

## Ocurrencia de queratoacantomas en ratas tratadas con 1,2-dimetilhidrazina

Sánchez Negrette, M.; Montenegro, M.A.; Burna, A.N.; Borda, J.T.

Cátedra de Patología General y Sistemática. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral, 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 54-03783-425753, E-mail: patgral@vet.unne.edu.ar

### Resumen

**Sánchez Negrette, M.; Montenegro, M.A.; Burna, A.N.; Borda, J.T.: Ocurrencia de queratoacantomas en ratas tratadas con 1,2-dimetilhidrazina.** Con el objeto de inducir experimentalmente cáncer intestinal, ratas Wistar machos fueron inoculadas semanalmente con la droga cancerígena 1,2-dimetilhidrazina (DMH) a la dosis de 20mg/kg de peso, durante 16 semanas. Entre las semanas 12 y 16 del tratamiento se observó el desarrollo de queratoacantomas en un 30% de las ratas tratadas. Todas las neoplasias fueron extirpadas e inmediatamente fijadas en formol bufferado al 10%, incluidas en parafina, cortadas en 5µm y coloreadas con hematoxilina y eosina. De las 6 neoplasias estudiadas, dos presentaron transformación a carcinoma escamoso, con severa infiltración del tejido muscular estriado. Los resultados de este estudio sugieren que la DMH puede producir queratoacantomas en piel de ratas y que los mismos pueden sufrir transformación maligna.

**Palabras clave:** rata, piel, queratoacantoma, 1,2-dimetilhidrazina.

### INTRODUCCIÓN

El queratoacantoma es una neoplasia benigna, de desarrollo rápido, que clínicamente e histológicamente puede imitar a un carcinoma de células escamosas. Ocurre en seres humanos y animales, es frecuente en los perros, pero no aparece espontáneamente en otras especies animales. En seres humanos, es tres o cuatro veces más frecuente en hombres que en mujeres, con predilección por mejillas, nariz, orejas y dorso de las manos. En perros la incidencia también es mayor en machos<sup>17</sup>, afectando cuello, tórax y zona de la espalda<sup>11</sup>. La incidencia es más elevada en perros de raza pura. Los queratoacantomas en seres humanos y perros son neoplasias generalmente solitarias, pero también pueden ocurrir en forma múltiple<sup>10</sup>. Clínicamente aparecen como nódulos en forma de cúpula, con un tapón central repleto de queratina, con aspecto de cráter. Histológicamente se caracterizan por una cavidad central llena de queratina, rodeada por células epiteliales en proliferación, que se extienden tanto hacia el exterior como hacia la dermis profunda.

La etiología de los queratoacantomas es desconocida. En el hombre son frecuentes en la piel expuesta al sol, asociados con cambios de queratosis actínica, considerados como queratoacantomas actínicos<sup>13</sup>. En conejos, experimentalmente se produjeron tumores muy similares, mediante la aplicación de *dietilbezantraceno*<sup>4</sup>. Carcinomas de las orejas se reportaron en ra-

tas que recibieron inyecciones de *azoxymethane* y otros carcinógenos<sup>16, 19, 20</sup>.

En esta experiencia se utilizó la droga cancerígena 1,2-dimetilhidrazina (DMH) para inducir cáncer intestinal. DMH es uno de los carcinógenos químicos más efectivos que induce cáncer de colon en el 80 a 100% de las ratas, entre 5 y 7 meses posteriores al inicio del tratamiento<sup>8</sup>. DMH es un procarcinógeno, ya que requiere activación metabólica dentro del organismo para formar el carcinógeno activo. Dicha activación incluye primeramente su oxidación a *azometano*, una segunda oxidación convierte el *azometano* a *azoximetano*, el cual es luego N-hidroxilado a *metilazoximetanol*. El *metilazoximetanol* es muy inestable, siendo descompuesto espontáneamente *in vitro* en formaldehído, agua y nitrógeno<sup>7</sup>. Durante esta descomposición se forma un agente alquilante, el *metildiazonio*, el cual genera un ión carbónico capaz de metilar ADN, ARN y proteínas<sup>9</sup>.

