

2004B-2009A

E03118657

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



## **“ESTANDARIZACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL DEL CÁNCER DE COLON EN RATONES BALB/c INDUCIDO CON 1,2-DIMETILHIDRACINA”**

### **TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**ANGELINA CAZARES ALVAREZ**

**Las Agujas, Zapopan, Jalisco.  
Julio de 2010**

TESIS/CICRA



**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

*Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología*

COORD-BIO-048/2010.

C. Angelina Cazares Alvarez  
**PRESENTE**

Manifiestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título **"ESTANDARIZACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL DEL CÁNCER DE COLON EN RATONES BALB/C INDUCIDO CON 1,2-DIMETILHIDRACINA** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo a la **Dra. Anne M. H. Santerre** y como asesoras a la **Dra. Ma. del Rosario Huizar López** y a la **Dra. Esther Albarrán Rodríguez**.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"PIENSA Y TRABAJA"**

**"2010 Bicentenario de la Independencia y Centenario de la Revolución Mexicana"**  
Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 21 de Junio del 2010.

  
Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias  
**PRÉSIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

  
M.C. GLORIA PARADA BARRERA  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias.  
 Presidente del Comité de Titulación.  
 Licenciatura en Biología.  
 CUCBA.  
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad de: TESIS E INFORMES, opción TESIS con el título: "ESTANDARIZACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL DEL CÁNCER DE COLON EN RATONES BALB/c INDUCIDO CON 1,2-DIMETILHIDRACINA" que realizó el/la pasante ANGELINA CAZARES ALVAREZ con número de código E03118657 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente  
 Lugar y fecha.

Las Agujas, Zapopan, Jal., 10 de Junio del 2010

Director/a del trabajo:

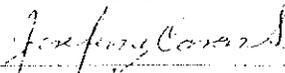
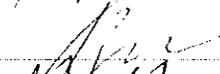
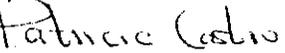
Dra. Anne M. H. Santerre

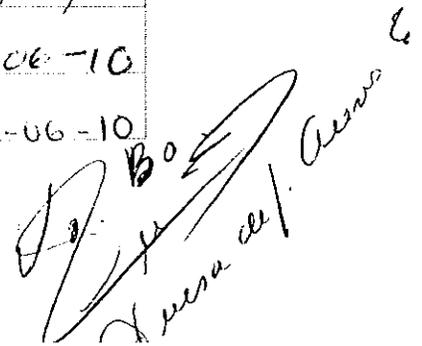


Asesor(es):

Dra. Ma. Del Rosario Huizar López

Dra. Esther Albarrán Rodríguez

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dra. Josefina Casas Solis		15-06-10
Dra. Galina P. Zaitseva		15/06/10
Dr. Jacinto Bañuelos Pineda		14-06-10
Supl. Dra. Patricia Castro Félix		15-06-10

  
 B.O.  
 X mesa del. Acervo C.

## **SEDE**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biomarcadores Moleculares y Genética Molecular del Departamento de Biología Celular y Molecular del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, bajo la dirección de la Dra. Anne M. H. Santerre y Asesoría de la Dra. Ma. Del Rosario Huizar López

Y

En el Laboratorio de Morfofisiología y Centro de Estudios en Patología Animal adscritos al Departamento de Medicina Veterinaria del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, bajo la Asesoría de la Dra. Esther Albarrán Rodríguez.

La realización de esta tesis fue posible gracias al financiamiento otorgado por el Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Jalisco-Universidad de Guadalajara, proyecto No. 617, Convocatoria 2008 y por el proyecto apoyado por el CONACYT-SALUD con clave SALUD-2008-CO1-87231.

*La meta no existe; el camino y la meta son lo mismo.  
No tenemos que correr hacia ninguna parte,  
...solo saber dar cada paso plenamente.*

*Dedicatoria*

*A Dios:*

*Por haberme dado la vida, fuerza, sabiduría y entusiasmo  
para salir adelante con mi carrera*

*A mi familia:*

*Sergio, Ofelia, Alejandro, Cristina, Maritza y Mamaria  
Por su apoyo incondicional, amor y comprensión  
para lograr algo tan anhelado*

*A Carlota, Ernesto y Familia, Al Dr. Miguel Angel  
Por todo el apoyo brindado para mi formación profesional*

*A mis Amigos y Compañeros:*

*Por toda su ayuda y consejos*

*Gracias*

## *Reconocimientos y Agradecimientos*

*Quiero agradecer a todas las personas que participaron de forma noble y generosa... esta tesis no se hubiera podido realizar sin su colaboración.*

*A la Universidad:  
Por la oportunidad que me brindó*

*A maestros(as):  
Por darme sus conocimientos y experiencias*

*Dedicada con un gran respeto a la Dra. Anne M. H. Santerre  
Gracias por todo su apoyo*

*A la Dra. Ma Del Rosario Huizar López:  
Por su paciencia, apoyo y motivación que me brindó*

*A la Dra. Esther Albarrán Rodríguez  
Por todo su apoyo brindado para la realización de la tesis*

*A mis sinodales:  
Dra. Josefina, Dra. Galina, Dra. Patricia y Dr. Jacinto*

*Al Dr. Ramón Antonio Franco Jopete  
(Patólogo)*

*Gracias*

## CONTENIDO

	Página (s)
<b>ABREVIATURAS</b> .....	V
<b>RESUMEN</b> .....	VI
<b>ANTECEDENTES</b> .....	I
1. Generalidades del cáncer.....	1
2. Epidemiología del cáncer.....	1
3. Epidemiología del cáncer colorrectal.....	3
4. Factores de riesgo.....	4
5. Anatomía del intestino grueso.....	6
5.1 Fisiología del colon.....	8
5.2 Histología del colon.....	8
6. Desarrollo del cáncer de colon.....	9
7. Localización de tumores.....	12
8. Manifestaciones clínicas.....	12
9. Estadios del cáncer de colon.....	14
10. Diseminación tumoral.....	15
11. Diagnóstico.....	16
12. Características macroscópicas del CCR.....	17
13. Tipos histológicos de tumores.....	17
14. Focos de criptas aberrantes.....	20
15. Carcinogénesis en modelos experimentales.....	23
16. Principales carcinógenos.....	24
17. Carcinógeno 1,2-dimethylhidracina.....	28
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	29
<b>HIPÓTESIS</b> .....	30
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	31
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	32
<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	33
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	34
<b>RESULTADOS</b> .....	40
<b>DISCUSIÓN</b> .....	54
<b>CONCLUSIONES</b> .....	58
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	59
<b>GLOSARIO</b> .....	60
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página (s)
<b>Fig. 1</b> Porcentaje de defunciones por tumores malignos en Jalisco.....	2
<b>Fig. 2</b> Anatomía del intestino grueso.....	7
<b>Fig. 3</b> Colon, las criptas de Lieberkühn y células relacionadas.....	9
<b>Fig. 4</b> Proceso de carcinogénesis.....	10
<b>Fig. 5</b> Carcinomas del intestino grueso.....	13
<b>Fig. 6</b> Estadios del cáncer de colon.....	15
<b>Fig. 7</b> Mecanismo de formación de FCA en colon.....	21
<b>Fig. 8</b> FCA de tipo hiperplásico.....	22
<b>Fig. 9</b> FCA con displasia (microadenoma).....	22
<b>Fig. 10</b> FCA de tipo mixto.....	23
<b>Fig. 11</b> Formas de activación de DMH.....	25
<b>Fig. 12</b> Fotografía de la administración con DMH.....	35
<b>Fig. 13</b> Fotografía de la perfusión vía intracardiaca.....	37
<b>Fig. 14</b> Tinción con hematoxilina y eosina.....	39
<b>Fig. 15</b> Microfotografía de colon del grupo control.....	43
<b>Fig. 16</b> Microfotografía de colon, semana 3.....	44
<b>Fig. 17</b> Microfotografía de colon, semana 7.....	44
<b>Fig. 18</b> Microfotografía de colon, semana 16.....	45
<b>Fig. 19</b> Microfotografía de colon, semana 20.....	46
<b>Fig. 20</b> Microfotografía de colon, semana 24.....	46
<b>Fig. 21</b> Microfotografía de colon, semana 31.....	47
<b>Fig. 22</b> Microfotografía de colon, semana 37.....	48
<b>Fig. 23</b> Microfotografía de colon, semana 40.....	48
<b>Fig. 24</b> Microfotografía de colon, semana 3.....	49
<b>Fig. 25</b> Microfotografía de colon distal, semana 7.....	50
<b>Fig. 26</b> Microfotografía de colon distal, semana 37.....	51
<b>Fig. 27</b> Microfotografía de colon del grupo control.....	51
<b>Fig. 28</b> Microfotografía de colon distal, semana 31.....	52
<b>Fig. 29</b> Microfotografía de colon distal, semana 37.....	52
<b>Fig. 30</b> Aspecto macroscópico de tumores en colon y recto.....	53

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página (s)
Cuadro 1. Genes relacionados en la carcinogénesis colorrectal.....	11
Cuadro 2. Principales carcinógenos químicos.....	24
Cuadro 3. Inducción del cáncer de colon con 1,2-dimetilhidracina.....	28
Cuadro 4. Periodos de sacrificio de los ratones.....	36
Cuadro 5. Determinación de $DL_{50}$ de la DMH (primera fase).....	40
Cuadro 6. Determinación de $DL_{50}$ de la DMH (segunda fase).....	41

## ABREVIATURAS

AM	Azometano
AOM	Azoximetano
APC	Poliposis colónica adenomatosa
CCHNP	Cáncer colorrectal hereditario no polipósico
CCR	Cáncer colorrectal
CH <sub>4</sub>	Metano
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DCC	Delecionado en carcinoma de colon
DL <sub>50</sub>	Dosis letal cincuenta
DNA	Ácido desoxinucleótico
DMH	Clorhidrato de 1,2-dimetilhidracina
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético
FCA	Focos de criptas aberrantes
GST	Genes supresores de tumores
H <sub>2</sub>	Hidrógeno diatómico gaseoso
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Ión bicarbonato
ID	Intestino delgado
IG	Intestino grueso
Ip	Intraperitoneal
Ir	Intrarrectal
kg	Kilogramo
MAM	Metilazoximetanol
Mg	Miligramo
mM	Milimolar
ml	Mililitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
Or	Oral
PAF	Poliposis adenomatosa colónica familiar
pH	Medida de la acidez o alcalinidad de una solución
PO	Protooncogenes
RNA	Ácido ribonucleico
Sc	Subcutánea
µl	Microlitro

## RESUMEN

En el presente estudio se estandarizó un modelo experimental del cáncer de colon en ratones Balb/c inducido con 1,2-dimetilhidracina (DMH). Se determinó la  $DL_{50}$  de DMH (55 mg/kg) en ratones de 20 g de peso corporal. Posteriormente se administró la DMH en inyección subcutánea a una dosis semanal de 20 mg/kg de peso corporal durante 24 semanas. Los animales se sacrificaron periódicamente mediante anestesia profunda, se perfundieron y posteriormente se extrajo el colon proximal, medio y distal.

El estudio histopatológico del colon confirma las primeras lesiones progresivas a la semana 3 con inflamación leve, criptas con discreta depleción mucosecretora y actividad mitótica; a partir de la semana 7 aparecieron focos de criptas aberrantes evidentes y su número aumentó en función del tiempo de inducción. Su localización fue principalmente en la parte distal del colon y se caracterizaron por aumento de tamaño y de forma, se presentaron grupos de criptas que variaron en número de dos a ocho. En el período que corresponde a las semanas 31 y 37 se desarrolló un adenocarcinoma intramucoso en la parte distal del colon con evidencia de displasia y numerosos focos de criptas atróficas. Finalmente para la semana 40 se presentó un carcinoma infiltrante bien diferenciado en la parte distal que corresponde a una lesión típica del cáncer de colon. Las primeras manifestaciones clínicas iniciaron a partir de la semana 3 con diarrea y a la semana 30 se presentó sangrado anal.

El examen histopatológico demostró una correlación entre el periodo de inducción y la aparición de estructuras anormales. Por otro lado, los focos de criptas aberrantes constituyen las primeras lesiones precursoras en la carcinogénesis colónica que corresponden a los estadios tempranos de esta neoplasia.

---

---

## ANTECEDENTES

### 1. Generalidades del Cáncer

El cáncer representa una serie de enfermedades que afectan a un amplio rango de células y tejidos (Klug y Cummings, 1999), con factores etiológicos complejos, así como múltiples aspectos que participan en su proliferación y diversas complicaciones.

Las células cancerosas son consecuencia de la acumulación de numerosos daños específicos, que influyen de manera determinante en su crecimiento descontrolado característico, la tumorigenicidad y la capacidad metastásica. Muchas de estas alteraciones ocasionan cambios en elementos que regulan el ciclo celular.

La incidencia específica de ciertos tumores se incrementa notablemente con la edad, lo cual sugiere la existencia de eventos a nivel molecular que ocurren con baja frecuencia y que se presentan a menudo en las etapas tardías de la vida de los individuos. Estos eventos están constituidos por mutaciones somáticas, que ocurren en los genes involucrados específicamente en el desarrollo del cáncer (Mas, 2007).

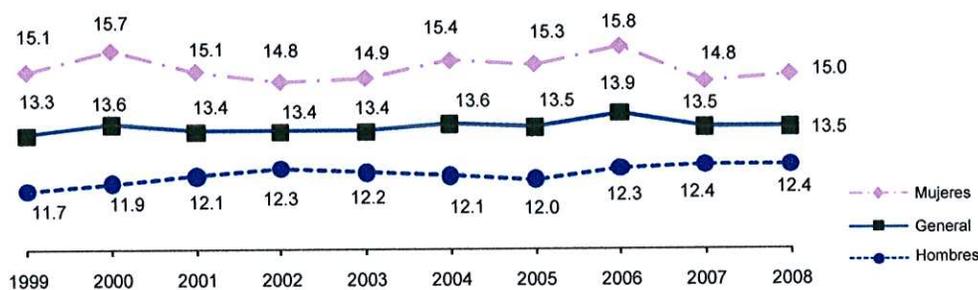
### 2. Epidemiología del cáncer

El cáncer es la principal causa de mortalidad a nivel mundial, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en el 2007. Los principales tipos de cáncer que contribuyen a la mortalidad general anual son los siguientes: pulmón (1.4 millones de defunciones), estómago (866, 000 defunciones), colon (677, 000 defunciones), hígado (653, 000 defunciones) y mama (548, 999 defunciones).

De acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que las muertes por neoplasias sigan en aumento y alcancen 12 millones de casos para el 2030 (OMS, 2010).

En México en el año 2006, los tumores malignos ocuparon el tercer lugar en la lista de causas de defunción en el país; con 63 888 fallecimientos. El volumen representa el 12.9% del total de defunciones registradas. En los varones, las tres principales causas de muerte por tumores malignos corresponden a: próstata (17.1%), tráquea, bronquios y pulmón (16.6%) y estómago (10.4%). En las mujeres el 15.0% de las defunciones por cáncer maligno corresponden al de mama y 13.9% al cérvico-uterino; hígado y vías biliares intrahepáticas (9.2%) (INEGI, 2008).

En el año 2008 los tumores malignos ocuparon el tercer lugar en la lista de principales causas de defunción en Jalisco; por dicha causa fallecieron 4 858 personas, el volumen representa el 13.5% del total de defunciones registradas en el año (Fig. 1).



Nota: El porcentaje está en relación con el total de defunciones registradas en cada año, en general y por sexo.  
Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales, 1999-2008.

Fig. 1 Defunciones generales por sexo causadas por tumores malignos en Jalisco, 1999-2008.

En los varones los tumores malignos fueron la segunda causa de muerte con 2, 419 defunciones, que representa el 12.4% de los fallecimientos. Las principales causas de muerte por tumores malignos corresponden a: próstata (18.6%), traquea, bronquios y pulmón (15.8%), estómago (7.3%) y colon (5.8%). En las mujeres se ubica en la tercer causa principal de muerte con 2,439 decesos; es decir, 15% de las defunciones. Las defunciones por cáncer maligno corresponde al de mama (15.9%), cérvico-uterino (9.6%), traquea, bronquios y pulmón (9.1%), hígado y vías biliares (6.4%), estómago (6.0%) y colon (4.8%) (INEGI, 2008).

---

### 3. Epidemiología del cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) es un tumor maligno del epitelio del colon y del recto, y constituye una de las formas más frecuentes de cáncer (Nussbaum y col., 2008). El CCR es un importante problema de salud pública ya que representa una mortalidad anual mundial de más de 500,000 (OMS, 2010).

Una de las características más importantes del cáncer de colon, es su diferente incidencia geográfica. Las frecuencias más altas se presentan en los países desarrollados como EEUU, Canadá y Nueva Zelanda donde se incrementan año con año, y relativamente bajas en México, Japón, India y África del Sur. Sin embargo, las familias hispanas emigradas a EEUU, al cabo de una generación, presentan igual riesgo de incidencia que la población americana (Binghman y Riboli, 2006; Siegel y col., 2008). Éste cáncer parece ser una enfermedad del progreso, ya que su incidencia es paralela al estado socioeconómico de los países.

Se reporta que la mediana de supervivencia de los enfermos con CCR diseminado, sin tratamiento citostático es de 6 a 8 meses, con quimioterapia se alcanzan supervivencias que oscilan entre los 12 y 18 meses. Los tratamientos habitualmente logran tasas de respuesta que oscilan entre el 20-40%, pero cuando se consideran exclusivamente los estudios aleatorizados más recientes, esta cifra desciende por debajo de 20%. Por lo tanto, los datos hasta el momento obtenidos son insuficientes y señalan la necesidad de la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. En este sentido, la inmunoterapia o terapia biológica del cáncer, la cuarta modalidad de tratamiento de las neoplasias malignas, que completa a las tres clásicas (cirugía, radioterapia y quimioterapia), es muy prometedora y a partir de ella se están desarrollando nuevas estrategias para el tratamiento del cáncer (Coca y col., 2005).

Los factores de riesgo para desarrollar esta neoplasia se han estudiado ampliamente, estableciéndose que es sensible a condiciones ambientales, a los hábitos alimentarios como grasa, fibra dietética y alcohol; además se ha relacionado con antecedentes familiares de CCR (Mas, 2007).

