

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

CARCINOGENÉISIS PANCREÁTICA EXPERIMENTAL

PAPEL PROTECTOR DE LA NIACINA EN SU DESARROLLO

**TESIS DOCTORAL
2014**

AUTOR: D. Víctor Méndez Cenizo

DIRECTORES: Profesor D. Juan Jesús Cruz Hernández
Profesor D. José Ignacio Paz Bouza



**VNIVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA
FACULTAD DE MEDICINA**

Avda. Alfonso X el Sabio, s/n 37007 Salamanca

Tfno: 923 294400 Ext: 1885 Fax: 923 294593

www.usal.es/dermed

D. Juan Jesús Cruz Hernández, Catedrático del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca y **D. José Ignacio Paz Bouza**, Catedrático del Departamento de Biología Celular y Patología de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada "CARCINOGENÉSIS PANCREÁTICA EXPERIMENTAL. PAPEL PROTECTOR DE LA NIACINA EN SU DESARROLLO", para optar al Grado de Doctor presentada por **D. Víctor Méndez Cenizo**, ha sido realizada en el Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca, bajo mi dirección, cumpliendo todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa ante el Tribunal Calificador. Considerando que constituye un trabajo de Tesis Doctoral, autorizamos su presentación ante la Comisión de Tercer Ciclo de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, firma la presente en Salamanca a cuatro de noviembre de dos mil catorce.

Fdo. Juan Jesús Cruz Hernández

Fdo.: José Ignacio Paz Bouza

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al profesor D. José Ignacio Paz Bouza su ayuda en la realización de esta Tesis, sin su sabia dirección no hubiera sido posible llevar a cabo este estudio.

Al profesor D. Juan Jesús Cruz Hernández por su ayuda y colaboración para poder realizar este trabajo.

A los miembros del Departamento de Anatomía Patológica por su apoyo y disposición en todo momento y a los miembros del Animalario de la Universidad de Salamanca por su colaboración en el cuidado de los animales.

También quisiera reconocer el apoyo del Doctor López Bravo, su amistad desde hace años y especialmente durante el tiempo de la elaboración de este trabajo.

CARCINOGENESIS PANCREÁTICA EXPERIMENTAL

PAPEL PROTECTOR DE LA NIACINA EN SU DESARROLLO

ÍNDICE

	<i>Página</i>
ABREVIATURAS	8
INTRODUCCIÓN	10
1.CÁNCER PANCREÁTICO HUMANO	12
1.1. Descripción anatómica del páncreas	12
1.2. Alteraciones pancreáticas más comunes	16
1.2.1. Pancreatitis	16
1.2.2. Tumores pancreáticos	16-25
2. ADENOCARCINOMA DUCTAL DEL PÁNCREAS	26
2.1. Epidemiología e Incidencia	26
2.2. Clínica	27-33
2.3. Diagnóstico	33-52
2.4. Inmunohistoquímica	52-53
2.5. Marcadores genéticos. Oncogenes implicados	53
2.5.1. El oncogén K-ras	54-56
2.5.2. Gen supresor p53	56-58
2.5.3 Gen Smad (dpc4)	58-59
2.5.4. Gen p16	59-60

	<i>Página</i>
3. CARCINOGENESIS EXPERIMENTAL	61
3.1. Desarrollo en modelos experimentales	61
3.2. Recuerdo histórico	61-65
3.3. Modelo experimental rata-azaserine	65-67
3.4. Modelo experimental Hámster-BOP. Estructura del páncreas en el Hámster.	68-72
3.5. Las Nitrosaminas	72-75
3.6. Metabolismo de Nitrosaminas	75-76
3.7. Alquilación del DNA	77-78
4. MODIFICACIONES DE LA CARCINOGENESIS PANCREÁTICA EXPERIMENTAL	 79
4.1. Papel de la Dieta	79
4.2. Acción del Aloxán	79
4.3. Acción de la Pancreatectomía	80
4.4. Acción de Carbomil- β -metilcolina clorhidro	80
4.5. Acción de las Hormonas gastrointestinales	80-82
4.6. Acción de la Estreptozotina	82
4.7. Acción de la Etionina	82
4.8. Acción de los Retinoides sintéticos	83
4.9. Acción de las Hormonas sexuales	83
4.10. Acción de la Niacina	84-89

5. HISTOGÉNESIS DE CARCINOMAS PANCREÁTICOS	<i>Página</i>
INDUCIDOS EXPERIMENTALMENTE	90
5.1. Modelo azaserine-rata	90
5.2. Cuatro grupos celulares	91
5.3. BHP en el Hámster sirio dorado	92
5.4. BOP en el Hámster sirio dorado	93-103
6. CITOFOTOMETRÍA	104-105
7. OBJETIVOS	106
8. MATERIAL Y MÉTODOS	107
8.1. Material – Hámster sirio dorado	107
8.1.1. Primer experimento	108-109
8.1.2. Segundo experimento	110-111
8.2. Métodos de diagnóstico de las lesiones pancreáticas	111
8.2.1. Microscopía óptica	111-112
8.2.2. Inmunohistoquímica	112
8.2.2.1. Gen supresor p53	113
8.2.2.2. CEA y CA19-9	113
8.2.2.3. Detección de mutaciones del gen K-ras	114-115
8.2.3. Insulina	115-116

	<i>Página</i>
9. RESULTADOS	117-128
10. DISCUSIÓN	129-137
11. CONCLUSIONES	138-139
BIBLIOGRAFÍA	140-165

ABREVIATURAS

ACTH	Hormona adrenocorticotropa
ADH	Hormona adiuretica
ADP	Adenosin difosfórico
BAP	N-nitrosobis (2-acetoxipropil) amina
BHP	N-nitrosobis (2-hidroxipropil) amina
BOP	N-nitrosobis (2-oxopropil) amina
CA 19-9	Antígeno carbohidrato-19.9
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CPRE	Colangio pancreatografía retrógrada endoscópica
CPRM/ERCP	Colangio pancreático resonancia magnética
DIPN	Diisopropanolnitrosamina
DMBA	7-12 Dimetilbenzantraceno
DMNA	Dimetilnitrosamina
DMNM	Dimetilnitrosomorfolina
DHPN	(2,2'-dihidroxi-di-n-propilnitrosamina)
FAD	Flavin - adenín – dinucleótido
FCE	Factor de crecimiento epidermal
GGT	Gamma glutamil transpeptidasa
HAQO	4-hidroxiaminoquinoleina - 1-óxido
HPOP	N-nitroso (2-hidroxipropil) (2 oxopropil) amina
2-HPPN	2-hidroxipropil-n-propilnitrosamina
MFO	Factor microsomial oxidante

MNCO	N- (N-metil - N - nitrosocarbamoil) - L-ornitina
MNU	N-metil –N-nitrosourea
MPN	Metil-N-propilnitrosamina
NAD	Niacina - adenín- dinucleótido
NADP	Niacina – adenín-dinucleótido-3-fosfato
NCAA	Nódulos de células acinares atípicas
NCAP	Células acinares atípicas polimerasa
NNDM	N-Nitroso -2.6- Dimetilmorfolina
2OPPN	2-oxopropil-n-propilnitrosamina
RER	Retículo endoplásmico rugoso
RM	Resonancia magnética
TAC/TC	Tomografía axial computerizada
TMPI	Tumor mucinoso papilar intraductal
TNEP	Tumor neuroendocrino de páncreas
TPA	12-0 tetradecanoil - forbol - 13 - acetato
TQM	Tumor quístico mucinoso
TQP	Tumor quístico pancreático
USE	Ultrasonografía endoscópica
SZ	Estreptozotocina

INTRODUCCIÓN

En los últimos 60 años, el **cáncer de páncreas** se ha incrementado en todo el mundo de manera relevante. En EE.UU., por ejemplo, significa la cuarta causa de muerte detrás del cáncer de pulmón, colorectal y de mama. Sin embargo, este aumento del cáncer de páncreas y sus distintas etiologías no ha sido motivo suficiente para que hayan aumentado los trabajos de investigación, especialmente si los comparamos con los estudios sobre otros tipos de cáncer, como los de mama o colon.

El diagnóstico temprano en el cáncer de páncreas es muy difícil, ya que se trata de un tumor de crecimiento silente y los síntomas son evidentes cuando el tumor se encuentra muy desarrollado. Por ello, es importante una mayor investigación que pueda proporcionar datos sobre su origen y evolución.

El desarrollo experimental de un modelo animal muy parecido al carcinoma pancreático en el ser humano, nos ha servido para investigar distintos aspectos de la enfermedad. El modelo del Hámster Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*), junto con el BOP (N-nitrosobis (2-oxopropil) amina), nos permite un acercamiento al origen celular del mismo y diferenciar lesiones cancerígenas de las que no lo son. Al mismo tiempo podemos estudiar distintos tratamientos y sustancias que permitirían evitar la aparición de tumores o impedirían su desarrollo.

Una de las características de sobra conocidas del páncreas es su función mixta, endocrina y exocrina, por lo que cualquier estudio experimental no debe pasar por alto ambas funciones.

El objetivo de este trabajo que presentamos es realizar una investigación, lo más profunda posible, sobre este tipo de cáncer. Para ello hemos utilizado la microscopía óptica, la microscopía electrónica, citofotometría, marcadores tumorales, inmunología y niveles de insulina en suero. Asimismo, hemos analizado la evolución de dicho cáncer desde las primitivas lesiones tumorales con sus marcadores y niveles de insulina en suero, para determinar tanto el diagnóstico, lo más precoz posible, como la hipotética protección de la NIACINA frente a los elementos cancerígenos.

1. CÁNCER PANCREÁTICO HUMANO

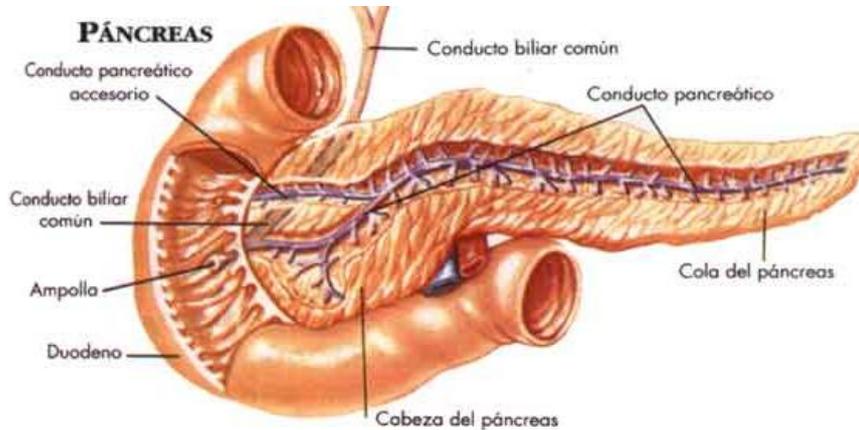
1.1. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL PÁNCREAS.

El páncreas es un órgano alargado, con una longitud aproximada de entre 20-25 centímetros, compuesto por lóbulos, que se encuentra en la concavidad del duodeno. Pesa entre 65 y 160 gramos. Se divide en cuatro partes: Cabeza, cuello, parte central y cola. Presenta, como ya hemos dicho, dos funciones claramente diferenciadas: exocrina y endocrina.

El páncreas exocrino libera el jugo pancreático que contiene enzimas digestivas, (tripsina, lipasa, amilasa, y en menor proporción maltasas). Está formado por tres tipos de células: acinares, centroacinares y ductales.

El páncreas endocrino, está formado por células A y B segregando insulina y glucagón, responsables del control de la glucemia.

Histología del páncreas



Es una glándula acinar, con lóbulos unidos entre sí por un estroma de tejido conjuntivo, en el que se encuentran los vasos sanguíneos, linfáticos, nervios y conductos interlobulares.

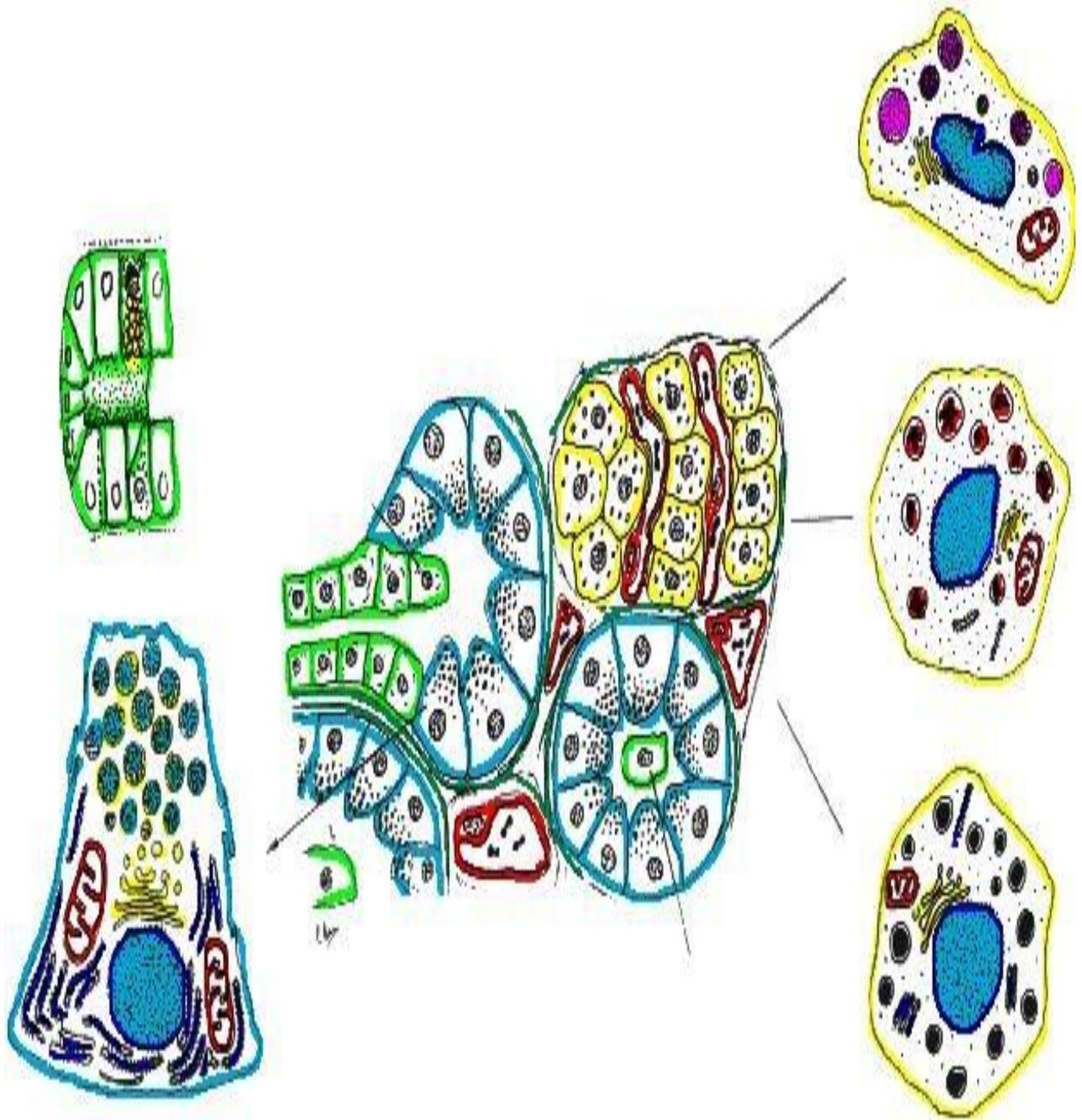
Los acinos son unidades secretoras básicas del páncreas exocrino, forman estructuras ovaladas de 10-80 μ m, constituidas por células acinares, delimitan un espacio luminal común donde se sitúan las células centroacinares.

Las células acinares segregan enzimas que sintetizan y liberan a la luz de los conductos. Estos enzimas digestivos se encuentran en forma inactiva en gránulos distribuidos por el citoplasma de la célula acinar y se liberan por estímulo de las hormonas que tienen su origen en el estómago y en el intestino, debido a la acción de los alimentos.

La secreción de las células acinares es recogida por los ductus que forman parte de los canalículos. Estas células acinares conforman el 80% del tejido pancreático. Los canalículos del páncreas en su porción exocrina están formados por dos sistemas de canales: primarios y secundarios.

Existe un canal o ductus principal, llamado de Wirsung que atraviesa la totalidad de la glándula y uno secundario llamado de Santorini. El canal de Wirsung se forma por la confluencia de canales o ductus secundarios en la cola; pasa por el cuerpo y cabeza y se une al colédoco, formando la ampolla de Vater, que se abre al duodeno a través de la papila mayor. El canal de Santorini se sitúa en un plano más anterior que el principal, desembocando en el duodeno a nivel de la papila menor, unos dos centímetros por encima de la mayor.

Los canales secundarios se clasifican en intralobulares e interlobulares. Los intralobulares drenan el flujo pancreático a partir de los acinos, mientras que los interlobulares drenan el flujo pancreático de los ductos intralobulares.



ESQUEMA DE LA HISTOLOGIA DEL PANCREAS

1.2 ALTERACIONES PANCREÁTICAS MÁS COMUNES.

1.2.1. Pancreatitis

La pancreatitis es la inflamación de la glándula pancreática, que se produce cuando se activan los enzimas pancreáticos y comienzan a digerir el páncreas. Se asocia a enfermedades biliares y al alcoholismo ⁽¹⁾ y puede presentar dos formas: aguda y crónica, las dos son graves y susceptibles de presentar complicaciones.

La aguda se presenta de forma súbita, con dolor abdominal y elevación de los enzimas pancreáticos en sangre y orina, suele ser causada por cálculos biliares y, por lo general, remite a los pocos días de aplicar el tratamiento.

La crónica es una inflamación prolongada en el tiempo, que produce cambios irreversibles con dolor y disfunciones pancreáticas permanentes ⁽²⁾. La causa más frecuente es la dependencia del alcohol.

1.2.2. Tumores pancreáticos.

Hay varios tipos de tumores pancreáticos, cada uno con su propia incidencia. El más frecuente de dichos tumores pancreáticos es el adenocarcinoma mucossecretor de origen ductal y es el de referencia cuando se habla de este tipo de cáncer. Los tumores no ductales, de origen acinar, endocrino o mesenquimal son menos frecuentes.⁽³⁾

CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES PANCREÁTICOS

La patología tumoral pancreática es la cuarta causa de muerte y la segunda , después del cáncer colorrectal, entre los tumores digestivos. El adenocarcinoma ductal puede significar el 90% de todos los tumores de dicho órgano; los tumores endocrinos y los quísticos de páncreas cubren el 10% restante. Los endocrinos son infrecuentes pero muy importantes por la clínica que presentan y los quísticos un pequeño grupo que suelen ser olvidados en la práctica. Hasta hace pocos años hablábamos del cistadenoma seroso y mucinoso. En la actualidad la OMS ha establecido una nueva clasificación. Se estima que representan el 1% de todos los tumores pancreáticos y el 10% de todos los quistes del páncreas. El avance en las técnicas radiológicas ha contribuido a conseguir una mayor precisión en la morfología macroscópica y en su aproximación diagnóstica. Siguiendo el aspecto radiológico prevalente de estas lesiones, se han dividido en dos grupos: tumor sólido pancreático y tumor quístico pancreático.^{(4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19)}

I. Tumores primarios

A. Páncreas exocrino

1. Benigno

- a) Cistadenoma seroso
- b) Cistadenoma mucinoso
- c) Adenoma mucinoso papilar intraductal
- d) Teratoma quístico mucinoso

2. **“Bordeline”** (incierto potencial maligno)
 - a) Tumor quístico mucinoso con moderada displasia
 - b) Tumor mucinoso papilar intraductal con displasia moderada
 - c) Tumor sólido pseudopapilar

3. **Maligno**
 - a) Adenocarcinoma ductal
 - b) Carcinoma indiferenciado (anaplásico)
 - c) Cistadenocarcinoma seroso
 - d) Cistadenocarcinoma mucinoso: no invasivo o invasivo
 - e) Carcinoma mucinoso papilar intraductal: no invasivo o invasivo
 - f) Cistadenocarcinoma de células acinares
 - g) Carcinoma sólido papilar

B. Páncreas endocrino

1. Tumores de islotes celulares funcionales y no funcionales

II. Tumores secundarios

A. Tumores quísticos del páncreas exocrino

1. Pseudoquiste
2. Quiste congénito
3. Quiste linfoepitelial
4. Quiste endometrial

5. Quiste de retención
6. Quiste parasitario
7. Quiste de pared duodenal periampular
8. Quiste enterógeno

TUMORES EXOCRINOS BENIGNOS

Los tumores primarios benignos del páncreas exocrino son: el cistadenoma seroso y el tumor quístico mucinoso (TQM).

Cistadenoma seroso

Es un tumor benigno que produce un líquido seroso, frecuente en mujeres en la quinta década de su vida. Aparece aislado o asociado al síndrome de Von Hippel Lindau.

La presentación clínica es inespecífica o está relacionada con el efecto de presión sobre las estructuras adyacentes. El resto son hallazgos accidentales durante una exploración radiológica realizada por otras causas. La predilección por la cabeza pancreática no implica la presencia de ictericia.

Microscópicamente se reconocen dos tipos:

- a) clásico o variante microquística, bien delimitado, con quistes finos (menos de 2 cm), cicatriz central y apariencia en “esponja”,
- b) macroquístico u oligocístico, caracterizado por la presencia de uno o más quistes (mayores de 2 cm), con cicatriz central y márgenes mal definidos. Pueden

alcanzar un tamaño importante (hasta 15 cm). Incluso puede existir un patrón mixto (variedad micro y macroscópica).

Tumor quístico mucinoso

Este tumor unido multilocular está formado por un epitelio secretor de mucina. La incidencia es casi exclusiva en mujeres entre 20 y 80 años, hasta el punto que en la actualidad se diagnostican como tumores mucinosos papilares intraductales (TMPI) los tumores quístico-mucinosos que se atribuían a varones.

Si el tumor es pequeño, desde la perspectiva clínica, se considerará un hallazgo incidental. En el caso que sea voluminoso se mostrará como una masa palpable o con síntomas por efecto compresivo sobre las estructuras adyacentes. En las formas malignas puede presentar una elevación de marcadores tumorales como el CEA o el CA19-9. La malignidad se correlaciona con la presencia de proyecciones papilares y/o nódulos murales que están localizados, preferentemente, en el cuerpo y cola del páncreas.

Aunque es fácil diferenciarlo de otros tumores quísticos, no lo es tanto respecto al tumor mucinoso papilar intraductal (TMPI) y el pseudoquiste (arquitectura multilocular, nódulos parietales y sin clínica de pancreatitis aguda o crónica).

TUMORES EXOCRINOS “BORDELINE”

Dentro de los tumores primarios exocrinos y en el grupo “borderline” (con cierto potencial maligno) hay dos variedades: el tumor mucinoso papilar intraductal (TMPI) y el tumor sólido pseudopapilar.

Tumor mucinoso papilar intraductal

Este es un tumor “joven” ya que el primero se describió en 1980. Durante mucho tiempo se ha incluido en la pancreatitis crónica o en los tumores quísticos mucinosos.

Microscópicamente, el dato característico es la dilatación segmentaria o difusa del conducto principal o secundario sin estenosis.

Es posible distinguir dos tipos:

- 1) “ectasia ductal secretor de moco” con el conducto relleno de mucina y la línea epitelial lisa o con unas finas papilas microscópicas.
- 2) el “velloso papilar” con proliferaciones polipoideas papilares y con material mucoide en el conducto pancreático que a su vez está dilatado.

En el pasado, este tumor se diagnosticaba casi exclusivamente con colangio pancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE), apreciándose una papila dilatada con protusión en la luz duodenal y salida de mucina, dilatación del wirsung/ramas colaterales y múltiples defectos de llenado en la pancreatografía (proliferaciones papilares o “bolas mucinosas”).

Actualmente el diagnóstico puede realizarse con la TC y la RM, mostrando los cambios morfológicos antes mencionados.

La RM, incluida la colangio-pancreato-resonancia magnética (CPRM), puede demostrar la comunicación entre el tumor y el conducto principal.

Tumor sólido pseudopapilar (Neoplasia epitelial sólida y papilar)

Es más frecuente en mujeres jóvenes, se presenta más usualmente como un patrón quístico que como un tumor sólido, debido a la presencia de hemorragia y necrosis e incluso con una cápsula gruesa que puede calcificarse. Lo podemos ver como un tumor quístico único o multilocular, que no es posible distinguir de cualquier masa quística en los estudios radiológicos.

TUMORES EXOCRINOS MALIGNOS

Son el adenocarcinoma ductal y el carcinoma anaplásico.

Adenocarcinoma ductal

El adenocarcinoma ductal es el más abundante de todos los tumores pancreáticos, representa el 80 – 90% del total. Por lo general se presenta como una masa sólida, aunque puede hacerlo con cambios quístico-degenerativos (necrosis y hemorragia), sobre todo en los tumores grandes. En estos casos pueden darse errores diagnósticos con otras entidades como los tumores quísticos (mucinosos y serosos).

Carcinoma anaplásico

El carcinoma anaplásico es un tumor muy raro que, debido a la necrosis, puede aparecer bajo la forma de cualquier tumor quístico pancreático.

TUMORES ENDOCRINOS

Los tumores endocrinos tienen una incidencia muy baja (1 – 2% de todos los tumores pancreáticos). Tanto los funcionantes como los no funcionantes se presentan generalmente como tumores sólidos, aunque en menos del 1% de los casos parecen similares a cualquier “tumor quístico”.

Tumores quísticos

Los tumores quísticos secundarios del páncreas exocrino son: el pseudoquiste, el quiste congénito y el quiste linfoepitelial.

Pseudoquiste

Representan el 90% de las lesiones quísticas del páncreas. Se puede localizar fuera del páncreas especialmente asociado a la pancreatitis crónica. Su aspecto muestra una pared fibrosa sin lámina epitelial. Cuando la lesión presenta septos, es indistinguible de los tumores quísticos, especialmente con el tumor quístico mucinoso y el tumor pseudopapilar en su variante quística. El curso clínico de la pancreatitis nos ayudará en el diagnóstico de esta entidad. Si el pseudoquiste se asocia al adenocarcinoma ductal, éste último puede pasar desapercibido.

Quiste congénito

Su característica fundamental es la falta de comunicación con el “árbol ductal” y la presencia de una lámina epitelial. La mayoría de las veces supone un hallazgo incidental dado que, por lo general, es de pequeñas dimensiones. Pueden ser únicos, planteándose el diagnóstico diferencial con el tumor mucinoso papilar intraductal. Las técnicas de ERCP y la CPRM pueden demostrar si hay o no comunicación ductal. Si las lesiones son múltiples, generalmente se asocian a la enfermedad de Von Hippel Lindau o a la enfermedad poliquística del adulto.

Quiste linfoepitelial

El quiste linfoepitelial, también, como en el caso anterior, es un hallazgo incidental, presentándose como una masa quística con pared fina e indistinguible de otras lesiones quísticas pancreáticas.

Otras lesiones pancreáticas

Existen otras lesiones quísticas no habituales como los quistes endometrial, parasitario o enterógeno, por ejemplo, que pueden ser similares en su presentación y el diagnóstico lo confirmará el estudio histológico. El absceso puede resultar fácilmente diferenciable del tumor por la historia clínica (pancreatitis aguda, fiebre) y los hallazgos radiológicos (burbujas de gas en un 25% de los casos).

Aún cuando con el progreso de las técnicas radiológicas (principalmente los USE, la TC y la RM) logramos diagnosticar un gran número de tumores pancreáticos, en algunos casos a pesar de los datos clínicos, radiológicos e incluso los hallazgos citológicos, nos podemos encontrar sin un diagnóstico de certeza. Esto es consecuencia de la gran variedad de tipos celulares existente, y significa, en muchos casos, que nos encontramos ante un verdadero “reto” diagnóstico. La colaboración multidisciplinaria de todos los servicios implicados como digestivo, cirugía, oncología, radiología y anatomía patológica, permitirá un adecuado diagnóstico y tratamiento de estos pacientes con tumores quísticos de páncreas.

2. ADENOCARCINOMA DUCTAL DEL PÁNCREAS

2.1. EPIDEMIOLOGÍA E INCIDENCIA

A partir de la segunda mitad del Siglo XX, los casos de cáncer de páncreas se han incrementado a nivel mundial, convirtiéndose en la cuarta causa de muerte en los EE.UU, superados sólo por los cánceres de pulmón, colorrectal y mama. El cáncer de páncreas supone entre el 2 y el 5% de todas las muertes por cáncer, calculándose una supervivencia a los 5 años muy baja, por debajo del 5%. En España la mortalidad por esta causa es la más baja de Europa con 3/100000 habitantes por año, situándose en quinto lugar en los hombres y en el décimo en las mujeres, estadísticas muy similares a las de Grecia y Portugal.

El término carcinoma de páncreas engloba a todos los adenocarcinomas de origen ductal o estructuras íntimamente relacionadas (ampolla de Vater), la mayoría de las cuales, en torno al 75%, se localizan en la región de la cabeza pancreática.

2.2. CLÍNICA

ETIOLOGÍA

Son varios los aspectos etiológicos implicados, aunque nuestro conocimiento sobre ellos es, en realidad, bastante escaso.

1. **Sexo:** mayor incidencia en hombres, con proporción 2:1. Aunque aumenta en mujeres con la edad, especialmente sobre los 70 años.⁽²⁰⁾
2. **Edad:** el 80% de los casos se dan entre los 60 y 80 años, siendo infrecuente que se presente antes de los 40 años, con porcentajes para esta edad inferiores al 2%.⁽²¹⁾
3. **Raza:** es más frecuente en los países occidentales e industrializados, aunque existen grandes diferencias geográficas. En la raza negra es más abundante.⁽²²⁾
4. **Tabaco:** aparece, en diversos estudios, como el factor de riesgo más constante, de modo que el consumo de cigarrillos llega a doblar el riesgo de padecer cáncer de páncreas, probándose la relación entre el tumor y el número de cigarrillos consumidos. Además aumenta el riesgo si se asocia con café y alcohol. La edad media de aparición del cáncer de páncreas en fumadores es de 10 a 15 años antes que en los no fumadores.⁽²³⁾

- 5. Alimentación:** constituye un factor de riesgo la alimentación proteica y grasa, con déficit de vegetales, además se ha detectado cierta relación entre la dieta de cada región y la aparición del cáncer de páncreas^{(24) (25)}.
- 6. Ingesta de café:** a pesar de las muchas controversias originadas por este factor, se admite una correlación entre el cáncer de páncreas y la ingesta de café, estimándose que el riesgo de manifestarse el cáncer aparece a partir del consumo de cinco tazas de café por día.^{(26) (27) (28)}
- 7. Litiasis biliar y colecistectomía:** es aceptado por una parte de la práctica médica como factor predisponente, aunque no es seguro estadísticamente.⁽²⁹⁾
- 8. Sustancias industriales:** se ha detectado un mayor riesgo en trabajadores del metal e industrias químicas, en las que se manejan sustancias alquilantes a partir de 10 años de actividad laboral.⁽³⁰⁾
- 9. Pancreatitis crónica:** la existencia de un tipo de pancreatitis crónica familiar es conocida a partir de los años setenta del siglo pasado. Dicha inflamación es heredada con un rango autosómico dominante de penetración incompleta. Se ha comprobado que una tercera parte de los miembros de familias afectadas de pancreatitis crónica familiar desarrollan cánceres de páncreas, aún cuando otros miembros de la misma familia no resultan afectados.

Respecto a la pancreatitis crónica no hereditaria la experiencia se muestra contradictoria, por lo que parece que su correlación es aceptable; sin embargo, puede afirmarse que ambas enfermedades tienen factores etiológicos comunes y por la semejanza clínica es difícil establecer una diferencia diagnóstica. También está admitido que el cáncer de páncreas produce una pancreatitis al obstruir el conducto pancreático.^{(31) (32)}

10. Diabetes: no queda demostrado que la diabetes pueda elevar el riesgo de cáncer de páncreas, aunque sí se admite que el cáncer empeora una diabetes mellitus preexistente o que puede provocar una de nueva aparición.^{(33) (34)}

11. Cirugía gástrica: las opiniones son a este respecto contradictorias, con investigaciones que estiman un incremento de riesgo de cáncer de páncreas en pacientes sometidos a cirugía gástrica y otras en las que no se observa relación alguna.⁽³⁵⁾

12. Influencia familiar: parece deberse más a una relación casual que a unos resultados estadísticamente significativos.^{(36) (37)}

13. Alcohol: el alcohol es un factor coadyuvante en la aparición del cáncer de páncreas (el riesgo de los bebedores habituales es el doble que para los que no beben).^{(38) (39)}

14. Agentes físicos y químicos: son varios los productos implicados, como por ejemplo beta naftilamina y benzidina, exposición radiológica, insecticidas clorados como el lindano y petróleo.⁽⁴⁰⁾

15. Anemia perniciosa: se ignora el mecanismo por el cual contribuiría a la aparición del cáncer de páncreas. En Suecia se han realizado investigaciones que han detectado una cierta relación.⁽⁴¹⁾

HISTORIA NATURAL Y CLÍNICA

La historia del desarrollo natural de este tumor no permite establecer un grupo de alto riesgo, siendo habitual que el diagnóstico se produzca en fases avanzadas con invasión de las estructuras vecinas, lo que puede ocurrir mucho antes de la aparición de los síntomas, presentando metástasis en el momento del diagnóstico en el 50% de los casos. Sólo un 8% de los pacientes son considerados quirúrgicos, y de éstos el 25% son resecables.

