this study, for the group of patients diagnosed as "Normal" (no apparent disease) and the group diagnosed with cancer, both after colonoscopy, are shown as figure 3. It can be seen that at very low frequencies (down from about 10 kHz), the profiles of the two groups diverge.

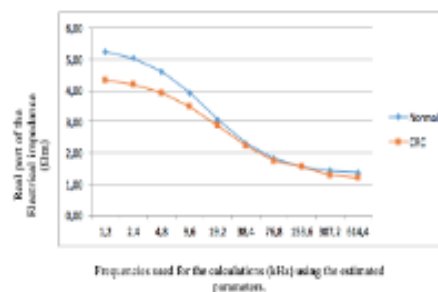


Figure 3. Impedance profiles obtained from the Cole-Cole parameters.

## E. Discussion

To our best knowledge, this is the first time that *in vivo* measurements of the passive electrical response of rectal mucosa in humans is reported. For instance, a search in PubMed with the search strategy "Electric Impedance"[Mesh] AND "Colonic Neoplasms"[Mesh], gives only a few items, most of them done *in vitro* and either with cells or resected tissue. This study was carried out in order to explore the feasibility of what we call REBIS for its possible future use as a screening tool for CRC. This proposal was based both on the published literature that shows an increased transepithelial permeability, leading to a decrease of its electrical impedance (8)(9) (10), associated with the development of cancer, as well as concept of field carcinogenesis (21).

CRC has a long period of incubation, in which early changes in the pathway to overt disease are not evident to the usual screening or diagnostic tools available. These changes are in line with the concept of field carcinogenesis, as well as with what could be considered as an emerging paradigm of disease development. The concept of "field effect in cancer", also known as "field carcinogenesis", "cancer field effect", "field defect" or "field cancerization" among others (see, for instance, Lochhead *et al* 2015) (21), was proposed by Slaughter and colleagues in 1953 (22). The main idea behind this concept, is that cancer arises from an area of an organ that has been preconditioned by a "...process of irreversible change toward cancer...", and therefore, it would explain the multifocal origin of many lesions and their horizontal coalescence, as well as the recurrence or persistence of cancer after therapy (22). This pioneering work focused on cancer arising in oral stratified squamous epithelium, but the concept has been extended practically to all organs of the human body, the colon and rectum among them (21). It is noteworthy to point out that as early as 1983, Traynor *et al* (23) had invoked the idea of "field change" in relation to CRC. At present, it is accepted that "...molecular alterations can be present even in microscopically-normal tissue..." (21). These authors have proposed an extension of the original concept to one of "etiologic field effect", "Defined by presence of etiologic exposures and their influence on tissue microenvironment...", which is "...Not restricted by anatomic boundaries and may involve multiple anatomic sites". They also suggest the possibility of a "whole body field effect".

As many other chronic diseases, CRC may follow the pathophysiological pathway that is now emerging as a new paradigm in the medical science, as probably first described by Cuni *et al* (24) for metabolic diseases in experimental rats. This pathway involves the following sequence: 1) high fat feeding →2) change in gut flora →3) increased intestinal permeability →4) increased endotoxemia →5) inflammation →6) metabolic

disorders. To this paradigm, we would have, though, to add the disruption of the colonic mucus layer between steps 2) and 3), and bacterial translocation between steps 4) and 5), simultaneously with "increased endotoxemia". For CRC, we would have, then: 1) unhealthy diet (rich in fat and red meat and low in fibre, (25) →2) dysbiosis (alteration in the ratio of "harmful" and "beneficial" commensal bacteria) (26) →3) alteration in the mucus layer (27) (23); 4) disruption of the tight junctions (Wang *et al* 2011) with increased intestinal permeability (10) →5) metabolic endotoxemia + bacterial translocation →6) inflammation (25) → CRC.

The first finding of this study seems to show that readings taken on the site identified in this study as 09:00, differ in the parameter  $\tau$  from the other three sites. We do not have an explanation for this, but the fact that this site is in the same side on which the person lies (his/her left side) could influence this result. Nevertheless, the parameter  $R_0$  does not differ among the four sites. More interesting is the finding that the parameter  $R_0$  seems to be able to separate different groups, as those established in this study. Cancer is separated, both collectively from all those not presenting cancer, as well as individually from colitis, polyps and normal. For the  $\tau$  parameter, it separates normal from disease, as well as diverticulosis from colitis ( $P = 0.029$ ) and from normal ( $P = 0.023$ ). In both cases this parameter has a lower value for diverticulosis.

## F. Conclusions

The initial findings of this study can be considered as very encouraging, making valuable further research on the subject. A larger study would be needed in order to corroborate these initial results. Another point to be considered would be to try different probe sizes, as it is known that electrode separation influences the depth of penetration of the injected electrical current (28) (29). This means that different probe sizes could be useful in order to investigate different substructures of the rectal wall.

## Acknowledgments

The authors gratefully thank to Unión de Cirujanos SAS, especially to Dr. Lázaro Arango for authorizing to carry out this initial study in their facilities.

## COMPLIANCE WITH ETHICAL REQUIREMENTS

All subjects gave their informed written consent in accordance with the guidelines of the Ethical Committee of the University of Caldas (Manizales, Colombia).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.



## References

1. Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal Cancer Statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64:104–17.
2. Zauber A. The Impact of Screening on Colorectal Cancer Mortality and Incidence: Has It Really Made a Difference? *Dig Dis Sci*. 2015;60:681–91.
3. Garborg K, Holme Ø, Løberg M, et al. Current status of screening for colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2013;24:1963–72.
4. Brenner H, Stock Ch, Hoffmeister M. Colorectal cancer screening: the time to act is now. *BMC Med*. 2015;13:262.
5. Matsuda T, Kawano H, Chiu H. Screening colonoscopy: What is the most reliable modality for the detection and characterization of colorectal lesions? *Dig Endosc*. 2015;27(S1):25–9.
6. Ferlay J, Shin H, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127:2893–917.
7. Rozen P. Cancer of the gastrointestinal tract: early detection or early prevention? *Eur J Cancer Prev*. 2004;13:71–5.
8. Davies R, Joseph R, Kaplan D, et al. Epithelial impedance analysis in experimentally induced colon cancer. *Biophys J*. 1987;52:783–90.
9. Davies R, Joseph R, Asbun H, Sedwitz M. Detection of the Cancer-Prone Colon, Using Transepithelial Impedance Analysis. *Arch Surg*. 1989;124:480–4.
10. Soler A, Miller R, Laughlin K, et al. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis*. 1999 ;20:1425–31.
11. Roy HK, Backman V. Spectroscopic applications in gastrointestinal endoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:1335–41.
12. Radosevich A, Mutyal N, Eshein A, et al. Rectal Optical Markers for in Vivo Risk Stratification of Premalignant Colorectal Lesions. *Clin Cancer Res*. 2015;21:4347–55.
13. Brown B, Milnes P, Abdul S, et al. Detection of cervical intraepithelial neoplasia using impedance spectroscopy: a prospective study. *BJOG*. 2005;112:802–6.
14. Gonzalez-Correa C, Brown B, Smallwood R, et al. Low frequency electrical bioimpedance for the detection of inflammation and dysplasia in Barrett's oesophagus. *Physiol Meas*. 2003;24:291–6.
15. Beetner D, Kapoor S, Manjunath S, et al. Differentiation among basal cell carcinoma, benign lesions, and normal skin using electric impedance. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2003;50:1020–5.
16. Keshkar A, Keshkar A, Smallwood R. Electrical impedance spectroscopy and the diagnosis of bladder pathology. *Physiol Meas*. 2006;27:585–96.
17. Keshkar A, Mesbahi A, Mehnati P, et al. Surface fluids effects on the bladder tissue characterisation using electrical impedance spectroscopy. *Med Eng Phys*. 2008;30:693–9.
18. Tidy J, Brown B, Healey H, et al. Accuracy of detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia using electrical impedance spectroscopy with colposcopy. *BJOG*. 2013;120:400–11.
19. Miranda D, López S. Determination of Cole-Cole parameters using only the real part of electrical impedivity measurements. *Physiol Meas*. 2008;29:669–83.
20. Brown B, Tidy J, Boston K, et al. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet*. 2000;355:892–5.
21. Lochhead P, Chan A, Nishihara R, et al. Etiologic field effect: reappraisal of the field effect concept in cancer predisposition and progression. *Mod Pathol*; 2015;28:14–29.
22. Slaughter D, Southwick H, Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. Clinical Implication of Multicentric Origin. *Cancer*. 1953;6:963–8.
23. Traynor O, Costa N, Wood Ch. A Scanning Electron Microscopy Study of Changes in the Colonic Mucus Layer During Chemical Carcinogenesis. *Cancer*. 1983;51:1847–53.
24. Cuni P, Bibiloni R, Knauf C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008;57:1470–81.
25. Candela M, Turrioni S, Biagi E, et al. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol*. 2014;20:908–22.
26. Keku T, Dulal S, Deveaux A, et al. The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015;308:351–63.
27. Kawashima H. Roles of the Gel-Forming MUC2 Mucin and Its O-Glycosylation in the Protection against Colitis and Colorectal Cancer. *Biol Pharm Bull*. 2012;35:1637–41.
28. González-Correa C. Endoscopic measurement of electric impedance spectra and their dependence on tissue properties in Barrett's Oesophagus. Thesis. 2001.
29. Ramos A, Bertemes-Filho P. Numerical sensitivity modeling for the detection of skin tumors by using tetrapolar probe. *Electromagn Biol Med* 2011;30:235

## ARTICULO FINAL ENVIADO A MEDICAL HYPOTHESES THE COLON REVISITED OR THE KEY TO WELLNESS, HEALTH AND DISEASE.

CA Gonzalez-Correa<sup>1</sup> PhD, E Mulett-Vásquez<sup>1</sup> MD, DA Miranda-Mercado<sup>2</sup> PhD

<sup>1</sup>Universidad de Caldas, Manizales-Caldas-Colombia-South America, Calle 65 No 26 – 10, Research Group on Bioelectrical Impedance (GruBIE).

<sup>2</sup>Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga-Colombia-South America, Carrera 27 calle 9, Research Group on Biological and Semiconductor Material Science (CIMBIOS).

Corresponding author: Carlos-Augusto Gonzalez-Correa / Universidad de Caldas, Manizales-Caldas-Colombia-South America, Calle 65 No 26 – 10, Edificio de Laboratorios, Oficina 502 / Tel +57 6 8781500 Ext. 14160 / Fax +57 6 8781501 / Apartado aéreo 275 / E-mail c.gonzalez@ucaldas.edu.co.

No grant was required for the development of this article.

### Abstract

The hypothesis being advanced in this paper is that there is a new medical paradigm emerging from the biomedical research carried out in this century, mainly due to the explosion of the so called “omics” and associated techniques. The main idea is that there is a common pathway from wellbeing and health to chronic disease (“chronopathy”) and even to death, which comprises following steps: 1) unhealthy diet, sedentarism and permanent exposition to xenobiotics and all kinds of noxious stimuli, →2) intestinal dysbiosis; →3) alteration of the intestinal mucus layer (especially that of the colon) →4) disruption of the endothelial tight junctions →5) metabolic endotoxemia + bacterial translocation →6) inflammation → 7) exacerbation of the enteric nervous system (ENS) and consequent maladaptation and malfunctioning of the colon → 8) epigenetic manifestations → 9) “chronopathy” and premature death. Therefore, in order to maintain a good health or to improve or even reverse chronic diseases in a person, the main outcome to look for is an homeostatic balance of the intestinal microbiota (eubiosis), most of which is located in the colon. Lynn Margulis was one of the main scientists to highlight the importance of the role played by bacteria not only in the origin of all biological species now present on earth, but also on their role in global homeostasis. Bacteria do not rely on other living beings for their existence, while the latter depend completely on the former. Humans are no exemption, and new evidence emerges each day about the pivotal role of intestinal microbiota in human health, disease and, in general, in its wellbeing. The following facts about intestinal microbiota are nowadays generally accepted: there are about 10 times more bacteria in the gut than human cells in every human being; the microbioma is

about 100-150 times bigger than the human genome, and there is a clear link between intestinal microbiota and many of the most common chronic diseases, from obesity and diabetes to depression and Parkinson disease and different kinds of cancer. The main implication of this theory is that we should become a sort of microbiota farmers, that is, we ought to be more conscious of our intestinal microbiota, take care of it and monitor it permanently. Thus, as part of our good life habits (healthy eating, physical exercise), we should probably undergo periodic seasons of fasting and colon cleansing, as it was common in older times.

### INTRODUCTION

About two and half millennia ago, Hippocrates, who is considered the father of Western medicine, is credited with having stated, that “all diseases begin in the gut”. To a good extent, science of the twenty first century is proving him right. The physical and functional condition of any living being is the result of its dynamic interaction with its closer environment. In our case, we, human beings, have as our closer environment the planet, named Gaia after the theory of James Lovelock (1). Between what we would call “ourselves” and that environment, we find the intestinal microbiota, and more specifically, the colonic microbiota, as an active and, it seems, to a good extent, determinant interface between these two worlds, which not only reflects but also modulate that interaction. The influence of the environment on the microbiota is determined, in first place, by the quantity and quality of physical and chemical agents that, directly or indirectly, act upon it like electromagnetic radiations (light and cosmic, as well as gamma and X rays), temperature, humidity, water, air, nutrients, drugs and all kind of xenobiotics and contaminants. The effect of

this interaction between environment and microbiota, is firstly manifest in the composition of this microbiota, which, subsequently, will produce changes in its near as well as in far from the colon structures of the human body. In figure 1, we highlight the main components of those near structures present in the colonic wall: mucus layer, mucosa, submucosa, muscular propia and serosa, with some of their most prominent corresponding substructures.

The role not only of the colon as an organ, but of each of the structures and substructures of its wall, are far from being completely understood and only very recently they have capture the attentions of many scientists around the world (2). Based on this, we propose a common pathway for chronic non communicable diseases (CNCDs) as shown in figure 2.

