



# XVIII Congreso Latinoamericano de Nutrición

ALIMENTACIÓN SALUDABLE PARA UN PLANETA SOSTENIBLE



# NOVIEMBRE, 2018

GUADALAJARA, JALISCO, MÉXICO

p <0.001). En cuanto a las mujeres de LF presentaron valores elevados solo en triglicéridos comparado con las alumnas de LNCA (148 mg/dL (78-186) vs 90 mg/ dL (63-119); p < 0.001), respectivamente. Los alimentos ricos en ácidos grasos insaturados correlacionaron de forma positiva con el ángulo de fase: aceite de oliva (r=0.356, p 0.049), cacahuates (r=0.292, p 0.003), semillas de girasol (r=0.714, p 0.047), carne de cerdo (r=0.206, p 0.014) y carne de res (r=0.350, p<0.001); así como también con la fuerza muscular medida por dinamometría: (cacahuates (r=0.252, p 0.007), almendras (r=0.302, p 0.022), aguacate (r=0.200, p 0.010), carne de cerdo (r=0.266, p 0.001). Las frecuencias de consumo de alimentos ricos en ácidos grasos insaturados (nueces, cacahuates, almendras, yogurt, atún y jamón difiere entre los estudiantes de LCNA comparado con LF. Conclusiones. El consumo de alimentos ricos en ácidos grasos insaturados correlaciona positivamente con el ángulo de fase y la fuerza muscular. Los alumnos de LCNA consumen más alimentos ricos en ácidos grasos insaturados lo que podría estar relacionado con mejores hábitos de alimentación reflejándose en niveles de colesterol y triglicéridos en rangos normales.

#### M320 Relación entre grasa corporal y resistencia a la insulina en mujeres de Durango-Mx.

AVILA-RODRÍGUEZ A<sup>1</sup>,**\*\*VARGAS-CHÁVEZ N**<sup>2</sup>,PÉREZ-DE LA CRUZ J<sup>3</sup>,ARAUJO-CONTRERAS J<sup>1</sup>,REYES-ROMERO M<sup>3</sup>. (1) Centro de Investigación en Alimentos y Nutrición Facultad de Medicina y Nutrició, México;(2) Facultad de Odontología-Universidad Juárez del Estado de Durango, México;(3) Facultad de Medicina y Nutrición Universidad Juárez del Estado de Durango, México.

Objetivo(s). Determinar la relación entre el porcentaje de grasa corporal y resistencia a la insulina (RI) en mujeres universitaria de la ciudad de Durango-Mx. Material y Métodos. Estudio transversal realizado en 160 mujeres no embarazadas de ≥19 a <25 años de edad., todas ellas estudiantes universitarias de las Facultades de Medicina-Nutrición y de Odontología de la UJED. El porcentaje de grasa corporal de las participantes se obtuvo en un InBody720. Con ayuno de 12 horas en una muestra de suero por química seca (VITROS-DT-60) se determinó la concentración de glucosa y por Inmunoquimioluminiscencia (IMMULITE 1000) insulina, con los que se calcularon los índices HOMA-IR, HOMA 2%B, HOMA 2%S, HOMA 2 IR, FIRI, glucosa/insulina y glucosa x insulina. La relación se estableció con un modelo de regresión lineal. El análisis estadístico se realizó en SPSS-v-20. Resultado. La media de edad fue 21.1±1.6 años y de escolaridad 14.2±1.7. El por-



centaje de grasa corporal es un predictor bueno para los indicadores de RI: HOMA IR (R2=0.472), HOMA 2IR (R2=0.467), FIRI (R2=0.472) y Glucosa x Insulina (R2=0.466). En todos estos casos, la prueba de significancia mostró pendientes diferentes de cero (p<0.05). **Conclusiones.** El porcentaje de grasa corporal es un buen predictor de resistencia a la insulina a pesar de la corta edad de las participantes.

#### M227 Retinol Sérico en Mujeres (15-50 años) de Saint-Marc, Haití HPLC vs fotómetro portátil

**\*\*Avila-Prado J**<sup>1</sup>, Valencia M<sup>1</sup>, Astiazaran-Garcia H<sup>2</sup>, Marhone J<sup>3</sup>, Loechl C<sup>4</sup>, Lopez-Jimenez C<sup>1</sup>, Lopez-Teros V<sup>1</sup>. (1) Universidad de Sonora, México; (2) Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., México; (3) Ministere de la Santé Publique et de la Population, Haiti; (4) International Atomic Energy Agency, Austria.

Objetivo(s). El objetivo del estudio fue evaluar la concentración de retinol sérico por dos métodos en mujeres en edad reproductiva de Saint-Marc, Haití. Material y Métodos. Estudio transversal comparativo donde participaron 163 mujeres (15-50 años de edad) seleccionadas de un Programa para Mejorar la Seguridad Alimentaria en Haití (AKOSAA). Se colectó una muestra de sangre venosa y posteriormente se obtuvo el suero para la determinación retinol sérico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y un fluorometro portátil. Adicionalmente se determinó proteína C reactiva (PCR; Spinreact E-17176, St Esteve de Bas), la cual se utilizó para evaluar la presencia de inflamación y de ser necesario corregir la concentración de retinol sérico. Como control de calidad se utilizó un suero de referencia para vitaminas liposolubles con 3 niveles de concentración (SRM 968e, NIST). Resultado. Ninguna de las participantes presentó inflamación subclínica (PCR > 6mg/L). La concentración promedio de retinol fue de 1.05±0.38 µmol/L y 1.25±0.29 µmol/L para HPLC y el fotómetro portátil, respectivamente (P<0.05). Al clasificar el retinol sérico utilizando las determinaciones por el método estándar (HPLC), se observó que el 55% (n=90) presentaba deficiencia de vitamina A (DVA) versus 26.4% por el fotómetro portátil, Kappa ponderado=0.10 considerado sumamente pobre. Al emplear HPLC, la DVA leve (0.7-1.05 µmol/L) fue de 38.7% y la moderada de 16% (0.35-0.7 µmol/L). Al graficar la diferencia y promedio de las mediciones de ambos métodos, el sesgo fue de 0.20 (IC 95%: 0.14, 0.27). La concordancia del coeficiente de correlación de Lin (pc), una medida de exactitud y precisión que evalúa como cada par de observaciones cae sobre la línea de identidad (45°), fue sumamente pobre,  $\rho c =$ 0.19 al estar por debajo de 0.90. Adicionalmente, el







División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Universidad Juárez del Estado de Durango Facultad de Medicina y Nutrición

Otorgan la presente:

# CONSTANCIA

 $\mathcal{A}:$  Enrique Arturo Guerrero Sánchez, María Karina Arreola Banoye, Jesús Alberto Frayre Valles, José

Ángel Galindo De la Rosa, Cosme Francisco Maldonado Rivera, Jesús Arturo Martínez Álvarez, Alma Rosa Pérez Álamos, Alejandra Del Carmen Rojas Salas, Karla Rosales Hernández, Elsa Paulina Salas

POR SU PARTICIPACIÓN COMO PONENTE EN EL III ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN EL Névarez, Miguel Arturo Reyes Romero. POSGRADO.

CON EL TRABAJO: LA MARIHUANA AUMENTA LA EXPRESIÓN RELATIVA DE LOS GENESOMTY KL EN LA LÍNEA EPITELIAL TRANSFORMADA MCF7"

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Victoria de Durango, Dgo., 16 de marzo de 2017

Dr. Jorge Areuto Cisneros Martinez Director de la Facultad de Medicina y Nutrición

Dr. en C. Jorge Alberto Burciaga Nava Coordinador del II Encuentro de Investigación en el Posgrado



Dr. en C. Vicente Cisneros Pérez Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación









El **Gobierno del Estado de Durango** a través de la **Secretaría de Salud** otorga la presente



л.

Doris Rincones Monárrez, Rosa Eréndira Sierra Puente, Miguel Arturo Reyes Romero, Jorge Alberto Burciaga Nava.

Por su participación con el trabajo: LA QUERCETINA AUMENTA LA EXPRESIÓN DE ARNM DE SIRT1 Y SIRT 2 EN LA LÍNEA CELULAR MCF7 DE CÁNCER DE MAMA. En el marco de la I Jornada Nacional de Investigación en Salud Durango 2017

José Rosas Aispuro Torres Gobernador del Estado de Durango

Dr. César Humberto Franco Mariscal

Secretario de Salud y Dir. Gral. de los Servicios de Salud

Victoria de Durango, Dgo. a Agosto de 2017

# REVista INTernacional de CONTAMinación AMBIEntal

# volumen 34, 2018

http://www.revistas.unam.mx/index.php/rica/

## **MEMORIAS**

**CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA 2018** 

# EN MEMORIA DEL DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI 1936 - 2018

## SOCIEDAD MEXICANA DE GENÉTICA

Editores

JUANA SÁNCHEZ-ALARCÓN Edith Cortés – Barberena <mark>Rafael Valencia-Q</mark>uintana

DOI: 10.20937/RICA.2018.34.MSMG2

AUTOR	PÁGINA
Palacios-Rojas N	23
Palomar-Morales M	34
Paredes-Arriaga A	21
Parrilla-Virrey G	44
Pérez Morales R	50,70
Pérez Sanchez M Pérez-Eloros GA	04
Pérez-Gavilán Coniceros 14	29
Pérez-Gavilar Cericeros JA	29
Pérez-Morales R	18 40 42 52
Pérez-Sánchez M	10, 40, 42, 52,
Pérez-Zempoalteca Y	65
Petrosvan P	42
Piedra-Ibarra E	2, 34
Pimentel E	14, 15
Pimentel Peñaloza E	16
Pineda-Cruces RN	32
Ponciano-Gómez JA	34
Prasanna BM	23
Pulido Flores G	36
Pulido González AS	50
Q	
Quintanar-Escorza MA	45
Quiñones-Canales G	6
D	
	F
Ramos Rosales Dr Ramos Dolova XN	5
Ramus-Deloya AN Reséndiz-Abarca CA	54 55
Reves Cerón A	5 69
Reves-Romero MA	3
Rincones-Monárrez D	
Ríos-Sánchez E	42
Roblero Muñoz EG	56
Rocha Sánchez CA	31
Rodríguez Cruz L	57
Rodríguez Herrera R	56
Rodríguez Mercado JJ	37, 49
Rodríguez-Arnaiz R	19
Rodríguez-Varela AC	2

xii

Rev. Int. Contam. Ambie. 34 (Memorias CNG2018)

	Página
EFECTO DEL ALL-TRANS-ACIDO-RETINOICO SOBRE LA PROTEINA MORFOGÉNICA DE HUESO-7 EN MODELO ANIMAL DE IMPLANTE DE ÁCIDO POLILÁCTICO	44
EFECTO DEL TALIO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y FETAL EN RATONES CD-1	37
EFECTO GENOTÓXICO DE 3 ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES) EN LA RANA AFRICANA <i>Xenopus lavéis</i>	27
EFECTO GENOTÓXICO DE MUESTRAS DE AGUA COLECTADA DE LOS RÍOS: PURIFICACIÓN CORONA Y PILÓN DE TAMAULIPAS, SOBRE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE <i>Vicia faba</i>	13
EL POLIMORFISMO <i>rs1800435</i> ( <i>G177C)</i> DEL GEN <i>ALAD</i> COMO FACTOR DE RIESGO PARA INTOXICACIÓN POR PLOMO Y PREECLAMPSIA	18
EN LA CRUZA BIOACTIVACIÓN ELEVADA DE SMART EN ALA DE Drosophila melanogaster, LA NICOTINA, EL RESVERATROL Y SUS CO-TRATAMIENT <mark>OS INDUC</mark> EN MENOS DAÑO G <mark>ENOTÓXICO</mark>	43
ENSAMBLAJE D <mark>E NOVO Y A</mark> NOTACIÓN FUNCIONAL DEL TRANSCRIPTOMA DE CINCO ESPECIES DE MURCIÉLAGOS DE YUCATÁN, MÉXICO	61
ENSAYO DE M <mark>UTACIÓN Y</mark> RECOMBINACIÓN SOMATICA CON MUESTRAS DE AGUA DEL BORDO LA ESTANZUELA	19
ESTADO EPIGENÉTICO DEL SITIO PROMOTOR DE GEN DEL RECEPTOR DE VITAMINA D EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y PERSONAS SANAS	3
ESTADO OXIDANTE ASOCIADO AL MANEJO RENAL DE MAGNESIO EN PACIENTES CON PIE DIABÉTICO	45
ESTRUCTURA GENÉTICA Y FILOGEOGRAFÍA DE POBLACIONES DE <i>Girardinichthys multiradiatus</i> (Meek, 1904), EN DOS CUENCAS HIDROLÓGICAS DEL ESTADO DE MÉXICO	2
ESTUDIO DEL EFECTO GENOTÓXICO Y CITOTÓXICO DEL VENENO DE LAS SERPIENTES <i>Ophryacus smaragdinus</i> Y <i>Ophryacus</i> <i>sphenophrys</i> EN RATÓN	32
ESTUDIO GENÉTICO POBLACIONAL DEL PARGO LUNAREJO Lutjanus guttatus EN LAS COSTAS DEL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL	59
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y EXPRESIÓN GÉNICA DE ALGUNAS ENZIMAS ASOCIADAS A ESTRÉS OXIDANTE Y METABOLISMO XENOBIÓTICO EN DOS CEPAS DE <i>Drosophila</i>	
<i>melanogaster</i> EVALUACIÓN <mark>DE MICRONUCLEOS EN BRANOUIA DEL PEZ <i>Muail</i></mark>	34
cepalus COMO MARCADOR DE CONDICIONES AMBIENTALES	26

xxvi

#### CNG2018 003

#### ESTADO EPIGENÉTICO DEL SITIO PROMOTOR DE GEN DEL RECEPTOR DE VITAMINA D EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y PERSONAS SANAS

Rincones-Monárrez D, Sierra-Puente RE, González-Romero Á, Reyes-Romero MA

Departamentos de Medicina y Nutrición Molecular de la Facultad de Medicina y Nutrición de la UJED. Av. Universidad S/N, Col. Los Ángeles, 34000. Durango, Dgo. rmzdoris1@gmail.com

El receptor de vitamina D es un factor de transcripción asociado a DT2 y su gen codificante (VDR) tiene sitios potenciales de metilación en su promotor, lo cual potencialmente afectaría su expresión y en consecuencia los efectos de la vitamina D. Sin embargo, en la actualidad no hay estudios acerca de modificaciones epigenéticas del gen VDR en diabetes mellitus tipo 2. El objetivo de este trabajo fue determinar si existe metilación diferencial del sitio promotor del gen VDR entre mujeres con diabetes mellitus tipo 2 y sanas. Se diseñó un estudio de casos y controles pareados por edad y sexo, incluyendo diez participantes por grupo, se aisló ADN genómico a partir de leucocitos y se amplificó por PCR un fragmento de 131 pb del promotor de *VDR* que incluyó 14 sitios CpG. La temperatura de disociación de las cadenas del fragmento amplificado (Tm) es función del número de sitios metilados por lo cual se determinó el Tm por fundido de ADN de alta resolución utilizando un termociclador Eco™ illumina®. Los resultados fueron los siguientes, la mediana de edad en ambos grupos de estudios fue de 54.5 años. El valor de Tm para el grupo de casos fue de 90.167°C y para el grupo de controles de 89.25°C (p =0.04) lo que corresponde a una diferencia del 10% en el grado de metilación. Se concluye que la diferencia en la metilación del promotor de VDR pudiera estar relacionada con los efectos de la vitamina D en este tipo de pacientes. Se amerita de estudios con muestras más grandes y el estudio específico de los sitios metilados.





Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango Sociedad Latinoamericana de Farmacogenómica y Medicina Personalizada

ongreso Latinoamericano de Farmacogenómica y Medicina Personalizada Durango, Dgo., México "Corazón de Latinoamérica"

a:

Otorgan la presente

RUTEAGA NAVARRO TANYA CITLALI; PÉREZ VALENZUELA PALOMA GABRIELA; SIERRA PUENTE ROSA ERÉNDIRA; REYES ROMERO MIGUEL ARTURO; GONZÁLEZ ROMERO ÁNGEL

Autores del trabajo: "Efecto de la Inhibición de la DPP4 con Sitagliptina sobre la Expresión Relativa Transcripcional de los Genes KAT7 y SIRT1 en la Línea Celular MCF7" Clave: PCF210

Por su participación en la sesión de posters en el

2do Congreso Latinoamericano de Farmacogenómica y Medicina Personalizada Realizado en Durango, Dgo., México, del 25 al 28 de octubre de 2017

Dr. Eduardo Sánchez Ortíz Director de CIIDIR IPN Unidad Durango

Profr. Dr. Luis Quiñones Presidente de la SOLFAGEM

much

Instituto Politécnico Nacional "La Têcnica al Servicio de la Patria"









Dr. Ismael Lares-Asseff Presidente del Comité Organizador











## EL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL Y LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

OTORGAN EL SIGUIENTE RECONOCIMIENTO A LOS INVESTIGADORES:

WEYMAN VELA YESSIKA, GUERRERO ROMERO FERNANDO, CAMACHO LUIS ABELARDO, SIMENTAL MENDIA LUIS ERNESTO, REYES ROMERO MIGUEL ARTURO, GUERRERO ROMERO FERNANDO

POR LA PRESENTACIÓN DEL CARTEL DE INVESTIGACIÓN TITULADO:

ASOCIACION ENTRE DIABETES TIPO 2 Y DETERIORO COGNITIVO EN ADULTOS MAYORES

#### XXV FORO NORTE DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 2019

5 al 7 de junio 2019. Puerto Vallarta, Jalisco.

Dr. César Raul González Bonilla Titular de la Coordinación de Investigación en Salud



Dr. José Francisco Muñoz Valle Rector del CUCS Universidad de Guadalajara







## Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A

**Current Issues** 

ISSN: 1528-7394 (Print) 1087-2620 (Online) Journal homepage: http://www.tandfonline.com/loi/uteh20

# Renal damage induced by the pesticide methyl parathion in male Wistar rats

Victor Hugo Fuentes-Delgado, María Consolación Martínez-Saldaña, María Luisa Rodríguez-Vázquez, Miguel Arturo Reyes-Romero, José Luis Reyes-Sánchez & Fernando Jaramillo-Juárez

**To cite this article:** Victor Hugo Fuentes-Delgado, María Consolación Martínez-Saldaña, María Luisa Rodríguez-Vázquez, Miguel Arturo Reyes-Romero, José Luis Reyes-Sánchez & Fernando Jaramillo-Juárez (2018) Renal damage induced by the pesticide methyl parathion in male Wistar rats, Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 81:6, 130-141, DOI: 10.1080/15287394.2017.1394948

To link to this article: https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1394948



Published online: 10 Jan 2018.

_	_
ſ	
L	6
-	_

Submit your article to this journal  $\square$ 

Article views: 24



View related articles 🗹

View Crossmark data 🗹

#### Renal damage induced by the pesticide methyl parathion in male Wistar rats

Victor Hugo Fuentes-Delgado<sup>a</sup>, María Consolación Martínez-Saldaña<sup>a</sup>, María Luisa Rodríguez-Vázquez<sup>a</sup>, Miguel Arturo Reyes-Romero<sup>b</sup>, José Luis Reyes-Sánchez<sup>c</sup>, and Fernando Jaramillo-Juárez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México; <sup>b</sup>Facultad de Medicina. Departamento de Medicina Molecular, Universidad Juárez del Estado de Durango, Durango, México; <sup>c</sup>Departamento de Fisiología y Biofísica, CINVESTAV-IPN, México DF, México

#### ABSTRACT

Little information is apparently available regarding the nephrotoxic effects induced by pesticides. The aim of this study was to examine the influence of low doses of methyl parathion (MP) on the structure and function of the kidney of male Wistar rats. A corn oil (vehicle) was administered to control rats, whereas treated rats received MP at 0.56 mg/kg orally (1/25 of  $LD_{50}$ ), every third day, for 8 weeks. At the end of each week following MP exposure, creatinine and glucose levels were measured in plasma, while glucose, inorganic phosphate, total proteins, albumin, and activity of  $\gamma$ glutamyltranspeptidase (GGT) were determined in urine. Kidney histological study was also performed. Compared with control rats, MP significantly increased plasma glucose and creatinine levels accompanied by decreased urinary flow rate and elevated urinary excretion rates of glucose, phosphate, and albumin. Further, the activity of GGT in urine was increased significantly. The proximal cells exhibited cytoplasmic vacuolization, positive periodic acid Schiff inclusions, and brush border edge loss after 2 or 4 weeks following MP treatment. Finally, renal cortex samples were obtained at 2, 4, 6, and 8 weeks of MP treatment, and the concentrations of reduced glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPx) activity were measured. The mRNA expression levels of BAX and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were also determined (RT-PCR). MP significantly decreased renal GSH levels, increased GPx activity, as well as downregulated the mRNA expression of TNF-α and BAX. Densitometry analysis showed a significant reduction in TNFa and BAX mRNA expression levels at 2 and 4 weeks following MP treatment. Low doses of MP produced structural and functional damage to the proximal tubules of male rat kidney.

#### Introduction

Monitoring programs demonstrated a widespread presence of pesticides in the environment, and the consequences on human and animal health including cancer and neurotoxicity are well known (Burns et al. 2013; Da Rosa et al. 2016; Héritier et al. 2014). In fact, the problem of pesticide residues in the environment is still a significant concern in terms of chronic toxicity (De Silva, Samarawickrema, and Wickremasinghhe 2006; Alavanja and Bonner 2012; Ismail et al. 2017). Besides the risks posed to farmers, gardeners, and fumigators by occupational pesticide exposure, the residues of these compounds in foods also represents a risk to general population (Boobis et al. 2008; Edwards and Tchounwou 2005). **ARTICLE HISTORY** 

Received 25 June 2017 Revised 17 September 2017 Accepted 17 October 2017

Organophosphate (OP) insecticides are among the most toxic of the synthetic chemicals intentionally introduced into the environment. Frequent, widespread use of OP insecticides in public health and agriculture results in environmental pollution and the occurrence of a number of acute and chronic poisoning events (Alavanja and Bonner 2012; La Verda et al., 2015; Mishra and Srivastana 2015). Acute damage produced by OP is due to irreversible inhibition of the acetylcholinesterase (AChE) enzyme leading to an accumulation of acetylcholine (ACh) and subsequent overactivation of cholinergic receptors (El-Naggar et al. 2009; Eyer 1995; Heutelbeck et al. 2016; Paudyal 2008). Further, exposure to these compounds produced a significant number of deaths each year (Huang et al. 2015; Rahimi and

**CONTACT** Fernando Jaramillo-Juárez i jara@att.net.mx Diversidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Fisiología y Farmacología. Avenida Universidad 940. Ciudad Universitaria. CP 20131. Aguascalientes, Ags., México.

© 2018 Taylor & Francis

In partial fulfillment of a doctorate's degree in toxicology for the author Fuentes-Delgado VH.

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/uteh.

Abdollahi 2007). Although OP insecticides are primarily neurotoxic chemicals, several studies revealed other harmful effects produced by these pesticides, such as impaired platelet function and blood coagulation disorders (Ziemen 1984), cancer (Alavanja and Bonner 2012) and obesity (La Verda et al. 2015).

Methyl parathion (MP) is an OP compound that has been widely used as an agricultural insecticide. MP is acutely toxic with oral  $LD_{50} = 14 \text{ mg/kg}$  in the rat; therefore, the World Health Organization (WHO) classified this pesticide in the Class 1 category (WHO 2009). The main route of human exposure is inhalation, but dermal contact and inadvertent ingestion may also produce serious effects (Edwards and Tchounwou 2005; Ojha et al. 2013). The liver is the primary organ for MP metabolism, and this pesticide is bioactivated to methyl paraoxon, a toxic metabolite, through a desulfuration reaction catalyzed by CYP450 isoforms CYP2B6 and CYP1A2 (Buratti, Leoni, and Testai 2006; Ellison et al. 2012). The elimination of MP and metabolic products primarily occurs via urine (Edwards and Tchounwou 2005; WHO 1993). In addition to an inhibitory effect of AChE, studies in animals exposed to MP demonstrated damage to rat immune system (Liu et al. 2007) and a marked rise in DNA damage and DNA protein cross-links in rat lymphocytes (Ojha and Gupta 2015).

The kidneys play an important role in regulation of body homeostasis and elimination of xenobiotics (as pesticides) and products of normal cellular metabolism. The kidneys are particularly susceptible to xenobiotics owing not only to high blood supply but also to an ability to concentrate toxins (Lehman-McKeeman 2008). Thus, acute and chronic kidney damage represents a serious risk to the general population. Currently, few data are apparently available regarding nephrotoxic effects of pesticides. Several investigators reported that pesticide exposure produced renal damage in humans (Calvert 2016; Feng-You et al. 2015; Lebov et al. 2016). Exposure to OP pesticides was shown to be associated with chronic renal failure (Mendoza et al. 2015; Payán-Renteria et al. 2012; Peiris-John et al. 2006). It is of interest that suicidal or accidental overdose of OP compounds resulted in acute tubular necrosis, suggesting involvement of alternative mechanisms of renal damage such as oxidative stress (Poovala, Huang, and Salahudeen 1999; Radhey, Anugya, and Nalimi 2007).

The early identification of renal damage produced by MP may contribute to identifying some of the biochemical and pathological changes leading to kidney injury attributed to exposure to this pesticide. The aim of this study was to examine whether exposure of male rats to low doses of MP induced kidney damage and the mechanisms underlying these manifestations.