---

---

---

#### **4. Factores de riesgo del cáncer colorrectal**

##### **Grasa dietética**

El factor de riesgo principal para el desarrollo del CCR es la dieta. Las dietas ricas en grasa total y animal están asociadas con riesgo incrementado para cáncer de colon en el humano (Hill y col., 1971; Statland, 1992); este tipo de dieta contiene cantidades mayores de aminas heterocíclicas (a partir de las proteínas de la carne). Específicamente, la grasa incrementa la producción de ácido biliar y en último término aumenta la exposición de la mucosa del intestino a los efectos tóxicos de los ácidos biliares (Wynder y Reddy, 1977).

##### **Fibra dietética**

El papel de la fibra dietética en la carcinogénesis del colon fue propuesto por primera vez por Burkitt (1969). La idea surgió de su observación clínica de que el cáncer de colon (y otras alteraciones) es de baja incidencia en África, donde la dieta es rica en alimentos no procesados. Estudios han descrito que una disminución del riesgo se ha asociado con el consumo de verduras (Lampe y col., 1992; Steinmetz y Potter, 1991). Además del efecto de la fibra, las verduras contienen un gran número de sustancias, tanto micronutrientes como carotenoides y ascorbato, como no nutrientes tal es el caso de los fenoles, los flavonoides, los isocianatos y los indoles, con una diversidad de potentes propiedades anticarcinógenas, debido a que la fibra se une a los ácidos biliares, disminuye el tiempo de tránsito, aumenta el volumen de las heces y fermenta los ácidos grasos volátiles (Stephen y Cummings, 1980), además disminuye el pH y reduce la conversión de los ácidos biliares primarios en secundarios (Burkitt, 1971; Shankar y Lanza, 1991).

Thorton (1981) propuso que un pH colónico alto promueve la formación de cocarcinógenos a partir de ácidos biliares degradados por bacterias o colesterol, proceso que es inhibido a pH fecal inferior a 6.5. Los estudios de Walker y Walker (1992) proponen que las personas familiarmente propensas al desarrollo del CCR y con un pH fecal alto deberían ingerir más fibra vegetal.

---

### **Consumo de alcohol**

Desde finales de los años 60s, se describe una relación entre el carcinoma rectal y el consumo de alcohol (Morales y col., 1990); sin embargo, el colon en sí parece afectarse en menor medida. Estudios de experimentación animal han demostrado que aunque el alcohol no es un carcinógeno en sí mismo, posee un efecto favorecedor del desarrollo de cáncer, es decir cocarcinogénico (Simanowski y col., 1991). El alcohol actúa desplazando los inhibidores de la dieta (Stemmermann y col., 1990).

### **Factores genéticos**

En la población general, la mayoría de los casos del cáncer colorrectal se presenta de forma esporádica, sin embargo de 5-6% de los casos aparecen en familias con predisposición genética a padecer este tipo de neoplasia. El prototipo de estos cánceres es la poliposis adenomatosa colónica familiar (PAF), una enfermedad de herencia autosómica dominante que se caracteriza por el desarrollo de numerosos pólipos colorrectales benignos, de los cuales, algunos acaban malignizándose (Grodin y col., 1991).

Se conocen cuatro tipos de alteraciones genéticas relacionadas con el cáncer colorrectal:

1. Cambio en el contenido del DNA y errores en la replicación del mismo en secuencias nucleótidas repetidas (Kim y col., 1994).
2. Pérdida completa del cromosoma 18, reordenación estructural del 17, conduciendo a menudo a la pérdida de un brazo corto, y pérdida del brazo largo del cromosoma 5 (Fearon y col., 1990),
3. Activación por mutación puntual de los oncogenes celulares *ras*. Esta activación se produce frecuentemente en el *c-Ki-ras* y raramente en el *N-ras* (Burmer y col., 1990).
4. Sobreexpresión de determinados oncogenes como *c-myc*, *c-myb*, *c-erbB2/neu* o proteína p53 (Beart, 1990).

El síndrome de Lynch tipo I presenta una predisposición hereditaria al cáncer de colon a edad de comienzo temprana (alrededor de los 44 años), con una propensión (70%) a la afectación del colon proximal y un aumento de tumores

---

---

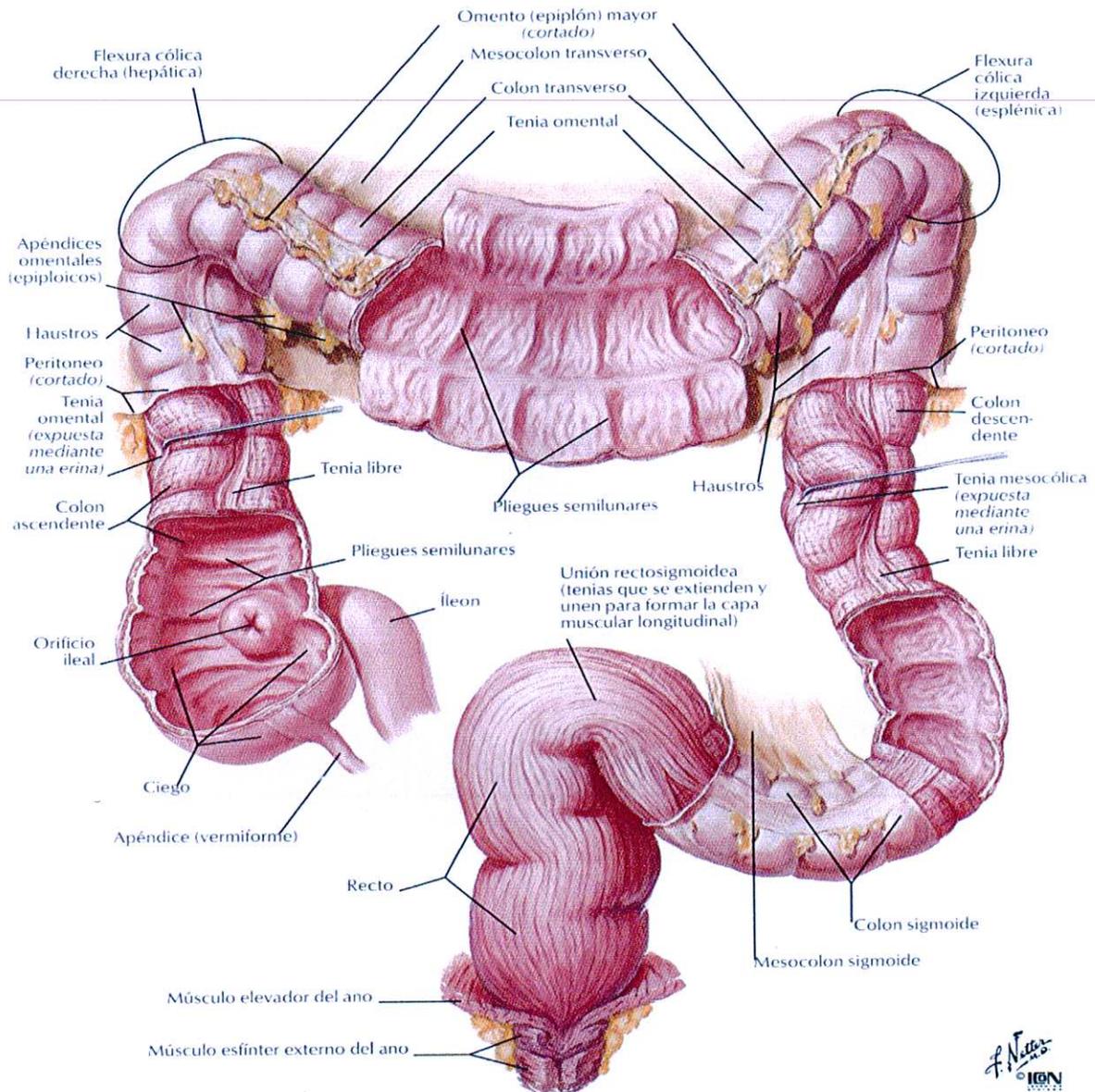
sincrónicos y metacrónicos. Las estimaciones indican que el cáncer colorrectal polipósico no hereditario (CCHNP) representa el 6% del total de los cánceres colorrectales. Sin embargo, se han descubierto dos genes reparadores de ADN responsables del CCHNP. El gen hMSH2, situado en el cromosoma 2, es responsable del 60% de los tumores de este tipo y el gen hMLH1, localizado en el cromosoma 3 responsable del 20-30% de los casos (Lynch y col., 1993).

### **5. Anatomía del intestino grueso en el humano**

El aparato digestivo está formado por el esófago, el estómago y los intestinos delgado y grueso. El intestino grueso en humanos mide alrededor de 1.5 m de largo y se subdivide en ciego, colon (ascendente, transverso, descendente y sigmoide), recto y ano; el apéndice es una evaginación ciega y pequeña.

El colon constituye la mayor parte de la longitud total del intestino grueso, recibe el quimo del íleon a través de la válvula ileocecal, un esfínter tanto anatómico como fisiológico que impide el reflujo del contenido fecal al íleon (Fig. 2).

El aparato digestivo en el ratón está formado de manera similar a la estructura anatómica del humano específicamente las partes que conforman el intestino grueso (ascendente, transverso y descendente), recto y ano (Popesko y col., 1992).



**Fig. 2 Anatomía de intestino grueso del humano (Netter, 2003).**

---

## 5.1 Fisiología del colon

La función del colon consiste en absorber agua y electrolitos (alrededor de 1 400 ml/día) y gases, así como en compactar y eliminar las heces (alrededor de 100 ml/día). Las heces se componen de agua (75%), bacterias muertas (7%), bagazo (7%), grasa (5%), sustancias inorgánicas (5%) y proteínas no digeridas, células muertas y pigmento biliar (1%). La acción bacteriana en el colon produce gases que se eliminan como flatos, compuestos de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>, que a continuación se mezclan con nitrógeno y oxígeno del aire deglutido. El intestino grueso contiene de 7 a 10 L de gases cada día, de los cuales solo se expulsan como flatos 0.5 a 1 L; el resto se absorbe a través del revestimiento del colon. El colon también secreta moco y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ión bicarbonato). El moco no sólo protege la mucosa del colon, también facilita la compactación de las heces, debido a que permite la adherencia de los desechos sólidos en una masa compacta. El HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se adhiere al moco y actúa como un amortiguador para proteger la mucosa de los productos accesorios ácidos del metabolismo bacteriano dentro de las heces (Gartner y Hiatt, 2002).

## 5.2 Histología del colon

El colon carece de vellosidades, pero contiene en abundancia criptas de Lieberkühn cuya composición es similar a las del intestino delgado, excepto por la ausencia de células de Paneth. La cifra de células caliciformes se incrementa del ciego al colon sigmoide, pero las células de absorción de la superficie son el tipo celular más numeroso (Fig. 3). La actividad mitótica rápida de las células de regeneración reemplaza el revestimiento epitelial de las criptas y la superficie mucosa cada 6 a 7 días.

La lámina propia, la muscularis mucosae y la submucosa del colon se asemejan a las del intestino delgado. La muscular externa es poco común porque la capa longitudinal externa no se continúa en toda su superficie sino que se reúne en tres listones estrechos de fascículos musculares, conocidos como tenias del colon. El tono constante que las tenias del colon conservan, frunce el intestino delgado en saculaciones llamadas haustra del colon.

---

La serosa muestra múltiples bolsas llenas de grasa, que se denominan apéndices epiploicos.

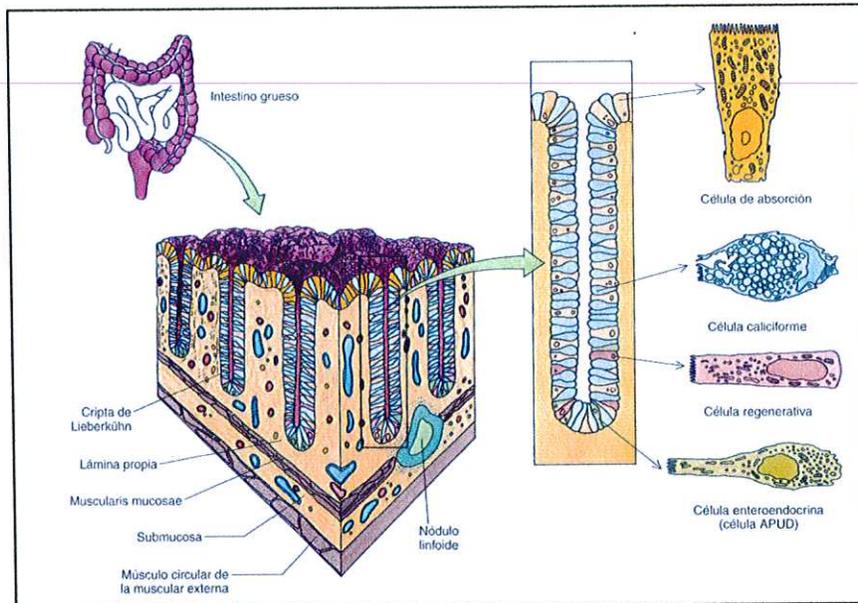
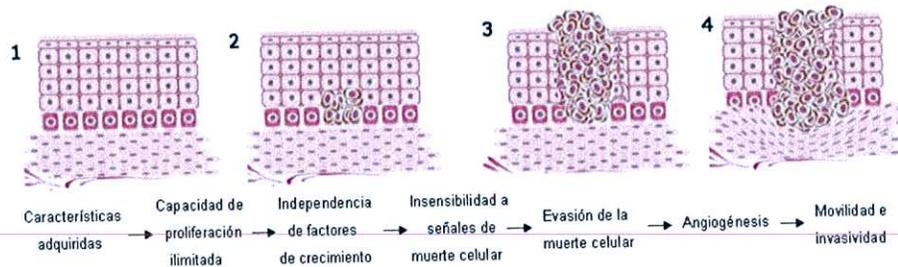


Fig. 3 Colon, las criptas de Lieberkühn y células relacionadas (Gartner y Hiatt, 2002).

## 6. Desarrollo del cáncer colorrectal (CCR)

La carcinogénesis es un proceso de múltiples etapas en el desarrollo de neoplasias malignas en el que se han identificado tres estadios: a) **iniciación**, un cambio permanente y heredable que altera el DNA, molécula en la cual los mutágenos inducen mutaciones y con ello se altera la regulación de la expresión de algunos genes importantes para la célula, b) **promoción**, un proceso reversible en el cual se acumulan otras alteraciones genéticas, y c) **progresión**, cuando las células genéticamente alteradas perpetúan su crecimiento y proliferación, invaden los tejidos adyacentes y metastizan otras partes del organismo (Fig. 4), lo que finalmente se traduce en el desarrollo del cáncer (Granados y Herrera, 2010).



**Fig. 4** La carcinogénesis se inicia cuando en un tejido normal (1), una célula sufre una modificación irreversible (2, iniciación). Después, la célula sufre otras alteraciones genéticas que promueven su proliferación y la acumulación de daños (3, promoción). Por último, la población de células alteradas durante la promoción progresa hacia un fenotipo maligno (4, progresión). Durante esta secuencia, las células cancerosas adquieren un grupo de características comunes en los diferentes tipos de cáncer (Granados y Herrera, 2010).

La gran mayoría de las neoplasias se inician por mutaciones o expresiones alteradas de algunos genes que cumplen funciones vitales en el control de procesos tales como: proliferación celular, apoptosis, reparación del DNA y envejecimiento celular. El desarrollo de una neoplasia requiere de cambios al menos en tres tipos de genes celulares: protooncogenes (PO), genes supresores de tumores (GST) y genes de reparación del DNA.

Durante el proceso de carcinogénesis intervienen factores genéticos (mutaciones) y epigenéticos; los PO son activados a oncogenes que promueven un crecimiento celular potenciado, ya que los productos codificados ejercen control positivo sobre la proliferación celular y su mutación les confiere carácter dominante desde un punto de vista genético. A su vez, la inactivación de GST promueve un crecimiento potenciado debido a que los productos codificados por genes supresores de tumores ejercen una función reguladora negativa sobre los procesos de proliferación celular.

Los cambios genéticos, que conducen al CCR, se inician con la inactivación del gen de la poliposis adenomatosa coli (APC) un GST que puede ser el responsable de la transformación del epitelio colónico desde un estado normal a uno hiperproliferativo (Nishisho y col., 1991). El producto de este gen mutado es una proteína truncada de 300 kDa; tras inactivarse APC, se observa la activación mutacional del PO K-ras, lo cual se evidencia a través de la inactivación del otro GST llamado DCC (delecionado en carcinoma de colon) ubicado en la región 18q22 y que codifica una proteína de membrana de la

superfamilia de las inmunoglobulinas. El último evento de inactivación se detecta en p53, otro GST involucrado en el cambio del estado de adenoma al de carcinoma (Zamorano-Ponce y col., 2008). Los genes de reparación del DNA contribuyen también al desarrollo de tumores de colon, ya que mutaciones en cualquiera de ellos inducen errores en la duplicación originando, lo que se conoce como inestabilidad de microsatélites (Catalán y col., 2003). Estos genes y otros mencionados anteriormente están señalados en el siguiente cuadro 1.

**Cuadro 1.** Genes relacionados en la carcinogénesis colorrectal (Modificado de Catalán y col., 2003).

Gen	Función	Locus
<b>Oncogenes</b>		
K-Ras	Transducción de señales	12p12.1
CTNNB1	Adhesión celular, transducción de señales	3p21
SRC	Unión de proteínas, transducción de señales	20q12-q13
Neu/her2	Receptor factor de crecimiento	17q11.2-q12
Myc	Regulación ciclo celular	8q24.12-q24.13
<b>Genes supresores</b>		
APC	Adhesión celular	5q21
p53	Regulación de ciclo celular (detención en G <sub>1</sub> )	17p12
DCC	Adhesión celular	18q21.3
MCC	Transducción de señales	5q21
SMAD4	Transducción de señales	18q21
SMAD2	Transducción de señales	18q21
TGF- $\beta$ RII	Transducción de señales	
Nm23H1	Inhibe metástasis	
Nm23H2	Inhibe metástasis	
<b>Genes de reparación</b>		
hMSH-2	Reparación de DNA	2p16
hMLH-1	Reparación de DNA	3p21
hPMS-1	Reparación de DNA	2q31-33
hPMS-2	Reparación de DNA	7p22
hMSH6	Reparación de DNA	2p21

---

## 7. Localización de tumores

Alrededor de un tercio de los tumores malignos del tracto gastrointestinal se localizan y desarrollan en el intestino grueso. Pueden aparecer en cualquiera de sus porciones, aunque las localizaciones más frecuentes son: 40% en el recto, 25% en el ciego, 20% en el colon sigmoide, y el 15% repartido en igual proporción por el resto del colon (Fig. 5).