El cáncer de páncreas es más frecuente entre los 60 y 80 años, dándose muy raramente por debajo de los 40 años.

Desde que se inician los primeros síntomas, que suelen ser frecuentemente muy difusos, por lo que en muchas ocasiones pasan desapercibidos, hasta que se establece el diagnóstico, suelen transcurrir de cuatro a nueve meses.

El paciente con cáncer de páncreas puede presentar varios síntomas, entre los que destacan:

- **Pérdida de peso:** es el más frecuente, acompañado, por lo general, de anorexia.
- **Dolor:** aparece, entre el 50 y el 90% de los casos en el epigastrio, de inicio insidioso, intermitente, sordo, vago, irradiado a ambos hipocondrios y en ocasiones, a la espalda. Suele incrementarse con las comidas y se acompaña de plenitud postprandial. Muchas veces ofrece el aspecto de tipo cólico y otras de carácter biliar, sobre todo cuando afecta a la cabeza del páncreas. A medida que invade los órganos vecinos, se acentúa más el dolor, aumenta por la noche con el decúbito y se alivia algo al flexionar las piernas o al andar inclinado.
- **Ictericia:** junto a los dos síntomas previos constituye la tríada más importante del cáncer de páncreas, siendo más frecuente y precoz en el cáncer de cabeza, pudiendo ser constante o intermitente. Es debida a la localización del carcinoma en la ampolla de Vater o a la compresión de la porción del colédoco intrapancreático por el tumor.
- **Trastornos intestinales:** puede presentar estreñimiento, diarrea con esteatorrea o ambas cosas, en el 10-20% de los casos.

- **Dispepsias:** aparecen en el 25% de los casos de sospecha de enfermedad, sobre todo si se asocian a otros síntomas.
- **Debilidad y fatiga:** se presentan con cierta frecuencia.

El paciente con cáncer de páncreas presenta una serie de signos objetivos, como son:

- **Tromboflebitis migratoria y flebotrombosis:** aparece en el 50% de los pacientes que lo padecen, aunque no son signos patognomónicos.
- **Hematemesis y melenas:** son síntomas tardíos, por invasión de duodeno, estómago o por varices esofágicas por hipertensión portal.
- **Signo de Courvoisier:** distensión de la vesícula, que suele acompañarse de ictericia y que se presenta como una masa palpable en el hipocondrio derecho.
- **Hepatomegalia:** aparece en el 90% de los casos que hay ictericia y se debe a obstrucción biliar y a infiltración grasa del hígado, no supone un factor de inoperabilidad.
- **Tumoración en el abdomen:** más frecuente en el cáncer de cuerpo y cola.
- **Soplo abdominal:** a veces se oye por compresión de la arteria esplénica.

- **Ascitis y adenopatía.**
- **Necrosis grasa:** se trata de nódulos blandos en la profundidad de la piel del tronco y extremidades, aparece en el cáncer de células acinares.
- **Síndrome por hormonas ectópicas:** sobreproducción de ACTH, ADH.

A veces, el comienzo de la clínica lo constituyen los síntomas debidos a metástasis; así, se ha descrito síndrome nefrótico por trombosis de la vena renal, síndrome de Fanconi, etc.

Por otro lado, ante un paciente mayor de 40 años con pancreatitis aguda sin causa etiológica, debemos sospechar la posibilidad de un carcinoma de páncreas.

2.3. DIAGNÓSTICO

Es muy difícil el diagnóstico del cáncer de páncreas en fases iniciales, siendo por tanto su porvenir muy incierto, por lo que es imprescindible el diagnóstico precoz con el fin de realizar de forma inmediata la intervención o en caso de inoperabilidad, adoptar las medidas oportunas.

EXÁMENES DE LABORATORIO

Muestran alteraciones mínimas y poco específicas, como aumento de la velocidad de sedimentación, discreta anemia ferropénica con estudio de sangre oculta en heces positivo y a veces, aumento de los enzimas pancreáticos en sangre y orina (elastasa 1, amilasa, etc...). En caso de obstrucción biliar, se incrementa la fosfatasa alcalina y GGT, junto a un ligero aumento de la bilirrubina conjugada.

Respecto a los marcadores tumorales, en la actualidad no son adecuados para el diagnóstico precoz, porque se elevan cuando la enfermedad ya se ha diagnosticado por otros medios o el tumor no es resecable; así, el CEA (antígeno carcinoembrionario) aumenta en el 83% de los cánceres pancreáticos, pero también en otras enfermedades pancreáticas benignas y de otra localización ya sean benignas o malignas. Su positividad suele indicar tumor irreseccable.

Por otra parte, el CA19-9 se incrementa de forma más precoz en el 90% de los tumores pancreáticos, aunque también en enfermedades pancreáticas benignas, hepáticas y de las vías biliares. Su sensibilidad es del 79% y su especificidad del 98.5% (el CEA tiene una sensibilidad del 44% y una especificidad del 89%). Parece que puede servir como pronóstico preoperatorio, ya que valores +/- 600U/cc se suelen encontrar asociados con diseminación hematológica o ganglionar y enfermedad avanzada, mientras que los tumores resecables tienen valores en torno a 100U/cc. Respecto a la supervivencia, se ha detectado que un valor por encima de 40U/cc a las dos semanas de la intervención, indica una supervivencia de menos

de 7 meses. De forma que podemos concluir que el CA19-9 representa el marcador más útil en el cáncer de páncreas para saber los estadios, hacer el seguimiento, un pronóstico y para el diagnóstico diferencial. Actualmente existen otros marcadores en estudio (DU-PAN-2, TAG72/CA 72-4 y SPAN-1)

TÉCNICAS DE IMAGEN

RX simple de abdomen: En ocasiones se puede manifestar un aumento del tamaño de la vesícula biliar con una sombra de partes blandas, esplenomegalia, ascitis, etc...

RX de tórax: Puede mostrar adenopatías mediastínicas o diseminación hematógena pulmonar.

RX ósea: En este tumor pueden demostrarse metástasis óseas de tipo osteolítico y osteoblástico.

Estudio radiográfico gastroduodenal: En una tercera parte de los pacientes con cáncer de cabeza de páncreas, puede detectarse un “ensanchamiento del arco duodenal”, signo del “árbol invertido” y compresión externa con erosión e irregularidad del duodeno; en los tumores de cuerpo y cola puede verse deformidad y aplanamiento del antro gástrico y rigidez del estómago o bien desplazamientos del colon y estómago.

Ecografía abdominal: La ultrasonografía puede mostrar masas generalmente por encima de los 2 cm. Es la primera exploración que debe realizarse ante la sospecha de un cáncer de páncreas, siempre teniendo en cuenta que la obesidad y la presencia de gas intestinal pueden dificultar la visión de la glándula. Aunque ecográficamente es posible que aparezcan con distintos patrones, en la mayoría de los casos se observa una masa poco ecogénica que distorsiona la morfología normal del páncreas, siendo las zonas de mejor visualización la cabeza y el cuerpo. La ecografía puede también ayudarnos a detectar diseminación metastásica hepática, en el 45-50% de los casos en la primera visita del paciente.

Por otra parte, la obstrucción de la vía biliar aparece en torno al 60-90% de los casos de carcinoma de cabeza de páncreas, de forma que los ultrasonidos demuestran bien el signo del doble conducto con dilatación del colédoco y del Wirsung, aunque ésto también lo podemos observar en la pancreatitis crónica. Para esta técnica se reconoce una sensibilidad del 76-83% y una especificidad en torno al 90%.

TAC Abdominal. Es la técnica de mayor precisión para el diagnóstico y su reseccabilidad, ya que proporciona información sobre la afectación de ganglios regionales (preaórticos, en la región pericárdica y periaórtica), invasión de órganos vecinos y la grasa peripancreática, trombosis de la vena esplénica o mesentérica y la presencia de metástasis hepáticas y carcinomatosis peritoneal.

El TAC tiene una fiabilidad diagnóstica entre el 83 y el 94% para el carcinoma pancreático con un valor predictivo positivo para determinar la resecabilidad en torno al 80% y una sensibilidad y especificidad en torno al 70%; sin embargo, entre el 15 y el 20% de los pacientes tienen hallazgos no específicos de una masa en los que el diagnóstico debe apoyarse en otros métodos.

Ambos, ecografía y TAC, representan la única posibilidad de diagnosticar el tumor, ya que éste, a menudo, se rodea de una reacción citológica inflamatoria.

Colangio pancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE). Ante una ecografía o TAC normal en un paciente con alta sospecha clínica o ante una imagen dudosa de cáncer de páncreas, lo mejor es realizar una CPRE que, al opacificar las vías biliares y pancreáticas, permite ver la dilatación de la vía biliar con la zona estenótica y la interrupción brusca del conducto de Wirsung, dato que es prácticamente el diagnóstico de cáncer de páncreas. Además la CPRE permite tomar una biopsia de la zona ampular. Se le reconoce una sensibilidad en torno al 92%, una especificidad del 96% y parece que la biopsia pancreática dirigida por CPRE, tiene también una alta fiabilidad diagnóstica.

Arteriografía selectiva pancreática. Se trata de un excelente método para valorar la afectación vascular y conocer las posibles variantes anatómicas; en el pasado fue la técnica más utilizada para el diagnóstico del tumor y su extensión, sin embargo, dado su carácter invasivo, en la actualidad ha quedado relegada a los casos en los que no se ha logrado establecer el diagnóstico o no ha quedado demostrada la resecabilidad del tumor.

Inmunoescintigrafía. Una posibilidad de mejorar el diagnóstico precoz aparece con el uso de los anticuerpos monoclonales para detectar antígenos asociados a tumores; como la inmunoescintigrafía en la detección del cáncer de páncreas es relativamente baja, al menos de momento, es necesario un tiempo para que estos resultados se equiparen a los obtenidos en el cáncer de colon y recto con una precisión de hasta el 90%.

Laparotomía - Laparoscopia de estadificación. La laparoscopia resulta una técnica sensible y específica, especialmente útil para apreciar una diseminación peritoneal no visible en el TAC, sin embargo es un procedimiento invasivo que requiere anestesia general y constituye, en última instancia, la prueba diagnóstica concluyente.

Punción aspiración aguja fina. (PAAF) Esta prueba guiada por ecografía o TAC es una técnica de gran valor diagnóstico, permitiendo al mismo tiempo el diagnóstico anatomopatológico en la mayoría de los casos. La sensibilidad alcanza el 83% y su especificidad es absoluta del 100%. La causa principal de falsos negativos es el error en la toma de la muestra y sus complicaciones son anecdóticas.

ANATOMÍA PATOLÓGICA

Como todos los tumores el cáncer pancreático es una enfermedad genética que precisa del concurso secuencial de varios genes activadores y supresores para que se instaure la neoplasia. Este tumor tiene un comportamiento biológico diferente a otros, lo que hace que su pronóstico sea muy negativo.

El adenocarcinoma ductal infiltrante de páncreas representa más del 80% de los tumores pancreáticos. Antes de desarrollarse dicho tumor, se observan unas lesiones en los conductos pancreáticos que se consideran lesiones premalignas y que han sido denominadas tradicionalmente de muy distintas formas, lo que dificultaban el entendimiento entre patólogos. Para solucionar esta situación, en septiembre de 1999, patrocinados por el Instituto Nacional del Cáncer de EE.UU., se reunieron en Park City un grupo de patólogos expertos en páncreas y basándose en criterios citonucleares y alteraciones de la arquitectura del epitelio, propusieron una nomenclatura para designar a estas lesiones como neoplasias intraepiteliales pancreáticas,⁽⁴²⁾ estableciendo varios grados y los criterios fundamentales para su clasificación:

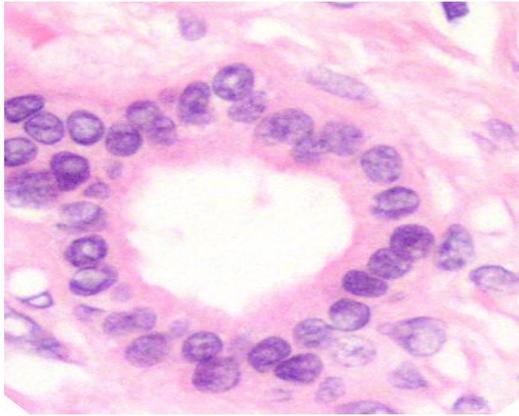
- PanIN-1A. Lesiones epiteliales planas compuestas por células columnares altas con núcleo basal y abundante mucina supranuclear. Los núcleos son pequeños, redondeados u ovals. Cuando son ovals estos núcleos están orientados perpendicularmente a la membrana basal.

- PanIN-1B. Lesiones epiteliales papilares, micropapilares o con arquitectura basal pseudoestratificada. Lo demás igual a PanIN-1A

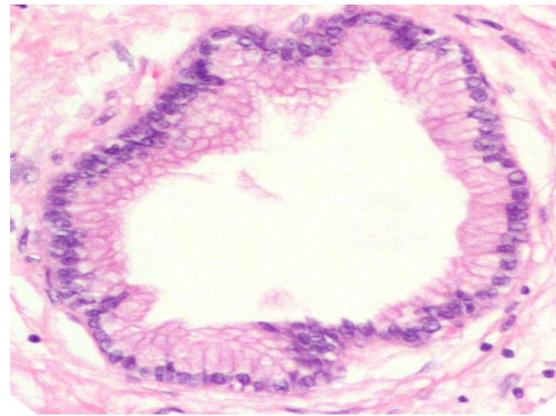
- PanIN-2. Lesiones epiteliales mucinosas, a veces con arquitectura plana, pero casi siempre papilar. Anormalidades citonucleares, pérdida de la polaridad, núcleos alargados, pseudoestratificación e hiperchromatismo. Mitosis escasas y sin atipias.

- PanIN-3. Lesiones con arquitectura papilar o micropapilar, raramente planas. Estructura cribiforme, restos de células epiteliales en la luz y necrosis luminal. Citológicamente hay pérdida de polaridad del núcleo, células caliciformes distróficas, mitosis a veces anormales, irregularidades nucleares y nucleolos prominentes. Estas lesiones recuerdan al carcinoma in situ, no hay invasión de la membrana basal.

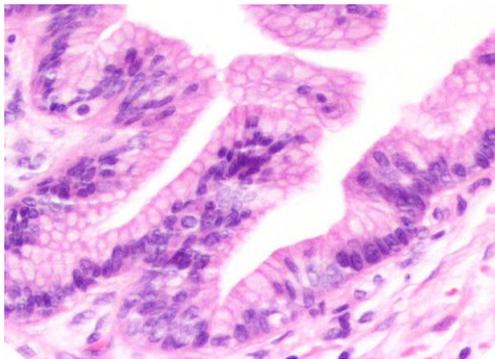
En las resecciones de adenocarcinomas ductales pancreáticos es frecuente encontrar lesiones de este tipo en los bordes del tumor en un porcentaje que Hruban y colaboradores establecen en un 75% de PanIN-1, 65% de PanIN-2 y 50% de PanIN-3.⁽⁴³⁾



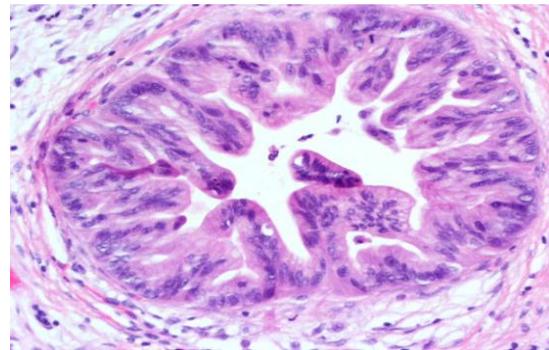
Conducto normal



PanIN-1



PanIN-2



PanIN-3

ESTADIOS DEL ADENOCARCINOMA DUCTAL PANCREÁTICO

En el estudio de las piezas de resección del adenocarcinoma ductal uno de los parámetros más importantes es evaluar el estadio. La OMS⁽⁴⁴⁾ en el año 2000 estableció un modelo de estadiaje basado en los criterios propuestos por Klöppel y colaboradores⁽⁴⁵⁾ que en 1985 combinaban la diferenciación glandular, la producción de moco, la atipia nuclear y la actividad mitótica. Cada uno de estos parámetros eran evaluados por separado con una valoración de 1 a 3 y la suma se dividía por 4. Este sistema, demasiado complejo para la práctica diaria, tuvo poco éxito. Por otra parte los patólogos del Este, especialmente de Japón, utilizaban otros parámetros, lo que provocaba discrepancias substanciales en la aplicación del estadiaje.

Adsay y colaboradores⁽⁴⁶⁾ en el año 2005 proponen un estudio de extensión similar al sistema de Gleason para el carcinoma prostático. Las ventajas del mismo son:

- Es fácilmente adaptable, por ser similar al de Gleason con el que muchos patólogos ya están familiarizados.
- Es un puente entre las propuestas de los patólogos del Este y del Oeste.
- Incorpora la heterogeneidad del adenocarcinoma (los diferentes patrones son evaluados por separado)
- Es práctico.
- Aplicable a la investigación.

Este sistema de estadificación refleja las características del adenocarcinoma ductal y establece varios patrones:

- P1. Glándulas bien definidas y con bordes bien limitados.
- P2. Glándulas deficientemente formadas o fusionadas (arquitectura cribiforme), con bordes mal definidos.
- P3. Patrones no glandulares, infiltración celular individual o patrón sólido.

En cada caso son evaluados un patrón predominante (mayor) y otro patrón (menor) y con la puntuación obtenida de la suma del patrón dominante y el patrón secundario se establece un grado:

- G1 o bien diferenciado con puntuación igual o inferior a 3.
- G2 o moderadamente diferenciado con puntuación de 4.
- G3 o pobremente diferenciado, con puntuación igual o superior a 5.

La experiencia ha encontrado una correlación significativa entre el grado y la supervivencia:

- Supervivencia de un año: G1 68%, G2 44% y G3 33%.
- Supervivencia de dos años: G1 67%, G2 11% y G3 0%.
- Supervivencia a tres años: G1 23%, G2 4% y G3 0%.

La supervivencia media fué de 22 meses para G1, 14 meses para G2 y 8 meses para G3.

TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

En la actualidad, la mejor opción para el tratamiento del cáncer de páncreas es la cirugía, pero la resección tumoral con intención curativa sólo es posible en algunos casos ante tumores de la cabeza pancreática y en menor medida en tumores de cuerpo y cola. Además de la cirugía contamos con otras posibilidades como la Quimioterapia y la Radioterapia dentro de los tratamientos no quirúrgicos.

La opción técnica más frecuentemente empleada es la operación de Whipple o pancreaticoduodenectomía cefálica, que tiene una supervivencia global a los 5 años del 16-18%, pero que no está exenta de una alta morbimortalidad. Es la técnica más empleada en tumores de la cabeza pancreática, ampulares y de colédoco distal. Sin embargo, ante un tumor de la cola pancreática se prefiere una pancreatectomía distal. Los tumores del cuerpo pancreático son difícilmente resecables debido a la infiltración precoz de los vasos mesentéricos o de la vena porta.

En pacientes con marcada ictericia, es recomendable realizar el tratamiento en dos fases, una inicial con vistas a eliminar la obstrucción responsable de la misma, bien mediante derivación o por punción trasparietohepática y una segunda resectiva propiamente dicha.

El siguiente problema con que se enfrenta el cirujano, consiste en valorar la eficacia de la resecabilidad del tumor; pueden considerarse irresecables aquellos tumores con metástasis a distancia, tumores con afectación portal o mesentérica, tumores que invaden los linfáticos del territorio de la mesentérica superior, portobiliares o celíacos, o si pueden resecarse los tumores con afectación de las cadenas linfáticas del colédoco, esplénica, pancreaticoduodenal o yuxtapilórica.

Hasta hace poco, en el tratamiento del cáncer de páncreas, se usaba principalmente la cirugía paliativa, derivativa (by-pass) sobre la cirugía resectiva pancreatectomía, lo cual era motivado por la elevada mortalidad hospitalaria secundaria a las resecciones de la glándula y las múltiples complicaciones

postoperatorias, sobre todo debidas a la anastomosis entre el remanente pancreático y el yeyuno.

La disminución de la morbilidad postoperatoria se debe, en buena parte, a la nutrición parenteral total y una adecuada selección de los pacientes. Algunos autores atribuyen también un papel importante en esta reducción al empleo de suturas mecánicas.

En cuanto a la supervivencia a los cinco años, es del 40% para los tumores periampulares, pero cercana al 0% para los adenocarcinomas. Si hablamos de resección paliativa o de cirugía derivativa (by-pass) sin resección, la supervivencia no supera los dos años en ningún grupo, pero parece que la calidad de vida es mejor en el segundo grupo frente al de pacientes resecados con intención paliativa.

Operaciones derivativas (by-pass): Su principal indicación es en tumores inoperables con vistas a solucionar las obstrucciones, mejorando de esta forma la calidad de vida de estos pacientes que tienen una supervivencia esperada de 6 a 12 meses.

Respecto a las técnicas derivativas se han desarrollado varias:

1. Colecistoyeyunostomía: no requiere anastomosis entérica, se trata de una técnica sencilla y rápida, es imprescindible que el cístico sea permeable.

2. Coledocoyeyunostomía latero-terminal en Y de Roux, muy útil en pacientes con vesícula escleroatrófica, sin vesícula o en casos de cístico impermeable.

3. Coledocoduodenostomía, operación rápida y con muy buenos resultados, exige que el duodeno no esté obstruido.

4. Gastroenterostomía, es una técnica eficaz en casos de obstrucción de duodeno o estómago por el tumor.

5. Pancreaticoyeyunostomía, anastomosis entre el Wirsung y el yeyuno, disminuye el dolor, aunque aumenta la morbimortalidad.

Para paliar el dolor se han empleado diferentes técnicas y/o agentes quimioterápicos, como la vaguectomía, resección de esplácnicos, o infiltración anestésica del plexo esplácnico.

Operaciones resectivas: Se refieren a intervenciones en las que se extirpa parte de la glándula pancreática o la totalidad de la misma, no siendo infrecuente que se resequen vasos del sistema portal o mesentérico.

Este tipo de cirugía persigue la curación del cuadro, sin embargo la cirugía pancreática con intención curativa es posible en menos del 10% de los casos. Cuando lo es, la supervivencia a los cinco años es del 33%, frente al 5% a los tres años y 0% a los cinco años en pacientes con cirugía no curativa.

1. Pancreatectomía cefálica.

Duodenopancreatectomía cefálica. Operación de Whipple. Es la operación de elección para el carcinoma de ampolla, del conducto biliar terminal o de la segunda porción duodenal.

La primera intervención consiste en la realización de un Kocher amplio para movilizar el duodeno, se disecciona el epiploon menor exponiendo el colédoco, la arteria hepática, la arteria gastroduodenal y la vena porta. Se identifican la vena mesentérica superior en el borde inferior del páncreas. Se debe intentar pasar con el dedo desde la vena porta a la mesentérica superior por detrás del páncreas, en caso que sea posible, se considera que la resección es factible.

La resección comprende:

- Ligadura de la arteria gastroduodenal.
- Gastrectomía subtotal.
- Sección del colédoco.
- Sección del yeyuno por debajo del ángulo de Treitz.
- Sección del páncreas a nivel del cuello por encima de la vena porta.
- Ligadura de las pequeñas ramas mesentéricas y portales.
- Reconstrucción: Existen diferentes montajes. Anastomosis colédoco-yeyunostomía término-lateral con o sin telescopaje y gastroyeyunostomía latero-lateral Billroth II.

El principal problema que plantea esta técnica es la elevada morbilidad derivada, principalmente, de las fístulas pancreáticas que aparecen en el 20% de los pacientes. Otros autores critican a esta técnica la posibilidad de nuevos tumores en el remanente pancreático y cáncer multicéntrico.

2. Pancreatectomía total

Es una técnica más radical que evita problemas de dispersión tumoral y multicentricidad, consigue una mayor extirpación ganglionar y elimina problemas derivados de la anastomosis pancreática. La intervención añade a la operación de Whipple la realización de una pancreatectomía izquierda o distal, y en la reconstrucción no se requiere la anastomosis pancreático-yeyunal. En el postoperatorio es necesario el uso de insulina, unas 15-20 U.I./día, también la aportación de enzimas pancreáticos y se recomienda una dieta pobre en grasas.

3. Pancreatectomía distal o izquierda.

Empleada en tumores de cuerpo y cola pancreáticos. Se debe suturar el remanente pancreático con puntos sueltos, prestando especial atención al ducto pancreático. Dicha técnica está asociada, en la mayoría de los casos, a esplenectomía, si bien en ocasiones puede evitarse.

4. Pancreatectomía regional

Se trata de una técnica más agresiva con una mortalidad postoperatoria del 16%, pero que consigue supervivencias al año del 62% frente al 36% que consigue la operación de Whipple.

Existen tres tipos de resecciones 0, I, II, que implican mayor grado de agresividad, así en el tipo II se reseca un segmento de la arteria mesentérica superior con posterior anastomosis, lo mismo ocurre con la arteria hepática y el tronco celíaco.

Indicaciones quirúrgicas en función del estadio tumoral

Estadio I: Tumor localizado en páncreas.

Estadio II: Tumor invadiendo estructuras vecinas (duodeno, estómago, etc...).

Estadio III: Invasión de linfáticos regionales.

Estadio IV: Metástasis distantes.

Ante pacientes estadio I y II, debe intentarse la resección definitiva siempre que sea posible, dado que mejora la supervivencia.

Enfermos estadio III, pueden ser susceptibles de resección extendida a los territorios ganglionares afectos, aunque en estos pacientes también está permitida la cirugía derivativa, por cuanto la supervivencia en ambos casos es similar y las técnicas derivativas comportan una menor morbimortalidad.

En pacientes con tumores estadio IV es aconsejable realizar cirugía derivativa que palíe las obstrucciones gastrointestinales o biliares.

TRATAMIENTO NO QUIRÚRGICO

Quimioterapia. Varios ensayos clínicos y dos meta-análisis han demostrado impacto significativo en la supervivencia y beneficio en los síntomas relacionados con la enfermedad cuando se administra quimioterapia en el cáncer de páncreas avanzado, frente a los mejores cuidados de soporte.

Diversos quimioterápicos han sido utilizados como agentes únicos en monoterapia, como la gemcitabina, 5-FU, capecitabina, S1, antraciclinas, estreptozotocina, ifosfamida, taxanos topotecan e irinotecan. Todos ellos han demostrado una actividad limitada, asociando tasas de respuestas en torno al 10% y medianas de supervivencia de 6 o 7 meses.

Las combinaciones de quimioterapia asocian tasas de respuestas más altas, aunque sin un claro beneficio en la supervivencia, con algunas excepciones.

Existen distintos esquemas de quimioterapia en combinación que han demostrado este beneficio y que representan el tratamiento estándar actual.

Estos esquemas se seleccionan en función de la toxicidad esperable, el estado general del paciente según las escalas ECOG y la preferencia del paciente.

En primera línea de tratamiento y para pacientes con ECOG 0 o 1, y con niveles de bilirrubina < de 1,5 veces el límite superior de la normalidad, el esquema más utilizado es la combinación de oxaliplatino, irinotecan y la infusión 5-FU modulado con ácido folínico, denominado esquema FOLFIRINOX⁽⁴⁷⁾ (oxaliplatino 85 mg/m² en 2 h., irinotecan 180 mg/m² en 90 min, ácido folínico 400 mg/m² en 2 h. y 5-FU 400 mg/m² en 5 min. seguido de 2400 mg/m² en infusión continua de 46 horas), todo ello administrado vía intravenosa y repetido cada 14 días. Este esquema aporta un beneficio significativo tanto en la tasa de respuestas, como en la supervivencia libre de progresión y en la supervivencia global comparado con la administración de gemcitabina en monoterapia (grado de evidencia 2B).⁽⁴⁸⁾

Otras alternativas aceptables y menos tóxicas son las combinaciones de gemcitabina con *nab*-paclitaxel ⁽⁴⁹⁾ (gemcitabina 1000mg/m² iv y *nab*-paclitaxel 125 mg/m² iv, los días 1, 8 y 15 cada 28 días), o gemcitabina con capecitabina (gemcitabina 1000 mg/m² iv semanal, días 1, 8 y 15 cada 28 días y capecitabina 830 mg/m² vía oral, dos veces al día durante 21 días cada 28 días).⁽⁵⁰⁾

Para pacientes con un ECOG ≥ 2 es preferible la utilización de gemcitabina en monoterapia o S1 oral en monoterapia en aquellos países en los que se encuentra autorizado.

En segunda línea de tratamiento y para aquellos pacientes que siguen manteniendo un buen estado general y que han progresado a esquemas con gemcitabina, sigue siendo beneficiosa la administración de quimioterapia (grado de evidencia 2B), siendo el régimen óptimo la administración de oxaliplatino iv en combinación con la infusión de 5-FU y ácido folínico, denominado esquema FOLFOX (Oxaliplatino 85 mg/m² en 2 h., ácido folínico 400 mg/m² en 2h. y 5-FU 400 mg/m² en 5 minutos seguido de 2400 mg/m² en infusión de 46 horas , iv cada 14 días).⁽⁵¹⁾

En pacientes que han progresado tras la administración de FOLFIRINOX, el tratamiento óptimo, si bién no esta definido, para aquellos pacientes que conservan buen estado general, una opción razonable es la gemcitabina en monoterapia.

Radioterapia. Esta técnica se observa como una opción paliativa en los tumores no resecables. Las dosis suelen ser de 6000 a 7000 Rads. Durante 7 a 9 semanas. Cuando se asoció la Radioterapia con 5-Fluoruracilo, mejoraron tanto la supervivencia como los efectos paliativos.⁽⁵²⁾

2.4. INMUNOHISTOQUÍMICA

Es un método basado en un grupo de técnicas de tinción de las reacciones inmunoenzimáticas que nos permiten demostrar una variedad de antígenos usando anticuerpos mono ó policlonales, presentes en los distintos tejidos.

Para que ésta reacción sea visible es necesario haber marcado los anticuerpos con una substancia que tenga la propiedad de absorber ó emitir luz ó producir una determinada coloración que nos sirve para su identificación.

Hay muchos métodos de tinción inmunoenzimática que pueden usarse dependiendo del antígeno que queramos localizar.

Estas técnicas necesitan muestras en fresco y congeladas, sin haberse hecho la fijación habitual ya que los antígenos siempre están presentes en superficies celulares y son muy lábiles a la acción de los distintos fijadores, como sucede con la fijación por formalina.

Estas técnicas enzimáticas de inmunohistoquímica nos han permitido ver una localización más precisa de las reacciones. Esta tinción es permanente y nos da la posibilidad de archivar el material durante años sin perder los resultados de la reacción.

2.5. MARCADORES GENÉTICOS. ONCOGENES IMPLICADOS

Las alteraciones genéticas más frecuentes descritas en los tumores pancreáticos son las del oncogén K-ras, las del gen supresor de tumores p-53, la pérdida de alelos del cromosoma 18 (smad4) y el gen p-16. Estas alteraciones genéticas se describen a continuación.

2.5.1. El oncogen K-ras

Según algunos estudios, entre el 60 y el 100%.^{(53) (54) (55)} de los carcinomas de páncreas contienen, con frecuencia, mutaciones en el codón 12 del gen K-ras. Aunque también es cierto que existen variaciones según la población y el método de estudio.

Esta alteración del gen K-ras, se encuentra tanto en las lesiones preneoplásicas como en las más avanzadas.^{(56) (57)} La presencia en las primeras fases del proceso neoplásico y la gran incidencia de estas mutaciones podría significar que la alteración de este gen tiene gran importancia en la formación de cánceres pancreáticos en humanos.

La mayor parte de los cánceres de páncreas analizados presentan mutaciones en el codón 12 del gen K-ras, mientras que sólo unos pocos la presentan en el codón 13. Contrastan estos resultados con los encontrados en cáncer de colon, donde la proporción de mutaciones en el codón 13 es bastante más frecuente.⁽⁵⁸⁾

En el codón 12 se describen las siguientes sustituciones:

- Ácido aspártico (50%)
- Valina (30%)
- Cisteína (6%)

En cualquier caso, la sustitución de serina y alanina son poco frecuentes en el codón 12. En el codón 13, la sustitución más frecuente es también la del ácido aspártico.