#### Methods

#### Animals and reagents

Eighty male Wistar rats weighing approximately 250 g were maintained at room temperature for 12 h day/ night cycle, and fed *ad libitum* with rodent lab diet (Purina pellets). The care and use of lab animals complied with the principles and procedures laid down in the official Mexican rule: technical specifications for production, care and use of animal laboratory (NOM-062-ZOO-1999-2001). MP of a technical grade (95%) was acquired from Cheminova Agro S. A. (Mexico). A solution of MP was prepared in corn oil (vehicle) at a concentration of 1.4 mg/ml. Corn oil administered to rats was 0.1 ml.

#### Study protocol

Rats were divided into two experimental groups as follows: control group (N = 40) and MP-treated group (N = 40). Animals exposed to pesticide received MP in corn oil by gavage (0.56 mg/kg body weight, 1/25 of oral LD<sub>50</sub>), every three days for 8 weeks (Khodeary et al. 2009). Controls received only the vehicle (corn oil) under the same schedule. The schedule of exposure to MP was selected to identify early and late damage.

At the end of each week, urine and blood samples were obtained from MP-treated rats. For urine collection, rats were deprived of food and then placed in metabolic cages for a period of 24 h. Subsequently, MP-exposed rats were anesthetized with pentobarbital [30 mg/kg, intraperitoneally (ip)] and blood samples collected by caudal artery puncture using heparinized syringes. To obtain plasma, blood was centrifuged at 2500 g for 5 min (Eppendorf Centrifuge-5410). Urine and blood samples of control rats were obtained before initiating MP treatment (also with food deprivation for 24 h). Blood and urine samples were used for functional kidney and enzymuria tests.

At the end of the 2, 4, 6, and 8 weeks MP treatment, 10 animals from each group were anesthetized with pentobarbital (40 mg/kg, ip). Rats were intravascularly perfused with 0.9% saline solution containing heparin (5000 U/l) and procaine (0.2%). This solution was infused at 12 ml/min. After perfusion, kidneys were removed, renal cortex separated from the medulla and homogenized in a solution containing (mM): 240 sucrose, 1 EDTA, and 10 Tris-HCl, pH 7.5 (20% w/v homogenate). The renal cortex samples were used to measure reduced glutathione (GSH) content, glutathione peroxidase (GPx) activity, and mRNA expression levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and pro-apoptotic protein (BAX).

For in situ fixation, tissue was perfused with a formaldehyde solution (10% v/v, pH 7.4). To preserve the physical structure of the kidney, the perfusion solutions were administered inserting a catheter into the left ventricle to allow entry of fluid to kidneys through segments of the aorta and renal artery. Blood and perfused solutions exited from the vascular system through a cut on the right atrium. The solutions were perfused with a New England Medical Instruments INC, 475 pump. The kidneys were dissected and processed using histological inclusion technique in paraffin. Later, paraffin sections of 5 µm in thickness were prepared and subjected to periodic acid Schiff (PAS) reaction (Prophet et al. 1994). The stained tissue was examined under an optical microscope 40 Carl Zeiss. Image capture and editing were achieved using the Image-Pro Plus Media Cybermetic Software (Kodak 1D Image Analysis Software. Windows Version. Sigma-Aldrich). Finally, the animals were euthanized with an overdose of pentobarbital (70 mg/kg, intravenous).

#### Assays

#### Blood and urine

Plasma creatinine levels were measured by using the spectrophotometric method (Wiener Lab, 2000). Urine and plasma glucose levels were determined via the glucose-oxidase method (Wiener Lab, 2000). It is important to note that for measuring glucose levels in plasma food was withheld from the animals for 24 h prior to obtaining the blood sample. The concentration of inorganic phosphates in urine was determined according to the Sumner method (1944). Total protein content of urine was measured

according to Lowry et al (1951). To determine microalbumin levels in urine, Bayer strips were dipped in the urine samples and then inserted into a Clinitek 50 urine chemistry analyzer (Clinitek 50 STATUS, Bayer, USA). Urinary activity of the enzyme  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT) was measured according to the method described by Goldbarg et al. (1960).

#### **Renal cortex**

Reduced GSH content was measured according to Hissin and Hilf (1976), and GPx activity using Sigma-Aldrich Kit 2012. Total RNA was extracted from homogenates of rat renal cortex using the Trizol Reagent Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). This was carried out in accordance with the manufacturer's recommendations for generating polymerase chain reaction (RT-PCR) quality RNA. The mRNA expression of the steady-state levels of BAX and TNF- $\alpha$  was evaluated by using the semiquantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction process (SuperScript One-Step RT-PCR Kit, Invitrogen, USA); 1 µg of total RNA was used for complementary synthesizing and amplification of the DNA (cDNA). Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as a constitutive gene for signal normalization. The amplification products were resolved by gel electrophoresis in 2% agarose and stained with ethidium bromide (Salazar-Montes, Delgado-Rizo, and Armendaríz-Borunda 2000) and intensity of bands analyzed with the Kodak 1D Image Analysis Software. Finally, densitometry analysis of the images was determined using ImageJ Software.

#### Statistical analyses

Data are expressed as mean ( $\pm$  SE) and were analyzed by the one-way analysis of variance followed by Tukey–Kramer tests, using the GraphPad PRISMA<sup>\*</sup> v.4 (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA). Significant differences were considered when *P* < .05.

#### Results

# Urinary flow rate and serum creatinine concentration

Compared to control, rats exposed to MP exhibited a significant reduced urine flow rate, from the second to



**Figure 1.** The effects of subchronic exposure to MP on the urine flow rate (A), the excretion of glucose in the urine (B), and the urinary excretion rate of inorganic phosphate (C). Bars represent the mean value  $\pm$  SE. \* Significant differences between control group and MP-treated groups for the respective treatment week (\*P < .05).

the eighth week, and oliguria increased in a timedependent manner (Figure 1A). Further, a significant rise in plasma creatinine concentration was noted after the first (53%) and second weeks (56%) of MP treatment. Plasma creatinine levels during 3–8 weeks of insecticide treatment were found to be higher than control values (Table 1).

#### Urinary excretion of albumin and total proteins

MP significantly elevated urinary excretion of albumin after the seventh week (31%) of pesticide exposure (Figure 2C). Total protein excretion rate in urine was not markedly altered (Table 1).

# Serum glucose concentration and urinary excretion rates of glucose and phosphate

Compared to the control group, MP-treated rats showed (1) a progressive increase in plasma glucose concentrations, reaching significance from the fourth to the eighth weeks; (2) a significant rise in urinary glucose excretion rate was noted from the second to eighth weeks in a time-dependent manner (Figures 1B and 3), and a significant elevation in urinary excretion

Table 1. General Data from Rats Exposed to Methyl Parathion (0.56 mg/kg Body Weight, Every Three Days, for a Period of 8 Weeks) in Relation to Renal Damage.

					MP-expos (weeks of tr	ed rats eatment)			
Variable ( $N = 9$ )	0	1	2	3	4	5	6	7	8
General information of renal tests									
Creatinine in plasma (mg/l)	7.91	12.10*	12.37*	8.55	9.03	9.09	11.00	10.87	9.13
	(±0.54)	(±0.93)	(±0.97)	(±1.02)	(±0.86)	(±1.12)	(±0.76)	(±0.49)	(±0.80)
Glucose in plasma (g/l)	0.417	0.486	0.488	0.528	0.559*	0.622*	0.563*	0.566*	0.603*
	(±0.01)	(±0.04)	(±0.02)	(±0.04)	(±0.03)	(±0.04)	(±0.02)	(±0.02)	(±0.03)
Total proteins in urine (U.V.) (µg/min)	20.84	16.89	16.39	16.08	20.91	20.07	14.71	17.42	18.96
	(±0.29)	(±1.35)	(±1.78)	(±1.08)	(±1.48)	(±1.02)	(±0.52)	(±2.23)	(±2.51)
GSH in renal cortex (µg/g tissue)	517.90	-	291.58*	-	476.06	-	494.58	-	455.77
	(±53.32)		(±16.91)		(±33.06)		(±12.03)		(±24.14)

The rats received 0.10 ml of corn oil (vehicle) per dose. To measure the glucose level in plasma, animals were deprived of food for the 24 h period prior to obtain blood samples. The control values corresponding to week 0. Mean  $\pm$  SEM are shown (\*P < .05).



**Figure 2.** The effects of subchronic exposure to MP on GPx activity in renal cortex (A), urinary activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (B), and urinary excretion rate of albumin (C). Bars represent the mean value  $\pm$  SE. \* Significant differences between control group and MP-treated groups for the respective treatment week (\*P < .05).

of inorganic phosphate occurred at the seventh week of MP treatment (Figure 1C). The increased urinary excretion rate of glucose indicates damage produced by MP on the proximal epithelium of the nephron and that glycosuria was not be induced by hyperglycemia.

#### Renal GSH concentration and GPx activity: urinary activity of GGT

MP administration significantly decreased renal GSH concentrations at the second week (Table 1). A progressive increase in renal GPx activity that was significant (P < .05) was found the sixth (94%) and eighth (92%) weeks (Figure 2A); MP significantly elevated urinary activity of  $\gamma$ -GGT at weeks 1 (409%), 2 (511%), 3 (567%), and 7 (211%) (Figure 2B).

#### Renal mRNA levels and expression levels of TNFα and BAX

The steady-state mRNA expression levels of the constitutive gene GAPDH in the control group

and MP-treated group are shown in Figure 3A. As expected for a constitutive gene, there were no appreciable changes in the signal intensity of the amplicons. Results demonstrated that mRNA steady-state expression levels of TNF-a amplicon signal were downregulated during the first four weeks of MP exposure with a tendency to recover during later weeks (Figure 3B); however, recovery level did not reach values of the control. Similarly, the BAX mRNA expression levels were also downregulated during the first two weeks of MP administration with partial recovery during the following weeks; but not to control (Figure 3C). This was confirmed by densitometry. In fact, the mRNA expression levels of TNF-a showed a significant decrease in renal cortex at 2 and 4 weeks, and later, at 6 and 8 weeks of pesticide exposure although no recovery to control values (Figure 4). A similar effect was observed with the mRNA expression levels of BAX, which also displayed a significant fall at 2 and 4 weeks following MP treatment and later, the values increased although no recovery to control values (Figure 4).



Figure 3. The effects of subchronic exposure to MP on GAPDH (A), TNF-α (B), and BAX (C) mRNA steady-state level in renal cortex of male Wistar rats, control and MP-treated groups. MSM, molecular rulers.



**Figure 4.** The effects of subchronic exposure to MP on the mRNA levels of GADPH, TNF- $\alpha$ , and BAX in renal cortex of male Wistar rats. TNF- $\alpha$  and BAX significantly decreased at 2 and 4 weeks of pesticide exposure. The data are shown as the means  $\pm$  SD, (\*P < .05).

#### Histological alterations

The renal cortex of control rat kidney showed a normal cytoarchitecture. The cells of proximal tubular epithelium presented a positive PAS reaction on the basement membrane and on the microvilli of brush border membrane (Figure 5A). Also, 2 and 4 weeks after MP treatment, cells of proximal epithelium exhibited cytoplasmic vacuolization compatible with cellular edema (generalized cellular swelling), positive PAS inclusions, and brush edge loss in some segments (Figure 5B, C). At the sixth week of pesticide exposure, proximal cells displayed a decrease in cell edema and positive PAS inclusions (Figure 5D). Finally, 8 weeks after MP administration, both the re-establishment of tubular epithelium and cytoarchitecture of renal cortex were observed, showing similar characteristics with rats of the control group (Figure 5E).

#### Discussion

Oxidative stress has been proposed as a predominant toxicity mechanism for OP pesticides, both in acute and chronic poisonings (Al-Amoudi 2013; Ghafour-Rashidi et al. 2007). The oxidative



**Figure 5.** Rat renal cortex. (A) Control section of normal renal tubules. Two and four weeks after MP treatment, the proximal cells showed cellular edema, positive PAS inclusions, and brush edge loss (B, C). The cell edema decreased at the sixth week of pesticide exposure (D). Normal cytoarchitecture of the renal cortex was observed at the eighth week of MP treatment. \* PAS positive granulations and cellular swelling.  $\rightarrow$  Brush border (microvilli),  $\blacktriangleright$  Proximal tubule. Periodic acid-Schiff reaction (PAS) stain. ×400.

damage occurs through reactive oxygen species (ROS) generation, including hydroxyl radicals and hydrogen peroxide, which react with cell molecules producing damage in membranes and other structures (Halliwell and Gutteridge 2012). Previously Fuentes Delgado et al. (2011) reported damage produced by MP (3 mg/kg/d, orally, for 20 d) in the rat liver. The findings included necrosis of hepatocytes, increased malondialdehyde (MDA) levels, and reduced ATP concentration in liver.

There are reports of acute renal failure (ARF) following high-dose OP insecticide exposure (Betrosian et al. 1995; Poovala, Huang, and Salahudeen 1999). In our study, the renal adverse effects detected in MP-treated rats (glucose and phosphate excretion rate, as well as enzymuria and oliguria) may possibly be related to an early acute kidney injury (AKI). This pathological syndrome of intrinsic renal injury occurs with prolonged ischemic or toxic insults mediated by nephrotoxins (Ginsberg 2012; Racusen and Kashgarian 2007). Thus, damage to renal proximal cells produced by MP may account for increased urinary glucose excretion and phosphate. This correlates with enzymuria (y-GGT activity in urine) and histopathological findings of the kidney (edema and loss of brush border membrane in proximal cells).

Although plasma glucose levels were low because of food deprivation for 24 h, there was still an elevation in urinary excretion rate of glucose. More than 99% of plasma glucose filtered in the glomerulus is reabsorbed through the cell brush border membrane of the proximal renal tubule by specific transporter proteins mainly SGLT2, which is an essential component of this process (Bakris et al. 2009; Schmidt, Höcherl, and Bucker 2007). Thus, in normal conditions, no glucose appears in the excreted urine. The presence of glycosuria is indicative of structural or functional damage to the proximal tubular cells and glucose reabsorption capacity (Schmidt, Höcherl, and Bucker 2007). Another possibility is that MP might produce a selective alteration of glucose carriers (SGLT1 and SGLT2) since these molecules possess <sup>-</sup>OH groups in their glucose binding sites, which might be phosphorylated and inhibited by this pesticide (Gould and Holman 1993; Mueckler 1994; Pascual 2004). It is noteworthy that glycosuria was reported in subjects intoxicated with OP or carbamate compounds and oxidative stress was suggested as a mechanism underlying this adverse effect (Panda et al. 2015; Shobha and Prakash 2000).

In MP-exposed rats, urinary excretion rate of inorganic phosphate (Pi) rose significantly at the seventh week of pesticide exposure. Filtered Pi is predominantly reabsorbed into the renal proximal tubule. Na-Pi cotransport represents the main mechanism for Pi uptake at the apical membrane (Murer and Biber 1996; Murer et al. 1991; Prasad and Bhadauria 2013). Decreased tubular reabsorption of Pi leads to enhanced urinary excretion of phosphate, which is an index of renal damage.

Khodeary et al. (2009) reported hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats exposed to MP. This pesticide produced oxidative stress characterized by a significant reduction in superoxide dismutase activity and GSH levels accompanied by a significant increase in MDA levels. Poovala, Huang, and Salahudeen (1999) showed that, *in vitro*, dicrotophos (an OP insecticide) may directly induce tubular cytotoxicity (lipoperoxidation and death) in renal tubular epithelial cells (LLC-PK1). Compared to control, cell death,  $H_2O_2$  levels, and MDA formation rose markedly after exposure to dicrotophos, demonstrating that oxidative stress may play a role in the pathogenesis of acute tubular necrosis.

The increase in plasma creatinine concentration noted in MP-treated rats may be attributed to an incipient reduction in glomerular filtration rate (GFR). Many potential toxins (including MP) and compounds produced by cellular metabolism are mainly excreted by glomerular filtration (Schwartz and Work 2009; Stevens et al. 2006). Thus, progressive renal damage may be associated with gradual retention of a number of substances leading to an elevation of levels of blood urea nitrogen and plasma creatinine (Eric 1995; Rose and Rennke 1994). In support of our findings, other investigators reported a rise in serum creatinine levels in agricultural workers chronically exposed to high levels of pesticides (Mendoza et al. 2015; Tocci et al. 1969). The nephrotoxic effects of OP insecticides (including MP) are postulated to be due to alterations in higher ROS generation leading to oxidative stress and toxicity (Al-Amoudi 2013; Khodeary et al. 2009).

A reduced urinary flow rate (oliguria) was found in MP-treated rats. Oliguria may be due to a fall in renal blood flow that may produce a reduction in GFR, thus delaying urine production (Jaramillo-Juárez, Mello-Aires, and Malnic 1990). Increased levels of creatinine in plasma produced by MP may be a factor related to GFR reduction and oliguria. During ARF, the urine output is often less than intake, leading to progressive urine retention (López-Novoa et al. 2011; Rose and Rennke 1994). The residual level of GFR may be the primary determinant of variations in urine flow rate during ARF (Rahman and Conger 1994). Several OP insecticides such as diazinon and chlorpyrifos were found to produce renal damage and dysfunction in animals (Shah and Iqbal 2010; Tripathi and Srivastav 2010).

Our study showed a marked elevation in urinary excretion of albumin after the seventh week of MP treatment. Albumin is poorly filtered through the glomerulus and reabsorbed mainly in the proximal tubule (Tojo and Endou 1992; Tojo and Kinugasa 2012). The dysfunction of these processes may result in an enhanced excretion of albumin, and both glomerular injury and tubular impairment may occur during the initial events leading to proteinuria (Gorriz and Martinez-Castelao 2012). Several investigators reported that an imbalance between ROS and antioxidants exerts an adverse effect on the glomeruli mesangial cells, suggesting that oxidative stress may be a possible mechanism underlying acute and chronic toxicity produced by OP insecticides exposure in humans (Mostafalou and Abdollahi 2013; Ranjbar, Pasalar, and Abdollahi 2002; Soltaninejad and Abdollahi 2009).

A decrease in GSH concentration and increase in GPx activity in renal cortex was noted in MPtreated rats, which may be due to oxidative stress produced by the insecticide. Piña-Guzman et al. (2006) reported an increased lipid peroxidation in acute toxicity produced by MP. In addition, several studies demonstrated that oxidative stress plays an important role in OP-induced toxicity in cases of both acute and chronic poisoning (Edwards, Yedjou, and Tchounwou 2013; Soltaninejad and Abdollahi 2009). In support of our findings, Khodeary et al. (2009) noted the presence of renal and hepatic adverse effects in rats exposed to MP

in a time-dependent manner. A significant decrease in renal GSH content and elevation in MDA levels was found. Further, elevated activity of GPx, an enzyme that catalyzes the reduction of hydroperoxides using GSH, may represent a process developed to protect renal cells against oxidative damage produced by xenobiotics such as MP (Radjendirane et al. 1997; Rushmore and Pickett 1993).

The urinary increase in  $\gamma$ -GGT activity may be attributed to structural damage on renal proximal cells. GGT is an enzyme located in the brush border membrane of proximal cells of the nephron, which catalyzes the transfer of a y-glutamyl moiety of GSH to amino acids, dipeptides, and even into GSH itself (McCullough et al. 2013; Tate and Meister 1981; Waring and Moonie 2011). Our histological findings showed a brush border edge loss of proximal cells in MP-exposed rats. Further, histologically edema and positive PAS inclusions were present. Subsequently, a progressive recovery of tubular epithelium with decreased cell edema was observed (at sixth week of MP treatment), and finally, proximal cells recovered the brush border membrane and a normal cytoarchitecture of the renal cortex was detected (8 weeks after MP treatment). These results indicate a recovery process of acute kidney damage (Basile, Anderson, and Sutton 2012; Lattanzio and Kopyt 2009; Solez, Morel-Maroger, and Sraer 1979). In agreement with these findings, Kalender et al. (2007) reported that rats exposed to low doses of MP (0.28 mg/kg per day, orally) showed glomerular atrophy and vascular dilation after 4 weeks of pesticide exposure. Necrosis and edema were observed at 7 weeks of MP treatment and MDA levels increased in kidney tissues. Using a similar model, Khodeary et al. (2009) reported structural damage to the kidney in rats exposed to MP. After 4 weeks of MP exposure, vascular dilation, glomerular atrophy, cloudy swelling in cortical tubules, and few foci hydropic degeneration were observed. At 8 weeks after MP administration, edema, necrosis, interstitial tissue infiltration by inflammatory cells, and glomerular atrophy were detected. Oxidative stress was identified as a mechanism underlying the toxic effect on the kidney. Poovala, Huang, and Salahudeen (1999) reported that OP induced lipid peroxidation, and consequent acute tubular necrosis was associated with ROS generation and lipid peroxidation process.

TNF-a is a proinflammatory cytokine whose liberation is involved in endothelial cell activation, nitric oxide secretion, increased vascular permeability, and activation of the immune system (Aguillón et al. 2002; Arango Duque and Descoteaux 2014). Further, TNFa induces cytotoxicity of the glomerular, mesangial, and epithelial cells and produces renal damage (McCarthy, Sharma, and Sharma 1998). Inhibition of TNF-a production might reduce or generate modifications in all these processes. BAX is a proapoptotic molecule, triggering caspase activation and mitochondrial cytochrome C, termed mitochondrial outer membrane permeabilization (Westphal et al. 2011). Decreased or inhibited expression levels of BAX indicate diminished gene transcription might be linked to a lower apoptotic role in tissue damage process. Therefore, proximal cell death might be related to a necrotic process. The results of densitometry analyzes are compatible with a recovery process from AKI.

Finally, Jablońska-Trypé (2017) postulated that exposure to pesticides results in increased oxidative stress, leading to altered disease susceptibility. The mechanisms by which pesticides influence cell metabolism are still not precisely defined.

#### Conclusions

Low doses of MP produced structural and functional damage in proximal tubule of rat kidney indicative of acute renal injury. The characterization of renal damage included glycosuria, phosphaturia, albuminuria, and enzymuria (GGT activity), as well as increase in plasma creatinine levels and oliguria. Decreased GSH concentrations and elevated GPx activity were also found in renal tissue. The mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  and BAX were downregulated. Histologically there were edema, positive PAS inclusions, and brush border edge loss of renal proximal cells. These adverse effects might be related to oxidative stress.

#### Funding

Fuentes-Delgado VH was awarded a doctoral fellowship (204733) from the Mexican National Council of Science and Technology (CONACYT). Jaramillo-Juárez F received research funding from the Universidad Autónoma de Aguascalientes and PROMEP (UAA CA-25).

#### References

- Aguillón, J., A. Cruzat, J. Cuenca, and M. Cuchacovich. 2002. El polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral alfa como factor de riesgo en patología. *Reviews Medica Chile* 130:1043–1050. doi:10.4067/S0034-98872002000900013.
- Al-Amoudi, W. M. 2013. Curcumin ameliorates nephrotoxicity and histopathological alterations induced by chlorpyrifos in albino rats. *Journal of Pharmacology Research* 3:64–69.
- Alavanja, M. C. R., and M. R. Bonner. 2012. Occupational pesticide exposure and cancer risk: A review. *Journal of Toxicogical Environmental Health B* 15:238–263. doi:10.1080/10937404.2012.632358.
- Arango Duque, G., and A. Descoteaux. 2014. Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers Immunology* 5:1–12. doi:10.3389/fimmu.2014.00491.
- Bakris, G. L., V. A. Fonseca, K. Sharma, and E. M. Wright. 2009. Renal sodium-glucose transport: Role in diabetes mellitus and potential clinical implications. *Kidney International* 75:1272–1277. doi:10.1038/ki.2009.87.
- Basile, D. P., M. D. Anderson, and T. A. Sutton. 2012. Pathophysiology of acute kidney injury. *Comprehensive Physiology* 2:1303–1353.
- Betrosian, A., M. Balla, G. Kafiri, G. Kofinas, R. Makri, and A. Kakouri. 1995. Multiple systems organ failure from organophosphate poisoning. *Journal of Toxicology*. *Clinical Toxicology* 33:257–260. doi:10.3109/ 15563659509017994.
- Boobis, A. R., B. C. Ossendorp, U. Banasiak, P. Y. Hamey, I. Sebestyen, and A. Moretto. 2008. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicology Letters* 180:137–150. doi:10.1016/j.toxlet.2008.06.004.
- Buratti, F. M., C. Leoni, and E. Testai. 2006. Foetal and adult human CYP3A isoforms in the bioactivation of organophosphorothionate insecticides. *Toxicology Letters* 167:245–255. doi:10.1016/j.toxlet.2006.10.006.
- Burns, C. J., L. J. McIntosh, P. J. Mink, A. M. Jurek, and A. A. Li. 2013. Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: Review of epidemiological and animal studies. *Journal of Toxicogical Environmental Health B* 16:127– 283. doi:10.1080/10937404.2013.783383.
- Calvert, G. M. 2016. Agricultural pesticide exposure and chronic kidney disease: New findings and more questions. *Occupational Environment Medica* 73:1–2. doi:10.1136/ oemed-2015-103132.
- Da Rosa, J. G. S., G. Koakoski, A. L. Piato, M. R. Bogo, C. D. Bonan, and L. J. G. Barcellos. 2016. Inmpaired brain StAR and HSP70 gene expression in zebrafish exposed to methyl parathion based insecticide. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 79:1–7. doi:10.1080/15287394.2015.1099483.
- De Silva, H. J., N. A. Samarawickrema, and A. R. Wickremasinghhe. 2006. Toxicity due to organophosphorus compounds: What about chronic exposure?. *Transactions Royal Social Tropical Medica Hygiene* 100:803–806. doi:10.1016/j.trstmh.2006.05.001.