## 8. Manifestaciones clínicas

El cáncer colorrectal es silente durante un largo periodo de tiempo que incluye las fases iniciales de su desarrollo en la pared intestinal (Bassa y col., 1992).

La existencia de un carcinoma colorrectal debe sospecharse con base en datos de una historia clínica cuidadosa. Los síntomas de alarma son cambios inexplicables en el hábito intestinal, sangre en heces, tenesmo, descarga de moco, síndrome anémico crónico con microcitosis, ferropenia y afectación del estado general con pérdida de peso. La progresión local de la enfermedad puede producir obstrucción, perforaciones y hemorragias en el intestino grueso especialmente en el sigma.

Los síntomas varían según la localización del tumor, los tumores malignos del colon derecho crecen a nivel local hasta alcanzar grandes dimensiones sin ocasionar obstrucción intestinal, como consecuencia de que las heces todavía son líquidas y de la gran distensibilidad de ese segmento colónico. Los síntomas son masa palpable, dolor abdominal vago y anemia que puede causar debilidad, fatiga y pérdida de peso. Los tumores del colon izquierdo se presentan muchas veces con manifestaciones propias de obstrucción intestinal parcial o completa, como dolor intenso de tipo cólico, disminución del calibre de las heces y hematoquecia. El carcinoma rectal produce rectorragias en el 60% de los casos y tenesmo en el 75%, ocasionan dolor con poca frecuencia, pero cuando la tumoración rectal engloba los nervios pélvicos puede manifestarse con dolor sacro o ciatalgia, y acompañarse de incontinencia (Granados y Herrera, 2010).

---

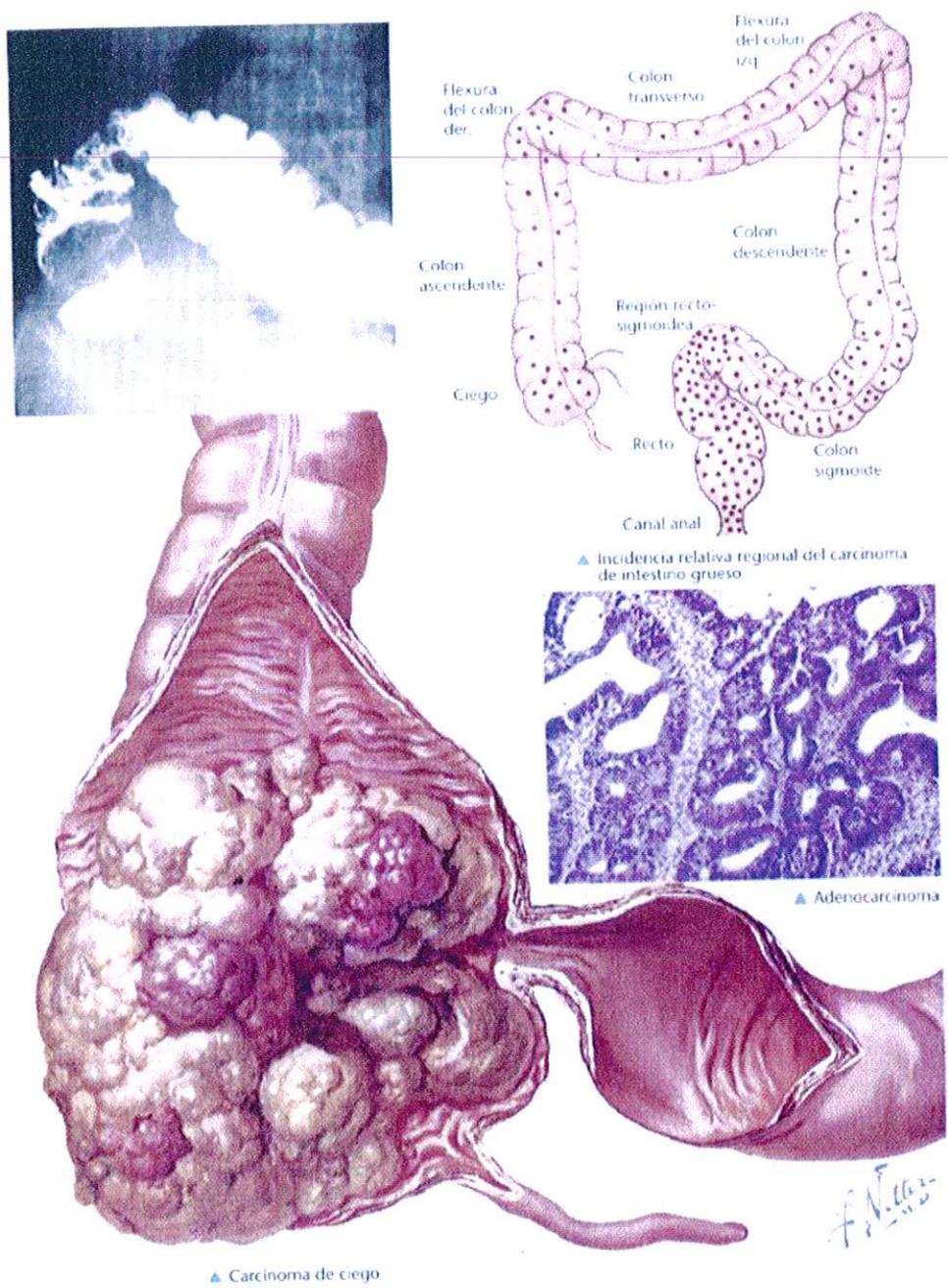


Fig. 5 Carcinomas del intestino grueso (Netter, 2003).

---

## 9. Estadios del cáncer de colon.

Para clasificar el desarrollo del CCR se utilizan los siguientes estadios:

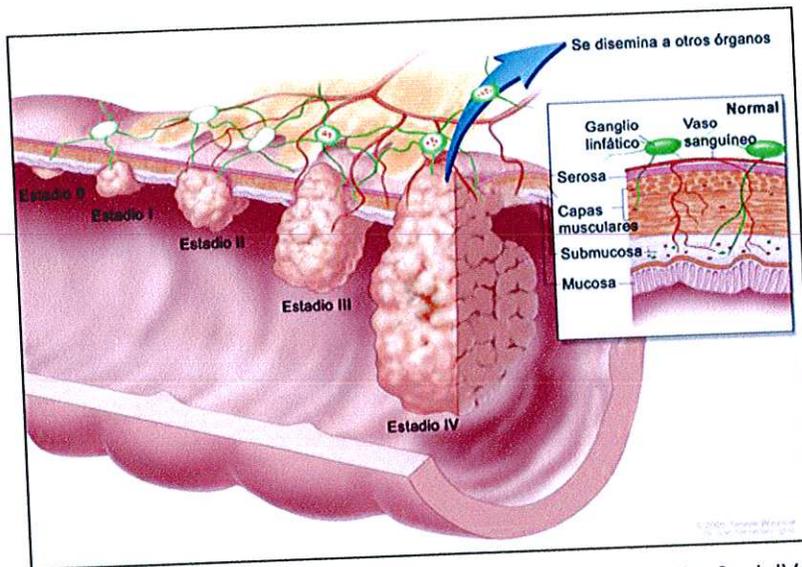
**Estadio 0 (carcinoma *in situ*):** se encuentran células anormales en el revestimiento más profundo del colon, las cuales se pueden volver cancerosas y diseminarse hasta el tejido cercano normal. Al estadio 0 también se le llama carcinoma *in situ*.

**Estadio I:** en este estadio el cáncer se ha formado y diseminado más allá de la capa de tejido más profunda de la pared del colon hasta las capas intermedias del mismo.

**Estadio II:** este se divide en IIA y IIB. En el estadio IIA el cáncer se ha diseminado más allá de la capa de tejido más profunda del colon hasta las capas medias de la pared del colon incluso a los tejidos cercanos alrededor del colon o recto. En el IIB el cáncer se ha diseminado más allá de la pared del colon hasta los órganos cercanos.

**Estadio III:** se divide en IIIA, IIIB y IIIC. En el estadio IIIA el cáncer se ha diseminado desde la capa de tejido más profunda de la pared del colon hasta las capas intermedias y se ha diseminado hasta tres ganglios linfáticos. El estadio IIIB se ha diseminado hasta tres ganglios linfáticos cercanos y se ha diseminado hasta alguno de los siguientes sitios: 1) más allá de las capas de tejido del colon, 2) a los tejidos cercanos alrededor del colon o el recto y 3) más allá de la pared del colon hasta órganos cercanos o a través del peritoneo. En el estadio IIIC el cáncer se ha diseminado hasta cuatro o más ganglios linfáticos circundantes incluso a algunos de los siguientes sitios: 1) Las capas de tejido de la pared del colon o más allá del mismo, 2) los tejidos cercanos alrededor del colon o el recto, 3) los órganos cercanos o a través del peritoneo.

**Estadio IV:** el cáncer se ha diseminado hasta los ganglios linfáticos cercanos, incluso a otras partes del cuerpo, como el hígado o los pulmones (Fig. 6).



**Fig. 6** A medida de que el cáncer del colon evoluciona del estadio 0 al IV, las células cancerosas penetran las capas que forman la pared del colon y se diseminan hasta los ganglios linfáticos y otros órganos ([www.cancer.gov](http://www.cancer.gov)).

## 10. Diseminación tumoral

Los tumores colorrectales presentan cuatro vías clásicas de crecimiento: la extensión local, la diseminación por vía linfática, la diseminación hematológica y la implantación. En la extensión local, el carcinoma crece hacia la luz o bien extramuralmente. La diseminación a través de la vía linfática se produce de forma escalonada y depende de la localización de la tumoración. Los tumores rectales producen metástasis primariamente a nivel de los ganglios perirectales y posteriormente a los hemorroidales. La metástasis por vía hematológica afecta prácticamente al hígado, y es la localización pulmonar la segunda en orden de frecuencia.

Existe una vía de drenaje a nivel rectal que se realiza a través de un plexo venoso vertebral y las metástasis por esta vía se localizan en sacro-coxis, pelvis y columna vertebral. La implantación es un sistema de metástasis en el cual existe una liberación de células tumorales viables que se depositan en otra superficie. Si el desprendimiento de células se produce desde la superficie serosa del tumor la implantación se hará a nivel de la cavidad peritoneal (carcinomatosis peritoneal). Finalmente pueden desprenderse células tumorales durante la manipulación quirúrgica del tumor a nivel de la

---

herida quirúrgica, en los márgenes mucocutáneos de una colostomía y en cualquier punto de campo operatorio (Bassa y col., 1992).

## 11. Diagnóstico

Diversos métodos han sido propuestos para ser aplicados en el diagnóstico del CCR, en las poblaciones de medio o alto riesgo de padecerlo. Además del interrogatorio completo, las técnicas diagnósticas incluyen el tacto rectal, estudio clínico de la presencia de sangre oculta en heces y diferentes métodos entre ellos endoscópicos y radiológicos (Granados y Herrera, 2010). De estos métodos el más simple es el tacto rectal al cual son alcanzables los tumores localizados a menos de 8 cm del esfínter anal, lo que significa aproximadamente el 10-13% de los cánceres colorrectales. El estudio de sangre oculta en heces es un método simple, permite diagnosticar tumores en estadios menos avanzados (Winawer y col., 1991). Sus principales inconvenientes son su relativamente baja sensibilidad y especificidad que obligan a veces a poner en marcha toda una serie de estudios complementarios para descartar cáncer.

Los estudios endoscópicos tienen una alta sensibilidad (85-95%), el porcentaje de falsos positivos es menor y además aportan la ventaja de que las lesiones observadas pueden ser biopsiadas confirmando el diagnóstico y en ocasiones pueden ser técnicas terapéuticas como polipeptomías (Granados y Herrera, 2010). Sus principales inconvenientes son las molestias para el paciente y el alto costo para un amplio grupo de población. Además existe en el caso de la colonoscopia el riesgo de perforación de 0.2%, requiriendo cirugía con una mortalidad de 7.5% (Bassa y col., 1992). Las técnicas de tamizaje mediante sigmoidoscopia reducen la mortalidad por cáncer de recto y colon distal (Selby y col., 1992). Una vez que el paciente presenta algunos de los síntomas previamente descritos, se realiza una serie de pruebas complementarias para confirmar el diagnóstico. La secuencia más habitual de maniobras diagnósticas en el paciente sintomático es el tacto rectal, la proctosigmoidoscopia rígida o flexible, la colonoscopia y el enema de bario

---

---

simple o de doble contraste. Estas últimas técnicas radiológicas son útiles en tumores inaccesibles, con la colonoscopia se descarta la existencia de otras lesiones metacrónicas (Dodd, 1991). Finalmente el diagnóstico confirmativo y definitivo de la enfermedad se basa en el estudio histopatológico de biopsias.

## **12. Características macroscópicas del CCR**

Desde el punto de vista macroscópico, los carcinomas colorrectales adoptan predominantemente dos formas: ulcerada y polipoidea. La forma más frecuente es el tumor ulcerado, que se infiltra por lo menos hasta la submucosa, es de bordes sobreelevados y puede perforarse y formar fístulas.

Los tumores polipoides de crecimiento exofítico, son menos frecuentes y suelen corresponder a tipos histológicos de bajo grado y menos infiltrantes. Por estas últimas razones los tumores polipoideos se asocian a un mejor pronóstico que las formas ulcerativas. Estos tumores se encuentran preferentemente en el colon derecho (Cooper, 1989). En ocasiones los tumores colorrectales adoptan una forma de crecimiento con engrosamiento difuso y rígido de la pared intestinal, con escasa manifestación en la superficie luminal.

Los carcinomas colorrectales pueden ser múltiples en el 3-6% de los casos, aunque esta cifra se eleva hasta el 18%. Además el 20% de los pacientes con CCR presentan adenomas sincrónicos, esta cifra aumenta al 66% cuando existe más de una neoplasia maligna (Ekelund y Pihl, 1974).

## **13. Tipos histológicos de tumores**

### **Adenocarcinoma**

El tumor más frecuente en el intestino grueso es el adenocarcinoma, su incidencia global oscila entre el 75 y 85% (Falterman y col., 1974). Histológicamente se caracteriza por la formación de glándulas con mayor o menor grado de diferenciación. Los adenocarcinomas se dividen según el grado de diferenciación en: diferenciados, moderadamente diferenciados y poco diferenciados. El grado de diferenciación se establece fundamentalmente

---

---

en base a la arquitectura o la configuración tubular o el grado de polaridad nuclear. Los adenocarcinomas diferenciados presentan túbulos simples o complejos con aspecto pseudocribiforme, las células suelen mantener cierta polaridad con los núcleos basales y son de tamaño uniforme (Netter, 2003).

Los adenocarcinomas moderadamente diferenciados muestran túbulos simples, complejos o ligeramente irregulares, cuya polaridad nuclear se pierde o es difícilmente identificable. Los adenocarcinomas poco diferenciados se caracterizan por la presencia de glándulas irregulares o ausencia de su formación, con pérdida de polaridad nuclear. Basándose en estos criterios Jass y col. (1986) reportan que de 447 casos de CCR, el 15-20% presentaba adenocarcinomas diferenciados, el 60-70% moderadamente diferenciados y el 15-20% poco diferenciados.

### **Carcinoma mucinoso**

La producción de material mucoide por los adenocarcinomas intestinales es poco frecuente, se distingue de dos formas: a) el carcinoma coloide o mucinoso, caracterizado por grandes cantidades de moco situado preferentemente fuera de las células; y solo rara vez se presenta la variante b) constituida por células con moco intracitoplasmático y núcleos localizados periféricamente, dispuestos individualmente o en forma de grupos sueltos y difusamente extendidos a lo largo de toda la pared, del tipo células en *anillo de sello* (Kirkham, 1988).

Histológicamente, la característica de este tumor es la presencia de una gran reacción desmoplásica que engloba a las células tumorales, las cuales muestran la imagen típica en *anillo de sello*. También pueden observarse glándulas abortivas o células pequeñas indiferenciadas. El carcinoma mucinoso constituye aproximadamente el 15-16% de los tumores colorrectales (Halvorsen y Seim, 1988).

### **Carcinoma de células pequeñas**

El carcinoma de células pequeñas colorrectal es un tumor poco frecuente que histológicamente se parece al carcinoma de células pequeñas de pulmón

---

---

(Schwartz y Orestein, 1985). Algunos de estos casos pueden presentar focos de diferenciación glandular o mucina. También pueden encontrarse en relación con adenomas (45%). En la mayoría de los casos se localizan en el colon ascendente (Burke y col., 1991).

### **Otros tipos de carcinomas**

El carcinoma escamoso de intestino grueso es un tipo histológico poco frecuente, la incidencia de este tumor puede oscilar entre el 0.25 y el 0.50% (Hickey y Corson, 1981). El carcinoma adenoescamoso es un tipo histológico constituido por elementos glandulares y escamosos entremezclados; su frecuencia es también baja. Se han descrito algunos casos de adenocarcinomas colorrectales con diferenciación a coriocarcinoma (Park y Reid, 1980). Estos tumores presentan áreas de adenocarcinoma que coexisten con áreas de diferenciación trofoblástica con presencia de células gigantes multinucleadas de tipo sincitiotrofoblástico y en las que se puede demostrar la producción de gonadotropina coriónica.

### **Mucosa transicional**

La mucosa transicional o mucosa adyacente al tumor colónico muestra alteraciones ultraestructurales e histoquímicas respecto a la mucosa normal alejada del tumor. Histológicamente, las glándulas de la mucosa transicional (MT) están alargadas y ramificadas (Riddell y Levin, 1977). Se observa aumento de las sialomucinas y alteración en las proporciones relativas de los distintos tipos celulares a lo largo de la cripta con persistencia de células inmaduras en niveles altos de las criptas. Las células caliciformes están aumentadas en número y tamaño (Dawson y Filipe, 1976).

