

# LESIONES GASTRICAS EN COBAYOS POR LA ADMINISTRACION DE N-PROPILO-N-NITRO-N-NITROSOGUANIDINA. (1)

*Dr. Manuel F. Sigarán \**  
*Dr. Pelayo Correa \*\**

## RESUMEN

*En cobayos sanos se indujo lesiones gástricas proliferativas mediante la administración del compuesto N-Propil-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidina. Presencia de metaplasia intestinal no fue concluyente por lo que esta lesión precursora o acompañante no parece ser indicativa en este mamífero. Pudo producirse adenocarcinoma bien diferenciado, localizado en la pared gástrica. Se presenta este animal como ejemplo de modelo experimental para futuros experimentos con sustancias contaminantes o acompañantes en la dieta gástricas del costarricense.*

## SUMMARY

*Oral administration of N-Propyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine to healthy guinea pigs induced proliferative gastric lesions. Intestinal metaplasia was rarely seen. However, adenocarcinoma was produced. Is presented here this small mammal as a possible experimental model in order to study some potentially mutagenic alimentary substances. Possible similarities of this model with the human situations are discussed.*

## INTRODUCCION

La utilidad del modelo experimental para estudiar procesos patológicos de diversa índole es sumamente importante. Ayuda a conocer entre otros aspectos, la patogenia, la acción terapéutica de diversas drogas, y además por su valor diagnóstico. Sin tal modelo no se podría profundizar en las alteraciones iniciales de procesos degenerati-

vos o en neoplasias, específicamente cancer de estómago. En 1967 por primera vez Sugimura y colaboradores (14) pudieron producir en ratas carcinoma gástrico al administrarles oralmente el compuesto N-Metil-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidina (MNNG). Posteriormente (15) extendieron su experiencia a diversos mamíferos de laboratorio. A partir de entonces se ha reproducido esta neoplasia en rata (7-10,16) con algunas variantes, así como en diversos mamíferos de laboratorios, perro (4-6, 12), ratón (13), empleando diversos compuestos nitrosados mutagénicos con variable actividad cancerígena. Factor común a esos tumores ha sido la reproducción de neoplasias bien diferenciadas, así como reportes conflictivos en cuanto a la presencia de metaplasia intestinal acompañante.

Con el objeto de estudiar la presencia de MI en cobayos se les administró por períodos varia-

- 1) Investigación parcialmente financiada por el proyecto 02-05-07-10 de la Universidad de Costa Rica y por el "Grant" PO1-CA-28842 del "National Cancer Institute. N.I.H.", E.U.A.
- (\*) Patología Experimental, Facultad de Medicina en Hospital México, Universidad de Costa Rica.
- (\*\*) Department of Pathology, Louisiana State University Medical Center. 1901 Perdido St., New Orleans LA., 70212, E.U.A.

bles en el agua de bebida hasta por 16 meses el compuesto, considerado débil carcinógeno, (6) N-Propil-N'-Nitro-N-Nitrosoguanadina (PNNNG). La razón para escoger este animal radicó en su pequeño tamaño, el fácil manejo, bajo costo, la semejanza de su mucosa gástrica (toda glándula) a la del humano y por los requerimientos de ácido ascórbico en la dieta.

## MATERIALES Y METODOS

El experimento fue iniciado con 53 cobayos de la cepa "Hartley" (32 machos y 21 hembras) los que se sacrificaron a los 4, 8, 12 y 16 meses de la administración de la primera dosis del cancerígeno. A su vez a los animales tratados se les dividió en dos grupos: de dosis "baja" de 59 ug/ml de agua (11 machos y 6 hembras) y de dosis "alta" de 118 ug/ml de PNNNG (12 machos y 5 hembras). Al preparar las soluciones del PNNNG se le agregó al agua "Tween 80" a la concentración de 0.4%. Este tratamiento se inició desde el tercer mes de edad hasta el día previo al sacrificio. Como animales de control se emplearon 19 a los que se les ofreció iguales requerimientos dietéticos y agua con el detergente pero sin el PNNNG.

