

## Sobre cancerología experimental

El cáncer en la escala animal y vegetal; el cáncer experimental; los injertos cancerosos; el cáncer del alquitrán; el cáncer provocado por los agentes físicos; los tumores filtrables.

por el doctor

**V. Carulla Riera**

Profesor en la Facultad de Medicina de Barcelona

### EL CÁNCER EN LA ESCALA ANIMAL Y EN LOS VEGETALES

*Importancia que para la cancerología tiene el estudio de este capítulo. — El cáncer en los mamíferos, en las aves, en los reptiles, en los anfibios, en los peces, etc. — El cáncer en el reino vegetal.*

En todo momento ha tenido un valor capital para la experimentación y el consecutivo progreso de la medicina, la posibilidad de estudiar y reproducir en los animales de laboratorio los procesos que interesaban en patología. En muchas afecciones, si hoy las conocemos a fondo lo debemos en parte a la posibilidad de su reproducción experimental en los animales. Todas aquellas alteraciones y anomalías orgánicas de la especie humana que la patología comparada ha permitido estudiar en los animales, han sido también más fácilmente interpretadas en patología.

El cáncer, grave flagelo de la humanidad, si se tiene en cuenta que en los países más cultos es la segunda causa de mortalidad, constituye una tan secreta afección en su intimidad biológica, que

no es de extrañar que la ciencia pretenda poner a su servicio todos los medios posibles para la investigación. Al abrirse paso en los estudios de cancerología, el campo de la experimentación animal, con parecidos tumores como los que afectan al género humano, se ha puesto a su servicio una nueva manera de experimentar que favorece la técnica de estudio, de tan incógnita cuestión. Roussy, traduciendo la opinión de muchos otros autores ha llegado a la afirmación absoluta de que el cáncer es una afección común al hombre y los animales, y es evidente que después de esta conclusión el problema del cáncer se coloca en una excelente posición para la investigación.

Por las mismas condiciones generales de edad y de herencia, por la similitud de sus más corrientes localizaciones, por sus mismas condiciones histológicas, por la correspondencia de los mismos valores etiológicos, porque se observan parecidas condiciones de resistencia individual, y en general porque se repiten en gran parte las mismas leyes generales de su biología, puede decirse que el cáncer del hombre encuentra en los animales su misma reproducción patológica. Por esto resulta de

tanta importancia el estudio del cáncer en los animales.

Antes que estudiar el cáncer experimental en su verdadero sentido, produciéndolo voluntariamente en los animales por los más diversos artificios, o reproduciéndolo en otros aprovechando los tumores que espontáneamente padecen los animales, dedicaremos un primer capítulo a historiar brevemente y a exponer de un modo resumido lo que significa dicha afección como manifestación espontánea y muy frecuente en la escala animal.

Al exponer lo que es el cáncer en la escala animal no es de extrañar que lleguemos a la conclusión de que son los mamíferos, y entre ellos los animales domésticos, entre los que se descubre mayor cantidad de tumores malignos, porque por ser los animales más cercanos a la observación del hombre habían de facilitar el estudio de esta cuestión.

Innumerables trabajos y varias monografías de importancia han sido dedicados a estudiar el cáncer de los mamíferos. Citemos G. PETIT, ROGER WILLIAMS, PEYRON, BASCHFORD, CADIOT, STICKER, etc.

Entre todos los mamíferos parece que es el perro el que sufre mayor proporción de tumores (del 2 % al 8 %); sucesivamente, en proporciones decrecientes, el gato, el caballo, el buey, el cerdo, el carnero, etc. Aparte del perro y el gato, los otros animales citados sufren el cáncer en una proporción muchísimo menor, del orden del milésimo en los hueyes y caballos, animales en los cuales, sin embargo, puede conocerse bastante bien la proporción en que puede encontrarse dicha afección, al estudiarse en los mataderos.

En los mamíferos se encuentran todas las variedades de estructura y topografía, las mismas que encontramos en el hombre.

Predominan los tumores malignos epi-

teliales sobre los conjuntivos. Según las distintas especies animales presentan en mayor o menor proporción determinadas topografías; así en el perro es más frecuente el cáncer de la piel, de la mama, del ano, del útero y del pene; en el gato el cáncer de la mama y del útero; en los caballos se puede observar con frecuencia el cáncer del estómago y de los genitales; en el buey el cáncer del hígado, etc. Por otra parte pueden también encontrarse tipos de tumores más raros, propios de determinadas especies, como por ejemplo el melanoma maligno de los caballos blancos, que aparece en forma de tumorcitos pigmentados en la cola, en el ano, en los genitales, etc., y otras veces se trata de pseudotumores inflamatorios, como el papiloma de la pezuña del caballo, el sarcoma de la carúncula del ojo de los bóvidos, pero sobre todo tienen actualmente grandísimo interés las leucemias, linfomatosis y mielomatosis, procesos idénticos a los que sufre el hombre y que entre los mamíferos cada día son más frecuentes en el perro, en el caballo, etc.

Es muy frecuente el cáncer de los roedores. El cáncer de la rata y el ratón, y especialmente el carcinoma que sufren en la mama y los tumores conjuntivos que en ellos se encuentran, tienen para nosotros un especial interés, porque han sido el punto de partida para una larga serie de estudios experimentales a los que se debe gran parte el progreso de la cancerología. Miss MAUD SLYE ha demostrado que en 33.000 autopsias de ratones encontró 5.000 tumores espontáneos. En la mama se encuentra frecuentemente un carcinoma acinoso, que casi siempre mata después de haber alcanzado grandes volúmenes, produciendo metástasis, especialmente en los pulmones. HAALAN encuentra entre 553 tumores espontáneos 336 tumores de la

manía, siendo mucho más raras las otras localizaciones primitivas, si bien pueden encontrarse en el pulmón, útero, riñón, etcétera. También pueden observarse leucemias y linfomatosis.

En las ratas se han encontrado también tumores epiteliales, pero predominan en ellas los tumores de tipo conjuntivo. Entre los epitelomas que sufren las ratas, merece contarse el cáncer de la lengua y del estómago debido a la presencia irritativa de determinados parásitos, especialmente los *espirópteros*, tumores que FIBIGER estudió y ha podido reproducir experimentalmente, y entre los sarcomas, aparte el clásico sarcoma de Jensen, se han descrito los sarcomas del hígado, estudiados por vez primera por BORREL, debido a la acción irritante de la *tenia crassicolis*.

En los conejos es poco frecuente la existencia de tumores espontáneos, aunque, sin embargo, se han descrito algunos epitelomas y sarcomas de tipo diverso. Esta poca aptitud para el cáncer espontáneo contrasta con la facilidad demostrada para el cáncer experimental debido a la irritación por el alquitrán.

En los cobayas es aún más raro el cáncer espontáneo, y sólo se citan observaciones aisladas, de tumores malignos y leucemias. En el laboratorio del *Imperial Cancer Research* existe un tumor transplantable que fué recogido de un tumor espontáneo del cobaya.

Entre los animales salvajes son menos frecuentes los tumores malignos, aunque entre los leones, tigres, osos, etc., y otros animales salvajes de las colecciones zoológicas, se han encontrado epitelomas y sarcomas.

El mono, animal de experimentación muy apto para el estudio de las enfermedades infectivas, se le considera en cambio como un animal relativamente refrac-

tario al cáncer, y sólo se citan muy pocos casos de sarcomas, gliomas o epitelomas diversos.

El cáncer ha sido estudiado también de modo muy cuidadoso en las aves, pero ha sido preciso separar un gran número de tumores reaccionales y pseudoinflamatorios que se habían confundido con los verdaderos tumores espontáneos.

Se hicieron brillantes descripciones desde mediados del pasado siglo, como, por ejemplo, en la monografía de RAYER y en el trabajo de ROUSSAUD que describió varios casos de cáncer en las águilas. Citemos entre los trabajos más recientes y los investigadores más prestigiosos a Mlle. PECHNAR, que describe 220 casos de tumores espontáneos en las aves, demostrando la mayor frecuencia de los sarcomas, de especial predilección por los ovarios, con metástasis que pueden invadir cualquier viscera; y en cambio los epitelomas, menos frecuentes, asientan especialmente en los pulmones y aparatos digestivo y genital. También son frecuentes en las gallinas las leucemias, especialmente descritas por ELLERMAN, con el nombre de leucosis transmisible, por injerto directo de extracto de sus órganos hematopoyéticos y con sus filtrados, produciendo leucemias y anemias de múltiples tipos.

Entre los tumores que sufren las aves debe citarse los sarcomas que padecen las gallinas y entre los cuales destaca el sarcoma fibroblástico descubierto por PEXTON-ROUS, transmisible por inoculación de los extractos tumorales pasados a través de los filtros más espesos, produciéndose un tumor que después de producir metástasis mata rápidamente. Otras variantes de tumores filtrables correspondiendo a diversos tipos conjuntivos han sido posteriormente descritos por otros autores; pero como luego hemos de dedicar un ca-

pítulo especial a este tipo de tumores experimentales, nos limitamos en este momento a citar con vaguedad la cuestión.

Sorprende también que se encuentren tumores de tipo canceroso entre los animales de sangre fría, porque existía la idea de que el cáncer no podría encontrarse entre los animales de limitada potencia regeneratriz. Es evidente que pueden existir confusiones difíciles de aclarar en los animales de rara y desconocida patología, entre posibles reacciones inflamatorias y los tumores verdaderos; pero no faltan múltiples monografías que estudian esta cuestión con detalle, y merece ser citada a este fin la obra de PLEHN.

Entre los réptiles se han descubierto y descrito varios casos de tumores malignos. En las serpientes es frecuente el cáncer en los ovarios y se conoce una publicación sobre un caso de cáncer del tiroides en una tortuga.

En los anfibios se han descrito un mayor número de tumores de tipos histológicos diversos que habían tenido su origen en los ovarios y riñones. MUNAY cita en una salamandra un caso de cáncer del testículo, con metástasis múltiples. En los peces se han realizado estudios muy completos, y hoy es posible llegar a resumir un historial muy interesante del cual vamos a hacer un breve resumen, porque es digno de ser conocido.

En el siglo XVI, Conrado GESSNER describió en los ciprianidos unas lesiones de hiperplasia endémica conocida en aquel tiempo con el nombre de viruela de las carpas. Más tarde, en los siglos sucesivos, diversos autores han citado casos de tumores en los peces, entre otros WORMS, BELL, CUVIER, GERVAIS, CRISP, etc., tumores que en la mayoría de las veces eran simplemente osteomas. Más tarde en la era de los estudios histológicos, BUANOX descri-

be un sarcoma en un *vario* y WALHILGRAN un osteosarcoma en un *lubina*.

Más tarde se describen las epidemias de epitelomas tiroidianos en los salmones del lago de Garda y en Nueva Zelanda. Mlle. PHECHN, de Munich, publica una notable monografía en 1906 y más tarde otra en 1909 sobre los tumores de origen branquial. FIBIGER describe en 1909 varios casos de tumores malignos en los peces y más tarde otros autores van aumentando los trabajos conocidos sobre estas cuestiones y merecen citarse entre otros a BEALT, ROFFO, WAGO, etc., y sobre todo merece grandes loanzas la magnífica monografía publicada por L. THOMAS, del laboratorio oceanográfico de Tolón, que publica un interesantísimo trabajo, hijo de sus largas observaciones en distintos mares del mundo, especialmente en la Colonia Francesa de Saint-Pierre y Miquelón.

THOMAS resume los casos conocidos; y dejando de parte el estudio de 200 casos de simples exóstosis, recoge 270 casos de tumores con unas 50 observaciones personales y los clasifica en una quinta parte de sus casos como sarcomas fibroblásticos. Cita 56 casos como tipos de otros tumores conjuntivos y entre ellos 15 melanosarcomas, demostrando así que el sarcoma se observa en un 40 por % de los casos y es por lo tanto el tumor más frecuente. Los epitelomas son más raros, tanto los de origen tegumentario como los de origen glandular, habiendo recogido el autor 16 casos personales y cita otros 33 casos ya conocidos en literatura. Se citan además tumores nerviosos, odontomas, quistes y otros tumores benignos.

Por lo tanto, en los peces se han encontrado localizaciones de tumores malignos en todos los sistemas y órganos más diversos, desde la piel y huesos, hasta los tejidos nerviosos. En las más diversas es-

peces se han encontrado tumores malignos, aunque con distinta frecuencia, y en orden decreciente, en el bacalao, carpas, lenguado, salmón, anguila, arenque, etc. Determinadas especies se ven más afectas de tipos tumorales determinados.

En realidad, la frecuencia no es, a pesar de todo, extraordinaria; y así, un investigador japonés, TAKACHASCHI, entre algunas decenas de miles de exámenes y autopsias tan sólo llega a describir ciento cuarenta y seis casos de tumores. THOMAS, entre 150.000 bacalao encontró tan sólo 10 tumores, y entre 25.000 lenguados nada más que dos tumores.

En los peces, sus tumores influyen sobre el estado general, pero resisten mucho más a la caquexia de lo que podría creerse; y si bien los tumores se pueden extender por continuación hasta infiltrar regiones alejadas, en cambio las metástasis son raras y sólo se observan en el 4 % de los casos. Hasta unas recientes experiencias de THOMAS en las que pudo conseguir dos inoculaciones positivas con el epiteloma de los salmones, se consideraba como de resultado insoluble en los peces dicha práctica experimental.

La poca aptitud para las metástasis en los peces afectos de tumores, quizás pueda explicarse por la falta de linfáticos y por las condiciones de la circulación lenta y de su escasa presión, que en dichos animales constituye una peculiar característica.

Los ensayos practicados y las investigaciones que se refieren al fondo etiológico de estos tumores, permite destacar gran número de causas debidas a la irritación mecánica, por diversos parásitos, por la acción de virus filtrante o de factores infectantes, que a su vez son origen del carácter epidémico de muchas neoplasias en los peces. Quizá sea el mismo

fondo biológico, lleno de incógnitas el que condicione y una paralelamente, los tumores de los peces con los que existen en los vertebrados superiores, sobre todo porque ya nadie puede separar la similitud clínica e histológica, y, en general, la biología de los tumores de los peces y de los vertebrados superiores. (Fig. 1 y 2.)

Incluso entre los invertebrados se han descubierto tumores que por su categoría pueden clasificarse como cánceres, y así se han descrito tumores mixomatosos en ostras y moluscos.

Entre los insectos, BRIDGES y MIS. STARCK han descrito en las larvas de la *Drosophila melanogaster* unos tumores melánicos mortales.

La existencia de tumores en los vegetales es un hecho sobradamente conocido y que ha interesado a los biólogos, intentándose compararlos a los tumores de los animales. Es sabido que la picadura de algunos insectos (*Himenopteros*, *Dipteros*) produce tumores, las gallas. También hay tumores vegetales de origen bacteriano o miceliano. En realidad no sabemos nada hasta ahora, sobre la existencia de tumores espontáneos en los vegetales.