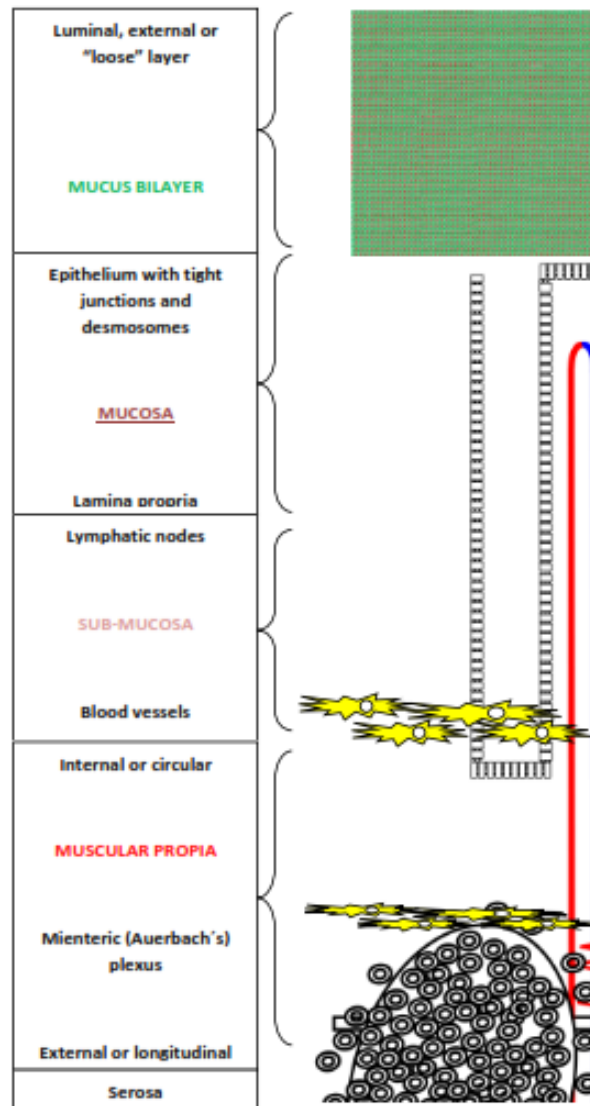
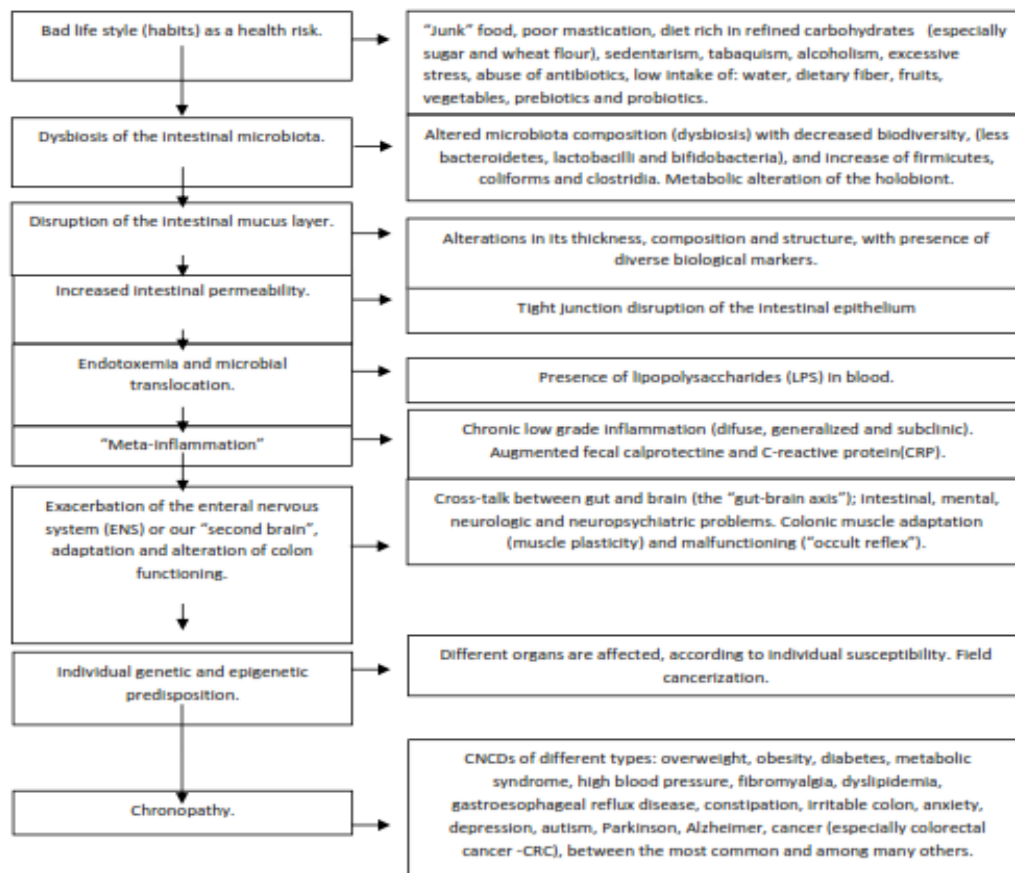


Figure 1. Main structures and sub-structures of the colon wall.



**Figure 2.** The cascade of chronopathy or general physiopathology in the appearance and perpetuation of CNCDs, with some of the most prominent characteristics and manifestations in each of the steps.

This pathway complements some of the aspects proposed by (3) for the metabolic disease investigated in rats by this group. The sequence they proposed as a hypothesis on bacterial induced metabolic disease was: 1) high fat feeding → 2) change in gut flora → 3) increased intestinal permeability → 4) increased endotoxemia → 5) inflammation → 6) metabolic disorders.

In our model, we add the following aspects:

- a) Disruption of the colonic mucus layer between steps 2) and 3);
- b) Bacterial traslocation between steps 4) and 5), simultaneously with “increased endotoxemia”;
- c) Exacerbation of the enteric nervous system (ENS), also known as “our second brain”;
- d) Maladaptation and abnormal responses of the mienteric tissue like the “occult reflex”.

For CNCDs in general, we will then have: 1) unhealthy diet (rich in fat and red meat and low in fiber, (4), low amount of or lack of exercise (sedentarism) (5), over emotional stress (6), and permanent exposition to xenobiotis and all kinds of noxious stimuli (7); → 2)

dysbiosis (alteration in the ratio of “harmful” and “beneficial” commensal bacteria, (8); → 3) alteration of the mucus layer (9) (10) → 4) disruption of the tight junctions (11) with increased intestinal permeability (12) → 5) metabolic endotoxemia + bacterial translocation (13) → 6) inflammation (4) also termed “meta-inflammation” (14) or “low grade inflammation” (15) → 7) Exacerbation of the enteric nervous system (ENS) and maladaptation and malfunctioning of the colon (16); → 8) individual genetic and epigenetic predisposition (17) → 9) CNCDs or “chronopathy”. (Note: the term “chronopathy” does not exist in the medical vocabulary but we would like to use it to design the condition of being chronically ill, and “chronopath” to design a person being chronically ill).

## THE HYPOTHESIS

Our hypothesis, as stated in the title, is that the colon, including its associated microbiota as an integral part of it, is the key to wellness, health and disease. This implies not only that we should consciously take care of it<sup>7</sup>, but also to monitor it permanently. Detection of early perturbations of colon homeostasis could be used as a screening of pre-screening tool in the early detection not only of colorectal cancer, but of many other NCCDs. Reliable and cost effective biomarkers for the status of microbiota composition, mucus layer quality, intestinal permeability and meta-inflammation should be searched for and could have a huge impact on public health. Determination of passive electrical properties of the colon wall is a good candidate for such purpose.

In conjunction with this, low risk and low cost interventions to restore an altered colon homeostasis could also be useful. So far, the literature has emphasized diet and physical activity modifications, as well as the use of prebiotics and probiotics. As an addition to this, we would advocate for regular colon cleansing procedures, including short fasting periods, with the use of hydrotherapy and activated clays, as humanity has done since the early times<sup>8</sup> and still do at present worldwide (see, for instance, (18)).

<sup>7</sup>In relation to “take care of the colon”, we believe that we all should become a kind of “microcultors”, in that we ought to maintain or restore an equilibrated intestinal microbiota.

<sup>8</sup>In this context, and in addition to the afore mentioned Hypocratic aphorism that “all diseases begin in the gut”, we also ought to recall assertions like those of Huan Ti, the father of Chinese medicine, also known as the Yellow Emperor, when he states that “One should criticize and correct the faults in the patient’s mode of life; one should restore their bodies and open the anus so that the bowels can be cleansed, and so that the

## EVALUATION OF THE HYPOTHESIS/IDEA

### Bad life habits as risk factors

Epidemiology has proven that most CNCDs have some common risk factors and that they are preventable (19). (20) and (21) refer to “... *man-made environments, their byproducts and/or lifestyles encouraged by these, some of which may be detrimental to human health*” as “*antropogens*” and it is considered that 4 of them (tobacqism, alcoholism, poor diet and sedentarism) can explain the majority of deaths produced by a group of four types of diseases: cardiovascular diseases, cancer, chronic pulmonary diseases and diabetes (22). Therefore, action should be focused on prevention introducing changes in lifestyle in an alliance between the public and private sector (19), (23), given the low curability of NCCDs by medical interventions (24), (23).

### Intestinal microbiota disbiosis

It is estimated that about 70% of human microbiota is located in the gut (25) and, of this, 95% is found in the colon (26). Its role is considered to be not only crucial for mammal metabolism, but some authors actually think (or, at least, they speculate) that the main role of mammals in Gaia is to provide them with an anaerobic environment (see, for instance, James Lovelock 2000, Chap. 7, “Gaia and man: the problem of pollution”, p. 102). According to this author, this theory was first proposed by Lynn Margulis (1938-2011). In any case, there is a close relationship between the metabolism of the host and that of its microbiota and it has been demonstrated that most of the metabolites in the blood depend on the latter for their synthesis even if they are later modified by the host (26) (27). This is why some authors coined the term “holobiont” for the combination of both genomias (human and microbial), indicating that bacteria do not depend of other living beings, while these could not exist without them (28). To a good extent and thanks to the advances in novel molecular techniques since the end of the last century, especially culture-independent methods to characterize gut microbial communities, it is being increasingly demonstrated the crucial role of the intestinal microbiota in the health and wellness conditions of humans, as well as in the physiopathology of CNCDs

---

secretions come at the proper time...” (Book 4, section 14, p. 153, in “The Yellow Emperor’s Classic of Internal Medicine”, translated by Ilza Veith). Also Herodotus, the father of History, tell us how the Egyptians, in those times, “...practice the following way of life. For three consecutive days in every month they purge themselves, pursuing health by means of emetics and drenches; for they think that it is from the food they eat that all sicknesses come to men. Even without this, the Egyptians are the healthiest of all men, next to the Libyans (Book 2, section 77, p. 118, The Histories).

(24), (29), (30). At present, following facts related to intestinal microbiota are almost universally accepted:

- a. Each individual hosts about 90 trillion bacteria while their own cells are only about 10 trillion, existing, therefore, a relation of 9 bacteria per each human cell (31), most of them found in the colon;
- b. The genome of our intestinal microbiota (some call this the microbiome) can be considered as "our second genome" (29) and is about 100-150 times larger than our "human genome", existing between 1000 and 1200 different species (32);
- c. Bacteria make more than 99% of all microorganisms in our microbiota, with a minimal participation of archaea and fungi (32);
- d. The most prevalent operational taxonomic units (OTUs) in the intestinal microbiota are firmicutes and bacteroidetes, with a smaller participation of verrucomicrobia, actinobacteria, fusobacteria y cyanobacteria (31);
- e. Factors that modulate microbiota composition along our lives are: way of delivery, quality of early feeding, consumption of antibiotics and other medicaments, diet, physical activity/inactivity, social aspects (for instance, type of labor and degree of stress during it), immediate environment (geographical conditions, direct contact with nature), sex and age, among others (29);
- f. There are three kind of homeostatic functions related to our microbiota: metabolic, protective and trophic (29) (33);

In summary, increasing scientific evidence indicate that the above mentioned risk factors produce an alteration in the homeostatic equilibrium of the gut microbiota (named as dysbiosis, in contrast to eubiosis, which indicate a physiologic equilibrium). This altered equilibrium has two main characteristics (31): reduction of the microbiota biodiversity and changes in the proportions or prevalence of some operational taxonomic units (OTUs) at different levels, from harmful increases in phylia (firmicutes, for instance) or genera (as Clostridia and Escherichia), to decreases in bacteroidetes (at phylum level) or lactobacilli and bifidobacteria (at genera level).

#### Disruption of the intestinal mucus layer

An early consequence of dysbiosis is the disruption of the mucus layer that covers the intestinal wall, which, in reality, is a bilayer: the outer (luminal) layer is the natural habitat of the intestinal microbiota, and the inner (epithelial) layer, which acts as a physicochemical barrier to it (34), (35). In the colon, this bilayer is uniform, continuous and very thick (up to 830  $\mu\text{m}$ , as measured in rats, (36), while in the small intestine it is discontinuous and thinner (about 120  $\mu\text{m}$  in rats), only

partially covering the epithelium, so that nutrient absorption can take place (36).

Human mucus is mainly made of a group of glycoproteins known as mucins, named MUCs, plus a sequential number to distinguish the 21 different types of them so far identified (MUC1-MUC21). From them, some are present in the mucus (for instance MUC5AC in the stomach and MUC2 in the intestine), while some others are cell membrane structural proteins (for instance those supporting the glucocalix as MUC3, MUC12 and MUC 17, (35). Therefore, intestinal mucus has different composition and structure along the intestinal tract, according to the different roles of each segment. Nevertheless, MUC2 is the most prominent and more studied one, and it is considered as one of the most complex proteins synthesized by the human body (34). From the human intestinal mucus, that of the colon has attired more attention and it is known that it is formed of monomers with an approximate molecular weight of 2.5 MDa, being 80% glycans and 20% proteins. This mucus layer, produced from secretions of the Goblet or caliciform cells, has some amazing properties as:

- a. As already mentioned, it is divided in two layers: an external, luminal or "loose" layer, and an internal, epithelial or "firm" layer. This division is marked by a clear line from which the inner layer is transformed into the external layer, a change mediated by a proteolytic activity dependant on the host (35);
- b. The "loose" layer is easily removed, while the "firm" layer is not.
- c. The internal layer is usually thinner than the outer layer, measuring about  $116 \pm 51 \mu\text{m}$  in the colon of rats while only  $15 \pm 2 \mu\text{m}$  in the jejunum (36);
- d. The external layer is both the habitat and a partial source of energy for the bacteria, while the internal layer is devoid of bacteria and, in physiologic homeostatic conditions, constitute a physical barrier that avoids the invasion of our organism by the microbiota (37);
- e. When the "firm" layer becomes permeable to bacteria, either by deficiencies in its composition or structure, bacteria and different toxins (but, especially, lipopolysaccharides or LPSs) come in contact with the epithelial cells and induce a disruption of the tight junctions, causing an increase in the intestinal permeability (38);
- f. This increased permeability allow the further penetration of bacteria and toxins, which come in contact to the cells of our immune system and of the enteric nervous system (ENS) or our "second brain" (38);
- g. The mucus layer maintains high concentrations of immunoglobulin A (IgA) and lysoenzymes, acts as a neutralizer of free radicals and also present some antigens to the immune system (36);

- h. Mucus is permanently secreted, an effect that is controlled by paracrine, hormonal and nervous effects mediated by nitrous oxide (NO), prostaglandins and other neurotransmitters and hormones (36);
- i. Its functional effectiveness depends on various factors as its thickness and stability, as well as its physical and chemical properties (36).

#### Increased intestinal permeability

The next step in the physiopathology of chronopathy is the increase in intestinal permeability due to malfunctioning of the "tight junctions". This allows the passage of LPSs and other toxins, as well as of bacteria and possibly other microorganisms. In the epithelium we find different types of cells with different functions (35):

- **stem cells**, in charge of the permanent epithelial turnover;
- **enterocytes**, especially abundant in the small intestine and responsible for the digestion and subsequent absorption of nutrients, water and electrolytes, but which also produce some antimicrobial peptides;
- **mucus secreting Goblet cells**, predominantly in the colon;
- **Paneth cells**, which produce antibacterial peptides and proteins;
- **Tuft cells** with secretory, absorptive and reception functions not yet very well established;
- **enteroendocrine cells**, which secrete different types of hormones, with both systemic and local effects, acting, in the latter case, as local messengers or also acting upon the ENS in order to activate nervous responses.