En función de la población que se estudie, varía la frecuencia en que aparece la sustitución de la arginina y de la cisteína. La diferencia en los resultados podría deberse a diferentes características étnicas o bien a influencias ambientales.

A diferencia del cáncer de pulmón, en el que la sustitución más frecuente es la transición G-T, en el cáncer de páncreas, igual que en el de colon, la transición de G-A es la que se presenta con más frecuencia. ⁽⁵⁹⁾

El cambio que aparece en los cánceres de pulmón está ligado a la acción de los carcinogénicos del humo del tabaco. ⁽⁶⁰⁾ Sin embargo, en el caso de los cánceres de colon y páncreas, su similitud sugiere un posible papel genotóxico de determinados componentes de la dieta como causantes de estas mutaciones. ⁽⁶¹⁾

El gen K-ras está mutado en casi un 77% de las líneas celulares tumorales pancreáticas descritas, como sucede en los tumores primarios. Estas mutaciones son muy similares a las de los tumores primarios, siendo las más frecuentes los cambios en el ácido aspártico, seguidos de valina y alanina.

Los tres genes de la familia ras (N-, H- y K-ras), codifican cuatro proteínas de 21Kda (N, H, K4A y K4B) que presentan una elevada afinidad por los nucleótidos de

la guanina. Estas proteínas actúan como mediadores de la señal entre los receptores tirosina-quinasa, que activa la expresión de las proteínas nucleares que controlan la expresión genética y la síntesis de proteínas. Este mecanismo de activación transcripcional es inducido por factores de crecimiento y fundamental para la regulación de la proliferación y de la diferenciación celular.^{(62) (63)}

Las proteínas Ras tienen actividad GTPasa y propiedades intercambiadoras intrínsecas entre los nucleótidos GDP/GTP; son funcionalmente activos cuando se encuentran unidos a GTP e inactivos cuando se encuentran unidos a GDP. Por otra parte, las mutaciones en el codón 12, 13 y de los genes ras, provocan la activación constitutiva de la proteína generando constantemente una respuesta.⁽⁶⁴⁾

Encontramos mutaciones de K-ras en el 10-30% de las lesiones en PanIN-1, el 45% en PanIN-2 y el 85% en PanIN-3.^{(65) (66)}

2.5.2. Gen supresor p53

El gen supresor p53 se encuentra alterado con una frecuencia del 50% en los tumores humanos. Más del 90% de las mutaciones descritas en este gen están localizadas en el axón 5b. Hay que tener en cuenta, en este contexto, que en el caso del cáncer de páncreas el gen p53 presenta una frecuencia de mutación que varía entre el 30% y el 60% según la población de estudio.

Por otra parte, más del 90% de las mutaciones descritas en estos tumores son cambios de aminoácidos.^{(67) (68)} Dichos cambios pueden ser tanto en transición como transversión, aunque ocasionalmente pueden detectarse deleciones, inserciones o cambios de Splicing. (unión de dos fragmentos del DNA catalizado por una ligasa).^{(69) (70) (71)}

Diversos estudios han asociado la presencia de mutaciones en el gen p53 en los tumores de páncreas con la pérdida del alelo normal. Esta asociación no se encuentra en todas las poblaciones.^{(72) (73)} En las líneas celulares pancreáticas, el gen p53 se encuentra alterado en un 72,5% de los casos y en una proporción similar se detecta una acumulación anómala de proteína; se ha descrito también la presencia de doble o múltiples mutaciones en 5 de las 29 (17%) líneas que presenta el gen alterado.^{(74) (75) (76)} La proteína p53, es una fosfoproteína nuclear que actúa básicamente como supresora del crecimiento celular.⁽⁷⁷⁾

La localización celular de esta proteína varía durante las diferentes etapas del ciclo. Por lo general se encuentra en el citoplasma y entra en el núcleo en la transición de la fase G1/S, con el fin de completar la fase G2/M.⁽⁷⁸⁾ La presencia de la proteína p53 no es crucial para la regulación del ciclo celular normal, una de las principales funciones de dicha proteína es la regulación del ciclo celular en el que existe daño genético. Así la proteína p53 promueve la parada del ciclo celular en fase G1 e inhibe la expresión del gen p21, un inhibidor universal de los complejos cíclicos-cdks, que permiten iniciar los mecanismos de reparación celulares. La p53 es capaz de inducir la reparación del daño al DNA o apoptosis en respuesta a grandes lesiones del DNA generadas por agentes genotóxicos, tales como la luz

ultravioleta o la radiación gamma.⁽⁷⁹⁾ La reparación del daño genómico es regulada vía GADD45, y la capacidad de las células para activar dicha vía en respuesta a la radiaciones ionizantes depende de la presencia de la proteína p53 normal.

Las células que presentan una forma mutada de la proteína no pueden dar lugar a la parada en G1 y acumulan múltiples mutaciones que aceleran la transformación neoplásica.^{(80) (81)}

Además de detener el ciclo cuando hay lesiones en el DNA y provocar la apoptosis, la proteína p53 tiene también otras funciones, como factor de transcripción de genes del ciclo celular (p21, GADD45, mdm2)⁽⁸²⁾ o la inhibición de la expresión de genes de células y virus.^{(83) (84)} Dicha proteína p-53 se encuentra solamente en lesiones en PanIN-3.^{(85) (86)}

2.5.3. Gen smad (dpc4)

El análisis de los alotipos ha permitido su identificación en una parte del cromosoma 18 y una elevada tasa de pérdidas alélicas (90%) en este tipo de tumores.⁽⁸⁷⁾ El estudio de la región ha conducido a la identificación de un nuevo gen supresor, el smad d4. Este gen se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 18, en una zona que presenta deleciones en homocigóticos en el 30% y en heterocigóticos en el 22% de tumores pancreáticos.^{(88) (89)} Esta incidencia puede variar según la población analizada.⁽⁹⁰⁾ Hay estudios que parecen determinar la incidencia de pérdidas y mutaciones de este gen, pero la gran

cantidad de tejido normal en los tumores pancreáticos dificulta el mencionado análisis. Los modelos animales son particularmente importantes en el estudio de este tipo de genes.

Dicho gen aparece en fases tardías de la tumorigénesis y en un 30% de las lesiones en PanIN-3 así como en el carcinoma invasivo.^{(91) (92)}

2.5.4. El gen p-16

Este gen supresor se encuentra localizado en el cromosoma 9p, y está inactivado en el 95% de los casos, siendo el gen que con mayor frecuencia vemos en este estado en el cáncer de páncreas.⁽⁹³⁾ La proteína p-16 cumple una función decisiva en la regulación del ciclo celular y su inactivación anula el control sobre este proceso. Es un marcador temprano de tumorigénesis. Por otra parte, la ausencia de proteína p-16 se encuentra en un 33% en PanIN-1, en un 55% en PanIN-2 y 70% en el PanIN-3.^{(94) (95)}

Todos estos datos evidencian que las alteraciones estructurales son mayores que las numéricas. Las anomalías más frecuentes se encuentran:

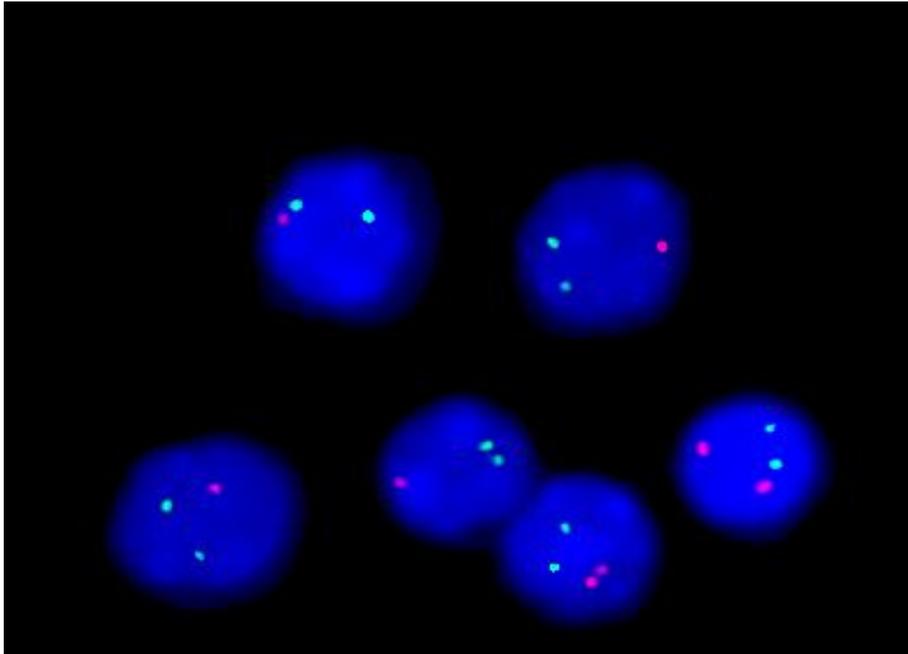
en el cromosoma **9p** en el 70% de los casos (**p16**).

en el cromosoma **17p** en el 77% de los casos (**p53**)

en el cromosoma **18q** en el 75% (**smad-4**)

en el cromosoma **Y** en el 76% de los casos.

El estudio mediante iFISH revela la heterogeneidad del adenocarcinoma ductal pancreático en casi todos los pacientes. La imagen muestra la delección de la región 9p21 (p16) en rojo, y el centrómero del cromosoma 9 en verde.



3. CARCINOGENESIS EXPERIMENTAL

3.1. DESARROLLO DE MODELOS EXPERIMENTALES.

En la mayoría de los animales, el páncreas ha resistido el desarrollo de tumores, sean estos tanto espontáneos como de naturaleza inducida. Los tumores espontáneos descritos se originan en células acinares o de los islotes, ambos tipos representan una minoría de los tumores de páncreas en el hombre. Entre los animales de laboratorio, la rata tiene especial tendencia a desarrollar lesiones de células acinares, no así el hámster. Sin embargo, los tumores espontáneos de origen ductal, que son similares a la mayoría de los tumores pancreáticos humanos, son extremadamente raros. Sólo se han observado en unas pocas especies de roedores y el hámster ha sido el más susceptible al desarrollo de neoplasias ductales.

3.2. RECUERDO HISTÓRICO

El páncreas debe su nombre a Rufo de Efeso (100 a.C). Pero no es hasta 1642 en que Wirsung, ⁽⁹⁶⁾ descubre el conducto principal de la glándula al que le da su nombre y posteriormente Degraf ⁽⁹⁷⁾ introduce una cánula en el conducto y estudia la secreción pancreática.

Pero la descripción del cáncer de páncreas correspondería a Bonet, quien publicó 5 casos que son los primeros considerados como tales cánceres de páncreas, en 1679. La primera exéresis de un tumor pancreático fue llevada a cabo por Trendelenburg en 1882, que realizó una resección del cuerpo y cola pancreática con esplenectomía.

Respecto a los carcinógenos, hasta 1970 la mayor parte de los que fueron estudiados experimentalmente no produjeron cáncer pancreático en animales. Se identificó la 4 hidroxiaminoquinoleína-1-óxido (4HAQO) como un carcinógeno pancreático en ratas.⁽⁹⁸⁾ Dicha sustancia induce neoplasias de células acinares aparentemente benignas. Posteriormente, se realizaron sistemáticos estudios de sustancias químicas en diferentes animales, hasta identificar derivados oxidados de dipropilnitrosaminas como carcinógenos. Quedó demostrado que al menos 12 sustancias químicas inducen cáncer en el páncreas del hámster, rata, cobaya, ratón y mono.⁽⁹⁹⁾

Reddy y Rao,⁽¹⁰⁰⁾ en 1975, utilizando el modelo cobaya-MNU (N-metil-N-nitrosourea) de Drückey, encuentran, en el 29% de los animales, células acinares atípicas, ectasia acinar, actividad mitótica incrementada y fibrosis periacinar. En 1980, estos mismos autores⁽¹⁰¹⁾ observan en algunas áreas transformación ductular o pseudoductular. Dichos cambios los consideran como signos de dediferenciación de células acinares. El modelo empleado no se utiliza actualmente, ya que las dosis de MNU que es necesario administrar son tan altas que resultan tóxicas para el animal. Konishi et al.⁽¹⁰²⁾ consiguen con 4 hidroxiaminoquinoleína-1-óxido (4HAQO)

inducir tumores malignos pancreáticos, pero solamente cuando el carcinógeno se administra después de realizar una pancreatectomía parcial.

El MNCO (N-(N-metil-N-nitrosocarbamoil)-L-ornitina) es un débil carcinógeno pancreático que induce carcinomas de células acinares en ratas. También ocasiona en el páncreas del hámster lesiones focales de células acinares, complejos quísticos, complejos tubulares y adenocarcinomas ductales. La respuesta del páncreas al mismo carcinógeno en ambas especies es, por lo tanto, diferente. Lesiones proliferativas de células acinares son características de la exposición a MNCO en ratas y neoplasias con predominio de complejos similares a conductos en el hámster.⁽¹⁰³⁾ Posteriormente Flaks y cols⁽¹⁰⁴⁾ han denominado a estas estructuras “transformación pseudoductular”.

La inducción de cánceres pancreáticos, por implantación de bolas de DMBA (7-12 dimetilbenzantraceno), en el páncreas de ratas ha sido descrito por Dissin y cols.⁽¹⁰⁵⁾ e investigados con mayor profundidad por Bockman et al,^{(106) (107)} prestando una especial atención a la histogénesis de la neoplasia. Otro autor, Hay R.J.⁽¹⁰⁸⁾ en 1975 estudió la posibilidad de aislar y mantener en cultivo células epiteliales pancreáticas de cobaya recién nacido y de embriones humanos.

Parsa et al. investigan en múltiples trabajos de carcinogénesis “in vitro”.⁽¹⁰⁹⁾
^{(110) (111) (112) (113)} Cultivaron páncreas de embriones de ratas (de 13 días) en presencia de dimetilnitrosamina (DMN), durante 10 semanas, para más tarde transplantar las líneas celulares al ratón recién nacido, observando el crecimiento de células tumorales. Obtuvieron un 79% de carcinomas de células ductales, en el 9%

hiperplasia ductal y en el 3% carcinomas de células acinares.^{(114) (115)} Más tarde investigaron cultivos de páncreas de ratas expuestos a N-metil-N-nitrosourea (MNU) y 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA), que posteriormente fueron inoculados al ratón⁽¹¹⁶⁾. Otras sustancias empleadas han sido dimetilnitrosamina DMNA, MNU y BHP (N-nitrosobis (2-hidroxi-propil amina)), utilizadas en cultivos de páncreas humano adulto; las líneas celulares fueron inoculadas más tarde al ratón, quien desarrolló tumores subcutáneos múltiples que morfológicamente se identificaron como carcinomas escirros indiferenciados y adenocarcinomas papilares bien diferenciados. De este estudio se dedujo que el DMNA fue altamente tóxico para células acinares y MNU relativamente más tóxico para el epitelio ductal.⁽¹¹⁷⁾ Dichos trabajos son de especial interés dado que pueden ser realizados en un corto periodo de tiempo y en cultivo pueden ser comparados los efectos del carcinógeno en tejidos humanos y de animales. Además las dimetilnitrosaminas no han inducido carcinomas pancreáticos cuando se administraron a animales “in vivo”, sí han sido eficaces en el sistema “in vitro” de Parsa.

Pour y cols. en 1974⁽¹¹⁸⁾ inducen por diisopropanolnitrosamina (DIPN) cáncer de páncreas en hámster sirio dorado. Se identificaron adenomas y la mayoría de los adenocarcinomas fueron de origen ductal, solamente unos pocos procedían de células acinares. También utilizaron metabolitos de di-n-propilnitrosaminas (por β oxidación) como 2-HPPN (2-hidroxi-propil-n-propilnitrosamina), 2-OPPN (2-oxopropil-n-propilnitrosamina) y MPN (metil-N-propilnitrosamina). Estos compuestos inducen adenomas ductales en pequeña cuantía en el hámster, pero no tienen el mismo efecto en el páncreas de la rata. El DHPN (2,2'-dihidroxi-di-n-propilnitrosamina) induce en hámster un 80% de carcinomas de células acinares.^{(119) (120)} Con

posterioridad se han realizado múltiples trabajos con el modelo hámster-BHP.⁽¹²¹⁾
(122) (123) (124)

Townsend et al.⁽¹²⁵⁾ inducen adenocarcinoma ductal en hámster sirio dorado mediante inyecciones subcutáneas de BHP, el páncreas es triturado e inyectado subcutáneamente a 3 hámsters, los cuales desarrollan adenocarcinomas ductales.

Los dos modelos mejor caracterizados y más ampliamente estudiados son: los carcinomas pancreáticos inducidos por BOP en hámster sirio dorado y el carcinoma inducido en ratas por la administración intraperitoneal de azaserine.

3.3. MODELO EXPERIMENTAL RATA-AZASERINE

Analizaremos el segundo modelo. Si se utilizan ratas Wistar y ratas W/Lewis, el periodo de latencia hasta conseguir metástasis es de 1 a 2 años y los patrones histológicos desarrollados fueron diagnosticados como carcinomas de células acinares.^{(126) (127) (128)} Inducen adenocarcinomas pancreáticos en ratas W/Lewis por tratamiento con azaserine, los cuales son transplantados a otras ratas similares por inyección subcutánea o intraperitoneal. Los tumores transplantados muestran signos de diferenciación acinar, con invasión local, aparecen también metástasis en hígado y pulmón. La rata Lewis es más sensible y uniforme en su respuesta a la azaserine que la rata Wistar.⁽¹²⁹⁾ Además, en la rata Lewis se observan tempranamente células acinares atípicas formando nódulos (NCAA).

Las ratas F344, ratón CD1⁽¹³⁰⁾ cobaya y hámster son menos sensibles a la inducción de lesiones pancreáticas por azaserine. El hámster y cobaya no desarrollan NCAA (nódulos de células acinares atípicas) en número significativo cuando se tratan a igual dosis de azaserine que la rata. Cuando se utilizan ratas Lewis macho se producen, en el 100% de los animales, focos de células acinares atípicas.⁽¹³¹⁾

El 4HAQO y azaserine^{(132) (133) (134)} inducen adenocarcinomas en la rata; con ambos carcinógenos las lesiones observadas manifiestan características morfológicas de células acinares de las cuales aparentemente proceden. Los grupos de Rao y de Roebuck describen en el páncreas de ratas a las que se administran 4HAQO, la existencia de nódulos de células acinares atípicas (NCAA) de dos poblaciones celulares fenotípicamente diferentes y con distinta capacidad de proliferación.^{(135) (136)}

El modelo experimental hámster-BOP lo describiremos más ampliamente en el siguiente apartado.

La Tabla 1 muestra los distintos modelos utilizados para la inducción de carcinoma pancreático.

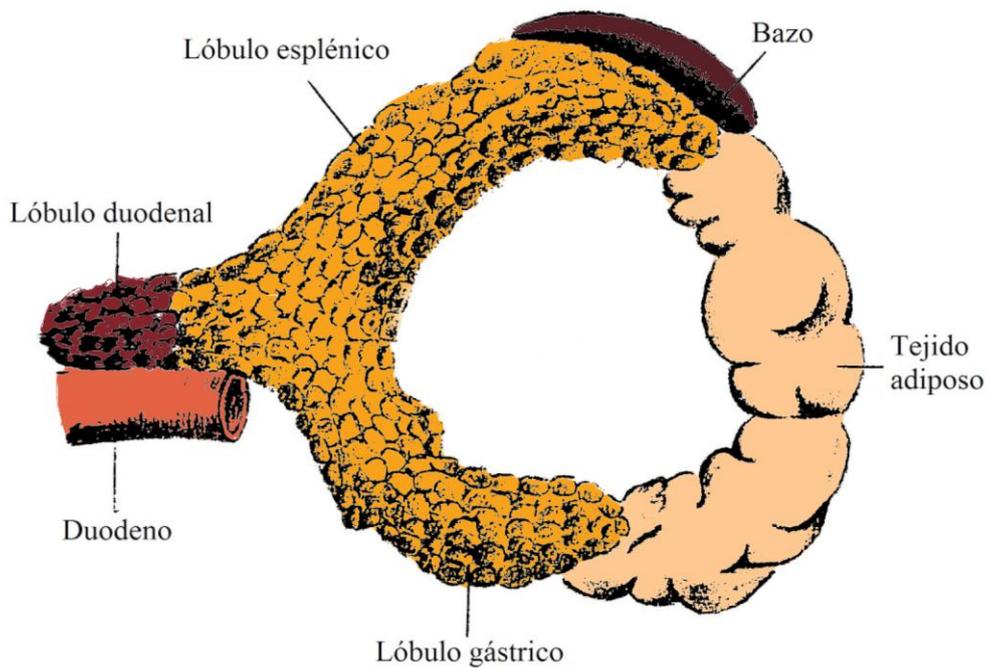
Tabla 1. Modelos utilizados para la inducción de cáncer pancreático

Longnecker ⁽¹³⁷⁾

PRODUCTO QUIMICO	ANIMAL	CÉLULA DIANA	AUTOR
AZASERINE	Rata	Acinar	Longnecker y cols.
DMBA	Rata	Acinar	Dissin y Bockman y cols.
4-HAQO	Rata	Acinar	Konishi y cols.
MNCO	Rata	Acinar	Longnecker y cols.
MNU	Cobaya	Acinar	Drückrey y Reddy y cols.
BHP	Hámster	Ductal	Pour y cols.
BOP	Hámster	Ductal	Pour y cols.
HPOP	Hámster	Ductal	Pour y cols.
DMNM	Hámster	Ductal	Mohr y cols.
DMN	Rata (in vitro)	Ductal	Parsa y Marsh

3.4. MODELO EXPERIMENTAL HÁMSTER-BOP

ESTRUCTURA DEL PÁNCREAS EN EL HÁMSTER



ANATOMÍA. El páncreas del hámster sirio dorado, situado debajo del hígado y del diafragma, es delicadamente lobulado, de color blanco-amarillento o rosado. En el animal adulto, al páncreas corresponde el 0,4-0,1% de su peso total. El páncreas del hámster está muy bien definido a diferencia de otros roedores, como ratas y ratones, en los que está representado por un tejido difusamente distribuido en el mesenterio.

En el hámster, el páncreas está compuesto por tres segmentos (o lóbulos) formando un órgano en λ .⁽¹³⁸⁾ El segmento corto es el lóbulo duodenal, que se encuentra localizado lateralmente al duodeno descendente (pesa 0.07 gr. aproximadamente y mide 2.8x0.4 cm). De los otros dos segmentos, el dorsal es el lóbulo esplénico (pesa 0.2 gr. y mide 3.6x0.8 cm), al que corresponde el 40% del peso del órgano. El ventral es el lóbulo gástrico (0.12 gr. de peso y mide 3.7x0.7 cm), se encuentra unido a la curvatura mayor del estómago por una membrana mesogástrica. Los tres segmentos se unen dorsalmente en el duodeno proximal y forman la cabeza del órgano.

Cada lóbulo, por lo general, tiene un conducto principal, excepto el lóbulo gástrico que, en ocasiones, presenta dos conductos principales. El conducto principal duodenal penetra en el conducto biliar común directamente, el gástrico y el esplénico se unen en la región de la cabeza para formar un conducto pancreático común, el cual desemboca en el conducto biliar común próximo al conducto duodenal. El conducto biliar común entra en el duodeno dorsolateralmente. Los conductos esplénico y duodenal parecen corresponderse respectivamente con los conductos de Santorini y Wirsung. Cada conducto pancreático principal recoge las secreciones de los conductos secundarios que se subdividen en conductillos interlobulares e intralobulares.

La arteria esplénica que irriga el lóbulo esplénico, se divide en cuatro ramas y forma la arteria gastroepiploica izquierda, la cuál se anastomosa con la gastroepiploica derecha (rama de la arteria hepática) e irriga el lóbulo gástrico. El lóbulo duodenal y la cabeza son irrigados por ramas de las arterias pancreático-

duodenal superior e inferior, ramas de la arteria celíaca y de la arteria mesentérica superior. Las venas esplénicas, gastroepiplóica derecha, pancreático-duodenal superior e inferior vacían directamente en la vena porta.⁽¹³⁹⁾

MICROSCOPIA ÓPTICA. El páncreas exocrino está compuesto de acinos y conductos excretores. El acino consiste en alvéolos glandulares (1 a 80 μ) limitados por células acinares piramidales o poliédricas, con típico núcleo redondeado en la basal y gránulos de zimógeno en la zona apical de la célula.

El sistema de conductos excretores pancreáticos está formado por el conducto principal e interlobular y los conductillos. Estos últimos incluyen las células centroacinares, conductillos intercalados o intralobulares y los conductillos peri e intransulares.

Las células centroacinares poseen escaso citoplasma y núcleo oval o alargado con un menor contenido cromatínico que las demás células del acino. Estas células se unen o mezclan imperceptiblemente con las células de los conductillos intercalares (o intralobulares), las cuales tienen núcleo oval dentado y citoplasma acidófilo claro. Estos conductillos intercalares comunican con los conductillos periinsulares, éstos forman como un circuito alrededor de los islotes. Las células de los conductillos periinsulares son pequeñas y en las secciones histológicas de rutina es difícil diferenciarlas de las células α , que son las células que se encuentran en las zonas periféricas de los islotes en estas especies. Desde los conductillos periinsulares finas ramas parecen penetrar en los islotes. Las luces de estos conductillos intransulares son prácticamente invisibles al microscopio

óptico. El epitelio de los conductillos intrainsulares es similar al de las células intercaladas y la mayoría son indistinguibles de las células α o β . Por tanto, existe una relación entre el páncreas exocrino y endocrino, aunque solamente una porción de los islotes en el hámster están conectados al sistema de conductos.

Los conductillos intralobulares (o intercalados) en el hámster se unen a los conductos interlobulares revestidos por una capa simple de células cuboidales o aplanadas. Los conductos secundarios (de mediano tamaño) conectan el conducto interlobular en el conducto principal. El conducto secundario se encuentra revestido por una sola capa de células cúbicas o columnares bajas. El conducto común pancreático y el conducto colector se diferencian de los conductos interlobulares y secundarios porque el tejido conjuntivo que los rodea es más abundante y por el gran tamaño de las células que son columnares (2-16 μ). En general el tamaño de la luz se correlaciona con el tamaño del epitelio.⁽¹⁴⁰⁾

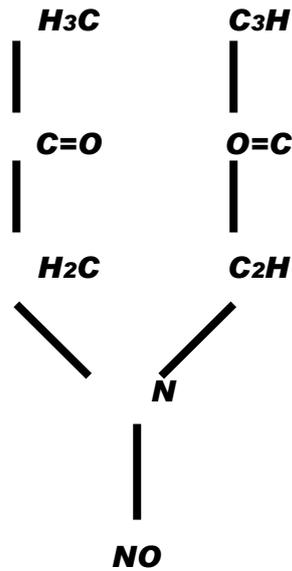
La porción endocrina del páncreas del hámster es similar al de otros mamíferos. Los islotes de Langerhans pueden presentar modificaciones en cuanto a su tamaño, teniendo en cuenta que el diámetro del islote se incrementa con la edad. No hay muchos datos respecto a la población celular de los islotes. Las células β se encuentran en una proporción significativa, en situación central y poseen núcleo redondo con moderada cantidad de cromatina y citoplasma poligonal o cilíndrico con gránulos acidófilos. Las células α se localizan en la periferia de los islotes, poseen núcleo alargado y cromatina menos densa; el citoplasma es menos definido que el citoplasma de las células β . Las células Δ no se suelen observar en el hámster.⁽¹⁴¹⁾

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA. Las células acinares muestran abundante retículo endoplásmico rugoso dispuesto en cisternas paralelas, relativamente pocas mitocondrias que tienden a ser alargadas u ovoides, un aparato de Golgi bastante prominente y estructuras pálidas rodeadas de membrana que representan a los gránulos de zimógeno temprano (prezimógeno). Los gránulos de zimógeno maduros son densos y están rodeados por una membrana simple. El canalículo central muestra numerosos microvillis protuyendo en la luz. Existen complejos de unión entre las células acinares y el margen de los canalículos, así como desmosomas y están rodeadas por una fina membrana basal.

Las células de los conductos de mayor tamaño muestran pequeñas microvellosidades proyectándose en la luz, pero las células son bastante similares a las células de los conductillos en cuanto a las organelas citoplásmicas se refiere. No se encuentran verdaderas células mucosas.

3.5. LAS NITROSAMINAS

En 1977 Pour y cols⁽¹⁴²⁾ utilizan por primera vez el BOP (N-NITROSOBIS (2-OXOPROPIL)AMINA), dicha sustancia es un nuevo metabolito de la di-n-propilnitrosamina que, cuando es inyectada al hámster sirio dorado, induce una alta incidencia de adenomas y adenocarcinomas ductales, después de un periodo de latencia de 13 semanas. Las dosis utilizadas son 10, 5, y 2.5 mg./Kg.



Fórmula del BOP

Comparado a otros compuestos como el BAP (N-nitrosobis (2-acetoxipropil) amina) y BHP que también son carcinógenos pancreáticos, el BOP es mucho más específico, ya que induce solamente unas pocas neoplasias: en pulmón 41%, hígado 10% y riñón 1%; pero no en cavidad nasal, laringe ni tráquea (órganos habituales para el BHP). Son muy escasas las neoplasias mixtas ductal-insular que causa y en ningún animal se observan tumores de células acinares. El BOP induce neoplasias pancreáticas que son similares a las encontradas en el hombre y provoca la presencia de ictericia, diarrea, ascitis y pérdida de peso.

Posteriormente se describe un hallazgo significativo: la proliferación de los conductillos peri e intrainsulares. Considerando a estas células como el componente pancreático que más responde al carcinógeno y por tanto se consideran como células de origen del adenocarcinoma ductal.⁽¹⁴³⁾ ⁽¹⁴⁴⁾ Cuando se utiliza DMNM (dimetilnitrosomorfolina), que es un carcinógeno muy parecido al BOP, en los

islotos de Langerhans del páncreas del hámster se observan cambios quísticos delimitados por el epitelio de los conductillos.

Scarpelli y Rao en 1979⁽¹⁴⁵⁾ trasplantan un adenocarcinoma ductal, provocado en hámster por BOP, a otro hámster, obteniendo carcinomas ductales bien diferenciados.

Ambas nitrosaminas el BHP y el BOP inducen tumores similares en ratas MRC y en hámster, pero en el hámster el páncreas es el órgano más afectado, cosa que no ocurre en la rata. Las razones de estas diferencias son especulativas, ya que el HPOP (N-nitroso (2-hidroxipropil) (2-oxopropil) amina) es excretado por ambas especies de roedores, el cuál se postula como el carcinógeno más próximo al páncreas. La susceptibilidad del páncreas del hámster y la insensibilidad del páncreas de la rata a estos compuestos no pueden deberse únicamente a diferencias metabólicas. Curiosamente en las ratas se observan nódulos hiperplásicos de células acinares (con BOP) no así en el hámster.⁽¹⁴⁶⁾ En todos los trabajos realizados hasta ese momento se dió por supuesto que células del sistema de conductos eran las células de origen.⁽¹⁴⁷⁾

En 1981 Githens et al.⁽¹⁴⁸⁾ logran aislar y cultivar los conductos pancreáticos del hámster y la rata, aportando un nuevo medio para el estudio bioquímico del tejido pancreático.