---

#### 14. Focos de Criptas Aberrantes

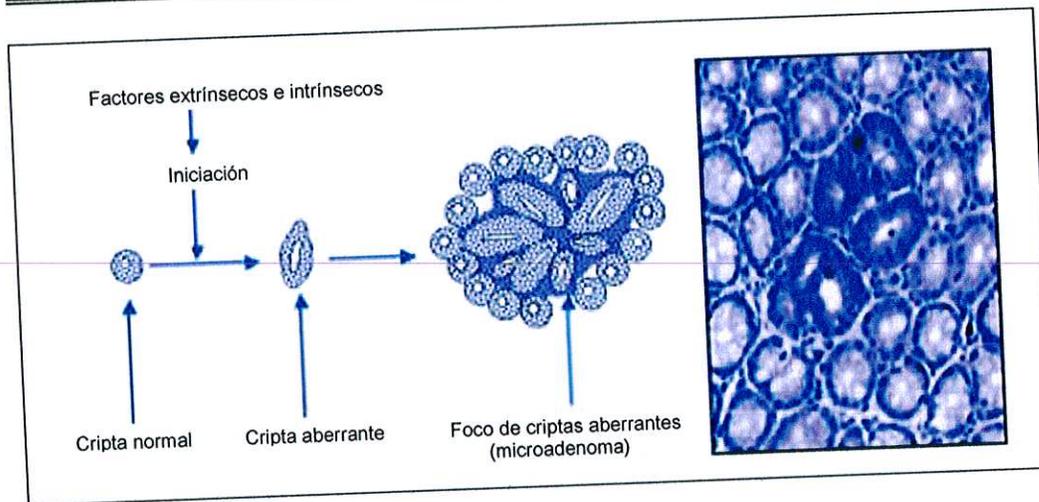
Uno de los eventos más tempranos en carcinogénesis colorrectal, es la alteración del patrón proliferativo de las células epiteliales en las criptas colónicas, asociado a un trastorno en el control de muerte celular programada (apoptosis) en el epitelio colónico.

La primera descripción de Focos de Criptas Aberrantes (FCA) fué en 1987 por Bird, quien observó bajo microscopía criptas aberrantes en mucosa colónica teñida con azul de metileno en colon de ratones tratados con azoxymetano (AOM) un carcinógeno específico de colon.

Los FCA son considerados como lesiones preneoplásicas en ratones y en seres humanos, fueron identificados y definidos por su apariencia microscópica en la mucosa colónica, en que las criptas presentan las siguientes características:

1. Son más alargadas que lo normal.
2. Tienen espacio pericriptico aumentado que las separa de las criptas normales.
3. Tienen una capa más gruesa de células epiteliales, que a menudo se tiñen más oscuras.
4. Generalmente tienen un lumen oval más que circular.
5. Frecuentemente se aprecian elevadas sobre la mucosa, pero también pueden ser deprimidas.

Pueden ser observadas como criptas únicas alteradas o como un grupo de criptas alteradas que se denominan "foco". Se consideran lesiones FCA, si por lo menos reúnen 4 de los 5 criterios, es importante enfatizar que sólo lesiones que son identificadas microscópicamente en la mucosa intacta y que reúnen los criterios anteriores son consideradas FCA, ya que no se encuentran en el mismo plano focal que las criptas normales cuando se observan al microscopio (León y Sáenz, 2007) (Fig. 7).



**Fig. 7** Mecanismo de formación de focos de criptas aberrantes en colon  
(Zamorano-Ponce y col., 2008).

### **Características histológicas**

Los FCA son una lesión preneoplásica que puede representar la lesión morfológica visible inicial en el proceso de carcinogénesis colónica. Histológicamente, se describe como un foco de criptas ensanchadas y aumentadas de tamaño, con estratificación del epitelio que las reviste comparadas con las criptas normales. Dichos cambios histológicos deben presentarse en ausencia de inflamación y no deben estar relacionados con folículos linfoides. No existe un número específico de criptas afectadas por foco; sin embargo, en promedio son de 5 a 35 criptas (Roncucci y col., 1991).

En los casos de FCA constituidos por una sola cripta se sugiere utilizar el criterio aplicado por McLellan y col. (1991), quienes mencionan que el tamaño de la cripta debe ser por lo menos el doble de lo normal con un lumen elíptico y presencia de estratificación del epitelio que la reviste. La clasificación histológica más aceptada de FCA considera tres grupos: sin displasia, con displasia (microadenomas) y mixtos con hiperplasia y displasia (Cheng y Lei, 2003; Di Gregorio y col., 1997; McLellan y col., 1991).

### **FCA sin displasia**

Los FCA con mucosa normal no presentan alteraciones en el epitelio que reviste a las criptas; el único dato morfológico es el aumento de tamaño de las criptas (1.5 veces más grandes que lo normal) pero no existe aumento en el

---

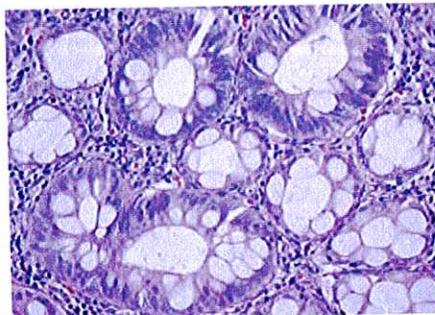
número. Los FCA hiperplásicos tienen un aspecto histológico similar a los pólipos hiperplásicos, con elongación de las criptas, bifurcaciones apicales, apertura luminal de aspecto aserrado y son discretamente más elevados que la mucosa adyacente (Cheng y Lei, 2003) (Fig. 8).



**Fig. 8** FCA de tipo hiperplásico: criptas con lúmenes alargados y tortuosos. La superficie es de aspecto aserrado y no se identifican atipias en el epitelio que las reviste (Barrón y Chanona, 2006)

#### **FCA con displasia (microadenoma)**

Tanto las criptas como las células que las constituyen muestran alteraciones; las criptas se observan alargadas y aumentadas en tamaño; el epitelio que las reviste presenta estratificación con pérdida de la polaridad, agrandamiento nuclear e hiper cromasia (Fig. 9), así como disminución en la mucoproducción (Cheng y Lei, 2003; Roncucci y col., 1991).

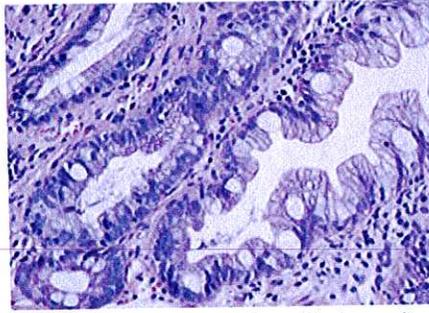


**Fig. 9** FCA con displasia (microadenoma): criptas aumentadas de tamaño con estratificación del epitelio que la reviste, pérdida de la mucoproducción y presencia de atipias nucleares (Barrón y Chanona, 2006)

#### **FCA de tipo mixto con hiperplasia y displasia**

Histológicamente, los FCA mixtos muestran la combinación en diferentes proporciones de un componente adenomatoso con displasia y otro de tipo hiperplásico sin displasia (Cheng y Lei, 2003) (Fig. 10).

---



**Fig. 10** FCA de tipo mixto, criptas con cambios hiperplásicos alternando con otras en las que existe disminución en la mucoproducción, estratificación del epitelio y atipias nucleares (Barrón y Chanona, 2006).

## **15. Carcinogénesis en modelos experimentales**

Los estudios experimentales con animales de laboratorio han permitido corroborar gran parte de los conocimientos obtenidos en las investigaciones para determinar el origen del cáncer de colon humano y los factores de riesgo. En este sentido existen varios modelos de cáncer de colon en animales de laboratorio; éstos utilizan ratas, ratones y hámster los cuales son sometidos a diferentes sustancias químicas carcinogénicas.

Los tumores inducidos químicamente (autóctonos) en los roedores son los modelos adecuados para obtener resultados transferibles a la situación clínica. Una de las razones para su utilización, es la gran dificultad de realizar estudios prospectivos de variaciones ambientales en humanos; la tasa de crecimiento de cáncer de colon es extremadamente lenta y la neoplasia se presenta a una edad avanzada. Por lo tanto se requiere de un periodo muy largo de seguimiento para establecer cualquier evidencia epidemiológica de causalidad (Wynder y Reddy, 1977).

Estos modelos reproducibles permiten estudiar la enfermedad y manipular ciertas variables tales como la dieta, factores microbiológicos y parámetros inmunológicos que pueden demostrarse como importantes en la etiología del cáncer de colon.

Los tumores en animales producidos por carcinógenos siguen diferentes criterios para su utilización en estudios epidemiológicos y quimioterapéuticos:

1. Periodo de incubación tumoral relativamente corto, bien definido y con pequeña desviación tumoral.

2. Tumor diagnosticable en tiempo.
3. Biología tumoral paralela a su equivalente humano.
4. Quimiosensibilidad paralela a su equivalente humano.

Por consiguiente, los modelos animales permiten estudiar las influencias que pueden modificar el inicio y desarrollo del cáncer de colon bajo condiciones estrictamente controladas y diseñar las analogías apropiadas para el entendimiento de la etiología y lograr fines de prevención, diagnóstico y mejor manejo del cáncer de colon en el hombre (Piñols, 2002).

## 16. Principales carcinógenos

Los tumores de intestino han sido inducidos por distintos carcinógenos desarrollados principalmente en los últimos 40 años (Piñols, 2002). El cuadro 2 muestra los principales carcinógenos químicos utilizados para la inducción de CCR en animales susceptibles, la vía de administración y la localización del tumor en el intestino.

**Cuadro 2.** Principales carcinógenos químicos.

Compuesto	Modelo	Vía	Localización
20-Metilcolantreno	Rata	sc	IG
3,2-Dimetil-4-aninodifenil	Rata	sc, or	ID e IG
Cicasina	Rata	or	IG
1,2-dimetilhidracina	Rata, ratón, Hamster	or, sc, ip, ir	ID e IG
Azoximetano	Rata, ratón	or, sc, ir	ID e IG
Metilazoximetano	Rata	or, sc, ip, ir	ID e IG
N-metil-N'-nitro-Nnitrosoguanidina	Rata, ratón, conejo de indias	ir	IG distal
3- Metil- N-nitrosourea	Rata, ratón, conejo de indias	ir	IG distal

or: oral, sc: subcutáneo, ip: intraperitoneal, ir: intrarrectal, ID: intestino delgado, IG: intestino grueso (Cuadro modificado de Piñols, 2002).



---

este agente es captado por el hígado aproximadamente 1 hora después de la inyección y en las células epiteliales del colon 3 horas después de la misma. La DMH es excretada primariamente por el pulmón y riñones que eliminan aproximadamente un 50% de la dosis inyectada. Los principales metabolitos en aire expirado son CO<sub>2</sub> y AM (Fiala y col., 1976); la orina contiene DMH inalterada, AOM, AM y MAM. Se presume que el hígado es el lugar primario de oxidación de DMH a MAM, el cual es transportado vía sangre y/o corriente fecal al colon y otros órganos, aunque otros estudios indican que el colon en sí mismo contiene tipos celulares epiteliales o enzimas capaces de convertir la DMH en productos mutagénicos sin implicar necesariamente metabolismo intermediario por hepatocitos (Chan y col., 1976; Oravec y col., 1986).

#### **Vías de administración y dosificación de la DMH**

La vía de administración afecta al organotropismo del carcinógeno, mostrando la importancia de los diferentes tejidos en la activación y detoxificación de la DMH. El órgano de manifestación y la distribución tumoral dependen de la dosis del carcinógeno, se considera que la dosificación óptima para la inducción selectiva de tumores de colon es de 10 mg/kg durante 25 semanas (dosis total de 250 mg). Este tiempo de inducción idóneo de 180-240 días proporciona una tasa tumoral del 90%.

La literatura relacionada con la inducción de tumores con DMH en modelos experimentales destaca una variedad de protocolos encaminados al desarrollo tumoral, las principales variantes que consideran son:

- Modelo: ratón, rata o hámster.
- Dosis: aguda o crónica.
- Vía de administración (subcutánea, intragástrica, intraperitoneal y oral).
- Periodo de inducción.
- Periodo de post-inducción.
- Tiempo de aparición tumoral.

Los cambios en cualquiera de estas variantes afectan significativamente el desarrollo de la neoplasia considerando el periodo de latencia, definido como el intervalo de tiempo entre la primera inyección del carcinógeno y la aparición de

---

---

tumores, con una dosificación alta de la DMH, la incidencia de tumores extracolónicos aumenta y al disminuir la dosis, aumenta el periodo de latencia y los animales desarrollan menos tumores colónicos y extracolónicos así como metástasis.

Por lo tanto es importante considerar estos aspectos para establecer un modelo experimental en el que se puedan aplicar y probar las condiciones para el desarrollo de las investigaciones. En el cuadro 3 se describen las principales referencias de protocolos donde utilizan a la 1,2-dimetilhidracina como carcinógeno en la inducción de tumores. La mayoría de los protocolos coinciden en que la administración de DMH causa cambios morfológicos del epitelio colónico normal a carcinoma. Trabajos experimentales con DMH demuestran que los adenocarcinomas se originan en la mucosa sobre acúmulos linfoides presentes a lo largo del intestino y del colon (Bland y Briton, 1981), mientras que solo rara vez causa tumores en el hígado o en el intestino delgado.

Es evidente, como en otros campos, que la única respuesta satisfactoria al problema de la neoplasia maligna es su prevención. Esto necesariamente implica y demanda un conocimiento de los aspectos básicos de la carcinogénesis.

En el presente trabajo se estudio un modelo experimental del cáncer de colon en ratones Balb/c inducido con la administración subcutánea semanal de 1,2-dimetilhidracina.

**Cuadro 3.** Inducción del cáncer de colon en modelos murino con 1,2-dimetilhidracina.

Animal	Vía	Dosis	Semanas inducción	Tumores		Referencia
				Incidencia (%)	Semana de aparición	
Rata Fischer 344 macho	sc	30	5	78	44	McConnell y col., 1980
		15	5	33	50	
		7.5	5	19	52	
		4	5	7	55	
Rata Fischer 344 hembra	sc	150	1	23	35	Reddy y col., 1977
		30	5	56	46	McConnell y col., 1980
		15	5	42	52	
		7.5	5	8	56	
Rata Sprague-Dawley macho	sc	150	1	26	50	Reddy y col., 1982
		30	10	86	40	Rogers y Newberne, 1973
		20	20	63	20	Jacobs y col., 1981
				91	30-40	
Ratón C3H, CBA hembra	ig	10	10	28	41	Jacobs, 1983
		65	5	78	20	LochniSkar y col., 1984
		8	25	70-75	50	Turusov y col., 1982
		9	3	19	25	Chang, 1978
Ratón C57B1/6J hembra	ip	9	12	100	25	
		20	36	100	32	Wargovich y col., 1983
Ratón Balb/c hembra	ig	30	24	10	30	Izumi y col., 1979
		sc	30	16-23	47	17-29
Ratón Balb/c hembra	sc	20	30	17.8	30	Gali-Muhtasib y col., 2008
Ratón Balb/c hembra	sc	8	25	93	50	Turusov y col., 1982
Ratón Balb/c hembra y macho	sc	20	24	ND	24	Gali-Muhtasib y col., 2001
Ratón Balb/c hembra y macho	sc	20	10	ND	24	Moreno y col., 2008
Ratón CF1 hembra	sc	20	24	ND	50	Thurnherr y col., 1973
Rata BD IX macho	sc	20	24	96	40	Maskens, 1976

Vía: vía de administración sc (subcutánea), ig (intragástrica), ip (intraperitoneal) Dosis: en mg/kg/semana; incidencia de tumores (%) y semana de aparición, ND (no determinado).

---

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer representa una serie de enfermedades multifactoriales que afectan a un amplio rango de células y tejidos con factores etiológicos complejos. Uno de los tipos más frecuentes del cáncer es el colorrectal (CCR), que es un tumor maligno del epitelio del colon. El CCR es un importante problema de salud pública ya que representa una mortalidad anual mundial de más de 500,000.

Para el tratamiento de los diferentes tipos de cáncer se utiliza la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, solas o en combinación. Sin embargo, estos tratamientos causan estragos en las células sanas y provocan una marcada disminución en la calidad de vida del paciente con resultados variables según el tipo de cáncer.

Es indispensable contar con modelos experimentales para conducir estudios en quimiopreención y anticarcinogénesis. Los modelos experimentales en el estudio del cáncer colorrectal utilizan líneas celulares y modelos murinos, incluyendo ratas, ratones y hámsters sometidos a diferentes sustancias químicas carcinogénicas, la más utilizada es la 1,2-dimetilhidracina (DMH).

Con base en lo anterior, el presente estudio pretende estandarizar un modelo experimental del cáncer de colon en ratones Balb/c con la administración subcutánea semanal de DMH; este modelo permitirá evaluar en proyectos posteriores el potencial terapéutico de nuevas moléculas y extractos de origen natural.

---

## HIPÓTESIS

La 1,2-dimetilhidracina a una dosis semanal subcutánea de 20 mg/kg de peso corporal en ratones Balb/c induce cáncer de colon.

---

## OBJETIVO GENERAL

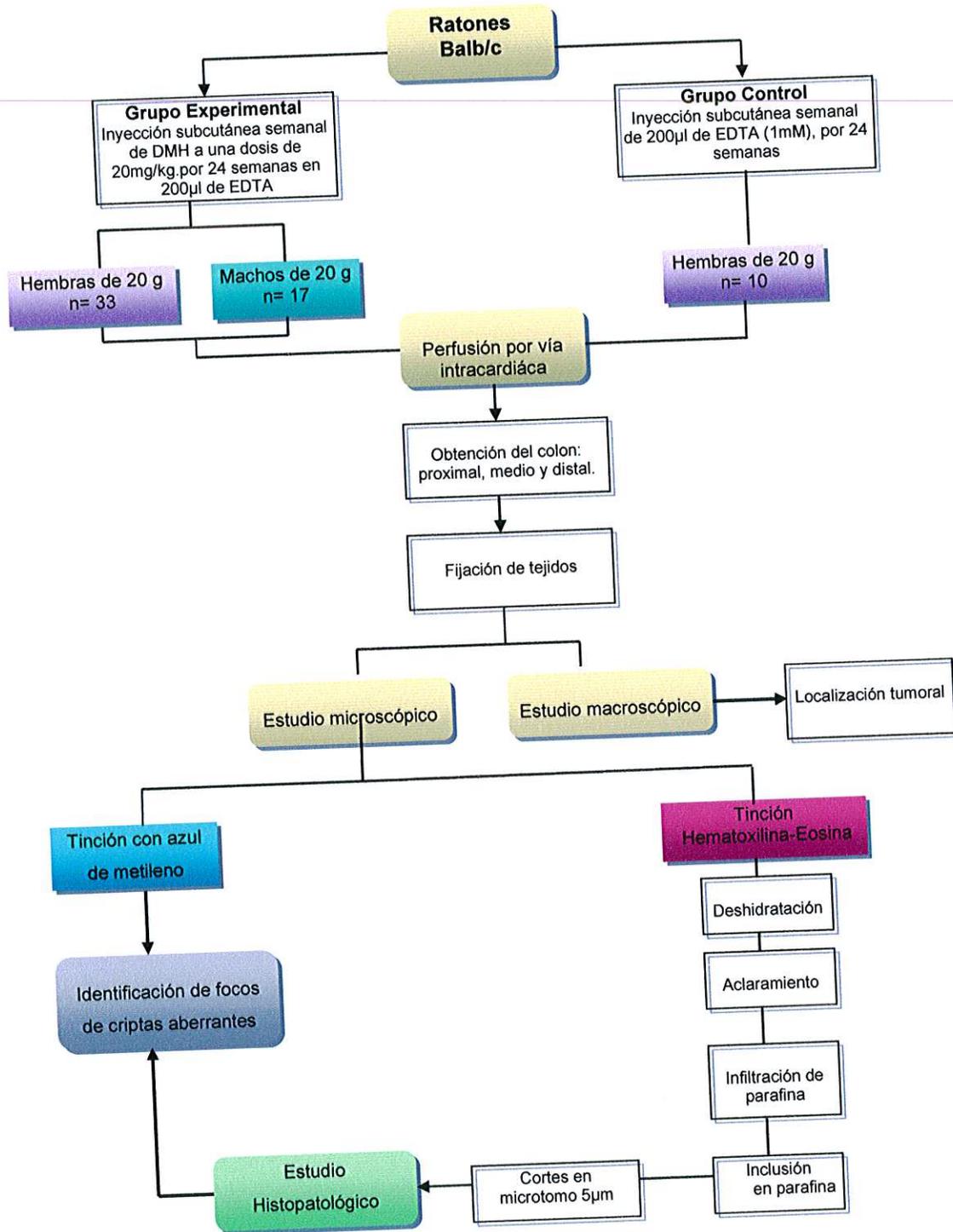
Estandarizar el modelo experimental del cáncer de colon en ratones Balb/c inducido con 1,2-dimetilhidracina (DMH).

