

ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN LA MUCOSA GÁSTRICA DE RATONES EXOCRIADOS, OCASIONADAS POR EL CONSUMO CRÓNICO DE HABAS Y SAL

Harold Jofre Bolaños Bravo*, Sofía Isabel Freyre Bernal**,
Jeison Harvey Carlosama Rosero***

RESUMEN

*El carcinoma gástrico parece tener un origen multifactorial; dentro de los factores de riesgo, los hábitos en la alimentación pueden predisponer a su aparición. Este estudio muestra los resultados obtenidos al exponer ratones de la cepa NIH, ratones exocriados (*Mus musculus*), al consumo crónico de habas y habas y sal. Se encontró cambios de gastritis crónica atrofia de la mucosa gástrica del grupo experimental que consumió de manera crónica habas, mientras que en el grupo que consumió habas y sal se observó un espectro de alteraciones histopatológicas que van desde la gastritis crónica atrófica, pasando por cambios de metaplasia y cambios displásicos de alto grado con focos de carcinoma. En esta investigación se discute la patogenia de las alteraciones encontradas en la mucosa gástrica de los grupos experimentales.*

Palabras clave: Dieta, carcinogénesis gástrica.

ABSTRACT

*The gastric carcinoma seems to have an origin multifactorial; inside the factors of risk, the habits in the feeding can predispose to their appearance. This study shows the obtained results when exposing mice NIH, mice exocriados (*Mus**

Recibido para evaluación: agosto 30 de 2007. Aprobado para publicación: noviembre 3 de 2007.

* Médico especialista en anatomía patológica. Docente de Patología, Director grupo AMEC

** Química, especialista en Docencia Universitaria. Docente de Bioquímica y Biología molecular. Investigadora grupo AMEC

*** Estudiante de Internado del programa de Medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Investigador grupo AMEC.

Correspondencia: Harold Jofre Bolaños Bravo. Carrera 3 1- 39 Popayán Cauca. Teléfono celular 3117493813. E mail: haroldbolanos@unicauca.edu.co.

muscles), to the chronic consumption of beans and beans and salt. It was changes of chronic gastritis atrophic of the gastric mucosa of the experimental group that consumed in way chronic beans, while in the group that consumed beans and salt was observed a spectrum of alterations histopathology such as the gastritis chronic atrophic, going by metaplasia changes and changes displasics of high grade with carcinoma focuses. In this investigation, the pathogenic of the alterations found in the gastric mucosa of the experimental groups is discusses

Key words: Diet, gastric carcinogenesis.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que el cáncer gástrico es el segundo tipo de cáncer más común en el mundo entero, aunque las estadísticas mundiales de incidencia y mortalidad muestran variaciones geográficas, en el Japón, Centroamérica, Suramérica y Asia oriental se encuentran las tasas más altas de cáncer gástrico. En países desarrollados como Australia, Canadá y Estados Unidos los índices han ido decreciendo(1), cambios que se explican en parte por el cambio en las costumbres de alimentación de estas poblaciones. Investigaciones epidemiológicas muestran una mayor frecuencia de cáncer gástrico en hombres que en mujeres siendo el factor socioeconómico bajo un factor de riesgo adicional para el desarrollo de cáncer gástrico.(2)

En Colombia no se conocen la incidencia global de cáncer gástrico en la población. El Instituto Nacional de Cancerología (INC), reporta cifras de mortalidad por cáncer de estómago, en Colombia para el año 2000 a 2002 un total de 2065 casos para el sexo masculino, con una tasa cruda de 12.4 por 100.000 habitantes y una tasa ajustada para la edad de 18.8 por 100.000 habitantes. En el sexo femenino se presentaron un total de 1801 casos de muertes por cáncer gástrico, lo que corresponde a una tasa cruda de 8.4 por 100.000 habitantes, siendo la tasa ajustada a la edad de 10.6 por 100.000 habitantes.(3)

Con respecto al microambiente gástrico como factor determinante en la aparición del cáncer gástrico, se conocen estudios experimentales que informan efectos mutagénicos directos del jugo gástrico sobre cultivos de *Salmonella tiphimurium*.(4) En la carcinogénesis gástrica existen tres componentes de la microecología gástrica que pueden estar relacionadas directamente con el riesgo de desarrollar cáncer entre ellas, las alteraciones histopatológicas progresivas de la mucosa, secreciones gástricas alteradas y factores dietarios, especialmente debidas a la síntesis intragástricas de componentes N-nitroso.(5)