All these cells are kept together by three types of structures or junctions: desmosome, adherent and tight. Tight junction encircle the apical part of most epithelial cell, and are made of different types of proteins (claudines, occludines, adhesion molecules and tricelulines) interacting between them and, to a good extent, regulating ionic, molecular and cellular traffic through the paracellular pathway. Antimicrobial peptides secreted by Paneth cells and by enterocytes themselves, play a key role in the functioning and modulations of these tight junctions, as well as in the production of mucus (39).

The increase of intestinal permeability due to the disruption of the tight junctions is well documented in different type of diseases, especially in those so far considered as autoimmune (40). These authors even consider the theory that industrial additives used in food produce an increase in intestinal permeability, and that this would explain the growing prevalence of these type of diseases in modern times, especially multiple

sclerosis, type I diabetes, intestinal inflammatory disease, systemic lupus erythematosus, primarybiliary cirrhosis, myasthenia gravis, autoimmune thyroiditis, hepatitis, rheumatoid diseases, celiac disease and some others. Among the most commonly used food additives responsible for increasing intestinal permeability are sugar, salt, organic solvents, gluten, microbial transglutaminase and nanoparticles (40). Soler et al (12) also studied how the development of colon cancer is associated with increased tight junctional permeability.

#### Endotoxemia

The concept of endotoxemia, also known as "metabolic endotoxemia", consists in a translocation of LPSs, with an increase of 2-3 times its blood concentration. LPSs are a major component of the wall in gram negative bacteria (13) and when, either by bacterial lyses or by direct secretion, they cross the epithelium due to increased intestinal permeability, they contact immune system cells and activate toll like receptors, giving as a consequence the beginning of an inflammatory response with transcription of pro-inflammatory promoters (13). In complicated cases, this can produce a sepsis or even death by means of a septic shock. Two different mechanisms are proposed for the absorption of LPSs: chylomicron formation or through microfold cells. A fat rich diet, obesity, diabetes and non-alcoholic fatty liver stimulate LPSs absorption, while prebiotics, probiotics and some antibiotics inhibit such absorption (13).

#### Metainflammation

Described since the 1990s, metainflammation is, also known in the scientific literature as "low grade systemic inflammation" or "metabolic inflammation", can be described as a chronic low grade systemic inflammation that is diffuse, generalized and subclinical, originally associated to obesity (21). It is "...characterized by high circulating levels of inflammatory cytokines and increased macrophage infiltration in peripheral tissues....", and "...does not involve loss of function of the infiltrated tissue" (14). This process originates in the intestine and expands to the whole organism, mostly affecting adipose tissue and the cardiovascular and nervous systems, producing intestinal, cardio metabolic and cognitive problems (15). It is also associated with the so called autoimmune diseases, but, most importantly, it is considered that metainflammation is present in practically all CNCs (21) and the common pathway or soil of all them (41). The lack of sensible and specific biomarkers is one of the causes that hinders a better study and consequent understanding of this amazing link between metainflammation and CNCs. This has been pointed out in the position paper of the Europe Workshop on "Low-grade inflammation a high grade challenge: biomarkers and modulation by dietary strategies" organized by the International Life Sciences Institute (ILSI) in Granada, Spain, in 2013 (15).

#### Colon maladaptation and dysfunction

The colon, as any living structure, reacts with adaptation to noxious stimuli, especially when they are chronic. In the previous section, we have already mentioned that inflammation in the colon is one of the initial responses to microbial dysbiosis and that it adopts the form of chronic low grade inflammation, also known as "metainflammation". But the nervous system and the muscle layers of the colon wall also participate in the reactions to those noxious stimuli. Both structures show a good degree of plasticity in this process of adaptation. In the case of the nervous system, neural plasticity involves a diverse variety of functional and structural changes, some of them evident in the enteric ganglia (42), influencing, for instance, peristaltic movements (43) and secretion functions (44). The adaptation of smooth muscle is also evident in that organization of cytoskeleton filaments and its contractility respond to different muscle lengths (45).

Nevertheless, although adaptation is an attempt to deal with the effect of noxious agents, on the long term it can become more harmful than helpful and, therefore maladaptation. The consequences can be varied, going from constipation to cancer, passing through colitis, just to mention only some of them.

In relation to inflammatory bowel disease (IBD), for instance, changes to the excitability and synaptic properties of enteric neurons as well as neurochemical content of some functional classes of enteric neurons have been documented (16). In this context, these authors mention among the more prominent changes:

- a) Alteration of the number and neurochemical code of enteric neurons;
- b) Neural mediated changes in motility patterns;
- c) Defects in the neural control of epithelial secretory responses in a great variety of stimuli;
- d) Increased excitability of enteric neurons;
- e) Alterations in synaptic transmission of enteric microcircuits;
- f) Neural changes distal from the local inflammation.

Measurement of in vitro neuro-muscular responses to electric stimulation in patients with ulcerative colitis also suggest a selective hyperactivity of non-adrenergic innervation as well as of non-cholinergic inhibitory innervation (46). Beyond the wide functional potential provided by phenotypic plasticity of smooth muscle, the contractile function of cells and tissues is surprisingly adaptive and sensitive to transient and chronic changes in length and charge (47). The need of plastic adaptation is obvious in the muscle of hollow organs, what allows them great changes in volume (48) ,suggesting that the number of contractile units varies directly with the adaptation to muscular length (49).

In relation to constipation, several maladaptive responses have been also documented, as (50):

- a) Decreased content of vasoactive intestinal peptide (VIP) and substance P;

- b) Decrease in cholinergic innervations and an increase in non-adrenergic non-cholinergic inhibitory innervation;
- c) Increase in nitric oxide and decrease in neurotensin;
- d) Reduced number of argyrophilic neurons and intraganglionic neurofilaments;
- e) Myenteric plexus hypoganglionosis;
- f) Decrease of interstitial cells of Cajal (ICC) and reduced number of enteric neurons and/or enteric glial cells;
- g) Alteration in the thickness of the muscle layers;
- h) Possible changes in the functions of telocytes.

In their article of 2007, Dickson *et al* (51) propose the hypothesis of an "occult reflex" mediated by release of nitric oxide (NO), as the generator of slow transit in response to colonic elongation, a reflex that withdraws motor activity from the muscle. The presence of intraluminal content can be associated to a significant increment in the colon length (52). In normal circumstances, the occult reflex allows the accumulation and storing of fecal matter in the colon. Typically, the colon elongates to accommodate the content with only a slight circular dilation (53). The "occult reflex" is probably deactivated after eating, as this causes extrinsic vagal excitation of the intrinsic cholinergic motor neurons, increasing motility (gastrocolic reflex). It is suggested the existence of specific mechano-receptive myenteric neurons in the reflex via of peristaltic movements (54). This excitation would produce the contraction of the longitudinal muscle, generating a reduction of colon elongation (51). In pathological circumstances, this reflex would persist chronically and it would be related to constipation.

Adaptive changes that can predispose to cancer will be considered later, where we will consider the concept of field carcinogenesis.

#### **Microbiota-gut-brain axes modulation by enteric microbiota and its mediation by the Enteric Nervous System (ENS or our "second brain")**

The double way cross communication between intestine and brain, called the "microbiota-gut-brain axis" (55) is mediated by different pathways and mechanisms: immunological, neural, biochemical and endocrine (26). On one side, it has to be taken in account that the ENS can perform many of its functions in an autonomous way, but its functioning is normally displayed in a permanent cross talk with the central nervous system (CNS) as well as with the endocrine and immune systems. Both sympathetic as well as para-sympathetic ways are present, connecting the two main components of the ENS (the myenteric and the submucosal plexus) with the CNS. There are also clear connections with immune system cells. (26) describes three main mechanisms intervening in the microbiota-CNS communication, which we briefly describe now:



a) **Immunological:** both the innate immune as well as the adaptive immune systems are involved. In the former, for instance, there is production of cytokines in response to the presence of LPSs, of which it is estimated that there can be at least 1 g in the entire gut of an adult human being, which presence in the blood stream can be produced by an increased intestinal permeability);

b) **Biochemical:** bacterial production of abundant potentially encephalotoxic metabolites like D-lactic acid and ammonia, as well as short chain fatty acids (SCFA), especially acetate, butyrate and propionate, which, even if they have many beneficial effects, can also play a detrimental role in the pathogenesis of disorders like autism;

c) **Neuroendocrine:** Bacteria can produce hormones and neurotransmitters and also respond to them, affecting intestinal motility and afferent excitation to the brain. Stress is also mentioned as involved in generalized changes in the intestinal microbiota composition.

#### Genetic/epigenetic factors and field cancerization

Although there exist single gene disorders, where "...the presence of a single mutation is both necessary and sufficient for disease to develop...", it is considered that "Diseases that most commonly affect adults... are the result from a more complex interplay between genetic and environmental factors" (17). It seems now to be clear that the role of the environmental influence on the epigenome, not only during a specific period of life, but along the life span, is far more important in determining the presence and development of disease, than the genetic code itself (56) (57).

The theory of field cancerization, first formulated by Slaughter *et al* in 1953, is now generally accepted and has been observed in essentially all solid cancers (58). Field cancerization can be considered as the sum of a variety of epigenetic changes that predispose part of an organ, an organ, multi-organs or even the whole body of an individual to the development of cancer (59). This would explain the presence of both synchronous and metachronous lesion in the same individual (58). Field cancerization in the colon has been widely studied, especially by the group of Backman & Roy (60), who have developed a biophotonic method for its early detection and, even more, for risk stratification.

#### Chronopathy

Due to the scale of the obesity pandemia (named "globesity" by some authors) (61) this one of the most studied CNCs and one of the first ones to which "metainflammation" was associated. Obesity has been linked to a series of other chronic conditions but, as stated by Egger & Dixon (21), rather than being considered as a cause, it should be taken more as a "canary in the mineshaft". The idea is, then, that obesity

is just showing that something is wrong within a person, throwing him/her into a chronic disease status ("chronopathy"), which can derive in any other condition (CNC), depending on his/her genetics, personal history and present conditions (like environment and social milieu). These authors also consider that "It would be wrong to assume that chronic disease determinants should be managed singly". We also ought to reevaluate the idea that, when treating someone with a CNC, a punctual intervention is a correct and sufficient action, as, for instance, removing a malignant tumor. As stated by Lochhead *et al* (59), under the concept of etiologic field effect, what we ought to intervene in are the etiologic fields and, even more, the etiologic exposures (as part of the exposome), rather than specific manifestations. This would be valid not only for cancer, but for the whole spectrum of CNCs. Chronopathy, then, should be considered and treated as the specific manifestation in one individual of the interaction between his/her genome and his/her exposome (62).

#### EMPIRICAL DATA

##### Colon cleansing or microbiota recomposition

In this section, we would like to show some preliminary data obtained in the process of implementing a leaning program at the University of Caldas (UC), where authorities have been concerned with the increasing prevalence of overweight among its students, specially affecting the female population. We have monitored students since 1995 and estimate a present prevalence of women with BMI  $\geq 25$  of about 22.0% and a prevalence of women with percentage body fat (%BF)  $\geq 32\%$  of about 68%. We are, therefore, designing a leaning program that could be implemented and offered to the students. One of the investigators (CHGC) in our research group is a PhD and medical doctor with a master degree in Human Nutrition who has been working in her private practice with overweight and obese people for more than 20 years. In this perspective, we are designing a comprehensive leaning program which is a combination of the orthodox medical non-pharmacological approach as recommended by the WHO (63) and an alternative treatment known as colon therapy (or colon hydrotherapy). The inclusion of the alternative method is motivated by the experience with it gained by another of the authors (CAGC), who has treated more than 400 (four hundred) people in the last 10 (ten) years, with excellent results in terms of patient adhesion and satisfaction, as well as acute weight loss (data not published).

The proposed protocol consists of: a) physical conditioning (10 weeks of daily sessions lasting 30 min each, Monday to Saturday); b) educational and motivational workshops (total duration of 24 h in 12 2-hour sessions with the themes: emotions and diet, self-esteem, healthy eating, and exercise and health); c) 7-day colon cleansing treatment based on the program developed by V Earl Iron in the US more than 50 years

ago (64), consisting of: supplemented fasting, daily ingestions of montmorillonite (MMT) and psyllium (PSY), and 1 or 2 colonic irrigations; d) individual diet, physical activity adjustment, and psychological advice, e) group support, and f) extended daily consumption of psyllium (10 g), montmorillonite (10 g) and probiotics for 3 months.

In the world of alternative medicine, MMT it is widely used as a detoxificant. Its safety for short term and prolonged oral use is documented (65), (66). PSY is thought to complement the action of MMT by forming a gel and helping to pull out the organic matter detached from the intestinal wall by the clay. Its consumption is considered to be safe and it has been used for many years in the treatment of different gastro-intestinal diseases and complains like constipation, diarrhoea, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease-ulcerative colitis (Crohn's disease), colon cancer, diabetes and dyslipidemias (67) (68) (69)(70)(71), and it is also mentioned as a weight loss agent (72). Nevertheless, its most common use is as a laxative, although, recently, there seems to be an increased interest in its use as an adjunct to dietary therapy in lipid lowering treatments (73). The latter authors developed dose and time dependent regression models for its total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein (LDL) lowering effect.

In this report, we give some data obtained in the phase of designing and implementing the protocol, specifically the colon therapy, and is based on preliminary results obtained with two small samples of 5 female patients each. This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Institutional Ethics Committee of the University of Caldas and we obtained written informed consent from all participants. Volunteers were examined the day before beginning of the treatment (day 0), one day after finishing it (day 8) and a month later (day 38).

With the first group of volunteers (Group 1), we used the American products sold by Vit-Ra-Tox (74), but, because, from the initial experience with these products, we know that the complete daily doses recommended by the manufacturer produce a strong sensation of fullness, we did not use the full suggested quantities. In this group, each patient had two daily Colemas® (colon irrigation with about 20 l warm water, as recommended by Colema Boards of California-USA (2009) and the cleansing treatment was self-administered at home by the volunteers, who were recruited among friends and relatives. Except for a daily portion of papaya (approximately 150 g) and about 1.5 l water, they were asked not to consume anything else apart from the provided supplements. After the colonic hydrotherapy, patients returned to their usual diets and no further intervention was carried out. The total daily prescription of the Vit-Ra-Tox products for each patient was: Colloidal Bentonite (montmorillonite) 6 teaspoons,

Psyllium 4 teaspoons, Greenlife® 6 tablets, Beet Juice 4 tablets, Vitamin C 4 tablets, Calphonite 1 tablespoon, and Wheat Germ Oil 4 capsules. Doses from other products purchased from local stores were: apple juice vinegar 5 tablespoons, honey 5 tablespoons, Vitamin B Complex (Natural Systems Miami-FL, USA) 4 tablets; cod liver oil 4 capsules. The estimated composition of the daily diet during the cleansing intervention is given in table 1.