---

## OBJETIVOS PARTICULARES

1. Establecer las condiciones óptimas de manejo de los ratones Balb/c en condiciones de bioterio para el desarrollo del modelo experimental.
2. Determinar la  $DL_{50}$  de la DMH en ratones Balb/c de 20 g de peso corporal.
3. Inducir cáncer de colon con una dosis subletal de la DMH en ratones Balb/c durante 24 semanas.
4. Determinar el aspecto macroscópico y localización de los tumores en los diferentes segmentos del colon (proximal, medio y distal) durante el desarrollo tumoral.
5. Realizar el estudio histológico de las partes proximal, media y distal del colon durante el desarrollo tumoral.
6. Identificar los focos de criptas aberrantes (FCA) durante el desarrollo tumoral.
7. Asociar los datos macroscópicos e histológicos para establecer la dinámica del desarrollo tumoral en este modelo experimental.

## DISEÑO EXPERIMENTAL



---

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales experimentales

Los ratones de la cepa Balb/c con un peso promedio de 20 g, fueron alojados en cajas de policarbonato en ambiente con temperatura controlada de 22 a 24°C y fotoperíodo de luz-oscuridad de 12 h, alimentados con una dieta especial para roedores (Purina-México) y agua a consumo voluntario (*ad libitum*) en condiciones de bioterio.

### Aspectos éticos

Los animales fueron manipulados de acuerdo a la guía y cuidado de los animales experimentales y a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 publicada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación en el diario oficial del gobierno Mexicano.

### Preparación y administración de la 1,2-dimetilhidracina (DMH)

La DMH (Sigma) se disolvió en solución estéril de EDTA (ácido etilendiaminotetracético) 1mM ajustada a un pH de 6.5 con hidróxido de sodio. La DMH se preparó inmediatamente antes de ser administrada y se ajustó a la concentración deseada. La inyección subcutánea se realizó en la parte ventral del animal utilizando una jeringa de insulina con un volumen constante de 200 µl. El grupo control recibió inyecciones semanales (200 µl) de la misma solución de EDTA 1mM ajustada a un pH de 6.5.

Para el manejo de la DMH, se revisó la hoja de seguridad, se utilizó un traje de precaución (guantes, cubre bocas y bata) y se realizó en campana de extracción.

### Determinación de dosis letal cincuenta (DL<sub>50</sub>) de la DMH

En una primera fase se determinó la DL<sub>50</sub> de la DMH en los ratones Balb/c, se formaron 3 grupos de 4 machos con pesos homogéneos (20 g) y se les administró una dosis única de la DMH:

---

---

Grupo 1: 40 mg/kg

Grupo 2: 60 mg/kg

Grupo 3: 80 mg/kg

En una segunda fase se formaron 5 grupos, de 5 animales con pesos homogéneos, y se les administró una dosis única de la DMH:

Grupo 1: machos: 50 mg/kg

Grupo 2: hembras: 55 mg/kg

Grupo 3: hembras: 60 mg/kg

Grupo 4: hembras: 65 mg/kg

Grupo 5: machos: 70 mg/kg

Los grupos se observaron durante 96 horas para identificar cambios en su comportamiento, aspecto físico y mortalidad. La DL<sub>50</sub> se determinó de acuerdo al Programa de Análisis EPA Probit Versión 1.5 (Chi<sup>2</sup> calculada de 3.101 y Chi<sup>2</sup> de tablas de 7.815 a un nivel de confianza del 95%).

#### **Inducción de CCR con 1,2-dimetilhidracina**

Se formaron dos grupos experimentales de 33 hembras y 17 machos, homogéneos en talla y peso (5 ratones por jaula), los cuales recibieron una inyección subcutánea semanal de DMH, durante 24 semanas a la dosis subletal de 20 mg/kg de peso corporal (Fig. 12). Los grupos experimentales y control (n=10) estuvieron en observación hasta la semana 40 para la identificación de cambios en el aspecto físico y manifestaciones clínicas.



**Fig. 12** Fotografía de la administración de DMH en ratón experimental.

---

## Estudio Histológico

Los ratones del grupo experimental y control se sacrificaron en diferentes periodos de tiempo a partir de la semana 3 de administración de DMH (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Periodos de sacrificio de los ratones

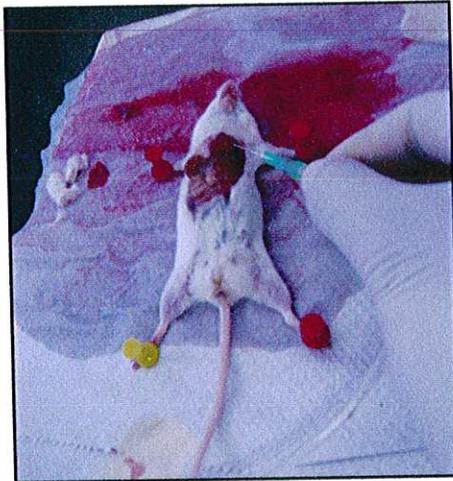
Periodos	Experimentales		Control	Total
	hembras	machos	hembras	
Semana 3	3	2	1	6
Semana 7	3	1	1	5
Semana 16	6	4	1	11
Semana 20	2	2	1	5
Semana 24	3	1	1	5
Semana 31	3	1	1	5
Semana 37	1	1	1	3
Semana 40	2	0	1	3
				43

### Perfusión de los animales y obtención de las muestras.

Los ratones fueron sacrificados mediante anestesia profunda con pentobarbital (Arandalab; ip 50 mg/kg de peso corporal), se realizó una toracotomía amplia para exponer el corazón. Posteriormente se pinzó la arteria aorta torácica descendente y se realizó una incisión en el vértice del ventrículo izquierdo para introducir una cánula roma del número 18, se seccionó la aurícula derecha y se hizo pasar a través de la cánula 50 ml de solución salina isotónica (500 ml) con heparina (3 mg) y procaína (0.5 g) para drenar la sangre del animal, enseguida se perfundió con 50 ml de solución fijadora a base de formaldehído al 10% a temperatura corporal, con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de sangre y fijar el intestino (Fig. 13).

---

Al término de la perfusión se realizó una disección del abdomen y se retiró el colon completo para seleccionar 3 cortes de aproximadamente 1 cm cada uno de la parte proximal, media y distal del mismo.



**Fig. 13** Fotografía de la perfusión vía intracardiaca realizada a un ratón del grupo experimental.

### **Preparación de la Hematoxilina-Eosina y azul de metileno**

Se preparó un stock de eosina alcohólica (Hycel) al 1% en agua destilada y floxina (Hycel) al 1% en agua destilada. De estas soluciones se tomaron 100 ml de eosina y 10 ml de floxina las cuales se disolvieron con 780 ml de etanol al 95%. Antes de ser utilizada se añadió 0.5 ml de ácido acético glacial (Merck) por cada 100 ml. La solución fue almacenada en oscuridad (Prophet y col., 1995).

El colorante de Hematoxilina de Harris se adquirió de (Hycel).

El colorante de azul de metileno (Sigma) se preparó al 0.2% en agua destilada.

### **Procesamiento de las muestras**

#### **Fijación**

La fijación de los tejidos se realizó con base en la técnica de Prophet y col., 1995. Los fragmentos del colon se fijaron en una solución de formaldehído al 10%, que contenía: 900 ml de agua destilada, 100 ml de formaldehído (Caledon), 6.5 g de fosfato dibásico de sodio (Sigma), 4 g de fosfato

---

---

monobásico de sodio (Baker). El tiempo de fijación fue de 24 horas a temperatura ambiente en frascos de vidrio.

### **Inclusión**

La inclusión en parafina se inició con la deshidratación de las piezas de tejidos en etanol de gradación creciente (70, 80, 90, 95%) y posteriormente 2 cambios de etanol absoluto. Una vez deshidratadas las muestras, se aclararon mediante pasos sucesivos en xilol (Baker) para extraer el agente deshidratante. Las muestras fueron sumergidas en frascos con parafina en una estufa a temperatura de 45°, enseguida los tejidos se colocaron en bloques de parafina. Finalmente se realizaron secciones en un microtomo (MICROM, HM315) de 5 µm de espesor (Prophet y col., 1995).

### **Tinción de los tejidos con Hematoxilina-Eosina**

Los portaobjetos se colocaron en cestillas de tinción, se desparafinaron en una estufa a 55°C durante 20 min y se sumergieron en xilol durante 1 min. Posteriormente las muestras se rehidrataron con concentraciones decrecientes de etanol hasta su tinción con los colorantes de hematoxilina y eosina sucesivamente, y enseguida se trataron con concentraciones crecientes de etanol hasta el montaje como se muestra en la Figura 14.

### **Tinción de los tejidos con azul de metileno**

Con la finalidad de corroborar la presencia de FCA en los tejidos del colon fijados de las semanas 31 y 37 se hicieron 3 secciones de aproximadamente 1 cm cada una de la parte proximal, media y distal del colon. Con el objetivo de exponer la mucosa colónica se realizó un corte longitudinal de cada fragmento y se les agregó una gota del azul de metileno (0.2%) durante 2 min; posteriormente se eliminó el exceso de colorante con agua destilada y se colocó el tejido sobre un portaobjetos y se cubrió con otro para la observación al microscopio.

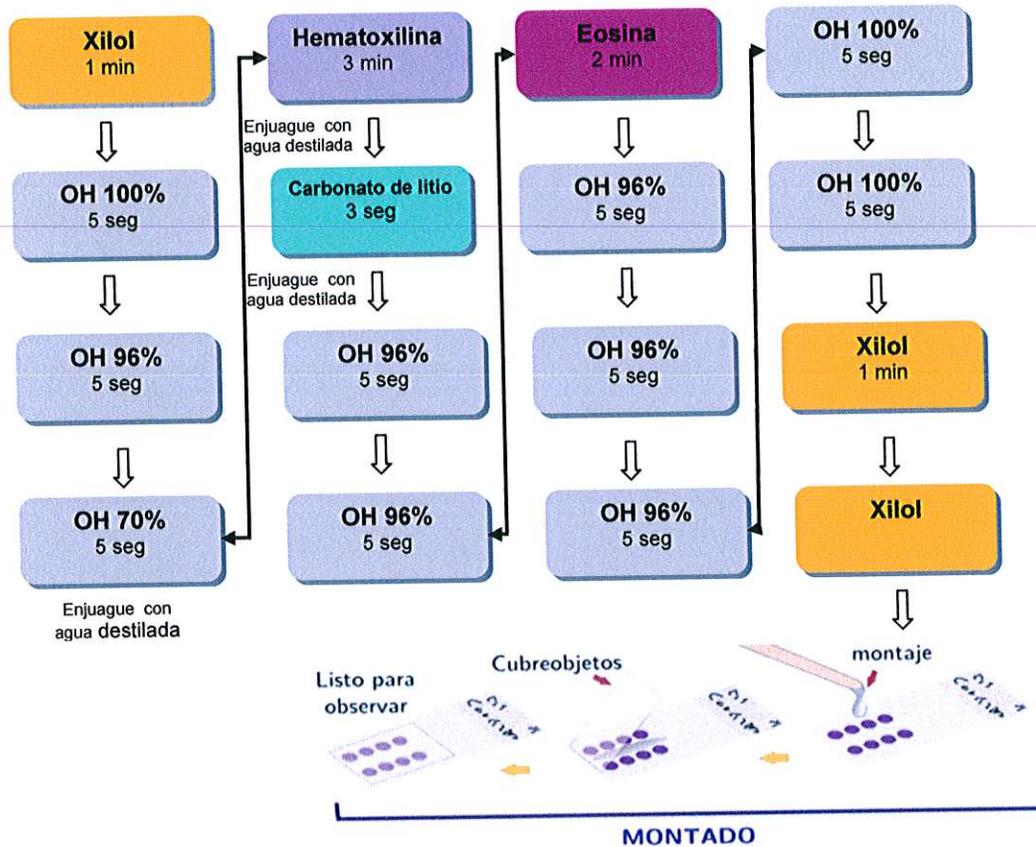


Fig. 14 Tinción con hematoxilina y eosina.

### Observación microscópica

Para la observación y análisis de las laminillas teñidas con hematoxilina-eosina, se utilizó un microscopio (Leica) a 4x, 10x y 40x. Para el análisis fotográfico de los tejidos se utilizó un microscopio con software Leica Qwin 500 IW.

Para la observación de los tejidos teñidos con azul de metileno, las muestras fueron analizadas por medio de un microscopio (Leica) a 5x y 10x. Para el análisis fotográfico de los tejidos se utilizó un microscopio con software Leica Qwin 500 IW.

### Observación macroscópica

Durante el desarrollo tumoral se le dio seguimiento a la aparición y localización de los tumores en las diferentes partes del colon; a través de un estereoscopio (UNICO 910273).

---

## RESULTADOS

### Establecimiento de las condiciones óptimas de mantenimiento de los ratones Balb/c

La aclimatación, visitas de rutina y cuidados fueron aspectos importantes para lograr establecer las condiciones óptimas para el desarrollo de los animales en bioterio. Los ratones fueron separados por sexo, las hembras fueron alojadas a razón de 5 a 10 por jaula, en cambio los machos se distribuyeron en menor cantidad a razón de 5 por jaula máximo para evitar autofagia y agresiones.

### Determinación de la DL<sub>50</sub>

Para la determinación de la DL<sub>50</sub> de DMH en una primera fase se utilizaron dosis de 40, 60 y 80 mg/kg de peso corporal. El 50% y el 75% de los ratones murieron después de las 72 h con las dosis de 60 y 80 mg/kg (Cuadro 5). Por lo que se estableció que la DL<sub>50</sub> es entre 60 y 80 mg/kg.

Cuadro 5. Determinación de DL<sub>50</sub> de la DMH (primera fase).

DOSIS \ TIEMPO	40MG/KG N=4	60MG/KG N=4	80MG/KG N=4
24 h	0	0	0
48 h	0	1	0
72 h	0	1	3
Total de fallecimientos	0	2	3

En la segunda fase de la determinación de la DL<sub>50</sub>, se encontró que a las 24 h todos los ratones sobrevivieron, pero 4 fallecieron a las 48 h, 10 fallecieron a las 72 h y 3 fallecieron a las 96 h (Cuadro 6). Por lo tanto, el valor estimado de la DL<sub>50</sub> fue de 55 mg/kg.

Cuadro 6. Determinación de DL<sub>50</sub> de la DMH (segunda fase).

Dosis \ Tiempo	50 mg/kg n=5	55 mg/kg n=5	60 mg/kg n=5	65 mg/kg n=5	70 mg/kg n=5
24 hrs	0	0	0	0	0
48 hrs	0	0	1	1	2
72 hrs	2	1	3	2	2
96 hrs	0	0	1	1	1
Total de fallecimientos	2	4	5	4	5

### Inducción del cáncer de colon

#### Mortalidad

Durante el estudio se registraron datos semanales en cuanto a supervivencia, sacrificio y muertes. En el grupo control se sacrificaron 8 ratones; en el grupo experimental de 33 hembras, 23 sobrevivieron y fueron sacrificadas y 10 fallecieron. Respecto a los machos se inició con un total de 17, de los cuales 12 fueron sacrificados y 5 no sobrevivieron, por lo tanto el total de mortalidad fue de 15 animales (30%).

#### Aspectos clínicos

Durante el avance del estudio se observaron las características clínicas que presentaron los ratones; el grupo control no presentó ninguna alteración clínica. Respecto al grupo experimental a continuación se describen las principales manifestaciones clínicas observadas a lo largo del estudio.

**Semana 3.** Algunas hembras tuvieron evacuaciones diarreicas.

**Semana 5.** Las hembras presentaron diarrea con mucosidad y los machos diarrea y piloerección.

**Semana 10.** Se observó una hembra con sangrado en heces y un macho con diarrea.

---

**Semana 11.** Se identificó una hembra con diarrea y mucosidad, otra hembra con sangrado en heces.

**Semana 26.** Presentaron algunas hembras ano irritado.

**Semana 29.** Se observó una hembra con movimiento lento (débil) en posición encorvada y algunos animales adoptaron poco a poco una postura de sueño. Para este periodo 3 hembras con ano irritado evidente.

**Semana 30.** Se observó a una hembra con sangrado anal.

**Semana 36.** Los ratones presentaron ano irritado, defecación de material mucoso color trasparente con sangrado, se identificó una hembra con movimiento lento e inestable, en ocasiones temblorosa. Un macho con oclusión del ano desfuncionalizado e inflamación, con anomalía lo que aparenta ser un tumor maligno epidermoide.