En cuanto a otros factores de riesgo, la infección crónica por *Helicobacter pylori* de la mucosa gástrica, conlleva a la aparición de gastritis crónica a través de la activación

de una compleja red de mediadores químicos de la inflamación entre ellos IL-8, citoquinas pro-inflamatorias como IL-1, IL -6, TNF) y péptidos inmunosupresores como IL-10.(6)

Estos cambios inflamatorios conllevan a alteraciones en el ciclo de división celular de las células epiteliales de la mucosa gástrica con incremento de la apoptosis y mayor exposición a sustancias oxidantes, cambios que en combinación con la depleción de los mecanismos antioxidantes incrementan la posibilidad de mutación en el DNA.(6)

La acumulación de mutaciones pueden con el tiempo llevar a la aparición de lesiones premalignas que se inician con los procesos de metaplasia, progresando a la displasia y adenocarcinoma.(7)

La Organización Mundial de la Salud considera a la infección crónica por *Helicobacter pylori* un carcinógeno del Grupo I, debido a su relación con el adenocarcinoma gástrico distal. (8)

La infección por el virus del *Epstein Bar* fue relacionada en 1990 con el cáncer gástrico, mediante técnicas de PCR e hibridación *in situ*.(9) Esta infección viral ha sido encontrada tanto en adenocarcinomas de tipo intestinal como en el adenocarcinoma de tipo difuso, aunque el mecanismo carcinogénico aún no está claro.(10)

En cuanto a los factores de riesgo relacionados con el tipo de alimentación se ha observado que el alto consumo de alimentos o agua ricos en nitritos y una alta ingesta de carbohidratos con un deficiente consumo de frutas, vegetales frescos, leche, vitamina A, C, E, selenio muestran un riesgo aumentado de desarrollar cáncer gástrico.(11)

La relación entre el consumo de cereales y cáncer gástrico ha sido estudiada por varios investigadores en el mundo, entre ellos se conoce un estudio prospectivo de cohortes realizado en Estados Unidos en el que se determinó un riesgo relativo de 1.8 ($p < 0.05$) en personas consumidoras crónicas de estos.(12)

En el Departamento de Nariño un estudio analítico de casos y controles muestra que el consumo de habas (*Vicia faba*) no es muy frecuente en esta región, sin embargo, las personas que consumen de forma leve o moderada este tipo de alimento mostraron un factor de riesgo relacionado con la presencia de gastritis crónica atrófica.(13) En el metabolismo intragástrico de la *Vicia faba* se produce un potente compuesto mutágeno producto de la nitrosación.(14) Este compuesto puede estar relacionado con las alteraciones que se producen sobre el epitelio glandular de las personas que la consumen de manera habitual.

El consumo de sal en exceso es otro de los factores de riesgo asociados a cáncer gástrico, en estudios experimentales realizados en la mucosa gástrica de ratas se ha visto que el cloruro de sodio (NaCl) puede comportarse como un inductor de la carcinogénesis en el epitelio glandular.(15) En un estudio experimental realizado en China se observó que el consumo de soya salada esta relacionada con un elevado riesgo de displasia gástrica.(16)

El presente estudio busca reproducir, bajo condiciones controladas de laboratorio, si existe o no asociación entre el consumo crónico de habas (*Vicia faba*) y sal (NaCl) y la aparición de lesiones premalignas en la mucosa gástrica de ratones de la cepa NHI, ratones exocriados (*Mus musculus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de lograr los objetivos propuestos se formaron dos grupos experimentales y un grupo control, cada grupo conformado por 14 ratones para un total de 36 ratones. Uno de los grupos experimentales fue sometido al consumo crónico de habas y agua mineral, sin antioxidantes. El otro grupo experimental consumió habas y sal con agua mineral, sin antioxidantes. El grupo control consumió concentrado para conejos, agua mineral y antioxidantes. El periodo de seguimiento fue de 14 meses para todos los grupos. Para el estudio de la mucosa gástrica de los ratones se seleccionó de manera aleatoria un ratón de cada uno de los grupos experimentales y uno del grupo control. El estómago fue fijado con formol al 10 % tamponado y se procedió a incluir los cortes en parafina para realizar observaciones con la ayuda de un microscopio óptico, mediante la técnica de hematoxilina eosina. Las alteraciones en la mucosa gástrica fueron clasificadas teniendo en cuenta la clasificación de Sydney para las gastritis.