VUILLEMIN a fines del pasado siglo estudió la cuestión e intentó comparar los tumores animales a los vegetales. Podríamos aquí citar muchos otros autores si no nos viéramos inhibidos por la obligada brevedad de este capítulo; pero, sin embargo, no podemos dejar de citar a SMITH, que encargado por el Gobierno de los Estados Unidos para el estudio de estas cuestiones, a ellas ha dedicado más de 30 años de trabajo. En 1907 SMITH estudia un tumor la *crown gall* debido a una bacteria, el *bacillus tumefaciens*. La inoculación de esta bacteria a diversas fanerógamas da lugar a la producción de tumores vegetan-

tes y abollonados, que objetivamente llevan el recuerdo de los cánceres.

Por cierto, y es preciso hacer todas las reservas del caso, BLUMENTAL y AULER, en 1925, pretenden haber encontrado en algunos cánceres humanos el *bacillus tumefaciens* e incluso afirman que inyectándolo han llegado a producir en algunos animales tumores malignos y trasplantables. Estos tumores en los vegetales poco sirven para la experimentación, a no ser el producido con el *bacillus tumefaciens*, que sobre todo en los geranios (fig. 3) da lugar entre los 60 y 230 días a tumores de extraordinario desarrollo, influyendo notablemente sobre el crecimiento de la planta, como puede observarse comparándolo con otras plantas de control.

Estos tumores han sido muy bien estudiados por SMITH y MAGROU. VASILIU presentó una notable comunicación sobre ellos a la Asociación Francesa para el estudio del Cáncer, en marzo de 1917.

En estos tumores, desde el punto de vista histológico sorprende el desorden de sus elementos citológicos con evidentes diferencias morfológicas de los tipos que se observan en las preparaciones de un tallo normal, predominando las características histológicas que definen las condiciones de crecimiento a nivel de un brote ramificante. Se observa en los cortes cierta confusión y variedad de elementos, en general de mayor tamaño y menos diferenciados que en los tallos normales.

No faltan, pues, motivos para llegar a establecer un paralelo entre estos tumores y los cánceres animales. Mientras unos autores como SMITH, BLUMENTAL y REICHER aceptan esta identidad, otros en cambio, como VUILLEMIN y DUPRENOY se muestran más reservados. VASILIU expone sus razones para considerar al tumor producido en los vegetales por el *bacillus tumefaciens*

como del mismo orden que el papiloma, en clínica humana.

A pesar de la complejidad de opiniones es, sin embargo, evidente que los tumores de los vegetales deben figurar, por su gran interés para los investigadores, en el campo de la cancerología experimental.

## EL CANCER EXPERIMENTAL EN LOS ANIMALES DE LABORATORIO

### Introducción

Para trabajar en el laboratorio de cancerología podremos disponer de los tumores espontáneos descubiertos por azar en los animales que lo sufren con más frecuencia: ratas, ratones, gallinas, perros, etc., según hemos visto en el anterior capítulo; pero como en realidad lo que principalmente nos interesa es la evolución histogénica y las reacciones generales que pretendemos investigar en cancerología, de aquí que nos preocupe algo más que disponer de una clínica veterinaria, saber oportunamente provocar los tumores o reproducirlos. La cancerología experimental abarca fundamentalmente estas dos cuestiones que vamos a estudiar en los capítulos siguientes.

Separemos en nuestro estudio, en un primer apartado, la manera y las técnicas para conservar mediante injertos los tumores malignos de los animales del laboratorio; después, en otros apartes, describiremos la manera de producir extemporáneamente en dichos animales el cáncer, propiamente llamado experimental, gracias a la acción de agentes químicos, físicos y parasitarios. Al final, a título complementario, expondremos el problema de los agentes infectantes para hacer más comprensible cuanto se refiere a los tumores filtrables.

## EL INJERTO TUMORAL

*Generalidades. — Técnica del injerto. — Sus condiciones de orden local y general. — Sus resultados. — Principales características histogénicas y evolutivas en los injertos tumorales. — Principales tipos de tumores trasplantables más conocidos.*

Firme el concepto de similitud existente entre los tumores de los animales y los del hombre, era lógica la preocupación que embargó a los biólogos de obtener tumores por injerto y disponer de ellos en el laboratorio en un momento oportuno.

La historia de la cuestión, desde tiempos remotos, tenía el valor de un empirismo que no valdría la pena de mentar si no hubiese servido de punto de referencia para ensayos más posteriores. Como en el fondo este problema debía regirse por las leyes generales que regulan los injertos de tejidos en general, se comprende como hasta hace pocos años no fué posible darle un tono científico a dicha cuestión.

La primera condición que debía imponerse para el trasplante de los tumores era la homología de las especies animales, tanto del animal dador como del huésped, y, por tanto, es natural que en todos los ensayos en que se pretendía injertar tumores, desde el hombre a los animales, se fracasase rotundamente. Esta historia negativa ha durado largo tiempo, porque de vez en cuando el anuncio de un supuesto éxito contribuía a poner candente la cuestión, si bien siempre se trataba de una confusión, con un proceso inflamatorio reaccional, y lo más por excepción, podía aceptarse la idea de haber conseguido un tumor experimental, secundariamen-

te al hecho irritativo de la técnica y siempre eliminando la posibilidad del supuesto que criticamos.

Desde el hombre al perro han sido injertados diversos tumores en la piel y en los más distintos órganos, por distintos procedimientos y vías de injerto, y todo ha sido negativo. Por excepción, en literatura se repiten las experiencias de LEWIS, que dice haber trasplantado un epiteloma de ovario, desde una mujer al peritoneo de un perro, aunque confiesa el autor que consiguió un tumor de distinta especie histológica, precisamente un sarcoma, razón suficiente para suponer que pudo ser mal estudiado el caso o para negar valor al supuesto éxito experimental.

Ni aun entre especies animales muy afines es posible conseguir el trasplante de tumores. EHRLICH llegó a conseguir el trasplante de tumores de los ratones a las ratas, pero se trataba de un artificio experimental, de un injerto en zig-zag, es decir, recogido el nuevo injerto antes que se absorbiese el tumor, que fatalmente se perdería en plazo más o menos largo al ser trasplantado de las ratas a los ratones. Si no es así, aún entre las especies más afines, no pueden conseguirse resultados positivos.

BORREL ha conseguido tumores a expensas de injertos procedentes de ratoncitos, implantándolos en los testículos de ratas y de cobayas, con tal que los animales injertados tengan pocas horas o muy pocos días, obteniendo así grandes tumores; pero que, sin embargo, terminan reabsorbiéndose, explicándose tan paradójico resultado, porque al usar como huésped el testículo de animales recién nacidos, equivale a colocarnos en las condiciones de un terreno tan favorable, como lo son, en biología, los tejidos embrionarios que favorecen los cultivos. MURPHY y STURM han

conseguido con éxito injertar en el cerebro de ratas, cobayas y palomas, células tumorales del ratón, injertos que si bien crecen al principio simplemente como si obedeciesen a la inercia que llevaban, sin embargo, más tarde, durante semanas o meses, persisten aunque detenidos en su crecimiento, como si todo fuese debido a que por la ausencia de linfáticos se dificultase su reabsorción; pero a la larga terminará reabsorbiéndose, porque el tumor es invadido por los mononucleares que lo fagocitan, quedando tan sólo una cicatriz.

KOTZAREFF ha conseguido resultados temporales positivos, injertando tumores de ratones blancos a perros y gatos, pero valiéndose del artificio de preparar el animal receptor inyectando previamente suero sanguíneo del animal donador.

La identidad en la especie es, pues, indispensable siempre. Toda excepción puede explicarse por artificios extraños a la esencia de esta condición.

En la especie humana la experiencia del injerto tumoral se hace difícil, porque se trataría de una prueba poco humanitaria y moralmente criticable, si bien se citan casos positivos a título de accidentes operatorios o producidos casualmente por otras circunstancias.

El injerto de los tumores de animales se inicia con carácter realmente científico en el último tercio del pasado siglo. A HANAU en 1889 y a MORÁN en 1894, se deben las primeras experiencias, trasplantando el primero, al peritoneo de una rata, un cáncer de la vulva de otra rata y observando una extensión cancerosa difundida a todo el abdomen; por otra parte, el segundo autor injertó con éxito un cáncer de mama entre ratones.

La larga serie de experiencias reseñadas por los más diversos autores hace imposible que sean resumidas aquí. Tan sólo

como homenaje a prestigiosos investigadores citaremos a LEO LOEB en América, JENSEN en Dinamarca, BORREL en Francia, BASHFORD y MURRAY en Inglaterra, ERILICH en Alemania, etc., que iniciaron en cada uno de estos países esta era experimental.

Para el trabajo práctico en los laboratorios de cancerología los injertos suelen conseguirse a base de tumores de la rata, ratones y gallinas, animales fácilmente receptivos y aptos para ser manejados, y sobre todo porque son especies animales que padecen con mucha frecuencia espontáneamente los más diversos tumores.

La técnica del injerto tumoral es muy fácil: Puede conseguirse de varias maneras, pero en todos los casos el trozo que se extrae para la siembra deberá proceder de un tumor cerrado, exento de fusión o necrosis y sin infección secundaria.

La piel del animal dador, para evitar la acción inhibitoria de los antisépticos, se se limpia solamente con suero. Incidida la piel se disecciona el tumor o se le cortará la pieza directamente en el animal de manera que se extraiga de la parte central, de mayor vitalidad y en el sitio de mejor aspecto objetivo, recogiendo una cuña, más o menos grande, para depositarla sobre un portaobjetos estéril, donde con un bisturí muy fino y afilado se la divide pacientemente en trocitos lo más diminutos posible, que pasen por la luz de la aguja de veterinaria, que empleamos para implantar el injerto. Separada la cantidad de tres a seis trocitos, se suspenden en 1 c.c. de suero estéril y se carga con él la jeringa. De esta manera serán empujadas las muestras en el interior de los tejidos al injertar el líquido.

Otras veces, método que yo creo como de

menor valor práctico, se llevan directamente a través de un ojal practicado en la piel los trocitos de tumor, como un grano de mijo o mayores aún, y luego se sutura dicho ojal.

Como los trocitos de tumor conviene que sean depositados lejos de la incisión de la piel, puede utilizarse un trócar a propósito a lo largo del cual se empujarán los restos tumorales a distancia del ojal practicado en la piel.

Puede también practicarse el injerto triturando el producto resultante de la sección del tumor con bisturí, en un mortero con suero fisiológico, hasta conseguir una fina emulsión de células, que se aprovechará para inyectarla en la cantidad de uno o dos c. e., como si se tratara de una simple inyección subcutánea.

Todas las maniobras serán lo más limpias y pulcras posible, y debiera recomendarse que se aseptice el instrumental, igualmente que el campo operatorio, que nosotros realizamos frotando primero con alcohol y luego lavándolo con suero estéril.

La asepsia es obligada, porque la infección del injerto es causa de que fracase la experiencia. Por eso precisamente los tumores ulcerados y los necróticos dan un menor coeficiente de probabilidades de éxito y por esa precisa excluir los tumores infectados o en todo caso ir a buscar la parte central del tumor.

La región del cuerpo donde se realizará el injerto estará ligada a las circunstancias experimentales del caso; lo más frecuente es producir injertos subcutáneos, desde de la axila hasta debajo de la piel de la nuca. Otras veces se hacen injertos intraperitoneales y aun en el interior de algunos órganos, especialmente en el testículo y cerebro.

En el porcentaje de resultados favora-

bles y en la rapidez y manera de evolucionar el tumor injertado influyen múltiples condiciones que podríamos clasificar de la siguiente manera: a) de las circunstancias específicas del caso, especialmente desde el punto de vista histológico; b) de la técnica; c) de la posible exaltación o disminución de la virulencia de las células neoplásicas que se injertan; d) del estado de receptividad del huésped.

a) El sarcoma de JENSEN suele producir tumores que ya resultan objetivos a los 8 ó 10 días después de injertados y llegan matar los animales, las ratas, en un término medio de 30 ó 40 días, produciendo tumores casi tan voluminosos como el cuerpo del animal. Otro de los tumores con que trabajamos, como el sarcoma de WALKER, que aún es más rápido y voluminoso en su evolución; en ambos casos puede decirse que conseguimos el 100 por 100 de resultados positivos, salvo alguna rarísima excepción, para alguna rata individualmente inmune. En cambio, un epiteloma del ratoncito, que habíamos creado experimentalmente con alquitrán, no pasó nunca de darnos un 10 % de injertos positivos. Cada tipo histológica tiene sus peculiares características de evolución. Biológicamente puede decirse que a gran malignidad y fuerte poder proliferante no deben precisamente corresponder a los tumores voluminosos, sino que es muy frecuente que los tumores muy metastizantes tengan una evolución más lenta y den un porcentaje menor de éxitos al ser trasplantados por injerto, como era el caso de nuestra ratita, a la que acabamos de referirnos, en la que se observaba, a la vez que una evolución muy lenta, un gran poder metastásico, mucho mayor que el sarcoma de JENSEN, que nos da, en cambio, grandes tumores.

b) Ya hemos anunciado cómo influ-

yen los detalles de la técnica, ya que, si injertamos elementos celulares, procedentes de tumores necróticos o infectados, el resultado será más pobre. Parece ser que incluso debe contarse con una cantidad mínima de tumor injertado y que existe un punto óptimo. La región donde se injerta influye en el resultado, como ya hemos anunciado; y así, tumores que en un injerto subcutáneo dan un 25 % de resultados, suben 80 y 100 por 100 cuando el injerto tiene lugar en el cerebro o en el testículo.

c) Es posible exaltar y disminuir la virulencia de las células que se injertan. Los agentes físicos pueden producir estos efectos; y así es posible exaltar el injerto imbibéndole en una solución débilmente radioactiva (solución fisiológica con 300 millicuries de radioactividad); pequeñas dosis de rayos X y ultravioleta resultan excitantes; en cambio, más intensas dosis de radium, de rayos X, ultravioleta, así como la falta de luz, y las temperaturas superiores a 40°, disminuyen y pueden agotar toda virulencia. Los agentes químicos pueden resultar excitantes como en el caso del estímulo que se produce con las soluciones de cloruro de potasio al 1 % y violeta de genciana al 1 %; pero inversamente las sustancias lipolíticas o los desinfectantes tienden a la esterilización del injerto. Los pasos sucesivos a través de los animales, en principio tienden a exaltar la virulencia, favoreciendo el injerto; pero con la continuidad de los pasos, puede suceder que mantengan el mismo poder infectante durante años, como sucede con el sarcoma de Jensen; o bien como en otros casos, que a los diez o doce pasos disminuye la actividad del injerto y termine su poder infectante, como nos ha sucedido con el epiteloma experimental de la ratita citada, que había au-

mentado de actividad en los 3 ó 4 primeros pasos hasta agotarse antes de los 10 pasos. En consecuencia cabría pensar si la facilidad para injerto se explica como una disposición más o menos favorable de parte del tumor, un tanto independiente del huésped. La inoculación en el testículo, como han demostrado BROWN y PEARCE, tiende a aumentar la actividad de crecimiento de las células neoplásicas. ERHLICH demostró que no hay que dejar envejecer el tumor de donde extraer el injerto, y así, para obtener la seguridad del éxito es conveniente obtener la muestra, que debe ser injertada antes que el animal muera a causa de su tumor; y que si se aprovecha un momento evolutivo del tumor, es más segura y rápida la evolución del injerto.

d) Las condiciones de receptividad del animal desde el punto de vista de la especie y del individuo es un factor de gran valor en cancerología experimental. Los animales jóvenes hacen más favorable la evolución del injerto. Un buen estado general y una nutrición favorable facilita el éxito, y al contrario, cualquier causa de desnutrición y debilidad disminuye el poder evolutivo del injerto. Las condiciones defensivas dependientes del sistema endócrino han llenado largas páginas de literatura sin que se vislumbre en realidad todavía un punto de vista final y práctico, si bien podemos aceptar que el tiroides, las suprarrenales, el timo y los ovarios contribuyen con su déficit experimental a la malignidad evolutiva de los injertos cancerosos, y de que en la hipófisis, en los linfáticos y en el bazo debe localizarse una acción defensiva; y así, administrando sus extractos o mediante la excitación directa de dichos órganos, se demuestra una actividad inhibidora contra el injerto. A nuestro jui-

cio, debemos, sin embargo, hacer constar, que dadas las sinergias y correlaciones funcionales de las glándulas endócrinas se hace difícil todavía seleccionar con certeza la intervención de determinadas influencias específicas glandulares.