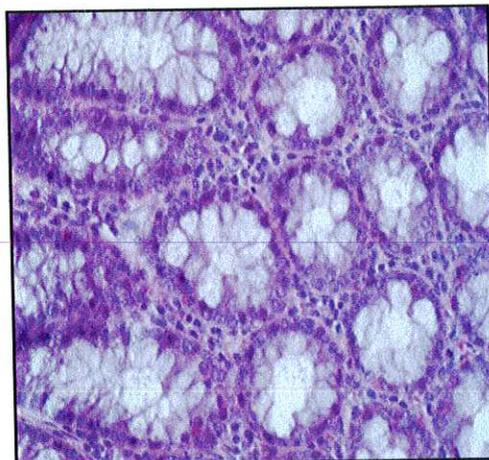
**Semana 37.** En esta semana se identificó a una hembra con abultamiento en la parte superior del ano, así como diarrea con mucosidad; otra hembra con ano irritado, sangrado y mucosidad, heces de color claro y piloerección.

**Semana 40.** Finalmente los ratones siguieron con ano irritado y sangrado declarado, prolapso rectal, piloerección y la hembra sobrevivió con oclusión en el ano (aparentó un tumor maligno epidermoide).

#### **Desarrollo tumoral microscópico**

El estudio Histopatológico fue avalado por el Histopatólogo del Hospital Civil de Guadalajara Dr. Ramón Antonio Franco Topete.

Los tejidos de colon de ratones control presentaron una mucosa con arquitectura típica, presencia de criptas y tejido conectivo normal (Fig. 15).

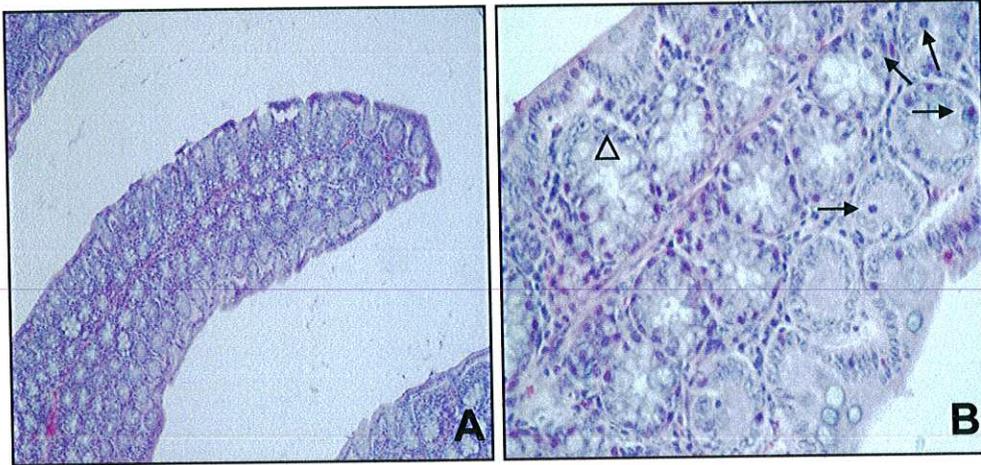


**Fig. 15** A) Microfotografía de colon del grupo control, observar mucosa normal, con criptas uniformes y de aspecto característico. H y E, 40x.

En el estudio histopatológico de las diferentes regiones del colon de ratones que recibieron DMH, se encontraron alteraciones iniciales que se caracterizan por cambios leves como inflamación y regeneración atípica. Estos daños se presentaron de manera progresiva y directa en relación a la dosis y semanas de desarrollo tumoral como se describe en las siguientes figuras (16-23).

### **Semana 3**

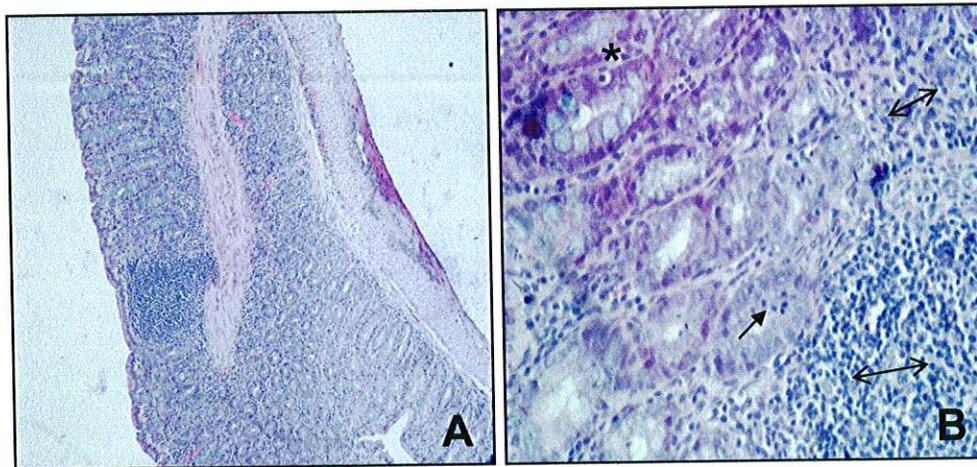
Los hallazgos histopatológicos indican que a partir de esta semana de inducción se presentan cambios nucleares y actividad mitótica y criptas con discreta depleción mucosecretora, la presencia de atipias regenerativas leves así como el desarrollo de una inflamación leve (Fig. 16).



**Fig. 16** Microfotografía de colon distal de ratón macho, semana 3 de inducción, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica. Tinción H y E, 10x. B) Se observa inflamación leve, discreta depleción mucosecretora ( $\Delta$ ), cambios nucleares y actividad mitótica ( $\uparrow$ ), Tinción H y E, 40x.

### Semana 7

A partir de esta semana el grupo experimental presentó atípías regenerativas del epitelio de leve intensidad con inflamación crónica, agregados linfoides, así como leve actividad mitótica y aparente apoptosis de intensidad moderada (Fig. 17).

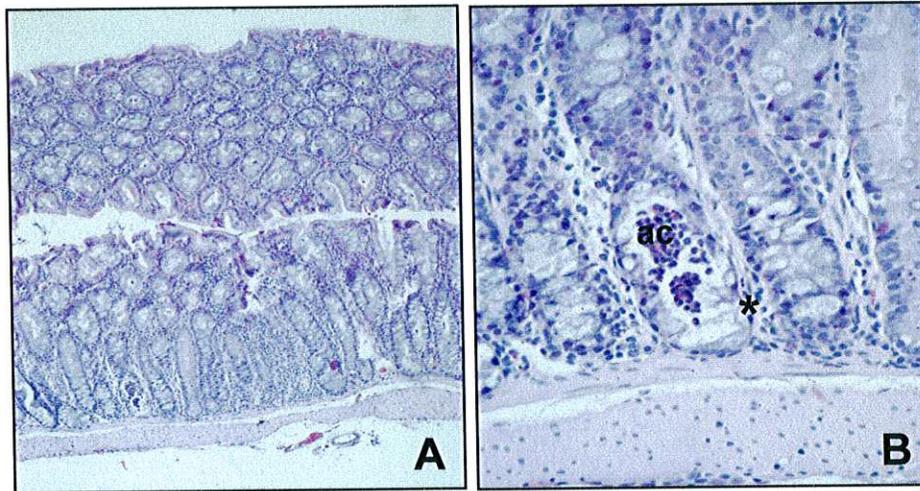


**Fig. 17** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 7, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica. H y E, 4x, B) Se observan agregados linfoides ( $\nabla$ ), actividad mitótica leve ( $\uparrow$ ) y aparente apoptosis de intensidad moderada (\*).H y E 40x.

---

## Semana 16

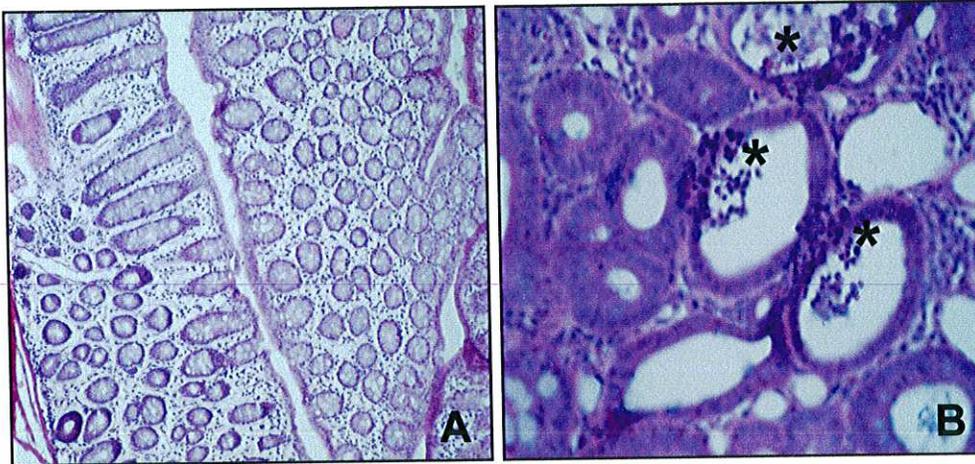
En esta semana las muestras de tejidos muestran atípicas regenerativas del epitelio de leve a moderada intensidad, leve inflamación crónica agudizada con un absceso críptico y leve depleción mucosecretora, frecuente contracción núcleo-citoplasma compatible con apoptosis (Fig. 18).



**Fig. 18** Microfotografía de colon medio de hembra, semana 16, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica. H y E, 10x. B) Se observa inflamación crónica agudizada con un absceso críptico (ac), frecuente contracción núcleo-citoplasma compatible con apoptosis (\*), H y E, 40x.

## Semana 20

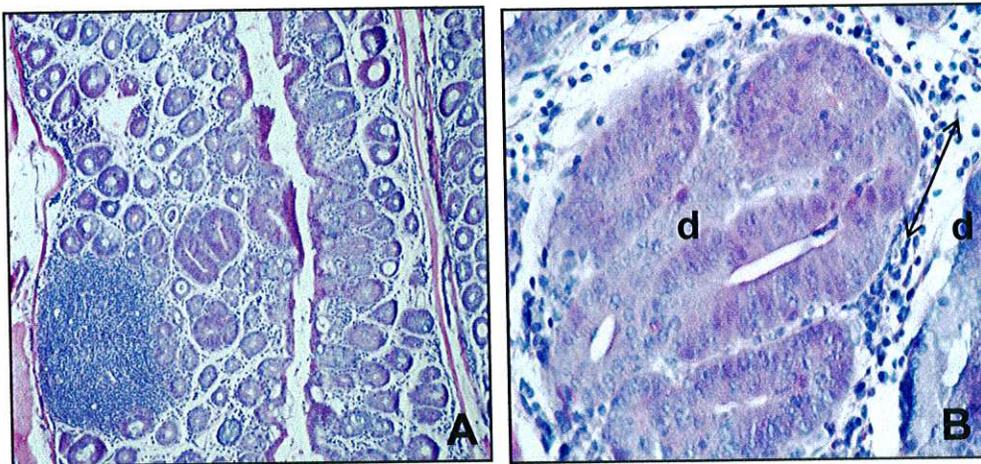
En la semana 20 se desarrolla colitis crónica con atípicas regenerativas, tenue depleción mucosecretora y franca apoptosis con detritus intraluminales (Fig. 19).



**Fig. 19** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 20, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica, H y E, 10x. B) Observar tenue depleción mucosecretora y franca apoptosis (\*) con detritus intraluminales, H y E 40x.

#### Semana 24

Los tejidos presentan una displasia leve y moderada multifocal en la mucosa del colon, inflamación crónica con agregados linfoides, tenue depleción mucosecretora y erosión superficial focal del epitelio (Fig. 20).

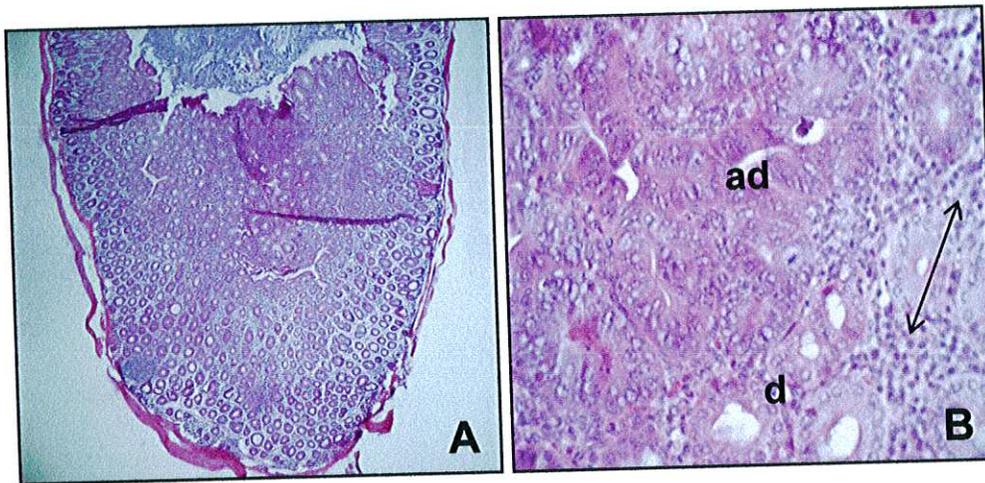


**Fig. 20** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 24, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica, H y E, 10x. B) Se observa displasia leve y moderada multifocal (d), inflamación crónica con agregados linfoides (↓), H y E, 40x.

---

### Semana 31

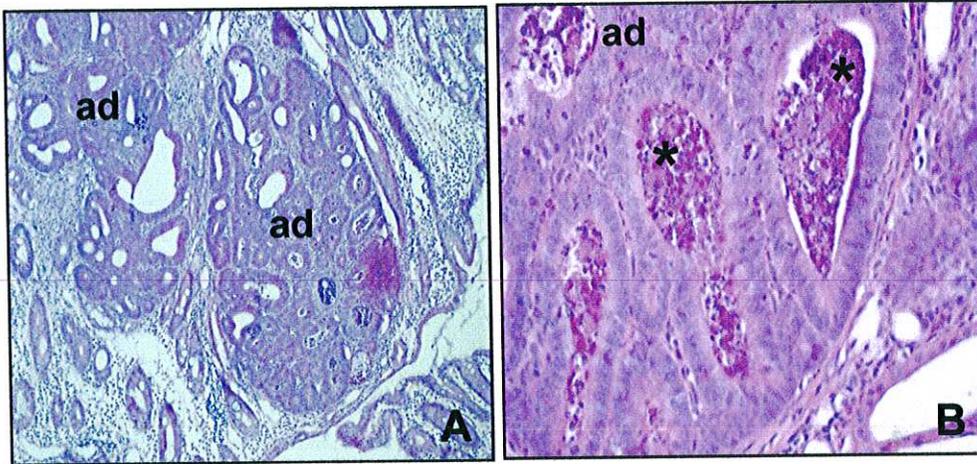
A esta semana del desarrollo tumoral el tejido presenta adenocarcinoma intramucoso y focal con datos de displasia en glándulas y criptas adyacentes, inflamación crónica y agregados linfoides, así como depleción mucosecretora (Fig. 21).



**Fig. 21** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 31. A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica, observar el incremento de zonas con focos de criptas, H y E, 4x. B) Observar adenocarcinoma intramucoso y focal (ad) con datos de displasia en glándulas (d), criptas adyacentes y agregados linfoides (†). H y E 40x.

### Semana 37

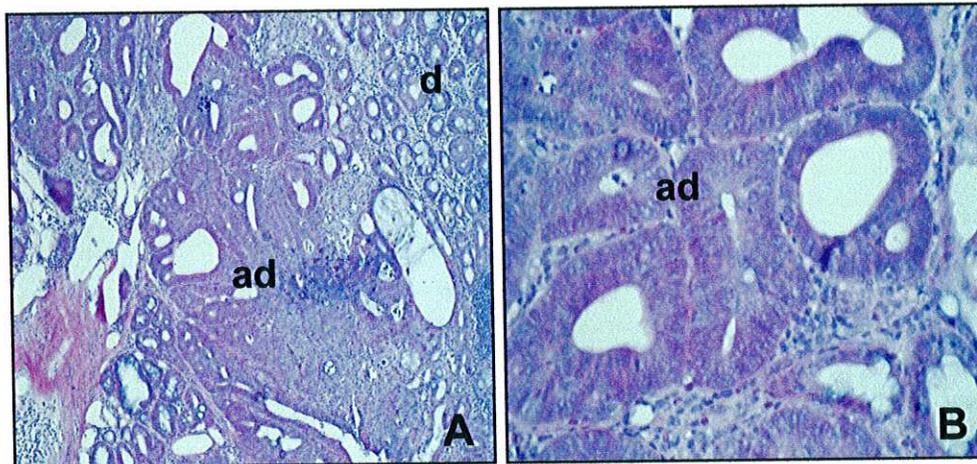
En cortes de este período se observa adenocarcinoma intramucoso con patrón polipoide y proliferación de glándulas espalda con espalda con apariencia cribiforme y pérdida de la polaridad. También se presenta agrandamiento nuclear que llega a la discariosis, hiper cromasia, poco pleomorfismo, detritus celulares intraluminales (apoptosis) y ausencia de invasión (Fig. 22).



**Fig. 22** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 37. A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica. H y E, 10x. B) Se observa adenocarcinoma intramucoso con patrón polipoide (ad). Proliferación de glándulas espalda con espalda, detritus celulares intraluminales (apoptosis) y ausencia de invasión (\*). H y E, 40x.

#### Semana 40

En esta etapa se observa un adenocarcinoma bien diferenciado de la mucosa del colon que corresponde a una lesión típica de cáncer de colon (Fig. 23).



**Fig. 23** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 40, A) Imagen panorámica de un pliegue de mucosa colónica. H y E, 10x. B) Se observa displasia (d) en criptas adyacentes y adenocarcinoma bien diferenciado (ad) que corresponde a una lesión típica del cáncer de colon. H y E 40x.

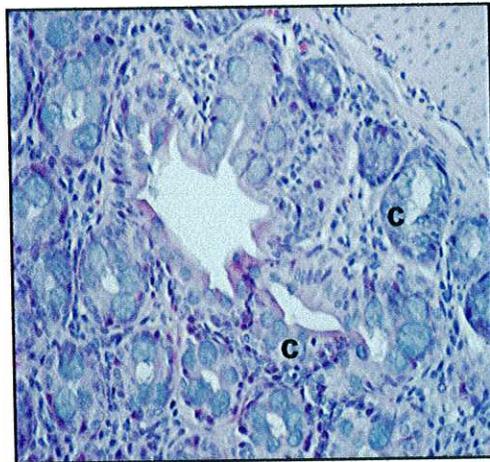
---

### Identificación de Focos de Criptas Aberrantes (FCA)

Al realizar la observación de las diferentes regiones del colon de ratones que recibieron DMH, se encontraron alteraciones en las criptas que se caracterizaron por cambios nucleares, actividad mitótica, depleción mucosecretora y cambios en el epitelio que las reviste. Por otro lado se identificaron los FCA a partir de la semana 7, que representaron una lesión morfológica visible inicial en el proceso de carcinogénesis colónica. Estos daños se presentaron de manera progresiva y directa en relación a la dosis y semanas de desarrollo tumoral como se describe en las siguientes figuras.