Los cobayos fueron albergados por parejas del mismo sexo y se les pesó semanalmente. El sacrificio se realizó con una inyección intraperitoneal de barbitúricos y se les abrió el estómago a lo largo de la curvatura mayor. Cada estómago después de fijado en paraformaldehído al 4% amortiguado en fosfatos, fue cortado seriadamente, tomando también muestras de intestino delgado y grueso. Los tejidos fueron incluidos en parafina, cortados a 5 micras de espesor y teñidos con técnicas de Hematoxilina-Eosina y de ácido periódico de Schiff y azul alciano (PAS-AB) a pH de 2.5.

La alimentación de los animales fue a base de "Purina Chow" para cobayos (con alto contenido de ácido ascórbico) suplementado con lechuga, repollo y apio.

## RESULTADOS

De los 53 cobayos con que se inició el experimento, 14 murieron principalmente de neumonía

a lo largo de los 16 meses, antes de la fecha establecida de sacrificio y a la autopsia sus estómagos estaban severamente autolizados por lo que no se les incluye en el reporte final. En la tabla 1 se presenta el detalle de las lesiones gástricas en los diversos animales que sobrevivieron hasta la fecha establecida del sacrificio. No se encontró diferencias en los pesos corporales, tomados semanalmente entre los grupos de animales tratados y de los de control.

Un animal (#88) con dosis alta de PNNNG sacrificado a los 8 meses de tratamiento presentó adenocarcinoma invasor bien diferenciado. Este tumor estaba presente en el borde de una úlcera antral, invadía el estrato profundo de la mucosa e infiltraba hasta la submucosa (Figs. 1,3). Un segundo cobayo (#34) también con dosis alta que sobrevivió los 16 meses del tratamiento, desarrolló adenocarcinoma gástrico ulcerado intramucoso en el antro, pero en una zona penetró la muscular de la mucosa aunque en continuidad con la neoplasia superficial. En ninguno de estos casos se encontró metástasis o evidencia convincente de metaplasia intestinal (MI). El animal #25 tratado con dosis baja del PNNNG durante 8 meses y sacrificado entonces, presentó úlcera en mucosa antral. Áreas de gastritis crónica se desarrollaron en dos cobayos tratados por 8 y por 12 meses respectivamente. En un animal bajo tratamiento por 8 meses se encontró pólipo antral de naturaleza hiperplásica, con abundante tejido linfóide en su base. Mientras un cobayo adicional (#48) desarrolló en 16 meses, con dosis alta de cancerígeno, un pólipo adenomatoso de localización duodenal.

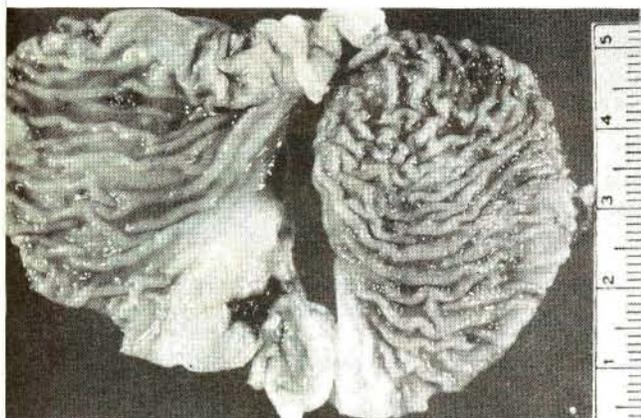
## DISCUSION

Nitratos y nitritos son sustancias presentes en muchos alimentos de la dieta diaria que frecuentemente además tienen alto contenido de sal. En ambiente gástrico favorable, con pH alto, pueden convertirse, por medio de las bacterias presentes en estos estómagos ya lesionados, en compuestos nitrosados, nitrosoaminas, potencialmente mutágenas y cancerígenas (1). A los factores anteriores se puede sumar el consumo de agua potable que probablemente tiene en localidades con alta frecuencia de cáncer gástrico, cantidad elevada de nitratos (NO<sub>3</sub>). Cuello y colaboradores reporta-