RESULTADOS

Según lo descrito en la metodología se procedió a sacrificar, de manera aleatoria, a cada uno de los ratones experimentales y del grupo control, posteriormente se realizó gastrectomía y preparación de los especímenes quirúrgicos para estudio histopatológico, utilizando la coloración de hematoxilina-eosina.

En la mucosa gástrica del grupo control se observó una adecuada representación de la población glandular (figura 1). En la de uno de los ratones del grupo experimental que consumió habas, al cabo de 4 meses de seguimiento, se observó disminución importante de la población glandular, acompañada de algunos cambios reparativos evidenciados por la presencia de mitosis en los cuellos glandulares (figura 2).

En la figura 3, se ilustra en 10x una disminución marcada de la población glandular, con dilatación marcada de la luz glandular y depleción de moco. La figura 4 es la misma imagen anterior en un aumento de 40x en la cual, además de lo ya descrito, se observa la presencia de un infiltrado inflamatorio de predominio mononuclear en la lámina propia. Estos cambios se encontraron en los ratones que consumieron habas al cabo de 14 meses de seguimiento.

La figura 5 ilustra en un aumento de 10x la mucosa gástrica de uno de los ratones del grupo experimental que consumió habas y sal durante un periodo de seguimiento de 10 meses, en ella se puede observar una distorsión arquitectural del componente glandular. La figura 6 ilustra en un aumento de 40x como la distorsión arquitectural esta acompañada por atipia nuclear, aumento en el número de mitosis y seudestratificación, favoreciendo un proceso displásico.

Figura 1. Microfotografía en 10x de la mucosa gástrica del grupo control. En ella se observa una adecuada representación de la población glandular.



La figura 7 corresponde a una microfotografía en 40x de la mucosa gástrica de uno de los ratones que consumió una dieta a base de habas y sal durante 14 meses. En ella se puede apreciar los cambios histopatológicos de un carcinoma in situ.

DISCUSIÓN

El origen del cáncer gástrico esta relacionado con una gran variedad de factores entre los que se encuentran factores medioambientales como el tipo de alimentación, la infección por *Helicobacter pylori*, la infección por el virus del *Epstein Barr* y factores genéticos. Se reconocen además condiciones precursoras como gastritis crónica atrófica, anemia perniciosa, entre otros.

El presente estudio muestra una asociación directa entre el consumo crónico de habas (*Vicia fava*) y la aparición de una lesión premaligna como lo es la gastritis crónica atrófica. Mientras que el consumir habas saladas esta relacionado con la aparición de un espectro de alteraciones histopatológicas que van desde la gastritis crónica atrófica, la metaplasma intestinal, los cambios displásicos y el cáncer.

Esta variedad de alteraciones histopatológicas de la mucosa gástrica puede estar relacionada con la formación intragástrica de los N-nitrosocompuestos, especialmente las nitrosoaminas que inducen, sobre el material genético de las células epiteliales mutaciones y desordenes en el ciclo de división celular. Se conoce que algunos vegetales contienen de forma natural nitritos y nitratos pero estos no son por si mismo carcinogénicos, sino que su modificación intragástrica por eventos de oxidación-reducción puede cambiar su naturaleza química y convertirlos en nitrosocompuestos muy activos como las N-nitroureas. Este último nitrosocompuesto mencionado se considera más mutagénico que la molécula orgánica N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (14) de la cual se sabe por experimentación animal que induce a adenomas, adenocarcinomas y a la aparición de células cancerosas.(8) Estos fenómenos de biotransformación gástrica se ven favorecidos en la mayoría de las ocasiones por un pH alcalino, ya que este le proporciona estabilidad química a la molécula sintetizada y reducciones nítricas eficientes.