La administración de BOP, cuando el máximo número de células acinares están en la fase S del ciclo celular, origina lesiones que inciden y demuestran, tanto

morfológica como biológicamente (según Scarpelli et al.),⁽¹⁴⁹⁾ que las células acinares deben ser no sólo consideradas , sino implicadas en la carcinogénesis pancreática del hámster.⁽¹⁵⁰⁾

3.6. METABOLISMO

Los carcinógenos pueden actuar directa o indirectamente. El azaserine es considerada como un carcinógeno químico que actúa directamente, mientras que el BOP es clasificado como un carcinógeno de acción indirecta o procarcinógeno, ya que requiere ser metabolizado por una serie de enzimas a su forma activa. Los posibles caminos para que el carcinógeno llegue al páncreas son tres:

- Activación por MFO microsomal hepático (del BOP a HPOP), que traslada el carcinógeno a la sangre y a través de ella, llega al páncreas.⁽¹⁵¹⁾
- Activación en el hígado y posterior excreción y concentración de los metabolitos carcinógenos en la bilis, los cuales pueden llegar al páncreas y, por reflujo, entrar en el sistema ductal pancreático. En este modelo se ha demostrado experimentalmente que no es posible esta teoría.^{(152) (153) (154) (155)}
- Activación por enzimas MFO en el páncreas del hámster, tales metabolitos carcinógenos entran en el sistema de conductos pancreáticos y afectan el epitelio ductal. En general, los órganos diana contienen (se supone) los enzimas requeridos para metabolizar estos carcinógenos, los cuales

adoptarían entonces las últimas formas carcinogénicamente activas. Está demostrado que el páncreas del hámster contiene actividad MFO capaz de la activación del BOP.⁽¹⁵⁶⁾ Cuando se administró el BOP y BHP al hámster fue aislado el HPOP como metabolito en la orina y la sangre. La específica estructura molecular del HPOP, es decir su forma cíclica hemiacetal, ha hecho sospechar a Pour que este carcinógeno actuaría sobre las células de los islotes y concretamente sobre las células precursoras, que sería la célula diana.⁽¹⁵⁷⁾ En ésta, se metabolizaría a un carcinógeno más próximo, el cual alcanzaría la célula pancreática exocrina (del conducto o del conductillo) por vía capilar postinsular.⁽¹⁵⁸⁾ Estudios con diferentes carcinógenos han puesto de manifiesto que tanto las células de los conductos como las acinares, son capaces de metabolizar los carcinógenos a formas activas.^{(159) (160) (161)}

El HPOP no sólo se encuentra como metabolito del BOP en el hámster, sino también en orina, sangre y tejidos de las ratas. Se ha postulado que la carcinogénesis pancreática del BOP depende de la formación de HPOP, ya que es más potente que el BOP y además produce daño en el DNA de las células pancreáticas.^{(162) (163)} Datos obtenidos experimentalmente sugieren que el páncreas del hámster reduce BOP a HPOP más eficazmente que la rata. La fracción S-9 del páncreas del hámster es 2.4 y 7.6 más eficaz que el de la rata, en presencia de NADPH y NADH respectivamente. Por tanto el hámster difiere significativamente de la rata en su capacidad para formar y excretar el estersulfato de HPOP.⁽¹⁶⁴⁾ De igual forma, Kokkinakis y cols.⁽¹⁶⁵⁾ encuentran que el metabolismo de NNDM y la formación de HPOP es siete veces más rápida con los microsomas del hígado del hámster que con los de la rata.

3.7. ALQUILACIÓN DEL DNA

En química orgánica se denomina alquilación a la transferencia de un grupo alquilo de una molécula a otra. En medicina, es tan importante la alquilación del DNA que se utiliza en quimioterapia para afectar a las células cancerígenas, como la alquilación del DNA de las células sanas que las convierte en malignas.

La alquilación del DNA es provocada por los compuestos que se producen en la metabolización de las nitrosaminas. Es importante conocer que el potencial carcinogénico es directamente proporcional al grado de alquilación y está también influenciado por la capacidad del tejido para eliminar los productos alquilantes. De todas las lesiones del DNA, la alquilación del oxígeno es la que tiene el mayor potencial carcinogénico.⁽¹⁶⁶⁾

Los niveles de alquilación están en relación con el BOP, que tiene mayor potencial con respecto al HPOP y también son distintos los diferentes órganos diana de los dos carcinogénicos. De tal forma que cuando se administran las mismas dosis de BOP y HPOP, en los niveles de alquilación del DNA son mayores los del BOP que los del HPOP, presentándose dicha relación en el pulmón, páncreas y riñón de los animales tratados.⁽¹⁶⁷⁾

El BOP, el HPOP y el BHP producen derivados metil e hidroxil-propil. Los derivados del DNA más abundantes son la N7-metilguanina (7MG), O6-metilguanina, producidos por la metilación de las guaninas. Ambos compuestos son derivados del carbono α . Un tercer metabolito, N7 (-2hidroxilpropilguanina) (7HPG),

resulta de la hidroxipropilación de las guaninas, se ha encontrado principalmente en el riñón, pero menos en hígado y pulmón. El HPOP y el BHP producen niveles más altos de O6-hidroxipropilguanina que el BOP, dándose que el BOP produce niveles más elevados de O6-metilguanina.⁽¹⁶⁸⁾

A partir de la octava semana de administración del BOP, encontramos una tinción nuclear más fuerte en las células ductales intra e interlobulillares, como en las células centroacinares del páncreas de hámster, lo cual indica que estas células podrán tener más posibilidades de desarrollar tumores que las células acinares que tienen una menor alquilación.

4. MODIFICACIONES DE LA CARCINOGENESIS PANCREÁTICA EXPERIMENTAL

4.1. PAPEL DE LA DIETA

Usando ambos modelos azaserine-rata y BOP-hámster, así como protocolos que permiten separar y valorar los factores que afectan la iniciación y las progresivas fases de la carcinogénesis, se ha demostrado que dietas con alto contenido en grasas insaturadas promueven la progresión de las lesiones inducidas por estos carcinógenos en hámster⁽¹⁶⁹⁾ y ratas⁽¹⁷⁰⁾ Longnecker et al.⁽¹⁷¹⁾ estudiaron en 1985 el efecto de dietas ricas en grasas no saturadas y HPOP; la carcinogénesis se incrementa en el páncreas del hámster y de la rata al incluir en la dieta un 20% de grasas insaturadas. Ratas con dietas similares, pero con alto contenido en grasas saturadas, no muestran ninguna evidencia de que potencien la carcinogénesis del páncreas, datos que no son compartidos por Woutersen.⁽¹⁷²⁾ Estos estudios muestran que los factores dietéticos juegan un papel importante en la carcinogénesis pancreática.

4.2. ACCIÓN DEL ALOXÁN

El Aloxán daña las células exocrinas, especialmente las células de los conductos, disminuyendo la inducción de lesiones hiperplásicas y neoplásicas en el páncreas en un grado estadísticamente significativo.⁽¹⁷³⁾

4.3. ACCIÓN DE LA PANCREATECTOMÍA

Si realizamos pancreatectomía parcial y a los 30 minutos administramos N-nitrosobis (2-oxopropil)amina (BOP), se reduce la incidencia de tumores pancreáticos, pero hay un incremento significativo cuando el BOP se administra una semana después de la resección quirúrgica. Es posible una correlación entre la carcinogénesis y la síntesis de DNA y RNA de un tejido. Existen evidencias de que la inducción tumoral por carcinógenos químicos puede incrementarse por la estimulación del tejido diana a proliferar. En este caso por la resección quirúrgica.⁽¹⁷⁴⁾

4.4. ACCIÓN DE CARBAMIL-B-METILCOLINA CLORHIDRO

El Carbamil- β -metilcolina clorhidro produce una significativa reducción de carcinomas pancreáticos ductales y ductulares, pero no altera la incidencia de las lesiones benignas. Lo cual puede demostrar que las lesiones benignas no son precursoras de los carcinomas, o bien que el Carbamil- β -metilcolina clorhidro tiene un efecto inhibitor en la progresión de lesiones benignas a malignas.⁽¹⁷⁵⁾

4.5. ACCIÓN DE LAS HORMONAS GASTROINTESTINALES

Las hormonas gastrointestinales: gastrina, secretina y colecistoquinina estimulan el crecimiento del páncreas exocrino en la rata, ya que aumentan el peso del órgano así como el contenido de DNA, RNA, y proteínas. También produce

hiperplasia e hipertrofia de las células acinares en la rata.^{(176) (177) (178) (179) (180) (181) (182)}

(183)

Townsend et al.⁽¹⁸⁴⁾ en 1981, aportan los siguientes resultados: La cerulina (análogo de colecistoquinina) en combinación con la secretina produce un incremento en el peso del páncreas y en su contenido de DNA; las hormonas gastrointestinales, pues, son tróficas para el páncreas del hámster normal pero también estimulan el crecimiento del adenocarcinoma ductal pancreático. Una acción trófica similar tiene la colecistoquinina en el páncreas del hámster.⁽¹⁸⁵⁾ Por otra parte, la cerulina sola no influye en la carcinogénesis pancreática en el hámster según Andren-Sandberg y cols.⁽¹⁸⁶⁾ La colecistoquinina y la secretina^{(187) (188)} son considerados cofactores, ya que cuando se asocian a BOP se reduce el tiempo de latencia y se incrementa el número de tumores pancreáticos. Al administrar secretina y colecistoquinina se incrementan los valores de CEA en el hombre.⁽¹⁸⁹⁾

La secretina y cerulina incrementan el contenido de somatostatina⁽¹⁹⁰⁾ la cual posee efecto inhibitor.⁽¹⁹¹⁾ Morisset⁽¹⁹²⁾ opina que la somatostatina debe ser considerada como un factor inhibitor del crecimiento pancreático. La somatostatina inhibiría la acción estimuladora de hormonas gastrointestinales en las células tumorales.

Se ha demostrado que la unión de la somatostatina a receptores de membrana activa la desfosforilación de la proteína de membrana, dicha fosforilación es promovida por el factor de crecimiento epidermal (FCE).^{(193) (194)} La somatostatina, por otro lado, inhibe la separación centrosomal inducida por el FCE,

este efecto se asocia a una inhibición en la síntesis de DNA y en la replicación celular.⁽¹⁹⁵⁾ Estos son los posibles mecanismos por los cuales, la somatostatina, puede inhibir el crecimiento de los cánceres pancreáticos humanos. Asimismo se ha demostrado recientemente, en modelos experimentales animales, la inhibición del crecimiento del carcinoma pancreático por análogos de somatostatina. En estos casos se observa una reducción del tamaño tumoral.⁽¹⁹⁶⁾

4.6. ACCIÓN DE LA ESTREPTOZOTOZINA

La estreptozotocina parece incrementar la acción cancerígena del BOP.⁽¹⁹⁷⁾ La pilocarpina, por su parte, podría tener un efecto inhibitor.⁽¹⁹⁸⁾ El etanol no se ha observado que modifique ni el volumen ni la incidencia tumoral.⁽¹⁹⁹⁾

4.7 ACCIÓN DE LA ETIONINA

Desde hace mucho tiempo, es conocida la acción destructiva de células acinares por la etionina, así como su posterior regeneración.^{(200) (201) (202)} Mc-Guinness et al.⁽²⁰³⁾ utilizaron DL etionina para producir pancreatitis, más tarde administraron azaserine y las ratas que se recuperaron de la pancreatitis desarrollaron cáncer pancreático. Parece que existe interacción entre pancreatitis y cáncer pancreático en la rata.

4.8 ACCIÓN DE RETINOIDES SINTÉTICOS

Los retinoides sintéticos N(4-pivaloiloxifenil) retinamida, N-(2-hidroxiopropil) retinamida, N-(3-hidroxiopropil) retinamida, N-(2,3-dihidroxiopropil retinamida), han demostrado que inhiben el desarrollo de carcinomas en modelos experimentales en piel, mama y vejiga. Recientemente varios de estos retinoides muestran un efecto similar en la carcinogénesis pancreática en el modelo azaserine-rata⁽²⁰⁴⁾ y, en menor grado, en el BOP-hámster. Aparece hiperplasia intraductal atípica, carcinoma “in situ” y adenocarcinomas, sin embargo en los animales tratados con retinoides la incidencia de adenocarcinomas es menor.⁽²⁰⁵⁾ Lo que significa que impiden la progresión de las lesiones pero no su iniciación.

4.9 ACCIÓN DE HORMONAS SEXUALES

Las hormonas sexuales juegan un papel destacado en el crecimiento del páncreas normal y en el tumoral. La presencia de receptores para estrógenos y andrógenos en células pancreáticas indica que las hormonas sexuales pueden ejercer influencia en las células neoplásicas.⁽²⁰⁶⁾ En este contexto, se ha demostrado experimentalmente que análogos de LH-RH (D-trp-6-LH-RH) inhiben el crecimiento de tumores pancreáticos.⁽²⁰⁷⁾ En pacientes con adenocarcinoma pancreático terminal el tratamiento con Nolvadex aumenta la supervivencia, siendo la media de 8.5 meses, aunque en tres pacientes la supervivencia fue de 22 meses.⁽²⁰⁸⁾ Una nueva forma de tratamiento es la hormonal, aunque hasta ahora no se incluía la hormonoterapia en los protocolos de tratamiento del cáncer pancreático.

4.10. ACCIÓN DE LA NIACINA

PAPEL PROTECTOR

La Niacina, es una vitamina hidrosoluble que se conoce también como vitamina B3.

La nicotinamida ⁽²⁰⁹⁾ derivada de la niacina, se utiliza en la producción de los coenzimas niacina-adenin-dinucleotido (NAD) y nicotinamida –adenín-dinucleótido-3-fosfato.

Los dinucleótidos están constituidos por 2 unidades ó mononucleótidos enlazadas mediante un puente de ácido fosfórico. Solamente se conocen unos pocos dinucleótidos en que el grupo fosfato-puente sea distinto del enlace 3'5' fosfodiéster; no son derivados de los ácidos nucleicos pero se encuentran en estado libre en la célula. Los ejemplos mejor conocidos son los tres coenzimas de óxido-reducción: El niacina-adenín-dinucleótido (NAD), niacina-adenín-dinucleótido-3'-fosfato (NADP) y Flavin-adenín-dinucleótido (FAD). El NAD y NADP contienen el nucleótido de la niacina.

Hay hasta 200 enzimas ⁽²¹⁰⁾ que requieren los coenzimas de la niacina NAD y NADP para su funcionamiento. El NAD ⁽²¹¹⁾ es el sustrato reactante para dos clases de enzimas, mono-ADP-ribosiltransferasa y poli-ADP-ribosapolimerasa (PARP). Las PARP funcionan en la reparación del DNA en momentos específicos como

transcripción celular, apoptosis, cromatina en la diferenciación celular, lo que nos sugiere un posible papel de la niacina en la prevención del cáncer. ⁽²¹²⁾

Se han identificado 5 PARPs diferentes, esto nos está indicando que hay un gran consumo de NAD, por consiguiente de niacina. ⁽²¹³⁾

A su vez, la poli-ADP-ribosa juega un papel importante en la reparación del DNA y también pueden mediar en importantes vías de señalización celular en la prevención del cáncer. ⁽²¹⁴⁾ También se ha visto que la falta de NAD en la célula disminuye los niveles de la proteína supresora de tumores P53, en células de mama, pulmón y piel humanos. ⁽²¹⁵⁾

El NAD interviene en la estabilidad genómica con sensibilidad a los efectos citotóxicos de agentes que dañan el DNA. Por otro lado se ha observado que el aumento intracelular de NAD ha mejorado la reparación de daños del DNA causado por nitrosaminas. ⁽²¹⁶⁾

Se ha visto que una deficiencia de niacina disminuye los niveles de NAD y de la poli ADP-ribosa en médula ósea y aumenta el riesgo de leucemia inducida químicamente. ⁽²¹⁷⁾

La activación de PARP-1 por daño del DNA ⁽²¹⁸⁾ determina las vías celulares dependiendo del estímulo que produce el daño: supervivencia, apoptosis o necrosis. En casos de daños leves, la activación de PARP-1 mejora la reparación de DNA mediante interacción con la proteína p53, deteniendo el ciclo celular y facilita la

reparación enzimática del DNA. ⁽²¹⁹⁾ Cuando el daño es irreparable en el DNA, la activación de PARP-1 induce muerte celular por apoptosis mediante la activación de NF-kB y previene la depleción del DNA por mediación de las caspasas que son también activadas por la PARP-1. ^{(220) (221)}

Si el daño en el DNA produce una sobre activación en el PARP-1, a su vez agotando todo el NAD⁺ presente en la célula y en un intento de reponer el NAD⁺, consume todo el ATP, conduce a esta célula a una crisis de energía que la precipita a la muerte celular necrótica. ⁽²²²⁾

Es necesario destacar que la apoptosis es un proceso dependiente de energía, por lo tanto las células con poca energía, no pueden acceder a este tipo de muerte celular. ^{(223) (224)}

Altas dosis de niacina (5mm o más) inhibe la reparación del DNA, por inhibición de la PARP-1, mientras que la niacina a dosis bajas mejora la incorporación de NAD⁺ ayudando a la reparación de las roturas del DNA.

Pero in vivo esta acción es poco probable (inhibir la niacina a la PARP-1). ⁽²²⁵⁾ Después de la exposición a un hepatocarcinógeno, la inducción de la poli (ADP-ribosa) es solamente mayor en las ratas suplementadas con niacina, ⁽²²⁶⁾ lo que sugiere que se necesitan dosis altas de niacina para inhibir la acción de la PARP-1 en todo el organismo.

Como ya decíamos, la inhibición de la PARP-1 por niacina, ha demostrado que cambia la muerte celular por necrosis en vez de apoptosis. ⁽²²⁷⁾ La niacina, al ser precursora de NAD⁺, ATP y como inhibidor de la PARP-1, juega un papel importante en la protección celular, determinando el destino de la célula como respuesta al daño del DNA. ⁽²²⁸⁾ ⁽²²⁹⁾ Por su parte, la PARP-1 es un activador del factor nuclear NF-κB, se trata de un factor de transcripción que juega un papel importante en la regulación de los diversos genes, los cuales tienen una acción en una variedad de procesos celulares como: la respuesta inflamatoria, inmune, la apoptosis, la proliferación y diferenciación celular. ⁽²³⁰⁾ ⁽²³¹⁾

Como ya comentó el doctor Parviz Pour en 1984, la acción estimuladora de la reparación del DNA por la niacina se produjo al administrarse después del tratamiento con BOP, cuando la metabolización del BOP fue prácticamente completada y el carcinógeno absorbido por las células diana, pero no cuando la niacina se administró antes del tratamiento con BOP. Por lo tanto, podemos asumir que el efecto antineoplásico de la niacina no se debe a una interferencia en el metabolismo del BOP. En concentraciones bajas, la niacina aumentó la concentración intracelular de NAD⁺, un substrato de la poli (ADP-ribosa) polimerasa, mientras que en concentraciones altas inhibió la acción de esta enzima por inhibición competitiva. Se indicó una relación directa entre actividad de la poli (ADP-ribosa) polimerasa y la “escisión” reparadora del DNA.

Otra explicación de la capacidad de la niacina para estimular la síntesis y reparación del DNA, podría ser que la misma previene la drástica depleción de las

reservas de NAD⁺ que ocurre en las células gravemente dañadas, mientras mantiene la capacidad de las células para generar ATP y mantener un proceso dependiente de la energía. ⁽²³²⁾

En los estudios previos realizados con ratas, ⁽²³³⁾ la niacina redujo la incidencia de tumores de las células de islotes inducidos por estreptozotocina (SZ) desde el 44 al 18%. ⁽²³⁴⁾ A pesar de que la diferencia no fue estadísticamente significativa, podemos deducir que posiblemente existen diferencias entre especies en el efecto de la niacina en la carcinogénesis.

La Niacina (niacina, ácido nicotínico y niacinamida), funciona en el cuerpo como un componente de dos diferentes coenzimas, NAD y NADP -ya nombrados- que son grupos funcionales en los sistemas de la oxidación, reducción intracelular de las enzimas necesarias para la respiración tisular, glicólisis y síntesis grasa. El aporte diario de niacina, -según recomienda la "Food and Nutrition board, National Academy of Sciences National Research Council"-, es de 15-20mg, pero ningún dato epidemiológico ha sugerido todavía una asociación entre la deficiencia de niacina y algún tipo de cáncer.

Generalmente es más importante la investigación sobre los aspectos bioquímicos y celulares de la reparación del DNA, pero en el caso de la Niacina ha suscitado un gran interés la relación entre la ingesta y la protección del cáncer en la población humana. ⁽²³⁵⁾

Tenemos un estudio sobre el consumo aumentado de niacina que se asociaba con una incidencia disminuida de cáncer oral, faríngeo y de esófago en el norte de Italia y Suiza. El aumento en la ingesta de niacina de 6,2 mg se asoció con un descenso de cerca del 40% de cánceres de boca y garganta, mientras que un suplemento de 5,2 mg en la ingesta de niacina, se asoció con un descenso similar en los casos de cáncer esofágico. ⁽²³⁶⁾ ⁽²³⁷⁾ ⁽²³⁸⁾

5. HISTOGÉNESIS DE CARCINOMAS PANCREÁTICOS INDUCIDOS EXPERIMENTALMENTE

5.1. MODELO AZASERINE-RATA

En el modelo azaserine-rata los cambios histológicos tempranos tienen lugar en las células acinares y, por tanto, se admite que el tumor procede de la transformación de estas células. El azaserine en la rata induce carcinomas de células acinares. Estos carcinomas provocan claramente zimógeno y poseen configuración acinar o tubular en algunas áreas. Ultraestructuralmente abunda el retículo endoplásmico rugoso y se forma un número variable de gránulos de zimógeno de apariencia típica. Los gránulos de zimógeno en las células malignas tienden en ocasiones a adoptar forma cilíndrica bizarra o angular y poseen un tamaño más pequeño de lo normal. Cuando solo algunas células poseen gránulos de zimógeno se denomina carcinoma de células acinares pobremente diferenciado. En algunas áreas aparecen estructuras parecidas a conductos, unas pocas con dilatación quística; las células que delimitan los espacios quísticos son cúbicas o columnares y se advierte una falta evidente de gránulos de zimógeno en el citoplasma. En otras áreas los quistes están delimitados por múltiples capas de células, algunas de las cuales contienen zimógeno y se puede observar en ocasiones un patrón cribiforme, al que se denomina microadenoma; sus células configuran estructuras similares a conductos y en el margen del tumor se advierte

una clara transición a carcinoma acinar pobremente diferenciado, en el que unas pocas células contienen una pequeña cantidad de gránulos de zimógeno. ⁽²³⁹⁾

5.2. CUATRO GRUPOS CELULARES

Reddy et al. ⁽²⁴⁰⁾ clasifican a las células en 4 grupos según la morfología nuclear y las organelas. Desde células con todas las características de células acinares hasta las que han perdido los gránulos de zimógeno, poseen RER escaso, núcleo irregular y mitocondrias alargadas. Las células acinares de la neoplasia pancreática son capaces de sintetizar DNA y pueden adquirir características fenotípicas inmaduras, como resultado de mitosis continuadas sin el tiempo de interfase adecuado para la citodiferenciación. Se han publicado dos teorías sobre su procedencia:

- Que se transforman en células con fenotipo inmaduro (retrodiferenciación), como resultado de contínuas mitosis. Hay que tener en cuenta que las células acinares neoplásicas son parecidas a las células acinares del páncreas de la rata a los 15 días de gestación. ⁽²⁴¹⁾
- Otra posibilidad es que se diferencien de células Stem.

Tempranamente, en las ratas tratadas con azaserine se observan focalmente nódulos hiperplásicos o nódulos de células acinares atípicas (NCAA). Dichas lesiones han sido clasificadas como adenomas; la transformación fenotípica que se

produce es la siguiente: disminución del citoplasma basófilo; disminución del zimógeno con aumento de la basofilia citoplásmica; núcleo parabasal con irregularidades en el tamaño y la forma, con nucleolo prominente. En algunas de estas lesiones se observa dilatación de la luz tomando una apariencia similar a conductos (ductu-like). Los nódulos de células acinares atípicas pueden tener potencial carcinogénico y evolucionar hacia tumor maligno si se sigue administrando azaserine. Asimismo han sido descritos en el páncreas humano focos de células acinares displásicas. ⁽²⁴²⁾

Por otra parte en el modelo experimental azaserine-rata, aunque la mayoría de las lesiones son compatibles con carcinomas de células acinares, ⁽²⁴³⁾ también se advierten algunos carcinomas con estructuras similares al carcinoma ductal así como cistoadenocarcinomas y carcinomas anaplásicos.

5.3. BHP EN EL HÁMSTER SIRIO DORADO

La inoculación de BHP (N-nitrosobis (2-hidroxipropil)amina) (sinónimos DIPN y DHPN) al hámster sirio dorado, produce adenomas compuestos, en la mayoría de los casos, de estructuras tubulares delimitadas por una capa de células epiteliales aplanadas, cúbicas o cilíndricas. Pueden mostrar formaciones quísticas, papilares o quístico-papilares. La mayoría de los carcinomas inducidos son de origen ductal y solamente unos pocos de origen acinar. Se observan adenocarcinomas ductales, generalmente bien diferenciados, mostrando patrón glandular, limitado por epitelio columnar o cuboideo. También existen, en diferentes partes de la misma neoplasia

o en distintos segmentos del páncreas, carcinomas gelatinosos, carcinomas mucinosos, carcinomas de células gigantes y carcinomas de células en anillo de sello. Precozmente se produce hiperplasia de los conductos. Los carcinomas intraductales se presentan a las 15 semanas de tratamiento. La inducción simultánea de adenomas y adenocarcinomas, así como la presencia de hiperplasia con neoplasia y la evidente transición de adenomas a carcinomas, es similar a los hallazgos descritos por algunos autores en el hombre.

Distintos autores como Althoff, Pour, Malick ^{(244) (245) (246) (247) (248)} que han estudiado las alteraciones que inducen el BHP en hámster, tienen su origen en células del conducto para los tumores producidos. Sin embargo Flaks et al., ^{(249) (250)} en un exhaustivo estudio ultraestructural afirman que los tumores inducidos por DHP tienen su origen en las células acinares. Se basan en que las células que constituyen las lesiones cistoadenomas multifocales en el hámster (lesiones precursoras) poseen características citológicas y ultraestructurales de células acinares.

5.4. BOP EN EL HÁMSTER SIRIO DORADO

En los hámsters tratados con BOP los cambios tempranos observados fueron hiperplasia intraductal y reemplazamiento acinar por conductillos. Pour y Wilson ⁽²⁵¹⁾ describen en este modelo múltiples tipos histológicos: carcinoma ductal tubular, adenocarcinomas quístico-papilares, carcinomas mucinosos bien diferenciados y tumores mixtos ductal-insular. Estos autores han observado que el BOP en el

páncreas de hámster provoca necrosis acinar, asociada a fuerte hipertrofia de células centroacinares y células intercaladas (los conductillos intercalados o intralobulares comprenden células centroacinares y células intercaladas). Ultraestructuralmente las células acinares muestran variaciones en la estructura glandular, lo que seguramente refleja el efecto tóxico del carcinógeno. Dichas alteraciones incluyen importantes variaciones en el aspecto de los gránulos, que aparecen fragmentados o alargados. Las células contienen vacuolas con material denso que pueden representar dilataciones del retículo endoplásmico. En ocasiones las células acinares parecen sufrir necrosis, otras células acinares muestran mitocondrias fuertemente hinchadas con parcial o total lisis de las crestas. También se observa un incremento del número de células intersticiales, lo que se mantiene incluso después de un tratamiento reiterado. La necrosis de células acinares aparece en segmentos pancreáticos de forma fortuita, especialmente en la región periinsular que se presenta como el área más expuesta, y posiblemente también a elevadas concentraciones de sustancias tóxicas. Pero la necrosis de células acinares no tiene porqué ser un fenómeno primario. Las células centroacinares e intercalares del acino afectado, muestran hipertrofia e hiperplasia y es posible que la necrosis acinar pudiera ser consecuencia de la obstrucción del conducto por la proliferación e hiperplasia de células centroacinares. Con posterioridad aparece hiperplasia de las células de los conductillos que llegan a predominar, con núcleos voluminosos dentados y citoplasma edematoso claro. Las células de los conductillos hiperplásicos muestran numerosos lisosomas en su citoplasma y algunas microvellosidades. La multifocalidad, extensión y severidad de las lesiones parece tener relación con la dosis administrada del carcinógeno. A dosis altas la respuesta es multifocal.

Para Pour y Wilson ⁽²⁵²⁾ el estado de necrosis de células acinares e hiperplasia de células de los conductillos es causada por tres fenómenos:

I. Nesidioblastosis.

Aproximadamente de las seis a las doce semanas se producen islotes neoformados desde las células de los conductos hiperplásicos. Pour no observa incremento en el número de los islotes, opina que quizás porque el proceso neoplásico es rápido y existe un reemplazamiento de los nuevos islotes formados por los conductillos proliferantes. Los nuevos islotes, procedentes de células de los conductillos intralobulares (intercalados) o de las células centroacinares, varían mucho en tamaño y composición, desde una sola célula a grupos de células, algunas o la mayoría con semejanza histológica. Contienen cantidad variable de gránulos β pero rara vez gránulos α . Estos islotes son habitualmente lobulados, hipo o avasculares y se comparan a los islotes rudimentarios observados en pacientes diabéticos. Se ven células con diferente número de gránulos mezcladas con células agranulocíticas. Dichas células poseen un citoplasma eosinófilo bien definido. Células similares se encuentran en el epitelio de los conductillos intralobulares hiperplásicos así como en los conductos interlobulares. Las células agranulares han sido llamadas "*precursores de células del islote*" o "*células β inmaduras*", de las que posiblemente procedan las células del islote. Forman microtúbulos y algunas de estas estructuras son indistinguibles de los conductillos hiperplásicos, sin embargo otras se parecen a islotes y otras además son mixtas encontrándose entre ambos.

II. Formación y/o proliferación de conductillos intrainculares o periinsulares.

Este proceso acontece por una formación inicial en el centro del islote de pequeños conductos; estos espacios parecen representar dilataciones quísticas de los sinusoides intercelulares, por la canalización o proliferación de conductillos intrainculares preexistentes. Los indicados espacios quísticos están parcialmente delimitados por células con gránulos β , con o sin células de los conductillos intralobulares. Los espacios intrainculares pueden producirse por una gradual emigración de células ductulares desde los islotes (en su periferia), por proliferación de células del conductillo intraincular o por transformación de células del islote en células del conductillo. Las células que delimitan los conductillos intrainculares son similares a las células de los conductillos hiperplásicos o a las de la nesidioblastosis. Algunos conductillos intrainculares están llenos de material similar a gránulos de zimógeno, lo que indica la comunicación entre los conductillos intrainculares y los conductillos intralobulares.

III. Concomitante a la proliferación de conductillos, peri o intrainculares.

Se produce una gradual renovación de las células acinares necróticas por la proliferación de células de los conductillos periinsulares (principalmente) y se forman pseudoconductillos. ⁽²⁵³⁾

En síntesis: el proceso neoplásico se inició con hiperplasia de los conductillos intercalados (intralobulares) y de las células de los conductos interlobulares, asociado a la neoformación de islotes (nesidioblastosis). Más tarde se produce una formación excesiva de células de los islotes maduros y especialmente inmaduras (precursoras de células β), con la proliferación de conductillos periinsulares y

conductillos intrainculares en abundancia. Por tanto son las células de los conductillos, especialmente de origen periinsular e intraincular, las que más responden a este carcinógeno. Pero, aunque al principio proliferan los conductillos peri e intrainculares, en estadios avanzados la distinción entre conductos y conductillos a menudo es imposible. Dado que las células aumentan de tamaño, igual que las luces de los conductillos, ésto acompañado del desarrollo del tejido conectivo periductular, causa que dichas estructuras parezcan conductos.

Con frecuencia se observó la hiperplasia del epitelio del conducto común en los animales tratados, pero los tumores procedentes de este conducto fueron muy raros. Neoplasias de origen ductal se encontraron en un número muy limitado de hámsters, solamente en aquellos que recibieron una dosis muy alta de BOP, así pues, el 90% de los tumores fueron considerados de origen ductular (en las células de los conductillos.⁽²⁵⁴⁾ Por tanto, las células de los conductillos de los islotes podrían representar la célula totipotencial del páncreas, precursora y reguladora de células ductulares metaplásicas, así como de las células de los islotes. Si añadimos que el inicio de la carcinogénesis fue la hiperplasia de células de los conductillos (incluyendo a las células centroacinares) con neoformación de islotes (nesidioblastosis), son un hallazgo acorde con el concepto clásico de un origen del islote desde elementos de los conductillos.⁽²⁵⁵⁾

Cabe destacar que la conexión existente entre los islotes pancreáticos y los conductillos implicaría una posible e íntima relación entre el páncreas exocrino y endocrino.

Cuando se inyecta BOP al hámster, la mayoría de los autores ⁽²⁵⁶⁾ ⁽²⁵⁷⁾ ⁽²⁵⁸⁾ observan hiperplasia, metaplasia, displasia y carcinoma “in situ”, desarrollados simultáneamente en los conductos pancreáticos de diferente tamaño y en los conductillos (dependiendo de la dosis) pero no en células acinares. También se vieron adenocarcinomas bien diferenciados constituídos por células columnares con gran núcleo hiper cromático.⁽²⁵⁹⁾ ⁽²⁶⁰⁾ La hiperplasia y la displasia preceden al carcinoma.⁽²⁶¹⁾

Los resultados de las investigaciones descritas se han visto confirmados cuando al hámster se le inyecta DMNM (dimetilnitrosomorfolina). Althoff et al.⁽²⁶²⁾ observaron necrosis de células acinares, así como cambios quísticos en el interior de los islotes de Langerhans, delimitados por epitelio de los conductos. Simultáneamente a la proliferación de los conductillos intrainsulares se produce proliferación de los conductillos perinsulares. Las mencionadas lesiones, al aumentar de tamaño, comprimen los islotes restantes causando atrofia. La hiperplasia multifocal y la proliferación del epitelio de los conductillos intralobulares se observan simultáneamente a la formación de conductillos intra y periinsular. Los tumores muestran patrones quístico-papilares. El epitelio que reviste la luz está constituido por una capa de células cúbicas o cilíndricas y ocasionalmente por una población mixta. La luz se encuentra llena de secreción, mostrando conexión con el sistema de conductos. Además se observan áreas similares a adenomas junto a adenocarcinomas bien diferenciados indicando, por tanto, que estas neoplasias de origen ductal pueden desarrollarse a partir de procesos benignos.