**TABLA No. 1**

**LESIONES GASTRICAS EN COBAYOS TRATADOS CON PNNG**

<b>Tiempo y dosis</b>	<b>Normal</b>	<b>Gastritis</b>	<b>Ulcera</b>	<b>Polipo</b>	<b>Carcinoma</b>
<b>Cuatro meses</b>					
Cobayos sin tratar	6	0	0	0	0
Dosis baja	4	0	0	0	0
Dosis alta	4	0	0	0	0
<b>Ocho meses</b>					
Cobayos sin tratar	6	0	0	0	0
Dosis baja	1	1	1	1	1
Dosis alta	2	0	0	0	1
<b>Doce meses</b>					
Cobayos sin tratar	4	0	0	0	0
Dosis baja	3	0	0	0	0
Dosis alta	2	1	0	0	0
<b>Diez y seis meses</b>					
Cobayos sin tratar	3	0	0	0	0
Dosis baja	3	0	0	0	0
Dosis alta	1	0	1	1	1
<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>



**Figura 1.** Aspecto macroscópico de la mucosa gástrica (cobayo #88) presentando úlcera antral con bordes duros.



**Figura 2.** Aspecto histológico de la mucosa de la úlcera de la Fig. 1 y que presenta en su borde adenocarcinoma intramucoso. Tinción H&E, 125X.



**Figura 3.** Mayor aumento de zona de la neoplasia visto en la forografía anterior. Tinción H&E, 250X.

ron (3) concentraciones mayores de 20 ppm de NO<sub>3</sub> en el agua de 19 de 65 pozos y manantiales de diferentes áreas del Departamento de Nariño en Colombia con alta incidencia de cancer gástrico y en menor concentración en el líquido proveniente de aguas superficiales. A nuestro conocimiento la concentración de nitratos en el agua de las diferentes localidades del país es aún desconocida y que talvez podría proporcionar datos interesantes.

En este experimento se trató de simular lo que ocurre en el humano, por lo que se escogió el cobayo (administrándole en un período largo, un cancerígeno debil) dadas sus condiciones especiales: necesitar de una fuente exógena de ácido ascórbico y poseer estómago con mucosa enteramente glandular. Limitaciones importantes han sido el número relativamente pequeño de animales y haber recibido importantemente más ácido ascórbico del que habitualmente ingiere el humano, ante el temor del desarrollo del escorbuto particularmente frecuente para este animal en cautiverio. Pero a pesar de ello se logró en este modelo experimental, el carcinoma, al haber obtenido resultados similares con PNNG a aquellos de otros autores en ratas de conocida capacidad para desarrollar esta tumoración (7,10). Las lesiones consideradas precursoras de este tumor (1,2) gastritis crónica, úlceras y pólipos también estuvieron presentes, pero sin embargo su prevalencia y características necesitan investigación adicional. No fue observada metaplasia intestinal, un conocido precursor o acompañante de la neoplasia en el humano, posiblemente debido a que tanto la rata como el cobayo secretan normalmente en el estómago mucinas ácidas de tipo intestinal (11), modalidad que no se encuentra en el estómago humano sin lesiones.

Indicativo de la débil carcinogenicidad del PNNG es el hecho que de los animales con dosis alta, solo uno desarrolló pólipo adenomatoso (extragástrico) en el duodeno, probablemente debido al "exceso" del químico no alcanzado a metabolizar en mucosa gástrica, rebasando la barrera pilórica. Los adenocarcinomas desarrollados a los 8 y 16 meses fueron bien deferenciados de tipo intestinal sin evidencia de metástasis.

En conclusión, aunque los resultados del presente experimento no han sido lo categóricos que