- Edwards, F. L., and P. B. Tchounwou. 2005. Environmental toxicology and health effects associated with methyl parathion exposure. *International Journal of Environmental Research & Public Health* 2:430-441. doi:10.3390/ ijerph2005030007.
- Edwards, F. L., C. G. Yedjou, and P. B. Tchounwou. 2013. Involvement of oxidative stress in methyl parathion and parathion-induced toxicity and genotoxicity to human liver carcinoma (HepG<sub>2</sub>) cells. *Environmental Toxicology* 28:342–348. doi:10.1002/tox.v28.6.
- Ellison, C. A., Y. Tian, J. B. Knaak, P. J. Kostiniak, and J. R. Olson. 2012. Human hepatic cytochrome P450 metabolism of the organophosphorus pesticides methyl parathion and diazinon. *Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals* 40:1–5. doi:10.1124/dmd.111.042572.
- El-Naggar, A. R., M. S. Abdalla, A. S. El-Sebaey, and S. M. Badawy. 2009. Clinical findings and cholinesterase levels in children of organophosphate and carbamate poisoning. *European Journal of Pediat* 168:951–956. doi:10.1007/s00431-008-0866-z.
- Eric, E. S. 1995. New aspects of acute renal failure. *The American Journal of the Medical Sciences* 310:217–221. doi:10.1097/00000441-199511000-00008.
- Eyer, P. 1995. Neuropsychopathological changes by organophosphorus compounds-A review. *Human Experimental Toxicology* 14:857–864. doi:10.1177/096032719501401101.
- Feng-You, L., C. Wei-Kung, L. Cheng-Li, L. Ching-Yuan, W. Yung-Shun, L. I-Ching, and K. Chia-Hung. 2015. Organophosphate poisoning and subsequent acute kidney injury risk. *Medicine* 94:e2107. doi:10.1097/ MD.000000000002107.
- Fuentes Delgado, V. H., C. L. Quezada Aguilera, M. C. Martínez Saldaña, F. Jaramillo Juárez, M. L. Rodríguez Vázquez, G. F. Jaramillo, and J. L. Reyes Sánchez. 2011. Hepatotoxicidad subaguda y crónica producida por el plaguicida paratión-metílico en la rata. *Reviews Mex Cienc Farm* 42:50–56.
- Ghafour-Rashidi, Z., E. Dermenaki-Farahani, A. Aliahmadi, H. Esmaily, A. Mohammadirad, S. N. Ostad, and M. Abdollahi. 2007. Protection by cAMP and cGMP phosphodiesterase inhibitors on diazinon-induced hyperglycemia and oxidative/nitrosative stress in rat langerhans islets cells: Molecular evidence for involvement of non-cholinergic mechanisms. *Pest Biochemical Physiology* 87:261–270. doi:10.1016/j.pestbp.2006.08.007.
- Ginsberg, G. L. 2012. Cadmium risk assessment in relation to background risk of chronic kidney disease. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 75:374–390. doi:10.1080/15287394.2012.670895.
- Goldbarg, J. A., O. M. Friedman, E. P. Pineda, E. E. Smith, R. Chaterji, and A. M. Rutenberg. 1960. The colorimetric determination of gamma-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 91:61–70. doi:10.1016/0003-9861(60)90455-0.
- Gorriz, J. L., and A. Martinez-Castelao. 2012. Proteinuria: Detection and role in native renal disease progression.

*Transplantation Reveiws* 26:3–13. doi:10.1016/j. trre.2011.10.002.

- Gould, G. W., and G. D. Holman. 1993. The glucose transporter family: Structure, function and tissue-specific expression. *The Biochemical Journal* 15:329–341. doi:10.1042/bj2950329.
- Halliwell, B., and J. M. C. Gutteridge. 2012. Free radicals in biology and medicine, 3rd ed., 105–245. Oxford, UK: Oxford University Press Inc.
- Héritier, F. L., M. Marques, M. Fauteux, and L. Gaudreau. 2014. Defining molecular sensors to assess long-term effects of pesticides on carcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* 15:17148–17161. doi:10.3390/ijms150917148.
- Heutelbeck, A. R. R., C. Borenemann, M. Lange, A. Seeckts, and M. M. Muller. 2016. Acetylcholinesterase and neuropathy target esterase activities in 11 cases of symptomatic flight crew members after fume events. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 79:1050– 1056. doi:10.1080/15287394.2016.1219561.
- Hissin, P. J., and R. Hilf. 1976. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry* 74:214–226. doi:10.1016/0003-2697 (76)90326-2.
- Huang, H. S., C. C. Hsu, S. F. Weng, H. J. Lin, J. J. Wang, S. B. Su, C. C. Huang, and H. R. Guo. 2015. Acute anticholinesterase pesticide poisoning caused a long-term mortality increase: A nationwide population-based cohort study. *Medicine* 94:e1222. doi:10.1097/MD.00000000001222.
- Ismail, A. A., K. Wang, J. R. Olson, M. W. Bonner, O. Hendy, G. A. Rasoul, and D. S. Rohlman. 2017. The impact of repeated organophosphorous pesticide exposure on biomarkers and neurobehavioral outcomes among adolescent pesticide applicators. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 80:542–555. doi:10.1080/ 15287394.2017.1362612.
- Jablońska-Trypé, A. 2017. Pesticides as inductors of oxidative stress. *Ros* 3:96–110.
- Jaramillo-Juárez, F., M. Mello-Aires, and G. Malnic. 1990. Urinary and proximal tubule acidification during reduction or renal blood flow in the rat. *Journal of Physiology* 421:475–483. doi:10.1113/jphysiol.1990.sp017956.
- Kalender, S., Y. Kalender, D. Durak, A. Ogutcu, M. Uzunhisarcikli, B. S. Cevrimli, and M. Yildirim. 2007. Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pest Biochemical Physiology* 88:213–218. doi:10.1016/j.pestbp.2006.11.007.
- Khodeary, M. F., A. A. I. Sharaf El-Din, S. M. S. El Kholy, A. A. Fouda, and E. M. Mehlab. 2009. Potential ameriorative role of silymarin against methyl parathion-induced oxidative stress and hepato-renal toxicity in albino rats. *Mansoura Journal of Forensic Medica Clinical Toxicogy* 17:15–40.
- La Verda, N. L., D. F. Goldsmith, M. C. R. Alavanja, and K. L. Hunting. 2015. Pesticide exposure and body mass index (BMI) of pesticide applicators from the agricultural health study. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 78:1255–1276. doi:10.1080/15287394.2015.1074844.

- Lattanzio, M. R., and N. P. Kopyt. 2009. Acute kidney injury: New concepts in definition, diagnosis, pathophysiology, and treatment. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* 109:13–19.
- Lebov, J. F., L. S. Engel, D. Richardson, S. L. Hogan, J. A. Hoppin, and D. P. Sandler. 2016. Pesticide use and risk of end-stage renal disease among licensed pesticide applicators in the agricultural health study. *Occupational Environment Medica* 73:3–12. doi:10.1136/oemed-2014-102615.
- Lehman-McKeeman, L. D. 2008. Absorption, distribution and excretion of toxicants. In *Casarett and Doull's, toxicology-the basic science of poisons*, ed. K. Cd, 131–160. 7th Edn ed. Kansas, USA: McGraw-Hill.
- Liu, P., X. Song, W. Yuan, W. Wen, X. Wu, and J. Li. 2007. Effects of cypermethrin and methyl parathion mixtures on hormone levels and immune functions in Wistar rats. *Archives of Toxicology* 80:449–457. doi:10.1007/s00204-006-0071-7.
- López-Novoa, J. M., A. B. Rodríguez-Peña, A. Ortiz, C. Martínez-Salgado, and F. J. López-Hernández. 2011. Ethiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular nephropathies: Clinical implications. *The Journal* of *Tropical Medicine* 9:13–39.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Far, and A. L. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 193:265–275.
- McCarthy, E. T., R. Sharma, and M. Sharma. 1998. TNFalpha increases albumin permeability of isolated rat glomeruli through the generation of superoxide. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 9:433–438.
- McCullough, P. A., A. D. Shaw, M. Haase, J. Bouchard, S. S. Waikar, E. D. Siew, P. T. Murray, R. L. Mehta, and C. Ronco. 2013. Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: Workgroup statements from the tenth acute dialysis quality initiative consensus conference. *Contributions Nephrology* 182:13–29.
- Mendoza, E. C., C. González-Ramírez, M. C. Martínez-Saldaña, F. J. Avelar-González, A. G. Valdivia-Flores, M. L. Aldana Madrid, G. Rodríguez-Olibarría, and F. Jaramillo-Juárez. 2015. Study of exposure to malathion and cypermethrin and its relationship with the risk of renal damage in the municipality population of Calvillo, Aguascalientes, Mexico. *Reviews Mex Cienc Farm* 46:62–72.
- Mishra, V., and N. Srivastana. 2015. Organophosphate pesticides-induced changes in the redox status of rat tissues and protective effects of antioxidant vitamins. *Environmental Toxicology* 30:472–482. doi:10.1002/tox.21924.
- Mostafalou, S., and M. Abdollahi. 2013. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology* 268:157– 177. doi:10.1016/j.taap.2013.01.025.
- Mueckler, M. 1994. Facilitative glucose transporters. *European Journal of Biochemistry / FEBS* 219:713–725. doi:10.1111/ejb.1994.219.issue-3.
- Murer, H., and J. Biber. 1996. Control of proximal tubular apical Na/Pi cotransport. *Experimental Nephrology* 4:201–204.

- Murer, H., A. Werner, S. Reshkin, F. Wuarin, and J. Biber. 1991. Cellular mechanisms in proximal tubular reabsorption of inorganic phosphate. *The American Journal of Physiology* 260:C855–C899.
- NOM-062-ZOO-1999. 2001. Mexican official rule. technical specifications for production, care and use of animal laboratory. México, DF: National Service of Sanitation, Innocuousness and Quality of Agriculcultural Foods.
- Ojha, A., and Y. K. Gupta. 2015. Evaluation of genotoxic potential of commonly used organophosphate pesticides in peripheral blood lymphocytes of rats. *Human Experimental Toxicology* 34:390–400. doi:10.1177/0960327114537534.
- Ojha, A., S. K. Yaduvanshi, S. C. Pant, V. Lomash, and N. Srivastana. 2013. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environmental Toxicology* 28:543–552. doi:10.1002/tox.20748.
- Panda, S., R. Nanda, M. Mangaraj, P. K. Rathod, and P. K. Mishra. 2015. Glycemic status in organophosphorus poisoning. *Journal Nepal Health Researcher Council* 13:214–219.
- Pascual, J. M. 2004. GLUT1 deficiency and other glucose transporter diseases. *European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 150:627–633. doi:10.1530/eje.0.1500627.
- Paudyal, B. P. 2008. Organophosphorus poisoning. *Journal Nepal Medica Association* 47:251–258.
- Payán-Renteria, R., G. Garibay-Chávez, R. Rangel-Ascencio, V. Preciado-Martínez, L. Muñoz-Islas, C. Beltrán-Miranda, S. Mena-Munguia, L. Jave-Suárez, A. Feria-Velasco, and R. De Celis. 2012. Effect of chronic pesticide exposure in farm workers of a Mexico community. *Archives Environmental and Occupational Health* 67:22–30. doi:10.1080/ 19338244.2011.564230.
- Peiris-John, R. J., J. K. Wanigasuriya, A. R. Wickremasinghe, W. P. Dissanayake, and A. Hittarage. 2006. Exposure to acetylcholinesterase-inhibiting pesticides and chronic renal failure. *Ceylon Medica Journal* 51:42–43.
- Piña-Guzman, B., M. J. Solís-Heredia, A. E. Rojas-García, M. Urióstegui-Acosta, and B. Quintanilla-Vega. 2006. Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is related to oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology* 216:216–224. doi:10.1016/j.taap.2006.05.001.
- Poovala, V. S., H. Huang, and A. K. Salahudeen. 1999. Role of reactive oxygen metabolites in organophosphate-bidrininduced renal tubular cytotoxicity. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 10:1746–1752.
- Prasad, N., and D. Bhadauria. 2013. Renal phosphate handling: Physiology. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 17:620–627. doi:10.4103/2230-8210.113752.
- Prophet, E.B., B. Mills, J. B. Arrington, and L. H. Sobin. 1994. Laboratory methods in histotechnology. In *Armed Forces Institute of Pathology*, ed. E. B. Prophet, 159–197. Washington DC-USA.
- Racusen, L., and M. Kashgarian. 2007. Ischemic and toxic acute tubular injury and other ischemic renal injury. In *Pathology of the Kidney*, eds. J. C. Jennette, J. L. Olson, M.

M. Schwartz, and F. G. Silva, 1139–1198. 6th ed. Philadelphia-USA: Lippincott Williams & Wilkins.

- Radhey, S. V., M. Anugya, and S. Nalimi. 2007. In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pest Biochemical Physiology* 88:191–196. doi:10.1016/j.pestbp.2006.11.002.
- Radjendirane, V., P. Joseph, A. K. Jaiswal, E. Cadenas, and H.J. Forman. 1997. Oxidative stress and signal transduction, 1st ed., 441–469. NY, USA: Chapman and Hall.
- Rahimi, R., and M. Abdollahi. 2007. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pest Biochemical Physiology* 88:115– 121. doi:10.1016/j.pestbp.2006.10.003.
- Rahman, S. N., and J. D. Conger. 1994. Glomerular and tubular factors in urine flow rates of acute renal failure patients. American Journal of Kidney Diseases : the Official Journal of the National Kidney Foundation 23:788–793. doi:10.1016/S0272-6386(12)80130-2.
- Ranjbar, A., P. Pasalar, and M. Abdollahi. 2002. Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Human Experimental Toxicology* 21:179–182. doi:10.1191/ 0960327102ht2380a.
- Rose, B. D., and H. G. Rennke.. 1994. Chap. 8: Renal Pathophysiology and Chap. 10: Acute Renal Failure. In *Urinalysis and Approach to the Patient with Renal Disease*, edn. P. Coryell, 1st ed., 191–210 and 235–253. Williams & Wilkins.
- Rushmore, T. H., and C. B. Pickett. 1993. Glutathione S-transferases, structure, regulation and therapeutic implications. *The Journal of Biological Chemistry* 268:11475–11478.
- Salazar-Montes, A., V. Delgado-Rizo, and J. Armendaríz-Borunda. 2000. Differential gene expression of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in acute and chronic liver injury. *Hepatology Research : the Official Journal of the Japan Society of Hepatology* 16:181–194. doi:10.1016/S1386-6346(99)00048-0.
- Schmidt, C., K. Höcherl, and M. Bucker. 2007. Regulation of renal glucose transporters during severe inflammation. *Renal Physiology* 292:F804–F811. doi:10.1152/ ajprenal.00258.2006.
- Schwartz, G. J., and D. F. Work. 2009. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clinical Journal of American Social Nephrology* 4:1832–1843. doi:10.2215/CJN.01640309.
- Shah, M. D., and M. Iqbal. 2010. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association 48:3345– 3353. doi:10.1016/j.fct.2010.09.003.
- Shobha, T. R., and O. Prakash. 2000. Glycosuria in organophosphate and carbamate poisoning. *Journal of Association Physicans India* 48:1197–1199.
- Sigma-Aldrich, C. 2012. Glutathione peroxidase cellular activity assay kit. Technical bulletin. USA.

- Solez, K., L. Morel-Maroger, and J. D. Sraer. 1979. The morphology of "acute tubular necrosis" in man: Analysis of 57 renal biopsies and a comparison with the glycerol model. *Medicine* 58:362–376. doi:10.1097/00005792-197909000-00003.
- Soltaninejad, K., and M. Abdollahi. 2009. Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: A systematic review. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* 15:75–90.
- Stevens, L. A., J. Coresh, T. Greene, and A. S. Levey. 2006. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *The New England Journal of Medicine* 354:2473–2483. doi:10.1056/NEJMra054415.
- Sumner, J. B. 1944. A method for the colorimetric determination of phosphorus. *Science* 100:413–414. doi:10.1126/ science.100.2601.413.
- Tate, S. S., and A. Meister. 1981. Gamma-glutamyl transpeptidase: Catalytic, structural and functional aspects. *Molecular and Cellular Biochemistry* 39:357–368. doi:10.1007/BF00232585.
- Tocci, P. M., J. B. Mann, J. E. Davies, and W. F. Edmunson. 1969. Biochemical differences found in persons chronically exposed to high levels of pesticides. *Industrial Medica Surgery* 38:188–195.
- Tojo, A., and H. Endou. 1992. Intrarenal handling of proteins in rats using fractional micropuncture technique. *The American Journal of Physiology* 263:F601–F606.
- Tojo, A., and S. Kinugasa. 2012. Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption. *International Journal of Nephrology*. doi:10.1155/2012/481520.
- Tripathi, S., and A. K. Srivastav. 2010. Nephrotoxicity induced by long-term oral administration of different doses of chlorpyrifos. *Toxicogical Industrial Health* 26:439–447. doi:10.1177/0748233710371110.
- Waring, W. S., and A. Moonie. 2011. Earlier recognition of nephrotoxicity using novel biomarker of acute kidney injury. *Clinical Toxicology* 49:720–728. doi:10.3109/ 15563650.2011.615319.
- Westphal, D., G. Dewson, P. E. Czabotar, and R. M. Kluck. 2011. Molecular biology of Bax and Bak activation and action. *Biochimica and Biophysics Acta* 1813:521–531. doi:10.1016/j.bbamcr.2010.12.019.
- WHO. 2009. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009.
  World Health Organization, Geneva. *International Programme on Chemical Safety*, 19–20.
- WHO-Environmental Health Criteria. 1993. Methyl Parathion. 145, 13, 244. Geneva: International Programme on Chemical Safety.
- Wiener Laboratorios S.A.I.C.. 2000. Glicemia enzimática AA Para la determinación de glucosa en suero, plasma, orina o líquido cefalorraquídeo. Wiener lab. Rosario, Argentina.
- Ziemen, M. 1984. Platelet function and coagulation disorders in organophosphate intoxication. *Klinische Wochenschrift* 62:814–820. doi:10.1007/BF01711857.

Año 3 No. 11 Noviembre de 2016





REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN DE LA UJED

# en entrevista: DR. JORGE ARTURO CISNEROS MARTINEZ

EL

# MEDICINA MOLECULAR Cáncer de mama: la firma molecular PAM50

**Dr. Miguel Reyes Romero** 



I cáncer de mama es una enfermedad muy heterogénea tanto clínica como molecularmente. De acuerdo con estudios de perfiles de expresión génica, el cáncer de mama puede agruparse en cuatro subtipos biológicos (i.e. intrínsecos) primarios, conocidos como Luminal A, Luminal B, HER2 y Basal-like. La clasificación intrínseca tiene implicaciones en la terapia adyuvante o neoadyuvante de la cirugía del tumor; los subtipos Luminal A y B expresan receptores para estrógenos, son susceptibles de terapia endocrina y dan cuenta de la mayoría de los casos; el subtipo HER2 sobre-expresa el receptor 2 del factor epidérmico de crecimiento humano, por lo que responde a tratamiento con anticuerpos monoclonales

como el trastuzumab; el subtipo Basal-like incluye la mayor parte de los llamados triple negativos por no expresar HER2 ni receptores para estrógenos y progesterona, con quimioterapia como opción de tratamiento adyuvante.

La firma molecular PAM50 (Prediction Analysis of Microarray) fue desarrollada la Universidad de Utah y el Instituto de Cáncer Huntsman con el objetivo de identificar los subtipos intrínsecos y ayudar a mejorar el pronóstico y la predicción de recurrencia distante a 10 años en los tipos de cáncer de mama más frecuentes, habiendo sido validada en múltiples plataformas y cohortes, incluyendo las de The Cancer Genome Atlas, un mapa multidimensional sobre cambios genómicos en 33 tipos de cáncer, elaborado por el Ins-







tituto Nacional de Cáncer y el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano de los Estados Unidos de Norteamérica.

PAM50 es un clasificador que utiliza los datos de expresión de 50 genes junto con variables clínicas para predecir el riesgo de recurrencia a diez años en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama en estadio temprano, discriminando entre pacientes de bajo y alto riesgo de recurrencia y según algunos reportes, define mejor el pronóstico y la predicción de la respuesta a terapia adyuvante con tamoxifen, taxanos y antraciclinas (p.ej. Chia et al, 2012; Liu MC et al. 2016).

Una ventaja de la determinación de subtipos intrínsecos usando PAM50 sobre otras firmas de expresión génica como Oncotype Dx® y MammaPrint®, es su capacidad para proporcionar la predicción de recurrencia no sólo en cáncer positivo para receptores de estrógenos sino también en los tumores negativos para este tipo de receptor, añadiendo valor pronóstico y predictivo al estadio patológico (TNM, tamaño, nódulos, metástasis), al grado histológico y a los marcadores moleculares estándar inmunohistoquímicos como los receptores de estrógenos, Ki67 y HER2.

Por ser un análisis de transcripción, PAM50 utiliza ARN extraído de una muestra del tumor tomada por biopsia o cirugía, así como también de especímenes incluidos en parafina, por lo que es de utilidad en estudios retrospectivos.

Una versión comercial de PAM50 (Prosigna™, NanoString Technologies, Inc.) para evaluar exclusivamente el riesgo de recurrencia en mujeres con cáncer de mama invasor sometidas a cirugía, fue aprobada recientemente por la FDA.

El artículo donde se presenta PAM50 (Parker JS et al. 2009) ha sido citado a la fecha en otros artículos alrededor de 1700 veces. No obstante, aún se requiere de más evidencia para conocer de modo más completo su real alcance y límites.

#### BIBLIOGRAFÍA

Parker JS, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. J Clin Oncol. 2009;27:1160-1167.

Chia SK, et al. A 50gene intrinsic subtype classifier for prognosis and prediction of benefit from adjuvant tamoxifen. Clin Cancer Res. 2012;18:4465-4472.

Liu MC et al. PAM50 gene signatures and breast cancer prognosis with adjuvant anthracycline- and taxane-based chemotherapy: correlative analysis of C9741 (Alliance). npj Breast Cancer 2016;2:15023. TERCERA EDICIÓN

# Gastroenterología

Nahum Méndez-Sánchez



#### **TERCERA EDICIÓN**

# Gastroenterología

### Nahum Méndez-Sánchez

Gastroenterología y Hepatología Macstro y Doctor en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México Posdoctorado Universidad de Harvard Unidad de Higado, Fundación Clínica Medica Sur Profesor de Maestría y Doctorado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México Miembro del Sistema Nacional de Investigadores. Nivel III Miembro, Academia Nacional de Medicina. Miembro, Academia Mexicana de Ciencias Fellow, American Association or Study of the Liver Fellow, American Gastroenterological Association Fellow and Governor, American College of Gastroenterology Expresidente de la Asociación Mexicana de Hepatología y de la Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado Editor in Chief, Annals of Hepatology Ciudad de México, México



MÉXICO + AUCKLAND + BOGOTÁ + BUENOS AIRES + GUATEMALA + LONDRES MADRID + MILÁN + MONTREAL + NUEVA DELHI + NUEVA YORK + SAN FRANCISCO SAN JUAN + SANTIAGO + SAO PAULO + SIDNEY + SINGAPUR + ST. LOUIS + TORONTO Healthcare Portfolio and Program Manager: Dr. Víctor F. López Suero

#### NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El(los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

# Gastroenterología

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, ni parcial, ni totalmente, ni registrada en / o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico, o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial.