Scarpelli et al, en 1981 y 1983,⁽²⁶³⁾ ⁽²⁶⁴⁾ aportan datos muy distintos a lo publicado con anterioridad. Inyectando BOP en la fase S del ciclo celular o cuando previa a la inyección de BOP se administra etionina a los hámsters, han detectado que a las 24 horas de la administración de BOP no se observa incremento en el número de mitosis a nivel de los islotes ni del epitelio de los conductos y/o conductillos, pero sí encontraron mitosis de anormal morfología en células acinares. Las lesiones más frecuentes fueron proliferaciones neoplásicas benignas, cistoadenomas, constituidos por estructuras similares a conductos y delimitados por epitelio cuboidal aplanado, algunas de estas células contenían gránulos de zimógeno y núcleo basal. Poseían características citológicas de células acinares. También se observaron acinos dilatados, con disminución del citoplasma apical y una variable pérdida de gránulos de zimógeno, estas estructuras tomaron el aspecto de pequeños conductos. No fueron infrecuentes las estructuras similares a conductos (ductu-like) constituídos por células que tenían numerosas atípicas. Sin embargo no se encontró una clara evidencia de cambio maligno en dichos focos, pero opinaron que estos cambios pudieran ser lesiones precursoras. En los conductillos intrainculares presentes no se encontraron alteraciones. También se observaron focos eosinófilos (nidos de células), constituidos por células poliédricas con núcleo central y citoplasma finamente vacuolado; la cromatina y el nucléolo no eran como el de las células acinares habituales, el microscopio electrónico confirmó la presencia de RER. Las células presentaron gran variación en el contenido de gránulos de zimógeno, incluso en algunas áreas las células no poseían gránulos.

La presencia de focos de células acinares con una variable cantidad de gránulos de zimógeno, incluyendo su total ausencia, sugiere que éstos pueden

representar focos de células fenotípicamente alteradas y que son parte de la respuesta crónica del huésped al BOP. La identificación de células acinares en ausencia de gránulos de zimógeno fue posible en la investigación por la existencia de RER bien desarrollado con ordenamiento paralelo y concéntrico.

En estos experimentos el carcinoma inducido, que se inicia con el desarrollo de conductillos o estructuras similares a conductos desde las células acinares, finaliza desarrollando exclusivamente adenocarcinomas ductales.

Por lo tanto, las células acinares deben ser tenidas en cuenta en la carcinogénesis pancreática en el hámster. Por otra parte, según Scarpelli et al.⁽²⁶⁵⁾⁽²⁶⁶⁾ en las mismas investigaciones, el hecho de la posible regeneración del páncreas suprime el punto de vista de la necrosis de células acinares en fases tempranas de la carcinogénesis por BOP.

En numerosos experimentos sobre diversos tipos de animales, como la cobaya o la rata, se ven estructuras similares a conductos cuyas células son de origen acinar. En etapas tempranas de carcinogénesis inducida por DMBA (7, 12 dimetilbenzantraceno) en ratas, se observa sustitución del tejido acinar (alrededor de las bolas del carcinógeno) por complejos ductales. Estos complejos fueron estudiados por Bockman et al.⁽²⁶⁷⁾ ⁽²⁶⁸⁾ En los complejos de túbulos, que tienen la apariencia de conductos intralobulares proliferados, algunas células contenían gránulos de zimógeno. Algunos de estos túbulos estaban integrados exclusivamente por células acinares y otros constituidos por células sin gránulos o por una población mixta. El estudio ultraestructural muestra que numerosas células de las

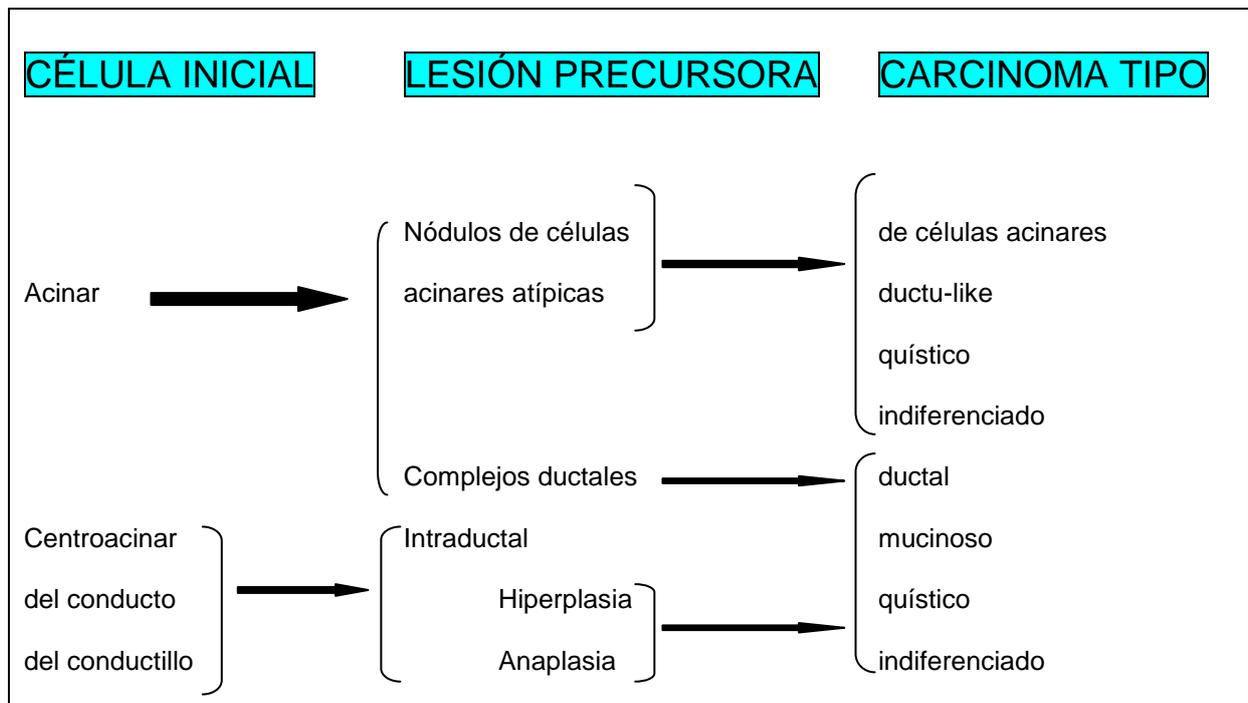
que integran los túbulos contenían gran cantidad de retículo endoplásmico (en los conductos intralobulares hay característicamente poco RER), pero algunas otras células mantienen sólo unos pocos gránulos de zimógeno. El acino llega a ser reconocido como túbulos cuando pierden los gránulos de zimógeno. Por tanto, el cambio es fenotípico, cesa la síntesis y almacenamiento de gránulos de zimógeno con una disminución concomitante de la altura de las células acinares, esto sería debido a la acción del carcinógeno sobre ellas.

El adenocarcinoma pancreático es considerado de origen ductal debido a los complejos de túbulos, los cuales son interpretados como derivados de la proliferación de los conductillos. Bockman et al. en las mismas investigaciones,⁽²⁶⁹⁾ ⁽²⁷⁰⁾ sugieren que las células acinares sufrieron desdiferenciación a complejos tubulares. Debido a la pérdida de los gránulos de zimógeno y disminución en la altura de las células acinares pueden llegar a ser reconocidas como estructuras similares a conductos. Por lo tanto, la presencia de complejos tubulares no debería ser considerada como evidencia de que la carcinogénesis se produce a partir de las células de los conductos o la eliminación de las células acinares como posibles células de origen del adenocarcinoma.

Lesiones similares a las descritas en la rata, se producen en cobayas inducidas por MNU (N-metil-N-nitrosourea). Rao y Reddy⁽²⁷¹⁾ encuentran tempranamente dilatación de la luz acinar con disminución del citoplasma apical y aumento de la actividad mitótica de las células acinares formándose pseudoconductillos. En dos animales observaron claramente la transición desde cambio pseudoductular a adenocarcinoma ductal.

Tabla 2. Histogénesis del Carcinoma pancreático. (incluye los diferentes tipos de células que pueden ser transformadas y las lesiones precursoras que podrían dar lugar al carcinoma pancreático.)

Longnecker⁽²⁷²⁾



Esta Tabla indica que las células acinares pueden ser transformadas y dar lugar a tumores de células acinares diferenciados, adenocarcinomas indiferenciados o carcinomas similares a conductos (“ductu-like”). De forma alternativa las células centroacinares, de los conductos o de los conductillos, pueden transformarse dando lugar a adenocarcinomas ductu-like y sin duda a otras variantes histológicas como demostró Pour. Estas observaciones sugieren la necesidad de replantearse la importancia relativa de las células acinares en la histogénesis de carcinomas pancreáticos en humanos.

La tradicional perspectiva de la histogénesis de los carcinomas pancreáticos en el hombre ha sido que los carcinomas procedían de los conductos. Esta afirmación está basada en los tipos histológicos de tumores en estadios avanzados y en la presencia de cambios hiperplásicos y displásicos en el epitelio de los conductos del páncreas (como ya hemos comentado). Esta asociación sugiere el origen ductal de estos carcinomas. Restos fragmentarios indican que algunos tumores humanos que han sido clasificados como ductales o anaplásicos deben tener su origen en células acinares. Parsa⁽²⁷³⁾ investigó el desarrollo de anticuerpos monoclonales de las membranas de células acinares que están aparentemente ausentes en las células de los conductos o insulares. Sin embargo, un carcinoma humano inducido “*in vitro*” tuvo un patrón de crecimiento anaplásico y mostró reacción con este anticuerpo, lo que sugiere que este tumor fue de origen acinar.

Por lo que tanto las células de los conductos, conductillos periinsulares e intransulares, células centroacinares y acinares han sido consideradas como las células que dan origen al carcinoma ductal.⁽²⁷⁴⁾

6. CITOFOTOMETRÍA

La citofotometría es un método de análisis físico introducido por Cassperson en 1936, que permite calcular la cantidad de una determinada sustancia existente en el interior de la célula. Estas mediciones se basan en varios fenómenos ópticos, de todos ellos el más frecuentemente usado es la absorciometría. La citofotometría de absorción se basa en que diferentes grupos químicos coloreados captan energía luminosa de una concreta longitud de onda. Las sustancias absorbentes pueden ser endógenas o bien el producto final resultante de una reacción química tintorial, en la que la intensidad de la tinción sea proporcional a la cantidad de sustancia a detectar (reacción estequiométrica). El cromóforo se cuantifica midiendo el haz luminoso antes y después de su paso por la región problema. Así, según la ley de Beer-Lambert, cuando un haz de luz atraviesa un material coloreado pierde intensidad de forma proporcional al logaritmo decimal de la cantidad de color y de grosor de dicho material.⁽²⁷⁵⁾ La luz visible es la radiación electromagnética más utilizada. Los errores en la utilización de esta técnica pueden deberse al instrumento, a la preparación o al propio operador.

La citofotometría estática ha sido utilizada para la cuantificación del contenido de DNA nuclear. La tinción más empleada en estos casos es la de Feulgen,⁽²⁷⁶⁾ aplicada a improntas, frotis y con menor frecuencia, a las secciones tisulares.

Un factor importante que ha limitado en parte la aplicación de la citofotometría estática es la lentitud y laboriosidad del método, frente al citómetro de flujo, que es un instrumento desarrollado con posterioridad, más rápido y preciso, aunque presenta el problema de que las células se encuentren suspendidas en un medio líquido. Lo cual plantea problemas en el estudio de tejidos.

El DNA ha sido uno de los componentes que, con mayor frecuencia, ha sido cuantificado. En la patología tumoral se ha utilizado en el diagnóstico, pronóstico y evaluación de la respuesta tumoral a un tratamiento.⁽²⁷⁷⁾ Ha significado un método útil en diferentes neoplasias: de mama,⁽²⁷⁸⁾ pulmón, sistema urogenital,^{(279) (280)} aparato digestivo,^{(281) (282) (283)} linfomas,⁽²⁸⁴⁾ tiroides.⁽²⁸⁵⁾ También se ha utilizado recientemente en los tumores pancreáticos acinares inducidos en ratas^{(286) (287)} y carcinomas de colon en este mismo animal.⁽²⁸⁸⁾

7. OBJETIVOS

Los objetivos que pretendemos alcanzar en este trabajo de investigación son:

- Desarrollar un cáncer de páncreas experimental de acuerdo a las pautas de estudios anteriores.
- Analizar el posible papel protector de la NIACINA en el desarrollo del cáncer.
- Detectar la influencia de la dosis de NIACINA en el bloqueo del metabolismo del carcinógeno.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

En la elaboración de esta investigación nos hemos guiado por los principios éticos de carácter internacional aplicados a investigaciones médicas con animales, al tiempo que se ha cumplido con la legislación española al respecto, especialmente el Real Decreto 1201/2005, 10 Octubre, que incluye la Directiva 86/609 de la Comunidad Europea referente al uso de animales experimentales.

8.1. MATERIAL: HÁMSTER SIRIO DORADO

Para la elaboración de la investigación que presentamos, se han utilizado un total de 85 hámsters sirio dorado, con un peso medio inicial de 100 gramos.



BOP. Suministrado por la empresa:

TORONTO RESEARCH

CHEMICALS, 2 Brisbane R.D. NORTH YORK ON M3J 2J8 CA.

Jeringuillas y agujas de insulina de 1 c.c.

NIACINA: suministrada por la Farmacia de D. Aquilino Corrales

8.1.1. Primer experimento.

1º Experimento

Han sido utilizados sesenta hámsters sirio dorado hembras con un peso medio al inicio de 100g. Doce de ellos sirvieron como control y los cuarenta y ocho restantes se dividieron en 5 grupos en función de la programación de su semana de sacrificio.

- **Grupo I.** Ocho animales a los que se les inyectó BOP disuelto en CINA al 0,9 N, por vía subcutánea, a dosis de 10 mg/kg de peso, una vez a la semana, durante seis semanas y fueron sacrificados la mitad (cuatro) en la séptima semana y la otra mitad (cuatro) en la novena semana.
- **Grupo II.** Ocho animales a los que se les inyectó BOP disuelto en CINA al 0,9 N, por vía subcutánea, a dosis de 10 mg/kg de peso, una vez a la semana, durante diez semanas y fueron sacrificados la mitad (cuatro) en la decimoprimera semana y la otra mitad (cuatro) en la decimotercera semana.
- **Grupo III.** Doce animales a los que se les inyectó BOP disuelto en CINA al 0,9 N, por vía subcutánea, a dosis de 10 mg/kg de peso, una vez a la semana, durante catorce semanas y fueron sacrificados cuatro en la decimoquinta semana, cuatro en la decimoséptima semana y otros cuatro en la decimonovena semana.
- **Grupo IV.** Ocho animales a los que se les inyectó BOP disuelto en CINA al 0,9 N, por vía subcutánea, a dosis de 10 mg/kg de peso, una vez a la semana, durante diecisiete semanas y fueron sacrificados la mitad (cuatro) en la vigesimoprimera semana y la otra mitad (cuatro) en la vigesimotercera semana.

- **Grupo V.** Doce animales a los que se les inyectó BOP disuelto en CIna al 0,9 N, por vía subcutánea, a dosis de 10 mg/kg de peso, una vez a la semana, durante diecisiete semanas y fueron sacrificados cuatro en la vigesimoquinta semana, cuatro en la vigesimoséptima semana y otros cuatro en la semana vigesimooctava.
- **Grupo control.** Doce animales a los que se les inyectó suero salino, una vez a la semana, por vía subcutánea, como placebo y fueron sacrificados dos en la séptima semana, dos en la undécima semana, dos en la decimoséptima semana, tres en la vigesimoprimer semana y tres en la vigesimooctava semana.

	Nº ANIMALES	SUSTANCIA	SEMANA DE SACRIFICIO
Grupo I	8	BOP	7 y 9
Grupo II	8	BOP	11 y 13
Grupo III	12	BOP	15, 17 y 19
Grupo IV	8	BOP	21 y 23
Grupo V	12	BOP	25, 27 y 28
Control	12		7,11, 17, 21 y 28

Los animales recibieron dieta y agua *ad limitum* y fueron pesados semanalmente. El día anterior a su sacrificio se les retiraba la alimentación. Los animales fueron sacrificados, en el tiempo programado, realizándose el estudio necrótico de todos sus órganos. Así mismo se recogió sangre para el estudio en suero de los niveles de insulina.

8.1.2. Segundo experimento

2º Experimento

Se utilizan veinticinco animales Hámsters sirio dorados hembras, que fueron divididos en jaulas de cinco animales.

Grupo I Grupo control: cinco animales

Grupo II Diez animales

Grupo III

III. 1 Cinco animales **III.2** Cinco animales

Grupo II Reciben 0,5 cc. de suero que contiene 1 gramo de BOP y que está diluido en el suero al 10%.

Grupo III Diez animales

III. A reciben Niacina $\frac{1}{2}$ ampolla, (1 ampolla = 17,5 mg/ml) y BOP 1 gr.,

La inyección de la Niacina se administra 1 hora después.

III. B reciben Niacina 1 ampolla entera y BOP 1 gr.

La inyección de la Niacina se administra 1 hora después.

	Nº ANIMALES	SUSTANCIA	SEMANA DE SACRIFICIO
Grupo I control	5		20
Grupo II	10	BOP	20
Grupo III A	5	BOP y Niacina	20
B	5	BOP y Niacina	20

Una vez sacrificados los animales en la semana 20, se les realizó un estudio minucioso de todos los órganos, recogiendo muestras para su examen histopatológico y sangre para analizar los niveles de insulina en suero.

8.2. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE LAS LESIONES

PANCREÁTICAS

8.2.1. MICROSCOPIA ÓPTICA.

La fijación se realizó en formol al 10% (solución acuosa de formaldehído al 35-40%. Panreac) durante 24 horas. Deshidratación de los tejidos con alcohol etílico (CH₃ CH₂ OH. Pm 46,07. Panreac) de 40° (1 hora), alcohol de 70° (1 hora), alcohol de 95° (1 hora) y alcohol absoluto (2 cambios de 1 hora). Parafinado con una mezcla de Benzol-parafina (Riedel-de haen AKTIENGASELLSCHAFF, SEEZZE-

HANNOVER) 3:1 durante 20 minutos, benzol-parafina en una proporción 1:1 por 20 minutos, benzol-parafina 1:3 (20 minutos) y parafina sola a 50° durante 30 minutos. A continuación se realiza la formación de bloques por enfriamiento. Los cortes fueron practicados a 5 micras con un microtomo LEITZ; las tiras obtenidas se colocaron al “*baño maría*” a 37°C para su estiramiento y recogida sobre portaobjetos esmerilados. El desparafinado se realiza mediante 3 pases de 10 minutos cada uno por xilol, a continuación alcoholes de 70°, 90° y absoluto durante 10 minutos cada pase, finalizando con agua destilada para el lavado. Se realizan tinciones con Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson, Pas y Reticulina de Wilder.

8.2.2. INMUNOHISTOQUÍMICA

Mediante los estudios de inmunohistoquímica podemos localizar, identificar y cuantificar en los tejidos determinados antígenos mediante reacciones antígeno-anticuerpo.

Para ello es necesario unir moléculas marcadoras a los anticuerpos para visualizar el lugar donde se produce la reacción con sus correspondientes antígenos.

El estudio lo realizamos sobre cortes de parafina utilizando para la inmunotinción un procesador automático Optimax Plus de Biogenex.

8.2.2.1. Gen Supresor p53.

Para el estudio del gen supresor p53 utilizamos: la clona DO7 de BioGenex a una dilución de 1/400, anticuerpo secundario "antimouse" biotinado, incubación con estreptoavidina marcada con fosfatasa alcalina, cromógeno "fast red" de BioGenex y tinción del corte con hamatoxilina de Carazzi.

La interpretación de la inmunopositividad se realizó por estudio semicuantitativo según el porcentaje de núcleos teñidos y la visualización con un microscopio Leica. El control utilizado fue un tumor de páncreas positivo para p53.

8.2.2.2. CEA y CA 19-9

Para el estudio del CEA utilizamos, la clona 12-140-10 de la casa Novocastra a una dilución de 1/100.

Para la determinación del CA19-9 la clona es C-241:5:1:4 de la casa Novocastra a una dilución de 1/200.

Se utilizó un procesador automático Leica-Bond III y para la determinación se usó el método de la peroxidasa (polímero de Leica).

8.2.2.3. Detección mutaciones del gen K-ras

Para su estudio utilizamos un Cobas 4800 KRAS Mutation Test de Roche.

Los pasos a realizar son los siguientes:

Extracción del DNA del tejido fijado en formol e incluido en parafina.

Del bloque de parafina realizamos 5-6 cortes de 10 micras que se introducen en un tubo estéril de microcentrífuga. Eliminamos la parafina realizando varios lavados con aceite mineral.

Dejamos incubando a 56°C en el termobloque durante toda la noche con la solución de Tissue Lysis Buffer y proteinasa K. Las muestras son introducidas en un extractor de DNA automático, el cual realiza la función de extracción y purificación del DNA mediante columnas

Cuantificación del DNA

La muestra obtenida la medimos con el NanoDrop, que nos indica la calidad y la cantidad de DNA que tenemos, dependiendo de esto utilizamos más microlitros o menos para la técnica. Se prepara la placa siguiendo el protocolo suministrado por la casa comercial del kit. Se centrifuga la placa para eliminar cualquier burbuja que se haya producido al pipetear.

Amplificación y detección

Se introduce en el cobas, se selecciona la técnica de KRAS PCR only.

Al final del proceso, que dura 1 h 50', aparecen los resultados. (Imágen)

HOSP. CLÍNICO UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

cobas® 4800 

cobas KRAS P1 Test Report

Start of run:	08-May-2014 11:38:24	MWP ID:	ED0305282
System:	c4-G2C0433F93	DNA Sample Prep Kit ID #1:	AD1P124384E005Z
Serial No.:	z480.50603	Lot/Exp Date:	P12438/May 2014
Test version:	1.1.0	KRAS Mut Test Kit ID #1:	7A1S178299E0057
Operator:	c4800	Lot/Exp Date:	517829/Oct 2014
Printed By:	c4800		

Run name: 08-MAY-2014 11:38 KRAS P1

Test status: **VALID**

Controls

Position	Sample ID	Kit	Control Type	Result	Flags	Accepted by
A01.A02	7A1S178399E0067	1	Mutant Control	Valid		c4800
B01.B02	7A1S178399E0057	1	Negative Control	Valid		c4800
C01.C02	7A1S178399E0057	1	Calibrator	Valid		c4800

Specimens

Position	Sample ID	Kit	Result 1	Result 2	Flags	Accepted by
D01.D02	PH-475	1	Invalid	N/A	R010, R299	c4800
E01.E02	14B-4399/14M-330	1	Mutation Detected	Codon 12/13		c4800
F01.F02	14B-3896/14M-339	1	No Mutation Detected	N/A		c4800
G01.G02	IJ-438	1	Invalid	N/A	R283	c4800
H01.H02	13B-11712/14M-344	1	Mutation Detected	Codon 61		c4800
A03.A04	14B-3144/14M-368	1	Mutation Detected	Codon 12/13		c4800

8.2.3. INSULINA

Utilizamos el método radioinmunológico (RIA), basado en la competición entre la insulina marcada con I125 y la insulina contenida en estándar o endógena (en muestra) por ocupar los lugares de unión del anticuerpo específico.

Después de la incubación (1,30 horas a temperatura ambiente) la cantidad de insulina marcada unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la cantidad de insulina presente en la muestra. El método adoptado para la separación de las fracciones libre y ligada se basa en la utilización de un reactivo precipitante, en el que se encuentra el precipitado y en exceso un segundo anticuerpo. La cantidad se expresa en $\mu\text{lu/ml}$.

9. RESULTADOS

Modelo animal

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 1

Grupo I

A los animales a los que se les administró inyecciones de BOP durante seis semanas desarrollaron un índice de supervivencia del 100%. En la autopsia no se observaron alteraciones significativas de ningún órgano. El estudio histológico mostró pequeños focos de citolisis, pérdida de granulaciones en el citoplasma de las células acinares y tendencia a formar pseudoluces. Los islotes no mostraban alteraciones. Con las técnicas de inmunohistoquímica el CEA y el CA19-9 fueron negativos y en los islotes se observaba positividad para la insulina.

Los niveles de insulina en suero oscilaron entre 11.2 y 25,1 con una media de 13.2 μ lu/ml.

Grupo II

Los animales de este grupo también desarrollaron un índice de supervivencia del 100%. En el estudio macroscópico no aparecieron alteraciones y en el estudio histológico se observaron que algunos acinos presentaban una luz central con núcleos rechazados a la periferia dando imágenes de pseudoconductos. En el estudio de inmunohistoquímica se observan pequeños depósitos de CEA en la zona del glicocálix de algunas células.

Los niveles de insulina mostraron una variación entre 11,4 y 19.8 con una media de 13.1 μ lu/ml.

Grupo III

La supervivencia de los animales del grupo tercero fue, asimismo, del 100%. En el examen macroscópico los animales sacrificados en la decimoquinta semana no mostraron alteraciones. Un animal de la decimoséptima semana y dos de la decimonovena semana, presentaron en el lóbulo esplénico del páncreas nódulos milimétricos de coloración blanquecina, el resto de los órganos no presentaban alteraciones.

El estudio microscópico de todos los animales de este grupo mostraba proliferación de conductillos en las zonas próximas a los islotes. Estos conductillos presentaban un epitelio aplanado junto con restos de células de tipo acinar. En ocasiones se observaba alguna proyección de tipo papilar hacia la luz. Los animales que macroscopicamente presentaban nódulos, mostraron una propagación de células atípicas que formaban estructuras ductulares con células descamadas en su luz.

El estudio de inmunohistoquímica mostró depósitos de CEA en la zona apical de las células que presentaban proliferación de tipo papilar.

Los niveles de insulina en suero variaron entre 12.2 y 20.1 con una media de 13.5 μ lu/ml.

Grupo IV

Estos animales presentaron un índice de supervivencia del 75%. En el estudio macroscópico se observaron, en todos los animales, tumores de pequeño tamaño en el lóbulo esplénico y en dos también en el lóbulo duodenal. El estudio microscópico de estos nódulos mostraba glándulas de pequeño tamaño, algunas con dilataciones quísticas y siempre con epitelio hiperplásico y atípias citonucleares.

En torno a estas estructuras glandulares se observaba una reacción fibrosa y pequeños focos de infiltrado inflamatorio. Dos de los animales presentaron afectación hepática y pulmonar con focos metastáticos a nivel hepático y presencia de células voluminosas de disposición anárquica en el pulmón. Las técnicas de inmunohistoquímica mostraron depósitos de CEA en la superficie luminal de las estructuras glandulares, y depósitos glandulares de CA19-9 en la zona apical de las células con epitelio pseudoestratificado.

Las cifras de insulina en suero mostrarán diferencias entre un mínimo de 16,2 y un máximo de 23.1 con una media de 19,58 μ lu/ml.

Grupo V

La supervivencia de los animales de este grupo fue del 75%. Los nueve animales supervivientes mostraron tumores localizados en el lóbulo esplénico, tres animales mostraron también tumor en el lóbulo duodenal y un animal presentó tumor en el segmento gástrico. Estos tumores tenían un tamaño entre 0,5 y 2,5 cm. en un animal de la semana vigesimoséptima; dos de la semana vigesimooctava

mostraron metástasis hepáticas y cinco animales mostraron afectación pulmonar con pequeñas áreas aumentadas de consistencia.

Histológicamente todos los tumores presentaron nódulos formados por pequeñas luces, formaciones glandulares y en ocasiones estructuras quísticas. Estas glándulas presentaban un epitelio hiperplásico con proyecciones intraluminales y ocasionalmente, células mucosecretoras. Las atípías citonucleares son abundantes y se observan figuras de mitosis más numerosas en las proyecciones intraluminales.

El estudio inmunohistoquímico mostró depósitos de CEA en la superficie de las células que forman las glándulas así como en los restos celulares que se encontraban en la luz. El CA19-9 era positivo en las células que formaban las proyecciones papilares y a veces, en algunas células localizadas en el estroma.

La diferencia entre los niveles de insulina fueron entre un máximo de 27.7 y un mínimo de 18,8 con una cifra media de 20.66. $\mu\text{lu/ml}$.

Grupo control

Los animales utilizados en el grupo control no presentaron alteraciones macroscópicas ni microscópicas. El estudio de inmunohistoquímica fue negativo para CEA y CA19-9.

Los niveles de insulina oscilaron entre 11.1 y 25.3 con una media de 12.9 $\mu\text{lu/ml}$.



Fig.1. Nódulos en los lóbulos pancreáticos



Fig.2. Tumor pancreático



Fig.3. Metástasis hepática

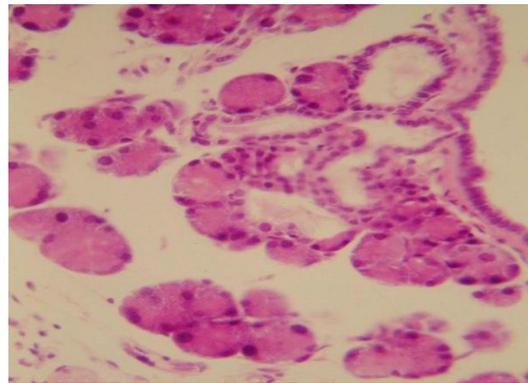


Fig.4. Transformación ductular

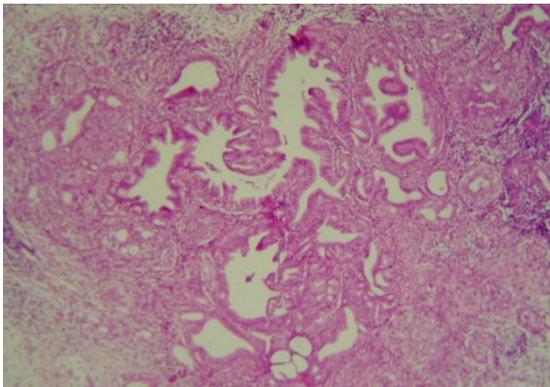


Fig. 5. Adenocarcinoma ductal

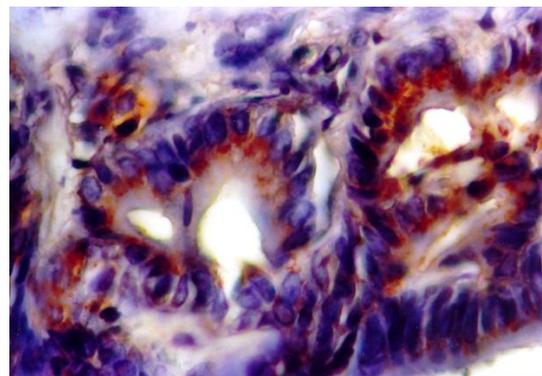


Fig. 6. Inmunopositividad para CEA

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 2

Se utilizaron 25 hámsters sirio dorado hembras distribuidos de la siguiente forma:

Grupo I

Grupo control compuesto por cinco animales.

La supervivencia fue del 100% hasta el momento del sacrificio. Su peso inicial fue de 100 g. y el peso final de 117g. Durante todo el experimento no presentaron alteraciones en su comportamiento.

Al realizar el estudio necrótico no se observaron alteraciones macroscópicas ni microscópicas significativas.

Los valores de insulina en suero oscilaron entre 11.2 y 24.5 con una media de 15.7 μ lu/ml.

Grupo II.

Compuesto por diez animales a los que se les administró BOP a dosis de 10mg. /kg peso/día durante dieciocho semanas.

La supervivencia a las veinte semanas fue del 80%, los dos animales fallecidos lo fueron en las semanas decimosexta y decimoctava.

A partir de la sexta semana los animales fueron perdiendo peso. La media final fue de 86 g.

En las cuatro últimas semanas los animales comían menos y su actividad había disminuido. En el posterior estudio de los dos animales fallecidos se encontraron pequeños nódulos en el lóbulo esplénico del páncreas, de menos de 1 cm. Macroscópicamente no se observaron alteraciones en el resto de los órganos.

El estudio microscópico puso de manifiesto la presencia, en los nódulos pancreáticos, de unas tumoraciones constituídas por luces glandulares con atípicas citonucleares, junto a pequeñas dilataciones quísticas con epitelio plano o columnar y con presencia de algunas células mucosecretoras.