El presente trabajo tuvo por objetivo describir la ocurrencia de queratoacantomas en ratas tratadas con el carcinógeno intestinal DMH.

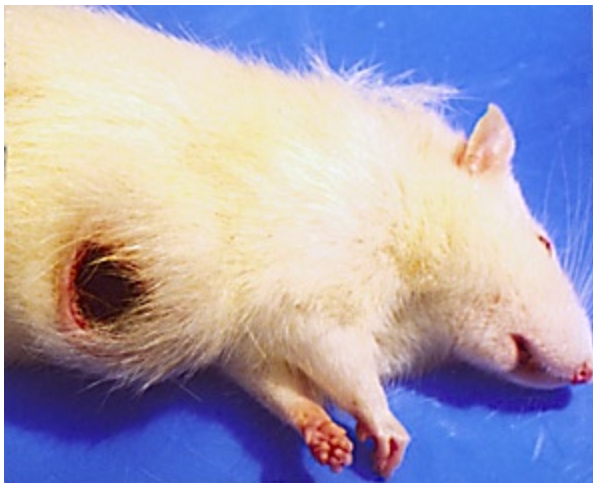
### MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron utilizadas 30 ratas Wistar "Cepa Instituto de Biología" obtenidas del Bioterio de la cátedra de Farmacología (Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste), de 3 meses de edad, sexo macho, con un peso promedio de 180 g. Las mismas fueron

alojadas en jaulas individuales en un ambiente con temperatura controlada de 21 °C, mantenidas con agua y dieta balanceada *ad-libitum*. De las 30 ratas, 10 ejemplares operaron como grupo control y 20 como grupo experimental. En este último, cada una de las ratas recibió durante 16 semanas una inyección subcutánea semanal de DMH, a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal. La solución inoculada contenía 400 mg de DMH disuelta en 100 ml de agua destilada estéril, con 37 mg de EDTA como agente estabilizador, y fue llevada a pH 6,5 utilizando hidróxido de sodio. Todos los tumores fueron extirpados e inmediatamente fijados en formol bufferado al 10%, procesados por la técnica clásica para bloques parafinados, cortados en 5µm y coloreados con hematoxilina y eosina.

## RESULTADOS

Los tumores se presentaron en 6 ratas en diferentes tiempos durante la fase de inoculación de la DMH, principalmente entre las semanas 12 y 16 post-inoculación. Los seis tumores fueron solitarios, tres localizados en la base de la oreja de la zona de las mejillas, dos en la re-



**Figura 1:** Queratoacantoma en la región ventral del abdomen.



**Figura 2:** Queratoacantoma en zona maxilar.

gión ventral del abdomen (Figura 1) y uno en el maxilar (Figura 2).

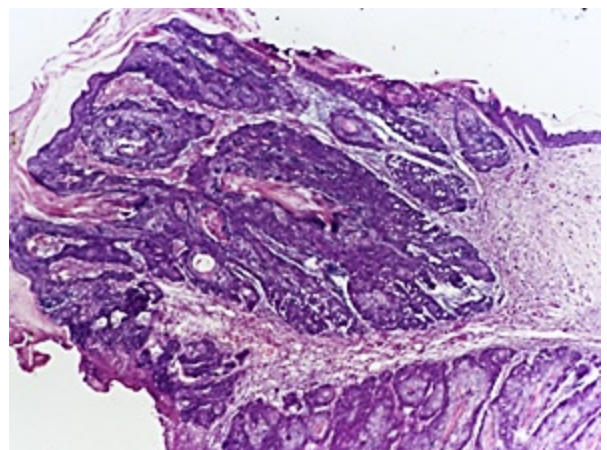
Su diámetro osciló de 0,8 a 3 cm de diámetro y tenían un crecimiento rápido. Macroscópicamente se presentaron como nódulos alopecicos, con bordes sobre-elevados, cortantes, bien delimitados del tejido vecino normal, con una zona central en forma de cráter, repleto de queratina, de aspecto cremoso y color amarillento.