La alimentación también influye, y así los regímenes de carencia, la avitaminosis sobre todo, pueden dificultar o impedir el desarrollo del tumor injertado.

Ciertos tratamientos previos del huésped pueden favorecer o disminuir las condiciones de receptividad; así, la simpaticectomía y la ablación de los nervios vasos-motores locales las disminuye, y la simpaticotomía las aumenta; la administración de extractos de bazos y embriones las disminuye, y en cambio, los extractos del tejido neoplásico que se injerta, pueden favorecer la receptividad.

Una vez efectuado el injerto, debemos esperar el resultado de su crecimiento, dando lugar a tres posibilidades diferentes: (a), que el injerto no prenda y se reabsorba lentamente; (b), que habiendo prendido y alcanzado cierto desarrollo, pueda aún reabsorberse; (c), que el tumor reproducido por injerto siga creciendo fatalmente hasta alcanzar un gran tamaño y llegue a matar al animal, pudiendo producir metástasis.

Aunque la rapidez del crecimiento y el volumen del tumor dependen de las condiciones histológicas, de la malignidad biológica e incluso de las condiciones de la técnica del injerto, cabe sentar aquí algunas, condiciones generales. Con el sarcoma de Jensen y con el adeno-carcinoma del ratón, en el sitio del injerto notamos unos 5 o 6 días después, la impresión del crecimiento bajo el dedo, que a los 10 ó 15 días alcanza el volumen de una avellana o almendra y un mes más tarde el de una

nuez, después suele ulcerarse y el animal puede morir entre las 6 y 8 semanas.

Veamos ahora lo que sucede desde el punto de vista de su intimidad evolutiva, en el orden histológico. Sucede con los injertos tumorales lo mismo que cuando se injerta una glándula normal, de manera que si son favorables las condiciones, subsistirá. Para ello habrá sido necesario que el tejido conjuntivo del injerto haya sido substituído por el que le habrá cedido el animal portador. Con el tejido conjuntivo neoformado serán arrastrados y producidos los nuevos vasos capilares sanguíneos y linfáticos que le son necesarios para asegurar la vida del tejido implantado. Es natural que en este cambio de cimientos y de las condiciones de vida, se produzcan siempre algunos pequeños puntos locales de necrosis, de cuya mayor o menor intensidad dependerá el éxito. Si con la oportunidad suficiente se produce el estroma indispensable y los vasos convenientes, el tejido injertado se sostiene y crece; pero si no, no puede nutrirse, se produce una reacción inflamatoria de vecindad que tiende a encapsularlo, como si se tratase de un cuerpo extraño, y entonces el aflujo de elementos emigrantes terminarán fagocitándolo, hasta su completa reabsorción.

Para asegurar el éxito puede prepararse el lecho, por un traumatismo local o con ligeras escarificaciones en el sitio del injerto para favorecer la reacción conjuntiva y la neoformación vascular, favorable para el desarrollo del tumor injertado.

Existe en el tumor reproducido exacta fidelidad al tipo injertado. Algunos autores creen que puede variar dicho tipo histológico. Roussy en su libro: "Le Cancer", recoge estas ideas; y aunque él llega a conclusiones contrarias, no parece, sin em-

bargo, que ponga mucho convencimiento en ello.

Nosotros creemos que no existen posibilidades para tales inexplicables metaplasias, y que debe tratarse de reacciones y cambios morfológicos de adaptación. Todos los problemas de metaplasia celular en los elementos injertados, citados por APOLANT, MENETIER, MASSON; etc., deben ponerse muy en duda para que no se repita el caso de los supuestos epitelio-sarcomas, cuya crítica ha hecho acertadamente el doctor ROCA VIÑALS, aprovechando, en un caso a propósito, para demostrar que las supuestas células sarcomatosas eran células epiteliales muy diferenciadas, puestas de manifiesto, gracias al estudio de sus epitelio-fibrillas, con la técnica de DEL RÍO.

Para reproducir y conservar tumores en el laboratorio, precisa, naturalmente, disponer de animales con cánceres, de los cuales puedan extraerse los trozos para practicar el injerto. Estos tumores son habitualmente tumores espontáneos, recogidos cuidadosamente para este fin, pero también, se pueden utilizar los cánceres conseguidos experimentalmente. Los primeros son los que ofrecen mayores facilidades para la práctica del injerto. Los cánceres conseguidos experimentalmente fracasan, con frecuencia, en el intento de injertarlos, porque habitualmente, producidos en la superficie de los tejidos, y ulcerados, suelen estar muy infectados; y como ya sabemos, esta complicación constituye un factor desfavorable.

Entre los cánceres espontáneos que se conservan a través de múltiples generaciones, en los laboratorios, figuran en mayoría unos pocos tipos, clasificados con unos cuantos apellidos que descubran a los investigadores que dieron paternidad a

un tumor que más tarde se ha prodigado de laboratorio en laboratorio.

Entre los más conocidos, citaremos los tumores que más abundan y son más favorables para experimentar. En este punto no haremos hincapié en los detalles histológicos de cada tipo, porque para el fin que nos proponemos, basta nombrar sus caracteres generales junto con el apellido que lleva el tumor: BROWN y PIERCE descubrieron en el escroto de un conejo que habían infectado experimentalmente con sífilis, un cáncer que tuvo su origen en el epitelio de los folículos pilosos; FLEXNER y JOBBUY, obtuvieron en el año 1906 un tumor epitelial, originado en las vesículas seminales de un ratoncito; CALMETTE posee un adeno-carcinoma, originado en la glándula mamaria de un ratón, un sarcoma fuso-celular, que ha servido extraordinariamente en los laboratorios de cancerología; WALKER, descubrió en la mama de la rata un carcinoma alveolar muy interesante para el injerto; BASHFORD un adeno-carcinoma; HARDING y PASSEY un melanoma; HAALAND y BORREL un linfo-sarcoma, etc.

En la práctica basta observar cuidadosamente varias generaciones de ratas y ratones y se podrá, tarde o temprano, conseguir un tumor, porque entre ellos abundan de un modo especial los adeno-carcinomas de la mama. Nosotros mismos, aparte los tipos cancerosos sostenidos por injertos, que hemos recibido de laboratorios extranjeros, poseemos dos adeno-carcinomas, descubiertos por casualidad, entre nuestras crías de ratoncitos.

El cáncer experimental conseguido con alquitrán en los conejos, es intrasplantable prácticamente; pero sí lo es, si bien con escasa frecuencia, el del ratón. El cáncer

espiropteriano y el sarcoma experimental del hígado del gato, son tumores transplantables. Por excepción se ha hablado de que en algunas ocasiones el cáncer producido por las radiaciones puede ser transplantado.

## EL CÁNCER EXPERIMENTAL CON ALQUITRÁN

### I

*Sus antecedentes y los resultados definitivos de los japoneses.—Técnica general de su producción. — Las etapas histogénicas y microscópicas en la evolución del cáncer del alquitrán.*

### II

*Consideraciones sobre las condiciones de la técnica para la cancerización experimental con el alquitrán; frecuencia e intensidad de la irritación, porcentaje de cancerización — Inmunidad natural—. Condiciones dependientes del animal. — Artificios de técnica que favorecen la cancerización.*

### III

*Efectos irritantes locales del alquitrán y sobre el estado general en los conejos y ratones; consideraciones que se derivan, en el orden biológico; de esta perturbación general; las lesiones en diversos órganos debidas al efecto general del alquitrán. Los efectos cancerígenos de las distintas clases de alquitrán. El análisis de los factores cancerígenos del alquitrán. Las recientes investigaciones sobre los cuerpos químicos cancerígenos, derivados del alquitrán.*

### I

Desde que Virchow sentó su teoría sobre el valor etiológico predominante, que en la producción del cáncer debían tener las irritaciones crónicas repetidas, químicas, físicas, parasitarias, etc., muchos han sido los seguidores de tan ilustre opinión, que han buscado experimentalmente la producción del cáncer a base de algún factor irritante.

Ya había llamado la atención a muchos autores la frecuencia con que sufrían el cáncer los obreros que trabajaban con alquitrán. Sugestionados por estos antecedentes, CAZIN y BAYET pensaron, los primeros, conseguir experimentalmente la producción del cáncer, irritando con cierta continuidad la oreja de un perro, pero fracasaron en su intento y sólo obtuvieron una hiperplasia temporal del epitelio.

Corresponde, en justicia, a los japoneses, YAMAGIWA e ITCHIKAWA, el mérito de haber conseguido la producción experimental del cáncer por la irritación con el alquitrán.

En septiembre de 1915 publicaron su primer trabajo sobre "La producción experimental del cáncer". Más tarde, al ser invitados para reproducir sus experiencias en Europa, publicaron nuevos trabajos, especialmente en el *Bull. de l'Ass. F.*, para el estudio del cáncer, en el año 1923.

En líneas generales puede decirse que la técnica es excesivamente simple. Basta frotar con alquitrán de hulla, dos o tres veces por semana, la cara interna de la oreja de un conejo, o la piel de la nuca de un ratón, para que en el término de unos pocos meses se produzca un cáncer en dichos sitios de irritación.

Veamos detalladamente las cuestiones

que merecen estudiarse en el problema del cáncer experimental por alquitrán.

Admitida la frecuente producción de un cáncer por la irritación con alquitrán, en primer lugar resultará altamente interesante conocer los pasos evolutivos que pueden describirse en la histogénesis de dicho cáncer experimental, desde que se inicia la irritación con el alquitrán, hasta conseguir la comprobación histológica de un cáncer que infiltra profundamente.

Sabido es que el cáncer experimental con alquitrán sólo puede observarse, prácticamente, en los conejos y en los ratones; pero para una observación bien detallada es mucho más a propósito aprovechar para tal estudio la cancerización producida en la cara interna de la oreja (fig. 4) del conejo, y así sólo faltará para completar la cuestión, aplicar las mismas consideraciones generales para el caso del ratoncito (fig. 5), haciendo aquellas salvedades peculiares de la piel de este animal. Para seguir las etapas histogénicas de la cancerización experimental, es cómodo aceptar la división de tales etapas, descritas por ITCHIKAWA, pudiendo señalarse cuatro estadios bien claros y definidos:

A título de mejor ilustración, séame permitido aquí incluir una microfotografía que sirva de recuerdo de la estructura micrográfica de la piel normal de la oreja del conejo (fig. 6).

*Primero: Hiperplasia e hipertrofia difusa de las células epiteliales (figs. 7 y 8).* En este primer período el espesor del tejido epitelial aumenta en su conjunto hasta adquirir un grosor de cinco a diez veces su tamaño habitual. Desde la capa fundamental del cuerpo mucoso de MALPIGIO aumentan todas las capas, pero se nota muy especialmente marcada la hiperqueratosis de la capa córnea. De la

basal emergen progresivas papilas que, a su vez, dan lugar a otros brotes de crecimiento, encontrándose en las células de dicha capa abundantes mitosis típicas y aun a veces llega a observarse una doble hilera de células. La displasia y los filamentos de las células del cuerpo mucoso van siendo más marcadas cada vez.

Pero debe hacerse mención de que la hipertrofia y la tendencia hiperplásica no se produce con la misma intensidad en todas las partes de la epidermis, sino que se manifiesta más especialmente en el epitelio del folículo piloso, observándose a su nivel una manifiesta dilatación del folículo y mucho más marcada hiperqueratosis de su epitelio. También es frecuente observar reacciones de las glándulas sebáceas, junto al folículo, de tal manera que dichas glándulas se hipertrofian y tienden a formar masas voluminosas y destacadas y, sobre todo, sufren sus células un efecto metaplásico que las acerca al tipo de las células ordinarias malpighianas; sin embargo, otras veces la reacción de las glándulas es menor, y conservando su función y sus características tan sólo se limitan a aumentar de volumen.

Vale la pena de mentar como un rasgo interesante la disminución de la melamina en las células epiteliales de la capa basal, pero aumentando en los cromatóforos.

En el hipodermo se observa una reacción conjuntivo-vascular muy marcada. Muy pronto se produce una dilatación marcada de los capilares y vasos sanguíneos, sobre todo alrededor de la basal, y en seguida se hipertrofian las células endoteliales y se forman nuevos capilares. Los capilares van aumentando, cerca del epitelio basal, especialmente entre los brotes interpapilares.

Las fibras elásticas persisten alrededor del epitelio basal y de los vasos, pero con

tendencia a disminuir en los sitios donde es más manifiesta la reacción capilar. En los sitios donde se produce esta reacción vascular se observa marcado desarrollo de fibroblastos, y donde es menor esta reacción, se conservan las fibras colágenas.

La reacción de elementos emigrantes es muy escasa y todo lo más se observan algunos eosinófilos, linfocitos, plasmocitos y células del tipo parecido al histocito, elementos atraídos al entorno de los focos de reacción vascular.

Durante este período, macroscópicamente, es difícil observar reacción tumoral ninguna. Todo se reduce a la caída del pelo al cabo de unos pocos días de iniciado el frotamiento con alquitrán, y se observa también una manifiesta descamación de la piel de la oreja en su cara interna, debiendo advertir que es frecuente observar después de las primeras pincelaciones una reacción local, eritematosa al principio, y luego vesículo-purulenta, reacción habitualmente pasajera pero que obliga a interrumpir el ritmo de las aplicaciones, por lo que no conviene que dicha complicación se exagere. Caído ya el pelo y manifiesta la descamación, la piel se hace más gruesa, dura y rugosa, y con la lupa puede ya observarse la dilatación de los folículos.