En todos los animales sacrificados en la vigésima semana se observó la presencia de nódulos tumorales o de placas blanquecinas en los lóbulos esplénico y duodenal. Los tumores eran de un tamaño que oscilaba entre 0,8 y 2cm.

En el resto de los órganos solo se observó un ligero incremento de la consistencia en los lóbulos pulmonares y pequeños nódulos en el hígado.

El estudio histológico mostró la presencia, en el páncreas, de neoformaciones de tipo glandular constituídas por pequeñas luces tapizadas por células cilíndricas o columnares con diferentes grados de atípica. También se observó la presencia de dilataciones quísticas de diferentes tamaños, en ocasiones con un epitelio que proliferaba hacia la luz formado por células cilíndricas y más

frecuentemente, los quistes estaban tapizados por epitelio plano. En torno al tumor se encuentra una discreta reacción inflamatoria constituida por células mononucleadas. Otras veces se observan neoformaciones glandulares con patrón más sólido (Fig. 7) junto con estructuras glandulares (Fig. 8), a veces con proyecciones hacia la luz (Fig. 9) con abundantes células mucosecretoras Pas Alcian + (Fig. 10 y 11).

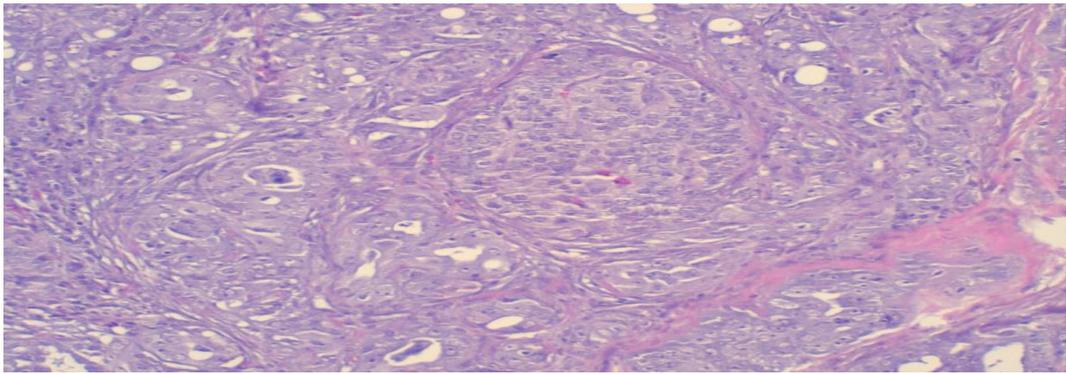


Fig. 7. Adenocarcinoma con patrón sólido. H.E.

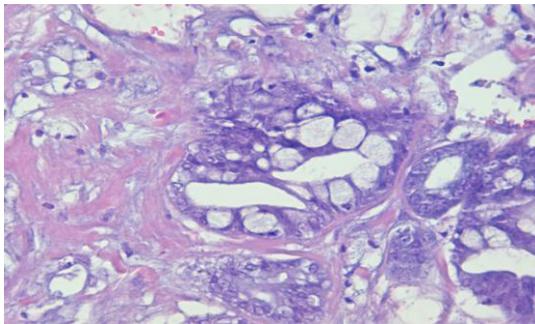


Fig. 8. Estructuras glandulares. H.E

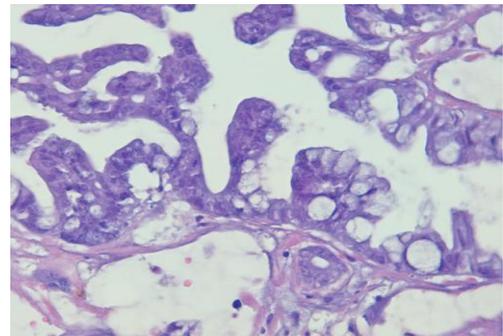


Fig. 9. Proyecciones intralumináreas. H.E

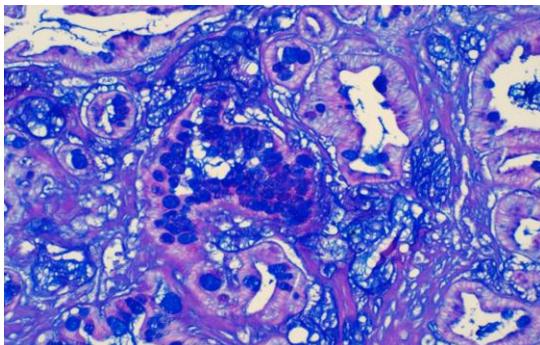


Fig. 10. Células PAS-Alcian +

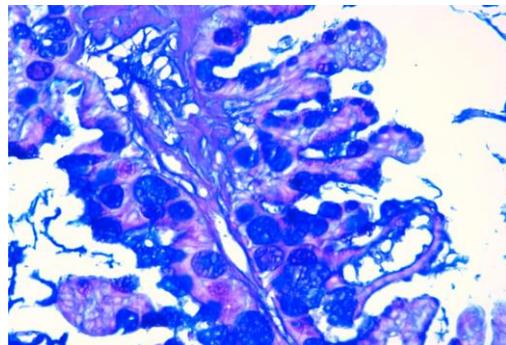


Fig. 11. Papilas con positividad para PAS-Al

En todo el tejido pancreático se observó una sustitución de acinos por estructuras ductales, encontrándose, en ocasiones, imágenes de transformación de acinos en conductos con presencia de células acinares y células ductales formando pequeñas luces (Fig. 12 y 13).

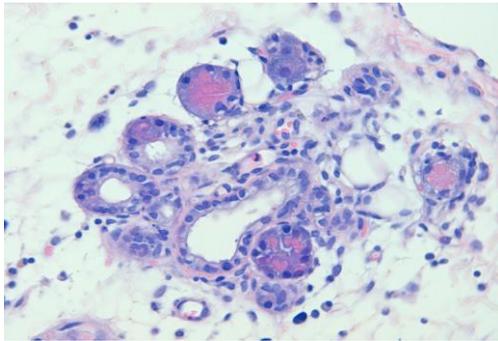


Fig. 12 Transformación ductular. H.E

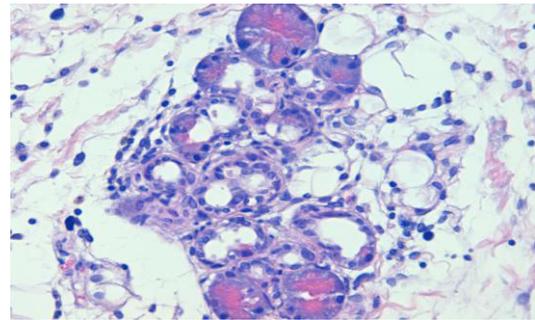


Fig.13. Células acinares y ductulares. H.E

En el hígado se encontraron pequeños nódulos constituidos por proliferación de pequeñas luces glandulares junto a dilataciones quísticas rodeadas por un infiltrado inflamatorio de células mononucleadas (Fig. 14).

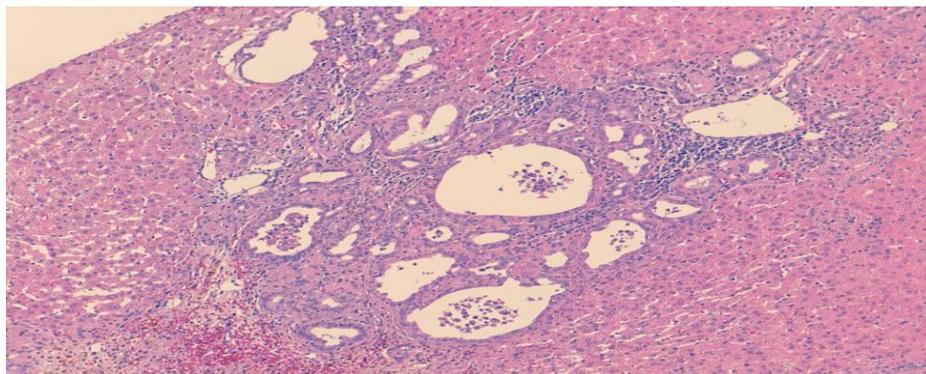


Fig. 14. Hígado. Dilataciones quísticas e infiltrado inflamatorio. H.E.

El estudio inmunohistoquímico fue negativo para p53 y positivo para CEA, en la superficie luminal de las glándulas (Fig. 15) y de CA.19-9 en forma de depósitos granulares en las zonas apicales de las células columnares y en el estroma (Fig.16). La mutación de K-ras la encontramos en el 70% de los tumores estudiados.

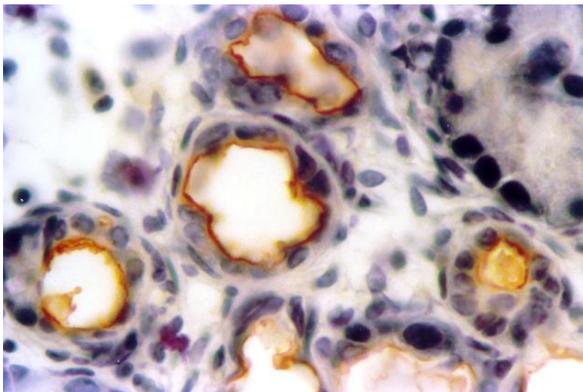


Fig.15. CEA. Inmunoreacción positiva luminal

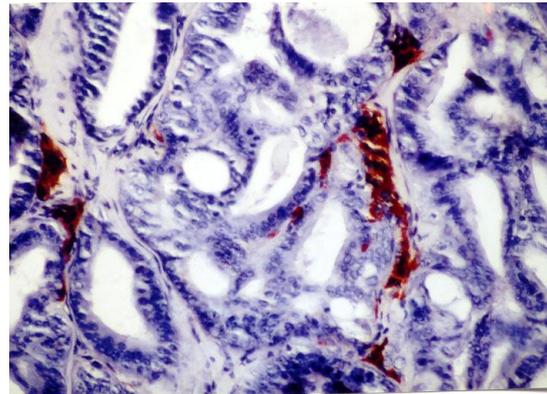


Fig.16. CA 19-9 .Positividad en el estroma

El estudio de niveles de insulina en suero oscilaban entre 15.4 y 26.5, con una media de 18,50 μ lu/ml.

Grupo III

Compuesto por diez animales divididos en dos grupos de cinco cada uno. Recibieron Niacina y BOP.

La Niacina en dosis de 0,5cc en el subgrupo A y de 1cc en el subgrupo B.

La supervivencia de estos animales fué del 90% ya que sólo falleció un animal en la decimoséptima semana.

Todos los animales a partir de la cuarta semana aumentaron su ingesta de agua y también aumentó, considerablemente, la cantidad de orina eliminada.

El estudio macroscópico de los animales, tras el sacrificio, no mostró alteraciones en ningún órgano. El páncreas era de tamaño y aspecto normal.

El estudio histopatológico de los órganos de los hámster no mostró alteraciones significativas. El páncreas sólo presentaba algunos conductos dilatados y una discreta sustitución grasa en el parénquima (Fig. 17).

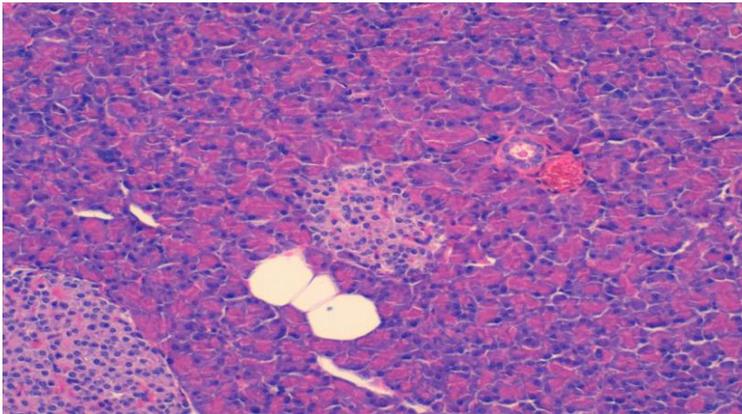


Fig. 17. Páncreas. Vacuolas de grasa . H.E

No se encontraron lesiones tumorales ni pretumorales. En el hígado se observaron pequeñas vacuolas de esteatosis de distribución irregular y algunos conductillos dilatados (Fig.18).

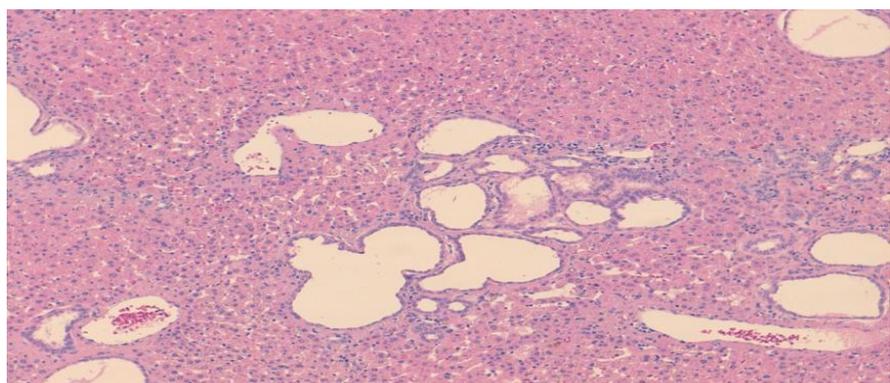


Fig. 18. Hígado. Conductillos dilatados. H.E

El riñón solo mostraba túbulos dilatados (Fig. 19).

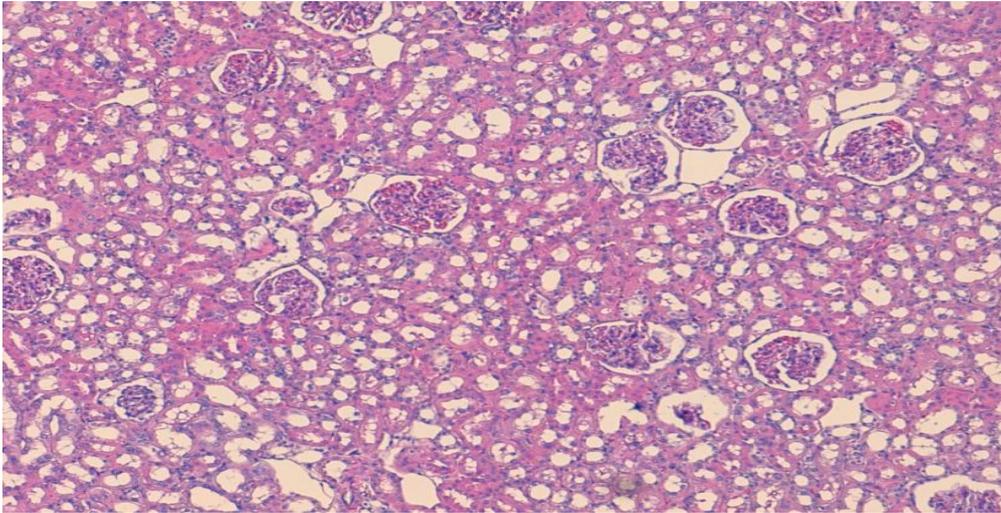


Fig. 19. Riñón. Túbulos dilatados, H,E

No se observaron diferencias morfológicas entre los animales del subgrupo A y del subgrupo B.

El estudio inmunohistoquímico también fué negativo para todos los anticuerpos utilizados.

Los niveles de insulina en suero oscilaron entre 11.7 y 25.6 con una media de 13.45.

10. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA.

El objetivo principal del presente trabajo es evaluar la actividad de la Niacina en el desarrollo del cáncer de páncreas. Para el estudio se han utilizado hámster sirios dorados. En esta elección se han valorado dos características de dichos animales: un páncreas suficientemente grande y la capacidad de desarrollar un adenocarcinoma con características histopatológicas similares a los que observamos en humanos. La inducción del cáncer se ha realizado con BOP, que fue descubierto en la década de los 70 y utilizado por Pour la primera vez. Los tumores se provocaron administrando BOP vía subcutánea, que produce un metabolito (HPOP) en la secreción pancreática.

La dosis de BOP utilizada ha sido 10 mg/kg ya que es la dosis idónea, como hemos comprobado en estudios anteriores, ⁽²⁸⁹⁾ para producir tumores en páncreas. Por tanto, el primer paso consistía en utilizar un modelo experimental que desarrollara cáncer de páncreas en el hámster sirio dorado.

Como hemos visto en los resultados presentados, el modelo experimental cumplió con las expectativas y produjo adenocarcinomas pancreáticos en el 100% de los animales sometidos a BOP y que no fueron tratados con Niacina.

Las características histopatológicas fueron similares a las que vemos en humanos, como se deduce de los resultados.

Todos los animales se han mantenido en igualdad de condiciones de luz, temperatura y alimentación durante las veinte semanas que duró el experimento.

El carcinógeno fué administrado por vía subcutánea y la Niacina por vía intraperitoneal.

El experimento está conformado por dos fases bien diferenciadas:

1ª fase: crecimiento tumoral.

El tiempo máximo empleado ha sido veinte semanas, se estableció por la experiencia de nuestros estudios anteriores y se consiguió que la totalidad de los animales presentaran carcinoma de páncreas.

2ª fase: inducción tumoral y efecto protector o inhibidor del desarrollo tumoral.

La importancia de esta fase estriba, en que actualmente se investiga cada vez más, para hallar formas preventivas frente a la aparición de enfermedades y particularmente frente al cáncer.

El análisis de los tumores se ha realizado desde diversos puntos de vista:

- Por un lado, los marcadores tumorales más clásicos CA19-9, y CEA.

- Por otro lado, la genética tumoral cada vez más avanzada y más relevante, incluso en el pronóstico de los tumores por lo que estudiamos las posibles alteraciones del del gen supresor p53 y de K-ras.

- Finalmente, el estudio anatomopatológico, correlaciona las alteraciones morfológicas que se producen en la inducción por el carcinógeno con el papel protector de la Niacina y las expresiones de la genética tumoral.

DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS.

El cáncer de páncreas es la cuarta causa de muerte y la segunda causa después del colorrectal respecto a los tumores digestivos. Los adenocarcinomas ductales son los cánceres de páncreas más frecuentes.

El cáncer de páncreas no suele dar mucha sintomatología en las primeras etapas de su desarrollo, por lo general, se diagnóstica tarde y con diseminación a otras zonas del cuerpo como hígado, pulmón o peritoneo. Sólo el 10% de los tumores diagnosticados los encontramos localizados sólo en el páncreas.

La tasa de supervivencia es de 1 año, después de haber sido diagnosticado el tumor, en un 24% de los enfermos. La tasa de supervivencia a los 5 años, es del 5%, si se detecta en los primeros estadios y es posible aplicar cirugía. En este caso la tasa de supervivencia a los 5 años, sería del 20%. Pero nuestro estudio no va encaminado hacia la supervivencia si no a la prevención de la aparición del carcinoma ductal.

En este estado la Niacina ha demostrado tener un importante papel protector. Los animales a los que se les inculó BOP y fueron tratados con Niacina, no desarrollaron tumores pancreáticos. El efecto de la Niacina en la inducción de carcinomas, parece deberse a una inhibición del mecanismo carcinógeno o que esta substancia actúa reparando el DNA. ⁽²⁹⁰⁾ ⁽²⁹¹⁾

Se ha detectado que el efecto protector se realiza cuando administramos Niacina después del carcinógeno. Esto es debido a que la Niacina es utilizada como sustrato de la poli (ADP) ribosa. ^{(292) (293)}

En nuestro trabajo la dosis de Niacina no influye en su papel protector a diferencia de los estudios previos de Riklis y col. ⁽²⁹⁴⁾ y hemos comprobado que tanto dosis altas como bajas tienen el mismo efecto. Estudios realizados “in vitro” demostraron que altas dosis de Niacina inhiben la reparación del DNA por inhibición de la PARP-1, mientras que la Niacina a dosis bajas mejora la incorporación del NAD⁺, ayudando a la reparación del DNA. Pero “in vivo” esta reacción es poco probable. ⁽²⁹⁵⁾

Una de las funciones de dicha enzima es la reparación del DNA dañado. El enzima utiliza como coenzima el NAD, más que un incremento de la síntesis de DNA. Por lo que, dado que no existe una mayor actividad en la síntesis del DNA en el grupo tratado con BOP, puede afirmarse que se debe a un efecto reparador del mismo.

Las lesiones encontradas en los hámsters que recibieron Niacina son multifocales y no aparecen tumores aunque sí lesiones en fases muy iniciales; parece que es debido a que la Niacina impide la progresión a lesiones tumorales. ^{(296) (297)}

La gran similitud que existe entre el cáncer de páncreas humano y el provocado de forma experimental, lleva a plantearnos si esta similitud se presenta

también a nivel genético, lo que nos puede permitir realizar un estudio más exhaustivo del mismo, sobre todo en las etapas iniciales.

Una de las primeras alteraciones descritas en la carcinogénesis provocada por el carcinógeno fué la mutación del codón 12 del ge K-ras. La mutación de este gen es la más frecuente encontrada en el cáncer de páncreas humano, la tasa varía de acuerdo a la población estudiada y a la técnica utilizada.

Asímismo, este tipo de alteración se ha descrito en modelos animales y en algún tipo de cáncer de pulmón ⁽²⁹⁸⁾ y colorectal humano.

Se ha encontrado una mutación del codón 13 pero apareció en un hámster del grupo control que obviamente no habia recibido carcinógeno.

En nuestro trabajo el estudio con K-ras de los tumores inducidos en el hámster por el BOP mostró mutaciones en un 70 %, cifra ligeramente inferior a lo descrito por otros autores. ⁽²⁹⁹⁾ ⁽³⁰⁰⁾ Esta diferencia entendemos que puede ser debida a que nuestra muestra no es estadísticamente significativa. (Fujii, Cerny) ⁽³⁰¹⁾ ⁽³⁰²⁾

En los animales a los que se administró Niacina el estudio de K-ras no mostró mutaciones.

El Gen supresor p53 es el que con mayor frecuencia resulta alterado en neoplasias humanas y se encuentra mutado en un 50-70% de los casos de cáncer de páncreas humano. La elevada incidencia de mutaciones nos lleva a pensar que podría tener un papel importante en tumores provocados en el hámster.

La secuencia en el DNA del gen p53 en el hámster fué descrita en 1992,⁽³⁰³⁾ pero hasta 2 años más tarde no se publica la secuencia en el primer estudio de tumores pancreáticos provocados mediante Nitrosaminas en hámster.⁽³⁰⁴⁾ Los resultados obtenidos en este primer trabajo indican, contrariamente a lo previsto, que el p53 no parece tener un papel importante en la carcinogénesis química pancreática en el hámster.

Chang KW y Okita S.^{(305) (306)} han detectado una mutación en el tumor trasplantado, inducido por BOP y en unas células tratadas “*in vitro*” con metil-nitroso-urea, mientras que no se manifestaron más mutaciones en este gen en los 17 tumores restantes analizados. Estudios posteriores han confirmado esta hipótesis que actualmente se acepta como válida

La ausencia de mutaciones del gen p53 en modelos animales de neoplasias humanas, que presentan una elevada incidencia de mutaciones en este gen, es un fenómeno relativamente frecuente. Estos autores, Okamoto Ohtsu H, Kress S. y Oreffo, Vi.^{(307) (308) (309)} tienden a considerar que las diferencias interespecie del papel de determinados genes podrían determinar estas desigualdades. La acumulación de la proteína p53, tanto en el núcleo como en el citoplasma celular, está asociada con la frecuencia en la presencia de las mutaciones del gen. La

acumulación puede ser detectada mediante tinciones inmunohistoquímicas y en el cáncer de páncreas humano se ha descrito, aproximadamente, en un 50% de los tumores. ⁽³¹⁰⁾

En el hámster sólo se ha detectado acumulación nuclear de la proteína en 2 tumores transplantados que presentan mutación, mientras que no aparece en caso de tumores primarios analizados. ^{(311) (312)}

Los valores de insulina fueron casi los mismos que en el grupo control, 16,4 y en el grupo de BOP-Niacina fué de 15.7 μ lu/ml, mientras que en el grupo tumoral alcanzó 18.5 μ lu/ml.

El CEA se ha utilizado como marcador en tumores colo-rectales, pancreáticos, pulmonares, gástricos y de mama. En la presente investigación sólo mostró positividad cuando aparece alteración en el borde apical de glándulas hiperplásicas; primero focalmente y luego como una zona que rodea totalmente la zona apical de la glándula y se muestra intracitoplasmáticamente. También, el CEA se desarrolla más en las células tumorales dado que en nuestro estudio todos desarrollaron carcinomas ductales bien diferenciados.

La inmunohistoquímica del CA19-9 nos permite diferenciar las lesiones tumorales de las pretumorales. En las tumorales se localiza en cualquier lugar de la célula y del estroma. En cambio en lesiones pretumorales lo encontramos en la zona supranuclear de las células.

También vemos que cuando el estadio tumoral está más avanzado encontrándose en cualquier parte del estroma- hay mayores niveles de CA19-9 en suero.

11. CONCLUSIONES

1. La estructura del páncreas del hámster sirio dorado permite que el modelo Hámster-BOP utilizado en este trabajo, se pueda considerar el mejor para el estudio del adenocarcinoma pancreático experimental.
2. El modelo Hámster-BOP-Niacina, dada la especificidad del carcinógeno, sigue siendo una forma de estudio fielmente reproducible como indicador de la protección frente a un carcinógeno.
3. Los tumores pancreáticos estudiados corresponden, desde el punto de vista histológico, a adenocarcinomas ductales bien diferenciados y muy similares a los humanos que son los más frecuentes entre los tumores de páncreas.
4. La Niacina ha demostrado tener un papel protector en el desarrollo de los tumores pancreáticos impidiendo en el 100% de los casos la evolución de los mismos. Posiblemente por una reparación del DNA y no un por aumento de la síntesis del mismo, manteniendo las lesiones aparecidas en los estadios 1 y 2.

5. En nuestro estudio, las distintas dosis de Niacina no mostraron alteraciones ni morfológicas ni del comportamiento biológico en los animales tratados.
6. La especificidad de la metodología actual puede justificar la discrepancia de los resultados de nuestro trabajo con los de otros autores en relación a los marcadores tumorales, principalmente con el K-ras donde encontramos mutaciones en el 70% de los casos mientras que otros autores lo describen en el 80 y 90%.
7. Sería conveniente incidir más en los estudios de patología molecular para lograr un conocimiento más profundo del comportamiento de estos tumores.
8. Como conclusión final el modelo HÁMSTER-BOP-NIACINA sigue siendo un estudio fielmente reproducible e indicador de la protección de un carcinógeno. Aún no ha habido otro modelo que lo supere en eficacia y que pueda adaptarse tanto a estudios genéticos como moleculares.

12. BIBLIOGRAFIA

- 1 STEER ML, SALUJU AK. Experimental Acute Pancreatitis Studies of the Early Events that lead to cell injury. In: Co VL.W. Gartner JD, Rebar HA, Lebenthal E, DiMagno EP, Scheele GA (eds). The Exocrine Pancreas. Biology. Pathobiology and Diseases (Second Edition) New York. Raven Press Ltd. 489-500. 1993.
- 2 SANER GM. Pancreatitis Definitions and Classification. In: Go VLW, Gardner JD, Brooks FP, Lebenthal E, DiMagno EP, Scheete GA (eds). The Exocrine Pancreas: Biology. Pathobiology and Diseases (First Edition) New York: Raven Press Ltd. 459-464. 1986.
- 3 KLÖPPEL, G.; BOMMER, G.; RÜCKERT, K. and SEIFERT, G.: "Intraductal proliferation in the pancreas and its relationship to human and experimental carcinogenesis" . Virchows, Arch., 387: 221-223, 1980.
- 4 KLÖPEL G, SOLCIA E, LONGNECKER DS, CAPELLA C, SOBÓN LH. "Histological typing of tumors of the exocrine pancreas".; Springer, Berlin Heidelberg New York 1996.
- 5 PAKER SL, TONG T, BOLDEN S. Cancer statistics. Ca Cancer J Clin 47: 5-27. 1997.
- 6 HORTON WA, WONG V, ELDRIGE R, VON HIPPEL-LINDAU disease. Clinical and panthological manifestation in nine families with 50 affected members. Arch Int Med 136: 769-777. 1976.
- 7 PROCACCI C, GRAZIANI R, BICEGO E, BERGAMO-ANDREIS IA, GUARISE A, VALDO M et al. Serous cystadenoma of the pancreas: report of 30 cases with emphasis on the imaging findings. J Comput Assist Tomogr 21: 373-382. 1997.
- 8 CURRY CA, ENG J, HORTON KM, URBAN B, SIEGELMAN S, KUSKY BS et al. CT of primary cystic pancreatic neoplasm: can CT be used for patient triage and treatment? Am J Roentgenol 175: 99-103. 2000.
- 9 SOLCIA E, CAPELLA C, KLÖPPEL G. Tumors of the pancreas. Atlas of Tumor Pathology, 3rd Series. N° 20. Armed forces Institute of Pathology, Washington, DC 1997.
- 10 ZAMBONI G, SCARPA A, BOGINA G, IACONO C, BASSI C, TALAMINI G et al. Mucinous cystic tumors of the pancreas: clinicopathological features, prognosis and relationship to other mucinous tumors. Am J Surg Pathol 23: 410-422. 1999.

- 11 PROCACCI C, BIASITUTTI C, CARBOGNIN G, ACCORDINI S, BBBICEGO E, GUARISE A et al. Characterization of cystic tumors of the pancreas: CT accuracy. *J Comput Assisted Tomogr* 23: 906-912. 1999.
- 12 OHASHI K, TAKAGI K. ERCP and imaging diagnosis of pancreatic cancer. *Gastroenterol Endosc* 1439-1495. 1980.
- 13 RICKAERT F, CREMER M, DEVIÉRE J, TAVARES L, LAMBILLIOTTE JP, SCHRÖDER S et al. Intraductal mucin-hypersecreting neoplasms of the pancreas. A clinicopathologic study of eight patients. *Gastroenterology* 101: 512-519. 1991.
- 14 ITAI Y, OHHASHY K, NAGAI H, MURAKAMI Y, KOKUBO T, MAKITA K et al. Ductectatic mucinous cystadenoma and cystadenocarcinoma of the pancreas. *Radiology* 161: 697-700. 1996.
- 15 TRAVERSO LW, PERALTA EA, RYAN JA Jr, KOZAREK RA. Intraductal neoplasms of the pancreas. *Am J Surg* 175: 426-432. 1998.
- 16 YAMAGUCHY K, OGAWA Y, CHIJIWA K, TANAKA M. Mucin-hypersecreting tumors of the pancreas: Assesing the grade of malignancy preoperatively.. *Am J Surg* 171: 427-431 1996.
- 17 PROCACCI C, BIASIUTTI C, CARBOGNIN G, ACCORDINI S, BICEGO E, GUARISE A et al. Characterization of cystic tumors of the pancreas: CT accuracy, *J Comput Assusted Tomogr* 23: 906-912. 1999.
- 18 KLÖPPEL G, HEITZ PU. Pancreatic endocrine tumors. *Pathol Res Pract* 183: 155-168. 1998.
- 19 K. LEWANDROWSKU J Lee, SOUTHERN J, CENTENO B, WARHAW A. Cyst fluid analysus in the differential diagnosis of the pancreatic cysts: a new approach to the preoperative assessment of pancreatic cystic lesions *Am J Roentgenol*: 164, 815-819. 1995.
- 20 THEVE, N.O.; POUSETTE, A. and CARLSTRÖW, K.: "Adenocarcinoma of the pancreas-a hormone sensitive tumor? A preliminary report on Nolvadex treatment". *Clinical Oncology*, 9: 193-197, 1983.
- 21 MARUCHI N, BRIAN D, LUDWIG J, ELVEBACK LR, KURLAND LT. Cancer of the pancreas in Olmsted Country. Minnesota. 1935-1974. *Mayo Clin Proc* 54:245-249; 1979.
- 22 ANDREA-SADBERG A, BERG PI. Estrasmuline versus no treatment in exocrine pancreatic cancer. A randomized studi. *Digestion* 43: 125-A. 1989.