**Table 1. Estimated composition of the daily diet during the cleansing intervention**

Calories	MJ d <sup>-1</sup>	2,8
Total carbohydrate	g	86
Sugars	g	1,5
Total fat	g	32,0
Saturatedfat	g	4,0
Monounsaturatedfat	g	8,0
Polyunsaturatedfat	g	4,0
Total protein	g	1,5
Vitamin A	IU	17000,0
Biotin	mccg	400,0
Folicacid	mccg	1700,0
Niacin	mg	1,5
Panhotenicacid	mg	40,0
Vitamin B1	mg	40,0
Vitamin B2	mg	40,0
Vitamin B6	mg	48,0
Vitamin B12	mccg	100,0
Vitamin C	mg	530,7
Vitamin D	mccg	1600,0
Vitamin E	IU	28,0
Vitamin K	mccg	4,0
Calcium	mg	324,0
Iron	mg	7,0
Magnesium	mg	50,0
Manganese	mg	0,3
Phosphorus	mg	252,0
Potassium	mg	124,0
Sodium	mg	24,0
Sulfur	mg	4,0
Fibre (mostlypsyllium)	g	22,3
Water		1700,0

The colon cleansing protocol produces the elimination of a ropy material, probably consisting of the bulking agents (montmorillonite and psyllium), water and organic material congealed in the patient intestines. It looks very different from faecal matter and has a *sui generis* odour. This material was recovered through a sieve placed below the Colema® board and weighted. With this procedure, it is also possible to recover good

quantities of intestinal mucus, that can be used for its proteomic analysis, as we have reported in 2014 (75).

With the second group of volunteers (Group 2), we modified the protocol in that we used similar products and quantities as with the first group, but they were over

(1) Day 0 was the day before treatment. Except for blood lipids, where there are only one value per box with data from the second group, the upper value in each box corresponds to group 1 and the lower value to group 2.

(2) Measured by skin folds as recommended by Durnin and Womersley (1974), with a Skindex 1 calliper.

(3) Measured with a Hamar Baseline Hydraulic Hand Dynamometer.

(4) Throughout the 7-day program.

**Table 2. Subject characteristics and results.** For each variable, the upper data correspond to Group 1 and the lower data correspond to Group 2.

the counter products sold in local supermarkets and natural product stores, and the volunteers had only daily

Variables	Units	Day 0 <sup>(1)</sup>		Day 8		Day 38	
		Average	SD	Average	SD	Average	SD
Age	years	36,4 25,2	14,0 4,9	-----	-----	-----	---
Height	cm	158,1 160,2	5,3 6,9	-----	-----	-----	---
Body weight	kg	53,8 66,5	5,0 10,2	50,2 63,1	5,1 9,8	52,2 65,6	5,8 10,4
Body weight loss	kg	-----	-----	3,6 3,5	0,7 0,9	1,6 1,0	0,6 0,5
Body Mass Index (BMI)	kg/m <sup>2</sup>	21,5 25,8	1,2 2,6	20,0 24,5	1,2 2,4	20,9 25,4	1,3 2,8
Waist/hip ratio (WHR)	-----	0,78 0,79	0,07 0,05	0,76 0,77	0,05 0,05	0,76 0,80	0,0 5,0 5
% Body fat by skin folds (SF) (%BF) <sup>(2)</sup>	%	33,8 36,7	6,4 1,4	32,3 36,0	7,4 2,1	32,4 35,8	6,6 1,7
Body fat (BF)	kg	18,3 24,5	4,9 4,5	16,4 22,8	5,2 4,5	17,1 23,6	4,9 4,6
% of muscular strength <sup>(3)</sup>	%	108,0 98,3	16,9 10,2	107,1 101,2	15,8 11,5	105,8 101,2	16,4 14,1
Eliminated material <sup>(4)</sup>	g	-----	-----	1070,5 859,2	283,4 230,7	-----	---
Total weight loss	kg	-----	-----	3,6 3,5	0,7 0,9	1,6 1,0	0,6 0,5
Total fat loss (SF)	kg	-----	-----	2,0 1,7	0,6 0,4	1,2 1,0	0,8 0,4
TC	mg/dl	218,4	46,9	193,8	48,8	243,6	52,2
HDL	mg/dl	47,4	9,3	50,2	11,5	59,0	12,9
LDL	mg/dl	158,0	56,0	125,4	45,6	164,0	45,4
VLDL	mg/dl	24,2	11,6	18,2	7,2	20,6	4,0
Triglycerides	mg/dl	121,4	57,1	90,6	34,8	103,0	20,6
LDL/HDL ratio	-----	3,33	1,34	2,50	1,28	2,78	0,5 8

Colema® administered in our laboratory. In this group, we also measured pre- and post-treatment blood lipids and volunteers were recruited by the Health Service among university students. Basic data from the two groups of patients as well as some of the results obtained with both of them are given in table 2.

Volunteers in Group 1 were older than those in Group 2 and their average body mass index (BMI) and waist to height ratio (WHR) were in the normal ranges, although %BF was slightly higher than the recommended value (32%). The average BMI of the second group was in the overweight range with the %BF also showing some degree of hyper adiposity. WHR was slightly higher although still in the accepted value for women (0.8).

From the data shown, we can say that, generally speaking, the results obtained with both groups are very similar. What we see here is that, immediately after the treatment, there is an overall average weight loss of about 3.5 kg (5.6% of initial body weight for the first group and 5.3% for the second group, with roughly half of that loss represented by body fat reduction in both groups). This is reflected in a reduction of the average BMI, with the average of the second group entering the normal range. WHR was slightly reduced but they were in the normal range from the beginning. Muscular strength (an indicator of protein status) was conserved in all three measurements, with a slight improvement in the second group. Despite having only one daily Colema® in the second group, the elimination of ropy material was still high (an average of 859.2 g, which represents about 81% of the average amount eliminated by the first group). In this group we also measured pre and post treatment blood lipids, and there was a dramatic improvement in all average values, with total cholesterol (TC) and LDL entering the normal range immediately after the treatment. Although part of the weight loss in both groups can be explained by the semi-fasting state during the 7-day colon cleansing (76) (77), part of it could be due to the elimination of organic material retained in the intestine. In relation to the improvement in the blood lipids profile, supplemented fasting and the consumption of psyllium surely contribute to it (78), but other mechanisms may play a role, as probably changes in the intestinal microbiota composition, in line with the findings of Ley *et al* (79) and Turnbaugh *et al* (80).

After the treatment, patients followed their usual style of life and no further intervention was carried out. A month later and despite the fact that most of the values tended to return to pre-treatment levels or above them, we still see some important improvements: average body weight loss of 1.6 kg (SD 0.6) for the first group and 1.0 kg (SD 0.5) for the second group, most of it represented by less body fat (1.2 and 1.0 kg, respectively); high density cholesterol (HDL) increased not only immediately after the treatment, but continued to rise up to 59.0 mg/d after a month (a 24.5% increase

compared to pre-treatment level). In the later, where we also measured blood lipids, we saw a decrease of the LDL/HDL ratio from 3.33 (SD 1.34) to 2.50 (SD 1.28). One month post-treatment and without any further intervention, the LDL/HDL ratio was still lower than baseline 2.78 (SD 0.58).

In conclusion, data shown suggest that colon cleansing (colonic hydrotherapy) as a start of a comprehensive leaning and/or lipid-lowering therapy could bring many benefits for patients either with overweight, dyslipidaemia or having both conditions. Our assumption is that the protocol implies a recombination of the colon microbiota. We would then have an excellent start point for an orthodox intervention and the idea would be not only to preserve the initial results, but to add to them what it can be expected from the latter. This benefit could be achieved if the orthodox treatment begins immediately after the colon hydrotherapy intervention.

We are now on the way of implementing the complete protocol in order to carry out a larger study that we hope to be able to begin in the near future. Of course there are many issues and questions that need to be properly addressed and answered and no conclusions can be derived from this small study, but the initial findings are very encouraging.

#### The colonic mucus

With work carried out by our research group (Electrical Bioimpedance), we have recently published a method for isolating, purifying and processing intestinal mucus obtained from 6 (six) patients undergoing the modified protocol of colon cleansing mentioned in the previous section (75). With these samples we were also able to obtain what, to our knowledge, could be the first proteomic map of this biological fluid (data not yet published), where we were able to count 116 and 220 spots from 3 to 10 and 4 to 7 pH ranges, respectively. We think that this opens the possibility for the search of biomarkers for different stages in the progression of chronopathy (81). Interestingly, the mucus can also yield information about past exposures to harmful xenobiotics, as illustrated by the finding of cyclosporine residuals in a patient who has consumed it 25 (twenty five) year ago (82). In trying to find biomarkers in the colonic mucus, not only the chemical aspects of it can be considered, but also some physical characteristics as thickness, viscosity and electrical impedance. In this perspective, electrical bioimpedance could be a candidate, as we will mention in the next section.

#### Intestinal permeability

Under the assumption that epithelial permeability is associated with the development of cancer (12) and the theory of field cancerization, we carried out a preliminary study with a group of 77 volunteers to see if there was any difference in the passive electric response of the rectal wall between persons with colorectal

cancer (n = 7, 3 in the colon, 3 in the rectum and 1 in the anus) and those without this condition (n = 70). We found a statistical significant difference of the electrical resistance at low frequencies between both groups (83), a very encouraging finding in relation to the possibility of using this technique for screening in colorectal cancer (84). The decrease in electrical bio-impedance in cancer prone or cancerous tissue is consistent with similar findings reported by some other authors, although in different tissues see, for instance, Ching *et al* (85). In our case, this fact could reflect either changes in the mucus layer, increased epithelial permeability, rectal wall inflammation or a combination of them.

#### CONSEQUENCES OF THE HYPOTHESIS AND DISCUSSION

If our hypothesis were to be confirmed, its main implications would be in the field of: a) how to keep people in a general status of wellbeing and prevent disease, b) how to implement the screening and pre-screening of CNCs, especially cancer, and c) how to treat people who have started to develop symptoms of chronopathy.

An eubiotic microbiota would probably reflect a good, healthy life style, although, as we have seen, exosoms along life span can influence it. But, whatever one's personal life history has been, this would mean that we have dealt well with adverse events. We propose that, for each of the stages mentioned in figure 2, one could think of simple, cheap and reliable biomarkers that inform us about an individual's condition and allow us to monitor the evolution of chronopathy, from persons at risk to overt disease. The reverse would also be valid, i.e., to monitor the return from disease to normal. In table 3 we list some possible biomarkers or techniques that could be useful for this purpose. We think, for instance, that electrical bio-impedance spectrometry (EBIS) could be a useful screening and pre-screening tool as it is sensitive to different changes in the intestinal wall, like mucus thickness and composition, epithelial permeability and inflammation. The road is open for further research on these topics.

In relation to treating people (healthy, at risk and with disease), keeping/returning the following three aspects in/to good condition would surely maintain them in a good state of wellbeing and health: intestinal microbiota homeostasis (eubiosis), adequate body composition (eutrophia) and cardiovascular condition (fitness).

#### SUMMARY AND FINAL REMARKS

At present and worldwide, the burden of CNCs is enormous and increasing. They constitute the first cause of death and have practically collapsed health systems at a global scale. Although we cannot blame individuals for the epidemic of CNCs, as we live in what we could call a "chronopathogenic" society, individuals and communities continue to struggle with their effects at a personal and local level. Therefore, although we

should ideally fight for a radical change in society, this is probably beyond human possibilities. Nevertheless, we can think of a set of actions that can help individuals, small groups or communities to preserve/recover their status of wellbeing and health. We have highlighted how there are now means to screen people at risk, at early stages of disease and in the process of recovering their wellbeing and health. As there seem to be not only common risk factors but, also, a common pathway to CNCs, a common way of dealing with them and their catastrophic consequences is also conceivable.

**Table 3. Some techniques that could be useful for the monitoring of CNCs risk and progression.**

Number	Stage	Technique
1	Unhealthy life habits	Anthropometry (body mass index, % body fat, waist to height index, and a cardiovascular fitness test (like simple one as the Tecumseh step test). Electrical Bio-Impedance Spectrometry (EBIS).
2	Dysbiosis	Microarrays in the future?
3	Mucus	Electrical Bio-impedance Spectrometry (EBIS)?
4	Permeability	Electrical Bio-impedance Spectrometry (EBIS)?
5	Metainflammation	ELISA for faecal calprotectine.
6	Endotoxemia	Turbidimetric Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) assay for LPSs in blood.

## REFERENCES

1. Lovelock J. *Gaia: a new look at the life on earth*. Oxford UK: Oxford University Press; 1969.
2. Sellers R, Morton D. The colon: from banal to brilliant. *Toxicol Pathol* 2014;42:67–81.
3. Cani P, Bibiloni R, Knauf C, Neyrinck A, Delzenne N. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008;57:1470–81.
4. Candela M, Turroni S, Biagi E, et al. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol* 2014;20:908–22.
5. Booth F, Roberts C, Laye M. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol* 2012;2:1143–211.
6. Piazza J, Charles S, Sliwinski M, Mogle J, Almeida D. Affective reactivity to daily stressors and long-term risk of reporting a chronic physical health condition. *Ann Behav Med* 2013;45:110–20.
7. Lu K, Mahbub R, Fox J. Xenobiotics: Interaction with the intestinal microflora. *ILAR J* 2015;56:218–27.
8. Keku T, Dulal S, Deveaux A, Jovov B, Xuesong H. The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver* 2015;308:351–63.
9. Kawashima H. Roles of the Gel-Forming MUC2 Mucin and Its O-Glycosylation in the Protection against Colitis and Colorectal Cancer. *Biol Pharm Bull* 2012;35:1637–41.
10. Traynor O, Costa N, Wood Ch. A Scanning Electron Microscopy Study of Changes in the Colonic Mucus Layer During Chemical Carcinogenesis. *Cancer* 1983;51:1847–53.
11. Wang X, Tully O, Ngo B, Zitin M, Mullin JM. Epithelial tight junctional changes in colorectal cancer tissues. *ScientificWorldJournal* 2011;11:826–41.
12. Soler A, Miller R, Laughlin K, Carp N, Klurfeld D, Mullin J. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20:1425–31.
13. Neves A, Coelho J, Couto L, Leite-Moreira A, Roncon-Albuquerque R. Metabolic endotoxemia: A molecular link between obesity and cardiovascular risk. *J Mol Endocrinol* 2013;51:R51–64.
14. León-Pedroza J, González-Tapia L, Del Olmo-Gil E, Castellanos-Rodríguez D, Escobedo G, González-Chávez A. Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cir Cir* 2015;83:543–51.
15. Minihane A, Sophie V, Russell W, et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*. 2015;114:999–1012.
16. Lomax A, Fernández E, Sharkey K. Plasticity of the enteric nervous system during intestinal inflammation. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:4–15.
17. Hingorani A, Shah T, Kumari M, Sofat R, Smeeth L. Translating genomics into improved healthcare. *BMJ* 2010;341:c5945.
18. Taffinder N, Tan E, Webb I, Mc Donald P. Retrograde commercial colonic hydrotherapy. *Color Dis* 2004;6:258–60.
19. United Nations (UN). Resolution adopted by the General Assembly 66/2. Political Declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. Document A/Res/66/2.
20. Egger G. In Search of a Germ Theory Equivalent for Chronic Disease. *Prev Chronic Dis* 2012;9:E95.
21. Egger G, Dixon J. Beyond obesity and lifestyle: A review of 21st century chronic disease determinants. *Biomed Res Int* 2014;2014:731685.
22. Hunter D, Reddy S. Noncommunicable Diseases. *N Engl J Med* 2013;369:1336–43.
23. Barondess J. Scanning the chronic disease terrain: prospects and opportunities. *Trans Am Clin Clim Assoc* 2014;125:45–56.
24. Logan A. Dysbiotic drift: mental health, environmental grey space, and microbiota. *J Physiol Anthr* 2015;34:23.
25. Jandhyala S, Talukdar R, Subramanyam Ch, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2015;21:8836–47.
26. Galland L. The Gut Microbiome and the Brain. *J Med Food* 2014;17:1261–72.
27. Wikoff W, Anfora A, Liu J, Schultz P, Lesley S, Peters E, et al. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *PNAS* 2009;106:3698–703.
28. Guerrero R, Margulis L, Berlanga M. Symbiogenesis: The holobiont as a unit of evolution. *Int Microbiol* 2013;16:133–43.
29. Ferreira C, Vieira A, Vinolo M, Oliveira F, Curi R, Martins F. The Central Role of the Gut Microbiota in Chronic Inflammatory Diseases. *J Immunol Res* 2014;2014:689492.
30. Gill S, Pop M, DeBoy R, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006;312:1355–9.
31. Ho J, Chan G, Li J. Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol* 2015;16:21.
32. Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59–65.
33. Aziz Q, Dorè J, Emmanuel A, Guarnier F, Quigley E. Gut microbiota and gastrointestinal