 DERECHOS RESERVADOS © 2018, respecto a la tercera edición por McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V. Edificio Punta Santa Fe Prolongación Paseo de la Reforma 1015 Torre A Piso 16, Colonia Desarrollo Santa Fe, Delegación Álvaro Obregón

C.P. 01376, Ciudad de México

Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN-13: 978-1-4562-6024-8

#### ISBN-10: 1-4562-6024-3

1234567890INF2345679018 Impreso en México Impreso por Infagon

Printed in Mexico Printed by Infagon

## Contenido



#### SECCION I. GENERALIDADES

- Sintomatología del aparato digestivo 3 Natum Méndez-Sánchez,
- Exploración física del aparato digestivo 8 Francisco Esquivel Ayanegal

#### SECCION II. BIOLOGÍA DEL APARATO DIGESTIVO

- Sistema inmunitario y aparato gastrointestinel 15 Jesús Kazwo Yamamoto-Purusho, Carlos A. Barrera Ochou
- Hormonas y neurobransmisores gastrointestinales 28 Paloma Almeda Valdés, Griselda X. Brito Córdova, Alonso Romo Romo
- Investigación molecular y ciencias genómicas aplicadas a la gastroenterología 39

Aarón Dominguer López, Fausto Sánchez Muñoz, Samuel Conizoles Quintents

 Neoplasias gastrointestinales, patología molecular 57

> Eucario León Rodriguez. Mónica M. Rivera Franco

#### SECCION III. DIAGNÓSTICO DEL PACIENTE ORIENTADO POR SUS SIGNOS Y SINTOMAS

- Náusca y vórnito 75 Ernesto Galivez Calivo, Martana Lourdes López Avika, Eric López Méndez
- Gas Intestinal 86 Diana Carina Brizuela Alcàntara

- Estreñimiento crónico funcional 93 Miguel Minguez Pérez.
- 10. Incontinencia fecal 104 Nahum Méndez-Sánchez, Justo Alfredo Fernández Rivero
- Diarrea aguda y crónica 110 Javier Lizardi Cervera, Brenda Viridiana Balderas Garcés
- Dolor abdominal 133 Ganzala M. Torres Villalabos. Samuel R. Torres Landa Fernández. Bárbara G. Ramas Ávalos
- Hemorragia gastrointestinal 143 Manuel Antonio Gatica Figueroa

#### SECCION IV. NUTRICIÓN EN GASTROENTEROLOGÍA

- Evaluación nutricional 159 Dominic Reads
- Apoyo nutricional enteral y parenteral 170 Dominic Reeds

#### SECCION V. TÓPICOS MULTIORGÁNICOS

- Complicaciones más frecuentes de los principales procedimientos endoscópicos 195 Eduardo Sánchez Corrés
- 17 Hernias de la pared abdominal 207 Rubén Cortés González, Rafael Pérez Solo, Adolfo Navarro Navarro
- Cuerpos extraños en gastroenterología 216 Eduardo Sánchez Corrés, Ylse Gutiérrez Grobe
- Lesiones del tubo digestivo secundarias o la ingesta de cáusticos 225 Guillermo Cabrera Alvarez, Samantha Cabrera-Palma

- 20. Fistulas gastrointestinales 230 Vicenzo Atello Crostfoglio, Alberto Mitsuo León Takahashi
- Hepatopatias en trasplante de órganos 239 Beatriz Alejandra Sánchez Jiménez, Norberto C. Chávez Tapia
- Manifestaciones digestivas de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) 245 Jarge Óscar García-Méndez
- Manifestaciones cutáneas y en la mucosa bucal de las enfermedades gastrointestinales 256 Alfonsina Ávita Romay, Abril Martínez Volusco, Juliana Eljure Tellez

#### SECCION VI. ESOFAGO

- Anatomía del esófago 283 Naham Méndez-Sánchez, Ylur Gatiérrez Grobe
- 25. Fisiología motora y trastomos motores - del esófago 291
  - Marina González Martínez, Nayeli X. Ortiz-Olvera
- Enfermedad por reflujo gastmesolágico 304 Diana Carina Brizvela Alcánium, Victor Visag Camillo
- 27. Esofagitis cosinofilica 321 Eduardo Cerda Contreras
- La cirugía en la enfermedad por reflujo gastroesofágico 331

Gonzalo M. Torres Villalobos, Adrián Carvajal Ramos, Samuel R. Torres Landa Fernández, Edgar Alejandro Medrano

29. Cancer de esólago 336 Rafael Barreto Záñiga

#### SECCION VII ESTOMAGO

 Anatomia de estómago: secreciones normales y anormales 347

> Norberto C. Chávez-Tapia, Nahum Méndez-Sánchez, Misael Uribe

- 31 Dispepsia funcional 355 Fernando Rojas Mendoza
- 32. Gastritis 365 Graciela Elia Castro Narro
- 33. Enformedad ulceropéptica 373 Cristina Gômez Gutiérrez,

Brenda Viridiana Balderas Garcés, Francisco Javier Bosques Padilla

- Síndrome de Zolinger-Elison 387
   Jesás Kazuo Yamanuto –Furusho,
   Nahum Méndez-Sánchez, Norberto Châvez Tapia,
   Misael Uribe
- Câncer gástrico 396
   Lizbeth López Carrillo, Luis F. Oñate Ocaña
- Turnores gástricos diferentes del adenocarcinoma 408 Daniel Motola Kuba, Estela Pérez-Bustos

#### SECCION VIII. TRACTO BILIAR

- Características morfológicas y fisiológicas del tracto bilar 4/9 José Jessuran
- 38 Litiasis biliar, epidemiologia γ fisiopatologia 430 Nakum Méndez-Sánchez, Yise Gutiérnez Grobe
- 39. Tratamiento quirúrgico de la litiasis biliar 442 Miguel Ángel Mercado
- Cáncer de vesícula y vías billares 449 Martín Padilla Machaca, Juné Carlos Chaman Ortiz,

#### SECCION IX. HIGADO

- Fisiología hepática 459
   Norberto Chávez Tapia, Nahum Méndez Sánchez, Misael Uribe
- Pruebas de funcionamiento hepático 469
   Nancy Edith Aguilar Olivos, Misuel Uribe, Naham Méndez-Sánchez

- 43 Higado graso no alcohólico 479 Nahum Méndez Sánchez, Nancy Edüh Aguilar Olivos
- 44. Infección por el virus de la hepatitis E en México 486

Coyme Alvarado Esquivel, Héctor A. Bapilsta González, Naham Méndez-Súnchez

45. Hepatitis virales 493

Naham Méndez-Sánchez, Beatriz, Barranco Fragoso, Paulina del Carmen Chinchilla López.

46. Cirrosis hepática 504

Nahum Méndez-Sánchez Justo Alfredo Fernández Rivero, Nancy Edith Aguilar Olivos

47. Enfermedades colestásicas 520

Bárbara Valdivio Correa, Nahum Méndez-Sánchez, Misael Uribe, Norberto Chávez-Tapia

#### SECCION X. INTESTINO DELGADO Y COLON

- Mecanismos de absorción de electrolitos y agua 527 Gustavo Arturo Rodríguez Leal
- Maldigestión y malabsorción 540 Maria Tensa Sánchez Ávila. Luis A. Morales Garza
- Sobrepoblación bacteriana 555 Moría Teresa Sánchez Ávila. Luis A. Morales Garza. Juan Francisco Sánchez Ávila
- 51 Sindrome de intestino irritable 567 Ramón Carmona Sánchez
- 52 Enformedad cellaca 581 Miguel Morola Kaba
- Infección por Clostridium difficile y diarrea asociada al uso de antibióticos 586 Javier Reyes Mar, Luis Enrique Soto Ramírea

- 54. Parasitosis intestinales 593 Gisela Muñoz López. Luis Enrique Soto Ramírez
- Gastroenteritis eosinofilica 608
   Javier Lizardi Cervera,
   Poulina del Carmen Chinchilla López.
- 56 Alergias almentarias 615 Ome Z. Perez Gutiérrez
- 57 Enteritis por radiación y colitis microscópica 625 Javier Liganti Cerveru, Mildred Elizabeth Medina Palma
- 58, Enfermedad inflamatoria intestinal 632

Michal F. Tomczak, Sonia Friedman, Richard S. Blumberg

- Apendicitis aguda 659 Juan Pablo Pantoja Millán, Andrea Dávila Cervantes
- Enfermedad diverticular del colon 666 Omar Vergara Fernández
- Obstrucción Intestinal e ileo 676 Juan Pablo Pantoja Millán, Andrea Dávila Cervantes
- 62. Tumor y sindrome carcinoides 685 Sharon Nájera Flores, Aldo Torre Delgadillo
- Cáncer colorrectat factores epidemiológicos, epigenéticos, métodos de diagnóstico y tratamiento 690

Heriberto Rodríguez Hernándoz, Sofía Rodríguez Jacobo, Miguel Arturo Reyes Romero

64. Neoplasias del intestino grueso 709

Heriberto Medina Franco, Muría Dolores Gaerrero Putz, Gina González Calderón

- 65. Otras patologías anorrectales 722 Omar Vergara Fernándes, Juan Jacobo Martínes, Zárute
- Enfermedad hemorraidal 737
   Sandra Minerva Garcta Osogobio

#### xvt C Contenido

- 67. Lesión isquémica del Intestino 741 Victor Visag Castillo, Diego García Vivanco
- 68. Sepsis abdominal 748 Luis P Alessio Robles Landa, Pablo Andrade M

#### SECCION XI. PÁNCREAS

- 69. Anatomía, embriologia y tisiologia del páncreas 767 Martín Alejandro Chacón Portillo. Jorge Hernández Calleros
- 70. Pancreatitis aguda 773

Luis A. Morales Garza, María Teresa Sánchez Ávila, Doro Alicia García Cantá

- 71 Pancreatitis crónica 787 Jorgo Hornández Calleros
- 72 Tratamiento quiníngico del cáncer de páncreas 792

Curius Chan Náñez, Mariana P. Muñoz Ponce, Denisse L. Staufert Gutiérrez,

 Tumores endocrinos del páncreas 802 Marta Nayvi España Gómez, Héctor Tapia Ciá de Leôn, Miguel F. Herrera

#### SECCION XII. IMAGENOLOGÍA Y ENDOSCOPIA

- Ultrasonido del tubo digestivo 013 Luis Felipe Alva López, Alejandro González, Garcia, Carlos Isao Felix Saguchi García
- 75. Resonancia magnética en gastroenterología 821 Cecilia Romero Trejo, Pedro Roberto Corona Cedillo

- Tomografia computarizada en las alteraciones del tracto gastrointestinal 840
   Pedro Roberto Corona Cedillo, Leis Felipe Alva López
- Principales aplicaciones del ultrasonido endoscópico en gastroenterología 857 Eduanto Sánchez Corrés, Yise Gutiérrez Grobe
- 78. Esofagogastroduodenoscopia diagnóstica 866 Félix Ignacio Tèllez Ávila, Luís Eduardo Casasola Sanchez
- 79. Colonoscopia 072 Miguel A. Tanimoto

#### SECCION XIII. TEMAS SELECTOS

- Sangrado de tubo digestivo de origen oscuro y oculto 887
   Félix Ignacio Tellez Ávila, Sandra Minerva García Osogobio
- Rectosigmoidoscopia rígida y Ilexible. Método, indicaciones y resultados 894 Sandra Minerva García Osogobio, Pélis Ignacio Téllez Ávila
- 82. Enfermedades hepáticas autoinmunes 898

María Saraí González Huezo, Ariadna Iraís Ramírez Polo, Juan Francisco Sánchez Ávila

- 83. Hipertensión portal: fisiopatología y manejo farmacológico 926 Andrés Miguel Cruz, Carlos Mostezumo Velázquez, Karen Murguío Hernóndez, Fric López Méndez
- Encefalopatia hepática portosistémica 938
   Branda Viridiana Balderas Garcés, Javier Ligardi, Misael Uribe

Indice alfabético 953

# Cáncer colorrectal: factores epidemiológicos, epigenéticos, métodos de diagnóstico y tratamiento



Heriberto Rodríguez Hernández," Sofia Rodríguez Jacobo," Miguel Arturo Reyes Romero'''

#### CONTENIDO

Introducción - Factores de riesgo - Microbiota Intestinal - Características histológicas - Aspectos cínicos - Escrutinio diagnostico - Tratamiento - Conclusiones

#### Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es cada vez más freenente y con alta morbilidad y mortalidad. La prevalencia de CCR va en aumento en países desarrollados y constituye un problema de salud pública, asociado con diferentes factores de riesgo, como alteraciones metabólicas del tipo de obesidad y diabetes mellitus tipo 2, además de malos hábitos en la dieta que favorecen la aparición de câncer de colon, próstata y páncreas.<sup>1</sup> En Estados Unidos (EUA) y Europa occidental el CCR ocupa el segundo lugar como causa de nuerte, y se prevé que de 5% a 6% de la población adulta pueda desarrollarlo y 50% de ellos morir por complicaciones del mismo.<sup>2</sup> Se ha observado en EUA que uno de carla 18 hombres y nos de, cada 20 mujeres pueden estar en riesgo de desarrollar CCR. en alguna etapa de su vida, lo que le vole ocapar la tercera posición como cáncer más común en ambos géneros; sólo el cáncer de pulmón y próstata en el hombre, y pulmón y mama en la mujer, son más frocuentes 3 En México, el CCR ocupa el segundo lugar en frecuencia después del carcinoma gástrico: esta incidencia aumenta con la edad, sobre todo despuéa de los 50 años, y predomina en el género masculino; es el cuarto cáncer más común en el ser humano, y el tercero en la mujer.4 Las causas del CCR son multifactoriales, y existe una interacción entre predisposición genética y estilo de vida, por lo que algunos individuos con alto riesgo deberían

someterse a un examen diagnóstico como colunoacopia deapués de los 40 años.<sup>24</sup>

En el presente, los métodos de diagnóstico han majorado bastante y facilitan la detección temprana en los pacientes, lo que favorece un tratamiento curativo y un aumento en la sobrevida de 86.7% a cinco años en los casos de cúncer localizado, y de 5.3% en los pacientes con enformedad diseminada, aunque esto también dependerá del tratamiento administrado y de la respuesta que tenga el paciente. Por lo general, 41% de los casos de cúncer se encuentran localizados, 35% se presenta como enformedad regional, 16% como enfermedad diseminada y 8% con eventos inclasificables. En México,<sup>3</sup> la oportunidad de un diagnóstico de enfermedad localizada es muy pobre; 50% de los casos se presenta en forma diseminada al momento del diagnóstico, por lo que la sobrevida disminuye notablemente, y la mortalidad aumenta con la edad del paciente.<sup>4,7</sup>

#### Factores de riesgo

El desarrollo o apurición de CCR depende de múltiplea factores de riengo, como los genético-hereditarios, el estilo de vida y el ambiente, en el que se incluye el tabaquismo y una dieta occidental (hipercalórica, con alto consumo de carne y baja de frutas y vegetales), además de la presencia de enfermedados como colitis ulcerativa crónica inespecífica (CUCI) y Crolui. Algunos factores de riesgo como obesidad, constipación, sedentarismo, consumo de alcehol, tabaquis mo y cambios en la población bacteriana intestinal (microbiota) son muy comunes en la actualidad.<sup>44</sup> Lo anterior se ha ejemplificado en estudios clásicos de japouraes inmigrantes a Estados Unidos. A lo largo de la historia, la incidencia de cáncer de colon ha sido baja en Japón, mientras que la de

<sup>\*</sup> Departamento de Ricquinics Facultad de Medicina, Universidad Juárez del Estado de Durango.

<sup>\*\*</sup> Hospital General de Zona No. 33. Instituto Mexicano del Seguro Social.

<sup>\*\*</sup> Couro de Investigación en Alimentos y Nutrición, Facultad de Medicino, Universidad Juárez del Escalo de Durango.

cáncer gástrico es alta; sin embargo, en la población japonesa de Estados Unidos ha aumentado la incidencia de CCR.10 Consumir una dieta alta en fibra, mantener un peso corporal correcto y la ingesta de antioxidantes, como vitaminas C y E, selenio, carotenos y una actividad física constante, producen una disminución en la incidencia de cáncer de colon, no así de la localización en rectosigmoides.<sup>11-15</sup> Estudios recientes han demostrado que un mayor consumo de vegetales, pero no de frutas, favorecen una disminución en la frecuencia de hepatocarcinoma, cáncer de pulmón, estómago y colon. En general las frutas y los vegetales son bajos en grasa y calorías, ricos en vitaminas, minerales y fibra, por lo que han sido efectivos en la disminución de enfermedad cardiovascular, vascular cerebral y diabetes. Las frutas contienen más calorías y antioxidantes, como la vitantina C; los vegetales no sólo contienen fibra y vitaminas A y E, sino que también son una buena fuente de fitoquímicos como isotiocianatos, glucosinolatos, indol-3-carbinol y flavonoides, los cuales poseen una actividad antitumoral importante.14

#### Microbiota intestinal

El cuerpo humano es habitado por una gran cantidad de bacterias, virus y eucariotes unicelulares. Se ha denominado como microflora, flora normal o microbiota a los organismos que viven en armonía con el huésped. La cantidad de microbiota existente en el cuerpo humano es de 10<sup>14</sup> células bacterianas por gramo de contenido, con una cantidad aproximada de 100 trillones de bacterias entre mil especies de ellas, las cuales colonizan cada tejido del cuerpo humano expuesto al ambiente, como el tracto gastrointestinal, que es el más colonizado, y el colon contiene hasta un 70% de toda la microflora, la mayoría anaerobios estrictos como los *Firmicutes y Bacteroidetes*; por ejemplo, en personas delgadas la proporción de *Bacteroidetes* aumenta cuando se los somete a dietãs bajas en carbohidratos y grasas, sugiriendo que los *Bacteroidetes* pueden ser responsables de la ingesta calórica.<sup>5,17</sup>

Cada persona tiene una microbiota distinta y altamente variable, que es necesaria para la correcta función intestinal. Su presencia puede ser determinada genéticamente aunque la dieta es importante en la composición de la microbiota." El tracto gastrointestinal debe coexistir con la densidad bacteriana sin alteración en la función inmune local o sistémica. La densidad bacteriana puede ser mayor conforme disminuye la saturación de O, y la localización distal en el colon, ya que en éste se encuentra un predominio de bacterias anaeróbicas estrictas (figura 63-1). A nivel intestinal, en la superficie hay una capa de moco que protege al epitelio de la fiora hacteriana. Cuando ocurren cambios en la microhiota puede haber invasividad y daño epitelial; así mismo, a nivel de la luz intestinal la densidad bacteriana es mayor, por lo que cuando ocurre un daño al epitelio por cambios en la microbiota, es debido a la disminución en sus mecanismos de defensa. (figura 63-2). La presencia de la microbiota intestinal expone al huésped a una gran cantidad de lipopolisacáridos (LPS) que se encuentran en la membrana externade las bacterias Gram-negativas y la reacción sistémica a los





Figura 63-Z Relación entre el sito anatómico intestinal y la densidad y tipo de flora bacteriana.

LPS pueden ocasionar un choque séptico, que puede evitarse por acción de la fostatasa alcalina intestinal y reduciendo la liberación de citocinas prointfamatorias, como el factor de necrosis fumoral-alla (TNF-alla) o interleucinas.

La microbiota intestinal es escencial para mantener la salud; la sobrepoblación bacteriana representa un desequilibrio intraluminal. El epitelio intestinal produce péptidos antimicrobianos (AMP) que actúan como mecanismo de delensa; sin embargo, cuando hay una disminución en la motilidad intestinal se produce una mayor fermentación del contenido, así como una mayor producción de metagenos que favorecen una reacción inflamatoria en el epitebo intestinal; cuando esto ocurre, puede haber disminución en la producción de AMP y de esta manera se altera la función y favorece el desarrollo de inflamación intestinal.518 Muchas hacterias intervienen en el metabolismo de la tibra dietética, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGUC). Estos AGCC, tales como el batirato, no sólo son fuentes de energia para el huésped, sino que previenen la acumulación de metabolitos potencialmente tóxicos, como el D-lactato."

#### Alteraciones metabólicas

En Estados Unidos, durante el periodo de 2003 a 2004, 32.9% de los adultos entre 20 y 74 años tenia obesidad, y más de 17% de los que se ubicaban entre 12 y 19 años presentó sobrepeso. La obesidad se define como un indice de musa corporal (IMC)  $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup> y favorece un aumento en el desarrollo de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), entermedad cardiovascular e hígado gruso no alcohólico. La obesidad, inactividad física, adiposidad visceral, hiperglucemu e hiperinsulinemia son factores de riesgo para adenomas y cáncer de colon, próstata y páncreas. Se supone que la hiperinsulinemia puede ser un factor causal, además del estrés oxidativo, al que favorece la hiperglucemia." En particular, la obesidad es un factor de riesgo para neoplasias, ya que provoca un aumento en el riesgo de cáncer de endometrio, vesícula bihar, páncreas y mión en la mujer; mama en mujeres posmenopáusicas, y colon, en especial en el varón. La frecuencia para todos los tipos de cáncer se incrementa hasta 52% en el varón y 62% en la mujer, en comparación con poblaciones con peso normal. El riesgo relativo en el varón con obesidad para el desarrollo de cáncer es de 1.52 (IC 95%, 1.13 a 2.05), y para la mujer de 1.62 (IC 95%, 1.4 a 1.87), y en ambos géneros el IMC se relacionó con una mayor mortalidad por cáncer de esófago, colon y recto, hígado, vesícula biliar y riñón.<sup>21</sup> Esto refleja la posibilidad de disminuir los casos de cáncer y la mortalidad si la población adquiere hábitos que mejoren el control de su peso.

#### Radiaciones

Otro factor de riesgo que se ha demostrado en los pacientes con cáncer de próstata es el haber sido sometido a radiación. La neoplasia de colon se desarrolla en sitios radiados más que en sitios adyacentes del colon con un riesgo relativo (RR) de 1.7 (IC 95%, 1.4 a 2.2), lo que sustenta que la radiación se comporta como un factor independiente para el desarrollo de cáncer sólo en los sitios que se trataron con radiación, pero no en el resto del colon.<sup>24</sup>

#### Entermedad inflamatoria intestinal

Los pacientes con colitis olcerativa crónica inespecífica (CUCI) presentan un problema inflamatorio de alto riesgo que puede llevar al desarrollo de displasia grave y contribuir a la aparición de una neoplasia. El riesgo de cancer en pacientes con CUCI depende del tiempo de evolución: aumenta 10% por cada 10 años de duración de la enfermedad, y también depende de la extensión de la enfermedad, ya que la probabilidad es mayor en pacientes con pancolitis. Por otra parte, la probabilidad de cáncer no se relaciona con la gravedad del ataque inicial de la enfermedad, pero si con el grado de inflamación de la CUCL<sup>21</sup> En un estudio de casos y controles en pacientes con CUCI con factores de riesgo potenciales para cancer, como extensión de la colitis, edad de acceso, duración de la enfermedad, en quienes se midió el grado de inflamación y el desarrollo de neoplasia, la conclusión fue significativa entre la extensión de la entermediad, el grado de inflamación y la aparición de carcinoma, con una razón de mornios (OR) de 4.7.2 En la entermedad de Crobil, la frecuencia de CCR es tres a cuatro veces mayor que en la población general, y el desarrollo de displasia es un precusor del carcinoma.33,36

La relación entre la colitis crónica no infecciosa pia entermedad inflamatoria intestinal y el desarrollo de carcinoma colónico está bien establecida. La presencia de flora bacteriana en el colon produce un estado de inflamación de bajo grado que contribuye a la carcinogênesis colónica. La

infración por Helicobacter hepaticus, que es un agente patógeno entérico murino, provoca enfermedad inflamatoria intestinal, que se relaciona con cáncer de colon en ratones inmunocomprometidos. Por otra parte, Citrobacter rodentium favorece un aumento en la proliferación epitelial y con ello el desarrollo de pólipos en intestino.22 Se ha demostrado cierta influencia en la expresión de citocina IL-10 como un factor protector, antiinflamatorio, pero no a los que se les suprime esta expresión de la IL-10 en ratones (interleukin-10 knockont II.-10 KO). Al carecer de esta citocina antiinflamatoria, el ratón queda predispuesto al desarrollo de enterocolitis hain la presencia de flora bacteriana entérica. La existencia de Enterococcus faecalis produce colitis distal y se relaciona con displasia rectal y adenocarcinoma. En este modelo, la transferencia de linfocitos que expresan CD-4 y CD-25 previene el proceso inflamatorio que provoca cáncer de colon.28 Todo esto tiene que ver con el cambio en la microbiota, ya que induce inflamación y contribuye en la patogénesis del CUCI o Crohn.

El daño al epitelio intestinal favorece cambios en los mecanismos de defensa: disminuye la producción de péptidos antimicrobianos e induce la actividad de citocinas proinflamatorias. El cambio en la microbiota, con un aumento en las enterobacterias (*E. coli*), microbiota colitogénica que producen pérdida de la integridad de la mucosa, fibrosis y ulceración, cambios celulares como metaplasia, displasia y neoplasia.<sup>27,28</sup>

Un mecanismo de acción del desarrollo de tumor en humanos es el estrés oxidativo secundario a inflamación y daño al DNA. Esto último se debe a la producción de especies de oxígeno reactivo y superóxido por bacterias intraluminales, como *E. faecalis*, que provocan inestabilidad cromosómica y carcinogénesis colorrectal: para ello se requiere la formación de especies de oxígeno reactivo, lo que involucra la inducción y actividad de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), por lo que se promueve el uso de antioxidantes e inhibidores selectivos de COX-2 como un tratamiento preventivo del desarrollo de carcinoma colorectal (quimioprevención) <sup>30,30</sup>

La historia familiar de cáncer de colon es importante, ya que los descendientes en primer grado tienen tres a cuatro veces más riesgo de desarrollar CCR, sobre todo en los casos con síndrome de poliposis múltiple familiar, enfermedad que se comporta como autosómica dominante (cuadro 63-1).<sup>31</sup>

El sindrome de Lynch es una enfermedad hereditaria, autosómica dominante con penetrancia incompleta; no se telaciona con el desarrollo de pólipos, comprende 5% de todos los casos de CCR y todos los pacientes tienen también predisposición a desarrollar tumores en otros sitios, como ovario, endometrio, estórnago, hígado, intestino y cerebro. Cuenta con mutaciones en las células germinales en los gepes de reparación de apareamiento, lo que resulta en errores de replicación e inestabilidad genética. Al parecer, no existe relación del polimorfismo del p-53 en cuanto a la edad de aparición de CCR en el síndrome de Lynch, ni tampoco en el CCR esporádico <sup>12</sup> Cuadro 63-1 Genes con mutaciones de línea germinal en los principales sindromes hereditarios de cáncer colorrectal

Sindrome	Gen mutado
Sindrames con pólipos	
Poliposis adenomatosa familiar	APC
Poliposis asociaca a MUTVH	MUTTH
Sindromes sin pólipos	
Sindrome de Lynch	MUYE MUYE MENS PINEZ EPCAM
Bindromes con lesiones hamartematosas	
Sindrome de Cowden Sindrome de Peutz-Jeghers	STAL

#### Acido fólico

Existe la hipótesis de que el folato es una vitamina que se eneuentra de manera preponderante en las hojas de diversos vegetales, y es responsable de una disminución en el riesgo de CCR en 20 a 40% de las personas. Algunos estudios epidemiológicos demostraron un efecto benéfico con la suplementación de ácido fólico ≥400 µg en pacientes con riesgo de CCR y mortalidad relacionada. Sin embargo; investigaciones realizadas en animales probaron que la suplementación con folatos puede incrementar el riesgo de CCR y acelerar su progresión en el caso de una ingesta muy alta, una vez que se han establecido focos neoptúsicos en el colon-recto.<sup>33</sup>

El folato, como 5-metiltetrahidrofolato, desempeña un papel central en el metabolismo de los metiles, ya que dona un grupo metilo para convertir la homocisteína en metionina, la cual entonces ac convierte en S-adenosilmetionina, el donador universal de grupos metilo para la metilación de una amplia variedad de sustratos biológicos, como DNA, RNA y proteínas. La deficiencia de folatos se relacionó cou la ocurrencia de mutaciones puntuales en el gen K-ras en adenomas colorrectales y carcinomas, roturas del DNA de doble cudena, roturas cromosómicas e hipometilación global del DNA.<sup>44</sup>

Por otro lado, la baja ingesta de ácido fólico y el alto consumo de alcohol favorecen adicionalmente la degradación de folato en el colon por efecto del acetaldehído, metabolito del etanol (figura (3-3).