- 23 FARROW DC, DAVIS S. Risk of pancreatic cancer in relation to medical history and the use of tobacco, alcohol and coffee. *Int J Cáncer*. 45: 816-820. 1990.
- 24 FARROW DC, DAVIS S. Diet and the risk of pancreatic cancer in men. *Am J Epidemiol*. 132: 423-431. 1989.
- 25 BURNEY PG, COMSTOCK GW, MORRIS JS. Serologic precursors of cancer: serum micronutrients and the subsequent risk of pancreatic cancer. *Am J Clin Nutr*. 49: 895-900. 1989.
- 26 FARROW DC, DAVIS S. Risk of pancreatic cancer in relation to medical history and the use of tobacco, alcohol and coffee. *Int J Cáncer* 45: 816-820. 1990.
- 27 MAC-MAHON B, YEN S, TRICHOPOULOS D, WARREN K, and NARDI G: Coffee and cancer of the pancreas. *N.Engl. J.Med.*, 304-630, 633. 1981.
- 28 GORDIS L. Consumption of methylxanthine-containing beverages and risk of pancreatic cancer. *Cáncer Lett* 52: 1-12. 1990.
- 29 FARROW DC, DAVIS S. Diet and the risk of pancreatic cancer in men. *Am J Epidemiol* 132: 423-431, 1989.
- 30 LIN A, FELLER ER. Pancreatic carcinoma as a cause of unexplained pancreatitis. Report of 10 cases. *Ann Intern Med*; 113: 166-167. 1990.
- 31 MONDELO, F.: "Cáncer de páncreas". *Medicine*: 97-102, 1980.
- 32 MOOSSA, A.R.; LEWIS, M.H. and BOWIE, J.D.: "Clinical features and diagnosis of pancreatic cancer" in MOOSSA, A.R. with 27 contributors. *Tumors of the pancreas*, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 432-433, 1980.
- 33 DEL FAVETO G, HASSO D, FOGAR P, PANOZZO MP, MEGGIAIO F, FERRARA C, D'ANGELI F, BRIGATO L, PICHANI M. Alterations of serum pancreatic hormones in pancreatic cancer patients. *Int J Pancreatol*, 16: 84-86. 1994
- 34 LARSON J, PERNIETH J. Relationship between pancreatic cancer and diabetes. *Int J. Pancreatol*, 16: 82-84. 1994.
- 35 OFERHAUSS, G.J.A.; GIARDIELLO, F.M.; MOORE, G.W. and TERSMETTE, A.C.: "Partial gastrectomy. A risk factor for carcinoma of the pancreas". *Hum. Pathol*, 18: 285-288, 1987.
- 36 DANES, B.S. and LYNCH, H.T.: "A familial aggregation on pancreatic cancer: an in vitro study". *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res.*, 23: 152, 1982.

- 37 EHRENTHAL, D.; HAEGER, L.; GRIFFIN, T. and COMPTON, C.: "Familial pancreatic adenocarcinoma in three generations". *Cancer*, 59: 1661-1664, 1987
- 38 MONDELO, F.: "Cáncer de páncreas". *Medicine*, 97-102, 1980.
- 39 GOLD, E.B.; GORDIS, L.; DIENER, M.D.; SELTSER, R.; BOITNOTT, J.K.; BYNUM, T.E. and HUTCHEON, E.F.: "Diet and other risk factors for cancer of the pancreas". *Cancer*, 55: 460-467, 1985.
- 40 LIN A, FELLER ER. Pancreatic carcinoma as a cause of unexplained pancreatitis. Report of 10 cases. *Ann Intern Med* 113: 166-167. 1990.
- 41 BORCH K, KULLMANN E, HALLHAGEN S. LEDIN T. LOSE I. Increased incidence of pancreatic neoplasm in pernicious anemia. *World J Surg* 12: 866-870. 1988.
- 42 OTTENHOF NA, ANYA BA, MILNE NA, et al. Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Pancreatic Tumorigenesis of Mice and Men. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 133:375-381. 2009.
- 43 HRUBAN RH, ADSAY N, ALBORES-SAAVEDRA J. Et al. Pancreatic Intraepithelial Neoplasia. A New Nomenclature and Classification System for Pancreatic Duct Lesions. *Am. J. Surg. Pathol.* 25:579-586. 2001.
- 44 KLÖPPEL G, LINGENTHAL G, VON BOLOWM, et al. Histological and fine structural features of pancreatic ductal adenocarcinomas in relation to growth and prognosis: studies in xenografted tumours and clinico-histopathological correlation in a series of 75 cases. *Histopathology.* 9: 841-856.1985.
- 45 KLÖPPEL G, HRUBAN RN, LONGNECKER et al. eds. *Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System.* Lyon, France: IARC Press. 2000.
- 46 ADSAY NV, BASTURK O, BONNETT M, KILINC N, ANDEA AA, FENG J, CHE M, AULICINO MR, LEVI E, CHENG JD. A Proposal for a New and More Practical Grading Scheme for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 29: 724-733. 2005.
- 47 CONROY T, PAILLOT B, FRANÇOIS E, et al. Irinotecan plus oxaliplatin and leucovorin-modulated fluorouracil in advanced pancreatic cancer--a Groupe Tumeurs Digestives of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer study. *J Clin Oncol,* 23:1228. 2005.
- 48 CONROY T, DESSEIGNE F, YCHOU M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 364:1817. 2011.

- 49 VON HOFF DD, RAMANATHAN RK, BORAD MJ, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial. *J Clin Oncol*, 29:4548. 2011.
- 50 HESS V, SALZBERG M, BORNER M, et al. Combining capecitabine and gemcitabine in patients with advanced pancreatic carcinoma: a phase I/II trial. *J Clin Oncol*, 21:66. 2003.
- 51 ASSAF E, VERLINDE-CARVALHO M, DELBALDO C, et al. 5-fluorouracil/leucovorin combined with irinotecan and oxaliplatin (FOLFIRINOX) as second-line chemotherapy in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Oncology*, 80:301. 2011.
- 52 FLECKENSTEIN J, RUBE C .Adjuvant radiochemotherapy for pancreatic cancer-- why we might need it even more.*Front Radiat Ther Oncol*. 38:87-93. 172, 2004.
- 53 SMIT V, BOOT A, SMITS A, FLEUREN G, , BOSS JL. K-ras codón 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nuel Acids Res*, 16: 7773-7782. 1988.
- 54 ALMOGUERA C, SHIBAIA D, FONESTER K, MARTIN I, PERUCHO M, Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes, *Cell* 1988, 53: 549-553.
- 55 PELLEGGATA NE, RENAULT M, SESSA B, BONATO M, LEONE BE, SOLCIA E, RANZANI GN, K-ras and p53 gene mutations in pancreatic cancer: ductal and nonductal tumors pregress through different genetic lesions. *Cancer Res* 54: 1556-1560. 1984.
- 56 SESSA F, SOLCIA E, CAPELLA C, BONATO M, SCARPA A, ZAMBONI G, PELLEGGATA NS, RANZANI GN, RICKAERT F, KLÖPPEL G. Intraductal papillary-mucinous tumours represent a distinct group of pancreatic neoplasms: an inverstigation of tumour cell differentiation and K-ras, p53 and c-erb-2 abnormalities in 26 patients. *Virchows Archiv* 425: 357-367,1994.
- 57 CALDAS C. HAHN SA, HRUBAN RH. TEDSTON MS. YEO CJ, KERN SE. Detection of K-ras mutations in the stool of patients with pancreatic adenocarcinoma and pancreatic ductal hyperplasia. *Cancer Res* 54: 3568-3573. 1994.
- 58 BOS JL. Ras oncogenes in human cancer a review. *Cáncer Res*, 49: 4682-4689. 1989.
- 59 CAPELLA G. CRONANER MIRA S. PEINADO MA. PERUCHO M, Frecuency and spectrum of mutations at codóns 12 and 13 of the K-ras gene in human tumors. *Environ Health Persp*; 93: 125-131. 1991.

- 60 BOS JL. Ras oncogenes in human cancer a review. *Cancer Res*, 49: 4682-4689. 1989.
- 61 CAPELLA G, MATÍAS-GUÍA X, AMPUDIA X, DE LEIVA A, PERUCHO M. Ras oncogene mutations in thyroid tumor a PCR-RFLP analysis from paraffin-embedded tumors. *Diagn Mol Pathol*, 5: 45-52. 1996.
- 62 SATO T, KAZINO Y. Ras in signal transduction. *Cáncer* 3: 169-177. 1992.
- 63 BARBACID M, Ras genes *Ann Rev Biochem* 56: 779-827. 1987.
- 64 MCCORNICK F. Ras GTPase activating protein signal transmitter and signal terminator. *Cell*, 56: 5-8. 1989.
- 65 KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N, ASTER JC. ROBBINS Y COTRAN. *Patología estructural y funcional*. Ed. Elsevier 2010.
- 66 BARDEESY N, DEPINHO RA, Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer*, 2:897, 2002.
- 67 BARTON CM, STADDON SL, HUGHES CM, HALL PA, O'SULLIVAN CO, KLÖPPEL G, THEIS B, RUSSEL RCG, Neoptolemos J, Williamson RCN, Lane DP, Lemoine NR, Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer, *Br J Cancer* 64: 1076-1082 1991.
- 68 SCARPS A, CAPELLI P, ODA T, IACONO C, HIROBASH S. Pancreatic carcinomas frequency show p53 gene mutations. *Am J pathol*, 142: 1534-1545. 1993.
- 69 BERROZPE G. SCHEFFER I. PEINADO MA. REAL FX, PERRUCHO M. Comparative analysis of mutations in the p53 and K-ras genes in pancreatic cancer. *Int J Cáncer*, 58: 185-191. 1994.
- 70 VOGELSTEIN B, KINZLER K. P53 function and dysfunction. *Cell*, 70: 523-526. 1992.
- 71 HARRIS CC. p53: At the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science*, 262: 1980-1981. 1993.
- 72 CALDAS C. HAHN SA, DA COSTA LT, REDSON MS. SCHUTTE M. SEYMOUR AB. WEINSTEIN CL. HRUBAN RH. YEO CJ. KERN SE. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTSL) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet* 8: 27-32. 1994(b).
- 73 SCARPS A, CAPELLI P, ODA T, IACONO C, HIROBASH S. Pancreatic carcinomas frequency show p53 gene mutations. *Am J pathol*, 142: 1534-1545. 1993.

- 74 BARTON CM, STADDON SL, HUGHES CM, HALL PA, O'SULLIVAN CO, KLÖPPEL G, THEIS B, RUSSEL RCG, NEOPTOLEMOS J, WILLIAMSON RCN, LANE DP, LEMOINE NR, Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer, *Br J Cáncer* 64: 1076-1082. 1991.
- 75 RUGGEN B, ZIRANG S, CAAMANO J, DI RADO M, FLYNN SD, KLEIN-SZANTO AJ. Human pancreatic carcinomas and cell lines reveal frequent and multiple alterations in the p53 and RB-1 tumor suppressor genes. *Oncogene* 7: 1503-1511. 1992.
- 76 SIMON B, WEINEL R, HÖHNE M, WATZ J, SCHMIDT J, KÖRTNER G, ARNOLD R. Frequent alterations of the tumor suppressor gene p53 and DCC in human pancreatic carcinoma. *Gastroenterology*, 106: 1645-1651. 1996.
- 77 ZAMBETTI GP, BARGONETT J, WALKER K, PRIVES C, LEVINE AJ. Wild-type p53 mediates positive regulation of gene expression through a specific DNA sequence element. *Genes Dev* 6: 1143-1152. 1992.
- 78 SHAULSKY G, BEN-ZELEV A, ROTTER V. Subcellular distributions of the p53 protein during the cell cycle of Balb/c 3T3 cells. *Oncogene* 5: 1707-1711. 1990.
- 79 ZHAB O, BAE I, KASTAN MB, FORNACE AJ Jr. The p53-dependent gamma-ray response of GADD45. *Cancer Res*, 54: 2755-2760. 1994.
- 80 KASTAN MB, ONYEKWERE O, SIDRANSKY D, VOGELSTEIN B, CRAIG RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res*, 57: 6304-6311. 1991.
- 81 KUERBITZ SJ, PLUNKETT BS, WALSH WV, KASTAN MB. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 7491-7495. 1992.
- 82 KERN SE, KINZLER KW, BRUSKIN A, JAROSK D, FRIEDMAN P, PRIVES C, VOGELSTEIN B. Identification of p53 as a sequence specific DNA binding protein. *Science*, 252: 1708-1711. 1991.
- 83 GINSBERG D, MECHTA F, YANIV M, OREN M. Wild-type p53 can down-modulate the activity of various promoters. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9979-9983. 1991.
- 84 SUBLER MA, MARTIN DW, Deb S. Modulation of cellular and viral promoters by mutant human p53 proteins found in tumor cells. *J Virol*, 66: 164-170. 1992.
- 85 KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N, ASTER JC. ROBBINS Y COTRAN. *Patología structural y funcional*. Ed. Elsevier 2010.

- 86 BARDEESY N, DEPINHO RA, Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2:897, 2002
- 87 HAHN SA, SEYMOUR AB, HOQUE AT, SCHUTTE M, DA COSTA LT, REDSTON MS, CALDAS C, WEINSTEIN CL, FISHER A, YEO CJ, HRUBAN RH, KERN SE. Allelotype of pancreatic adenocarcinoma using xenograft enrichment. *Cancer Res* 55: 4670-4675. 1995.
- 88 HAHN SA, SCHUTTE M, SHAMSUL HOQUE ATM, MOSKALUK CA, DA COSTA LT, ROZEMBLUM E, WEINSTEIN CL, FISHER A, YEO CJ, HRUBAN RH, KERN SA. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 271: 350-353. 1996.
- 89 HAHN SA, SCHUTTE M, SHAMSUL HOQUE ATM, MOSKALUK CA, DA COSTA LT, ROZEMBLUM E, WEINSTEIN CL, FISHER A, YEO CJ, HRUBAN RH, KERN SA. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science*, 271: 350-353. 1996.
- 90 VILLANUEVA A, GARCÍA C, PAULES AB, VICENTE M, MEGÍAS M, REYES G, VILLALONGA P, AGELL N, LLUIS F, BACK O, CAPELLA G. Disruption of the antiproliferative TGF- β signaling pathways in human pancreatic cancer. *Oncogene* 17: 1969-1978. 1998.
- 91 HRUBAN RH, ADSAY N, ALBORES-SAAVEDRA J. Et al. Pancreatic Intraepithelial Neoplasia. A New Nomenclature and Classification System for Pancreatic Duct Lesions. *Am. J. Surg. Pathol.* 25:579-586.2001.
- 92 BARDEESY N, DEPINHO RA, Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2:897, 2002
- 93 ACHILE A, BRAST MO, ZAMBONI G, BOGINA G, MAGALAM AR, PEDERZOLI P, PERUCHO M, SCARPA A, Chromosome 7q allelic losses in pancreatic carcinoma, *Cancer Res* 56; 3808-3813. 1996.
- 94 KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N, ASTER JC. ROBBINS Y COTRAN. *Patología estructural y funcional*. Ed. Elsevier 2010.
- 95 BARDEESY N, DEPINHO RA, Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer*, 2:897, 2002.
- 96 BUSNARDO, AC; DIDIO, L.J.A.; TRIDICK, RT; THOMPSON, NR. History of the pancreas; *Am.J.Surg*, 146:539. 1.983.
- 97 DE GRAAF Regnier. Tesis sobre el páncreas, Universidad de Angers. "Disputatio medica de natura et usu succi pancreatici."1964.
- 98 HAYASHI, Y. and HASEGAWA, T.: "Experimental pancreatic tumor in rats after intravenous injection of 4 hydroxyaminoquinoline-1-oxide". *Gan.*, 62: 329-330, 1971.

- 99 LONGNECKER, D.S.: "Carcinogenesis in the pancreas". Arch. Pathol. Lab. Med., 107: 54-58, 1983.
- 100 REDDY, J.K. and RAO, M.S.: "pancreatic adenocarcinoma in inbred guinea pigs induced by N-methyl-N-nitrosourea". Cancer. Res., 35: 2269-2277, 1975.
- 101 RAO, M.S. and REDDY, J,K,: "Histogenesis of pseudo-ductular changes induced in the pancreas of guinea pigs treated with N-methyl-N-nitrosourea". Carcinogenesis, 1 (12): 1027-1037, 1980.
- 102 KONISHI, Y.; DENDA, A. and INUI, S.: "Production of pancreatic acinar cell carcinoma by combined administration of 4-hydroxyaminoquinoline-1-oxide and azaserine in partial pancreatectomized rats". Cancer, Lett. 4: 229-234, 1978
- 103 LONGNECKER, D.S.: "Lesions induced in rodent pancreas by Azaserine and other pancreatic carcinogens". Environmental. Health. Perspectives, 56: 245-251, 1984.
- 104 FLAKS, B.; MOORE, M.A. and FLAKS, A.: "Ultrastrucutral analysis of pancreatic carcinogenesis, VI. Early changes in hamster acinar cells induced by N-nitroso-bis (2-hydroxypropyl)amine" Carcinogenesis, 3 (9): 1063-1070, 1982.
- 105 DISSIN, J.; MILLS, L.R. and MAINZ, D.L.: "Experimental induction of pancreatic adenocarcinoma in rats". J.N.C.I., 55: 857-864, 1975.
- 106 BOCKMAN, D.E.: "Cells of origin of pancreatic cancer. Esperimental animal tumors related to human pancreas". Cancer, 47: 1528-1534, 1981.
- 107 BOCKMAN, D.E.; BLACK, O.; MILLS, L.R. and WEBSTER, P.D.: "Origin of tubular complesex developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7,12-dimethylbez(a)-anthracene". Am. J. Pathol., 90: 645-658, 1978.
- 108 HAY, R.J.: "The pancreatic epithelial cell in vitro: a posible model system for studies in carcinogenesis". Cancer. Res., 35: 2289-2291, 1975.
- 109 PARSA, I.: "Identification of human acinar cell carcinoma by monoclonal antibody and in vitro differentiation". Cancer. Lett., 15: 115-121, 1982.
- 110 PARSA, I. and MARSH, W.H.: "Long-term organ culture of embryonic rat pancreas in a chemically defined medium". Am. J. Pathol., 82: 119-128, 1976.
- 111 PARSA, I. and MARSH, W.H.: "An in vitro model of pancreatic carcinoma". Am. J. Pathol., 84: 469-478, 1976.

- 112 PARSA, I.; MARSH, W.H. and SUTTON, A.L.: "An in vitro model of pancreas carcinogenesis: two stage MNU-TPA effect". *Am. J. Pathol.*, 98: 649-662, 1980.
- 113 PARSA, I.; MARSH, W.H. and SUTTON, A.: "An in vitro model of human pancreas carcinogenesis: effects of nitroso compounds". *Cáncer*, 47: 1543-1551, 1981.
- 114 PARSA, I. and MARSH, W.H.: "Long-term organ culture of embryonic rat pancreas in a chemically defined medium". *Am. J. Pathol.*, 82: 119-128, 1976.
- 115 PARSA, I. and MARSH, W.H.: "An in vitro model of pancreatic carcinoma". *Am. J. Pathol.*, 84: 469-478, 1976.
- 116 PARSA, I.; MARSH, W.H. and SUTTON, A.L.: "An in vitro model of pancreas carcinogenesis: two stage MNU-TPA effect". *Am. J. Pathol.*, 98: 649-662, 1980.
- 117 PARSA, I.; MARSH, W.H. and SUTTON, A.: "An in vitro model of human pancreas carcinogenesis: effects of nitroso compounds". *Cancer*, 47: 1543-1551, 1981.
- 118 POUR, P.M.; KRÜGER, F.W.; ALTHOFF, J.; CARDESA, A. and MOHR, U.: "Cáncer of the pancreas induced in the syrian golden hamster". *Am. J. Pathol.*, 76: 349-358, 1974
- 119 POUR, P.M.; KRÜGER, F.W.; ALTHOFF, J.; CARDESA, A. and MOHR, U.: "A new approach for induction of pancreatic neoplasms". *Cáncer. Res.*, 35: 2259-2268, 1975.
- 120 POUR, P.M.; MOHR, U.; CARDESA, A.; ALTHOFF, J. and KHÜGER, F.W.: "Pancreatic neoplasm in an animal model: Morphological, biological and comparative studies". *Cancer*, 36: 379-389, 1975.
- 121 ALTHOFF, J.; POUR, P.; MALICK, L. and WILSON, R.B.: "Pancreatic neoplasms induced in Syrian Golden Hamsters". *Am. J. Pathol.*, 83: 517-530, 1976.
- 122 ANDREN-SANDBERG, A.; DAWISKIBA, S. and IHSE, I.: "Sequential studies on the development of nitrosamine-induced pancreatic carcinoma in the Syrian Golden Hamster". *Acta. Path. Microbiol. Inmunol. Scand.*, 93: 351-358, 1985.
- 123 ISHIKAWA, O.; WADA, A.; OOHIGASHI, H.; IMAOKA, S. and IWANOOGA, T.: "Relationship between goblet cells and carcinoma of the pancreas during N-nitrosobis (2-hydroxypropyl) amine-induced carcinogenesis in syrian golden hamsters". *Cáncer. Res.* 44 (4): 1630-1634. 1984.

- 124 LIJINSKY, W.: "Species differences in nitrosamine carcinogenesis". *J. Cáncer. Res. Clin. Oncol.*, 108 (1): 46-55, 1984.
- 125 TOWNSEND, C.M.; FRANKLIN, R.B.; GELDER, F. B.; GLASS, E. and THOMPSON, J.C.: "Development of a transplantable model of pancreatic duct adenocarcinoma". *Surgery*, 92: 72-78, 1982.
- 126 LONGNECKER, D.S. and CURPHEY, T.J.: "Adenocarcinoma of the pancreas in Azaserine treated rats". *Cáncer. Res.*, 35: 2249-2258, 1975.
- 127 LONGNECKER, D.S.; ROEBUCK, B.D.; YAGER, J.D. and LILJA, H.S.: "Pancreatic carcinoma in Azaserine-treated rats. Induction, classification and dietary modulation of incidence". *Cancer*, 47: 1562-1572, 1981.
- 128 LONGNECKER, D.S.; LILJA, J.S.; FRENCH, J.I.; KUHLMANN, E. and NOLL, W.: "Transplantation of Azaserine-induced carcinomas of pancreas in rats". *Cancer. Lett.*, 7: 197-202, 1979
- 129 LONGNECKER, D.S.: "Carcinoma of the pancreas in azaserine-treated rats". *A.J.P.* 94-96, 1981.
- 130 ROEBUCK, B.D.; LILJA, H.S.; CURPHEY, T.J. and LONGNECKER, D.S.: "Pathologic and biochemical effects of azaserine in inbred Wistar/lewis rats and non-imbred CD-1-mice". *J. Natl. Cancer. Institute.* 65: 383-389, 1980.
- 131 ROEBUCK, B.D.; BAUMGARTNER, K.J. and THRON, C.D.: "Characterization of two populations of pancreatic atypical acinar cell foci induced by azaserine in the rat". *Lab. Invest.*, 50 (2): 141-146, 1984.
- 132 LONGNECKER, D.S. and CURPHEY, T.J.: "Adenocarcinoma of the pancreas in Azaserine treated rats". *Cancer. Res.*, 35: 2249-2258, 1975.
- 133 LONGNECKER, D.S.; ROEBUCK, B.D.; YAGER, J.D. and LILJA, H.S.: "Pancreatic carcinoma in Azaserine-treated rats. Induction, classification and dietary modulation of incidence". *Cancer*, 47: 1562-1572, 1981.
- 134 SHINOZUKA, H.; POFF, J.A. and KONISHI, Y.: "Ultrastructure of atypical cell nodules in rat pancreas induced by 4-hidroxyaminoquinoleine-1-oxide". *Lab. Invest.*, 34: 501-509, 1976.
- 135 RAO, M.S.; UPTON, M.P.; SUBBARAO, U. and SCARPELLI, D.G.: "Two popylations of cell with differing proliferative capacities in atypical acinar cell foci induced by 4-hydroxyaminoquinoline-1-oxide in the rat pancreas". *Lab. Invest.*, 46: 527, 1982.
- 136 ROEBUCK, B.D.; BAUMGARTNER, K.J. and THRON, C.D.: "Characterization of two populations of pancreatic atypical acinar cell foci induced by azaserine in the rat". *Lab. Invest.*, 50 (2): 141-146, 1984.

- 137 LONGNECKER, D.S.: "Carcinogénesis in the pancreas". Arch. Pathol. Lab. Med., 107: 54-58, 1983.
- 138 POUR, P.M.; ALTHOFF, J. and TAKAHASHI, M.: "Early lesions of pancreatic ductal carcinoma in the hamster model". Am J. Pathol., 88: 291-308, 1977.
- 139 POUR, P.M. and WILSON, R.B.: "Experimental tumors of the pancreas" in MOSSA, A.R. with 27 contributors. Tumors of the pancreas. The Williards and Wilkins Company, Baltimore, págs. 37-158, 1980.
- 140 POUR, P.M. and WILSON, R.B.: "Experimental tumors of the pancreas" in MOSSA, A.R. with 27 contributors. Tumors of the pancreas. The Williards and Wilkins Company, Baltimore, págs. 37-158, 1980.
- 141 POUR, P.M. and WILSON, R.B.: "Experimental tumors of the pancreas" in MOSSA, A.R. with 27 contributors. Tumors of the pancreas. The Williards and Wilkins Company, Baltimore, págs. 37-158. 1980.
- 142 POUR, P.M.; ALTHOFF, J.; KRÜGER, F.W. and MOHR, U.: "A potent pancreatic carcinogen in syrian hamsters: N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine". J. Natl. Cancer. Inst., 58: 1449-1453, 1977.
- 143 POUR, P.M.: "Islet cells as a component of pancreatic ductal neoplasms, I. Experimental study: ductular cells, including islet cell precursors, as primary progenitor cells of tumors". Am. J. Pathol., 90: 295-316, 1978.
- 144 POUR, P.M.; ALTHOFF, J. and TAKAHASHI, M.: "Early lesions of pancreatic ductal carcinoma in the hamster model". Am J. Pathol., 88: 291-308, 1977.
- 145 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Transplantable ductal adenocarcinoma of the syrian hamster pancreas". Cáncer. Res., 39: 452-458, 1979
- 146 POUR, P.M.; SALMASI, S.; RUNGE, R.; GINGELL, R.; WALLCAVE, L.; NAGEL, D. and STEPAN, K.: "Carcinogenicity of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine in MRC rats". J.N.C.I. 63: 181-190, 1979.
- 147 ALTHOFF, J.; WILSON, R.B.; OGWORSKY, D. and POUR, P.: "The fine structure of pancreatic duct neoplasm in Sryan Golden Hamsters". Prog. Exp. Tumor. Res., 24: 397-405. 1979.
- 148 GITHENS, S.; HOLMQUIST, D.R.G.; WHELAN, J.F. and RUBY, J.R.: "Morphologic and biochemical characteristics of isolated and cultured pancreatic ducts". Cancer, 47: 1505-1512, 1981.
- 149 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Early changes in regenerating hamster pancreas following a single dose of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (NBOP) administared at the peak of DNA ayntesis". Cáncer, 47: 1552-1561, 1981.

- 150 SCARPELLI, D.G.; and RAO, M.S. and SUBRARAO, V.: "Augmentation of carcinogenesis by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. Administered during S phase of the cell cycle in regenerating hamster pancreas". *Cancer. Res.*, 43: 611-616, 1983.
- 151 KOKKINAKIS, D.M.; SCARPELLI, D.G.; RAO, M.S. and HOLLENBERG, P.F.: "Metabolism of pancreatic carcinogens N-nitroso-2,6-dimethylmorpholine and N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine by microsomes and cytosol of hamster pancreas and liver". *Cancer, Res.*, 43: 5761-5767. 1983
- 152 GINGELL, R.; BRUNK, G.; NAGEL, D. and POUR, P.: "Metabolism of three radiolabeled pancreatic carcinogenic nitrosamines in hamsters and rats". *Cancer. Res.*, 39: 4579-4583. 1979.
- 153 POUR, P.M. and DONNELLY, T.: "Effect of cholecystoduodenostomy and choledochostomy in pancreatic carcinogenesis. *Cáncer. Res.*, 38 (7): 2048-2051. 1978.
- 154 POUR, P.M.; DONNELLY, T. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 6**. The effect of ductal ligation and excision". *Am. J. Pathol.*, 113: 365-372. 1983.
- 155 POUR, P.M.; DONNELLY, K and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 5**. Effect of partial pancreaticocolostomy". *Carcinogenesis*, 4 (10): 1327-1331. 1983.
- 156 SCARPELLI, D.G.; RAO, M.S.; SUBRARAO, V.; BEVERSLUIS, M.; GURKA, D.P. and HOLLENBERG, P.F.: "Activation of Nitrosamines to mutagens by postmitochondrial fraction of hamster pancreas". *Cancer. Res.*, 40: 67-74. 1980.
- 157 POUR, P.M.: "Islet cells as a component of pancreatic ductal neoplasms, I. Experimental study: ductular cells, including islet cell precursors, as primary progenitor cells of tumors". *Am. J. Pathol.*, 90: 295-316. 1978.
- 158 POUR, P.M.; DONNELLY, K. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 3**. Inhibitory effect of Alloxan". *Am. J. Pathol.*, 110: 310-314. 1983
- 159 FITZGERALD, P.J.; HERMAN, L.; CAROL, B.; ROQUE, A.; MARSH, W.H.; ROSENSTOCK, L.; RICHARDS, C. and PERIL, D.: "Pancreatic acinar cell regeneration". *Am. J. Path.*, 52 (5): 983-996. 1968.
- 160 FITZGERALD, P.J.; VINIJCHAIKUL, K.; CAROL, B. and ROSENSTOCK, L.: "Pancreatic acinar cell regeneration. III. DNA synthesis of pancreas nuclei as indicated by thymidine-H3 autoradiography". *Am. J. Path.*, 52 (3): 1039-1058. 1968.

- 161 HAY, R.J.: "The pancreatic epithelial cell in vitro: a possible model system for studies in carcinogenesis". *Cáncer. Res.*, 35: 2289-2291. 1975.
- 162 LAWSON, T.A.; GINGELL, R. and NAGEL, D.: "Methylation of hamster DNA by the carcinogen N-nitrosobis-(2-oxopropyl)amine". *Cáncer, Lett.*, 11: 251-255. 1981
- 163 LEVIN, J.; PHILLIPS, B. and IQBAL, Z.M.: "DNA damage in isolated hamster and rat pancreas cell by pancreatic carcinogens". *Chem. Biol. Interact.*, 48 (1): 59-67. 1984.
- 164 KOKKINAKIS, D.M.; HOLLENBERG, P.F. and SCARPELLE, D.G.: "Major urinary metabolites in hamsters and rats treated with N-nitroso (2-hydroxypropyl)(2-oxopropyl)amine". *Cancer. Res.*, 45: 3586-3592. 1985.
- 165 KOKKINAKIS, D.M.; HOLLENBERG, P.F. and SCARPELLE, D.G.: "Metabolism of the cis and trans isomers of N-nitroso-2,6-Dimethylmorpholine and their deuterated analogs by liver microsomes of rat and hamster". *Carcinogenesis*, 5 (8): 1009-1014. 1984.
- 166 BAX J. SCHIPPERS-GILLIMEN C. WOUTERSEN RA, SCHERER E. Cell specific DNA alkylation in target and non-target organs of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine induced carcinogenesis in hamster and rat. *Carcinogenesis* 12: 583-590. 1991.
- 167 KOKKINAKIS DM, SCARPELLI DG. DNA alkylation in the hamster induced by pancreatic carcinogens. *Cancer Res* 49: 3184-3189. 1989.
- 168 KOKKINAKIS DM, SCARPELLI DG. DNA alkylation in the hamster induced by pancreatic carcinogens. *Cancer Res* 49: 3184-3189. 1989.
- 169 POUR, P.M.; RUNGE, R.G.; BIRT, D.; GINGELL, R.; LAWSON, L.; NAGEL, D.; WALLCAVE, L. and SALMASI, Z.: "Current knowledge of pancreatic carcinogenesis in the hamster and its relevance to the human disease". *Cancer*, 47: 1573-1587. 1981.
- 170 ROEBUCK, B.D.; YAGER, J.D. and LONGNECKER, D.S.: "Promotion by unsaturated fat of azaserine induced pancreatic carcinogenesis in the rat". *Cancer. Res.*, 41: 3961-3966. 1981.
- 171 LONGNECKER, D.S.; ROEBUCK, B.D. and KUHLMANN, E.T.: "Enhancement of pancreatic carcinogenesis by a dietary unsaturated fat in rats treated with saline or N-nitroso(2-hydroxypropyl)(2-oxopropyl)amine". *J.N.C.I.*, 74: 219-222. 1985.
- 172 WOUTERSEN, R.A.; VAN GARDEREN-HOETMER, A. and LONGNECKER, D.S.: "Characterization of a 4-month protocol for the quantitation of BOP induced lesions in hamster pancreas and its application in studying the effect of dietary fat". *Carcinogenesis*, 8 (6): 833-837. 1987.