El origen de los N-nitrosocompuestos pueden ser de tipo endógeno, que es una formación habitual de N-nitrosocompuestos en el estómago, y otros que se forman previamente ya sea por que están incluidos en los alimentos y fármacos debido a su mecanismo de elaboración. La génesis endógena de N-nitrosocompuestos inicia cuando los nitratos se reducen a nitritos por los microorganismos

Figura 2. Mucosa gástrica de de uno de los ratones del grupo experimental que consumió habas, al cabo de 4 meses de seguimiento, en ella se aprecia disminución importante de la población glandular, acompañada de algunos cambios reparativos evidenciados por la presencia de mitosis en los cuellos glandulares.

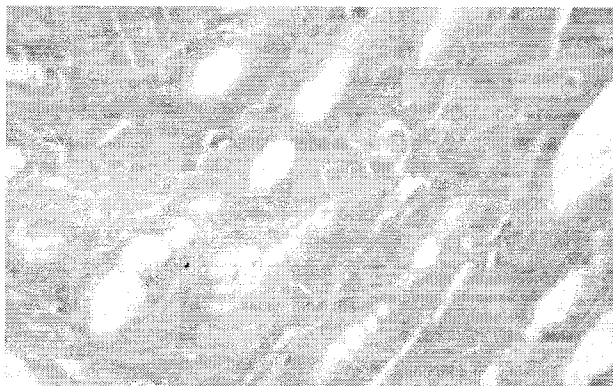


Figura 3. Disminución marcada de la población glandular, con dilatación marcada de la luz glandular y depleción de moco (ver texto)



Figura 4. Presencia de un infiltrado inflamatorio de predominio mononuclear en la lámina propia (ver texto).

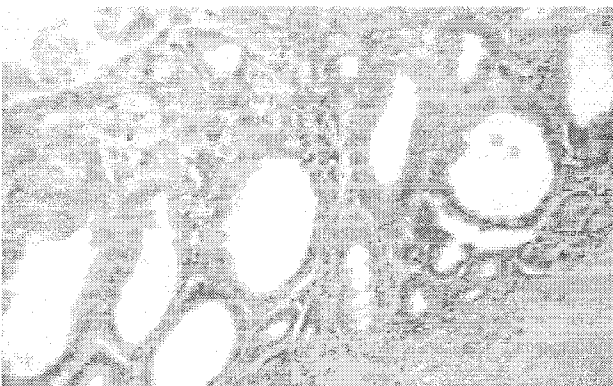


Figura 5. Distorsión arquitectural del componente glandular (ver texto).

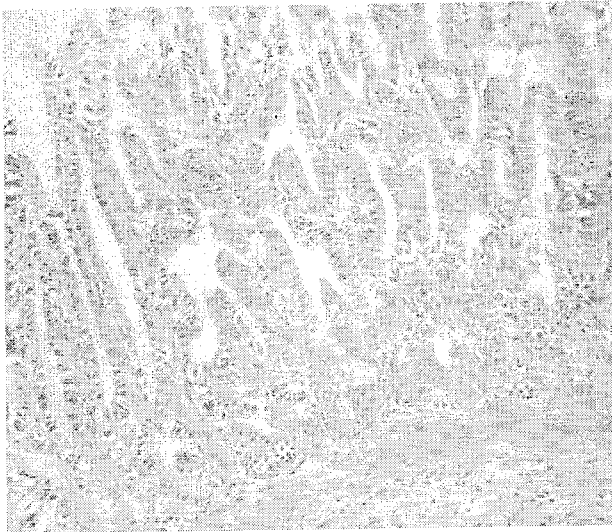


Figura 6. Distorsión arquitectural acompañada por atipia nuclear, aumento en el número de mitosis y seudestratificación, favoreciendo un proceso displásico.