#### Predisposición hereditaria

El CCR familiar se divide en dos amplios grupos: los que se caracterizan por la presencia de púlipos benignos múltiples (poliposis), y los que se identifican por la ausencia de poliposis. Se han descrito diferentes síndromes con poliposis que incluyen la poliposis adenomatosa familiar, el síndrome de Peutz-Jeghers, la poliposis juvenil familiar y el síndrome de Cowden, el síndrome de Crookhite-Canadá y el de poliposis hiperplásica.<sup>35</sup>



Figura 63-3. Se muestra la relación de la disminución en el consumo de ácido fólico y el aumento en el riesyu y los cambios opitetales para el desarrollo de CCR.

El cáncer colorrectal no polipósico hereditario (CC-NPH) corresponde al 2% a 4% del CCR en el mundo occidental. Los pacientes con CCNPH desarrollan el CCR a mediana edad, alrededor de los 42 anos. Los criterios clínicos estándar para CCNPH comprenden la identificación de por lo menos tres familiares en primer grado, como mínimo de dos generaciones diferentes, con CCR y al menos con un individuo afectado menor de 50 anos de edad. La mayoría de los pacientes con CCNPH bereda un detecto en los genes reparadores del DNA. Los tamores surgen en los sujetos por una deficiencia en la reparación del mal apareamiento del ADN, lo que da lugar a una mestabilidad genómica y progresión rápida al cáncer. Además, los pacientes con CCNPH tienen un riesgo mayor para otros tipos de cancer, como el de ovario, útero y cerebro.<sup>36</sup>

La poliposis adenomatosa familiar se heredu de forma autosómica dominante y se relaciona con mutaciones en el gen APC.<sup>31</sup>

#### Otros factores genéticos

La mayoría de los individuos con CCR no tiene familiares en primer grado con este antecedente y, por lo ranto, se considerun casos esporádicos. Sólo de 3% a 5% de tudos los casos de CCR ocurre en individuos con predisposición hereditaria, que se caracteriza por lo descrito con anterioridad; sin embargo, los familiares de individuos con cáncer esporádico tienen un riesgo aumentado de cúncer de colon y se sugiere una herencia dominante en la susceptibilidad a pólipos adenomatores y cánceres que se relacionan. Esta susceptibilidad corresponde de 15% a más de 50% del total de casos de CCR <sup>38</sup>

#### Factores ambientales

Los factores genéticos hereditarios pueden desempeñar un papel moy importante en el CCR; no obstante, no son los únicos determinantes, ya que el ambiente y el estilo de vida, el tabaquismo y una dieta occidental (hipercalórica, alta en ingesta de curne y de alcohol, baja en ingesta de frutas y vegetales) también se consideran factores de ricago.<sup>3441</sup>

#### Genética y biología molecular del cáncer colorrectal

En términos moleculares, el proceso de evolución de un tumor colorrectal desde la mucosa normal hasta un adenomo y un tumor maligno requiere de la producción de mutacionea accuenciales en el ADN, así como modificaciones epigené ticas.<sup>44</sup>

El CCR se origina a partir de una serie de mutaciones que se acumulan en genes específicos, como los genes aupresores de tumores, cuya función normal es inhibir o regutar la proliferación octular. Para la inactivación de este tipo de genes se necesita que ambas copias del gen se mutem cuando esto sucede, se pierde cierto grado de regulación del crecimiento cetular como parte de su cascada de traducción de la senal intracelutar. Cuando se mutan, la estimulación del crecimiento se vuelve constitutiva o activada en forma continua. Por otro lado, la mutación de una sola copia de un protooncogén es suficiente para que ocurra este cambio.

Existe un importante sistema enzimático de reparación del ADN que se vincula también con la metilación patológica y el cáncer de color; la pérdida de la función de este sistema o de alguno de sus genes puede resultar en metacioner frecuentes, que se observan en pequeños elementos conocidos como microsatélites (inestabilidad de microsatélites); este tipo de alteración ocurre en pacientes con tumores hereditarios, aunque también se puede presentar en ensos de cancer esportádico. Se observa que la mayoría de casos con inestabilidad de microsatélites ao presenta en pacientes con cáncer esportádico y por lo general se debe a la metilación del gen hMLH-1, que ocurre con más frecuencia en tumores del colon derecho.

Los genes que participan en la reparación del mal apareamiento, resultado de los errores en la replicación del ADN y que se encuentran mutados en pacientes con CCNPH, son MLH-1, MSH-2, PMS-1 y PMS.<sup>43,44</sup>

De hecho, la probabilidad de desarrollo de adenomas en un paciente de 60 años es de 68% en el caso de ser portador de una nutación en algún gen que codifique proteínas que se implican en la reparación del ADN, y de 18% en no portadores; mientras que la probabilidad de desarrollar un carcinoma es de 31% y 0%, respectivamente. Los pacientes portadores de este tipo de mutación tienen una predisposición para el desarrollo de adenomas a una edad más temprata en comparación con los no portadores (43.3 contra 48.6 años); los adenomas suelen ser de mayor tamaño, más numerosos, a menudo de características histológicas tubulovellosas y con un alto grado de displasia. La edad promedio para el desarrollo de carcinoma en el caso de los portadores es de 45.8 años.<sup>46</sup>

#### Cáncer colorrectal hereditario

La gran mayoría de los casos de cáncer colorrectal son esporádicos; solo alrededor de 5% se encuentran asociados con mutaciones germinales que confieren la predisposición a síndromes conocidos de cáncer hereditario.

Los síndromes hereditarios conocidos de cáncer colorrectal se agrupan en dos tipos, según se encuentren asociados o no con poliposis. Entre los primeros se encuentran la poliposis adenomatosa familiar y la poliposis asociada a *MUTYH*, como los síndromes de Gardner y Turcot. Entre los segundos se encuentran el síndrome de Lynch, también conocido como cáncer colorrectal hereditario no polipósico, el síndrome de Peutz-Jeghers, y los síndromes con *hamartomas* y *tumores asociados* con mutaciones del gen supresor de tumores *PTEN*, como el síndrome de Cowden.<sup>4-48</sup>

La poliposis adenomatosa familiar es un trastorno autosómico dominante caracterizado por la presencia de decenas a miles de adenomas distribuidos en colon y recto. Este síndrome se asocia con mutaciones en el gen supresor de tumores APC, localizado en el cromosoma 5. Existe una forma atenuada de poliposis adenomatosa familiar asociada con mutaciones en los genes APC y también a MUTHY, localizado en el cromosoma 1.

Los síndromes asociados con mutaciones en el gen MUTHY exhiben un patrón de herencia autosómico recesivo, caracterizado fenotípicamente por múltiples pólipos colorrectales de modo similar a la poliposis adenomatosa familiar.

El síndrome de Lynch es la forma más contún de cáncer colorrectal hereditario; se caracteriza por un patrón de herencia autosómico dominante con mutaciones en los genes MLH1, localizados en el cromosoma 3, MSH2, MSH6 y EP- CAM, localizados en el cromosoma 2, y PMS2, localizado en el cromosoma 7, importantes para la reparación de apareamiento equivocado de bases en el ADN, así como en la adhesión celular (EPCAM).

El síndrome de Cowden es un trastorno autosómico donuinante caracterizado por tuntores hamartomatosos múltiples de origen ectodérmico, mesodérmico y endodérmico. En este trastorno se presentan mutaciones en el gen supresor de tuntores *PTEN*, localizado en el cromosoma 10.

El síndrome de Peutz-Jeghers es un trastorno autosómico dominante curacterizado por la presencia de poliposis hamartomatosa a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. En este trastorno se presentan mutaciones en el gen *STK11*, localizado en el cromosoma 19.

#### Cáncer colorrectal esporádico

El cáncer colortectal esporádico da cuenta de la gran mayoría de los casos de este tipo de cáncer; en el mismo se reconocen tres subgrupos fenotípicos caracterizados por: a) inestabilidad cromosómica, p. ej. alteración nomérica y estructural de comosomas: b) inestabilidad de microsatélites, p. ej. alteración en el número de pares de bases repetidas en los microsatélites, y c) fenotipo metilador de islas CpG, p ej. un espectro aberrante de metilación sobre todo en sitios promotores de diversos genes.<sup>41,91</sup> Entre estos fenotipos puede existir traslape, es decir, los fenotipos no son mutuamente excluyentes.

En años recientes, con la utilización de métodos de análisis de nueva generación como la secuenciación de todo el genoma, de todo el exoma, de todo el epigenoma, y arreglos de expresión, entre otros, ha surgido una visión multidimensional de los cambios cromosómicos y moleculares en el cáncer colorrectal, basada sobre todo en la información generada por los proyactos *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) y el *International Cancer Genome Consortium* (ICGC). La información surgida a la facha agrupa al cáncer en general en dos clases, la M, caracterizada primariamente por mutaciones, y la C, caracterizada primariamente por alteración en el número de copias. La gran mayoría de casos de cáncer colorrectal se incluye en la clase M.<sup>31</sup>

Las características principales en los distintos niveles de análisis molecular se describen a continuación.

#### Análisis de secuencia del exoma

El exomo es la parte del genoma formado por los exones, esto es, la fracción codificante de los genes que se transcriben en forma de ARN mensajero para dar lugar a la sintesis de proteínas. Por análisis de secuencia de exoma en cáncer colorrectal, se ha encontrado gran variación: en la mayoria de los casos de este tipo de cáncer se encuentran tasas de mutación menor a 1 por cada 1000,000 bases, mientras que en pocos se encuentran tasas de mutación mayores a 100 por cada 1000,000 de bases, lo que agrupa a los casos de cáncer colorrectal en hipermutados y no hipermutados.<sup>32</sup> En la mavoría de los casos con hipermutación, se encuentra alta inestabilidad de microsatélites, así como fenotipo metilador de islas CpG en genes como *MLH1* y otros de las vías de reparación de mal apareamiento de bases en el ADN. Así mismo, se han observado aberraciones en el gen *POLE*, raramente observadas en tumores no hipermutados. *POLE* codifica a la subunidad catalítica de la enzima ADN polimerasa épsilon, involucrada en la reparación del ADN y en la duplicación de cromosomas durante la división celular.<sup>51,67</sup>

#### Mutaciones génicas

Se han encontrado 32 genes somáticos recurrentemente mutados, tanto en câncer colorrectal hipermutado como no hipermutado. Entre los numores no hipermutados, los genes mutados con mayor frecuencia son. APC, TP53, KRAS, PIK3CA, FBXW7, SMAD4, TCF7L2, NRAS, FAM123B y SMAD2, con frecuencias que van de 6% (SMAD2) a 81% (APC). Con excepción de KRAS y NRAS, el resto de los genes presentan mutaciones inactivantes. Entre los tunores hipermutados, los genes mutados con mayor frecuencia son. AUVK2A, APC, TGFBR2, BRAF, MSH3, MSH6, MYOID, TCF7L2, CASPA, y CDC27, con frecuencias que van de 29% (CDC27) a 63% (ACVR2A).<sup>55</sup>

#### Tasa de mutación y patrón de metilación

El perfil de metilación de sitios promotores en el ADN identifica cuatro subgrupos. Dos de los grupos corresponden s tumores con elevadas tasas de metilación, los enales se clasifican a su vez en fenotipo metilador de islas CpG alto y bajo Los otros dos grupos sin fenotipo metilador de islas CpG correaponden predominantemente a tumores no hipermutados

El portil de expresión de ARN mensajem (ARNm) separa al cáncer colorrectal en tres grupos. Uno de ellos correlacionado con los tumores con fenotipo metilador de islas CpG alto, enriquecido en tamores hipermutados; los otros dos grupos no corresponden a algún grupo enriquecido en metilación.<sup>35</sup>

En total se han descrito 2,687 regiones frecuentemente hipermetiladas y 468 hipometiladas; la hipermetilación se observa en islas CpG y en sitios promotores, mientras que la hipometilación se encuentra distribuida de modo amplio en todo el genoma.

Los marcadores canónioos que definen fenotipo metilador en islas CpG son CDKN3A, MINTI, MINT2, MINT3 y MLIII, aunque en descripciones más recientes las regiones diferencialmente metiladas en cáncer colorrectal incluyen a los genes RUNX3, NEUROGI, CDKN2A, IGF2, CRABPI, SOCSI, CACNAIG, TLXINB, SDC2, TLXI, KCNK12, PT-FIA, EN1, KCNQ5, DPP10, RIPPLY3 y SYT9.357

#### Cambios cromosómicos y sub cromosómicos

Los tumores hipermutados exhiben menos alteraciones somáticas en el número de copias que los no hipermutados, sin diferencias entre los tumores con hipermutaciones y estabilidad o inestabilidad de microsatélites. Las alteraciones más destacadas y bien delinidas son ganancias de 1q, 7p y 7q, 8p y 8q, 12q, 13q, 19q, 20p y 20q. Las principales deleciones encontradas son 18p y q (incluyendo *SMAD4*) en alrededor de 65% de los cânceres colorrectales, y 17p y q (incluyendo *TP53*) en alrededor de 55%. Otras deleciones recurrentes incluyen a los genes *FHIT*, *RBFOXI*, *WWOX*, y otras que incluyen a genes supresores de tumores, como *SMAD4*, *APC*, *PTEN* y *SMAD3*. Una deleción focal sobresaliente en 10p25.2 incluye a *TCF7L2*. Una fusión génica entre *VTILA* y *TCF7L2* se encuentra en algunos casos de cancer colorrectal.<sup>59</sup>

Varias regiones exhiben amplificaciones focales significativas con picos en 13q12.13, 13q.22.1 y 20q.13.12, cerca de, o incluyendo a los genes USP12, el oncogén candidato para cáncer colorrectal CDK8, y KLF3. Una amplificación en 17q.21.1, que incluye varios genes, conhene al gen codificante de una tirosina cinasa ERBB2 (blanco del anticuerpo trastazumab). Otra amplificación focal frecuente es 11p.15.5, la cual incluye a los genes INS, IGF2 y TH, esta amplificación se correlaciona con expresión cicvada de IGF2, por lo que 11p.15.5 puede representar un blanco terapéutico.

#### Translocaciones

Se han detectado altededor de 250 translocaciones candidatan intercromosómicas. Las más sobresalientes son entre NAV2 en el cromosoma 11 y TCF7L1 en el cromosoma 2, y VTIIA en el cromosoma 10 y TCF4 en el cromosoma 8.TCGA.

En muchos de los casos de cáncer colorrectal ao han ob servado translocaciones que involueran a *TTC28* localizado en el cromosonia 22, *TTC28* es blanco para el supresor de tumores P53 y su producto de expresión funciona como inhibidor de crecimiento celola.<sup>56</sup>

#### Alteraciones en vias de señalización

En el cáncer colorrectal hipermutado se encuentran alteraciones recurrentes en las vías WNI. MAPK, PI3K, TGF-beta y P53 Alrededor de 16 genes de la vía de señalización WNT se encuentran alterados en 93% de los casos de cáncer colorrectal, incluyendo inactivación de APC o mutaciones activadoras en CTNNB1, mutaciones en SOX9 y mutaciones y deleciones en TCF712. Lo anterior destaca la importancia de la vía WNT en cáncer colorrectal. También son comunes alteraciones en las vías PI3K y RAS-MAPK, con sobreexporsión de IGF2 e IRS2.<sup>39</sup>

#### Modificaciones de historias

De las histonas componentes de los nucleosomas (H2A, H2B, H3 y H4), la H3 es la que incide mayormente en la regulación de la expresión génica a través de modificaciones de sus aminoácidos arginina (R) y lisina (K) de su extremo amino terminal. En general, la acetilación de H3K27, así romo la metilación de 113K4, H3K36 y H3K70, se asocian con activación de la expresión génica, mientras que la di y trimetilación de H3K9, y la trimetilación de H3K27, H3K9me3, H3K27me3 se asocian con represión.<sup>636</sup>

Se ha identificado a la acetilación de la lisina 77 de la histona 3 (H3K27Ac) como una modificación regulada al alza en cánocr colorrectal; esta modificación se ha asociado con amplificadores activos, lo que sugiere algún papel en la regulación de la expresión de genes con expresión diferencial en cánocr colorrectal.<sup>21,53</sup> Otras modificaciones descritas en cánocr colorrectal son la trimetilación de H3K27, y la fusforilación de la cerina 64 de la histona H2B (H2RS64P) (figura 63-4).<sup>42,65</sup>

#### Expresión de micro-ARN

Los micro-ARN (miR) son ARN no codificantes de 18-22 nucloótidos cuyo papel principal es participar en la orgulación de la expresión gónica. Los miR juegan un papel importante en el inicio y le progresión del cáncer colorrectal y sus patrones de expresión tienen utilidad como herramienta de diagnóstico, pronóstico y respuesta a tratamiento. Por análisis del perfil de expresión de micro-ARN no se encuentra distinción entre cáncer de recto y enneer de colon no hipermetilado. Los miR20a miR21 y miR155 ac encuentran cobre expresados en cúncer colorrectal. La falta de expresión de miR133a y la ganancia de miR224 se asocian con la aparición de cáncer colorrectal. Asímismo, se han encontrado en cáncer colocroctal la expresión reducida de miR143 y miR145. El nivel de miR92 y miR173p se ha reportado significativamente en mayor concentración plasmática de pacientes con educer colorrectal. También ha sido reportado miR1792 (elúster) y miR135 en heces de casos de cáncer colorrectal. El miR31 se ha encontrado cobre regulado en cáncer colorrectal y su supresión da lugar inhibición de la migración celular e invasión. El miRi41 elevado en plasma se ha asociado con un pronóstico pobre; por el contrario, altos niveles de miR320 y miR498 se correlacionan con supervivencia sin recurrencia.<sup>10/3</sup>

Los niveles sérioos de miR21 se asocian de modo inverso con el riesgo de recurrencia de cáncer colorrectal, p. ej niveles altos de miR21 se asocian con una reducción a la mitad en el riesgo de recurrencia.<sup>64,65</sup>

#### Características histológicas

La mayoría de los casos de CCR adquiere un patrón morfológico de tipo polipoide o infiltrante. Los pólipos adenomatosos son lesiones tempranas; pueden ser únicos (60%) o múltiples (40%); en su mayoría se localizan distalmente al ángulo esplénico (60% a 70%), en colon transverso (11%), asoendente (13%), y ciego (7%); en pacientes mayores de 60 años su localización suele ser proximal y evolucionan hasta convertirse en adenocarcinomas.<sup>67</sup> Los pólipos adenomatosos non las lesiones más frecuentes del colon (70% a 85%) y as clasifican, de acuerdo con su estructura glandular y con el grado de displazia, en tres tipos:

- a) Tubulares: tienen un mayor número de glandulas y celulas, en comparación con la mucosa normal. Poseen 25% de configuración vellosa, comprenden de 8% a 15% de los adenomas y son de tamaño pequeno (<1 cm).</p>
- b) Tubulovellosos: su frecuencia varia entre 8% y 15%, 47% mide entre 1 y 2 cm, y benen de 7% a 25% de componente velloso.
- c) Vellosos: su composición histológica semeja un helecho que se extiende del centro a la superficie y representan de 5% a 10% de todos los adenomas, 60% mide >2 cm, y dehen tener >75% de configuración vellosa.<sup>60,65</sup>

La detección y removión endoscópica de los pólipos adenomatosos remove la incidencia de CCR en 66% a 90%. Los paciantes mayores de 50 años con pólipos mayores de



Figura 63-4 Trimetiación de la lisina 36 en la historia 3 (H3K36me3) a nivel del gen TP53, localizado en el cromosoma 17, en mucosa colónica normal y en la finea celular CaCo-2 derivada de adenocarcinoma colorrectat, la marca H3K36me3 se asocia o expresión genica. En la ligura se observe un menor nivel de esta marca de trimetilación en la trea colular CaCo-2, lo que estarla asociado a una disminución en la expresión del anti-onicogén TP53. En la estructura de TP53, los rectaingulos con esponden a los expresión del gen (Figura observada con datos dal NH Roadmap Epigenomics Program).

#### 690 C Sección X Intestino delgado y colon

2 cm en tamaño y configuración vellosa son los que tienen mayor probabilidad de presentar displasia grave.<sup>30</sup> Los tumores del colon izquierdo crecen de manera exofítica, concéntrica y ocupan toda la circunferencia de la luz intestinal, con ulceración en la porción más alta de la masa y producen oclusión intestinal, patrón que se conoce como en anillo de servilletero (figura 63-5). Los tumores que se originan en el colon derecho son de forma fungiforme, exofítica y polipoide, con márgenes que se definen bien entre la tumoración y su transición con la mucosa colónica normal. Estos tumores rara vez llegan a producir obstrucción de la luz intestinal, permanecen durante mucho tiempo asintomáticos y por lo tanto su diagnóstico es tardío. Otros tumores crecen en forma plana o deprimida y se originan así de novo, más que de la transición adenoma-carcinoma, como la mayoría de los tumores malignos del colon. Este tipo de cáncer muestra una gran tendencia a la invasión profunda de la pared y a la diseminación linfática, vascular, de ganglios regionales y estructuras vecinas. Los tumores mucinosos tienen un aspecto gelatinoso, que diseca las capas de la pared intestinal."

#### Tipos microscópicos

El aspecto microscópico más común del CCR es el adenocarcinoma, que puede ser bien o moderadamente diferenciado, compuesto por una población de células columnares, globoide y ocasional presencia de células endocrinas y de Paneth.<sup>223</sup> El tumor casi siempre se acompaña de una respuesta inflamatoria variable de parte del organismo, como



Figura 63-5 Cáncer de sigmoide con el signo de anilio en servilletero.

forma de respuesta inmunitaria antitumoral, así como de desmoplasia variable (intensa proliferación de tejido conjuotivo estromático de sostén), lo que le confiere una consistencia dura. El infiltrado inflamatorio se constituye, sobre todo, por linfocitos T, pero también se encuentran linfocitos B, células plasmáticas e histocitos.<sup>14</sup> En ocasiones también se observan abundantes cosinófilos. El tumor invade poco a poco todas las capas de la pared intestinal y se extiende a la grasa pericólica, donde se puede observar permeación a es, pacios perineurales y vasos sanguíneos venusos hallazgos que tienen buen pronóstico y que se deben consignar, ssi como la forma de crecimiento, que puede ser de márgenes infiltrantes.

Además del adenocarcinoma de tipo común se observan otros patrones histológicos de crecimiento, entre los que destaca el carcinoma mucinoso, en el que los lagos de mucina constituyen, por lo menos, la mitad de la masa rumoral, Estas tumores son exofiticos, constituyen 15% del CCR y ocurren con mayor frecuencia y de manera característica en el recto. En este tipo de turnor se observan grandes lagos de mucina, una glucoproteína de alto peso molecular, que es el mayor producto que secretan las células normales y neoplásicas, y puede ser vista con tinciones especiales como la del ácido peryódico de Schiff (PAS). La mucina disminuye en forma notoria en tumores poco diferenciados; pueden observarse grandes vacuolas de murina que desplazan el nócleo a la periferia y que llegan a producir células en anillo de sello, pero que no es semejante al careinoma pueo de células en anillo de sello, el cual, por su parte, representa otra variedad poco frecuente de CCR, y que se observa sobre todo en pacientes jóvenes con síndrome no polipósico y en sujetos con CUCL."

#### Tumor carcinoide

El tumor carcinoide surge en cualquier parte del intestino grueso, aunque es más frecuente en el recto y representa menos de 0.1% de todos los tumores del colon. El tumor carcinoide del colon tiene gran tamaño, invade la pared del intestino y da metástasis a ganglios linfáricos regionales. El tumor carcinoide del recto, por el contrario, permanece más tiempo localizado, crece de manera circunscrita, es más frecuente en la pared anterior y rara vez se extiende a los ganglios linfáticos perirrectales. En la mayoría de los casos se detecta antes de medir 2 cm de diámetro y cuando sobrepasa ese tamaño es más probable que se presente metástasis en ganalios linfáticos.<sup>36</sup> El tamor carcinoide colónico también se relaciona con la colitis ulcerativa crónica inespecífica y con la enfermedad de Crohn, en cuyas circunstancias puede ser multicéntrico y de morfología histológica más atípica.