- 173 POUR, P.M.; DONNELLY, K. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 3**. Inhibitory effect of Alloxan". Am. J. Pathol., 110: 310-314. 1983.
- 174 POUR, P.M.; DONNELLY, T.; STEPAN, K. and MUFFLY, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 2**. The effect of partial pancreatectomy". Am. J. Pathol., 110: 75-82. 1983.
- 175 POUR, P.M.; DONNELLY, T. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, 7**. Inhibitory effect of bethanechol chloride". Am. J. Pathol., 112: 178-184. 1983.
- 176 DEMBINSKI, A.B. and JOHNSON, L.R.: "Growth of pancreas and gastrointestinal mucosa in antrectomized and gastrin-treated rats". Endocrinology, 105: 769-773. 1979.
- 177 DEMBINSKI, A.B. and JOHNSON, L.R.: "Stimulation of pancreatic growth by secretin, caerulein and pentagastrin". Endocrinology, 106: 323-328. 1980.
- 178 FOLSCH, U.R. and CREUTZFELDT, W.: "Pancreatic duct cells in rats: secretory studies in response to secretin, cholecystokinin-pancreozymin and gastrin in vivo". Gastroenterology, 73: 1053-1059. 1977.
- 179 HAARSTAD, H.; STEFFENSRUD, S.; WINNBERG, A. and PETERSEN, H.: "The trophic effect on the pancreas of long-term continuous intravenous infusion of secretin and a cholecystokininlike peptide in rats". Scand. J. Gastroenterol, 21: 589-597. 1986.
- 180 JOHNSON, L.R.: "Effects of gastrointestinal hormones on pancreatic growth". Cancer, 47: 1640-1645. 1981.
- 181 PETERSEN, H.; SOLOMON, T. and GROSSMAN, M.I.: "Effect of chronic pentagastrin, cholecystokinin and secretin on pancreas of rats". Am. J. Physiol., 234 (3): E286-E293. 1978.
- 182 SANDBERG, A.A.; DAWISKIBA, S. and IHSE, I.: "Studies of the effect of cerulein administration on experimental pancreatic carcinogenesis". Scand. J. Gastroenterol. 19 (1): 122-128. 1984.
- 183 SOLOMON, R.E.; PETERSEN, H.; ELASHOFF, J. and GROSSMAN, M.I.: "Interaction of caerulein and secretin of pancreatic size and composition in rat". Am. J. Physiol., 235 (6): E714-E719. 1978.
- 184 TOWNSEND, C.M.; FRANKLIN, R.B.; WATSON, L.C.; GLASS, E.J. and THOMPSON, J.C.: "Stimulation of pancreatic cancer growth by caerulein and secretin". Surg. Forum., 32: 228-229. 1981.

- 185 PFEIFFER, C.J.; CHERNENKO, G.A.; KOHLI, Y. and BARROWMAN, J.A.: "Trophic effects of cholecystikinin octapeptide on the pancreas of the syrian hamster". *Can. J. Phisiol. Pharmacol.* 60 (3): 358-362. 1982.
- 186 ANDREN-SANDBERG, A.; DAWISKIBA, S. and IHSE, I.: "Studies of the effect of cerulein administration in experimental pancreatic carcinogenesis". *Scand. J. Gastroenterology*, 19 (1): 122-128. 1984
- 187 HOWATSON, A.G. and CARTER, D.C.: "Pancreatic carcinogenesis-enhancement by cholecystikinin in the hamster-nitrosamine model". *Br. J. Cancer*, 51 (1): 107-114. 1985.
- 188 HOWATSON, A.G. and CARTER, D.C.: "Pancreatic carcinogenesis: effect of secretin in the hamster-nitrosamine model". *J.N.C.I.*, 78 (1): 101-105. 1987
- 189 LINDSTEDT, G.; LUNDBERG, P.A. and ROLNY, P.: "Effect of secretin and cholecystikinin-pancreozymin on plasma CEA concentrations in patients with pancreatic carcinoma and pancreatitis". *Cancer*, 43: 2465-2470. 1979.
- 190 YAMADA, R.; BRUNSTEDT, J. and SOLOMON, T.: "Chronic effects of caerulein and secretin on the endocrine pancreas of the rat". *Am. J. Physiol.*, 244: G541-G545. 1983.
- 191 FENOGLIO, C.M. and KING, D.W.: "Somatostatin: an update". *Human. Patology*, 14 (6): 475-479. 1983.
- 192 MORISSET, J.: "Somatostatin: a potential antigrowth factor for the exocrine pancreas". *Regulatory Peptide*, 10: 11-22. 1984.
- 193 DAMJANOV, I.; MILLDNER, B. and KNOWLES, B.B: "Inmunohistochemical localization of the epidermal growth factor receptor in normal human tissues". *Lab. Invest.*, 55 (5): 588-592. 1986.
- 194 HIEROWSKI, M.T.; LIEBOW, C.; SAPIN, K. and SCHALLY, A.: "Stimulation by somatostatin of dephosphorylation of membrane proteins in pancreatic cancer MIA Pa Ca-2 cell line". *F.E.B.S.*, 179 (2): 252-256. 1985
- 195 MASCARDO, R.N. and SHERLINE, P.: "Somatostatin inhibits rapid centrosomal separation and cell proliferation induced by epidermal growth factor". *Endocrinology*, 111 (4): 1394-1396. 1982.
- 196 CAI, R.Z.; SZOKE, B.; LU, R.; FU, D.; REDDING, T.W. and SCHALLY, A.V.: "Synthesis and biological activity of highly potent octapeptide analogs of somatostatin". *Proc. Natl. Acd. Sci.*, 83: 1896-1900. 1986.
- 197 POUR, P.M. and PATIL, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster model, X. Effecto of streptozotocin". *J.N.C.I.*, 71 (5): 1059-1065. 1983.

- 198 POUR, P.M.; LAWSON, T; DONNELLY, T. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, XI**. Inhibitory effect of pilocarpine hydrochloride". J.N.C.I., 72 (1): 191-194. 1984.
- 199 POUR, P.M.; REBER, H.A. and STEPAN, K.: "Modification of pancreatic carcinogenesis in the hamster **model, XII**. Dose-related effect of ethanol". J.N.C.I., 71 (5): 1085-1087. 1983.
- 200 FITZGERALD, P.J.; VINIJCHAIKUL, K.; CAROL, B. and ROSENSTOCK, L.: "Pancreatic acinar cell regeneration. III. DNA synthesis of pancreas nuclei as indicated by thymidine-H3 autoradiography". Am. J. Path., 52 (3): 1039-1058. 1968.
- 201 LEHV, M. and FITZGERALD, P.J.: "Pancreatic acinar cell regeneration. IV. Regeneration after surgical resection". Am. JU. Path., 53 (4): 513-531. 1968.
- 202 MARSH, W.H.; GOLDSMITH, S.; CROCCO, J. and FITZGERALD, P.J.: "Pancreatic acinar cell regeneration. II. Enzymatic, nucleic acid and protein changes". Am. J. Path., 52 (5): 1013-1031. 1968.
- 203 MC-GUINNESS, E.E.; HOPWOOD, D. and WORMSLEY, K.G.: "Potentiation of pancreatic carcinogenesis in the rat by DL-metionina-induced pancreatitis". Scand. J. Gastroenterol., 18 (2): 189-192. 1983.
- 204 LONGNECKER, DS; CURPHEY T.J; and KUHLMANN, E.T., Inhibition of pancreatic carcinogenesis by retinoids in Azaserine-treated rats. Cancer.Red., 42: 19-24. 1982.
- 205 LONGNECKER, D.S.; KUHLMANN, E.T. and CURPHEY, T.J.: "Effects of four retinoids in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters". Cancer. Res., 43: 3226-3230. 1983.
- 206 CORBISHLEY, T.P.; IQBAL, M.J.; WILKINSON, M.L. and WILLIAMS, R.: "Androgen receptor in human normal and malignant pancreatic tissue and cell lines". Cancer, 57: 1992-1995. 1986.
- 207 PAZ BOUZA, J.I.; REDDING, T.W. and SCHALLY, A.V.: "Treatment of Nitrosamine-induced pancreatic tumors in hamsters with analogs of somatostatin and luteinizing hormone-releasing hormone". Proc. Hatl. Acad. Sci., 84: 1112-1116. 1987.
- 208 THEVE, N.O.; POUSETTE, A. and CARLSTRÖW, K.: "Adenocarcinoma of the pancreas-a hormone sensitive tumor?. A preliminary report on Nolvadex treatment". Clinical Oncology, 9: 193-197. 1983.
- 209 BRODY T, Nutritional Biochemistry. 2^a ed. San Diego: Academic Press. 1999.

- 210 PENBERTHY WT, KIRKLAND JB, La Niacina. Los conocimientos actuales en nutrición. 10ª ed. Ames: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida. 293-306. 2012.
- 211 DANTZER F, SANTIRO, R. El creciente papel de PARP en el establecimiento y mantenimiento de la heterocromatina. *Febs. J.*, 27 junio, 10, 12368. 2013.
- 212 DI GIROLAMO M, DANI N, STILLA A, Relevancia fisiológica de los monos (ADP-ribosil) acción endógena de las proteínas celulares. *Febs. J.*; 272 (18): 4565-4575. 2005.
- 213 JACOBSON MK, JACOBSON EL. El descubrimiento de nuevos ciclos de polímeros de ADP-ribosa: la protección del genoma y más. *Trends Biochem Sci.* 24 (11); 415-417. 1999.
- 214 SPRONCK JC, NICKERSON JL, KIRKLAND JB. La eficiencia de niacina altera la expresión de p53 y deteriora la detención del ciclo celular inducida por etopósido y la apoptosis en células de la médula ósea de rata. *Ntr.Cáncer.* 57 (1) 88-89. 2007.
- 215 HAGEMAN GJ, STIERUM RH. La niacina, poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 y la estabilidad genómica. *Mutat Res.* 18 abril, 475 (1-2) 45-56. 2001.
- 216 LAWSON, T.: "Nicotinamide stimulates the repair of carcinogen-induced DNA damage in the pancreas in vivo." *Anticancer, Res.*, 3 (3) 207-209, 1983.
- 217 SPRONCK JC, KIRKLAND, JB. Aumenta la deficiencia de la niacina espontánea e inestabilidad cromosómica inducida por etopósido en células de médula ósea de ratón in vivo. *Mutat Res.* 31 octubre, 508 (1-2) 83-97. 2002.
- 218 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli (ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas. 54. (3): 375-429. 2002.
- 219 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli (ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas. 54. (3): 375-429. 2002.
- 220 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli (ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas. 54 (3): 375-429. 2002.
- 221 ROLLI V, ARMIN R, AGUSTÍNA, G SCHULZ, MENISSIER-J DE MURCIA, de MURCIA G. poliADP-ribosilación Reacciones: del daño del DNA y el estrés de señalización a la muerte celular. Oxford, Reino Unido: Oxford University press, 2000.
- 222 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli (ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas.; 54. (3): 375-429. 2002.

- 223 KASS GEN, ERIKSSON JE, M WEIS, ORRENIUS S, SC CHOW. Condensación de la cromatina durante la apoptosis requiere ATP. *Biochemical Journal.*; 318. (3): 749-752. 1996.
- 224 FERRARI D, STEPCZYNSKA A, LOS M, S WESSELBORG, SCHULZE-OSTHOFF K. Diferencial regulación y la exigencia de ATP para la caspasa-8 y la activación de la caspasa-3 durante el CD95 y medicamento contra el cáncer inducida por apoptosis. *Journal of Experimental Medicine.*; 188. (5): 979-984. 1998.
- 225 KIRKLAND JB. Estado de niacina, NAD distribución y metabolismo ADP-ribosa actual diseño Farmacéutico.; 15. (1): 3-11. 2009.
- 226 RANKIN PW, EL JACOBSON, BENJAMÍN RC, MOSS J, MK JACOBSON. Los estudios cuantitativos de los inhibidores de la ADP-ribosilación in vitro y in vivo. *Journal of Biological Chemistry* 264. (8): 4312-4317. 1989.
- 227 TRONOV VA, EM KONSTANTINOV, E PETRAKOU, S TSILIMIGAKI, SM PIPERAKIS. La nicotinamida “protege” a los linfocitos en reposo expuestos al peróxido de Hidrógeno a partir de la necrosis, pero no de la apoptosis. *Biología Celular y Toxicología.* 18. (6): 359-367. 2002.
- 228 COPPOLA S, NOSSERI C, V MARESCA, GHIBELLI L. Diferentes niveles basales de NAD determinar los efectos opuestos de la poli (ADP-ribosyl) inhibidores de la polimerasa en la poptosis inducida por H2O2. *Experimental Cell Research.*; 221. (2): 462-469. 1995
- 229 CROWLEY CL, CM PAYNE, H BERNTEIN, BERNSTEIN C, D. ROE. El DNA precursores, ácido nicotínico y nicotinamida protege las células contra la apoptosis inducida por un inductor de estrés múltiple, desoxicolato de la muerte celular y la diferenciación.; 7. (3): 314-326. 2000.
- 230 BALDWIN AS. El factor de transcripción NF-κB y la enfermedad humana. *Journal of Clinical Investigation.*; 107. (1): 3-6. 2001.
- 231 MARCA K, BAUERLE PA, WALLI AK, NEUMEIER D. El papel de NF-κB en la patogenia de la aterosclerosis. *Journal of Physiology.* 49tP: S2-S2. 1996.
- 232 SIMS JL, BERGER SJ, BERGER NA. Poly (ADP-ribose)polymerase inhibitors preserve nicotinamide adenine dinucleotide and adenisine 5- triphosphate pool in DNA-damaged cells: Mechanism of stimulation of unscheduled DNA synthesis. *Biochemistry* ; 22:5188-5194. 1983.
- 233 KAZUMI T, YOSHINO G, FUJII S, BABA S. Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male Wistar rats. *Cancer Res* 38:2144-2147. 1978.
- 234 POUR PM, PATIL K. Modificacation of pancreatic carcinogénesis in the hamster model. X. The effect of streptozotocin. *JNCI*; 71:1059-1065. 1983.

- 235 BOYONOSKY AC, SPRONCK JC, JACOBS RM, SHAH GM, POIRIER GG, KIRKLAND, JB. Ingestas farmacológicas del poli niacin aumento de la medulla ósea (ADP-ribosa) y la latencia de la carcinogénesis inducida por itilnitrosourea en ratas. *J. Nutr.*, enero; 132(1), 115-20. 2002.
- 236 NEGRI E, FRANCESCHI S, BOSETTI C, LEVI F, CONTI E, PARPINEL, M, LA VECCHIA C. Micronutrientes seleccionados y el cáncer oral y faríngeo. *Int. J. Cáncer*, 15 febrero 120(4), 892-96. 2007.
- 237 FRANCESCHI S, BIDOLI E, NEGRI E, ZAMBON P, TALAMINI R, RUOL A, PARPINEL M, LEVI F, SIMONATO L, LA VECCHIA C. Papel de los macronutrientes, vitaminas y minerales en la etiología del carcinoma de células escamosas del esófago. *Int. J. Cáncer*, 86(5), 626-31. 2000.
- 238 MOSHER LR. Nicotinic acid side effects and toxicity: A review. *Am J psychol*; 126:1298-1296. 1970.
- 239 LONGNECKER, D.S.; ROEBUCK, B.D.; YAGER, J.D. and LILJA, H.S.: "Pancreatic carcinoma in Azaserine-treated rats. Induction, classification and dietary modulation of incidence". *Cancer*, 47: 1562-1572, 1981.
- 240 REDDY, J.K.; RAO, M.S.; WARREN, J.R.; QURESHI, S.A. and CHRISTENSEN, E.I.: "Differentiation and DNA synthesis in pancreatic acinar carcinoma of rat". *Cáncer. Res.*, 40: 3443-3454, 1980.
- 241 JAMIESON, J.D.; INGBER, D.E.; MURESAN, V.; HULL, B.E.; SARRAS, M.P.; MAYLIE-PFENNINGER, M.F. and IWANIJ, V.: "Cell surface properities of nomal, differentiating, and neoplastic pancreatic acinar cells". *Cáncer*, 47: 1516-1525, 1981.
- 242 SHINOZUKA, H.; LEE, R.E.; DUNN, J.L. and LONGNECKER, D.S.: "Multiple atypical acinar cell nodules of the pancreas". *Hum. Pathol.* 11 (4): 389-391, 1980.
- 243 WARREN, J.R. and REDDY, J.K.: "Transplantable pancreatic acinar carcinoma". *Cancer*, 47: 1535-1542, 1981.
- 244 ALTHOFF, J.; POUR, P.; MALICK, L. and WILSON, R.B.: "Pancreatic neoplasms induced in Syrian Golden Hamsters". *Am. J. Pathol.*, 83: 517-530, 1976.
- 245 LEVIT, M.; HARRIS, C.; SQUIRE,, R.; SPRINGER, S.; WENK, M.; MOLLELO, C.; THOMAS, D.; KINGSBURY, E. and NEWKIERK, C.: "Experimental pancreatic carcinogenesis. I. Morphogenesis of pancreatic adenocarcinoma in the syrian golden hamster induced by N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine". *Am. J. Pathol.*, 88: 5-28, 1977.

- 246 POUR, P.M.; KRÜGER, F.W.; ALTHOFF, J.; CARDESA, A. and MOHR, U.: "Cancer of the pancreas induced in the syrian golden hamster". *Am. J. Pathol.*, 76: 349-358, 1974
- 247 POUR, P.M.; KRÜGER, F.W.; ALTHOFF, J.; CARDESA, A. and MOHR, U.: "A new approach for induction of pancreatic neoplasms". *Cáncer. Res.*, 35: 2259-2268, 1975.
- 248 POUR, P.M.; MOHR, U.; CARDESA, A.; ALTHOFF, J. and KHÜGER, F.W.: "Pancreatic neoplasm in an animal model: Morphological, biological and comparative studies". *Cancer*, 36: 379-389, 1975.
- 249 FLAKS, A.; MOORE, M.A. and FLAKS, B.: "Ultrastructural analysis of pancreatic carcinogenesis. II. Establishment and morphology of a transplantable hamster pancreatic adenocarcinoma". *Carcinogenesis*, 1: 513-522, 1980.
- 250 FLAKS, B.; MOORE, M.A. and FLAKS, A.: "Ultrastrucutral analysis of pancreatic carcinogenesis. VI. Early changes in hamster acinar cells induced by N-nitroso-bis(2-hydroxypropyl)amine". *Carcinogenesis*, 3 (9): 1063-1070, 1982.
- 251 POUR, P.M. and WILSON, R.B.; Experimental tumors of the pancreas in MOSSA, A.R. with 27 contributors. *Tumors of the pancreas. The Willians and Wilkins Company, Baltimore, pgs.37-158. 1980.*
- 252 POUR, P.M. and WILSON, R.B.; Experimental tumors of the pancreas in MOSSA, A.R. with 27 contributors. *Tumors of the pancreas. The Willians and Wilkins Company, Baltimore, pgs.37-158. 1980.*
- 253 POUR, P.M. and WILSON, R.B.; Experimental tumors of the pancreas in MOSSA, A.R. with 27 contributors. *Tumors of the pancreas. The Willians and Wilkins Company, Baltimore, pgs.37-158. 1980.*
- 254 POUR, P.M. and WILSON, R.B.; Experimental tumors of the pancreas in MOSSA, A.R. with 27 contributors. *Tumors of the pancreas. The Willians and Wilkins Company, Baltimore, pgs.37-158. 1980.*
- 255 POUR, P.M.: "Islet cells as a component of pancreatic ductal neoplasms. I. Experimental study: ductular cells, including islet cell precursors, as primary progenitor cells of tumors". *Am. J. Pathol.*, 90: 295-316. 1978.
- 256 POUR, P-M.; ALTHOFF, J.; KRÜGER, F.W. and MOHR, U.: "A potent pancreatic carcinogen in syrian hamsters: N-nitrosobis(2-ozopropyl)amine". *J. Natl. Cáncer. Inst.*, 58: 1449-1453. 1977.
- 257 POUR, P.M.; ALTHOFF, J. and TAKAHASHI, M.: "Early lesions of pancreatic ductal carcinoma in the hamster model". *Am J. Pathol.*, 88: 291-308. 1977.

- 258 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Transplantable ductal adenocarcinoma of the syrian hamster pancreas". *Cáncer. Res.*, 39: 452-458. 1979.
- 259 POUR, P-M.; ALTHOFF, J.; KRÜGER, F.W. and MOHR, U.: "A potent pancreatic carcinogen in syrian hamsters: N-nitrosobis(2-ozopropyl)amine". *J. Natl. Cáncer. Inst.*, 58: 1449-1453. 1977.
- 260 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Transplantable ductal adenocarcinoma of the syrian hamster pancreas". *Cáncer. Res.*, 39: 452-458. 1979
- 261 POUR, P.M.; ALTHOFF, J. and TAKAHASHI, M.: "Early lesions of pancreatic ductal carcinoma in the hamster model". *Am J. Pathol.*, 88: 291-308. 1977.
- 262 ALTHOFF, J.; WILSON, R.B.; OGROWSKY, D. and POUR, P.: "The fine structure of pancreatic duct neoplasm in Sryan Golden Hamsters". *Prog. Exp. Tumor. Res.*, 24: 397-405. 1979.
- 263 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Early changes in regenerating hamster pancreas following a single dose of N-nitrosobis(2-ozopropyl)amine (NBOP) administared at the peak of DNA synthesis". *Cancer*, 47: 1552-1561. 1981.
- 264 SCARPELLI, D.G.; RAO, M.S. and SUBRARAO, V.: "Augmentation of carcinogenesis by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. Administered during S phase of the cell cycle in regenerating hamster pancreas". *Cancer. Res.*, 43: 611-616. 1983.
- 265 SCARPELLI, D.G. and RAO, M.S.: "Early changes in regenerating hamster pancreas following a single dose of N-nitrosobis(2-ozopropyl)amine (NBOP) administared at the peak of DNA aynthesis". *Cancer*, 47: 1552-1561. 1981.
- 266 SCARPELLI, D.G.; RAO, M.S. and SUBRARAO, V.: "Augmentation of carcinogenesis by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. Administered during S phase of the cell cycle in regenerating hamster pancreas". *Cáncer. Res.*, 43: 611-616. 1983.
- 267 BOCKMAN, D.E.: "Cells of origin of pancreatic cáncer. Experimental animal tumors related to human pancreas". *Cancer*, 47: 1528-1534. 1981.
- 268 BOCKMAN, D.E.; BLACK, O.; MILLS, L.R. and WEBSTER, P.D.: "Origin of tubular complesex developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7,12-dimethylbez(a)-anthracene". *Am. J. Pathol.*, 90: 645-658. 1978.
- 269 BOCKMAN, D.E.: "Cells of origin of pancreatic cancer. Experimental animal tumors related to human pancreas". *Cáncer*, 47: 1528-1534. 1981.
- 270 BOCKMAN, D.E.; BLACK, O.; MILLS, L.R. and WEBSTER, P.D.: "Origin of tubular complesex developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7,12-dimethylbez(a)-anthracene". *Am. J. Pathol.*, 90: 645-658, 1978.

- 271 RAO, M.S. and REDDY, J.K.: "Histogenesis of pseudo-ductular changes induced in the pancreas of guinea pigs treated with N-methyl-N-nitrosourea". *Carcinogenesis*, 1 (12): 1027-1037. 1980.
- 272 LONGNECKER, D.S.: "Carcinogénesis in the pancreas". *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 107: 54-58. 1983.
- 273 PARSA, I.: "Identification of human acinar cell carcinoma by monoclonal antibody and in vitro differentiation". *Cáncer. Lett.*, 15: 115-121. 1982.
- 274 NYONGO, A. and HUNTRAKOON, M.: "Microcystic adenoma of the pancreas with myoepithelial cells". *Am. J. Clin. Pathol.* 84: 114-120 1985.
- 275 FUKUDA , M; BOHM, N and FUJITA, S.: *Cytophotometry and its Biological application*. Fischer, Stuttgart-New York. 1978.
- 276 BOQUOI, E.; KREBS, S. and KREUZER, G.: "Feulgen-DNA-cytophotometry on mammary tumor cells from aspiration biopsy smears". *Acta Cytologica*. 19 (4): 326. 1975.
- 277 FU, Y.S. and HALL, T.L.: "DNA ploidy measurements in tissue sections". *Analytical and Quantitative cytology and Histology*, 7 (2): 90. 1985.
- 278 BERRYMAN, I.; STERRETT, G.F. and PAPADIMITRIOU, J.M.: "Feulgen DNA cytophotometry in histologic sections of mammary neoplasms". *Analytical and quantitative cytology*, 6 (1): 19. 1984.
- 279 MOBERGER, B.; AUER, G.; FORSSLUND, G. and MOBERGER, G.: "The prognostic significance of DNA measerements in endometial carcinoma". *Cytometry*. 5: 430-436. 1984.
- 280 ZATTERBERG, A. and ESPOSTI, P.L.: "Cytophotometric DNA-analysis of aspirated cells from prostatic carcinoma". *Acta Cytologica*, 20 (1): 46-57, 1976.
- 281 CZERNIAK, B.; HERZ, F. and KOSS, L.G.: "DNA distribution patterns in early gastric carcinomas". *Cáncer*, 59: 113-117, 1987.
- 282 DOSEVA, D.; CHRISTOV, K. and KRISTEVA, K.: "DNA content in reactive hyperplasia, precancerosis, and carcinomas of the oral cavity. A cytophotometric study". *Acta Histochem.*, 75: 113-119. 1984.
- 283 INOKUCHI, K.; KODAMA, Y.; SASAKI, O.; KAMEGAWA, T. and OKAMURA, T.: "Differentiation of growth patterns of early gastric carcinoma determined by cytophotometric DNA analysis". *Cancer*, 51: 1138-1141 1983.
- 284 ADLER, C.P.; RIEDE, U.N.; WURDAK, W. and ZUGMAIER, G.: "Cytophotometric measurements of the DNA in Hodgkin Lymphomas and Non-Hodgkin Lymphomas". *Path. Tes. Pract.*, 178: 579-589. 1984.

- 285 CHRISTOV, K.: "Flow cytometric DNA measurements in human thyroid tumors". *Virchows, Arch. (Cell. Pathol.)* 51: 255-263. 1986.
- 286 MORGAN, R.G.H.; SCHAEFFER, B.K. and LONGNECKER, D.S.: "Size and number of nucleidiffer in normal and neoplastic acinar cells from rat pancreas". *Pancreas*, 1: 37-43. 1986.
- 287 OATES, P. and MORGAN, R.G.H.: "Changes in pancreatic acinar cell nuclear number and DNA content during aging in the rat", *The American Journal of Anatomy.*, 177: 547-554. 1986.
- 288 KIMURA, O.; KAIBARA, N.; MIYANO, Y.; OKAMOTO, T.; TAMURA, H.; YURUGI, E. and KOGA, S.: "Nuclear DNA content in dimethylhydrazine-induced colonic carcinoma and mucosal dysplasia in rats". *Cancer*, 53: 1918-1922. 1984.
- 289 POUR, P-M.; ALTHOFF, J.; KRÜGER, F.W. and MOHR, U.: "A potent pancreatic carcinogen in syrian hamsters: N-nitrosobis(2-ozopropyl)amine". *J. Natl. Cáncer. Inst.*, 58: 1449-1453. 1977.
- 290 SIMS JL, BERGER SJ, BERGER NA. Poly(ADP-ribose)polymerase inhibitors preserve nicotinamide adenine dinucleotide and adenisine 5- triphosphate pool in DNA-damaged cells: Mechanism of stimulation of unscheduled DNA synthesis. *Biochemistry* ; 22:5188-5194. 1983.
- 291 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli(ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas; 54. (3): 375-429. 2002.
- 292 SPRONCK JC, NICKERSON JL, KIRKLAND JB. La eficiencia de niacina altera la expresión de p53 y deteriora la detención del ciclo celular inducida por etopósido y la apoptosis en células de la médula ósea de rata. *Ntr.Cáncer.*, 57 (1) 88-89. 2007.
- 293 DI GIROLAMO M, DANI N, STILLA A, Relevancia fisiológica de los monos (ADP-ribosil) acción endógena de las proteínas celulares. *Febs. J.*; 272 (18): 4565-4575. 2005.
- 294 RIKLIS E, R KOL, MARKO R. Tendencias y desarrollos en protección radiológica. El efecto de la nicotinamida en la reparación del DNA. *Revista Internacional de Biología de la radiación.*; 57. (4): 699-708. 1990.
- 295 JACOBSON MK, JACOBSON EL. El descubrimiento de nuevos ciclos de polímeros de ADP-ribosa: la protección del genoma y más. *Trends Biochem Sci.*; 24 (11); 415-417. 1999.

- 296 ROLLI V, ARMIN R, AGUSTÍNA, G SCHULZ, MENISSIER-J DE MURCIA, de MURCIA G. poliADP-ribosilación Reacciones: del daño del DNA y el estrés de señalización a la muerte celular. Oxford, Reino Unido: Oxford University press. 2000.
- 297 VIRÁG L, SZABO C. El potencial terapéutico de poli(ADP-ribosa) inhibidores de la polimerasa críticas farmacológicas; 54. (3): 375-429. 2002.
- 298 GUERRERO I, PELLICER A. Mutational activation of oncogenes in animal model systems of carcinogenesis. *Mut Research*; 185: 293-308. 1987.
- 299 FUJII H, EGAMI H, POUR PM, PELLING J. Pancreatic ductal adenoacorcinomas induced in Syrian hamsters by N-nitrosobis(2-oxopropyl)-amine contain a c-Kras onogene with a point-mutated codón 12. *Mol Carcinogenesis*; 3: 296-301. 1990.
- 300 CERNY WL. MANGOLD KA, SCARPELLI DG. K-ras mutation is an early event in pancreatic duct carcinogenesis in the Syrian golden hamsters. *Cancer Res*; 52: 4507-4513. 1992.
- 301 BOYONOSKY AC, SPRONCK JC, JACOBS RM, SHAH GM, POIRIER GG, KIRKLAND, JB. Ingestas farmacológicas del poli niacin aumento de la medulla ósea (ADP-ribosa) y la latencia de la carcinogénesis inducida por itilnitrosourea en ratas. *J. Nutr.* enero; 132(1), 115-20. 2002.
- 302 NEGRI E, FRANCESCHI S, BOSETTI C, LEVI F, CONTI E, PARPINEL, M, LA VECCHIA C. Micronutrientes seleccionados y el cáncer oral y faríngeo. *Int. J. Cáncer* 15 febrero 120(4), 892-96. 2007.
- 303 LEGROS Y, MELNTYRE P, SOUSSI T. The DNA cloning and immunological characterization of hamster p53. *Gene*, 112: 247-250. 1992.
- 304 CHANG KW, MANGOLD KA, HUBCHAK S, LACONI S, SCARPELLI DG, Genomic p53 mutation in a chemically induced hamster pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res* 54: 3878-3883. 1994.
- 305 CHANG KW, LACONI S, MANGOLD KA, HUBCHAK S, SCARPELLI DG, Multiple genetic alterations in hamster pancreatic ductal adenocarcinomas. *Cancer Res*, 55: 2560-2568. 1995.
- 306 OKITA S, TSUTSUMI M, ONJI M, KONISH Y. p53 mutation without allelic loss and absence of mdm-2 amplification in a transplantable hamster pancreatic ductal adenocarcinoma and derived cell lines but not primary ductal adenocarcinomas in hamsters. *Mol Carcinogenesis* 13: 266-271. 1995.
- 307 OKAMOTO OHTSU H, MIYAKI M, YONCKAWA H. No allelic loss at the p53 locus in 1.2-dimehylhydrazine-induced mouse colon tumours: PCR-SSCP analysis with sequence-tagged microsatellite site primer. *Carcinogenesis* 14: 1483-1486. 1993.

- 308 KRESS S, KONIG J, SCHWEIZER J, LOHRKE H, BAUER-HOFMANN R, SCHWARZ M. p53 mutations are absent from carcinogen-induced mouse liver tumors but occur in cell lines established from these tumors. *Mol Carcinogenesis*, 6: 148-158. 1992.
- 309 OREFFO VI, LIN-HW, GUMERLOCK PH, KRAEGEL SA, WITSCHI H. Mutational analysis of a dominant oncogene (c-Ki ras-2) and a tumor supressor gene (p53) in hamster lung tumorigenesis. *Mol Carcinogenesis* 6: 199-202. 1992.
- 310 DI GIUSEPPE JA, HRUBAN RH, GOODMAN SN, POLAK M, VAN DEN BERG F, ALLISON DC, CAMERON JL, JOHAN G, OFFERBAUS JA. Overexpression of the p53 protein in the adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Pathol* 101: 684-688. 1993.
- 311 CHANG KW, MANGOLD KA, HUBCHAK S, LACONI S, SCARPELLI DG, Genomic p53 mutation in a chemically induced hamster pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res* 54: 3878-3883.1994.
- 312 OKITA S, TSUTSUMI M, ONJI M, KONISH Y. p53 mutation without allelic loss and absence of mdm-2 amplification in a transplantable hamster pancreatic ductal adenocarcinoma and derived cell lines but not primary ductal adenocarcinomas in hamsters. *Mol. Carcinogénesis* 13: 266-271. 1995.