#### Semana 3

A partir de esta semana se observaron zonas de atípias, criptas aberrantes aumentadas de tamaño, con lúmenes ovales y de aspecto aserrado (Fig. 24).

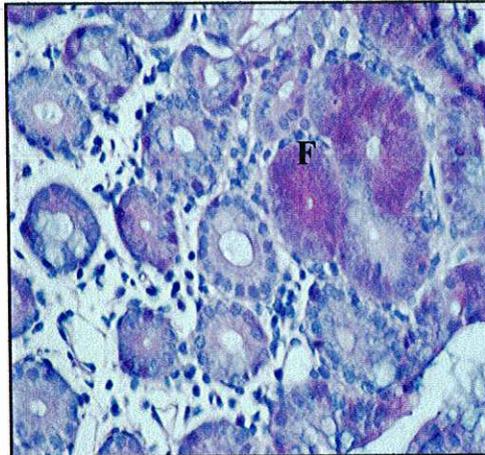


**Fig. 24** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 3. Se observan criptas aberrantes características que varían de forma y tamaño (c). H y E, 40x.

---

### **Semana 7**

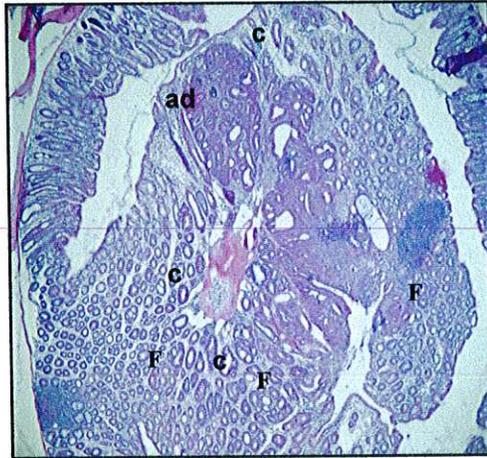
En este periodo se identificó un FCA de 3 criptas ensanchadas y aumentadas de tamaño con apertura luminal de aspecto aserrado, pérdida de la mucoproducción y presencia de atípicas nucleares (Fig.25).



**Fig. 25** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 7. Se observa un foco de 3 criptas aberrantes (F). H y E, 40x.

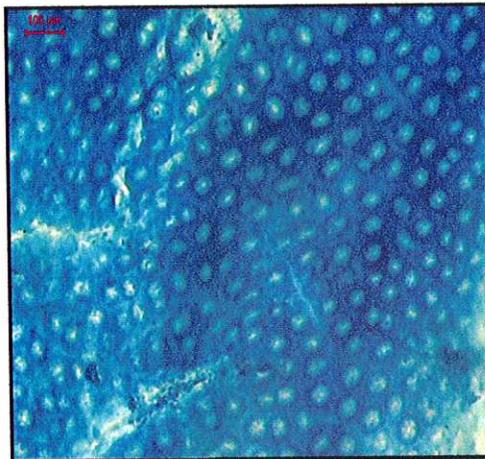
### **Semana 37**

A esta semana del desarrollo tumoral el tejido presenta adenocarcinoma intramucoso con patrón polipoide; criptas espalda con espalda con apariencia cribiforme, pérdida de la polaridad, agrandamiento nuclear e hiperchromasia. También se observa el incremento en el número de focos que varían en grupos de criptas aberrantes con displasia (Fig. 26).



**Fig. 26** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 37. Observar el incremento de criptas aberrantes (c) y de zonas de focos de criptas (F), además la aparición de un adenocarcinoma intramucoso (ad). H y E, 4x.

Para corroborar la presencia de FCA en muestras experimentales de las semanas 31, 37 y en ratón sano se realizaron tinciones con azul de metileno, las observaciones se realizaron con objetivo de 5x y 10x. En el grupo control no se identificaron criptas aberrantes. Las criptas presentaron un tamaño homogéneo en las tres regiones analizadas con estructura normal uniforme (Fig. 27).

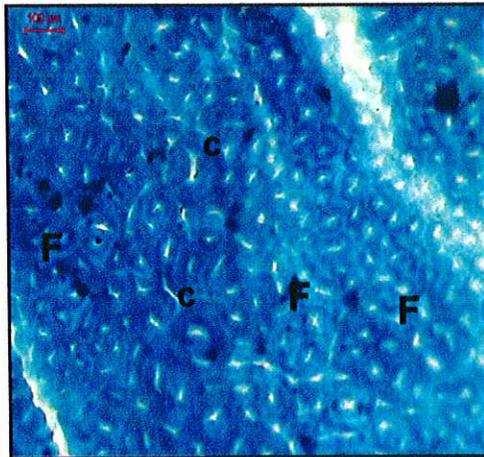


**Fig. 27** Microfotografía panorámica de colon de ratón del grupo control, se observa mucosa normal, con criptas uniformes y de aspecto característico. Azul de metileno, 5x.

---

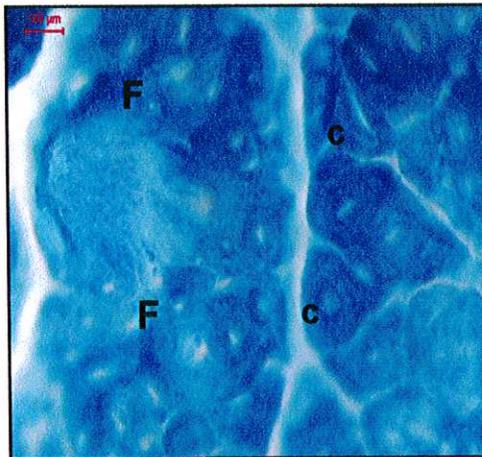
En los ratones experimentales de 31 y 37 semanas se presentaron estructuras aberrantes. En particular a la semana 37 se observan criptas aberrantes de forma ovalada o alargada, principalmente en la parte distal del colon, que se caracterizaron por aumento de tamaño. Se apreciaron grupos de dos a ocho criptas, los cuales corresponden a focos de criptas aberrantes (Fig. 28 y 29),

### Semana 31



**Fig. 28** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 31. Se observa el incremento del número de focos de criptas aberrantes (F) que varían en tamaño y forma, zonas de criptas ensanchadas (c) de forma alargada con mayor aumento. Azul de metileno, 5x.

### Semana 37

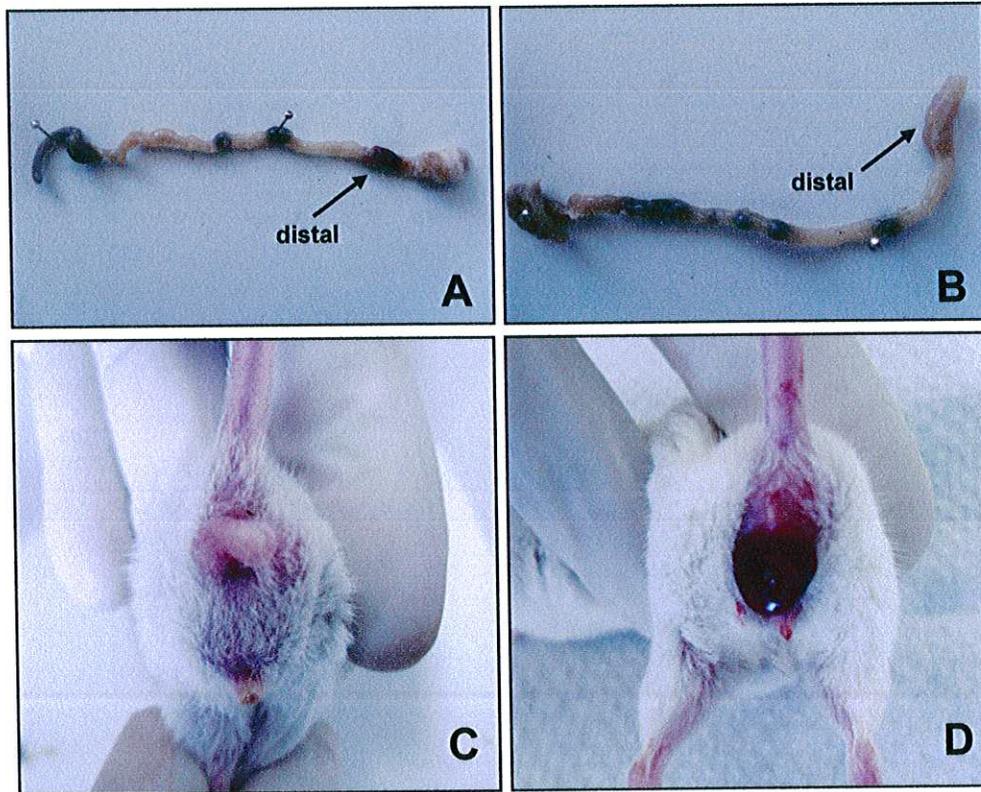


**Fig. 29** Microfotografía de colon distal de hembra, semana 37. Se observa un foco de 6 criptas (F) que varían en tamaño y forma, hiperplasia focal, criptas ensanchadas (c) de forma alargada con aumento de tamaño, además de un espacio pericriptal mas grande. Azul de metileno, 10x.

---

### Desarrollo tumoral macroscópico

En el grupo control no se encontró ningún tipo de lesión tumoral en las regiones del colon proximal, medio y distal. A diferencia del grupo experimental donde se observaron lesiones evidentes a la semana 36 y 40, caracterizadas por un crecimiento tumoral en el colon distal y recto (Fig. 24).



**Fig. 30** Aspecto macroscópico de tumores en colon y recto. A) Hembra, semana 40, colon distal con tumor. B) Hembra, semana 40, colon distal inflamado. C) Macho, semana 36, se observa ano inflamado, tumor sólido epidermoide. D) Hembra, semana 40, ano irritado con sangrado, malformación en la parte superior del ano.

### Tumor anal

En la semana 40, además de las alteraciones anteriormente descritas, se localizó en la parte anal de una hembra, un carcinoma epidermoide infiltrante bien diferenciado del colon con formación de perlas corneas.

---

---

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estableció un modelo experimental del cáncer de colon en ratones Balb/c en las condiciones establecidas de bioterio del Departamento de Biología Celular y Molecular.

En una primera etapa se determinó una  $DL_{50}$  de la DMH de 55mg/kg en ratones Balb/c. Pietro y Caderni (2008) reportan una  $DL_{50}$  de la DMH de 35mg/kg en ratones de la cepa CF-1. Estos reportes y otros confirman que la toxicidad de la DMH depende de la cepa murina.

La inducción tumoral en modelos experimentales varía con base en los parámetros que los autores requieran evaluar; la literatura reporta que las principales variantes que intervienen en la inducción son: modelo animal, carcinógeno, dosis, vía de administración, tiempo de inducción y aparición tumoral. Sin embargo, otro aspecto a considerar en el periodo de inducción es la mortalidad, la cual nos indica que se administró una dosis adecuada del carcinógeno (no tóxica). En el presente estudio se inició con un total de 50 ratones distribuidos por sexo, de los cuales 15 fallecieron antes del periodo establecido, la mortalidad total representó un 30%. En relación con este hallazgo, Toth (1984) en su estudio realizado con ratones hembras y machos de la cepa Swiss inyectados con DMH de manera subcutánea a dosis de 20 mg/kg de peso corporal durante 10 semanas, obtuvo una mortalidad total de 36%; por lo tanto, en nuestras condiciones experimentales con dosis semanal subcutánea de 20 mg/kg con DMH en ratones Balb/c se logró inducir cáncer de colon sin afectación excedida de la mortalidad de los ratones.

El estudio histopatológico del colon, confirma que la administración de la DMH induce proliferación celular en la cripta colónica, que se caracteriza por acumulación de lesiones cada vez más graves a medida que aumenta la exposición al carcinógeno, antes del desarrollo de tumores invasivos.

---

---

---

A la semana 3 de exposición a la DMH se observó una inflamación leve, criptas con discreta depleción mucosecretora y actividad mitótica; a partir de la semana 7 se presentaron atípicas regenerativas del epitelio de leve intensidad y apoptosis. De forma concomitante lesiones más difusas y de iguales características aparecieron en la semana 16 y en la semana 24 se presentaron displasias multifocales, inflamación crónica y erosión superficial focal del epitelio. En el periodo que corresponde a las semanas 31 y 37 se desarrollaron estructuras características del CCR como fueron la presencia de un adenocarcinoma intramucoso en la parte distal del colon con datos de displasia y numerosos focos de criptas atróficas. Finalmente para la semana 40 se presenta un carcinoma infiltrante bien diferenciado en la parte distal.

Los hallazgos de otros autores coinciden con nuestras observaciones, Thurnherr y col. (1973), reportan que después de la semana 6 de administración de la DMH semanalmente a dosis de 20 mg/kg durante 26 semanas en ratones hembras CF1, estos muestran hiperplasia y atipia focal en criptas sobre los pliegues de la mucosa colónica de la parte distal. Después de la semana 26 todos los ratones presentaron degeneración de la mucosa del colon distal con 1 o más adenocarcinomas. En otro estudio, Richards (1977) reporta en ratones Swiss-Webster de 20 g de peso corporal inyectados con DMH a dosis de 20 mg/kg por 26 semanas, que a partir de la semana 2 se incrementan cambios en la actividad mitótica, cantidad y número de criptas aberrantes; después de la semana 16 observó atípicas focales en criptas esparcidas y en la semana 26 la presencia de adenocarcinomas en la parte distal.

El estudio histopatológico permitió identificar criptas aberrantes a partir de la semana 3 de inducción y en la semana 7 aparecieron focos de criptas aberrantes evidentes, su número aumento en función del tiempo de inducción. Su localización fue principalmente en la parte distal del colon, se caracterizaron por aumento de tamaño y de forma, presentando grupos de criptas que variaron de dos a ocho. Tudek y col. (1989) en ratones hembras CF1 inyectadas con DMH a dosis de 20 mg/kg durante 26 semanas, determinaron la presencia de criptas displásicas en la

---

---

parte distal a partir de la semana 7 y 9. En contraste, McLellan y Bird (1988) reportan en ratones de las cepas C57 y CF1 inyectados con única administración de la DMH a dosis de 20 mg/kg, que la aparición de criptas aberrantes es a partir de la semana 2 de inducción. Sin embargo, Rosenberg y Liu (1995) en su estudio con ratones de las cepas SWR/J y AKR/J inyectados con DMH a dosis de 20 mg/kg por 2 semanas, obtuvieron focos de criptas aberrantes después de la semana 5, principalmente en la parte distal del colon. Por otro lado, Deschner (1974) analizó en ratones hembras CF1 inyectadas con DMH a dosis de 20 mg/kg, la aparición de focos de criptas aberrantes después de la semana 6 y para la semana 12 observó un dramático incremento en la incidencia de atípias focales en la parte distal del colon.

El estudio macroscópico permitió confirmar la aparición de tumores a la semana 40, se observó un carcinoma infiltrante bien diferenciado en la parte distal del colon. Estos datos corresponden con los de Peta y col. (1999) en ratones hembras SWR inyectadas con diferentes dosis de DMH, quienes observaron que el 79% del total de tumores de colon se localizaron en el colon distal. De la misma manera, Turusov y col. (1982) en el estudio realizado con diferentes cepas de ratones hembras (C3H, CBA, C57B1/6J, C3HA, AKR y Balb/c) inyectadas subcutáneamente con DMH a dosis de 8 mg/kg durante 25 semanas, reportaron que los ratones Balb/c son más sensibles a la aparición de tumores en el epitelio colorrectal y anal por DMH (93.3%), y la parte más afectada del colon se localizó en la distal. Estos hallazgos al igual que los reportes mencionados confirman el estudio de Thurnherr y col. (1973), quienes al trabajar con ratones hembras CF1 inyectadas semanalmente a dosis de 20 mg/kg durante 26 semanas obtuvieron una alta incidencia de adenocarcinomas en el colon distal.

Los hallazgos del presente estudio sugieren que las zonas de criptas aberrantes y el número de focos de criptas son lesiones precursoras en el desarrollo del cáncer de colon y son de gran importancia en el diagnóstico temprano de pacientes con riesgo de padecer esta neoplasia maligna.

---

---

Por consiguiente, la utilización de modelos experimentales permite estudiar el inicio y desarrollo del cáncer de colon, bajo condiciones estrictamente controladas y diseñar las estrategias apropiadas para comprender la evolución de esta etiología, además de la prevención, diagnóstico y manejo del cáncer en el hombre.

---

## CONCLUSIONES

1. El valor de  $DL_{50}$  de la DMH en ratones Balb/c hembras y machos fue de 55 mg/kg de peso corporal.
2. La administración de la DMH a una dosis semanal subcutánea de 20 mg/kg de peso corporal en ratones Balb/c logró inducir cáncer de colon.
3. Las primeras lesiones inflamatorias preneoplásicas aparecieron a partir de la tercera semana de inducción.
4. Los focos de criptas aberrantes se observaron a partir de la semana 7.
5. Se identificó un adenocarcinoma *in situ* a la semana 31
6. Los tumores visibles se presentaron en la parte distal y anal del colon a la semana 40 de experimentación.
7. El estudio histopatológico demuestra una relación directa entre el periodo de inducción y el desarrollo tumoral.

El modelo murino de CCR inducido con DMH es viable y reproducible en nuestras condiciones experimentales.

---

## PERSPECTIVAS

Los modelos experimentales brindan una serie de posibilidades que permiten avanzar en el estudio de los mecanismos de formación de lesiones pre-neoplásicas, que corresponden a las primeras manifestaciones de procesos carcinogénicos, y que además nos permiten examinar el efecto de agentes preventivos que inhiban la formación de estas displasias y avanzar así dentro de futuras posibilidades terapéuticas.

El presente modelo se aplicará a estudios experimentales posteriores donde se realicen ensayos que brinden información importante en torno a los mecanismos que subyacen al desarrollo del CCR. Se evaluará el potencial terapéutico de nuevas moléculas y extractos de origen natural como son los extractos de hojas de camote (*Ipomoea batatas*) y de *Lactobacillus casei* en el cuadro de dos proyectos de investigación vigentes.

---

---

## GLOSARIO

**Adenocarcinoma:** cáncer que se inicia en las células que revisten ciertos órganos internos y que tienen propiedades glandulares (secretorias).