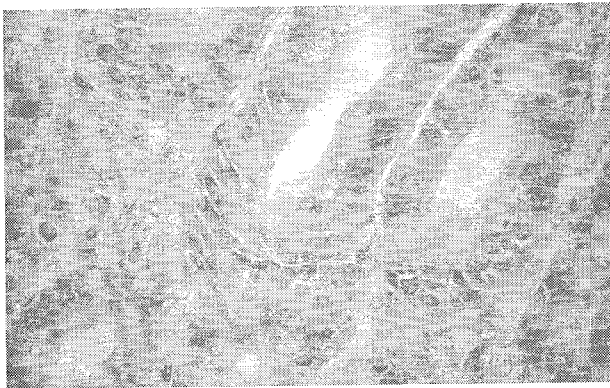
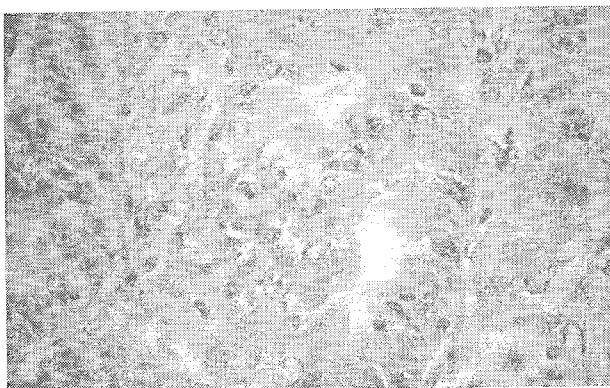


Figura 7 Cambios histopatológicos de un carcinoma *in situ*.



de la cavidad oral, posteriormente en el estómago los nitritos se biotransforman en óxido nítrico debido al pH ácido allí predominante. Bajo condiciones como la de gastritis crónica, patología que se presentó durante el seguimiento del grupo experimental, los nitritos se llegan a oxidar en el estómago a moléculas nitrosantes como N_2O_3 y N_2O_4 de modo que al reaccionar se formen N-nitrosocompuestos.

Los granos de habas (*Vicia faba*), por su parte, en su composición química pueden llegar a tener aproximadamente 0.35nmol de mutágeno(14) ya que se ha considerado que 4-cloro-metoxiindol es un compuesto natural presente en *Vicia faba* y al reaccionar con nitratos se obtiene como producto un N-nitroso compuesto. Todos los compuestos indólicos nitrados pueden alterar significativamente la comunicación intracelular, comportándose como un potencial promotor tumoral.(17)

Algunos estudios realizados *in vitro* han demostrado que la nitrosación del 4-cloro-6-metoxi indol tiene potencial efecto genotóxico y sobre todo altera la comunicación intracelular;(17) por otro lado los cloro indoles nitrosados se han considerado moléculas mutagénicas con efectos potenciales para promoción tumoral.

Por lo anteriormente mencionado y de acuerdo a las evidencias histopatológicas de las mucosas gástricas de los ratones experimentales, es factible atribuir a los componentes nítricos presentes naturalmente en los granos de *Vicia faba*, nitrosados a nivel intragástrico, los cambios histopatológicos encontrados; cambios que como se deducen de esta investigación, no siempre están asociados a la infección por *H. pylori*.

El mecanismo carcinogénico de estos nitrosocompuestos de génesis intragástrica se facilita, como se mencionó anteriormente, por el aumento del pH, favoreciendo la transformación química de nitratos provenientes de la dieta. La formación de nitrosoaminas y nitrosoamidas es mayor cuando concommita con una ingesta excesiva de cloruro de sodio (sal común), en ausencia de moléculas con propiedades antioxidantes.

La suma de los anteriores factores conlleva a la modificación del microambiente gástrico, provocando la aparición de las alteraciones histopatológicas anteriormente descritas.

CONCLUSIONES

Esta investigación demuestra, en modelos de experimentación animal, que la carcinogénesis gástrica tiene una fuerte asociación con el tipo de alimentación a la que se exponen

los grupos experimentales, guardando una relación directamente proporcional con el tiempo de exposición. Esto es a mayor tiempo de exposición mayor riesgo de aparición de lesiones premalignas en la mucosa gástrica, evolucionando de manera progresiva al cáncer.

Esta investigación confirma, desde el punto de vista experimental con modelos animales, que la carcinogénesis gástrica esta relacionada con el consumo de alimentos ricos en nitritos como el caso de la *Vicia faba* (habas) los cuales se ven potencializados con el consumo excesivo de NaCl (cloruro de sodio).

La carcinogénesis gástrica esta precedida por un espectro de alteraciones histopatológicas entre las cuales se observa la gastritis crónica activa, gastritis crónica atrófica, displasia gástrica y carcinoma in situ.