Microscópicamente, los tumores se caracterizaron por presentar forma de cráter con abundante queratina en su interior. Dicho cráter estaba rodeado por marcada proliferación epitelial caracterizada por una intensa acantosis con aumento de la red de crestas que crecen tanto hacia la superficie como hacia la profundidad de la dermis (Figura 3). En todos los casos se observó respuesta inflamatoria de tipo polimorfonuclear, la cual fue mayor en las neoplasias de mayor tamaño. El epitelio hiperplásico estaba compuesto por células con marcados fenómenos de atipia citológica reactiva, con células escamosas de aspecto vidrioso formando islotes de queratina. Los dos tumores localizados en la piel de la zona abdominal mostraron un crecimiento infiltrativo, extendiéndose en profundidad dentro del tejido muscular estriado. En ambos casos, el tejido neoplásico presentó una marcada diferenciación hacia un carcinoma escamoso.

## DISCUSIÓN

Los queratoacantomas son neoplasias benignas comunes en perros y seres humanos. Se originan de la pared superior del folículo piloso<sup>1</sup>, a menudo nacen en la piel previamente sana, son de crecimiento rápido y van a la regresión espontánea en un período de cuatro a seis semanas, dejando una cicatriz anular, ligeramente deprimida<sup>15</sup>.

Tanto en seres humanos como en perros existen dos tipos de presentaciones, una forma solitaria y otra múltiple, siendo más frecuente la presentación en forma de nódulos únicos. La causa del queratoacantoma no es conocida. La teoría de una génesis viral no ha sido confirmada. En el hombre, algunos casos se ven en la piel



**Figura 3:** Borde de la lesión con marcada proliferación epitelial (H y E, 40x).

expuesta al sol, asociados con cambios de queratosis actínica. En conejos, se lograron producir tumores similares mediante la aplicación de *dimetilbenzantraceno*<sup>4</sup>.

En ratas tratadas con DMH a la dosis de 26,6 mg/kg en inyecciones semanales durante 20 semanas, se observó la ocurrencia de neoplasias ubicadas en la base de la oreja en 14 ratas de un total de 30. Dichas neoplasias fueron clasificadas como carcinomas de células escamosas, con características muy invasoras, comprometiendo tejido muscular y óseo, pero sin producir metástasis en otros tejidos<sup>20</sup>. Carcinomas de la oreja fueron reportados en ratas que recibieron inyecciones de *azoximetano* y otros carcinógenos<sup>16,19</sup>.

En el presente trabajo utilizamos la droga cancerígena DMH con el objeto de producir neoplasias intestinales. No existe una explicación clara sobre la especificidad de la DMH para producir cáncer del colon en ratas. Si bien esta droga induce también la producción de neoplasias en otros órganos, dependiendo de la dosis y vía de administración, la producción de queratoacantomas no es común.

Los queratoacantomas son generalmente confundidos con el carcinoma epidermoide, más aún, en el caso del diagnóstico realizado en biopsias, pueden ser difíciles de distinguir de un carcinoma epidermoide bien diferenciado<sup>3</sup>. Nuestras observaciones son coincidentes con las de otros autores que observaron que los queratoacantomas pueden sufrir transformación a carcinomas de células escamosas, ya sea espontáneamente<sup>2,14</sup>, o como resultado de inmunosupresión<sup>12,18</sup>. Sin embargo, otros autores opinan que los carcinomas escamosos existieron desde un principio y no se originaron de un queratoacantoma previo<sup>5,6</sup>.

Concluyendo, se considera que la ocurrencia de queratoacantomas en ratas tratadas con el carcinógeno DMH podría ser de interés, no sólo como modelo biológico experimental para la producción de este tipo de neoplasia, sino también por el hecho que pueda interferir con los estudios experimentales de carcinogénesis intestinal, como un acontecimiento no deseable.

### Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Veterinarias y a la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la UNNE, así como al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el aporte realizado para la realización del presente trabajo.