*Segundo: Hiperplasia limitada de las células epiteliales del folículo o fase también llamada del folículo-epitelioma benigno (papiloma) y del adeno-epitelioma sebáceo benigno adenoma sebáceo, Figuras 9, 10, 11 y 12).*

En este segundo período, la hiperplasia se localiza y progresa en el epitelio de los folículos pilosos, de un modo muy especial. Va produciéndose y destacándose la hipertrofia papilar y creciendo brotes interpapilares que progresan conti-

nuadamente. Existe una manifiesta diferencia entre la hiperplasia del epitelio de los folículos y del epitelio del cuerpo mucoso; pero por excepción pueden encontrarse estos factores de hiperplasia local acantonados en el epitelio del cuerpo mucoso. En las células basales, el pigmento melánico se hace abundante.

Algunas veces las glándulas sebáceas, que ya sabemos como pueden reaccionar en el primer período, pueden ahora, no solo aumentar de volumen, sino también proliferar, extendiéndose, destacándose la metaplasia malpighiana de dichas células y observándose numerosas figuras de mitosis normal.

En este segundo período, en los mamezones crecientes se conserva siempre una capa basal de células ligeramente cúbicas, y las células del cuerpo mucoso se hacen algo más claras y manifiestas, con un protoplasma granuloso y espeso, con granulación que se colorean en rojo por la eosina, con el núcleo relativamente pequeño. La queratinización es poco marcada.

Todos los nódulos en crecimiento tienen forma circunscrita, redondeados, pero desde su basal ya se observan repliegues y reguerros que penetran en el tejido conjuntivo.

En este período, según que la hiperplasia esté localizada en el epitelio del folículo piloso y en el epitelio malpighiano, o en el de las glándulas sebáceas, es posible separar los dos grandes tipos histológicos precancerosos, el de la formación papilomatosa o epitelioma benigno y el adeno-epitelioma sebáceo benigno.

Cabe también decir que a veces el proceso de hiperplasia que guía el estímulo tumoral puede tener un origen mixto, reuniendo evolutivamente los dos tipos descritos, si bien es preciso saber que la metaplasia malpighiana de las células sebáceas puede dar lugar a confusiones.

MENETRIER y PEYRON han expuesto

muy claramente la evolución, en conjunto, de la hiperplasia pilosebácea. La parte sebácea del folículo, situado ordinariamente en su parte más profunda reacciona hiperplasiándose a la vez que el epitelio del folículo, y se va juntando al resto del folículo; y cuando predomina la hipertrofia del epitelio folicular, éste acaba rodeando y englobando la glándula sebácea, cuyas células se desdiferencian y confunden finalmente con las células epiteliales foliculares ya modificadas que las rodean. Si predomina la hiperplasia de las células sebáceas, pueden extenderse como tales, aunque modificándose en el sentido de aparentar una tendencia metaplásica malpighiana, pero dando lugar directamente a los brotes hipertróficos que progerarán y quizás se infiltrarán entre la hipertrofia del epitelio folicular. Este doble juego de mutua relación entre la hiperplasia de las células sebáceas y foliculares, puede dar lugar a alguna confusión, pero en las hipertrofias de origen sebáceo se observan destacadas, aun a pesar de su tendencia metaplásica, el recuerdo y las características objetivas, propias de dichas células.

En este período puede observarse macroscópicamente la impersión objetiva de la hiperplasia de los folículos, y al progresar la evolución histológica se observan ya, en la piel de la oreja, unas pequeñas eminencias acuminadas, a veces tan discretas que parecen tan sólo pequeñas manchitas, de color gris en el conejo blanco, y blancuzcas en el negro. En el centro de estos elementos es posible observar con la lupa algún orificio piloso dilatado, con un contenido blanco grisáceo por retención de queratina y alquitrán. Para una buena observación objetiva debe limpiarse con éter, después de unos días de descanso en los frotés, di-

cha región, y entonces, sobre la superficie depilada y sin escamas, son ya posibles estas observaciones citadas, precisamente desde la segunda o tercera semana después de iniciada la experiencia.

Tercero: *Folículo-epitelioma maligno y adeno-epitelioma maligno* (figs. 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19).

En este período se inicia la disociación de las células epiteliales de la capa basal en las zonas hiperplasiadas, las células comienzan a emanciparse, a manifestar su anarquía evolutiva tanto en su morfología como en su orientación de crecimiento, y traspasando la barrera basal penetran en el dermis, sin que se produzca reacción notable de los elementos linfo-conjuntivos, y avanzan en forma de cordones en el centro de los cuales se destaca la formación de glóbulos córneos. Las mitosis siguen siendo numerosas pero típicas, principal característica que determina el carácter de esta fase primera, incipiente, ya que puede subdividirse este período, en dos fases.

Más tarde las mitosis se hacen más numerosas y sobre todo atípicas. Las células exageran sus alteraciones morfológicas, se manifiesta aún más su disociación y paraqueratosis, y pueden verse los regueros reticulares que se extienden ampliamente por el dermis llegando hasta cerca del cartílago. También se acentúa la penetración de las células neoplásicas en los espacios vasculares y capilares linfáticos. Estas características definen la otra segunda fase que se destaca en este período, el folículo o adeno-epitelioma maligno avanzado.

En este período pueden ya marcarse desde el punto de vista citológico, las características con que se diferencian los distintos tipos de los epitelomas pavimentosos: basales, espinosos o mixtos.



Fig. 1. — *Tumores de los peces*: Cáncer del tiroides en un salmón.

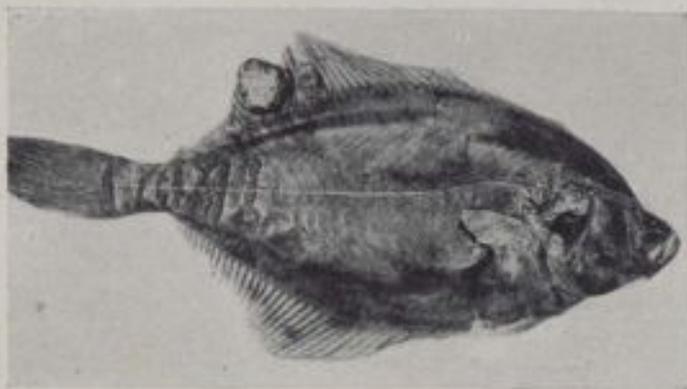


Fig. 2. — *Tumores de los peces*: Tumor sarcomatoso en la piel de un lenguado.



Fig. 3. — Cáncer de los vegetales: Pelargonium (geranio) con tumor producido con *bacillus tumefaciens*.



Fig. 4. — Cáncer experimental con alquitrán: Oreja de un conejo (núm. 71, de nuestras series experimentales), con gran tumor correspondiendo a un cáncer acabado. Este animal murió, presentando metástasis linfáticas. Se cortó la oreja para conservar dicha pieza.



Fig. 5. — Cáncer experimental con alquitrán: Ratón con un cáncer avanzado producido sobre la piel del dorso.



Fig. 6. — Piel normal de la oreja del conejo: Observándose la epidermis con los folículos pilosos, y el hipodermis hasta el cartilago central.



Fig. 11. — *Cáncer experimental con alquitrán: Segundo período.* Mamelones hiperplásicos de un folículo-papiloma en que se observa como la hiperplasia epitelial del folículo ha rodado y englobado las glándulas sebáceas adjuntas.



Fig. 12. — *Cáncer experimental con alquitrán: Segundo período,* observándose unas manchas ligeramente salientes, oscuras, con los folículos dilatados, manifiestamente visibles en ellas.

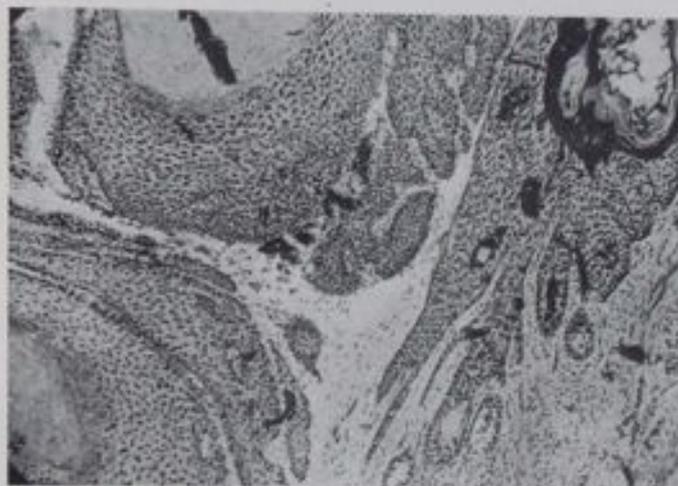


Fig. 13. — Primer período de la cancerización experimental con alquitrán: Folículo epiteloma maligno incipiente. Se inicia la disociación de las células epiteliales de la capa basal, con sus re-  
gueros que penetran en el sermlo, y la tendencia a la formación de glóbulos córneos en los mamelones hiperplásicos.

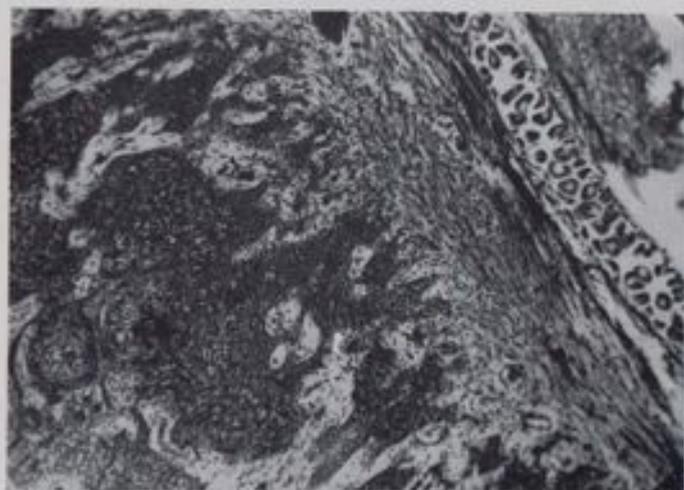


Fig. 14. — Tercer período de la cancerización experimental con el alquitrán: Folículo epiteloma avanzado-cáncer avanzado. Mamelones neoplásicos, invadiendo el dermis, con glóbulos córneos, con alteraciones celulares, morfológicas y nitosis anormales, cordones neoplásicos que se dirigen hacia las proximidades del cartilaje.



Fig. 15. — Tercer período de la cancerización experimental con alquitrán; Diversos aspectos de un campo del epiteloma avanzado de las etapas de la cancerización experimental con alquitrán.

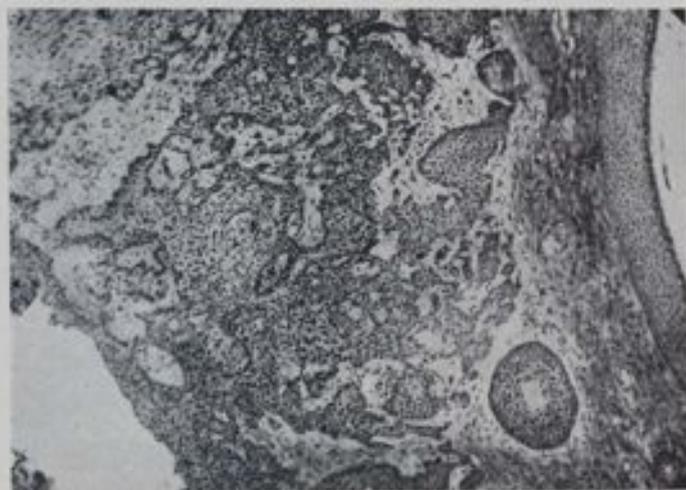


Fig. 16. — Tercer período de la cancerización experimental con alquitrán; Aspecto de uno de los tipos de cánceres ya avanzados conseguidos en nuestro conejo.

CÁNCER EXPERIMENTAL.



Fig. 17. — Cáncer experimental con ulcéras:  
Tercer período. Folículo epiteloma incipiente.



Fig. 18. — Tercer período. Folículo epiteloma  
avanzado.



Fig. 19. — Cáncer experimental con ulcéras:  
Tercer período: Folículo epiteloma avanzado.



Fig. 20. — Cuarto periodo de la cancerización experimental con alquitrán: Cáncer acabado, nódulos neoplásicos junto al cartilago disponiéndose, a través de los espacios vasculares del cartilago, a pasar al otro lado de la piel de la oreja.

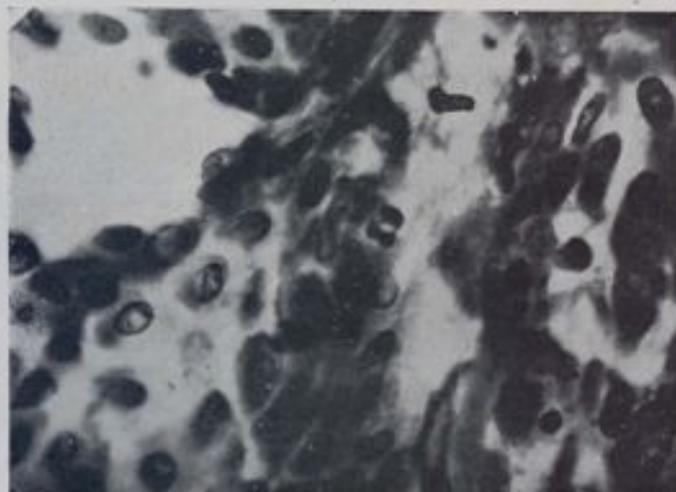


Fig. 21. — Cáncer experimental con alquitrán: Detalle de un campo, en un caso de cáncer acabado, en el que puede observarse las características y modificaciones citológicas de los elementos epiteliales y en que se observan células en división.

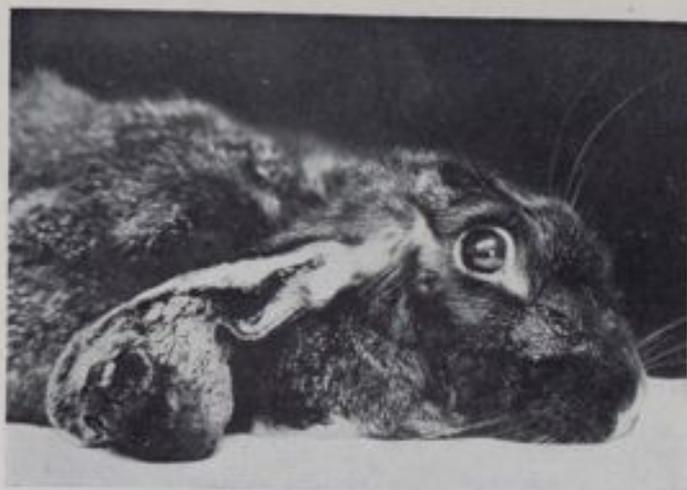


Fig. 22. — Cáncer experimental con alquitrán:  
Enorme tumor epitelial, conseguido en la oreja  
de un conejo.



Fig. 23. — Cáncer experimental con alquitrán:  
Lesión cancerosa de la oreja, cáncer muy avan-  
zado.



Fig. 24. — *Sarcoma de Rous*: Enorme tumor producido por injerto del sarcoma fuso-celular de Rous, en el músculo pectoral de la gallina (gallina Prat 12).