Desde el punto de vista histológico, el tumor carcinoide colorrectal crece en forma de cordones, festones y masas sólidas de células pequeñas y uniformes. Los patrones tubulares o acinares son menos frecuentes, y pueden llegar a producir mucina. Desde el punto de vista histoquímico, este tumor es argirófilo pero no argentafín. Por sus características inmunohistoquímicas, este tumor muestra expresividad para la enclasa específica de neurona, cromogranina y sinaptofisina. Este tumor también tiene marcadores de varias hormonas peptídicas como somatostatina, glucagón, sustancia P y péptido YY.<sup>77</sup>

#### Linforna maligno

El linfoma maligno del colon es más raro que el linfoma que afecta al intestino delgado y al estómago. Se presenta, por lo general, en la región lleocecal, en ocasiones se vincula con pacientes inmunocomprometidos o con uso de inmunosupresores (en menos de 5%) y se puede presentar en pacientes con enfermedad de Crohn (OR 2.4, IC 95% 0.1 a 13), mas no con CUCI (OR 0). El linfoma maligno colorrectal casi siempre es de tipo no Hodgkin; gran parte del mismo es de bajo grado, y algunas veces es de tipo MALT, con diferenciación plasmocitoide. Los tipos de linfoma que con más frecuencia se diagnostican en colon son: linfomas de células del manto, linfoma de células grandes anaplásico y, con menos frecuencia, el linfoma de Hodgkin.<sup>11,77</sup>

#### Histoquímica e inmunohistoquímica

La mayoría de los CCR es positiva para tinciones de mucina. Inmunohistoquímicamente, las mucoproteínas que se expresan en el adenocarcinoma convencional son la MUC-1 y la MUC-3, en contraste con los carcinomas panereatobiliares, que expresan con más frecuencia MUC-5AC. El adenocarcinoma colorrectal muestra de manera consistente positividad para queratina 20 y negatividad para queratina 7, mientras que lo contrario es raro. Se realizaron estudios de inmunohistoquímica para detectar a pacientes con CCR con errores de replicación, en los cuales se evaluaron dos genes de reparación de apareamiento: *HMLH-1 y hMSH-2*. En éstos, se encontraron errores de replicación en 50% de los pacientes con lesiones metacrónicas y en 31% de aquellos con lesiones sincrónicas: también hubo 31% de pacientes positivos para errores de replicación, pero en estos casos con lesiones proximales, más que de colon descendente y rectosigmoide, y en aquellos con lesiones únicas del recto n del colon descendente ninguno presentó tales errores de replicación. En estos sujetos con riesgos genéticos conocidos se permite planear el tratamiento y el seguimiento, usí como la búsqueda de dichas lesiones de replicación en sus familiares.<sup>8131</sup>

#### Aspectos clínicos

De entre los pacientes afectados por CCR, 90% es mayor de 50 años. Sólo los casos de CCR esporádico se presentan durante la tercera y cuarta décadas de la vida, sobre todo cuando criste historia familiar. El adenocarcinoma colorrectal se presenta en 95% de los sujetos con tumores del colon y tiene un crecimiento leoto; por lo general permanecen asintomáticos durante largos periodos y la presencia de síntomas depende del sitio de afección (figuras 63-6 y 63-7). En el caso de lesiones proximales, como colon ascendente y ciego, los pocientes presentan anemia microcítica debido a hemorragia crónica, y un síndrome anémico puede ser la característica inicial de los pacientes, ya que los tumores del colon derecho suelen obstruir menos y sangrar más. La presencia de dolor y datos de obstrucción, así como de masa palpable por el desarrollo de tumor, son signos de mal pronóstico.<sup>3239</sup>

En el caso de los tumores de colon descendente y rectosigmoide, la manifestación clínica más común es obstrucción, rectorragia y constipación. El volumen de la hemo-



Descendenta 5%

Sigmoides: 25%

Figura 63-6 Frecuencia de aparición anatómica del cáncer concrectal



Figura 63-7 Neoplasia de colon en el ángulo hepático.

rragia puede ser menor de 6 ml por día y en el caso de las lesiones de recto la hemorragia puede ser visible.<sup>34</sup> El CCR infiltra tejidos advacentes, penetra hasta la muscular y puede producir síntomas que dependen del órgano afectado, por ejemplo, tenesmo rectal, hematuria, síntomas urinarios, obstrucción ureteral, abdomen agudo por perforación de colon, compromiso vascular o formación de fistulas, cuya aparición favorece un mal pronóstico.<sup>35</sup>

Una característica clínica importante es el desarrollo de síndrome de desgaste, el cual es proporcional al tamaño del tumor y se relaciona con la excesiva actividad tumoral. Se manifiesta por hiporexia, pérdida de peso, disminución de la fuerza muscular y se puede presentar con cualquier tumor gastrointestinal.35 Por lo general, no existen síntomas tempranos y con frecuencia éstos se presentan en etapas tardías. En el caso de pacientes que presentan obstrucción o perforación intestinal, su significado clínico es de mal pronóstico ya que no son candidatos a cirugia curativa porque suelen presentar recurrencias tumorales tempranas. Cuando los pacientes son menores de 40 años, su incidencia es de 3 a 11% y suelen presentar factores de riesgo evidentes, así como una historia familiar positiva (aplíquense los criterios de Ámsterdam que aparecen en el cuadro 63-2); una cuarta parte de los pacientes suele mostrar diseminación hematógena y 50% desarrolla metástasis a distancia, por lo general en el hígudo.

#### Escrutinio diagnóstico

Dado que el cáncer de colon es frecuente, el diagnóstico de lesiones precursoras o el antecedente de factores de riesgo personal es importante para establecer un diagnóstico de CCR en forma temprana. Desde 1997 se establecieron ciertas guías para la atención primaria en pacientes con alto riesgo para el

- Cuadro 63-2 Criterios de Ámsterdam para el diagnóstico de cancer colorrectal nereditario, que no tiene relación con poliposis (CCRI NAP)
- Tres o más familiares con cáncer con vinculo con CCPE-NAP, que se vertico de manera histológica (cáncer colorrectal, cáncer de encometrio, infestino delgado, unifier o pelvis renal, uno de los cuales es un familiar en primer grado de los otros; hay que excluir poliposis adenometosa familiar (PAP);
- » Cáncer colorrectal que afecta, al menos, a dos generaciones.
- Una o más casos de concer, que se disproblicaron antes de los 50 años de edad.

desarrollo de CCR, que se modificaron en 2003. Es importante clasificar al paciente en cuanto a su historia médica y antecedentes personales y familiares; los pacientes mayores de 50 años se deben someter a procedimientos diagnósticos, sobre todo si existe el antecedente de poliposis adenomatosa, y debe realizarse una colonoscopia o sigmoidoscopia flexible, o colon por enema con doble contraste si la colonoscopia no está disponible, sobre todo en los casos con enfermedades predisponentes, como enfermedad inflamatoria intestinal.<sup>55</sup>

£,

С

1

¢

¢

1

Existen diferentes pruebas diagnósticas, de las cuales una es la de sangre oculta en heces, que puede realizarse con restricción por tres días en la dieta de vegetales o alimentos ricos en hierro (vegetales verdes y carne roja); se toman dos muestras en tres evacuaciones consecutivas. Si una os positiva, el signiente estudio deberá ser una colonoscopia. Esta prueha reduce el riesgo de muerte por CCR de 15 a 33%, pero la sensibilidad de la prueba es baja (límites de 30 a 50%).57.88 Se sugiere practicar cada año y, aunque se recomienda rehidratar las laminillas, en la actualidad ya se demostró que no es útil, va que aunque puede aumentar su sensibilidad, también eleva los falsos positivos de la prucha.83.91 Existen marcadores de leucocitos como la calprotectina, una proteína citosólica, y su cantidad puede aumentar en las heces de pacientes con adenomas y cáncer, además de lactoferrina y lisozima, aunque ninguna mostró su utilidad en programas de escrutinio a gran escala.<sup>3235</sup> Existe también un aumento en la secreción de mucina anormal (glucosilada) durante la transformación neoplásica de los tejidos, pero su especificidad es baja, yu que también se presenta en lesiones de tipo inflamatorio. También se detectaron múltiples alteraciones en el ADN específicas para CCR, que pueden descubrirse en hoces.91

La realización de sigmoidoscopia flexible implica un buen escrutinio diagnóstico y se recomienda practicarla cada cinco años, y quizá se indica en pacientes menores de 60 años, ya que las lesiones de colon proximal se presentan en pacientes de edad avanzada, lo que implicaría el uso de colonoscopia completa. En un estudio se utilizó la prueha de sangre oculta en heces y se encontró una sensibilidad de 14.3% y especificidad de 79.2%, mientras que para la sigmoidoscopia flexible los valores fueron de 77.8 y 83.9%, respectivamente; sin embargo, la combinación de ambas pruebas no mejoro los resultados de la sigmoidoscopia sola.<sup>69</sup> Es común la utilización del colon por enerna con doble contraste y su práctica se recomienda cada cinco años; su sensibilidad para detectar pólipos y cáncer es menor que para la colonoscopia, pero no permite realizar una polipectomia o tumar hiopsias del tumor. Reduce la mortalidad por CCR en 33% de los casos, y detecta pólipos adenomatosos en 53% de los eventos con lesiones entre 6 y 10 mm y en 48% en aquellos mayores a 1 cm.<sup>98</sup>

El estudio de colonoscopia se recomienda realizar cada 5 a 10 años y depende de la historia personal, familiar o de la edad del paciente; permite la detección y resección de pólipos y biopsias de carcinoma de coloa. De los pacientes con CCR penximal avanzado. 50% no presente lesiones de coloa distal, mientres que en sujetos con CCR proximal a la flexura esplénica, 65% no presenta neoplasia distal al ángulo esplénico <sup>9048</sup> Su costo y riesgo son mayores y en algunos pacientes se dificulta completar el estudio. Los factores que se relacionan con colonoscopia incompleta son edad avanzada, género femenino y su realización en consultorio. La práctica de la colonoscopia completa comprende intubación cecal, lo que puede lograrse en 90% de los estudios, y se reporta una tasa de éxito hasta de 97.7%.\*\*

La colonografía virtual utiliza la tomografía helicoidal, que es un procedimiento poco invasivo, en donde se obtienen imágenes bi y tridimensionales en un colon distendido por aire que permiten evaluar los segmentos del colon. Es un método que tiene una baja sensibilidad (de 11 a 55%), sobre todo si las lesiones polipoides o los tumores son menores de 10 mm; pero en lesiones mayores a 10 mm su sensibilidad se incrementa de 50 a 91%.<sup>100,10</sup>

En la actualidad hay nuevos métodos de estudio como la tomografía con emisión de positrones-fluorodesoziglucosa (un análogo de la glucosa) y la TC (PET CT, por sus siglas en inglés), que ofrece información funcional y es de utilidad en pacientes con CCR y localización de metástasis a distancia, por lo que se incluyen en la práctica clínica, sobre todo, perque no son procedimientos invasivos, aun que cuentan con algunas limitaciones, como los adenomas planos, que no pueden detectarse, azí como las miorometás tasis; es un buen procedimiento para estudiar a los pacientes durante su seguimiento (figura 63 7).<sup>402,403</sup>

#### Tratamiento

Los primeros años del siglo XXI presentan los cambios más importantes en el tratamiento del cáncer colorrectal, y ello obadece a que el munejo de dichos pacientes lo debe realizar un equipo multidisciplinario que incluya oncólogo médico y quirúrgico, radiooncólogo, gastroenterólogo, radióloga, pa tólogo y enfermera especialista en cuidado de estomás y en aplicación de quimioterapia.

#### Tratamiento quirúrgico

La cirugía es el único tratamiento que se acepta como cura tivo y su mayor utilidad se observa en la enfermeded locali7ada (etapas clínicas I-IIIB). Las metas de dicho tratamiento son la estadificación clínica, al control locorregional de la enfermedad, aumentar los índices de curación y la sobrevida de los pacientes,<sup>104</sup>

La cirugía curativa para cáncer de colon consiste en resección del tumor primario con márgenes negativos (mínimo 5 cm)<sup>105</sup> y linfadenectomía regional máxima (deben exami narse como mínimo 13 ganglios para poder establecer ela rumente un N0, es decir, un muestreo ganglionar suficiente para catalogarse como negativo).<sup>106</sup>

Para el control locorregional del CA primario de recto se requiere realizar la escisión total del mesorrecto (ETM), la cual consiste en remover el contenido del espacio perirrectal y tam bién ganglice linfáticos, nervios, flujo arterial, drenaje senoso y linfático (figura 63-8). Dicho procedimiento disminuye los fodices de recurrencia local e incrementa la sobrevida global.<sup>46</sup>

Aquellos paciantes que tienen oclusión intestinal de colon derecho deben tratarse con resocción del tumor primario y anastomosis primaria, mientras que, en el caso de los tumores localizados en el colon izquierdo, ac debe realizar una descompresión inicial con una colostomía proximal y des pués resección del tumor, y en un acgundo tiempo quiríngico reanastomosis y cierre de la colostomía. En el caso de pacien tes que se presentan con perforación, se requiere resección inicial del tumor primario y colostomía de proteoción, y en un segundo tiempo reanastomosis y cierre de la colostomía.<sup>106</sup>

El desarrollo de metástasis hepáticas es la primora causa de muerte por cáncer de colon; en case de no recibir tratamiento, la expectativa de vida es pobre, entre 5 a 9 meses. Cuando es factible, la metastascetomía es la piedra angular del tratamiento, y en la actualidad es la única tempia curativa para los pacientes con enfermedad metastásica. Los pacientes elegibles con aquéllos en que la resección planeada es posible con márgenes libres y que el remanente hepático sea suficiente para conservar la función, lo cual es posible sólo en 10 a 25% de los pacientes. La morbimortalidad por este procedimiento es menor de 5% y en varias investigaciones ac reportaron índices de caración de 33 a 46 meaca y una aobrevida global a cinco años de 25 a 39%, 15ª En aquellos pacientes en los que la metastascetomía hepática no es posible, ya sea por el número, localización o tamaño de las lesiones, la alternativa de tratamiento, ya no con fines curativos sino como paliación, incluye ablación local, infusión arterial hepútica, isquemia selectiva hepática o quimioterapia sistêmica.<sup>10</sup>

#### Estadio clínico

El sistema TNM (cuadro 6.3-2) se recomienda y describe la extensión anatómica de la enfermedad, la cual constituye el factor pronóstico más importante, tanto para calcular la sobrevida global como para la incidencia de recurrencia local, ya que de acuerdo con el SEER (Analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results, en Estados Unidos) la sobrevida a cinco años, si se considera sólo el estadio clínico (BC), varia significativamente: para el BC I, 93.2%; BC IIA, 84.7%; EC IIB, 72.2%; EC IIIA, 83.4%; EC IIIB, 64.1%; EC IIIC, 44.3%, y EC IV, 8.1%, <sup>311</sup>

#### Tratamiento médico

Se comienza con la definición de las diferentes opciones terapéuticas, según el contexto clínico en el cual se utilizan:

- Neoadyuvante: se utiliza previo a un tratamiento radical (llámeac radioterapia, cirugía, quimio-radioterapia), Por lo regular, la finalidad de un tratamiento de este tipo consiste en disminuir el tamaño tumoral, pura fueilitar que el tratamiento radical mejore sus resultados (permitir bordes quirúrgicos de resección libres de tumor, disminuir el tamaño tumoral y realizar una operación preservadora del órgano).
- Adyavante, se utiliza posterior a un tratamiento radical, cuyo objetivo principal es mejorar sus resultados, y se mide como aumento de la sobrevida global e incremento en el tiempo para la recaída.
- Paliativo, es aquel que se ofrece al paciente con el objetivo de disminuir la sintomatología que se relaciona con la progresión tumoral (por lo general, dolor, disfunción del órgano afectado, síntomas constitucionales, entre otros).

#### Tratamiento adyuvante

Por más de 40 años, el 5-fluorouracilo (5-FU) fue el único fármaco activo, tanto para la enfermedud metastásica cumo para el tratamiento adyavante. En esta década el tratamiento estándar para la FC IV cambió, de ser con 5-FU cumo único agente, a combinaciones con irinotecán n exaliplarino con 5-FU y ácido folínico, con lo cual se derecatró un aumento tanto en los índices de respuesta como en el período. libre de progresión y en la sobrevida global. Debido a ello, estos regímenes de combinación se evaluaron como terapia adyuvante en comparación con el estándar (5-FU más ácido folínico).

En pacientes con EC III que se sometieron a cirugía con intento curativo, seis meses de tratamiento con 5-FU roás ácido folínico se acepta, por lo general, como un tratamiento de primera línea, con lo cual se demuestra que se incrementala sobrevida global de los pacientes con cáncer de colon entre 5 a 10% a cinco años;112 la investigación más reciente de terapia combinada como advuvante para EC III, el estudio MOSAIC, reportó un aumento en la sobrevida de 78.2% en comparación con 72.9% (p = 0.002), con una reducción en el riesgo de nuerte de 23%, por lo que se puede considerar como primera línea de tratamiento. Se utiliza el esquema estándar de 5-FU con ácido folínico durante seis meses: en esta etana clínica, el uso de esquemas combinados con oxaliplatino es incierto, va que de acuerdo con el estudio MOSAIC la reducción en el riesgo de muerte fue de 20%, un valor que no es estadísticamente significativo.11

En los pacientes con EC II el beneficio del tratamiento adyuvante no está bien establecido y se reserva para aquellos pacientes que presentan uno de los siguientes factores de riesgo para recaída: perforación u obstrucción intestinal, infiltración a la serosa (T4), permeación vascular o linfárica, tumor poco diferenciado, muestreo ganglionar menor a lo que se establece (<12) y márgenes quirúrgicos positivos.<sup>116</sup>

En el caso de pacientes con cáncer de recto, el principal sitio de recaída es el locorregional (10 a 15%). En el ámbito mundial se utiliza la radioterapia con o sin quimioterapia concomitante, de manera pre o posoperatoria, con lo que resulta un incremento en la sobrevida global y en los índices de control local.<sup>15</sup>





Figure 63-8 A, estudio de PET-CT que muestra un engrosamiento de la parei del colon con sospecha de tumoración. B, ver en al centre vinculado de aprendizaie la figura 61-5 B, estudio de PET-CT con captación del marcador.



Figura 63-9 Se muestra una tesión en tercio superior del recto y en Inea punteada se observa el límita quirúrgino necesario para la escisión total del mesorrecto.

#### Tratamiento de la enfermedad metastásica

En pacientes con enfermedad metastásica el tratamiento se basó, hace 10 años, sólo en 5-FU, con diferentes dosis y esquemas, ya sea en holo o en infusión, este filtimo menos tóxico, con ácido folínico o sin él, con lo que se obtenían, basta ese momento, índices de respuesta de 23% y una sobrevida global de 12 meses.<sup>13</sup> Ahora, la terapia en regimenes de combinación con irinotecán u oxaliplatino aumenta tanto los índices de respuesta, de 23 a 55%, y la sobrevida global de 12 meses a más de 21 meses cuando se utilizan en enquemas de infusión, por lo que en la actualidad se consideran trata mientos estápidar de primera línea (cuadro 63-3).

Desde hace poco, las fluoropirimidinas orales como la capecitabina pueden ser un sustituto de los regímenes en infusión con 5-FU y muestran ser igual de efectivas como agente único, así como en los esquemas que se combinan con oxaliplatino, con una menor toxicidad.<sup>117</sup>

#### Terapia blanco

Varios agentes novedosos, que conforman un grupo que se llama de terapia dirigida por objetivo, se incluyen como agentes finicos o combinados con quimioterapia para valorar su potencial eficacia. Algunos de los más promisorios comprenden los anticuerpos contra el receptor de crecimiento epidérmico (EGFR), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y su receptor (VEGFR).

En 2004, dos agentes fueron aprobados en varios países por su eficacia en estudios de fases II y III para cáncer de colon metastásico: bevacizumab y cetuximab.

El desarrollo de nuevos vasos sanguíneos es un proceso que se conoce como angiogénesis, la cual juega un papel

Tumor primario	THE REPORT OF THE REPORT OF THE REPORT OF THE	and investment	and the second sec
n el contra contra de la	Tumor que invade la submucosa	15月1日-1月2月1日-16月1日	
72	Tumor que invade la muscular propia		
Backson and the second	Tumor que invade haeta la subecrosa e	los tejidos penrectales o pened	ilcos no peritorizados
T4	Tumor que invade órganes o estructuras	s adyacentes o periora el perio	ineo viscorel
Conglos Inválicos regionales			
ND CH	Sin metástasis a gangilos regionales		
11日本の語の この 二の名称 いい	Metastasis de ono a tras gangãos region	rales	
42	Metástasis a cuatro o más ganglios regi	ionales	AND REAL SHERE
vetāstass		Contraction and the state	Strange Charles The
ll.	Sin metástasis a distancia		
NO.	Con metástasis	and the second for	
	Elapa cinici		
Etapa clínica	T	N	М
and the other starts	Ts server	NO	MD
	π	MO	MO
He was and a to see the second of	TR CARLES TR	NO AND AND	MD
and the state of the second state of the secon			445
All	T	NO	MV
UA E	TD TA Second	NC NC	MO
ua E IA	حت 14 11-12	NC NC NI	MO
IA E IA IB	T2 T4 TI-T2 T3-T4	NC NC NI NI	MO MO MO MO
IA EE IA IB IC	T3 T4 T1-T2 T3-T4 Ousliquier T	NC NC NI NI N2	MO MO MO MO MC

#### Cuadro 63-2 Clasificación TNM

Cuadro 63-3 Diferentes esquemas de tratamiento, su respuesta y sobrevida

Regimen	Tasa de respuesta (%,	Sobrevida global (incses)
5-FU - ácido folínico	20 a 23	126 a 147
innelecán eo bolo	31 a 35	15 a 15.6
Innoteción en osquema de infusión (FOLFIR)	56	215
Oxalipiatino en esquerra do intusión (FOLFOX)	45 a 54	15 a 20%
5-FU en bolo - bevacizametro	-41	207
Irinotecán en balo (FL) * pevadizumebo	45	دىم
FOLFOX + bevacizumabo	53	26.0
Capecitabina + ovaliplatino (XELOX) + bevacizumabo	48	270

importante en muchos procesos parológicos como el cáncer. El VEGF es un factor crítico proangiógeno, además de que influye en otras funciones celularen como la proliferación, migración y reclutamiento de las células progenitoras endoteliales. La sobreexpresión de diebo factor correlaciona con invasión tumoral y pobre pronóstico.<sup>10</sup>

El bevacizamale ca un anticuerpo monoclonal humano que se une con todas las isoformas del VEGF y previene su unión con sus receptores. En un estudio piloto de fase III que incluyó más de 900 pacientes, en donde se administró un esquema de initotecián en bolo (IFL) como terupia de primera línen en câncer de colou, la adición del bevacizamale demostró incrementar de nomera significativa los índices de respuesta y la sobrevida glubal de casi cinco meaca (condro 63-3). El efecto adverso unás importante fue la hipertensión arterial.<sup>119</sup> Con posterioridad se combinó con diferentes esquemas de quimitoterapia, cuya opción primaria fue el irinoteción en infusión (FOLFIRT) o con oxaliplatino, en una segunda línea.

El EGFR es una glucoproteína que se compone de un dominio extracelular, que se une con el ligando, una región transmembrana y una región citoplasmática tirosincinasa, que comprende el dominio intracelular. Posterior o su unión con el factor de crecimiento endotelial, ac activa la vía de tirosincinasa y a su vez múltiples vías de regulación interna que controlan el crecimiento y división celular. La sobreexpresión del EGFR se presenta en aluctedor de 25 a 77% de las neoplacias colorrectales y as relaciona con un pobre pronóstico.<sup>19</sup>

El cetuximab es un anticoerpo quimérico que se deriva de DNA recombinante. La unión con el ERGR resulta en la interrupción de la vía intracelular autocrina y se detiene la metosis celular en lase G1. De acuerdo con el estudio de Cunningham y colaboradores, se demostró un beneficio en la sobrevida global de 6.9 a 8.6 meses en pacientes que se trataron ames. Su indicación actual, según las guías interna cionales, es en combinación con irinotocón en pacientes con cáncer de colon metastásico refractario a irinotecán. La quimioterapia de segunda línea en cáncer de colon metastásico se debe considerar sólo en aquellos pacientes que conservan un buen estado funcional.<sup>120</sup>

#### Quimioprevención

El tratamiento de quimioprevención se puede realizar en cualquier momento de la progresión de la enfermedad. El CCR tanta en desarrollarse entre 10 y 20 años y da tiempo para la identificación de algún fuctor de riesgo o lesión epitelial en el colon. Cambios en el daño molecular, basta la invasión tisular y el desarrollo de metástasis, contribuyen a la progresión neoplásica. Los adenomas son lesiones neoplúsicas tempranas, y los ensavos de quimioprevención se enfocan en su reducción. Los adenomas muestran muchas alterariones moleculares comunes y semejantes al CCR y cuentan con fartures positivos de riesgo, como edad, historia personal y familiar, para neoplasia colorrectal, así como factores de la dieta. Actualmente un 5% a 6% de los individuos pueden desarrollar CCR durante su vida.

Se ha demostrado que los malos hábitos en la dieta son un factor de riesgo en 90% de los casos de CCR, como pobre ingesta de fibra en la dicta, y alta en cantidad de grasa, así como una pobre actividad física. Se sugiere el consumo de 30 a 35 g de fibra al día, ya que aumenta el volumen del bolo focal y acelera el tránsito intestinal, con lo que se reduce la exposición epiralial a carcinógenos intraluminales y disminuye el efecto inflamatorio y oxidativo mediante el consumo de antioxidontes que contienen las frutas y verduras. La fibra dilnye los carcinógenos fecales, altera el metabolismo de los ácidos biliares, reduce el pH del colon y como se ha comentado anmenta la síntesis de ácidos grasos de cadena corta. 66,87 La mayoría de los estudios de casos y controles y cohorte han demostrado que un alto consumo de fibra, vegetales y posiblemente frutas disminuyen el riesgo de CCR en un 40% 50%; sin emhargo, existen otros estudios en donde no se ha encontrado efecto alguno en la disminución de cáncer de colon y la ingestión de fibra. 120

El consumo de carnes rojas, más de 5 veces por semana, se ha asociado a un aumento del cáncer de colon o riesgo de adenoma. Su consumo estimula la secreción de Insulina endógena que es un mitógeno, también es una fuente de grasa saturada, hierro bem y aminas carcinogénicas.