- health: Current concepts and future directions. *Neurogastroenterol Motil* 2013;25:4–15.
34. Johansson M, Sjövall H, Hansson G. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:352–61.
  35. Pelaseyed T, Bergstrom J, Gustafsson J et al. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol Rev* 2014;260:8–20.
  36. Atuma C, Strugala V, Allen A, Holm L. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001 May;280:G922–9.
  37. Johansson M, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *PNAS* 2008;105:15064–9.
  38. Arrieta M, Bistritz L, Meddings J. Alterations in intestinal permeability. *Gut*. 2006;55:1512–20.
  39. Robinson K, Deng Z, Hou Y, Zhang G. Regulation of the Intestinal Barrier Function by Host Defense Peptides. *Front Vet Sci* 2015;2:57.
  40. Lerner A, Matthias T. Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2015;14:479–89.
  41. Scirvo R, Vasile M, Bartosiewicz I, Valesini G. Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev* 2011;10:369–74.
  42. Giaroni C, De Ponti F, Cosentino M, Lecchini S, Frigo G. Plasticity in the enteric nervous system. *Gastroenterology* 1999;117:1438–58.
  43. Saffrey M. Cellular changes in the enteric nervous system during ageing. *Dev Biol* 2013;382:344–55.
  44. Demir I, Schafer K, Tieftrunk E, Friess H, Ceyhan G. Neural plasticity in the gastrointestinal tract: Chronic inflammation, neurotrophic signals, and hypersensitivity. *Acta Neuropathol* 2013;125:491–509.
  45. Gunst S, Wu M. Selected Contribution: Plasticity of airway smooth muscle stiffness and extensibility: role of length-adaptive mechanisms. *J Appl Physiol* 2001;90:741–9.
  46. Vasina V, Barbara G, Talamonti L, et al. Enteric neuroplasticity evoked by inflammation. *Aut Neurosci* 2006;126–127:264–72.
  47. Halayko A, Solway J. Molecular mechanisms of phenotypic plasticity in smooth muscle cells. *J Appl Physiol* 2001;90:358–68.
  48. Kuo K, Herrera A, Wang L, et al. Structure-function correlation in airway smooth muscle adapted to different lengths. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;285:C384–90.
  49. Pratushevich V, Seow Ch, Ford L. Plasticity in Canine Airway Smooth Muscle. *J Gen Physiol* 1995;105:73–94.
  50. Bassotti G, Villanacci V, Crejoiu D, S C, Becheanu G. Cellular and molecular basis of chronic constipation: taking the functional/idiopathic label out. *World J Gastroenterol* 2013;19:4099–105.
  51. Dickson E, Spencer N, Hennig G et al. An enteric occult reflex underlies accommodation and slow transit in the distal large bowel. *Gastroenterology* 2007;132:1912–24.
  52. Dinning P, Smith T, Scott S. Pathophysiology of colonic causes of chronic constipation. *Neurogastroenterol Motil* 2009;21 Suppl 2:20–30.
  53. Heredia D, Grainger N, McCann C, Smith T. Insights from a novel model of slow-transit constipation generated by partial outlet obstruction in the murine large intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012;303:G1004–16.
  54. Smith T, Spencer N, Hennig G, Dickson E. Recent advances in enteric neurobiology: mechanosensitive interneurons. *Neurogastroenterol Motil*. 2007;19:869–78.
  55. Costes LM, Boeckxstaens GE, de Jonge WJ, Cailotto C. Neural networks in intestinal immunoregulation. *Organogenesis* 2013;9:216–23.
  56. Mohtat D, Susztak K. Fine Tuning Gene Expression: The Epigenome. *Semin Nephrol* 2010;30:468–76.
  57. Hanson M, Gluckman P. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol Rev* 2014;94:1027–76.
  58. Yi J, Kim T. Epigenetic alterations in inflammatory bowel disease and cancer. *Intest Res* 2015;13:112–21.
  59. Lochhead P, Chan A, Nishihara R, et al. Etiologic field effect: reappraisal of the field effect concept in cancer predisposition and progression. *Mod Pathol* 2015;28:14–29.
  60. Backman V, Roy H. Advances in biophotonics detection of field carcinogenesis for colon cancer risk stratification. *J Cancer* 2013 Jan;4:251–61.
  61. WHO. Controlling the global obesity epidemic. 2014.
  62. Wild Ch. Complementing the genome with an “exposome”: The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:1847–50.
  63. World Health Organization. Preventing and managing the global epidemic. Technical Report Series. Geneva, Switzerland; 2004.
  64. Jensen B. Tissue cleansing through bowel management. Escondido; 1981. (Bernard Jensen International.).

65. Wang J, Luo H, Billam M et al. Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil®) in humans. *Food Addit Contam* 2005;22:270-9.
66. Afriyie-Gyawu E, Mackie J, Dash B et al. Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil® Clay in Sprague-Dawley rats. *Food Addit Contam* 2005;22:259-69.
67. Singh B. Psyllium as therapeutic and drug delivery agent. *Int J Pharm* 2007;334:1-14.
68. Petchetti L, Frishman W, Petrillo R, Raju K. Nutraceuticals in cardiovascular disease: psyllium. *Cardiol Rev* 2007;15:116-22.
69. Marlett J, Fischer M. Session : Physiological aspects of fibre. The active fraction of psyllium seed husk. *Proc Nutr Soc* 2016;62:207-9.
70. Anderson J, Davidson M, Blonde L et al. Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1433-8.
71. Anderson JW, Zettwoch N, Feldman T, Tietzen-Clark J, Oeltgen P, Bishop CW. Cholesterol-lowering effects of psyllium hydrophilic mucilloid for hypercholesterolemic men. *Arch Intern Med* 1988;148:292-6.
72. Moreno L, Tresaco B, Bueno G et al. Psyllium fibre and the metabolic control of obese children and adolescents *J Physiol Biochem*. 2003;59:235-42.
73. Wei Z-h, Wang H, Chen X-y et al. Time- and dose-dependent effect of psyllium on serum lipids in mild-to-moderate hypercholesterolemia: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Eur j Clin Nutr* 2009;63:821-7.
74. Vit-Ra-Tox. Product Catalog. Kansas; 1998.
75. Gómez-Buitrago P, González-Correa C, Santacoloma-Osorio M, Taborda-Ocampo G, Zezzi-Arruda M. Human intestinal mucus proteins isolated by transanal irrigation and proctosigmoidoscopy. *Rev Colomb Quim* 2014;43:5-10.
76. Johnstone A. Fasting - The ultimate diet? *Obes Rev* 2007;8:211-22.
77. Johnstone A. Fasting for weight loss: an effective strategy or latest dieting trend? *Int J Obes* 2015;39:727-33.
78. Khossousi A, Binns C, Dhaliwal S, Pal S. The acute effects of psyllium on postprandial lipaemia and thermogenesis in overweight and obese men. *Br J Nutr* 2008;99:1068-75.
79. Ley R, Turnbaugh P, Klein S, Gordon J. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006;444:1022-3.
80. Turnbaugh P, Ley R, Mahowald M, Magrini V, Mardis E, Gordon J. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027-31.
81. Gómez-Buitrago P, González-Correa C, Taborda-Ocampo G, Acuña-Sornoza R, Santacoloma-Osorio M, Zezzi-Arruda M. Some proteins of possible -clinical interest found in samples of human intestinal mucus ( HIM). *J Integr Omi*. 2015;5:1-62:9.
82. González-Correa C, Gómez-Buitrago P, Taborda-Ocampo G, Acuña-Sornoza R, Santacoloma-Osorio M, Zezzi-Arruda M. A case report of cyclosporine complexed with human calcineurin remaining in the gut after 25 years of its consumption. *J Integr Omi* 2015;5:1-62:5.
83. Mulett E, Osorio M, Dussan C, Miranda D, González C. Rectal impedance parameters in colorectal diseases. In: *Book of Abstracts of the 16th International Conference on Electrical Bio-Impedance*. Stockholm; 2016. p. 23.
84. González-Correa C, Miranda-Mercado D, Mulett-Vasquez E, Osorio-Chica M, Dussan-Lubert C. Rectal Bioelectrical impedance (REBI) as a possible screening tool for colorectal cancer (CRC). *Ann Oncol* 2016;27:ii66.1-ii66.
85. Ching C, Sun T, Huang S et al. A preliminary study of the use of bioimpedance in the screening of squamous tongue cancer. *Int J Nanomedicine*. 2010;5:213-20.



## Capítulo 6

### Discusión General

En cuanto a la posibilidad de usar la EBIE y la metodología propuesta como herramientas de tamizaje de cáncer de colon y recto, se debe tener en cuenta que ésta enfermedad cumple con los criterios de Frame y Carlson, para ser susceptible de ser sometida a tamizaje (Vietto, 2013): a) ser una causa común de morbimortalidad; b) ser detectable y tratable en etapa presintomática; c) debe contar con pruebas para diagnosticarla que sean efectivas y eficaces; d) el tratamiento temprano debe ser mejor que el tratamiento en la etapa sintomática o de diagnóstico habitual, y e) el daño potencial de la intervención debe ser menor que el del tratamiento no precoz.

El objetivo actual del tamizaje es detener muchas de esas muertes al detectar el cáncer en un estado temprano, mas tratable y poder así remover la lesión precursora no maligna (en este caso el adenoma), previniendo de este modo la incidencia de cáncer de colon (Barouni *et al.*, 2012). Además, el tamizaje en este tipo de cáncer se justifica por cuanto: a) la mayoría del cáncer colorectal es de crecimiento lento, dando la oportunidad de descubrirlo antes de la aparición de metástasis, y b) los tratamientos quirúrgicos y la quimioterapia han probado tener beneficio (Barret *et al.*, 2011). Los métodos actuales de tamizaje del cáncer de colon identifican la lesión, cuando lo logran, inicialmente debido al sangrado que esta pueda presentar hacia la luz del colon, lo que lleva a ejecutar nuevos exámenes que hacen una búsqueda específica de la lesión que causa el sangrado. Es de vital importancia también tener en cuenta que, dada la forma tubular del colon, estos métodos son más eficaces en el lado izquierdo que en el derecho, en donde la incidencia de lesiones se aproxima al 47% (Benedix *et al.*, 2010). Los métodos de tamizaje actuales han tenido múltiples mejoras, pero no se encuentra el método de tamizaje ideal, que tenga alta sensibilidad y alta especificidad en la detección de las lesiones, que sea costo-efectivo, que tenga bajo riesgo de causar lesión y que sea aceptado por los pacientes. El método

inicial utilizado fue la búsqueda de sangre oculta en heces, encontrando que el tamizaje con esta prueba disminuye la mortalidad por cáncer colorrectal, pero no disminuye la mortalidad general (Shaukat *et al.*, 2013). Además, es necesario hacer pruebas diagnósticas adicionales cuando el resultado de la prueba es positivo. La sigmoidoscopia, como método de tamizaje, está basada en la capacidad de detectar lesiones neoplásicas en el colon distal, así como en el hecho de que los hallazgos distales pueden predecir el riesgo de neoplasias avanzadas proximales. Las estrategias basadas en la sigmoidoscopia detectan 35 a 43% menos individuos con lesiones avanzadas que la colonoscopia, con una sensibilidad para identificar del 22 al 37%. La mortalidad para cáncer distal se reduce en 50%, sin cambios en el proximal (Castells *et al.*, 2013) (Schoen *et al.*, 2012).

En el momento, la colonoscopia total es el mejor método de tamizaje disponible (El-Serag *et al.*, 2006), sin embargo es un método invasivo, costoso, y que requiere de personal altamente especializado para su realización. Adicionalmente, presenta algunos inconvenientes en la identificación de lesiones en el lado derecho (Baxter *et al.*, 2009), tales como: a) algunas colonoscopias “completas” no evalúan todo el colon; b) la preparación del colon puede ser mas deficiente en el lado derecho; c) las neoplasias del lado derecho y el izquierdo pueden ser biológicamente diferentes; d) los adenomas del lado derecho son menos pedunculados, ocasionalmente planos, lo que hace más difícil identificarlos y removerlos, y e) la histología y las características pueden ser diferentes.

En este trabajo se evaluó la utilidad de la espectroscopia por bioimpedancia eléctrica, como una posible herramienta para el tamizaje del cáncer colorrectal, basados en el incremento en la permeabilidad transepitelial, que lleva a disminución de la impedancia eléctrica (Davies *et al.*, 1987) (Davies *et al.*, 1989) (Soler *et al.*, 1999), asociada con el desarrollo del cáncer y basados en la teoría del campo carcinogénico.

Nuestros hallazgos indican que hay diferencias en el parámetro  $\tau$  en el punto de medición 09:00, para lo cual no hay una explicación clara, pudiendo estar

relacionado con la posición en que se toman las lecturas. No se encontraron diferencias en los otros parámetros respecto al sitio de medición. Sin embargo, el hallazgo más importante y relevante es que el parámetro  $\rho_0$ , permite separar en forma individual y colectiva los pacientes con cáncer respecto a los otros grupos.

El tamizaje del futuro consiste en identificar aquellos pacientes que están en riesgo de padecer la enfermedad, aun antes que aparezcan las lesiones. Basados en el concepto anterior, debemos desarrollar estrategias que identifiquen cambios que se presenten a nivel subcelular, en la estructura del órgano objeto. En el caso específico de colon y recto, y basados en los conceptos expuestos y los resultados preliminares, pensamos que la EBIE como método de pre-tamizaje puede tener un futuro promisorio en este sentido.