Fig. 25. — *Sarcoma de Rous*: Pieza coleccionada, de un sarcoma de Rous, disecado, de la axila, después de la muerte del animal (gallina Prat 13).

En el hipodermo, los espacios y los capilares linfáticos y sanguíneos aumentan, el tejido linfo-conjuntivo parece edematoso y en algunos vasos se observan embolias celulares, neoplásicas. La reacción fibroblástica va disminuyendo en relación a los anteriores períodos, así como las fibras elásticas de alrededor de los vasos van desapareciendo. Las células emigrantes son del mismo tipo cual se han descrito en los otros períodos.

Desde el punto de vista macroscópico se observa ya el crecimiento de los pequeños nódulos aparecidos en el anterior período que ahora se destacan con carácter de vegetaciones irregulares, de color rosáceo, produciéndose verdaderos tumores sesiles aframbugados y en alguna ocasión, si crecen muy rápidamente, se hacen pediculados y pueden adquirir notable volumen. A veces grandes incrustaciones de costras rodean estos tumores, producto de la descamación córnea amasada con el alquitrán del frotado. Costras que al ser levantadas dejan ulceraciones sangrantes, causa frecuente de perturbación para el animal, menos por el valor de la pérdida misma que por los focos de infección que abren.

Cuarto: *Período de epiteloma maligno acabado*. En este último período (figs. 20, 21, 22 y 23) son bien manifiestos todos los caracteres de la malignidad desde el punto de vista citológico y arquitectónico. En este período los cordones e islotes neoplásicos, a través del cartilago, alcanzan la otra cara de la oreja para crecer y desarrollar el tumor en ella. Es curioso observar como los elementos cancerosos atraviesan el cartilago, aprovechando los orificios por donde pasan sus vasos, sin que se produzcan perforaciones ni destrucciones en él, si bien algunas veces puede obser-

varse manifiesta hipertrofia del cartilago. Se acentúa en este período la infiltración vascular y linfática.

Macroscópicamente se exagera el crecimiento tumoral y sobre todo la ulceración de los tumores. Puede también observarse en este período el infarto de los ganglios cervicales, y excepcionalmente la aparición de algún otro tumor metastásico.

Pero una vez obtenida la cancerización, ¿cuál será la evolución de dicho cáncer? Es éste un punto de sumo interés. En general los tumores tienden a la regresión espontánea, en los animales cancerizados. Si continuamos con el alquitrán, suelen morir; y si cesamos una vez conseguida la producción del cáncer, en la irritación con el alquitrán, las lesiones cancerosas tienden a regresar y a defenderse, de tal manera, que de ordinario el tumor suele convertirse en una escrescencia córnea como un cuerno cutáneo, o en un nódulo duro en que la reacción conjuntiva rodea, engloba y ahoga las células neoplásicas; más tarde pueden eliminarse estas formaciones regresivas y sobrevivir el conejo, quedando una pérdida de substancia más o menos extensa en su oreja. Raramente la progresión continuada del cáncer y la aparición de metástasis matan al animal; sólo se citan casos excepcionales en literatura, sin embargo, indubitables, aunque escasos.

Por estas razones involutivas y porque no siempre es posible alcanzar una fase histológica de cáncer avanzado, se ha criticado por muchos, desde el punto de vista histológico y biológico, la malignidad del cáncer del alquitrán.

Es necesario que en este punto hagamos la salvedad de que la malignidad histológica puede a veces ser discutida, llevando la cuestión al terreno de máximas exigencias, ya que desde el punto de vista

histológico se hace difícil encontrar, a veces, determinados caracteres de malignidad. Sin embargo, los tipos de epitelomas que aceptamos, podrían definirse siempre como tales, cuando menos, desde un punto de vista arquitectónico, por la franca anarquía de crecimiento del epitelio y su dispersión al romper la barrera basal e infiltrar el dermis, con las consiguientes reacciones del hipodermo. Es verdad, por otra parte, que las supuestas dudas sobre la malignidad histológica del cáncer del conejo, conseguido por el alquitrán, corresponden en el fondo a la manera benigna de evolucionar frecuentemente dichos tumores.

La evolución clínica e histológica de los tumores experimentales depende de las condiciones defensivas del animal y éstas difieren en las distintas especies animales. Es posible que otro día, con la misma técnica, encontremos otros animales más aptos, en que el cáncer del alquitrán ofrecerá mayor malignidad. Tan particulares de la especie son las condiciones de malignidad que alcanzan los tumores experimentales, que basta pasar del conejo al ratón, para observar que en este último animal, en el cual el cáncer del alquitrán es tan fácil de conseguir en las experiencias de laboratorio como en el conejo, presenta, por otra parte, tumores extraordinariamente más malignos y en un gran número de casos, se producen metástasis mortales, en los pulmones, sobre todo. Sin otras razones, podemos observar que, en cambio, en la rata y en el cobaya no es posible conseguir su cancerización con el alquitrán, y por lo tanto, cabe atribuir estas diferencias de aptitud a la malignidad, como una cuestión dependiente de la especie animal de que nos servimos para las pruebas.

Con nuestra experiencia tenemos prue-

bas para convencernos de que la supuesta benignidad evolutiva del cáncer experimental en el conejo es un argumento relativo.

La regresión espontánea del tumor ha servido como argumento para disminuir el valor de la verdadera malignidad de este tipo de cancerización; y aunque en el fondo existan cuestiones de difícil apreciación biológica, creemos, sin embargo, que las modificaciones de los tejidos que provocamos con el alquitrán obedecen a una reacción relativamente aguda y pueden fácilmente ser vencidas por las defensas locales y generales del organismo, si no hemos traspasado un cierto límite de tolerancia, porque en la cancerización debemos aceptar dichas defensas, si no específicas, aptas cuando menos para esta lucha. Es posible que si una continuada irritación con el alquitrán no llegase a matar a los conejos, por la cronicidad de los trastornos de irritación local, su influencia sobre el estado general y sus consecuencias perturbadoras en el equilibrio reparador del epitelio alterado, seguramente llegaríamos muchas veces a la muerte del animal por el cáncer. Se ha objetado que estos cánceres casi nunca llegan a la metastización en ganglios y vísceras; pero nosotros, en el mes de marzo de 1931, hemos presentado a la Sociedad de Biología de Barcelona una nota en la que relatábamos cuidadosamente el hecho notabilísimo de que dos conejos que habían sufrido dos años antes una cancerización experimental en la oreja, por irritación con alquitrán, cuyo tumor había regresado totalmente, aparecieron después en el mismo sitio de la primitiva neoplasia nuevos tumores cancerosos que metastizaron en ganglios y vísceras, llevando a dichos animales a la muerte. Con nuestra experiencia puede aseverarse la importancia de la can-

cerización por el alquitrán, ya que, aun desapareciendo el tumor agudo, deja latente una tendencia a la malignidad que, cuando estalla con tiempo para poder actuar con carácter crónico, termina con las manifestaciones típicas de la verdadera malignidad biológica de los cánceres. Posteriormente hemos comprobado en otros animales esta cancerización maligna, tardía.

## II

La cuestión de como deben producirse los frotos irritantes con el alquitrán, engloban unas condiciones de técnica de las cuales depende, no sólo la posibilidad y el tiempo indispensable para la cancerización, sino también en parte sus características histogénicas. Si sobre la oreja sólo nos limitamos a aplicar el alquitrán con un algodón, las lesiones tienden a constituir un tipo de disqueratosis que raramente cancerizan; y en caso de frotar con el algodón que extiende repetidamente el alquitrán, se alcanza el tipo de las lesiones de la queratosis senil, con claros caracteres, de un estado pre-canceroso, que fácilmente nos llevan a conseguir el cáncer experimental. Por esto, es fácil comprender como pueden evolucionar distintamente las lesiones experimentales, según sea la técnica con que se lleva la experiencia, tal como por otra parte han podido comprobar distintos autores y muy especialmente el Pr. BABES de Bucarest, circunstancias que tan bien relata en su comunicación a la Sociedad Francesa para el estudio del Cáncer, en septiembre de 1928.

ITCHIKAWA y BAUM en sus trabajos publicados en el libro del Congreso del Cáncer de Estrasburgo de 1923, y en el *Bole-*

*tin de la Asociación francesa para el estudio del cáncer*, en diciembre de 1923, aconsejan practicar los frotos con alquitrán dos o tres veces por semana y más tarde, dos veces semanales, aunque sometiendo esta frecuencia a la reacción local de la piel y a las alteraciones del estado general. El frotado de la piel puede hacerse con un pincel o cepillo; pero en la práctica, fácilmente caen las cerdas de los pinceles por la acción del alquitrán que se aglomera, razón que es a la vez causa de grandes dificultades para servirse del pincel, inconvenientes que yo he sustituido usando los extremos de algunos tallos vegetales, como los de col, consiguiendo de esta manera actuar con un ligero traumatismo, a la vez que extendiendo el alquitrán.

Aún aceptando en líneas generales los consejos de los autores japoneses antes citados, sobre la frecuencia con que deben sucederse las irritaciones, cabe decir que la precocidad en la aparición del cáncer, dependerá de dicha frecuencia y de la intensidad de la irritación, y que, por lo tanto, a mayor frecuencia más precocidad de cancerización; pero las reacciones locales de la piel frenan esta intención, y sobre todo deben tenerse en cuenta las alteraciones del estado general del animal, porque rápidamente los conejos tienden a perder peso y mueren prontamente. KOROZAREFF en 1925 publicó un trabajo en el que expone la técnica que sigue para obtener cancerizaciones muy rápidas, practicando el primer día seis aplicaciones con el alquitrán, una diaria los tres días siguientes, y más tarde una en días alternos. En la práctica, nosotros aconsejaríamos practicar desde el principio tres irritaciones semanales y a las tres semanas reducirlas a una cada tres días, o cuatro, si los animales dieran la menor muestra de in-

toxicación. El frotado durará unos cuatro o cinco minutos, bajo el control de un reloj de arena, y debe reducirse a frotar con un vaivén enérgico, sobre el centro de la cara interna de la oreja.

Es preciso que antes de otra nueva aplicación se haya secado la capa de alquitrán anterior, y pueda ser levantada con una pinza, o disuelta con xilol.

También para conseguir una cancerización rápida se han venido usando por diferentes autores procedimientos coadyuvantes con previas irritaciones, sea mediante una fricción con éter de petróleo, durante unos minutos, como practican BITTMAN y KOTZAREFF, o como practica DEELMAN que favorece la cancerización con una previa escarificación de la oreja y repitiendo los trazos con bisturí, cada vez, antes del frotado.

En la técnica de la cancerización especial deben tenerse en cuenta, además, otros dos factores importantes que dependen de las condiciones del alquitrán y de las características del animal. De las primeras hablaremos con más extensión, aparte, en otro capítulo.

La raza y características de los conejos deben fatalmente intervenir e incluso debe contarse con excepcionales condiciones individuales de inmunidad. ITCHIKAWA, al reproducir en París sus experiencias clásicas, puso de manifiesto la diferencia en la evolución, al emplear otro tipo de conejo, distinto de los usados en el Japón, ya que con estos últimos había obtenido más tardíamente la cancerización y sobre todo en su intimidad histológica, se ponía de manifiesto una fase de foliculoma, mucho más corta en el conejo doméstico francés, tal como han expuesto en un trabajo, en el *Boletín de la Asociación Francesa del Cáncer*, en diciembre de 1923. BABES, en un trabajo publicado en el mis-

mo Boletín en noviembre de 1928, pone de manifiesto, que sirviéndose de unos conejos de raza belga caracterizados por su gran talla y por sus especiales características anatómicas de las orejas, es posible obtener las más rápidas cancerizaciones. Se ha discutido también, si el color del conejo tiene influencia y en general tiende a creerse que los conejos grises o negros son más aptos que los blancos para la cancerización.

Nosotros creemos, con nuestra experiencia, que el color es un factor de poca importancia y podemos afirmar que el conejo doméstico que se encuentra en nuestros mercados se presta muy bien a la experiencia, ya que obtenemos con ellos un coeficiente de cancerización parecido al conseguido por los autores japoneses. Creemos que la edad del conejo debe tener un valor especial, y debo mentar las conclusiones del trabajo publicado en el "*Boletín de Cancerología*" en noviembre de 1931 por uno de mis colaboradores, el Dr. B. CUEVAS. En el conejo joven la aparición del cáncer es más tardía pero el porcentaje de cancerizaciones, generalmente es el mismo que en los animales más viejos, en los cuales, si bien aparece el cáncer con más prontitud, resisten mucho peor a los peligros de la intoxicación, de modo que se pierden muchos menos animales cuando se emplean conejos jóvenes.

La rapidez con que se obtiene la cancerización es un factor que interesa conocer. ITCHIKAWA y YAMAJIWA, cuando realizaron sus experiencias en París, quedaron sorprendidos, porque alcanzaban la cancerización en un término más corto que el que les precisaba para sus experiencias en el Japón, de modo que entre los cuarenta y cincuenta días, como término medio, alcanzaban el estadio del foliculo-epi-

teloma maligno y entre los cincuenta y setenta días veían carcinomas avanzados.

En esta cuestión sobre la rapidez con que se consigue la cancerización caben los términos más extremos, y repasando la literatura que trata de esta cuestión, se observa una gran discrepancia en los resultados, entre los casos excepcionales citados por BABES, que ha conseguido cancerizar algunos conejos, desde los trece a diez y siete días, hasta otros casos, sucedidos a distintos autores, que han necesitado hasta cerca de un año. Parece, según se desprende de las múltiples publicaciones que conozco, que el término medio debe estar entre los tres y cuatro meses, aunque, como dice BANG, con dos meses de irritación cabe ya pensar que se ha dado al animal el estímulo de malignidad local y general que en un tiempo más o menos largo llegará a una explosión objetiva, hasta producir el cáncer en cuestión. Cabe pues decir que obedeciendo a los múltiples factores que deben regir el proceso de la cancerización experimental, será posible encontrar las más extremas posibilidades entre dichos tiempos mínimos o los más tardíos, con que en la práctica puede diferenciarse, según distintos autores, este resultado experimental.

Nosotros entre las varias series experimentales practicadas en años distintos, hemos conseguido tiempos muy diferentes de cancerización. Con una serie de pruebas durante el verano de 1931, conseguimos tiempos mínimos en 35 días y un promedio de 50.

Ya hemos expuesto que es posible precipitar la cancerización valiéndonos de artificios en la técnica experimental, tal como las fricciones previas con éter de petróleo o las escarificaciones. A este propósito citemos la recomendación de ITCHIKAWA, de añadir a la alimentación de los

conejos 10 gramos diarios de lanolina, durante todo el tiempo de la prueba, o como otro autor aconseja, añadir a la comida, medio centímetro cúbico de una solución de arsénito potásico al 2 %.

KOTZAREFF, en su obra sobre la "Físico-química del Cáncer", aconseja usar el alquitrán electrolítico para conseguir más rápidos resultados. En la práctica todos estos artificios secundarios, con objeto de precipitar la cancerización, interesan muy poco y son discutibles en sus efectos. La cancerización rápida tiene mucho más de casualidad y curiosidad, que interés para el servicio que debe prestarnos en el laboratorio las series de cancerización con el alquitrán.