La vitamina A, ácido ascórbico, vitamina E y selenio pueden neotralizar radicales libres, con lo que se reduce la oxidación y el daño al DNA inducido por carcinógenos. Se demostró que algunos pacientes que consumen carotenos beta, que no fuman ni toman alcohol, llegan a tener una reducción de 44% de adenomas recurrentes. El ácido fólico se encuentra en frutas y vegetales verdes y la metionina en carnes rojas, pollo y pescarlo, por lo cual todos ellos proveen grupos metilos necesarios para la síntesis de DNA y la expresión de los genes. Su deficiencia contribuye en la carcinogénesis colorrectal, con lo que se alteran la síntesis

do DNA, su reparación o su expresión transcripcional. Con la ingestión de folutos se demostró una disminución de 25 a 15% de riesgo para el desarrollo de adenomas colorrectales y en aquellos pacientes que los ingirieren por más de 14 años el riesgo se reduce hasta en 75%.<sup>36</sup> También la viramina D y el calcio se unen con la bilis y ácidos grasos y forman jabones insolubles, al tiempo que secuestran socrancias mutágenas. Además, el calcio puede inhibir la proferención epitelial en el colon y modula la actividad de la profeincinasa C, con lo cual se estabiliza la membrana celular, o modifica las mutaciones del K-ros. La vitamina D puede reducir el riesgo de CCR mediante varios mecanismos, reduciendo la profiferación bacteriana, inhibiendo In angiogénesis, promoviendo la diferenciación celular y estimulando la apoptosis.<sup>121</sup>

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tienen efecto sobre todos los estadios de cáncer colorrectal. Sa mecanismo principal es la inhibición de la enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1, COX-2). La COX cataliza la conversión de ácido araquidónico en eicosanoides activos, e incluye prostaglandinas y lipooxigenusas.101 La COX-1 se expresa. en una gran variedad de tejidos, mientras que la COX-2 se manifiesta sólo en unos pocos. Una variedad de estímulos inflamatorios y neoplásicos (citocinas y mutágenos) induce expresión masiva de COX-2, que es una característica del esrado preinvasivo e invasivo del CCR, aunque también se expresa en neoplasias extracolónicas. Si se inhiben ambas enzimas COX con los AINE, se puede reducir la proliferación epitelial, inducir apoptosis y reducir la neoangiogénesis.101,102 También los AINE favorecen sus efectos antineoplásicos al estimular los ligandos del receptor activado proliferador de peroxisomas (PPAR). Muchas investigaciones demostraron una reducción en la frecuencia de aparición de adenomas. de entre 40 y 50%, en quienes toman AINE selectivos o no selectivos, en promedio, por más de 12 meses. Sin embargo, el uso de AINE no carece de efectos secundarios: el riesgo de ulceración o hemorragia aumenta en pacientes mayoras de 60 años, con empleo concomitante de otros fármacos, antecedentes de úlcera y hemorragia, y por la presenciade enfermedades concomitantes.<sup>121,122</sup>

En términos generales, los AINE y la aspirina sólo se deben administrar a aquellos pacientes que muestran una alta expresión de COX-2, con presencia de adenomas o cáncer colorrectal, y se debe cuidar la aparición de efectos adversos gastrointestinales y cardiovasculares.

La effornitina (difluorometilornitina) inhibe de manera irreversible la descarboxilasa de ornitina, una enzima específica para la síntesis de poliaminas. Las poliaminas parecea ser promotoras de la proliferación celular y de su progresión a neoplasias. La effornitina se utilizó en 1970 como quimioterápico, después se ahandonó por sus máltiples efectos adversos; también se utilizó en el tratamiento de tripanozomiasis y en neumonías por Pneumocystis carinii. 12 En los pocientes con CCR, la pérdida de la función de APC se relaciona por lo general con la sobreexpresión de c-myc, y se favorece un aumento en la expresión del RNA de la descarboxilasa de ornitina. 109-111 La actividad de la descarboxilasa de ornitina y el contenido de poliaminas es mayor en pacientes con adenomas y CCR que en pacientes sanos. Se demostró que la effornitina reduce la incidencia y el crecimiento de adenomas y carcinomas. La sobrevida de los pacientes con CCR depende de su estadio clínico; desde el punto de vista molecular, se pueden identificar varios subtipos que comprenden un pronóstico más favorable, 133

#### Conclusiones

El CCR es una enfermedad neoplásica frecuente en Estados Unidos y Europa, en México, ocupa el segundo lugar en frecuencia de tumores de tubo dígestivo. Los factores más comunes son una dieta pohre o deficiente en fibra y antioxidantes, así como cambios en la microbiota intestinal son factores que inducen un riesgo importante. El aumento cada vez mayor de la obesidad en la sociedad actual ocasiona otro factor de riesgo potencial, que favorece el desarrollo de enfermedades metabólicas y la posible aparición de tumores en diferentes órganos, como próstata, páncreas, colon e hígado, entre otros. Se han reconocido varios factores genéticos y epigenéticos como precursores de defectos nuoleculares que producen inflamación, proliferación celular y crecimiento tumoral. Un diagnástico temprano o reconocimiento de los factores de riesgo así como la utilización de métodos de diagnóstico y tratamiento que pueden curar y aumentar la sobrevida de los pacientes, así como también la práctica de la quimioprevención que incluye terapia nutricional y farmacológica, pueden ser de mucha utilidad.

# Referencias

- Giovannucci E, Michaud D. The role of obtaity and related metabolic disturbances in cancers of the colon, prostate and pattereas. *Gastroenterology* 2007;132:2208-2225.
- Boyle P. Langma JS. A B Cof colorectal cancer. BMJ 2000;321:805-808.
- Getlad ZE, Provenzale D, Colorectal cancer: National and International perspective on the burden of disese and public health impact. Gastroeniceology 2010;138:2177–2190.
- Gonadez Trujille JL, Vargas Veráchevá F, Terres Villalobos G, Milke P, Villalobos-Pérez JJ. Variaciones en un periode de 24 años del cáncer colorrectal y gástrico en México. Rev Gastroenzeral Mex 2003;68:120-125.
- Pignone M, Rich M, Teutsch SM, Berg AO, Lohr KN. Screening for colorectril cancer in adults in average risk: a summary of the evidence for the US Preventive Services Task Parce. Ann Intern. Med 2002;137:132-141.

- Seeff LC, Manninen DL, Dong FB, et al. Is there endoscopic capacity to provide colorectal cancer screening to the unscreated population in the United States.
- Res DK, Johnson DA. Lieberman DA. Burt RW, Summellerg A. Celoreotal emeer provention: screening recommendation of the American College of Eastroenterology. Am J Gastroenterol 2000;95:868-877.
- American Society for Gastrointestinal Endoscopy. Guidelines for colorectal cancer screening and surveillance. Gastrointest Endosc 2000;51:777-782.
- Sckinov I, Rossell SL, Antunes LC, Finlay D, Gnt microbiota in health and direase. *Physical Rev* 2010;90:859-904.
- Potter JD. Slattery ML. Bostick RM. Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiology Rev* 1995;15:499-526.
- Wu AH, Paganini Hill A, Ross RK, Henderson BE. Alcohol, physical activity and other risk factors for colorectal cancer. Br J Concer 1987;55:687-694.
- Haenzeel W, Kuriharu M. Scalier of Jupanese migrants. I. Mortality from enneer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 1968;40:43-68.
- The alpha tocopherol beta-curviene cancer prevention study group. The effect of vitamin E and Beta carotene on the incidence of lung cancer and others cancers in men smokers. N Engl J Med 1994;330:1029-1035.
- Colditz G, Cantoanio C, Frazier A. Physical activity and reduced risk of colon cancer implication for prevention. *Concer*, 1997;8:649-667.
- Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. Gattroeuterology 2007;132:2087-2102.
- Yang Y, Zhang D, Feng N, Chen G, Liu J, Chen G, Zhu Y, Excreased intake of vegetables, but no frint, reduces risk for hepatocellular carcinoma: mata-analytic. *Gasnoenterology* 2014;147:1031-1042.
- 17 Tremaroli V, Backhod F. Functional interactions between the gut microbiota and host merabolism. *Natures* 2012;489:243-249.
- Turnbaugh PJ, Harnady M, Yasunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, et al. A core gut microbiome in obese and least twins. Nature 2009;457:480-484.
- Macfarlane S, Macfarlane GT, Regulation of short-chain fatty acid production. Proc Nutr Soc 2003;62:67-72.
- Bourriaud C, Akoka S, Goupey S, Robins R, Cherbut C, Michel C. Butyrate production from lactate by human colonic microflora. *Reprod Nutr Dev* 2002;42:S55
- 21. Van Engeland M, Wetjenberg MP, Roemen GMUM, Brink M, do Braine AP, Goldbohm RA, et al. Effects or dictary follow and alcohol intake on promotor methylation in sporndic colorectal concert. The Netherlands Cohort study on diet and cancer. *Cancer Res* 2003;65:3133-3137.
- Giovannucci E. Michaud D. The role of obesity and related metaholic distarbances in cancers of the colon, prostate and panercas. *Guarcometrology* 2007;132:2208-2223.
- Calle E, Rodriguez C, Waher-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studied of US adults. N Engl J Med 2003;318:1625-1638.
- Baxter NN, Tepper JE, Dirham SB, Rothenberger DA, Virnig BA. Increased risk of rectsl cancer after prostate radiation: A population-based study. *Gastroenserology* 2005;128;819-824.
- Lemand-Jones JE, Melvilla DM, Monson DC. Prevances and cancer in extensive adventive celitis: Findings among 401 patients over 22 years. *Cut* 1990;31:800-809.
- Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, Rumbles S, Schotheld G, Kamm M, et al. Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative coliris. *Gastraenterology* 2004;126:451-459.

- Hamilton SR. Colorectal carcinoma in patients with Crotur's discase. Generoenterology 1985;80:318-324.
- Risques KA, Rabinovitch PS, Brentnall TA. Cancer surveillance in inflammatory lower disease: new molecular approaches. Curr Opin Contemporation 2006;22:382–390.
- Kim SC, Tonkonogy SL, Albright CA, Tsang J, Baliah HI, Bruun J, et al. Variable phenotypes of enterocolitis in interleukin 10-deficient mice mono associated with two different commercial becteria. *Gastroenterology* 2005;128:891-906.
- Wang A. Huycke M.M. Extracellular superviside production by Enterococcus factalia promotes chromosocial instability in manumalian calls. Gasnessievology 2007;132:551-561.
- Winawer SJ, Zauber AG, Gercles H, Risk of colorectal cancer in families of patients with adenomatous polyps. N Engl J Med 1996;334:82-94.
- 32. Azltonen LA, Salovara R, Kristo P, Canzian F, Hernminhi A, Peltomaki P, Chadwick KB, et al. Incident of hereditary non-polyponis coloractal concer and the feasibility of molecular screening in the disease. N Engl J Med 1998;338:1481-1487.
- Sotamaa K, Liysnarachchi S, Meeklin JP, Järvinen H, Aalennen LA, Peltorniki P, et al. p53 Codon 72 and MDM2 SNP309 polymorphisms and age of colorectal cancer onset in Lynch synchrome, *Citis Cancer Res* 2005;11:0540-0544.
- Kinzler KW, Vogelstein B. Colorectal sumors. En: Seriver ChR, Booudet A. Sly WS, Valle D (ed). The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing division 2001.
- Kim YI. Nutritional epigenetics: impact of folate deficiency on DNA methylotion and colon cancer susceptibility. J Nutr 2005;135:2703-2709.
- 36. Barnetson RA, Tenesa A, Partington SM, Nichell ID. Cemarskyj R, Portsour ME, et al. Identification and curvival of carrier: of mutations in DNA mismatch-repair genes in color cancer. N Engl J Med 2006;354:2751-2763.
- Davidson NO. Genetic testing in colorectal cancer: who, when, how and why. *Keio J Med* 2007;56:14-20.
- Giantello FM, Brensinger JD, Petersen GM, AGA technical review on hereditary colonectal cancer and genetic reading. *Gas*treamenology 2001;121:198-213.
- 39. De Vogel S, van Engeland M, Luchtenborg M, de Braine AP, Rasmen GM, Lentjes MH, et al. Dietary folare and APC mutations in sporadic colorectal cancer. J Nutr 2006;136(12):3015-3021
- Iacopena B, Russo A, Bazan V, Dantanoni G, Gebbia N, Soussi T, et al. TP33-CRC Collaborative Group. Functional coorgonies of TP50 mutation in colorectal cancer: results of an International Collaborative Study. Ann. Oncol 2006;17:842,847
- Bohnhornnie C, Duluc L Martin E, Chawengsaksophak K, Chenrad MP, Kedinger M, et al. The home box gene edx2 a tumor suppressor function in the adult colon, distinct from its homeolic role during intestinal development. Gat 2003;52:1465-1471.
- 42. Scisaefer KL, Tukuhashi H, Morales VM, Harris G, Darton S, Osawa E, et al. PPAR gamma inhibitors reduce tabulin protein levels by a PPAR gamma. PPAR delta and protessome independent mechanism, resulting in cell cycle arrest, apoptosis and reduced metastasis of colorectal carcinoma cells. Int J Cancer 2007;120:702-713.
- 4.1 Winawer XI, Zauber AU. The national polyp study: design methods and characteristics of patients with newly diagnostic polype-Caucar 1992;70:1236-1245.
- Vant MH. Stalsberg H. The prevalence of polyps of the large intestine in Oalo. An autopsy study. *Cancer* 1982;49:819-825.
- Bernstein MA, Feozlo PJ. Distribution of colonic pulyps: increased incidence of proximal lesions in older patients. *Radiabogy* 1985;155:35-38.

- Fenoglio CM, Pascal RR. Colorectal adenomas and cancer: pathologic relationship. Cancer 1982;50:2601-2908.
- Chávez FJ, Romoro T, González S, Lence J, Santos T, Ricsgo de martir por váncer en Callos. Rev Cubana Oncol 1997;13(1):5-11.
- Rodriguez Gardón L Cáncer recincólicu. Rev Cubana Med Gen Integr 2001;17(2):179-184.
- 49. Valle L. Genetic predisposition to colorectal cancer: where we stand and future perspectives. World J Gestroenterol 2014;20:9828-9849.
- 50. Stoffel EM, Mangu PB, Gruher SB, Hamilton SR, Kalady MF, Lea MW, et al. Heroditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline en darsement of the familial risk-colorectal cancer. European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. J Clin Oncol 2015;33:209-217.
- Zhang T, Boswell EL, McCall SJ, Hsu DS. Mismatch repair gone awry: Management of Lynch syndrome. Crit Rev Oneol Hentated 2015;93:170–179.
- Berg M, Sarcide K. Genetic and epigenetic traits as biomarkers in colorectal cancer. Im J Mol Sci 2011;12:9426-9439.
- Haglund HR, Berg M, Johna FW, Carlsen A. Soneide K. Molecular pathways and cellular metabolism in colorectal cancer. *Dig Surg* 2013;30:12-25.
- Chriello G, Miller ML, Aksny BA, Senbahaoglu Y, Schuliz N, Sander C. Emerging landscape of oneogenic aignatures serous human cancers. Nat Gener 2013;45:1127-1133.
- Cancer Genome Atlas Network. Commehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. The Cancer Genome Atlas Network. *Nature* 2012;487:330-337.
- Strumer P, Brunkman AH, Assenov Y, Malarese P, Kaan A, Subaduo L, et al. Comparative genome-wide DNA methylation analysis of coloreotal tumor and matched normal tizenes. *Epigewerker* 2012;7:1355-1367.
- Berg M, Hagland HR, Søreide K. Comparison of CpG island methylator phenotype/CIMP) frequency in colou cancer using different probe- and gene-specific scoring alternatives on recommonded multi-gene panets. *PLoS One*, 2014 Jan 21:9(1):e8be07.
- Guel A, Boland CR. Epigenetics of colorectal curver. *Guarmenternlogy* 2012;143:1442-1460.
- 59 Munclade R, Imperiale TF, Prabha L, Loehner PI, Lu T, Genetic pathways, prevention, and treatment of sporadic colorectal cancer. *Oncoscience* 2014,1:400-406.
- 60 Jia Y, Guo M, Epigenetic changes in colorectal cancer. Chin J Cancer. 2013;32:21-30.
- Karuzana ski J, Babel T, Paziewska A, Mikulu M, Bajka M, Kober P, et al. Histons 113 lysens 27 asstylation is altered in colon cancer. *Clin Proteomics* 2014;11:24.
- Menéndez P, Padilla D, Villarejo P, Palomino T, Nieto P, Menéndez JM, Rodriguez-Montes JA, Prognostic Implications of serum microRNA-21 in colorectal cancer. J Surg Oncol 2013;108:369-373.
- Korannoto S, O'Hara T, Flat early cancer of the large intestine. Cancer 1909;64:950-955.
- 64 Horny HP, Horst HA, Lymphoceticular infiltrates in adenocarcitions of the large intestine. Parkol Rev Pract 1987;182:222-227.
- Resch A, Schneider NI, Langer C. Pathological evaluation of colorectal cuncer specimens: advanced and early lesions. *Chek Paral* 2015;51:12-22.
- Lofus EV, Trennine WT, Habermann TM, Harusser WS, Zinsmeioter AR, Sandborn WJ, Risk of lymphoma in infl ammatory bowel disease. Am J Germannan 7000;95:2308-2312
- Cawkwell L. Gray S. Murgatroyd H. Choice of management strategy for colorectal cancer based on a diagnostic immunohistochemical test for defective mismatch repair. *Gut* 1999;45:409-415.

- Khurann V, Stollman N, Rogers AL Colorectal cuncer: predicting, prognosis for patients and probands using immunohistochemistry. *Am J Gastroenzerol* 2000;95:2981-2982.
- 69. Steinber SM, Barkin JS, Kaplan RS, Prognostic Indicators of colon contexts. the gasarointestinal tumor study group experience. *Context* 1026;57:1866-1878.
- Mandel JS, Church TR, Bond JH, Edwar F, Geisser MS. Mongin SJ, et al. The effect of feeal occult blood screening of the incidence of coloractal cancer. N Engl J Med 2000;343:1603-1607.
- Lieberman DA, Weias DG. For the Veterans Affairs Cooperative ve Bludy Group. One time screening for coloroctal cancer with combined feeal occult blood test and examination of the distal color. N Fagl J Med. 2001;345(8):555-60.
- 72. Watson WS, Sammon AM, Body composition in cachexia resulting from malignant and non-malignant disenses. Cancer 1980;46:2041-2047. Withawer S, Pletcher K, Kex D, Bond J, Burt R, Perrucci J, et al. Colorectal cancer screening and surveillance, clinical guidelines.

and rationales update base on new evidence. Generotenerology 2003:124:544-560.

- Mandel SJ, Bond JH, Church TR, Snover DC, Bradley GM, Schuman LM, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesote color cancer control study. N Engl 3 Med 1995;328:1505-1371.
- Hamicustle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, Moss SM, Amar SS, Balikur TW, et al. Randomized controlled trial of feeal oc cult-blood sereening for colorectal cancer. *Lancet* 1996;348:1472-1477.
- Young GP, John JB, Winawer SJ, Rozen P. Choice of fecal occult blood test for colorectal cancer screening: recommendations hased on performance characteristics in population studies. A WHO and OMED report. *Am J Contrastnerol* 2002;97:2499-2507.
- Allison JE Tekswa IS, Ramoen LJ, Adrain AL, A comparison of fecal occult-blood test for colorectal screening. N Engl J Med 1996;334:155-159.
- 77 Rosoth A, Kristinsson J, Aadland E, Schjonsby H. Calprotectin: SUPPL: A sensitive marker of gastrointestinal neoplasia. *Gas*iroemerology 1993;104 (Suppl A):390.
- 78. Roosth A, Kristinsson J, Nygaard K, Aadlund E, Faceal lactolerin. A novel market of colorectal cancer in rats, longitudinal in vivo study. *Gastroantenology* 1995:108(Suppl):530.
- Osboru NK, Alilquist DA. Studt screening for colorectal cancer. molecular approaches. Gastroenterology 2005;128:192-206
- Sung JJ, Chan FKL, Leung Ch, Wu JC, Lau JY, Ching J, et al. Sciencing for colorectal cancer in Chinese: Comparison fo feeal occult blood test, flexible signecidoscopy, and colonoscopy. Gas transversiogy 2007;124:608-614
- Rev DK, Rahmani EY, Haseman JH, Lemmel GT, Kaster S, Buckley JS. Relative sensitivity of colonoscopy and barium enema for detection of coloroctal cancer in clinical practice. *Gastroenterolo* gy 1997;112:17-23.
- Lieberman DA, Weiss DG, Boad JH, Almen DJ, Garewal H, Cleefree G. Use of ectoucescopy to serven asymptomatic adults for colonectal cancer. Veterans affairs cooperative study group. N Engl J Med 2000;343:162-168.
- 83 Rex DK, Chak A, Vasudeva R, Gross T, Lieberman D, Bhattacharya I. Prospective determination of distal colon findings in average-risk patients with proximal colon cancer. *Gauncinear Endosc* 1999;49:727-730.
- 84 Shah HA, Postat LF, Saskin R, Stukel TA, Rabeneck L. Factora associated with incomplete colonoscopy: a population based study. *Guatroenterology* 2007;132;2297-2303.
- Johnson CD, Toledano AY, Herman BA, Dachman AH, McFarland EG, Barish MA, et al. Computerized tomographic colono-

graphy: performance evaluation in a retrospective multicenter setting. Gastroenterology 2003;125:688-695.

- Van Dam J, Cotton P, Johnson CD, McFarland BG, Pineso BC, Provenzale D, et al. AGA future trends report: UT colonography. Gastroenterology 2004;127:970-954.
- Veit-Halbach P, Kuchle CA, Deyer T, Stergar H, Kuohl H, Sohmi dt J, et al. Diagnostic accuracy for colococtal cancer staging with whole-body PETICT colonography. JAMA 2006;296:2590-2600.
- Lang L. Whole-body sears for colorectal diagnesis. Gastroomemlogy 2007;132:473-474.
- National comprehensive cancer network, Clinical Practice Guideline in Oucciogy, Colon Cancer. NCCW, 2007.
- Cohen A.M. Surgical considerations in patients with cancer of the colon and rectans. Somin Oncol 1991;18:381-387
- 91 Joseph NE, Sigurdson ER, Hanlon AL, et al. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. Ann Surg Oncol 2003;10:213-218.
- Cervanies J. A multimodality approach to localized restal cancer. *Ann Oncol* 2006;17(10):x129 x134.
- Cohen AM. Surgical considerations in patients with concer of the colon and roctum. Semin Oncol 1991;18:381-387.
- Jamison RL, et al. Heparic resection for metastatic colorectal concer results in cure for some patients. Arch Surg 1997;132:505-510.
- Van de Velde. Treatment of liver metastases of colorcetal cancer. Ann Oncol 2005;16 (2):ii144-ii149.
- 96 O'Connell IB, Maggard MA, Ko CY, Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. J Natl Cancer Inst 2004;96:1420-1425.
- Arnold D. (Neo) Adjuvant treatments in colorectal cancer. Ann Oncol 2005(16(2):1133-0140.
- 96 Sargent DJ, Guldlerg RM, et al. A pooled analysis of adjuvant characterapy for resourced colon concer. N Engl. I Med. 2001;345:1091-1097.
- André T, Boni C, et al. Oxaliplatin, Buorouracil and leucovorin as adjuvant treatment for color cances. N Engl J Med 2004;350:2343– 2351.
- 100. De Gramont A, Boni C, et al. Oxallplath/3 PU/LV in stage II and III colon cancer, cyclated results (as of January 04) for efficacy and neurotoxicity of the MOSAJC trial. Ann *Oncol* 2014;15(3):iii73.
- 101 Petersen VC: Baxter KJ. et al. Identification of objective pathological prognostic determinants of model in prognosis on Dokes B colon cancer. Gut 2002;51:65-69.
- 102. Cascinu S, Georgulias V, et al. Colorectal cancer in the adjuvant senting: perspectives on meaning and the rule of prognostic factors. *Ann Oncol* 2000;14(2):ii25-ii29.
- 103. Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. N Engl J Med 1991:324-709-715.
- 104 Grownmucci E. The epidemiology of vitamin D and cancer incidence an mortality: a review, *Cancer Conses Control* 2005, 16:53-95.
- 105. Willou WC, Stamples MJ, Coldita GA, Rosner DA, Speiser FE, Relation of meat, fat, and fiber instate to be risk of colon educer in a prospective study among women. N Engl J Med 1990;323:1664-1672.