El tipo de cáncer que se documento en esta investigación corresponde al adenocarcinoma de tipo intestinal, el cual esta asociado a factores medioambientales, entre ellos la dieta.

Esta investigación es un aporte adicional que demuestra el origen multifactorial del carcinoma gástrico.

RECOMEDACIONES

Es importante darle continuidad a estos trabajos de experimentación con modelos animales que van a permitir un mejor entendimiento de la patogenia del carcinoma gástrico. El cáncer gástrico como enfermedad crónica y por su carácter multifactorial necesita de equipos multidisciplinarios que planteen proyectos de investigación conducentes a una mejor comprensión de los mecanismos que conllevan a su desarrollo. Una vez se aclaren dichos mecanismos, los programas de promoción, prevención y los procesos terapéuticos van a ser mucho más efectivos y racionales que los que hoy en día se tienen para hacerle frente a esta terrible enfermedad.

El grupo de investigación, en una segunda fase del proyecto, va a continuar trabajando bajo esta misma perspectiva, en el estudio de los reguladores del ciclo de división celular y su papel en la carcinogénesis gástrica.

REFERENCIAS

1. **OMS World Health Organization.** The World Health Report Geneva: WHO 1997
2. **Howson CP, Hiyama T, Wynder EL.** The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. PMID: 3533579 [PubMed - indexed for MEDLINE]. *Epidemiol Rev* 1986; 8: 1-27
3. **Instituto Nacional de Cancerología. Colombia.** Mortalidad Nacional por tipo cáncer 2000 a 2002. www.incancerologia.gov.co. 2007.
4. **Montes G, Cuello C, Gordillo G, Pelon W, Johnson W, Correa P.** Mutagenic activity of gastric juice. PMID: 389416 [PubMed - indexed for MEDLINE]. *Cancer Lett* 1979; 7(6): 307-12
5. **Tannenbaum SR, Moran D, Falchuk KR, Correa P, Cuello C.** Nitrite stability and nitrosation potential in human gastric juice. PMID: 7317877 [PubMed - indexed for MEDLINE]. *Cancer Lett.* 1981; 14(2): 131-6.
6. **Bodger K, Crabtree JE.** Helicobacter pylori ans gasctric inflammation. *Br Med Bull* 1998; 54: 139-50
7. **Forman D.** Helicobacter pylori infection and Cancer. *Br Med Bull* 1998; 54:71-8.
8. **IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.** Schistosomes, liver flukes and helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon 1994; 61: 1-241.
9. **Watanabe S, Tsugane S, Yamaguchi N.** Etiology. In: **Sugimura T, Sasako M, eds.** Gastric Cancer Oxford University Press, 1997. p. 33-51.
10. **Shibata D, Weiss LM.** Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1992; 140: 769-774.
11. **Kramer BS, Johnson KA.** Other gastrointestinal cancers: stomach, liver. In: Greenwald P, Kramer BS, Weed DL, eds. Cancer prevention and control. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 673-94.
12. **Keneller RW, Mclaughlin JK, Bjelke E, Schuman LM, Blot WJ, Wacholder S, et al.** A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population Cancer 1991; 68: 672-678
13. **Bedoya A.** Hábitos alimentarios y gastritis crónica atrófica el el departamento de Nariño. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 2000; 15(3).
14. **Piacek-Llanes BG, Tannenbaum SR.** Formation of an activated N-nitroso compound in nitrite-treated fava beans (*Vicia faba*). PMID: 7151253 [PubMed - indexed for MEDLINE] 1982
15. **Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, et al.** Effects of sodium chloride, saccharin, phenobarbital and aspirin on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl- N³nitro- N- nitrosoguanidine. *Jpn J Cancer Res* 1984; 75: 494-501.
16. **Kneller RW, Guo WD, Hsing AW, Chen JS, Blot WJ, Li JY, et al.** Risk factors for stomach cancer in sixty-five. *Chinese Counties Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1992; 1: 113-118
17. **Hemrika G.M, Tiedink, Win M.F Jongen, Laura H.J. De Haan, Jan H.Koeman.** In vitro testing and the carcinogenic potential of several nitrosated indole compounds. *Cell Biology and Toxicology*, 1991; 7(4): 371.