Incluso parece que debe darse un valor favorable a la lentitud de la cancerización, ya que según algunos autores, eleva el porcentaje de malignidad de los casos de carcinoma experimental.

Tiene muy grande importancia definir el posible porcentaje de la cancerización experimental con alquitrán. ITCHIKAWA y BAUM, consiguen un diferente porcentaje en las experiencias realizadas en series separadas; y en el Congreso del Cáncer de Estrasburgo, en julio de 1923, acusan un porcentaje relativamente bajo porque gran parte de los animales mueren pronto, y es preciso que sobrevivan largamente para observar el desarrollo del cáncer; pero con una serie cuidadosamente atendida, entre 18 animales, consiguen 14 cánceres, o sea un 77 % de los casos y más tarde, en otra publicación posterior, afirman que el 96 % de sus animales pasan por la fase del cáncer incipiente.

Nosotros hemos conseguido que pasen por dicha fase del cáncer incipiente, el 76 % de nuestros conejos tomados en experimentación, cifra total, disminuída en su valor absoluto por las pérdidas de ani-

males muertos por la intoxicación, prematuramente. Nuestra estadística, como la de todos aquellos que hablen honradamente, demuestra, que si bien es fácil conseguir tan altas cifras de cánceres incipientes, es más difícil obtener el estadio final, descrito con el nombre de cáncer acabado o avanzado, infiltrando directamente a través del cartilago, el lado externo de la piel de la oreja, y sobre todo, es aún más difícil todavía, poder observar los casos excepcionales, con metástasis cancerosas ganglionares o lejanas. No sería difícil llevar aquí los resultados estadísticos de diferentes autores, pero en general difieren poco de los términos generales con que resumo este punto.

### III

¿Cómo explicar en su intimidad biológica la explosión del cáncer por los frotos del alquitrán? Muy discutida ha sido esta cuestión y ha llenado abundantes páginas de la literatura especializada. Unos pretenden que se debe exclusivamente a la acción irritante local, que estimula *in situ* la anarquía del crecimiento patológico; otros creen que el papel principal se debe esencialmente a una perturbación general con su secuela incógnita de alteraciones humorales y desequilibrios nerviosos y endócrinos, principales factores de la cancerización, cuyo lugar de aparición viene fijado por el hecho de la irritación traumática y, finalmente, otros suponen que al común efecto de ambos factores local y general del alquitrán se debe la acción cancerígena.

Con un criterio de observación muy simple, es evidente que progresando paralelamente a la continuidad de los frotos con alquitrán, los efectos macroscópi-

camente objetivos y los que se suceden en la intimidad histológica, puede pensarse si todo se debe a la acción directa *in-situ* del alquitrán. Pero sucede que con todo y que la irritación suele producirse en el centro de la cara interna de la oreja, es frecuente que la neoplasia se inicie en los mismo bordes de la oreja o en la otra cara externa que no recibió directamente la acción del alquitrán o en la base de la oreja, de manera que podría explicarse la posibilidad de una acción a distancia que diere en el suelo con la precisa suposición de que todo se deba a la acción irritante local. BABES ha dado una explicación a estas posibilidades, muy frecuentes en dicha práctica experimental, haciendo ver cómo los animales con su pata se rascan la región untada con alquitrán y de nuevo con sus uñas pueden rascar regiones vecinas produciendo un auto-frotado de alquitrán donde más tarde salen los efectos dichos. La explicación es ingeniosa y muy verosímil pero cuesta creer que sea suficiente para suponer que de esta manera se pueda conseguir mejor efecto irritante en estas condiciones que en el sitio donde con un ritmo constante se produce la irritación experimental, y sobre todo porque en estos casos, cuando el cáncer aparece en sitios más alejados de los propiamente irritados, en cambio en estos últimos, la reacción tumoral es pequeña o no se produce.

Aquellos que pretenden dar a la perturbación general del alquitrán un valor definitivo, tienen también sus puntos de vista, no ciertamente despreciables. Los animales durante la prueba sufren una perturbación general muy importante, hasta el punto de que muchos animales en las primeras semanas llegan a perder 100 y 200 gramos de peso, y aun a veces más, sobre todo si se trata de conejos bien nutridos y jóvenes. Tal es la alteración ge-

neral que pueden sufrir estos animales, que nosotros los hemos visto perder más de la mitad de su peso inicial, sufriendo tanto en su estado general, que a partir del primer mes, pueden morir; así se pierden fatalmente gran número de animales en cada serie experimental.

ITCHIKAWA, desde sus primeras publicaciones ya insiste en que es necesaria esta condición perturbadora del estado general de los conejos para que se llegue fácilmente a la cancerización. LEROUX en un trabajo publicado en el "*Bull. de l'A. F.*", para el estudio del Cáncer, en diciembre de 1923, confirma esta suposición y demuestra que si se respeta demasiado el peligro que corremos de perder por este mecanismo los animales, disminuye el porcentaje de los conejos que se hacen cancerosos. Nosotros aceptamos estas ideas, y de aquí la dificultad que tiene la práctica de esta experiencia, porque nos debemos mover en ella entre el temor de no poder terminarla al morir los animales, y la necesidad de producir en ellos una perturbación general, para que secundariamente se modifiquen aquellas condiciones humorales y glandulares, en la forma más conveniente para que se cree una predisposición a cancerizar.

No se trata simplemente de una perturbación esencial, sino que se la comienza a valorizar en el terreno anatómo-patológico. ITCHIKAWA ya la anunciaba en líneas generales, y la estudiaba en la sangre. LIPSCHITZ estudió la existencia de procesos degenerativos en el hígado, riñones, bazo y ganglios linfáticos, trastornos vasculares con vaso-dilatación y hemorragias en distintas vísceras, alteraciones del sistema retículo endotelial, anemia, modificaciones humorales diversas, etc. Muchos otros autores después han estudiado parecidas modificaciones, entre ellos ROUSSY, LEROUX,

BAUM, etc. Citemos en particular a BABES, que en sucesivas publicaciones en el *Bull. de l'Ass. Fran. para el Cáncer*, ha venido ocupándose de la cuestión, demostrando que en los ganglios linfáticos (enero 1929) se observa una desaparición o disminución de los elementos linfáticos de los folículos y de los cordones medulares, conservándose, a menudo, aumentadas de volumen y multiplicándose las células del sistema retículo endotelial de los ganglios, y que en la sangre existe una disminución de los linfocitos, aumento de monocitos, anemia, lipemia y otras alteraciones de menor cuantía; en los pulmones (abril de 1929) se observan lesiones degenerativas y de necrosis del epitelio de los alvéolos pulmonares y a la vez un proceso proliferativo de epitelio, caracterizado por la hipertrofia del epitelio alveolar y la presencia de células gigantes; en los ovarios (abril 1930) aparte de su mayor volumen se observa una hipertrofia y aumento de células intersticiales cargadas de grasa y la presencia de un número más elevado de folículos primitivos y folículos de Graaf; en el bazo (mayo de 1930), modificaciones parecidas a la enfermedad de Gaucher, aunque las células de Kupffer que se observan son de más moderadas dimensiones que en el caso de aquella afección.

Sin necesidad de continuar en revista las publicaciones que se refieren a esta cuestión, puede concluirse, que el alquitrán, aun aplicado con los frotos consabidos en la oreja del conejo, produce una alteración general manifiesta y unas perturbaciones anatómo-patológicas de cierto valor, que sin embargo no se pueden admitir como específicas, sino quizás más bien propias de una vulgar acción tóxica. Cuando el alquitrán se inyecta directamente debajo la piel o en los músculos, produce sin embargo parecidas perturbaciones. Específica

o tóxica, la acción general del alquitrán, en estos casos, cuando menos llega a producir una disminución de las defensas generales con todas sus consecuencias secundarias que parecen facilitar la cancerización experimental.

El hecho de que no se haya observado la producción de cánceres por la inyección o administración de alquitrán a los conejos, ha servido de argumento para los que desprecian esta acción general que hemos expuesto y que la consideran como un antecedente tóxico, coexistente, por las necesidades de la técnica.

Los investigadores que suponen que todo se debe a la acción irritante local, como Roussy, se basan en el supuesto que se trata de una acción casi específica para la piel, porque tan sólo excepcionalmente se consigue cancerizar con alquitrán otros tejidos epiteliales y conjuntivos, y que por otra parte, siendo casi absoluta la proporción de conejos cancerizados, se deduce que el hecho irritante ha de ser independiente de unas condiciones generales que más de una vez podrían ponerse en juego ante los casos de una inmunidad individual.

Los efectos apreciables en la investigación histológica, a nivel de la piel irritada, son suficientes para explicar las lesiones, que llevan los tejidos a la cancerización. ITCHIKAWA, en sus trabajos ya citados demostraba el efecto local debido a los frottes, dando lugar al edema, a la necrosis, y a la ulceración.

CHAMP y VASILIU en el "*Bull. de l'A. Fr.*", para el estudio del Cáncer, en febrero de 1923, publicaron un brillante trabajo relativo a los efectos locales del alquitrán, para explicarnos la cancerización. Dichos autores creen que ciertos carburos y fenoles que integran el alquitrán, penetran a través de la capa córnea impreg-

nada de grasa, ya que dichos carburos y fenoles son solubles en las grasas y por este mecanismo se destruye la capa córnea y el pelo. De esta manera se favorece la penetración del alquitrán hasta la vecindad de las células basales, en el epidermis. Por todas estas razones se produce una multiplicación rápida desde la capa basal, que reacciona para reemplazar la capa córnea funcionalmente ausente, pero sobre todo la epidermis, se esfuerza en rehacer los folículos pilosos. Estos esfuerzos regenerativos, profundos y anormales llevan a la producción de manifiestas invaginaciones epidérmicas, en forma de papilas penetrantes en el dérmis. El cáncer sería el último término de estos esfuerzos regenerativos, que se producen continuamente, mientras se repite y sostiene la irritación con el alquitrán. En esta reacción proliferativa, las células se alteran y tienden a indiferenciarse, porque ya es sabido que así sucede siempre que se provoca un proceso regenerativo, en razón directa al tiempo que dura dicha regeneración; de tal manera, que si los fenómenos de regeneración se repiten incesantemente, las células pierden sus caracteres diferenciales, a medida que, por otra parte se estimula de esta manera la actividad de crecimiento. No es necesario para comprender este mecanismo, pensar en la ulceración objetiva, sino que basta simplemente una deficiencia fisiológica de algunos elementos epiteliales. Inclinada la regeneración experimental a una velocidad reproductiva extraordinaria, se pierde toda regulación, normal en el equilibrio fisiológico consiguiente. Por este mecanismo es posible explicarnos los efectos cancerígenos del alquitrán, como efecto puramente local.

Demostrado que con el alquitrán inyectado o administrado con los alimentos no

se ha llegado a la producción del cáncer experimental, y demostrado, por otra parte, los efectos casi constantes de la cancerización *in situ*, con los frotados de alquitrán, podría creerse que realmente todo se explica y se debe a dicha acción local; pero el problema se complica con otras experiencias que llevan la cuestión a su verdadera posición.

Se ha conseguido demostrar que las inyecciones de alquitrán, aplicadas lejos del sitio de la irritación local, tanto en las ratas como en los conejos, favorecen las experiencias de cancerización ordinaria, con los frotados consabidos. MAIZÍN ha aumentado en tres veces por este procedimiento el coeficiente de ratas cancerizadas. MURPHY, en ratas de familias predispuestas al cáncer pulmonar consigue aumentar notablemente la proporción de dichos cánceres. MURRAY y DEELMAN, con los conejos irritados localmente en la oreja durante dos meses, hace dos lotes, uno en el que se abandona todo tratamiento e irritación, y otro en el que se continúa el efecto general del alquitrán mediante inyecciones intramusculares, observándose que los animales del primer grupo no cancerizan y entre los del segundo, en un gran número de ellos se consiguen la producción del cáncer.

Hechas todas las consideraciones que anteceden, no hay duda ninguna que a la acción irritante del alquitrán en la oreja se debe el mecanismo de la cancerización, pero que la explosión de la malignidad debe relacionarse, o cuando menos se encuentra favorecida, por unas modificaciones que sobre el organismo general se producen por el efecto de la absorción del alquitrán o mejor de alguna de las sustancias químicas que integran aquel producto tan complejo.

La facilidad con que experimentalmente se consigue la cancerización con el alquitrán, ha incitado a biólogos y químicos a estudiar en detalle desde un punto de vista químico, la causa de tales efectos, en un producto de tan compleja composición. Ya es sabido que el alquitrán se produce por pirogenización y la destilación a temperaturas elevadas de numerosas materias orgánicas, aunque como luego veremos, en cancerología nos interesa solamente el alquitrán obtenido por la combustión de la hulla. En el alquitrán se han estudiado más de un centenar de cuerpos distintos, y puede decirse que aun está imperfectamente conocido. La mayoría de sus componentes pertenecen a la serie aromática.

Desde el primer momento, después de las primeras publicaciones sobre la cancerización por el alquitrán, se ensayaron alquitranes de distinta procedencia, y pudo observarse que el efecto cancerígeno quedaba casi exclusivamente reducido al alquitrán de la hulla, y que el alquitrán de madera prácticamente no era cancerígeno, y muy poco también el que procede de los altos hornos y de las fábricas del gas.

Las marcadas variaciones del poder cancerígeno del alquitrán según su distinto origen, planteó en seguida el interés de investigar las razones de tales diferencias. BAYET incriminó tales diferencias, en razón al distinto contenido en arsénico de los distintos alquitranes; pero más tarde las experiencias de COULON y otros autores han demostrado que alquitranes con el más alto contenido de arsénico, hasta el 17 %, no producían cánceres, mientras podían producirse con otros alquitranes con mínima concentración de arsénico. No faltó quien habló de la posible existencia de alguna hipotética sustancia específica,

inestable, comparada a las hormonas orgánicas o las vitaminas de los alimentos.

Operando con alquitrán de la hulla y aprovechando la ventaja de que destilando el alquitrán a distintas temperaturas puede disponerse de mezclas en la que habremos seleccionado distintos de sus componentes, se practicaron múltiples ensayos con este fin analítico, probando el poder cancerígeno de los distintos alquitránes así conseguidos.

Inmediatamente pudo demostrarse que las condiciones de la combustión de la hulla y las temperaturas de su destilación modifican su poder cancerígeno. DEELMAN, en un trabajo publicado en el *Bull. de l'Ass. Fran. para el estudio del Cáncer* en enero de 1923, puso de manifiesto que el alquitrán obtenido en retortas horizontales es mucho más activo que el obtenido en retortas verticales. Destilando el alquitrán de la hulla a distintas temperaturas, pudo demostrar que con los destilados a temperaturas de 180°, 250°, 285° y hasta 345° no se conseguía cancerización, y que en el residuo, con la brea quedan los principios cancerígenos que, extraídos de ella con benzol, toluol, u acetona pueden servir para conseguir resultados experimentales positivos. Incluso con la destilación de estas últimas soluciones pueden conseguirse productos cancerígenos más o menos eficaces según las condiciones de la extracción y cuya identificación química se hace aún difícil. B. Bloch, de Zurich, consiguió destilar a los 400°, del alquitrán con que trabajaba, un producto muy cancerígeno.