se esperaba, por sus características especiales este pequeño mamífero bien puede ser tomado como modelo experimental para cáncer gástrico. Bajo condiciones dietéticas estrictas y cuidadosas sería posible exponerlo a la influencia de sustancias exógenas con las que está en contacto diario el individuo de alto riesgo: dieta con abundantes hidratos de carbono, carnes saladas o nitrosadas, alto consumo de sal de cocina y de aditivos para conservar alimentos como el hiposulfito de sodio empleado en el procesamiento del azúcar de caña y además con mínimas cantidades de alimentos frescos con alto contenido de Vitamina C.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Corea P. The Gastric Precancerous Process. Cancer Surveys 1983; 2:437-50.
2. Corea P., W. Haenszel. C. Cuello. M. Archer. and S.R. Tannenbaum. A Modelo for Gastric Cancer Epidemiology. Lancet 1975; 2:58-60.
3. Cuello C., P. Correa, W. Haenszel, G. Gordillo, C. Brown, M. Archer, and S. Tannenbaum. Gastric Cancer in Colombia. I. Cancer Risk and Suspect Environmental Agents. JNCI 1976; 57:1015-20.
4. Fujita M., T. Taguchi, M. Takami, M. Usuganne, A. Takahashi, and S. Shiba. Carcinoma and Related Lesion in Dog Stomach Induced by Oral Administration of N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. Jpn.J.Cancer Res. (Gann) 1974; 65:207-14.
5. Kurihara M., H. Shirakabe, T. Izumi, K.Miyasaka, F.Yamaya, T.Maruyam, and A. Yasui. Adenocarcinoma of the Stomach Induced in Beagle Dogs by Oral Administration of N-Ethyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. Z. Krebsforsch 1977; 90:241-52.
6. Matsukura N., M. Aoyagi, T. Kawachi, E. Uchida, S. Yoshida, T. Hirashima, T. Takasugi, K. Ushio, T. Hirota, and T. Sugimura. Chemotherapeutic Study on Canine Gastric Cancer Induced by N-Ethyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. Jpn.J.Cancer Res. (Gann) 1980; 71:349-55.
7. Matsukura N., M. Itabashi, T. Kawachi, T. Hidrota, and T. Sugimura. Sequential Studies on the Histopathogenesis of Gastric Carcinoma in Rats by a Weak Gastric Carcinogen, N-Propyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. J.Cancer Res. Clin. Oncol. 1980; 98:153-63.
8. Matsukura N., T.Kawachi, K.Sasajima, T. Sano, T. Sugimura, and T. Hirota. Induction of Intestinal Metaplasia in the Stomachs of Rats by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. JNCI 1978; 61:141-44.
9. Matsukura N., T. Kawachi, T. Sugimura, N. Nakadate, and T. Hirota. Induction of Intestinal Metaplasia and Carcinoma in the Glandular Stomach of Rats by N-Alkil-N'-Nitrosoguanidine. Jpn. J.Cancer Res. (Gann) 1979; 70:181-85.
10. Sasajima K., T. Kawachi, N. Matsukura, T. Sano and T. Sugimura. Intestinal Metaplasia and Adenocarcinoma Induced in the Stomach of Rats by N-Propyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1979; 94:201-06.
11. Sheahan D.L., and H.R. Jervi. Comparative Histochemistry of Gastrointestinal Mucosubstances. Am.J.Anat. 1976; 146:103-32.
12. Shimosato y., N. Tanaka, K. Kogure, S. Fujimura, T. Kawachi, and T. Sugimura. Histopathology of Tumors of Canine Alimentary Tract Produced by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine, With Particular Reference to Gastric Carcinomas. JNCI 1971; 47:1053-70.
13. Sigaran M. F., And R. Con-Wong Production of Proliferative Lesions in Gastric Mucosa of Albino Mice by Oral Administration of N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine, Jpn.J.Cancer Res. (Gann) 1979; 70:343-52.
14. Sugimura T., and S. Fujimura Tumour Production in glandular Stomach of Rat by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. Nature 1967; 216: 943-44.
15. Sugimura T., S. Fujimura, K.Kogure, T.Baba, T. Saito, M. Nagao, Y. Shimosato, and T. Yokoshima Production of Adenocarcinomas in Glandular Stomach of Experimental Animals by N-Methyl-N'Nitro-N-Nitrosoguanidine. Jpn.J.Cancer Res. (Gann) 1969; (Monograph 8): 157-208.
16. Tatematsu M., C.Furihata, T. Katsuyama, R. Hasegawa, J. Nakanowatari, D. Saito, M. Takahashi, T. Matsushima, and N. Ito Independent Induction of Intestinal Metaplasia and Gastric Cancer in Rats Treated with N-Methyl-N'-Nitro -N-Nitrosoguanidine. Cancer Res. 1983; 43:111335-41.

---

#### AGRADECIMIENTOS

*Al Sr. Alberto Delgado, Técnico de Laboratorio por el cuidado de los animales y de los diferentes procedimientos de laboratorio, auxiliado por el Sr. Gerardo Aguero empleado de misma unidad.*

---