## CAPÍTULO 7

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

#### 7.1 Conclusiones

Hasta donde es de nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se realizan mediciones de EBIE *in vivo* en recto de humanos, mediante un protocolo desarrollado para tal fin y se correlaciona con anomalías asociadas a cáncer. Como se ha mostrado, estas mediciones en el recto son viables y sencillas de realizar y podrían convertirse en una herramienta para tamizaje de cáncer de colon, pues se comprobó que es posible detectar anomalías en el colon con medidas en el recto, utilizando el modelado inverso que permite la extracción de los datos, lo cual sugiere que el efecto de campo carcinogénico afecta las propiedades eléctricas de las células del recto, por células transformadas en otras partes del colón. La posibilidad de usar el recto como un órgano espejo del colon, abriría las puertas para usar esta herramienta de una manera generalizada, dado su bajo costo y facilidad de uso, pues no requiere equipos costosos ni personal especializado, como en el caso de las colonoscopias. Dado que el desarrollo de cáncer de colon, como el de otros tipos de cáncer y, según la evidencia científica actual, el de casi todas las llamadas enfermedades crónicas no transmisibles, tiene una ruta común intestinal, la técnica propuesta podría servir, eventualmente, no sólo para tamizaje de cáncer de colon, sino, también, para el tamizaje de riesgo de otros tipos de cáncer y de otras enfermedades. La ruta mencionada puede resumirse como: exposición crónica a factores de riesgo → disbiosis → ruptura de la barrera de moco → aumento de la permeabilidad intestinal → endotoxemia → metainflamación.

#### 7.2 Recomendaciones

Se requiere de estudios posteriores más amplios para llegar a considerar la EBIE como una posible herramienta de tamizaje y diagnóstico precoz de cáncer colorrectal. Igualmente se deben explorar diferentes tipos de arreglos de los

electrodos, pues con diferentes separaciones se pueden interrogar diferentes estructuras de la pared rectal. Esto basado en que la penetración de la corriente es función de la separación entre los dos electrodos. La profundidad que se alcanza es aproximadamente la mitad de la separación entre los electrodos de corriente (González-Correa C, 2001).

Con una sonda con una mayor separación de los electrodos, se podrían evaluar otros componentes de la pared celular, más allá del epitelio y la capa de moco.

## REFERENCIAS

- Abdolahad M, Shashaani H, Janmaleki M, et al. (2014). Silicon nanograss based impedance biosensor for label free detection of rare metastatic cells among primary cancerous colon cells, suitable for more accurate cancer staging. *Biosens Bioelectron*, 59, 151–159.
- Abdul S, Brown B, Milnes P, et al. (2006). The use of electrical impedance spectroscopy in the detection of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer*, 16, 1823–32.
- Afriyie-Gyawu E, Mackie J, Dash B et al. (2005). Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil Clay in Sprague-Dawley rats. *Food Addit Contam.*, 22, 259–269.
- Aksoy N, Faruk O. (2004). Mucin macromolecules in normal, adenomatous, and carcinomatous colon: Evidence for the neotransformation. *Macromol Biosci*, 4, 483–496.
- Allen A, Hutton D, Pearson J. (1998). The MUC2 gene product: A human intestinal mucin. *Int J Biochem Cell B*, 30, 797–801.
- Anderson J, Davidson M, Blonde L, et al. (2000). Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*, 71, 1433–1438.
- Anti M, Marra G, Armelao F, et al. (1993). Rectal epithelial cell proliferation patterns as predictors of adenomatous colorectal polyp recurrence. *Gut*, 34, 525–530.
- Aroom K, Harting M, Cox Ch, et al. (2009). Bioimpedance analysis: a guide to simple design and implementation. *J Surg Res*, 153, 23–30.
- Arrieta M, Bistriz L, Meddings J. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55, 1512–1520.

- Atuma C, Strugala V, Allen A, et al. (2001). The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280, G922-9.
- Ayllon D, Seoane F, Gil-Pita R. (2009). Cole Equation and Parameter Estimation from Electrical Bioimpedance Spectroscopy Measurements - A comparative study. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 3779–3782.
- Aziz Q, Doré J, Emmanuel A, et al. (2013). Gut microbiota and gastrointestinal health: Current concepts and future directions. *Neurogastroenterol Motil*, 25, 4–15.
- Backman V, Roy H. (2013). Advances in Biophotonics Detection of Field Carcinogenesis for Colon Cancer Risk Stratification, 4,251-261.
- Backman V, Roy H. (2013). Advances in biophotonics detection of field carcinogenesis for colon cancer risk stratification. *J Cancer*, 4, 251–261.
- Backman V, Roy H. (2011). Light-scattering technologies for field carcinogenesis detection: a modality for endoscopic prescreening. *Gastroenterology*, 140, 35–41.
- Backman V, Wallace M, Perelman L, et al. (2000). Detection of preinvasive cancer cells. *Nature*, 406, 35–6.
- Balasubramani L, Brown B, Healey J, et al. (2009). The detection of cervical intraepithelial neoplasia by electrical impedance spectroscopy: the effects of acetic acid and tissue homogeneity. *Gynecol Oncol*, 115, 267–71.
- Balda M, & Matter K. (2016). Tight junctions as regulators of tissue remodelling. *Curr Opin Cell Biol*, 42, 94–101.
- Bardhan K, Liu K. (2013). Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers*, 5, 676–713.
- Barondess J. (2014). Scanning the chronic disease terrain: prospects and

- opportunities. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 125, 45–56.
- Barouni M, Larizadeh M, Sabermahani A, et al. (2012). Markov's Modeling for Screening Strategies for Colorectal Cancer. *Asian Pacific Cancer Prev*, 13, 5125–5129.
- Barret A, Barman S, Boitano S, et al. (2012). *Ganong Fisiologia Medica* (24th ed.). Mexico: Mc Graw Hill.
- Barret B, Mckenna P. (2011). Communicating Benefits and Risks of Screening for Prostate, Colon, and Breast Cancer. *Fam Med*, 43, 248–253.
- Barrow A, Wu S. (2007). Impedance measurements for cervical cancer diagnosis. *Gynecol Oncol*, 107, S40-3.
- Bassotti G, Villanacci V, Crețoiu D, et al. (2013). Cellular and molecular basis of chronic constipation: taking the functional/idiopathic label out. *World J Gastroenterol*, 19, 4099–105.
- Baxter N, Goldwasser M, Paszat L, et al. (2009). Association of Colonoscopy and Death From Colorectal Cancer: A Population-Based, Case–Control Study. *Ann Intern Med*, 150, 1–8.
- Benedix F, Kube R, Meyer F, et al. (2010). Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Dis Colon Rectum*, 53, 57–64.
- Bermon S, Petriz B, Kajeniene A, et al. (2015). The Microbiota: An exercise immunology perspective. *Exerc Immunol Rev*, 21, 70–79.
- Bernstein C, Bernstein H, Garewal H, et al. (1999). A bile acid-induced apoptosis assay for colon cancer risk and associated quality control studies. *Cancer Res*, 59, 2353–2357.
- Bernstein C, Bernstein H, Payne C, et al. (2008). Field defects in progression to gastrointestinal tract cancers. *Cancer Lett*, 260, 1–10.



- Booth F, Roberts C, Laye M. (2012). Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol*, 2, 1143–1211.
- Bostick R, Fosdick L, Lillemoe T, Overn P, et al. (1997). Methodological findings and considerations in measuring colorectal epithelial cell proliferation in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6, 931–42.
- Brezden-Masley Ch, Polenz Ch. (2014). Current practices and challenges of adjuvant chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Surg Oncol Clin N Am*, 23, 49–58.
- Bronchud M. (2002). Is cancer really a “local” cellular clonal disease? *Med Hypotheses*, 59, 560–565.
- Brown B, Tidy J, Boston K, et al. (2000). Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *LANCET*, 355, 892–895.
- Camilleri M, Lasch K, Zhou W. (2012). Irritable Bowel Syndrome: Methods, Mechanisms, and Pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 303, G775-85.
- Candela M, Turrone S, Biagi E, et al. (2014). Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol*, 20, 908–922.
- Cani P, Bibiloni R, Knauf, C., et al. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 57, 1470–1481.
- Carey W. (1977). Colon physiology. A review. *Cleveland Clin Q*, 44, 73–81.
- Castells A, Bessa X, Quintero E, et al. (2013). Risk of advanced proximal neoplasms according to distal colorectal findings: comparison of sigmoidoscopy-based strategies. *J Natl Cancer Inst*, 105, 878–86.
- Chanchairujira T, Mehta L. (2005). Bioimpedance and its application. *Saudi J*

Kidney Dis Transplant, 16, 6–16.

Chen L, Hao Ch, Chiu Y, et al. (2004). Alteration of gene expression in normal-appearing colon mucosa of APC(min) mice and human cancer patients. *Cancer Res*, 64, 3694–3700.

Cherkezyan L, Stypula-Cyrus H, Subramanian H, et al. (2014). Nanoscale changes in chromatin organization represent the initial steps of tumorigenesis: a transmission electron microscopy study. *BMC Cancer*, 14, 189–198.

Chiba H, Osanai M, Murata M, et al. (2008). Transmembrane proteins of tight junctions. *Biochim Biophys Acta*, 1778, 588–600.

Ching C, Sun T, Huang S, et al. (2010). A preliminary study of the use of bioimpedance in the screening of squamous tongue cancer. *Int J Nanomedicine*, 5, 213–220.

Cipe G, Idiz U, Firat D, et al. (2015). Relationship between intestinal microbiota and colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol*, 7, 233–240.

Corazziari E. (2009). Intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 48 Suppl 2, S54-5.

Cornish B. (2006). Bioimpedance Analysis: Scientific Background. *Lymphat Res Biol*, 4, 47–50.

Cortés A, Bravo L, García L, et al. (2014). Incidencia , mortalidad y supervivencia por cáncer colorrectal en Cali, Colombia, 1962-2012. *Salud Publica Mex*, 56, 457–464.

Dakubo D, Jakupciak J, Bich-Machin M, et al. (2007). Clinical implications and utility of field cancerization. *Cancer Cell Int*, 7, 2.

Damania D, Roy H, Kunte D, et al. (2013). Insights into the field carcinogenesis of ovarian cancer based on the nanocytology of endocervical and endometrial epithelial cells. *Int J Cancer*, 133, 1143–52.

- Damania D, Roy H, Subramanian H, et al. (2012). Nanocytology of rectal colonocytes to assess risk of colon cancer based on field cancerization. *Cancer Res*, 72, 2720–2727.
- Davies R, Joseph R, Asbun H, et al. (1989). Detection of the Cancer-Prone Colon, Using Transepithelial Impedance Analysis. *Arch Surg*, 124, 480–484.
- Davies R, Joseph R, Kaplan D, et al. (1987). Epithelial impedance analysis in experimentally induced colon cancer. *Biophysical Journal*, 52, 783–790.
- Davies R, Juncosa R, Kaplan D, et al. (1986). Colonic Epithelial Impedance Analysis in a Murine Model of Large-Bowel Cancer. *Arch Surg*, 121, 1253–1258.
- de Haan M, Pickhardt P, Stoker J. (2015). CT colonography: accuracy, acceptance, safety and position in organised population screening. *Gut*, 64, 342–350.
- Dean D, Ramanathan T, Machado D, et al. (2008). Electrical Impedance Spectroscopy Study of Biological Tissues. *J Electrostat*, 66, 165–177.
- Demir I, Schafer K, Tieftrunk E, et al. (2013). Neural plasticity in the gastrointestinal tract: Chronic inflammation, neurotrophic signals, and hypersensitivity. *Acta Neuropathol*, 125, 491–509.
- Dickson E, Spencer N, Hennig G, et al. (2007). An enteric occult reflex underlies accommodation and slow transit in the distal large bowel. *Gastroenterology*, 132, 1912–24.
- Dinning P, Costa M, Brookes S, et al. (2012). Neurogenic and myogenic motor patterns of rabbit proximal, mid, and distal colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 303, G83-92.
- Dinning P, Smith T, Scott S. (2009). Pathophysiology of colonic causes of chronic constipation. *Neurogastroenterol Motil*, 21 Suppl 2, 20–30.

- Egger G. (2012). In Search of a Germ Theory Equivalent for Chronic Disease. *Prev Chronic Dis*, 9, E95.
- Egger G, Dixon J. (2014). Beyond obesity and lifestyle: A review of 21st century chronic disease determinants. *Biomed Res Int*, 2014, 731685.
- Eisen G, Chutkan R, Goldstein J, et al. (2000). Guidelines for Colorectal Cancer Screening and Surveillance. *Gastrointest Endosc*, 51, 777–782.
- El-Serag H, Petersen L, Hampel H, et al. (2006). The Use of Screening Colonoscopy for Patients Cared for by the Department of Veterans Affairs. *Arch Intern Med*, 166, 2202–2208.
- Ellis K, Bell S, Chertow G, et al. (1999). Bioelectrical impedance methods in clinical research: A follow-up to the NIH technology assessment conference. *Nutrition*, 15, 874–880.
- Fearon E, Vogelstein B. (1990). A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis. *Cell*, 61, 759–767.
- Fernández J, Méndez-Sánchez S, Gonzalez-Correa C, et al. (2016). Could field cancerization be interpreted as a biochemical anomaly amplification due to transformed cells? *Medical Hypotheses*, 97, 107–111.
- Ferreira C, Vieira A, Vinolo M, et al. (2014). The Central Role of the Gut Microbiota in Chronic Inflammatory Diseases. *J Immunol Res*, 2014, 689492.
- Filipe M. (1969). Value of histochemical reactions for mucosubstances in the diagnosis of certain pathological conditions of the colon and rectum. *Gut*, 10, 577–586.
- Foo J, Leder K, Ryser M. (2014). Multifocality and recurrence risk: a quantitative model of field cancerization. *J Theor Biol*, 355, 170–184.
- Franceschi S, Wild Ch. (2013). Meeting the global demands of epidemiologic transition - the indispensable role of cancer prevention. *Molecular Oncology*, 7,

1–13.

Galland L. (2014). The Gut Microbiome and the Brain. *J Med Food*, 17, 1261–1272.

Gallegos-Villanueva M, Chimenos-Küstner E, López-López J, et al. (2007). Cancerización de campo: revisión del concepto. *Av. Odontoestomatol*, 23, 35–44.

Geddes L, Baker L. (1967). The Specific Resistance of Biological Material - - A Compendium Of Data For The Biomedical Engineer And Physiologist. *Med & BioL Engng*, 5, 271–293.

Giaroni C, De Ponti F, Cosentino M, et al. (1999). Plasticity in the enteric nervous system. *Gastroenterology*, 117, 1438–1458.

Gill S, Pop M, DeBoy R, et al. (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 312, 1355–1359.

Gitter A, Bendfeldt K, Schulzke J, et al. (2000). Trans/paracellular, surface/crypt, and epithelial/subepithelial resistances of mammalian colonic epithelia. *Pflügers Arch – Eur J Physiol*, 439, 477–482.

Gomes A, Roy H, Turzhitsky V, et al. (2009). Rectal mucosal microvascular blood supply increase is associated with colonic neoplasia. *Clin Cancer Res*, 15, 3110–3117.

Gómez-Buitrago P, González-Correa C, Santacoloma-Osorio M, et al. (2014). Human intestinal mucus proteins isolated by transanal irrigation and proctosigmoidoscopy. *Rev Colomb Quim*, 43, 5–10.

Gómez-Buitrago P, González-Correa C, Taborda-Ocampo G, et al. (2015). Some proteins of possible -clinical interest found in samples of human intestinal mucus ( HIM ). *J Integrated Omics*, 5, 1–62:9.