Resulta evidente que tan sólo con los productos que destilan de los alquitránes a muy altas temperaturas se consigue una manifiesta actividad cancerígena.

Trabajos de MAIZIN, publicados en el año 1923, han demostrado que a 350°

se pueden conseguir productos cancerígenos a condición de que se trate de alquitrán obtenido en retortas horizontales. La brea, por destilación del alquitrán de las retortas horizontales, es más rica en hidrocarburo, de punto de ebullición alto y a esto deben quizá sus efectos más activos. Puede decirse en general que los productos que se destilan entre 370° y 440° son los de mayor actividad y se trata precisamente de sustancias solubles en el benceno. A más altas temperaturas, los productos destilados poseen una menor actividad, y quizás por esta razón el alquitrán obtenido en los altos hornos a temperaturas de 1.300° y 1.400° no es cancerígeno. La procedencia del alquitrán y las condiciones de su obtención pueden hacer variar, en manos de los distintos investigadores, los términos de sus pruebas en la cancerización experimental. Para hacer constante en un mismo laboratorio los resultados de las series experimentales, precisa disponer de un gran stock del mismo alquitrán o poder conseguir el mismo producto siempre.

Para nuestro trabajo, disponemos de una gran cantidad, del cual podemos dar una nota de sus más simples condiciones analíticas tal como siguen:

Alquitrán procedente de la destilación seca de la hulla.

#### Temperaturas

Hasta 170° agua amoniacal y aceite ligero ... ..	4 a 5 %
170° a 200° aceites ligeros...	2 a 4 %
200 a 230° aceites medios ...	10 a 12 %
230 a 270° aceites pesados...	8 a 10 %
270 a 360° aceites de antraceno ... ..	18 a 20 %
Residuo de brea ... ..	54 a 62 %

Ya hemos dejado entrever que aparte

de la acción del alquitrán en su conjunto se han hecho ensayos con productos diversos y aislados de tan compleja mezcla, habiéndose publicado muchos trabajos sobre el poder cancerígeno de los subproductos del alquitrán.

MAIZIN, en 1923, ha realizado unas experiencias con unas mezclas de sustancias neutras que hierven entre 305° y 360°, procedentes de la destilación de la hulla, obtenida en retortas horizontales. Otras pruebas condujeron a obtener un producto muy activo que en las ratas producía, en el 50 % de los casos, un tipo de cáncer muy metastásico y maligno, producto obtenido por destilación a 350° que luego se trataba con benceno, y cuyo extracto después sufre distintos tratamientos con lejía de sosa y ácido sulfúrico hasta conseguir la precipitación de una sustancia neutra con un punto de ebullición inferior a 350° y soluble en el benceno.

Poco a poco se iban ampliando los conocimientos fundamentales que habían de llevarnos a conseguir la clave con que llegar a poseer las condiciones de la intimidad química de acción que se encierra en el alquitrán, cuando recientemente nos sorprenden los notables trabajos iniciados por KENNAWAY en el Hospital del Cáncer de Londres, con ánimo de conseguir el absoluto aislamiento de los constituyentes cancerígenos del alquitrán.

HIGER, colaborando con KENNAWAY, observó que los productos del alquitrán, como de mayor actividad, cuales los estudiados por DEEMAN y MAIZIN antes citados, así como todos los productos cancerígenos derivados del alquitrán, estaban ligados por una propiedad física común; se observa una intensa fluorescencia, cuando se exponen a la luz ultra-violeta y presentan tres bandas de absorción a 4.000, a 4.180 y a 4.400 U. A. Cuanto más se

manifiesta la acción cancerígena de estos productos, más se exalta el aspecto característico de esta fluorescencia. Este descubrimiento ha de constituir un factor de trascendental importancia para el porvenir de la cancerología experimental.

Dado el punto de partida descubierto por KENNAWAY, para identificar en virtud de una propiedad física las condiciones cancerígenas de las sustancias químicas que integran el alquitrán, y como la prueba experimental sobre los animales es bien fácil, se comprende el avance que en este punto debía esperarse. KENNAWAY solicitó la colaboración de un gran laboratorio de química orgánica para llegar a la identificación de los compuestos y sustancias cancerígenas, y por esta razón asoció para tales trabajos al ilustre profesor inglés J. W. COOK, que en largos, costosos y memorables trabajos de química orgánica pura ha conseguido en estos últimos años aislar del alquitrán los hidrocarburos que presentan el más alto grado de la fluorescencia característica y que paralelamente tienen en el laboratorio un alto poder cancerígeno. El gran mérito de Cook estriba en haber llegado a su vez a la preparación sintética de dichos productos.

Por procedimientos que no son del caso llevar aquí, se ha aislado el hidrocarburo dotado del más alto poder cancerígeno, el 1-2 benzopireno, hidrocarburo cíclico de cinco núcleos benzenicos condensados; extraído por destilación, al hervir a 500-510°. En segundo lugar en poder cancerígeno se conseguía poco después extraer del alquitrán el 5-6 ciclopenteno 1-2 benzantraceno. Estos dos productos poco después, gracias a los esfuerzos de Cook y HEWET, se obtenían por síntesis.

Dichas sustancias son solubles en el benceno, y en los ratones y en las gallinas,

por irritación, con el frotado y por inyección, han permitido obtener diversos tipos de tumores cancerosos, trasplantables fácilmente. Estos resultados significan que al fin hemos conseguido aislar determinadas sustancias químicas que poseen una acción neoformativa. La importancia de este descubrimiento es tanto más importante, no sólo por haber descubierto el agente cancerígeno del alquitrán y haber obtenido un método físico para el reconocimiento de aquellas propiedades, sino porque la observación de las propiedades generales de dichas sustancias nos lleva de la mano al posible descubrimiento de las condiciones que determinan la cancerización espontánea.

Los dos hidrocarburos citados poseen claramente propiedades oestrogénas, y por lo tanto queda patente el hecho de una relación de factores comunes entre determinadas sustancias de secreción interna y las sustancias químicas que podríamos llamar de cualidades cancerígenas específicas. Hoy no es posible decir todavía una palabra más en esta cuestión, porque se trata de descubrimientos contemporáneos que están en curso de abrir un nuevo camino, esta vez con un horizonte bien claro, en el campo de la cancerología. Por todas estas razones debemos sentir un sentimiento de admiración y homenaje para los ilustres investigadores ingleses.

#### EL CANCER PRODUCIDO EXPERIMENTALMENTE CON LAS RADIACIONES

*El cáncer producido por los rayos X.*

*El cáncer debido a la acción de las sustancias radioactivas.—El cáncer actínico.*

La producción del cáncer experimental con los rayos X no es una cosa tan simple

como a primera vista parece, a pesar de que la cuestión aparentaba ser clara, si se tiene en cuenta que es casi ya vieja la historia del cáncer profesional de los radiólogos, que tantas y tan valiosas vidas ha arrebatado entre los primeros especializados, apóstoles de la radiología, y entre los innumerables trabajadores de la especialidad que por consciente sacrificio, y otras veces por descuido o indolencia, pagan también duro tributo a la fatal esclavitud de su trabajo.

Si bien con los rayos X es posible producir experimentalmente el cáncer en los animales, no es tan fácil como muchos creyeron, porque la continuidad abusiva del tratamiento llega fácilmente a ulcerar los tejidos con profundas lesiones necróticas, con el cortejo de múltiples complicaciones que matan a los animales antes que lleguen a la degeneración maligna. Si en un sitio determinado irritamos la piel a intervalos oportunos, con series de irradiaciones, más intensas entre largos períodos de descanso, o bien con dosis más moderadas, a pequeños intervalos, de las dos maneras hemos de huir de las dosis que produzcan lesiones agudas. Precisa, de todos modos, que sean eficientes, para conseguir modificaciones profundas de tipo crónico, tanto en lo que atañe a la circulación local, como a la nutrición, como a la función genética. Esta acción lenta, pero sostenida, exige largo tiempo de experimentación y además de entretenida, es costosa.

En la misma historia del cáncer profesional, sorprende la lentitud con que se producen las lesiones degenerativas cutáneas, representando una larga suma de pequeñas dosis cotidianas, y también en el caso de que la degeneración sobrevenga, tardíamente, sobre una lesión producida por el solo hecho de una sesión abusiva

de rayos X, la degeneración exige algunos años para producirse.

Por todas estas razones no es de extrañar que Bruno BLOCH, para poder presentar al Congreso del Cáncer de Strasburgo de 1923 los primeros casos experimentales de cáncer debido a los rayos X, sólo pudo conseguirlo después de tratar con rayos X la piel de la oreja de los conejos, durante tres años.

Con anterioridad a las experiencias de B. BLOCH, ya otros autores habían publicado casos de tumores malignos experimentales debidos a los rayos X, si bien muchos de estos resultados eran discutibles. MENETRIER y MALLET, irradiando las orejas de los conejos sólo habían conseguido producir lesiones hiperplásicas que no habían llegado nunca a degenerar. J. CLUNET fué el primer autor que consiguió estudiar un tumor maligno sobre una radiodermatitis experimental de una rata blanca.

Llegó CLUNET, en una rata, después de 14 meses de iniciadas las irradiaciones, y después de ocho alternativas de ulceración y cicatrización sucesiva, a obtener una úlcera definitiva, en la que apareció una proliferación, progresivamente creciente, invasora y destructiva, que llegó a matar el animal; su estudio histológico confirmó que se trataba de un sarcoma de células polimorfas. En una segunda rata, en colaboración con MARIE y RAULOT-LA-POINTE, consigue obtener otro tumor maligno de tipo conjuntivo, cuyos caracteres de malignidad biológicamente eran indiscutibles si se tiene en cuenta que fué fácilmente trasplantado.

Por el hecho de que en los anteriores casos de tumor experimental se trataba de tipos conjuntivos, era legítimo, a pesar de todo, hacer una crítica de la malignidad; por eso, cuando BLOCH consigue pro-

ducir con los rayos X un tumor experimental epitelial, merece dicho autor ser considerado como el primero que resuelve esta cuestión en el laboratorio. Por estas razones vale la pena de llevar a estas páginas un breve resumen del trabajo, ya citado, de BLOCH.

El citado profesor de Zurich partía de la idea que las dosis fuertes provocan en la práctica experimental ulceraciones necróticas que fácilmente terminan matando el animal; que era necesario usar largamente las dosis pequeñas, con facilidad producen reacciones hiperplásicas y papilomatosas.

En febrero de 1920 cinco conejos fueron sometidos a la acción de los rayos X. A lo largo de la prueba, cuatro de estos animales, que sufrían una radiodermatitis, murieron por afecciones intercurrentes, y el que sobrevivió llegó a sufrir un cáncer en el sitio irradiado. En este último conejo se irradió la cara externa de las dos orejas, sobre una superficie de 2 a 3 centímetros de diámetro, empleando los rayos blandos producidos con una tensión equivalente a 15 cms. de chispa. La oreja derecha fué irradiada con dosis de 5 X, sin filtro, durante unos meses, desde febrero hasta septiembre, practicándose dos irradiaciones semanales, ritmo que fué continuado posteriormente desde septiembre de 1920 hasta enero de 1923, si bien en esta segunda etapa se aumentó la dosis hasta seis X por sesión, y se usó un filtro de medio milímetro de aluminio, totalizándose en conjunto una dosis de 1.450 X. La experiencia había durado casi 3 años. La oreja izquierda fué irradiada con el mismo ritmo y dosis, si bien en los últimos meses de la prueba ésta se aumentó hasta 20 X, dosis excesivamente elevadas que produjeron un efecto necrótico, que destruyó en masa los tejidos de la oreja y

naturalmente fué imposible llegar a la producción del cáncer.

Con las dosis y el ritmo oportuno, como en las experiencias citadas, se puede observar la evolución del proceso irritativo hasta la cancerización, siguiendo una seriación de hechos biológicos, muy bien descritos por BLOCH.

Objetivamente, se observa en la zona irradiada: que los pelos pasan sucesivamente, primero, por una hiperpigmentación, y después emblaquecen, se adelgazan y se desprenden, produciéndose una depilación local absoluta, que la piel primero pigmentada se despigmenta después, y sucesivamente se atrofia, se hace dura, esclerosa se llena de telangectasias, aparecen verrugas y finalmente focos necróticos y ulcerosos, sobre los que nacen los tumorcitos cancerosos. Desde el punto de vista histológico pueden igualmente seguirse sus reacciones, desde el estadio precanceroso que se inicia con una hiperplasia papilar y manifiestas modificaciones citológicas, hasta el desarrollo definitivo del cáncer con sus mamelones que, destacándose de la basal, invaden profundamente el dermis hasta llegar al cartilago, distinguiéndose en las células epiteliales modificadas atípicas, con sus polimorfismos degenerativos, y presentando múltiples mitosis. Las infiltraciones linfáticas correspondientes confirman claramente la malignidad histológica.

Desde hace ya tiempo se ha intentado también producir el cáncer experimental con las sustancias radioactivas. LAZARUS-BARLOFF consiguió provocar un cáncer en la vejiga biliar luego de depositar en ella operatoriamente unos pequeños cálculos, conteniendo mínimas cantidades de sales de radium. Ha podido conseguir a su vez en un ratoneito, un cáncer cutáneo debido a una inyección subcutánea, con-

teniendo una pequeña cantidad de sulfato de radium.

En 1925 DAELS, de Gante, inició la técnica experimental que consiste en introducir debajo de la piel tubos con sustancias radioactivas, que de esta manera llegan a excitar la producción del cáncer. Por vez primera consiguió producir en una rata blanca un sarcoma experimental, después de dejar durante 13 meses en el tejido celular subcutáneo un tubito de vidrio, conteniendo 50 miligramos de una mezcla de 10 gramos de talco y un miligramo de sulfato de radium. En otro segundo animal, llegó a conseguir un sarcoma, enterrando en el tejido celular subcutáneo un tubito, conteniendo algunas gotas de una solución de 5 miligramos de bromuro de radium en 100 c. c. de agua.

En 1926 insiste DAELS en sus experiencias para la producción de sarcomas experimentales, colocando debajo la piel tubitos con soluciones de radium al 1 por 10.000, y en una de estas pruebas consiguió obtener un epiteloma muy maligno que mató al ratón por las graves metástasis que produjo.

Recientemente en 1931 BILTRIS recoge en una memoria hasta 19 casos referidos por diversos autores, sobre sarcomas, carcoides, carcinomas, en las ratas blancas y en cobayas, y en un artículo publicado en el Bull. de l'Ass. F. para el estudio del cáncer, en 1923, da a conocer 11 casos nuevos, personalmente estudiados, 3 sarcomas fuso-celulares en distintos órganos, 6 epitelomas de vías biliares, entre los cuales uno produjo metástasis epiploicas y pulmonares, y dos tumores esplénicos con metástasis pulmonares, hepáticas y gástricas.