- 106. Fornari G, Guglielmi A, Sobrero A. The handling of metastatic colorectal cancer. Ann Oncol 2005;18(2):ii141-ii143.
- 107. Siewczynski AD, Schmoll R. The integration of target agents into systemic therapy of metastatic colorectal cancer. *Ann Occol* 2006,17(10):x122-x126.
- IOB, Choi HJ, Hyun MS, Jung GF, et al. Turnor angiogenesis as a prognesric predictor in coloractal carcinoma with special reference to mode of metastasis and locurrence. *Oncology* 1998;55:575-581.
- 109. Hurwitz H, Fehrenbacher I, et al. Bevacizumeb plus irinotecan, fluouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. N LogI J Med 2003;330:2335-2342.
- Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et el. Cetuximab monothera py and essayimab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. N Engl J Med 2004;151:337-345.
- III. ESMO guidelines working group. Advanced colorectal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2007;18(2):0125–026.
- BZ. Hawk ET, Unan A. Vines JL. Calocectal cancer chemopreventionan everytew of the science. *Controcationology* 2004;126:1423 1447
- Alberts DS, Martinez MR, Roe DJ, Guillon-Rodriguez JM, Marshall IR, van Leeuwen JB, et al. Ltok of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. Phoenix colon cancer prevention physicians network. N Engl J Mod 2000;342:1156-1162.
- Kritchovsky D. Epidemiologya of fibre, resistant starch and colometal educer. Eur J Cancer Prev 1995;4:345-352.
- IE, Chan AT, Giovannucci EL, Primary prevention of colorectal cancer. Gastroenterology 2010;138:2029-2043.
- 86. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Fuchs C, Rosner, et al. Multivitamin pse, folare, and colou cancet in women in the Nurses' Health Study. Ann Intern Mod 1998;129:517-534.
- 177. Baron JA, Cole BF, Mott L, Haile R, Grau M, Church TR, et al. Neoplastic and nonineoplastic eff ects of beta-carotene on coloroctal adenoma recurrence: results of a randomized trial. J Natl Cancer Intl 2005;95:717-722.
- BB. Choi SW, Misson JB. Polate and caroinogenesis. and integrated scheme. J Nuov 2000;130:129–132.
- Parronso C, García Rodriguez L A, Landolfi R, Baigent C, Low dose aspirin for the prevention of atcrothrombosis. N Engl J Med 2005;353:2373-2383.
- 120. Sheehan K.M., Sheahan K., O'Donoghue DP, MacSweeney F. Conroy RM, Fitzgerald DL et al. The relationship between cyclooxygenuse-2 expression and colorectal cances. *IAMA* 1999;202:1254-1257.
- 121. Chan AT, Ogino S, Fuchs Ch. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. N Engl J Med 2007;356:2131-2142.
- 122 Kerr DJ, Dunn JA, Langman MJ, Smith JL, Midgley RSJ, Stanley A, et al. Rolecordb and conflowascular adverse evolus in adjuvant meanness of colorectal cancer. N Engl J Med 2007;357:360-360.
- 123. Sinierope F, Shi Q, Smyrk T, Thibodeou. Dienstmann R, Guinney I, et al. Molecular markers identify sublices of state III colon cancer associated with patient outcomes. *Gastraenierology* 2015;148:88-99.

# Effect of oral magnesium supplementation on the transcription of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 in individuals newly diagnosed of pre-hypertension. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial

Mariana Rodríguez-Ramírez<sup>1</sup>, Martha Rodríguez-Morán<sup>1</sup>, Miguel A. Reyes-Romero<sup>2</sup>, Fernando Guerrero-Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biomedical Research Unit, Mexican Social Security Institute, at Durango, México; <sup>2</sup>Department of Molecular Medicine, Faculty of Medicine and Nutrition, Juarez University of Durango State, Durango, Mexico

**Correspondence:** Fernando Guerrero-Romero, Canoas 100, 34067, Durango, Dgo., Mexico <guerrero.romero@gmail.com>

**Abstract.** A stringent regulation of influx and efflux of magnesium by cation transporters seems to play an important role in the regulation of blood pressure (BP). With this regard, we evaluate the effect of oral magnesium supplementation on the transcription of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1, in individuals with incident pre-hypertension (preHTN). For such purpose, we conducted a randomized, double-blind, placebo-controlled trial that compared 18 individuals who received oral magnesium lactate (360 mg elemental magnesium) versus 18 individuals who received placebo, during 4 months. Diagnosis of hypertension or normal BP, diabetes, alcohol intake, chronic diarrhea, use of diuretics, intake of magnesium supplementation, and reduced renal function were exclusion criteria. Regarding the transcription analysis of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 using RT-qPCR, leukocyte-rich plasma was obtained and total RNA was isolated with the kit Direct-zol<sup>TM</sup> RNA MiniPrep (Zymo). The leukocyte TRPM6 mRNA relative expression showed a significant increase  $(2.1 \pm 1.37 \text{ and } 0.8 \pm 0.4,$ P < 0.05), whereas the mRNA relative expression of both leukocyte TRPM7  $(0.8 \pm 1.1 \text{ and } 0.9 \pm 0.6, \text{ pNS})$  and SLC41A1  $(0.9 \pm 1.0 \text{ and } 0.7 \pm 0.6, \text{ pNS})$ showed no significant differences, between the magnesium and placebo groups, respectively. Oral magnesium supplementation increases the leukocyte TRPM6 mRNA relative expression, in subjects with new diagnosis of preHTN.

Key words: pre-hypertension, magnesium, TRPM6, TRPM7, SLC41A1

The Transient Receptor Potential Melastatin TRPM6 and TRPM7 are selective channels for divalent cations with permeability to  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  [1] that are regulated by changes in the concentration of cytosolic  $Mg^{2+}$  or Mg•ATP [2, 3].

The Solute Carrier family 41 member 1 (SLC41A1), a transporter for divalent cations

80

such as  $Mg^{2+}$  [4], was described as an Na<sup>+</sup>/Mg<sup>2+</sup> exchanger. The transporter function of SLC41A1 directly depends on extracellular concentrations of Na<sup>+</sup> and, indirectly from the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump and ATP [5, 6].

Report by Sontia *et al.* [7], based on the experimental model of hypertension (HTN), shows

To cite this article: Rodríguez-Ramírez M, Rodríguez-Morán M, Reyes-Romero MA, Guerrero-Romero F. Effect of oral magnesium supplementation on the transcription of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 in individuals newly diagnosed of pre-hypertension. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Magnes Res* 2017; 30(3): 80-7 doi:10.1684/mrh.2017.0426

that dietary magnesium ameliorates aldosteroneinduced damaging actions and reduces fibrosis in the kidney, heart, and aorta [7], strongly suggesting that, in addition to  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  plays an important role in the regulation of blood pressure (BP) [8].

Furthermore, it has been reported that  $Mg^{2+}$  has differential modulatory effects on vascular tone in rats [9], and that the reduced  $Mg^{2+}$  influx in vascular smooth muscle cells is associated with down-regulation of vascular TRPM7 [10]. In addition, it has been reported that a severely deficient magnesium diet induces kidney TRPM6 expression and the increase of  $Mg^{2+}$  renal reabsorption in mice [11]. Regarding SLC41A1, it has been shown that  $Mg^{2+}$  currents suggest a channel-like function [12], and that SLC41A1 encodes for the Na<sup>+</sup>/Mg^{2+}exchanger, the predominant  $Mg^{2+}$  efflux system [13]. These findings suggest that altered  $Mg^{2+}$  status is a count balanced by TRPM and SLC41A1 dependent mechanisms.

Given that the stringent regulation of influx and efflux of  $Mg^{2+}$ , by cation transporters, seems to play an important role in the pathogenesis of HTN, the aim of this study was to evaluate the effect of oral magnesium supplementation on the transcription of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1, in subjects with new diagnosis of preHTN.

#### **Materials and Methods**

With the protocol approval by the Ethical and Scientific Research Committees of the Mexican Social Security Institute (R-2013-785-023) and after obtaining the written informed consent from all the participants, a double-blind, randomized, controlled clinical trial was conducted.

Eligible subjects were apparently Mexican men and non-pregnant women, aged 35 to 65 years, with hypomagnesemia and new diagnosis of pre-HTN.

Diagnosis of HTN or normal BP, diabetes, alcohol intake equal or greater than 30 g per day, chronic diarrhea, use of diuretics, intake of magnesium supplementation in the previous six months, and reduced renal function were exclusion criteria.

Subjects were randomly allocated to receive either two tablets of 750 mg magnesium lactate twice daily before meals (*Limagal*, Silanes, Mex), equivalent to 360 mg of elemental magnesium, or two tablets of inert placebo twice daily, during 4 months. Computer-generated random numbers were used to assign participants to magnesium supplementation or placebo groups.

In addition, subjects in both groups were advised to consume a diet comprising 55% carbohydrates, 25% lipids, and 20% proteins as well as to perform physical activity 30 minutes per day, at least three times per week.

Weight and height were measured with the subjects in a standing position in light clothing without shoes, using a fixed scale with stadimeter (Tanita TBF-2015, Tokyo, Japan). The precision of scales for weight and height measurements was 0.1 kg and 0.01 m, respectively. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kilograms) divided by height (meters) squared. The waist circumference (WC) was measured as the minimum circumference at umbilical level.

The technique for measurement of BP was the recommended by the Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention. Detection. **Evaluation and Treatment of High Blood Pressure** [14]. In brief, the brachial artery BP was measured after at least 5 minutes of rest with the subjects seated and their arms bared and supported at heart level, using a baumanometer (Microlife AG, Heerbruff Switzerland) and stethoscope (3M Littman Classic II, Neuss, Germany). An appropriately sized cuff was placed on the left arm (right arm for left-handed individuals), and the pulse occlusion pressure. The Systolic Blood Pressure (SBP) was defined as the first appearance of sound (Korotkoff phase 1), and the Diastolic Blood Pressure (DBP) was defined by disappearance of sound (Korotkoff phase 5). Data were collected as the average of 3 readings separated by 2 minutes. The standardization of techniques and personnel training were performed before the starting of study in order to reduce the inter-observer variations to less than 0.05.

Definitions. The preHTN was defined as SBP  $\geq 120 < 140 \text{ mmHg}$  and/or DBP  $\geq 80 < 90 \text{ mmHg}$  [14]. Hypomagnesemia was defined by serum magnesium concentration < 0.74 mmol/L (1.8 mg/dL).

Assays. Whole-blood samples were collected from the antecubital vein after 8-10 hour overnight fasting. Transcription analysis of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 genes was performed by RT-qPCR. Briefly, a leukocyte-rich plasma was obtained and total RNA isolated with the kit Direct-zol<sup>TM</sup> RNA MiniPrep (Zymo). RT-qPCR was performed with specific primers in duplex reactions with QuantiFast<sup>®</sup> Probe Duplex Assay kits containing primers for the genes of interest and for PPIA used as normalizer (Qiagen GmbH, Germany), following the to manufacturer's instructions; for the RT-qPCR step the QuantiTect<sup>®</sup> Probe RT-PCR kit was used. The concentration and purity of RNA were assessed by UV absorbance at 260/280 nm. RNA integrity was verified by 2% agarose gel electrophoresis. All reactions were performed in triplicate and experiments by duplicate.

The expression levels of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 were measured at baseline and final conditions. RT-qPCR was performed in an ECO thermal cycler (Illumina, San Diego, CA) with data acquisition using the  $ECO^{TM}$  software v.2.0. Relative expression of leukocyte TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 mRNA was estimated using the  $\Delta\Delta$ Ct method of the ECO thermal cycler (v.0.17.53.0) that automatically calculates the difference between the genes of interest and the *PPIA* gene used as normalizer ( $\Delta Ct = Ct$ [gene of interest] – Ct PPIA) at basal ( $\Delta_1$ ) and final conditions  $(\Delta_2)$ , according the formula  $\Delta \Delta Ct = \Delta_2 - \Delta_1$ . Using the  $\Delta \Delta Ct$  value of each gene, its relative expression is calculated as  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

Serum magnesium was measured in automated spectrophotometer A15 (Biosystems S.A., Barcelona, Spain) by using the xylidyl blue method (Biosystems S.A., Barcelona, Spain); its intra- and inter-assay coefficients of variation were 5.9 and 6.6, respectively.

Sample size. The sample size was estimated taking into account alpha and beta values of 0.05 and 0.80, respectively. In addition, given that there are no previous studies in humans that had evaluated the efficacy of magnesium supplementation on the transcription of magnesium transporters, we took into account the results from Rondón *et al.* [11], who reported that, in mice, the mildly and severely magnesium-deficient diets induce greater kidney TRPM6 expression (~30% and ~60%, respectively) as compared with control. The sample size estimation was of 16 subjects per group.

*Statistical analysis.* Transcription analysis of TRPM6, TRPM7, and SLC41A1 was performed in all participants that satisfactorily completed the follow-up.

Numeric values are reported as means  $\pm$  standard deviation (SD). Differences between the

groups were evaluated using unpaired Student *t*test for numerical variables and  $X^2$  for categorical variables. The intra-group statistical differences were evaluated by paired Student *t*-test.

Relative expression values before and after the magnesium intervention were analyzed for significance using paired *t*-test. Data were analyzed using the statistical package SPSS for Windows 15.0 (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, Armonk, NY). Statistical significance was defined by a *P* value <0.05.

#### Results

Screening was performed in 836 subjects, and in that 791 individuals were excluded because they did not fulfill the inclusion criteria, by the presence of exclusion criteria, or because refused to participate; thus, a total of 45 individuals were enrolled and randomly allocated into groups in study (*figure 1*).

From the cohort, nine subjects were dropped out of the study; five of them from the intervention group, two by adverse effects (mild diarrhea), two by lost of follow-up, and one by lost of adherence, whereas in the control group, one by lost of adherence and three by lost of follow-up. Hence, 10 women and 8 men in the intervention group and 11 women and 7 men in the control group, who successfully completed the follow-up period, were included in the analysis (*figure 1*).

There was no significant statistical difference by age between individuals in the intervention and control groups (53.1  $\pm$  5.9 and 50.4  $\pm$  3.1, P = 0.06). In addition, a total of 17 women (8 and 9 in the intervention and control groups, respectively, P = 0.06) were in menopause.

At basal conditions, anthropometric, clinical, and biochemical variables were similarly distributed in both groups, without statistical significant differences for all variables. At end of follow-up, subjects in the magnesium group showed a significant increase of serum magnesium levels as well as a significant decrease of SBP with marginal decrease of DBP, compared with the control group (*table 1*). A total of 15 (83.3%) and 4 (22.2%) individuals in the magnesium and control groups, respectively, reached normal magnesium levels at final of follow-up, P < 0.0005.

The leukocyte TRPM6 mRNA relative expression showed a significant increase, whereas both

[	<b>Magnesium</b> *			Placebo				
[	Basal	Final	1	Basal	Final	1	Difference in	
	<i>n</i> = 18	<i>n</i> = 18	Change	<i>n</i> = 18	<i>n</i> = 18	Change	Change	P value†
BMI, Kg/m <sup>2</sup>	$27.3\pm3.1$	$28.1\pm6.6$	$1.4\pm2.6$	$29.4\pm6.9^*$	$27.9\pm3.1$	$\textbf{-2.3}\pm3.8^{**}$	$2.7\pm3.1$	0.051
Waist, cm	$97.1\pm 8.3$	$97.2\pm8.4$	$0.4\pm0.02$	$96.4\pm16.0^{*}$	$91.6\pm7.4$	$\textbf{-3.1}\pm6.1^{**}$	$3.3\pm5.1$	0.04
SBP, mmHg	$129.2\pm2.8$	$116.7\pm5.8$	$\textbf{-19.5}\pm3.5^{**}$	$126.0\pm6.5^*$	$125.0\pm5.9$	$-1.7\pm0.9$	$-17.5\pm2.2$	<0.001
DBP, mmHg	$78.9\pm6.1$	$78.5\pm4.8$	$-0.4\pm1.3$	$75.6\pm8.2^*$	$70.7\pm8.6$	-5.1 $\pm$ 0.7 $^{**}$	$3.9\pm1.1$	0.050
Serum Mg, mmol/L	$0.71\pm0.06$	$0.80\pm0.07$	$0.08\pm0.02^{**}$	$0.73\pm0.07^*$	$0.70\pm0.29$	$-0.04\pm0.27$	$0.08\pm0.05$	<0.005
BMI. Body Mass Inc	dex: SBP, Svste	olic blood pressu	re; DBP, Diastolic	blood pressure				

 Table 1. Characteristics of the target population

\*No significant differences between Magnesium and Placebo groups at basal conditions \*\*P < 0.05 between baseline and final condition within-group (P = 0.05) between is change between groups at basal conditions P = 0.05 between baseline and final condition within-group (P = 0.05) between (P =



Figure 1. Diagram flux of study.

leukocyte TRPM7 and SLC41A1 mRNA relative expression showed no significant differences between the magnesium and placebo groups (*figure 2*).

#### Discussion

Our results show that oral magnesium supplementation increases the leukocyte TRPM6 mRNA relative expression in individuals with new diagnosis of preHTN. To the best of our knowledge, there are no previous human studies that had evaluated the effect of magnesium supplementation on the expression of magnesium transporters.

Experimental and clinical studies suggest that impaired vascular levels of TRPM7 and/or TRPM6 as well as SLC41A1 can play an important role in the development of HTN [3, 15–17]; that our results show is that magnesium supplementation increases the transcriptional level of leukocyte TRPM6, but not of leukocyte TRPM7 and SLC41A1, in individuals with incident



Figure 2. Relative mRNA expression of TRPM6, TRPM7 and SLC41A1 in the intervention (black square) and control groups (white square).

preHTN, suggesting that hypomagnesemia could be early involved in developing HTN.

It has been reported that magnesium is a calcium channel antagonist that stimulates the production of vasodilator prostacyclin and nitric oxide, as well as that the  $Mg^{2+}$  influx is controlled by transporters such as TRPM6 [3]. Taking into account that the transcription of TRPM6 exhibits similar magnitude in blood, heart, and aorta [18] and is plausible that changes in the transcription of leukocyte TRPM6 that we observed in blood are mirrored also in the cardiovascular system.

The TRPM6 is expressed primarily in the intestinal epithelia and kidney tubules [19, 20] so, it is possible that the increases in relative expression of leukocyte TRPM6 are related with the increase in the intestinal and/or renal absorption of magnesium and the raise of its serum levels and, in this way, contributing to the decrease of BP [3]. Further research is mandatory to verify our hypothesis.

The TRPM6 exhibits unique unitary conductance, that is, 1.5- to 2-fold higher than that of TRPM7 [21]; in addition, it has been described that TRPM7 is functional on its own, but its homo-oligomerization might be needed for correct positioning of TRPM7 to the plasma membrane [22]. These findings suggest that TRPM6 and TRPM7 are ion channels with distinct permeability and different roles *in vivo* [21] which would explain our results that showed no increase in the expression of leukocyte TRPM7. Regarding TRPMs activity, new pathways involved in its regulation have emerged; with this regard, *via* the action of P2X4 purinergic receptors, extracellular ATP inhibit TRPM6, but not TRPM7, activity; furthermore, the flavagline, that belong to a family of natural compounds, stimulates TRPM6 activity. These new data highlight the complexity of mechanisms involved in the regulation of magnesium homeostasis and the need for further research [23].

We do not observed changes in the expression of leukocyte SLC41A1 as results of magnesium supplementation. With this regard, it has been described that the transporter function of SLC41A1 is directly dependent of the extracellular concentration of Na<sup>+</sup> and, indirectly from the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> and ATP pump [6], which could be related with our findings. In addition, it is necessary to highlight that expression of SLC41A1 is mainly high in the heart and vessels [18]; hence, we cannot discard with certainty possible changes in the expression of SLC41A1 in such tissues.

Undoubtedly, further research is needed to clarify the mechanisms of magnesium regulation and its implications in the pathogenesis of preHTN.

Interestingly, in the magnesium-supplemented individuals, our results show a significant decrease in SBP with a marginal decrease in DBP; findings in agree with the study by Kass *et al.* [24] who, in normotensive individuals that received oral magnesium supplementation, found a predominant reduction on SBP with no changes for DBP; with this regard, the target population of individuals with preHTN in our study showed, at basal conditions, an average DBP within normal values. Furthermore, individuals in the placebo group showed a significant reduction of DBP; given the diet and exercise advice that were implemented, it is possible that reduction in DBP in the control group could be related with the significant decrease in BMI and WC. With this regard, although individuals in the magnesium group also decreased their BMI and WC, changes were not significant (*table 1*); so, the reduction in the SBP and DBP in the intervention group cannot be attributable to changes in body weight.

Several limitations of our study deserve to be mentioned. 1) We did not measure the intracellular levels of Mg<sup>2+</sup>; given that magnesium is a predominantly intracellular cation, this was the main limitation of study. 2) Our study was focused in Mexican subjects; hence, validation in pre-hypertensive individuals from other ethnicities will be required. 3) Several confounders, such as dietary magmesium and calcium intake that could influence our results, were not measured. 4) Because there are no previous studies in humans regarding the efficacy of magnesium supplementation on the transcription of magnesium transporters, in order to calculate the sample size we took into account the results from the experimental study by Rondón [11]. Our results showed a significant increase only in the relative expression of leukocyte TRPM6; hence, it is possible that the sample size does not have the appropriate statistical power for analyzing all the focused transporters in our study. With this regard, our findings should be given due importance and be considered as preliminary results. Undoubtedly, further research that includes a large sample size and individuals from other ethnicities are needed.

In conclusion, our results showed that oral magnesium supplementation increases the leukocyte TRPM6 mRNA relative expression, but not of leukocyte TRPM7 and SLC41A1 mRNA relative expression, in individuals with new diagnosis of preHTN.

#### Disclosure

Financial support: none. Conflict of interest: none.

#### References

- Schmitz C, Perraud AL, Johnson CO, et al. Regulation of Vertebrate Cellular Mg<sup>2+</sup> Homeostasis by TRPM7. Cell 2003; 114: 191-200.
- Inoue K, Xiong ZG. Silencing TRPM7 promotes growth/proliferation and nitric oxide production of vascular endothelial cells *via* the ERK pathway. *Cardiovasc Res* 2009; 83: 547-57.
- 3. Yogi A, Callera GE, Antunes TT, *et al.* Vascular biology of magnesium and its transporters in hypertension. *Magnes Res* 2010; 23: S207-15.
- Kolisek M, Launay P, Beck A, et al. SLC41A1 Is a Novel Mammalian Mg<sup>+2</sup> Carrier. J Biol Chem 2008; 283: 16235-47.
- Kolisek M, Nestler A, Vormann J, et al. Human gene SLC41A1 encodes for the Na<sup>+</sup>/Mg<sup>2+</sup> exchanger. Am J Physiol Cell Physiol 2012; 302: C318-26.
- Kolisek M, Galaviz-Hernández C, Vázquez-Alaniz F, et al. SLC41A1 is the only magnesium responsive gene significantly overexpressed in placentas of preeclamptic women. Hypertens Pregnancy 2013; 32: 378-89.
- Sontia B, Touyz R. Downregulation of renal TRPM7 and increased inflammation and fibrosis in aldosterone-infused mice: effects of magnesium. *Hypertension* 2008; 51: 915-21.
- 8. Sontia B, Touyz RM. Magnesium transport in hypertension. *Pathophysiology* 2007; 14:205-11.
- Laurant P, Touyz RM, Schiffrin EL. Effect of magnesium on vascular tone and reactivity in pressurized mesenteric resistance arteries from spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1997; 75: 293-300.
- 10. Touyz RM, He Y, Montezano AC, et al. Differential regulation of transient receptor potential melastatin 6 and 7cation channels by ANG II in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006; 290: R73-78.
- Rondón LJ, Groenestege WM, Rayssiguier Y, Mazur A. Relationship between low magnesium status and TRPM6 expression in the kidney and large intestine. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 294: R2001-7.
- Goytain A, Quamme GA. Functional characterization of human SLC41A1, a Mg2+ transporter with similarity to prokaryotic MgtE Mg2+ transporters. *Physiological genomics* 2005; 21: 337-42.
- Kolisek M, Nestler A, Vormann J, Schweigel-Rontgen M. Human gene SLC41A1 encodes for the Na+/Mg(2)+ exchanger. Am J Physiol Cell Physiol 2012; 302: C318-26.

- 14. Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, et al. Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7): resetting the hypertension sails. Hypertension 2003; 41: 1178-9.
- Altura BM, Altura BT, Carella A. Magnesium deficiency induced spasms of umbilical vessels: relation to preeclampsia, hypertension, growth retardation. *Science* 1983; 221: 376-8.
- Gilles-Baillien M, Cogneau M. Mg<sup>2+</sup> uptake by intestinal brush-border membrane of spontaneously hypertensive rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 201: 119-24.
- 17. He Y, Yao G, Savoia C, *et al.* Transient receptor potential melastatin 7 ion channels regulate magnesium homeostasis in vascular smooth muscle cells: role of angiotensin II. *Circ Res* 2005; 96: 207-15.
- 18. GTEx Consortium. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. *Nat Genet* 2013; 45: 580-5.

- Schlingmann KP, Gudermann T. A critical role of TRPM channel kinase for human magnesium transport. J Physiol 2005; 566: 301-8.
- 20. Groenestege WM, Hoenderop JG, van den Heuvel L, Knoers N, Bindels RJ. The epithelial Mg2+ channel transient receptor potential melastatin 6 is regulated by dietary Mg2+ content and estrogens. J Am Soc Nephrol 2006; 17: 1035-43.
- Li M, Jiang J, Yue L. Functional characterization of homo- and heteromeric channel kinases TRPM6 and TRPM7. J Gen Physiol 2006; 127: 525-37.
- 22. Schmitz C, Dorovkov MV, Zhao X, *et al.* The channel kinases TRPM6 and TRPM7 are functionally non redundant. *J Biol Chem* 2005; 280: 37763-71.
- de Baaij JH. The art of magnesium transport. Magnes Res 2015; 28:85-91.
- 24. Kass LS, Poeira F. The effect of acute vs chronic magnesium supplementation on exercise and recovery on resistance exercise, blood pressure and total peripheral resistance on normotensive adults. J Int Soc Sports Nutr 2015; 12: 19.