### Abstract

**Sánchez Negrette, M.; Montenegro, M. A.; Burna, A.N.; Borda, J.T.: Occurrence of keratoacanthomas in 1,2-dimethylhydrazine treated rats.** With the objective to induce experimental intestinal cancer, Wistar male rats were inoculated with 20mg/kg/wk of the carcinogenic drug 1,2-dimethylhydrazine (DMH), during 16 weeks. Between 12<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> weeks of the assay, occurrence of keratoacanthomas in 30% of the treated rats was observed. Neoplasms were extirpated, fixed in 10% buffered formaldehyde and embedded in paraffin, and

5µm sections were stained with hematoxyline and eosin. Two of six neoplasms evidenced transformation into squamous cell carcinomas, with a severe infiltration of the skeletal muscle tissue. Results of this study suggest that DMH can produce keratoacanthomas, which can develop malignant transformation.

**Key words:** rat, skin, keratoacanthoma, 1,2-dimethylhydrazine.

### REFERENCIAS

1. **Ackerman LV, Rosai J.** 1983. *Patología Quirúrgica*, 6<sup>o</sup> ed., Panamericana, Buenos Aires, p. 110–112.
2. **Belisario JC.** 1965. Brief review of keratoacanthoma and description of keratoacanthoma centrifugum marginatum. *Austr. J. Dermatol.* 8: 65.
3. **Fisher EL, McCoy MM, Wechsler HLA.** 1972. Analysis of histopathologic and electron microscopic determinants of keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Cancer* 29: 1387–1397.
4. **Ghadially FM, Barton BW, Kerridge DF.** 1963. The etiology of keratoacanthoma. *Cancer* 16: 603–611.
5. **Ghadially FN.** 1979. Keratoacanthoma. In: *Dermatology in General Medicine* (Fitzpatrick TB; Eisen AZ; Wolff K Ed), 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill, New York, p. 383.
6. **Kerm WH, McGray MK.** 1980. The histopathologic differentiation of keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *J. Cutan. Pathol.* 7: 318.
7. **Nagasawa HT, Shirota FN, Matsumoto H.** 1972. Decomposition of methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin in D20. *Nature* 236: 234–235.
8. **Newberne PM, Rogers AE.** 1973. Animal model: DMH-induced adenocarcinoma of the colon in the rat. *Am. J. Pathol.* 72: 541–544.
9. **Matsumoto H, Higa HH.** 1966. Studies on methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin: methylation of nucleic acids *in vitro*. *Biochem. J.* 98: 20–22.
10. **Moulton JE.** 1989. *Tumors in Domestic Animals*, 3<sup>rd</sup> ed., California University Press, Berkeley, p. 54–56.
11. **Muller GH, Kirk RW, Scott DW.** 1985. *Dermatología dos Pequenos Animais*. 3<sup>o</sup> ed., Manole Ltda, São Paulo, p. 765–767.
12. **Poleksic S, Yeung KY.** 1980. Rapid development of keratoacanthoma and accelerated transformation into squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer* 41: 318.
13. **Reed RJ.** 1972. Actinic keratoacanthoma. *Arch. Dermatol.* 106: 858–864.
14. **Rook A, Whimster I.** 1979. Keratoacanthoma: a 30-year retrospect. *Br. J. Dermatol.* 100: 41.
15. **Rossmann RE, Freeman RG, Knox JM.** 1964. Multiple keratoacanthoma. *Arch. Dermatol.* 89: 374–381.
16. **Schardein JL, Kaump DH.** 1966. Auditory canal structures in rats as altered by aging and by the administration of tris (p-amino-phenyl) carbonium pamoate. *Cancer Res.* 26: 1625.

17. **Stannard AA, Pulley LT.** 1975. Intracutaneous cornifying epithelioma (Keratoacanthoma) in the dog: a retrospective study of 25 cases. *J.A.V.M.A.* 167: 325.
18. **Sullivan JJ, Colditz GA.** 1979. Keratoacanthoma in a subtropical climate. *Austral. J. Dermatol.* 20: 34.
19. **Ward JM, Yamamoto RS, Brown CA.** 1973. Pathology of intestinal neoplasms and other lesions in rats exposed to azoxymethane. *J. Nat. Cancer Inst.* 51: 1029.
20. **Ward JM.** 1974. Morphogenesis of chemically induced neoplasms of the colon and small intestine in rats. *Lab. Invest.* 4: 505-513.