González-Correa C. (2001). *Endoscopic measurement of electric impedance*

*spectra and their dependence on tissue properties in Barrett's Oesophagus Thesis.*

González-Correa C, Brown B, Smallwood R, et al.(1999). Virtual Biopsies in Barrett's Esophagus Using an Impedance Probe. *Ann N Y Acad Sci.*, 873, 313–321.

González-Correa C, Gómez-Buitrago P, Taborda-Ocampo G, et al. (2015). A case report of cyclosporine complexed with human calcineurin remaining in the gut after 25 years of its consumption. *J Integrated Omics*, 5, 1–62:5.

González-Correa C, Miranda-Mercado D, Mulett-Vasquez E, et al. (2016). Rectal Bioelectrical impedance (REBI) as a possible screening tool for colorectal cancer (CRC). *Ann Oncol*, 27, ii66.1-ii66.

Graham T, McDonald S, Wright N. (2011). Field cancerization in the GI tract. *Future Oncol*, 7, 981–993.

Gunst S, Wu M. (2001). Selected Contribution: Plasticity of airway smooth muscle stiffness and extensibility: role of length-adaptive mechanisms. *J Appl Physiol*, 90, 741–749.

Gurjar R, Backman V, Perelman L, et al. (2001). Imaging human epithelial properties with polarized light-scattering spectroscopy. *Nature Medicine*, 7, 1245-1248

Gyawali C, Bredenoord A, Conklin J, et al. (2013). Evaluation of esophageal motor function in clinical practice. *Neurogastroenterol Motil*, 25, 99–133.

Haggar F, Boushey R. (2009). Colorectal cancer epidemiology: Incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg*, 22, 191–197.

Halayko A, Solway J. (2001). Molecular mechanisms of phenotypic plasticity in smooth muscle cells. *J Appl Physiol*, 90, 358–68.

Hall N. (2011). Colorectal cancer: Features and investigation. *Medicine*, 39, 250–

253.

Hansson G. (2012). Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr Opin Microbiol*, 15, 57–62.

Hao C, Moore DH Chiu Y, et al. (2005). Altered gene expression in normal colonic mucosa of individuals with polyps of the colon. *Dis Colon Rectum*, 48, 2329–35.

Heredia D, Grainger N, McCann C, et al. (2012). Insights from a novel model of slow-transit constipation generated by partial outlet obstruction in the murine large intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 303, G1004–G1016.

Hinck L, Näthke I. (2014). Changes in cell and tissue organization in cancer of the breast and colon. *Curr Opin Cell Biol*, 26, 87–95.

Hingorani A, Shah T, Kumari M, et al. (2010). Translating genomics into improved healthcare. *BMJ*, 341, c5945.

Ho J, Chan G, Li J. (2015). Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol*, 16, 21.

Hohenester E, Yurchenco P. (2013). Laminins in basement membrane assembly. *Cell Adhesion & Migration*, 7, 56–63.

Hossain Z, Hirata T. (2008). Molecular mechanism of intestinal permeability: interaction at tight junctions. *Mol BioSyst*, 4, 1181–1185.

Huang Y, Huang E, Cheng K. (2013). The correlation between extracellular resistance by electrical biopsy and the ratio of optical low staining area in irradiated intestinal tissues of rats. *Biomed Eng ONLINE*, 12, 23–35.

Huang Y, Li Q, Ge W, et al. (2015). Optimizing sampling device for the fecal immunochemical test increases colonoscopy yields in colorectal cancer screening. *Eur J Cancer Prev*, X, XXX.

Hunter D, Reddy S. (2013). Noncommunicable Diseases. *N Engl J Med*, 369,

1336–43.

Huo Q, Kinugasa T, Wang L, et al. (2009). Claudin-1 Protein Is a Major Factor Involved in the Tumorigenesis of Colorectal Cancer. *Anticancer Res*, 136, 851–857.

Jandhyala S, Talukdar R, Subramanyam Ch, et al. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*, 21, 8836–8847.

Jenkins D, Balsitis M, Gallivan S, et al. (1997). Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. *J Clin Pathol*, 50, 93–105.

Jensen B. (1981). Tissue cleansing through bowel management (Bernard Jensen International.). Escondido.

Johansson M, Phillipson M, Petersson J et al. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *PNAS*, 105, 15064–9.

Johansson M, Sjövall H, & Hansson G. (2013). The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10, 352–361.

Kahi Ch, Anderson J, Rex D. (2013). Screening and surveillance for colorectal cancer: State of the art. *Gastrointest Endosc*, 77, 335–350.

Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, et al. (2013). Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*, 62, 3341–3349.

Kawashima H. (2012). Roles of the Gel-Forming MUC2 Mucin and Its O-Glycosylation in the Protection against Colitis and Colorectal Cancer. *Biol Pharm Bull*, 35, 1637–1641.

Keku T, Dulal S, Deveaux A, et al. (2015). The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer. *Am J Physiol Gastrointest Liver*, 308, 351–363.

Kim S, Inamura K, Yamauchi M, et al. (2016). Loss of CDH1 (E-cadherin)



expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis. *Br J Cancer*, 114, 199–206.

Kinugasa T, Akagi Y, Yoshida T, et al. (2010). Increased claudin-1 protein expression contributes to tumorigenesis in ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *Anticancer Res*, 30, 3181–3186.

Ko C, Hyman N. (2006). Practice parameter for the detection of colorectal neoplasms: An interim report (revised). *Dis Colon Rectum*, 49, 299–301.

Komin A, Russell L, Hristova K, et al. (2016). Peptide-based strategies for enhanced cell uptake, transcellular transport, and circulation: Mechanisms and challenges. *Adv Drug Deliv. X*, XXX.

Kopelovich L, Henson D, Gazdar A, et al. (1999). Surrogate Anatomic / Functional Sites for Evaluating Cancer Risk: An Extension of the Field Effect. *Clin Cancer Res*, 5, 3899–3905.

Krishn S, Kaur S, Smith L, et al. (2016). Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma–carcinoma sequence: Prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Lett*, 374, 304–314.

Krusek J, Dado S. (2014). Electrode-less Measurement of Cell Layers Impedance. *Physiol Res*, 63, 705–711.

Kunzelmann K, Mall M. (2002). Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. *Physiol. Rev*, 82, 245–89.

Kuo K, Herrera A, Wang L, et al. (2003). Structure-function correlation in airway smooth muscle adapted to different lengths. *Am J Physiol Cell Physiol*, 285, C384–C390.

Kurago Z. (2016). Etiology and pathogenesis of oral lichen planus: an overview. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 122, 72–80.

Laghi A, Iafrate F, Rengo M, et al. (2010). Colorectal cancer screening: The role of

- CT colonography. *World Journal of Gastroenterology*, 16, 3987.
- Langner C. (2012). Colorectal Normal Histology and Histopathologic Findings in Patients with Chronic Diarrhea. *Gastroenterol Clin N Am*, 41, 561–580.
- Laukoetter M, Bruewer M, Nusrat A. (2006). Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. *Curr Opin Gastroenterol*, 22, 85–9.
- León-Pedroza J, González-Tapia L, Del Olmo-Gil E, et al. (2015). Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y Cirujanos*, 83, 543–551.
- Lerner A, Matthias T. (2015). Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*, 14, 479–489.
- Levin B, Brooks D, Smith R, et al. (2003). Emerging Technologies in Screening for Colorectal Cancer: CT Colonography, Immunochemical Fecal Occult Blood Tests, and Stool Screening Using Molecular Markers. *CA Cancer J Clin*, 53, 44–55.
- Ley R, Turnbaugh P, Klein S, et al. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444, 1022–3.
- Lieberman D, Williams J, Holub J, et al. (2014). Race, ethnicity, and sex affect risk for polyps >9 mm in average-risk individuals. *Gastroenterology*, 147, 351–358.
- Link A, Balaguer F, Shen Y, et al. (2010). Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 19, 1766–1774.
- Lochhead P, Chan A, Nishihara R, et al. (2015). Etiologic field effect: reappraisal of the field effect concept in cancer predisposition and progression. *Mod Pathol*, 28, 14–29.

- Logan A. (2015). Dysbiotic drift: mental health, environmental grey space, and microbiota. *J Physiol Anthropol*, 34, 23.
- Lomax A, Fernández E, Sharkey K. (2005). Plasticity of the enteric nervous system during intestinal inflammation. *Neurogastroenterol Motil*, 17, 4–15.
- Lovelock J. (1969). *Gaia: a new look at the life on earth*. Oxford UK.: Oxford University Press.
- Lukaski H, Johnson P, Bolonchuk W, et al. (1985). Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr*, 41, 810–817.
- Luo Y, Yu M, Grady W. (2014). Field cancerization in the colon: a role for aberrant DNA methylation? *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2, 16–20.
- Manzano A, Pérez-Segura P. (2012). Colorectal cancer chemoprevention: is this the future of colorectal cancer prevention? *ScientificWorldJournal*, 2012, 1–8.
- Marcon R, Claudino R, Dutra R, et al. (2013). Exacerbation of DSS-induced colitis in mice lacking kinin B(1) receptors through compensatory up-regulation of kinin B(2) receptors: the role of tight junctions and intestinal homeostasis. *Brit J Pharmacol*, 168, 389–402.
- Marlett J, Fischer M. (2016). Session : Physiological aspects of fibre The active fraction of psyllium seed husk. *Proc Nutr Soc*, 62, 207–209.
- Mayer E, Knight R, Mazmanian S, et al. (2014). Gut Microbes and the Brain : Paradigm Shift in Neuroscience. *Journal of Neuroscience*, 34, 15490–15496.
- McGuckin M, Lindén S, Sutton P, et al. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat Rev Microbiol*, 9, 265–278.
- McLean M, Dieguez D, Miller L, et al. (2014). Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut*, 64(2), 332–341.
- Minihane A, Sophie V, Russell W, et al (2015). Low-grade inflammation, diet

- composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*, 114, 999–1012.
- Miranda D, Pérez J, Perico J. (2006). Cáncer De Cuello Uterino Basado En Espectroscopía De Impedancia Eléctrica . *Rev Univ Ind Santander Salud*, 38, 189–196.
- Moreno L, Tresaco B, Bueno G, et al. (2003). Psyllium fibre and the metabolic control of obese children and adolescents. *J Physiol Biochem*, 59, 235–242.
- Mulett E, Osorio M, Dussan C, et al. (2016). Rectal impedance parameters in colorectal diseases. In *Book of Abstracts of the 16th International Conference on Electrical Bio-Impedance* (p. 23). Stockholm.
- Mullin J, Agostino N, Rendon-Huerta E, et al. (2005). Epithelial and endothelial barriers in human disease. *DDT*, 10, 395–408.
- Murdoch C, Brown B, Hearnden V, et al. (2014). Use of electrical impedance spectroscopy to detect malignant and potentially malignant oral lesions. *Int J Nanomedicine*, 9, 4521–32.
- Neves A, Coelho J, Couto L, et al. (2013). Metabolic endotoxemia: A molecular link between obesity and cardiovascular risk. *J Mol Endocrinol*, 51, R51–R64.
- Pace J, Williams I. (1969). Organization of the muscular wall of the human colon. *Gut*, 10, 352–9.
- Patel A, Tripathi G, Gopalakrishnan K, et al. (2015). Field cancerisation in colorectal cancer: A new frontier or pastures past? *World J Gastroenterol*, 21,
- Pelaseyed T, Bergstrom J, Gustafsson J, et al. (2014). The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol Rev*, 260, 8–20.
- Perera D, Weinstein W, Rubin C. (1975). Small intestinal biopsy. *Hum Pathol*, 93,

157–277.

Petchetti L, Frishman W, Petrillo R, et al. (2007). Nutraceuticals in cardiovascular disease: psyllium. *Cardiol Rev*, 15, 116–122.

Pethig R. (1984). Dielectric Properties of Biological Materials: Biophysical and Medical Applications. *IEEE T Electr Insul*, EI-19, 453–474.

Pethig R, Kell DB. (1987). The passive electrical properties of biological systems: their significance in physiology, biophysics and biotechnology. *Phys Med Biol*, 32(8), 933–70.

Piazza J, Charles S, Sliwinski M, et al. (2013). Affective reactivity to daily stressors and long-term risk of reporting a chronic physical health condition. *Ann Behav Med*, 45, 110–120.

Piccoli A, LD, N., & Rosell J. (2002). Análisis convencional y vectorial de bioimpedancia en la práctica clínica. *Nefrologia*, 22, 228–238.

Polley A, Pin C, Williams E, et al. (2006). Proteomic analysis reveals field-wide changes in protein expression in the morphologically normal mucosa of patients with colorectal neoplasia. *Cancer Res*, 66, 6553–6562.

Pratusevich V, Seow Ch, Ford L. (1995). Plasticity in Canine Airway Smooth Muscle. *J Gen Physiol*, 105, 73–94.

Qin J, Li R, Raes J, et al. (2010). A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464, 59–65.

Radhakrishnan R, Shah K, Xue H, et al. (2007). Measurement of intestinal edema using an impedance analyzer circuit. *J Surg Res*, 138, 106–10.

Relman D. (2013). The human microbiome: ecosystem resilience and health. *Nutr Rev*, 70, 1–12.

Rengucci C, De Maio G, Gardini A, et al. (2014). Promoter methylation of tumor suppressor genes in pre-neoplastic lesions; potential marker of disease

- recurrence. *J Exp Clin Canc Res*, 33, 65–74.
- Resnick M, Konkin T, Routhier J, et al. (2005). Claudin-1 is a strong prognostic indicator in stage II colonic cancer: a tissue microarray study. *Mod Pathol*, 18, 511–518.
- Robinson K, Deng Z, Hou Y, et al. (2015). Regulation of the Intestinal Barrier Function by Host Defense Peptides. *Front Vet Sci*, 2, 57.
- Roy H, Gomes A, Ruderman S, et al. (2010). Optical measurement of rectal microvasculature as an adjunct to flexible sigmoidoscopy: gender-specific implications. *Cancer Prev Res*, 3, 844–51.
- Roy H, Backman V, Goldberg M. (2006). Colon Cancer Screening. *Arch Intern Med*, 166, 2177–2179.
- Roy H, Gomes A, Turzhitsky V, et al. (2008). Spectroscopic microvascular blood detection from the endoscopically normal colonic mucosa: biomarker for neoplasia risk. *Gastroenterology*, 135, 1069–78.
- Roy H, Kim Y, Liu Y, et al. (2006). Risk stratification of colon carcinogenesis through enhanced backscattering spectroscopy analysis of the uninvolved colonic mucosa. *Clin Cancer Res*, 12, 961–968.
- Rozen P. (2004). Cancer of the gastrointestinal tract: early detection or early prevention? *Eur J Cancer Prev*, 13, 71–75.
- Rubin H. (2011). Fields and field cancerization: The preneoplastic origins of cancer. *Bioessays*, 33, 224–231.
- Ryan C, Atkins M, Mier J, et al. (1995). Effects of malignancy and interleukin-2 infusion on gut macromolecular permeability. *Critical Care Medicine*, 23, 1801–6.
- Saffrey M. (2013). Cellular changes in the enteric nervous system during ageing. *Dev Biol*, 382, 344–355.