**Atíпия:** algo que no es típico o normal. La atíпия es una anomalía de las células de un tejido.

**Carcinoma:** cáncer que empieza en la piel o en los tejidos que revisten o cubren los órganos internos.

**Carcinoma in situ:** grupo de células anormales que permanecen en el mismo lugar en el que se formaron.

**Ciatalgia:** dolor (neuralgia) que se presenta a nivel del territorio de inervación del nervio ciático.

**Cripta del colon:** glándula con forma parecida a un tubo que se encuentra en el revestimiento del colon y el recto. Las células de la cripta del colon renuevan el revestimiento del intestino y elaboran moco.

**Displasia:** células que permanecen anormales bajo un microscopio, pero que no son cancerosas.

**Distensión:** estiramiento violento de los tejidos y partes ligamentosas de una articulación.

**Enema:** inyección de un líquido en el recto.

**Esfínter:** grupo de fibras circulares que al examen radiológico señalan el punto de transición del ciego al colon ascendente.

**Ferropenia:** disminución de hierro en el organismo, con tasa anormalmente baja de hierro en el plasma.

**Flato:** aire o gas desarrollado en el interior del cuerpo, especialmente en el estómago e intestino.

**Hematoquecia:** deposición intestinal sanguinolenta.

**Hiperplasia:** aumento anormal del número normal de células en un órgano o tejido.

**Íleon:** tercera y última porción del intestino delgado, que se extiende desde el yeyuno al ciego.

---

**Metaplasia:** cambio en la forma que toman algunas células que, por lo general, no es normal en las células del tejido al que pertenecen.

**Microcito:** glóbulo rojo degenerado, anormal, pequeño.

**Microcitosis:** aumento en el número de microcitos.

**Pólipo:** crecimiento que sobresale de una membrana mucosa.

**Pólipo del colon:** crecimiento anormal de tejido en el recubrimiento del intestino. Los pólipos son un factor de riesgo del cáncer de colon.

**Quimo:** masa líquida, espesa, grisácea, en la que se convierte el alimento por digestión gástrica.

**Sigma:** S iliaca o colon sigmoideo.

**Sigmoide:** (de *sigma* y el gr. *eidos*, aspecto).f. S iliaca del colon.

**Tenesmo:** deseo continuo, doloroso e ineficaz, de orinar o defecar, tenesmo vesical o rectal, respectivamente, producido de ordinario por una irritación del cuello vesical o del ano.

**Tenia del colon:** cada una de las tres cintas o bandas formadas por las fibras musculares longitudinales del intestino grueso.

**Tumor desmoide:** tumor de naturaleza dura, fibrosa en el tejido subcutáneo o en el músculo consecutivo a un traumatismo.

**Válvula ileocecal:** pliegue de la mucosa en el abocamiento del íleon en el ciego.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barrón L P, Chanona J G. 2006. Focos de criptas aberrantes. *Rev endoscopia*, 18: 116-119.
- Bassa A, Garau I, Cabeza E. 1992. Aspectos generales del cáncer colorrectal. *Gastroenterol Hepatol*, 15: 2-6.
- Beart R W. 1990. Colon, rectum, and anus. *Cancer*, 33: 684-688.
- Bingham S, Riboli E. 2006. Diet and cancer The European prospective investigation into cancer and nutrition. *Nature rev cancer*, 4: 206-215.
- Bird P R. 1987. Observation and Quantification of Aberrant Crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer letters*, 37: 147-151.
- Bland P W, Briton D C. 1981. Colonic lymphoid tissue and its influence on tumor induction in dimethylhydrazine treated rats. *Br. J. Cancer* 44: 275-276.
- Burke A B, Shekitka K M, Sobin L H. 1991. Small-cell Carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 95:315-321.
- Burkitt D P. 1971. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer*, 28: 3-13.
- Burkitt D. 1969. Related disease-related cause?. *Lancet*, 2: 1229-1231.
- Burmer G C, Levine D S, Kulander B G, Haggitt R C, Rubin C E, Rabinovitch P S. 1990. C-Kiras mutations in chronic ulcerative colitis and sporadic colon carcinoma. *Gastroenterology*, 99: 416-420.
- Catalán V, Honorato B, García F, Bandrés E, Zabalegui N, Zárate R, Salgado E y García-Foncillas J. 2003. Carcinogénesis colónica: proceso de transformación. *Rev. Med. Univ. Navarra*, 47 (1): 15-19.
- Chan P C, Cohen L A, Narisawa T, Weisburger J H. 1976. Early effects of a single intrarectal dose of 1,2-Dimethylhydrazine in mice. *Cancer Res* 36: 13-17.
- Chang W W L. 1978. Histogenesis of symmetrical 1,2-dimethylhydrazine induced neoplasms of the colon in the mouse. *J Natl Cancer Inst*, 60:1405-1418.
- Cheng L, Lei M D. 2003. Aberrant crypt foci as microscopic precursor of colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 9 (12): 2642-2649.
- Coca S, Enrech S, Moreno G V, Sáez M A, Gutiérrez C, Colmenarejo A, Hernández J M y Pérez P J. 2005. Estudio de la respuesta antitumoral de la interleucina-12 en cáncer de colon inducido mediante 1,2-dimetilhidrazina (DMH). *Rev Esp Enferm Dig*, 97 (9): 619-628.
- Cooper H S. 1989. Intestinal neoplasms. En: Sterberg S S, ed. *Diagnostic surgical pathology*. Nueva York: Raven Press, 1015-1055.
- Dawson P A, Filipe M I. 1976. An ultrastructural and histochemical study of the mucous membrane adjacent to and remote from carcinoma of the colon. *Cancer*, 37: 2388-2398.

- Di Gregorio C, Losi L, Fante R, Modica S, Ghidoni M, Pedroni M, Tamassia MG, Gafa L, Ponz de León, Roncucci L. 1997. Histology of aberrant crypt foci in the human colon. *Histopathology*, 30: 328-334.
- Dodd G D. 1991. Imaging techniques in the diagnosis of carcinoma of the colon. *Cancer*, 67: 1150-1154.
- Ekelund G R, Pihl B. 1974. Multiple carcinomas of the colon and rectum. *Cancer*, 33: 1630-1634.
- Emerich S, Phd F. 1975. Investigations into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer*, 36: 2407-2412.
- Falterman K W, Hill C B, Markey J C, Fox J W, Cohn I. 1974. Cancer of the colon, rectum, and anus: a review of 2313 cases. *Cancer*, 34: 951-959.
- Fearon E R, Cho K R, Nigro J M, Kern S E, Simons J W, Ruppert J M, Hamilton S R, Preisinger A C, Thomas G, Kinzler K W. 1990. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science*, 247: 49-56.
- Fiala E S, Kulakis C, Bobotas G, Weisburger J H. 1976. Brief communication: detection and estimation of azomethane in expired air of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. *J Natl Cancer Inst*, 56: 1271-1273.
- Gali-Muhtasib H, Younes I, Karchesy J, El-Sabban M. 2001. Plant Tannins the Induction of Aberrant Crypt Foci and Colonic Tumors by 1,2-Dimethylhydrazine in Mice. *Nutrition and Cancer*, 39(1): 108-116.
- Gali-Muhtasib H, Ocker M, Kuester D, Krueger S, El-Hajj Z, Diestel A, Evert M, El-Najjar, Peters B, Jurjus A, Roessner A, Schneider-Stock, R. 2008. Thymoquinone reduces mouse colon tumor cell invasion and inhibits tumor growth in murine colon cancer models. *J. Cell. Mol. Med*, 12(1): 330-342.
- Gartner L P, Hiatt J L. *Texto Atlas de Histología*. (2ª. Ed.) México. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. 2002. p. 387-390.
- Granados G M y Herrera G A. *Manual de Oncología*. (4ª. Ed.) México. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. 2010. p. 21-25.
- Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, Joslyn G, Stevens J, Spiro L, Robertson M, Sargeant L, Krapcho K, Wolff E, Burt R, Hughes J P, Warrington J, McPherson J, Wasmuth J, Lepaslier D, Abderrahim H, Cohen D, Leppert M, White R. 1991. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*, 66: 589-600.
- Halvorsen T B, Seim E. 1988. Influence of mucinous components on survival in colorectal adenocarcinomas: a multivariate analysis. *J Clin Pathol*, 41: 1068-1072.
- Hickey W F, Corson J M. 1981. Squamous cell carcinoma arising in a duplication of the colon. Case report and literature review of squamous cell carcinoma of the colon and of malignancy complicating colonic duplication. *Cancer*, 47: 602-609.

- Hill M J, Drasar B S, Aries V, Crowther J S, Hawksworth G, Williams R E. 1971. Bacteria and etiology of cancer of large bowel. *Lancet*, 16: 95-100.
- INEGI, 2008. <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2008/cancer08.doc>. Fecha de consulta: 17-02-2010.
- Izumi K, Otsuka H, Furuya K, Akagi A. 1979. Carcinogenicity of 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride in BALB/c mice. *Virchows Arch A*, 384-263.
- Jacobs M, Forst C, Beams F. 1981. Biochemical and clinical effects of selenium on dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Cancer Res*, 41: 4458-4465.
- Jacobs M. 1983. Selenium inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. *Cancer Res*, 43:1646-1649.
- Jass J R, Atkin W S, Cizick J. 1986. The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. *Histopathology*, 10: 437-459.
- Kim H, Hen J, Vogestein B, Hamilton S R. 1994. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol*, 145: 148-156.
- Kirkham N. 1988. Colorectal signet ring cell carcinoma in young people. *J Pathol*, 155: 93-94.
- Klug W S y Cummings M R. Genética y cáncer. En: Klug W.S. y Cummings M; R; Conceptos de Genética. (5ª. ed.) España. Editorial Prentice Hall, 1999. p. 625-642.
- Lampe J W, Slavin J L, Melcher E A, Potter J D. 1992. Effects of cereal and vegetable fiber feeding on potential risk factor for colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1: 207-211.
- León V M., Sáenz R F. 2007. Focos de criptas aberrantes. *Gastr Latinoam*; 18 (4): 383-389.
- Locniskar M, Nauss K M, Newberne P M. 1984. The interaction of route of administration and dietary fat on dimethylhydrazine (DMH) induced colon tumorigenesis in rats. *Fed Proc*, 43:793.
- Lynch H T, Smyrk T C, Watson P, Lanspa S J, Lynch J F, Lynch P M, Cavalieri R J, Boland C R. 1993. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an update review. *Gastroenterology*, 104: 1535-1549.
- Mas J. Diagnóstico molecular en medicina. (2ª. ed.) Editorial El Manual Moderno: UNAM, Programa Universitario de Investigación en Salud, México. 2007. p. 215-219.
- Maskens A P. 1976. Histogenesis and Growth Pattern of 1,2-Dimethylhydrazine-induced Rat Colon Adenocarcinoma. *Cancer Res*, 36: 1585-1592.
- Matsumoto H, Higa H H. 1966. Studies on methylazoxymethanol, the aglicone of cycasin: methylation of nucleic acids in vitro. *Biochem. J*, 98:20-22.

- McConnell E, Wilson RE, Moore JA, Haseman JK. 1980. Dose response of 1,2-dimethylhydrazine and methylazoxymethanol acetate in the F 344 rat. *Cancer Lett*, 8:271-278.
- McLellan E A, Medline A, Bird R P. 1991. Dose response and proliferative characteristics of aberrant crypt foci: putative preneoplastic lesions in rat colon. *Carcinogenesis*, 12: 2093-2098.
- Morales M, Lopis A, Castillo A, Vitoria I. 1990. Cancer of the rectum in relation to components of the Spanish diet. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 10: 214-219.
- Moreno A, Guy J, Perdigón G, Miyoshi A, Longella P, Azevedo V, Sesma F. 2008. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. *J Med Microbiology*, 57: 100-105.
- Nagasawa H T, Shiota F N, Matsumoto H. 1972. Decomposition of methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin in D20. *Nature*, 236: 234-235.
- Netter F H. *Atlas de Anatomía Humana*. 3ª. Ed. Editoreal Masson. 2003. p. 839, 916, 917
- Newberne P M, Rogers A E. 1973. Animal model: DMH induced adenocarcinoma of the colon in the rat. *American journal of Pathology*; 72: 541-544.
- Nishisho I, Nakamura Y, Miyoshi Y. 1991 . Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorrectal cancer patients. *Science*, 253 (5020): 665-669.
- Nussbaum R L, McInnes R R, Willard H F. *Genética en medicina*, 2008. 7ª Ed. España: Thompson & Thompson. p. 469-470.
- Oravec C T, Jones C A, Huberman E. 1986. Activation of the colon carcinogen 1,2-Dimethylhydrazine in a rat colon cell-mediated mutagenesis assay. *Cancer Res*, 46: 5068-5071.
- Organización Mundial de la Salud [OMS] (2010). *Cáncer*. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>. Fecha de consulta: 7-02-2010.
- Park C H, Reid J D. 1980. Adenocarcinoma of the colon with choriocarcinoma in the sigmoid colon. *Cancer*, 46: 570-575.
- Pérez-Holanda S L, Rodrigo L, Viñas-Salas J, Piñol-Felis C, Idelfonso C. 2006. Efecto de la desfuncionalización colónica en un modelo experimental de cáncer de colon. *Rev Esp Enf Dig*, 98(9): 644-654.
- Peta J E, Cooper D P, Connor P J, Povey A. 1999. The relationship between 1,2-dimethylhydrazine dose and the induction of colon tumours: tumour development in female SWR mice does not require a K-ras mutational event. *Carcinogenesis*, 20(3): 509-513.
- Pietro A F, Caderni G. 2008. Rodent Models of Colon Carcinogenesis for the Study of Chemopreventive Activity of Natural Products. *Planta Med*, 74: 1602-1607.

- Piñols F C. 2002. Estudios de los cambios en la mucosa colónica de rata y cinética celular durante la carcinogénesis experimental inducida con 1,2-Dimetilhidracina. Tesis doctoral. Universitat de Lleida.
- Popesco P, Rajtová V, Horák J. 1992. Anatomy of Small Laboratory Animals. Vol. 2. Editorial Saunders. p. 146.
- Prophet E, Mills B, Arrington J, Sobin L. 1995. Métodos Histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, D.C.
- Reddy B S, Watanabe K, Weisburger J H. 1977. Effect of high-fat diet on colon carcinogenesis in F344 rats treated with 1,2-dimethylhydrazine, methylazoxymethanol acetate or acetate or methylnitrosourea. *Cancer Res*, 37:4156-4159.
- Reddy B, Hirota N, Katayama S. 1982. Effect of dietary sodium ascorbate on 1,2-dimethylhydrazine or methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*, 3:1097-1099.
- Richards T C. 1977. Early changes in the Dynamics of Crypt cell Populations in Mouse colon following Administration of 1,2-Dimethylhydrazine. *Cancer Res*, 37: 1680-1685.
- Riddell R H, Levin B. 1977. Ultrastructure of the "transitional" mucosa adjacent to large bowel carcinoma. *Cancer*, 40: 2509-2522.
- Rogers A E, Newberne P M. 1973. Dietary enhancement of intestinal carcinogenesis by dimethylhydrazine in rats. *Nature* 246:491-492.
- Roncucci L, Stamp D, Medline A, Cullen JB, Bruce WR. 1991. Identification and qualification of aberrant crypt foci and adenoma in the human colon. *Hum Pathol*, 22: 287-294.
- Schwartz A M, Orestein P M. 1985. Small-cell undifferentiated carcinoma of the colon. A clinicopathological study of the rectosigmoid colon. *Arch Pathol Lab Med*, 109: 629-632.
- Selby J V, Friedman G D, Quesenberry C P, Weiss N S. 1992. A case-control study of screening sigmoidoscopy and mortality from colorectal cancer. *N Engl J Med*, 326: 653-657.
- Shankar S, Lanza E. 1991. Dietary fiber and cancer prevention. *Hematol Oncol Clin Noth Am*, 5: 25-41.
- Siegel R, Cokkinides V, Jemal A, Ward E. 2008. Datos estadísticos sobre el Cáncer en los hispanos/latinos 2006-2008. American cancer society. *Nature rev cancer*, 887-899
- Simanowski U A, Seitz H K, Kommerell B. 1991. Alcohol y cocarcinogénesis. *Colo-proctology*. 7: 4-6.
- Statland B E. 1992. Nutrition and cancer. *Clin Chem*, 38: 1587-1594.
- Steinmetz K A, Potter J D. 1991. Vegetables, fruit, and cancer. I. *Epidemiology. Cancer Causes Control*, 2: 325-357.

- Stemmermann G N, Nomura A M, Chyou P H, Yoshizawa C. 1990. Prospective study of alcohol intake and large bowel cancer. *Dig Dis Sci*, 35: 1414-1420.
- Stephen A, Cummings J. 1980. Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature*, 284: 283-284.
- Thorton J R. 1981. High colonic pH promotes colorectal cancer. *Lancet*, 1: 1083-1087.
- Toth B. 1984. Effect of metamucil on tumour formation by 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride in mice. *Fd Chem. Toxic*, 22: 573-578.
- Thurnherr N, Deschner E E, Stonehill E, Lipkin M. 1973. Induction of carcinomas of the colon in mice by weekly injections of 1,2-Dimethylhydrazine. *Cancer Res*, 33: 940-5.
- Turusov V S, Lanko N S, Krutovskikh V A and Parfenov Y D. 1982. Strain differences in susceptibility of female mice to 1,2-dimethylhydrazine. *Carcinogenesis*, 3(5): 603-608.
- Walker A R P, Walker B F. 1992. Faecal pH and colon cancer. *Gut*, 33: 572.
- Wargovich M J, Medline A, Bruce W R. 1983. Early histopathologic events to evolution of colon cancer in C57BL/6 and CF1 mice treated with 1,2 dimethylhydrazine. *J Natl Cancer Inst*, 71:125-131.
- Winawer S J, Zauber A G, Stewart E, O'Brien M J. 1991. The natural history of colorectal cancer. Opportunities for intervention. *Cancer*, 67: 1143-1149.
- [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov). Fecha de consulta: 9-05-2010.
- Wynder E L, Reddy B S. 1977. Colon cancer prevention. Today's challenge to biomedical scientist and clinical investigators. *Cancer*, 40: 2565-2571.
- Zamorano-Ponce E, Lagos M P, Rivera C P, Fernández R J. 2008. Un modelo experimental inducible en ratón para conducir estudios en quimioprevención y anticarcinogénesis. *Theoria*, 17(1): 71-86.