Asociación Iberoamericana Multidisciplinaria de Enfermedades Transmisibles  
**Primeras Jornadas Internacionales de Zoonosis**  
**Primeras Jornadas Pedagógicas sobre la Práctica Profesional**  
**en el área de la Salud**

05, 06 y 07 de Noviembre de 2003

Organizadas por Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales e Instituto de Medicina Regional, UNNE. Patrocinadas por Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales; Instituto del Profesorado Antonio Ruiz de Montoya (Posadas, Misiones); Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Veterinaria de Esperanza, Santa Fe; Universidad Comunitaria Regional de Chapecó, Centro de Ciencias de la Salud (Educación Física, Enfermería, Bioquímica y Farmacia) Santa Catarina, Brasil.

#### **OBJETIVOS**

Actualizar los conocimientos científicos sobre las enfermedades transmisibles de importancia sanitaria en la búsqueda de armonía y fortalecimiento del desarrollo social. Construir una visión interdisciplinaria y comprensiva para el abordaje de las zoonosis más frecuentes. Desarrollar las acciones previstas sobre principios de solidaridad, equidad y respeto, contribuyendo a una mejor calidad de vida. Generar un espacio para el intercambio de experiencias pedagógicas en el área de la salud. Concretar el intercambio de experiencias a partir de la reflexión de la propia práctica profesional desde la perspectiva científica.

#### **DESTINATARIOS**

Docentes, profesionales y alumnos de las carreras del área de la Salud y Medio Ambiente, Medicina, Veterinaria, Bioquímica, Farmacia, Educación Física, Ciencias Ambientales, Geografía, Biología, Enfermería y Kinesiología.

#### **EJES TEMATICOS**

Enfermedades Endémicas: Chagas, Toxoplasmosis, Leishmaniosis, Leptospirosis. Enfermedades Emergentes y Reemergentes: Tuberculosis, Rabia, Dengue, Fiebre Amarilla, Hepatitis. Enfermedades transmitidas por alimentos: Botulismo, Salmonelosis, Cólera. Zoonosis: Parasitarias, Bacterianas, Víricas. Sanea-

miento Ambiental: Medio Ambiente y Salud, Agua y su importancia en la salud. Experiencias pedagógicas en docencia, investigación y extensión en el área de la salud. Propuestas pedagógicas resultantes de los distintos enfoques sobre el cuerpo y el movimiento para la prevención, promoción y recuperación de la salud.

#### **DISERTANTES INVITADOS**

Dr. Daniel Salomon (Argentina), Dra. María Assunta Bussato (Brasil), Dr. Tomas Orduna (Argentina), Dra. Cristina Wisnivesky (Argentina), Dr. Jorge Gorodner (Argentina), Dr. Sergio Sosa Estani (Argentina), Dra. Antonieta Arias (Paraguay), Dr. Norberto Morán (INPPAZ) (Argentina), Dr. Albino Belotto (OMS/OPS Washington), Dra. Alicia Alito (INTA Castelar Argentina), Dr. Alfredo Seijo (Argentina), Dr. Olindo Martino (Argentina), Dra. Delia Enría (Argentina), Dra. Elba L. Weber (Argentina), Dr. Eduardo Zerba (Argentina), Dr. Ramón De Torres (Argentina).

#### **PRESENTACIÓN DE POSTERS**

Se aceptarán presentaciones en poster, de 1,20 x 1 m. Los resúmenes se recepcionarán hasta el 15 de septiembre de 2003. Extensión máxima en 1 carilla en hoja tipo A4, letra Times New Roman 12, margen superior 3 cm, inferior 2 cm, izquierdo 3 cm, derecho 2 cm. Al menos un autor debe estar inscripto a las jornadas. El autor del póster podrá exponer durante 5 minutos los fundamentos de su exposición

#### **ARANCELES**

Profesionales \$ 60. Socios AIMET y Docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias \$ 50. Estudiantes con derecho a certificado y actividades sociales \$ 20. Alumnos sin certificado: Entrada libre. Contacto: Dr. Gabriel Marder - Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE - Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes, Argentina. E-mail: patcom@vet.unne.edu.ar o gabrielmarder@yahoo.com\_o prajornadas@yahoo.com.ar o jornadzoon@yahoo.com.ar.