- Sánchez-Fayos P, Martín Relloso M, Porres Cubero J. (2009). La mucosa gástrica como estructura diana de agresiones proinflamatorias persistentes: modelos patogénicos de gastritis crónica. *Gastroenterol Hepatol*, 32, 294–306.
- Sandler R, Baron J, Tosteson T, et al. (2000). Rectal Mucosal Proliferation and Risk of Colorectal Adenomas: Results from a Randomized Controlled Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9, 653–656.
- Savage D. (1977). Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev Microbiol*, 31, 107–133.
- Schoen R, Pinsky P, Weissfeld J, et al. (2012). Colorectal-Cancer Incidence and Mortality with Screening Flexible Sigmoidoscopy. *N Engl J Med*, 2345–2357.
- Schwan H. (1994). Electrical properties of tissues and cell suspensions: mechanisms and models. In *Proceedings of 16th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (pp. 70–71).
- Scrivo R, Vasile M, Bartosiewicz I, et al. (2011). Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev*, 10, 369–374.
- Seike K, Koda K, Oda K, et al. (2006). Assessment of rectal aberrant crypt foci by standard chromoscopy and its predictive value for colonic advanced neoplasms. *Am J Gastroenterol*, 101, 1362–1369.
- Sellers R, Morton D. (2014). The colon: from banal to brilliant. *Toxicol Pathol*, 42, 67–81.
- Shaukat A, Mongin S, Geisser M, et al. (2013). Long-term mortality after screening for colorectal cancer. *N Engl J Med*, 369, 1106–14.
- Shimoyama Y, Nagafuchi A, Fujita S, et al. (1992). Cadherin Dysfunction in a Human Cancer Cell Line: Possible Involvement of Loss of  $\alpha$ -Catenin Expression in Reduced Cell-Cell Adhesiveness. *Cancer Res*, 52, 5770–5774.

- Shin D, Lu J, Kim G, et al. (2011). Anti-invasive activities of anthocyanins through modulation of tight junctions and suppression of matrix metalloproteinase activities in HCT-116 human colon carcinoma cells. *Oncol Rep*, 25, 567–572.
- Simrén M, Barbara G, Flint H, et al. (2013). Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut*, 62, 159–76.
- Singh B. (2007). Psyllium as therapeutic and drug delivery agent. *Int J Pharm*, 334, 1–14.
- Slaughter D. (1944). The Multiplicity of Origin of Malignant Tumors. *Collective Review. Surg., Gynec. & Obst., Internat. Abst.*, 70, 89–98.
- Slaughter D. (1946). Multicentric origin of intraoral carcinoma. *Surgery*, 20, 133–46
- Slaughter D, Southwick H, Smejkal W. (1953). “Field cancerization” in oral stratified squamous epithelium. *Clinical Implication of Multicentric Origin. CANCER*, 6, 963–968.
- Smith R, Manassaram-Baptiste D, Brooks D, et al. (2015). Cancer Screening in the United States, 2015: A Review of Current American Cancer Society Guidelines and Current Issues in Cancer Screening. *CA Cancer J Clin*, 65, 30–54.
- Smith T, Spencer N, Hennig G, et al. (2007). Recent advances in enteric neurobiology: mechanosensitive interneurons. *Neurogastroenterol Motil*, 19, 869–78.
- Snipes R, Clauss W, Weber A., et al. (1982). Structural and functional differences in various divisions of the rabbit colon. *Cell and Tissue Research*, 225, 331–346.
- Soler A, Miller R, Laughlin K, et al. (1999). Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis*, 20, 1425–1431.



- Standring S. (2008). Large intestine. In Gray's anatomy (40th ed., pp. 1137–1162). Churchill Livingstone.
- Stoy R, Foster K, Schwan H. (1982). Dielectric properties of mammalian tissues from 0.1 to 100 MHz: a summary of recent data. *Phys Med Biol*, 27, 501–513.
- Stracci F, Zorzi M, Grazzini G. (2014). Colorectal Cancer Screening: Tests, Strategies, and Perspectives. *Front Public Health*, 2, 1–9.
- Stubbs J, Evans J, Stabin M. (1998). Radiation absorbed doses to the walls of hollow organs. *J Nucl Med*, 39, 1989–1995.
- Taffinder N, Tan E, Webb I, et al. (2004). Retrograde commercial colonic hydrotherapy. *Colorectal Dis*, 6, 258–260.
- Takubo K, Tomio A, Sawabe M, et al. (2003). Structures of the normal esophagus and Barrett's esophagus. *Esophagus*, 1, 37–47.
- Tarraga P, Albero J, Rodriguez-Montes J. (2014). Primary and Secondary Prevention of Colorectal Cancer. *Clin Med Insights Gastroenterol*, 7, 33–46.
- Tatullo M, Marrelli M, Amantea M, et al. (2015). Bioimpedance Detection of Oral Lichen Planus Used as Preneoplastic Model. *J Cancer*, 6, 976–983.
- Thiagarajah J, Yildiz H, Carlson T, et al. (2014). Altered goblet cell differentiation and surface mucus properties in Hirschsprung disease. *PLoS One*, 9, 1–9.
- Thomas D. (2011). Gene-Environment-Wide Association Studies: Emerging Approaches. *Nat Rev Genet*, 11, 259–272.
- Thomson H, Busuttil A, Eastwood M, et al. (1986). The submucosa of the human colon. *J Ultra Mol Struct R*, 96, 22–30.
- Thomson H, Busuttil A, Eastwood M, et al. (1987). Submucosal collagen changes in the normal colon and in diverticular disease. *Int J Colorect Dis*, 2, 208–213.
- Tjalsma H, Boleij A, Marchesi J, et al. (2012). A bacterial driver-passenger model

for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol*, 10, 575–582.

Traynor O, Costa N, Wood Ch. (1983). A Scanning Electron Microscopy Study of Changes in the Colonic Mucus Layer During Chemical Carcinogenesis. *Cancer*, 51, 1847–1853.

Trowbridge B, Burt R. (2002). Colorectal cancer screening. *Surg Clin N Am*, 82, 943–957.

Turnbaugh P, Ley R, Mahowald M, et al. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 1027–31.

United Nations (UN). (2012). Resolution adopted by the General Assembly 66/2. Political Declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. Document A/Res/66/2. Retrieved from file:///imps1/Praktikanten/mlueddemann/Eigene Dateien/Citavi 5/Projects/BA/Citavi Attachments/UNECE, Dubuc - United Nations.pdf T4 - Proposal for amendments to global technical regulation No. 15 on Worldwide harmonized Light vehicles Test Procedure (WLTP)

Valle I, Tramalloni D, Bragazzi N. (2015). Cancer prevention: State of the art and future prospects. *J Prev Med Hyg*, 56, 21–27.

Varum F, Veiga F, Sousa J, et al. (2010). An investigation into the role of mucus thickness on mucoadhesion in the gastrointestinal tract of pig. *Eur J Pharm Sci*, 40, 335–41.

Vasina V, Barbara G, Talamonti L, et al (2006). Enteric neuroplasticity evoked by inflammation. *Auton Neurosci*, 126–127, 264–272.

Vietto V. (2013). Actualización : La problemática del cáncer colorrectal y su rastreo (segunda entrega). *Evid Act Pract Ambul*, 16, 32–37.

Vit-Ra-Tox. (1998). Product Catalog. Kansas.

- Vogelstein B, Fearon E, Hamilton S, et al. (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*, 319, 525–32.
- Walsh J, Terdiman J. (2003). Colorectal cancer screening. *Scientific Review. JAMA*, 289, 1288–1296.
- Wang X, Tully O, Ngo B et al. (2011). Epithelial tight junctional changes in colorectal cancer tissues. *TheScientificWorldJournal*, 11, 826–41.
- Wang J, Luo H, Billam M, et al. (2005). Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. *Food Addit Contam*, 22, 270–9.
- Wei Z-h, Wang H, Chen X-y, et al. (2009). Time- and dose-dependent effect of psyllium on serum lipids in mild-to-moderate hypercholesterolemia: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Eur J Clin Nutr*, 63, 821–827.
- Wikoff W, Anfora A, Liu J, et al. (2009). Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *PNAS*, 106, 3698–703.
- Wild Ch. (2005). Complementing the genome with an “exposome”: The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14, 1847–50.
- World Health Organization. (2004). Preventing and managing the global epidemy. *Technical Report Series*. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (2013). Controlling the global obesity epidemic.
- Yee J, Kim D, Rosen M, et al. (2014). ACR Appropriateness Criteria Colorectal Cancer Screening. *J Am Coll Radiol*, 11, 543–551.
- Yi J, Radosevich A, Stypula-Cyrus Y, et al. (2014). Spatially resolved optical and ultrastructural properties of colorectal and pancreatic field carcinogenesis observed by inverse spectroscopic optical coherence tomography. *Journal of*


Biomedical Optics, 19, 36013-1-36013–16.

Yun C, Kumar A. (2015). Diverse roles of LPA signaling in the intestinal epithelium.  
Exp Cell Res, 333, 201–207.

## ANEXOS

### Anexo N°1

### Aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Caldas



UNIVERSIDAD DE CALDAS  
FACULTAD DE CIENCIAS PARA LA SALUD  
COMITÉ DE BIOÉTICA

CBCS-024-14

Manizales, 10 de Octubre de 2014

Investigador  
EDELBERTO MULETT VASQUEZ  
Doctorado en Ciencias Biomedicas  
Grupo de Bioimpedancia Eléctrica

Cordial saludo.

De acuerdo a la solicitud de evaluación del proyecto "ESTUDIO DE LOS ESPECTROS DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA RECTAL EN PACIENTES CON Y SIN NEOPLASIAS" nos permitimos informarle que ha sido aprobado como consta en el Acta 009 de 2014, con la siguientes recomendaciones:


1. En el Consentimiento Informado, en el párrafo **procedimiento**: "...A cada paciente...", debe ser escrito dirigido al sujeto que está leyendo el consentimiento, no como algo general, sino específicamente para el. "... Usted, antes de ser sometido ... se le tomarán ..."
2. **Artículo 15. Resolución 8430 de 1993**: "... El Consentimiento Informado deberá presentar la información, la cual será explicada, forma completa y clara al sujeto de investigación, en tal forma que puedan comprenderla

Se considera una investigación **CON RIESGO MÍNIMO**.

Los investigadores deben tener en cuenta que si existen cambios en la formulación del proyecto o las condiciones del Consentimiento Informado, esto debe ser informado a este Comité.

*Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias para la Salud. Comité de Bioética.*


---



De igual manera el Comité podrá solicitar información posterior sobre el desarrollo del proyecto y los cambios de acuerdo a las recomendaciones establecidas.

Estamos atentos a cualquier inquietud,

Atentamente,

  
 NATALIA GARCÍA RESTREPO  
 Coordinadora

## Anexo N°2

### Consentimiento Informado

Proyecto de investigación:

#### Estudio de los espectros de impedancia eléctrica rectal de pacientes con y sin neoplasias de colon

Manizales \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_

#### Hoja de información para voluntario/a

##### Estimado/a:

Lo/la estamos invitando a participar voluntariamente en un proyecto de investigación para **conocer los espectros de impedancia eléctrica rectal de pacientes con y sin neoplasias de colon** La información de este proyecto es la siguiente:

**Justificación y objetivo:** El cáncer de colon es una enfermedad que rápidamente se está presentando con mas frecuencia en nuestra población con el agravante que en la mayoría de los casos el diagnóstico se hace tardíamente, cuando la sobrevivida después del tratamiento es menor y la aparición de complicaciones es mayor después de este. Queremos conocer si hay cambios en las propiedades eléctricas del recto en pacientes con neoplasias del colon, para así desarrollar un método de diagnóstico temprano, que no requiere de métodos invasivos como la colonoscopia. Es necesario entonces conocer las propiedades electricas del colon por medio de bio-impedanciometria. Posteriormente se hará una correlación con las muestras de patología si estas fueron tomadas, con su autorización concedida al decidir participar en el estudio.

##### Procedimientos:

1. Antes de ser sometido al procedimiento endoscópico se tomaran las medidas en el recto inferior mediante una sonda de las características de un termometro y así conocer las propiedades electricas de este midiendolo por bio-impedanciometria. Esto no le causara a Usted ningun inconveniente o daño y tampoco causará retrasos en el procedimiento.

**Molestias o riesgos esperados:** Ninguna pues las mediciones se haran en el recto inferior, mirando directamente el sitio en donde se haran las medidas bajo visión endoscópica.

**Beneficios que puedan obtenerse:** Se amplían los conocimientos acerca de los cambios en la pared del recto en pacientes con o sin neoplasias del colon.

**Garantía de respuesta a preguntas y dudas y libertad de retirarse en cualquier momento:** los Médicos participantes en el proyecto (EM y CAGC), estarán dispuestos a responder todas las preguntas y dudas que usted tenga. Igualmente, usted tiene la libertad de retirarse del estudio en cualquier momento, sin ninguna consecuencia negativa para usted.

**Garantía de anonimato y confidencialidad:** todos los datos sobre los participantes en el presente proyecto son de carácter confidencial, los resultados siempre serán tratados de manera anónima, y sólo los médicos participantes en el mismo tendrán acceso directo a ellos.

**Gastos adicionales, tratamiento médico o indemnización:** no se espera que haya lugar a gastos adicionales por su participación en el proyecto. Cualquier información adicional la puede obtener de los Médicos participantes en el proyecto:

**Edelberto Mulett (EM),** Celular: 310 422 1907, Universidad de Caldas, Edificio de Laboratorios, oficina 502. Conmutador: 878 1500 Ext. 14160. Correo electrónico: doctoradomulett@gmail.com.

**Carlos Augusto González Correa (CAGC):** Celular: 310 821 1430, Universidad de Caldas, Edificio de Laboratorios, oficina 502. Conmutador: 8781500 Ext. 14160. Correo electrónico: c.gonzalez@ucaldas.edu.co.

**Anexo N°3****Consentimiento informado para participación voluntaria en un proyecto de investigación****Anexo****CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA EN UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN****Título del proyecto:****Estudio de los espectros de impedancia eléctrica rectal de pacientes con y sin neoplasias de colon**

**Nombre del Coordinador:** Dr. Edelberto Mulett, MD, Departamento Quirúrgico de la Universidad de Caldas.

Por favor, marque el cuadro correspondiente:

1. Confirmando que he leído y entiendo la Hoja de Información del programa, que he tenido la oportunidad de realizar las preguntas sobre el mismo, las cuales me han sido respondidas de manera satisfactoria.
2. Confirmando que mi participación es voluntaria, que no se ha ejercido ninguna presión para participar en el programa y que me puedo retirar del mismo en cualquier momento, sin que ello tenga ninguna implicación negativa para mí. En caso de retirarme, también estoy en libertad de dar o no dar explicaciones sobre los motivos para ello.
3. Entiendo que la información que se recolecte sobre mí será de carácter confidencial, se manejará de manera anónima y sólo podrá ser consultada por los médicos responsables.
4. Acepto que el uso de los resultados sea para publicaciones de carácter científico.
5. Acepto participar en el programa arriba mencionado.

\_\_\_\_\_  
Nombre del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre de testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre de la persona que toma  
El consentimiento (si es diferente del investigador)

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma

---

EDELBERTO MULETT V

Coordinador del Proyecto,  
Especialista en Cirugía General,  
Especialista en Cirugía de Colon y Recto

---

Fecha

---

Firma