Las neoplasias malignas experimentales provocadas en las vías biliares se consiguen introduciendo unos saquitos de co-

lodi6n, conteniendo 50.000 miligramos de radium-elemento por milimetro cuadrado de superficie. Estas experiencias han sido recientemente criticadas con severidad por PETROFF y KROTKINA, pretendiendo que la sola acci6n de los cuerpos extraños retenidos puede explicar la producci6n de tumores.

Apesar de estas últimas críticas, la historia de la producci6n experimental del cáncer con las sustancias radioactivas, constituye un método de trabajo de gran interés en cancerología.

También con los rayos actínicos se ha llegado a producir tumores experimentales. La literatura no es abundante en este punto, pero se destacan varios trabajos dignos de mencionarse. FINDLAY en el *The Lancet* del mes de junio de 1930, demuestra que, actuando sobre las regiones de la piel de la rata depiladas artificialmente, es posible por la acci6n continuada y persistente de los rayos ultra-violeta, conseguir la producci6n de queratomas, papilomas y carcinomas. PUTSCHER y HOLTZ publicaron en el *Zeitschrift für Krebsforschung*, en diciembre de 1934, un trabajo, en el que confirman con su experiencia la posibilidad de obtener carcinomas en la oreja y en el dorso de las ratas, practicando sesiones con los ultra-violeta durante 30 a 40 semanas. Más recientemente en su boletín de octubre de 1933, ROFFO, en un trabajo sobre el desarrollo experimental de tumores por las radiaciones ultra-violeta, describe los resultados obtenidos sobre siete ratas, supervivientes entre un lote de diez, irradiadas largamente con los ultra-violeta, y en todas las cuales consiguió producir tumores malignos de distinto tipo y en distintas localizaciones de su superficie enormes sarcomas del ojo, papilomas y carcinomas en

la oreja, sarcomas fuso-celulares en la piel de la nuca y de las orejas.

Para conseguir estos efectos experimentales con los rayos ultra-violeta puede trabajarse con una lámpara de cuarzo situada a 40 y 50 cms. de distancia focal, comenzando por dosis pequeñas de unos pocos minutos (4 a 6). Estas dosis se aumentan progresivamente hasta alcanzar al cabo de unas semanas una intensidad de aplicaci6n, término medio de 4 horas, y en el segundo y tercer mes puede llegar a dosis hasta 15 y 20 horas de irradiaci6n diarias. Si se depila previamente la regi6n que debe irradiarse es posible conseguir efectos de modo más rápido.

Estos procesos pueden demostrar su malignidad a los dos o tres meses y adquieren su máximo desarrollo a los siete y nueve meses. El porcentaje de estos tumores, desarrollados por la acci6n de tales irradiaciones, es muy elevado, casi del 100 por 100. A juzgar por las fotografías que ilustran la publicaci6n de ROFFO, el volumen de estos tumores es muy notable, y los sarcomas de los ojos llegan a alcanzar el tamaño de la propia cabeza del animal. El interés de este tipo de cancerizaci6n experimental está en el hecho de que se ofrecen en un mismo sujeto, histológicamente, distintas variedades tumorales.

#### EL CÁNCER PARASITARIO

*El sarcoma del hígado producido en las ratas por la "taenia crassicolis".—El cáncer spiropteriano.—Helmintiasis y cáncer.—Las coccidias, los protozoarios, los hongos y las bacterias en cancerología.—Crítica de la teoría parasitaria.*

BORREL en 1906 fué el primero en observar que en el sarcoma del hígado de

las ratas se podía observar a menudo la presencia de una larva, el *cisticercus fasciolaris*, larva de la *tenia classicolis*. PRINDE, REGAUD, BULLOCK y otros autores con sus observaciones tienden a demostrar que en las ratas, alrededor de la *tenia crasicollis*, suele desarrollarse el cáncer, que en el hígado padecen muchos animales.

A BULLOCK y CURTIS se debe la reproducción experimental de dicho tipo de cáncer, puesto que, entre 565 ratas jóvenes han conseguido producir 210 sarcomas, de distintos tipos histológicos. Para conseguir el éxito en esta experiencia basta mezclar a la alimentación de las ratas excremento de las gatos afectos de la *tenia crasicollis*, para que penetren en el aparato digestivo de las ratas los huevos del parásito, cuyas larvas más tarde se enquistarán en el hígado. El tumor suele desarrollarse en la misma pared de los quistes parasitarios, en el centro de los cuales se encuentra vivo o muerto el parásito. Se trata de tumores únicos, múltiples, con tendencia a la difusión y que terminan produciendo metástasis. Son tumores trasplantables, e incluso cabe decir que se hacen muy fáciles de trasplantar, puesto que entre 43 ratas injertadas se consiguió un resultado favorable en 41 casos.

Más tarde, en 1930, BORRELL y LAROUSSE han demostrado que el *cisticercus* es capaz de llevar consigo, al atravesar la pared intestinal de la rata, los bacilos de la lepra, contaminando a su vez experimentalmente a este roedor. Los bacilos desarrollan entonces los nódulos leprosos característicos, alrededor del *cisticercus*, en el hígado. Precisamente BORRELL se apoya en un hecho de tanta importancia para demostrar la posible similitud de transmisión de un virus cancerígeno, al emigrar los parásitos en los tejidos.

FIBIGER, al practicar la autopsia en 3 ratas salvajes que padecían tumores en la pared del estómago, descubrió la presencia en dicho tejido tumoral de un nematodo que bautizó con el nombre de *spiroptera neoplástica*, a su vez parásito de unas cucarachas, la *periplaneta americana* y la *periplaneta orientalis*. Estas ingieren los huevos fecundados del nematodo y, libres más tarde de las larvas, emigran hacia los músculos estriados del protórax y de las extremidades de la cucaracha, en donde se pueden encontrar enquistados y arrollados en espiral muchos meses después.

Cuando las ratas devoran las cucarachas, las larvas fijadas y enquistadas en los músculos recobran la libertad y ganan el epitelio pavimentoso del estómago y aun algunas veces de la boca y del esófago de la rata, donde se acoplan y vuelven a producir huevos que se eliminarán con las heces, para dar lugar al círculo vicioso que ha de propagar la infección a otras cucarachas. Agrupadas y apelotonadas en las mucosas, estos parásitos dan lugar a una irritación local, origen de un tumor epiteliomatoso que se desarrolla por término medio entre los dos o diez meses. El cáncer infiltra las paredes gástricas para desde allí invadir el peritoneo o producir directamente metástasis, muy especialmente en los pulmones. Se observa, sobre todo cuando el cáncer se desarrolla en las mucosas de la boca, que se produce una gran infiltración de las vías linfáticas correspondientes.

FIBIGER consiguió la reproducción experimental dando a comer a las ratas cucarachas infectadas con el parásito y obtuvo un elevado porcentaje de resultados positivos, puesto que el 50 % de las ratas llegaron a morir afectas del cáncer iniciado en las vías digestivas. FIBIGER hizo sus

primeras observaciones en 1907 y el parásito fué denominado entonces, como ya hemos dicho, con el nombre de *epioptera neoplástica*, pero más tarde, en 1915, con el consejo de RAUSON y HALL fué clasificado en el grupo de los gongylonemas, con el nombre de *gongylonema neoplasticum*. Se trata de un nematodo relativamente alargado (el macho mide 0,5 a 2 centímetros y la hembra de 4 a 8 centímetros) y los huevos son claros, elípticos y envueltos en una membrana de doble contorno. El *gongylonema neoplasticum* se encuentra habitualmente, o al menos con mucha frecuencia, en la parte superior del tubo digestivo de las ratas y ratones infectados.

Los gusanos se sitúan y acumulan en el fondo de saco de la región cardíaca del estómago, pero es preciso que se acumulen en gran cantidad para llegar a producir un cáncer, porque si son escasos, sólo producen una hipertrofia del epitelio pavimentoso y lesiones inflamatorias de poca importancia.

Si seguimos la descripción de FIBIGER, expuesta en la ponencia que sobre cáncer parasitario le fué encargada en el Congreso del Cáncer de Estrasburgo en 1923, nos daremos cuenta del proceso histogénico que lleva a la cancerización. Se observa que se hipertrofia e hiperplasia el epitelio, hundiéndose en la submucosa, aparentando como criptas tapizadas de una capa epitelial y simultáneamente aparecen fenómenos de inflamación en la mucosa y submucosa, que da lugar a una proliferación del tejido conjuntivo, causa de la formación de mamelones papilomatosos. Desde estos papilomas, por el mecanismo de su crecimiento hiperplásico con los trastornos citológicos característicos de la degeneración cancerosa, se forman los mamelones que invaden profundamente

todas las capas del estómago y a veces llegan a perforar la pared gástrica. Las masas papilomatosas o poliposas, como también más tarde los mamelones neoplásicos, desde la cavidad del fondo del saco del cardias, por el lado de la cavidad visceral, pueden dar lugar a enormes excrecencias, que pueden ocupar gran parte del estómago; en el epitelio del esófago y de la mucosa bucal invadida por el parásito puede producirse la misma reacción degenerativa.

Según FIBIGER no se trata de una degeneración debida a la simple inflamación crónica que acompaña al proceso infectivo, sino que además debe considerarse el parásito con capacidad para excitar la malignidad, por condiciones indeterminadas aún.

Es evidente que se trata de cánceres bien definidos desde el punto de vista histológico y biológico, que matan a los animales luego de producir múltiples metástasis, y porque se trata de unos tumores fácilmente trasplantables.

Estos dos tipos de cánceres experimentales de tipo parasitario, indiscutibles en su etiología y en su malignidad, atrajeron la atención del mundo científico para volver a pensar seriamente en el origen parasitario del cáncer. Muchos otros autores desde mucho tiempo habían ya inculcado a diversos parásitos la producción del cáncer, por el solo hecho de encontrarlos infectando diversos tumores. Los resultados experimentales obtenidos por BULLOCK y CURTIS y los de FIBIGER daban fuerza de aparente razón a una cuestión que parecía caída en desercrito, aunque siguiera teniendo, excepcionalmente, algunos partidarios prestigiosos, como BORREL.

A título de resumen, de importancia histórica en la cancerología, expondré

brevemente las razones y las experiencias que pueden avalar una relación de efecto a causa en algunos tumores, cuya relación directa o indirecta con ciertos parásitos es innegable.

En el hombre como en los animales es muy frecuente la helmintiasis y se ha pensado mucho en la posible acción cancerígena de estos parásitos.

Entre los cestodos, el hecho es evidente, puesto que ya hemos descrito la relación posible entre los sarcomas del hígado de las ratas y la *tenia crasicollis* e incluso se han publicado algunos casos, en el hombre, de evidente coincidencia, de la aparición de cánceres primitivos del hígado, en sujetos afectados de equinococia.

Entre los nematodos, aparte del cáncer epiretoriano de FIBIGER, existen otros hechos de observación importantes. VOGEL en 1929, infectando ratas con huevos maduros de *hepaticola gástrica*, ha podido reproducir experimentalmente el cáncer del cardias y un epiteloma de glóbulos córneos, y BEATTI, más tarde, ha podido provocar también tumores epiteliales y sarcomatosos del cardias.

BORREL hace años quiso ver la relación etiológica entre el cáncer de mama de los ratones y un tipo de *filaria*, parásito muy frecuente en el tejido conjuntivo del ratón, que en 1925 SAMBÓN clasifica con el nombre de *muspicea*, BORREL, en coincidencia con otros autores como KOBOZIEFF, DOBROBOLSKAIA-ZAVALSKAIA, BRUMIT, que han podido confirmarlo, si bien aceptando una frecuencia inferior al 80 % de los casos, que BORREL decía haber observado.

Entre los trematodos, se ha atribuido cierta relación de efectos cancerígenos al *Schistosomun hematobium*, *Schistosomun japonicum*, *Schistosomun maussoni*, *Opisthorchis felineus* y otros más. En algunos casos la relación parece innegable o

al menos la coincidencia es manifiesta. Ya es sabida la frecuencia con que se desarrolla el cáncer de la vejiga en los sujetos afectados de biliarziosis vesical debida a la *schistosoma hematobium*, y tampoco faltan publicaciones que relacionan algunos de los otros tres trematodos citados, con cánceres de las vías digestivas, en los que casualmente fueron encontrados.

La cuestión del cáncer parasitario no puede reducirse en la historia de la cancerología al capítulo de los helmintos, sino que los partidarios de la teoría parasitaria han llenado largas páginas de literatura y han incriminado, desde los hongos a las bacterias ultra-microscópicas. Según ROFFO se ha atribuido, a más de 800 seres distintos la etiología del cáncer.

En un trabajo como éste, dedicado a una precisa especulación experimental, dejaremos de lado gran parte de esta historia fantástica que obedece a la fantasía de muchos, al error de otros y a la ambición de algunos. Recojamos, de todas maneras, algunos detalles curiosos, más que de interés, en este punto tan prolijo en hipótesis personales. Llevaremos aquí algunos de los datos más repetidos en la historia de la cancerología.

Comencemos por la teoría que ha supuesto una relación directa entre el cáncer y supuestas coccidias. DARIER fué el primero que describió en un epiteloma del pezón, una coccidia, que él había descrito antes en la prospermosis vegetante, y parecida a las que a menudo se encuentran en el hígado de los conejos; otros autores prontamente le siguieron por este camino, con parecidas descripciones, MALASSEZ, WICKHAN, VINCENT, ALBARBÁN, CLARKE, etc.

A la moda de las coccidias sucedió el estudio de supuestas formas de inclusiones intracelulares, parasitarias. THOMAS

inicia esta teoría. SJÖBRING afirmó que había encontrado un parásito en las células cancerosas, que clasificó en el grupo de los rizópodos llamándole *Rhizopodeida*; parásito que había podido cultivar y por inoculación en un cobaya había reproducido un epiteloma; sin embargo, nadie ha podido confirmar estas experiencias. PLÜMMER describió un protozoario intracelular. VON LEIDEN encontró otro parásito muy semejante al descubierto por PLÜMMER, que designó con el nombre de *Vogel augen*, porque se trata de dos formaciones envueltas en una cápsula, con el aspecto de unos ojos de pájaro.

FEINBERG describe un parásito intracelular que llama *histoporiidium carcinomatousum*.

JABOULAY atribuye el cáncer a un esporozoario que se desarrolla en el núcleo, produciendo esporos, que invaden el protoplasma y las células vecinas, extendiéndose múltiples y fantásticos aspectos, determinando ciclos, a los cuales corresponden los diversos tipos histológicos de las neoplasias.

JUGENS, KONLECH, SAUL, y otros autores más, describen cada uno otros tantos protozoarios intracelulares que formarían larga lista descriptiva, si no resultase inútil llevar a un resumen de la moderna cancerología tan gran peso muerto.

Más tarde no faltaron autores que supusieran una posible relación entre los tumores malignos y determinados blastomicetos, que se encontraron en distintos tipos de cánceres. NISSEN los encuentra incluso en la sangre de los cancerosos.

MAFFUCCI describe en un tumor el *saccharomices niger*. SAN FELIPE aísla un *saccharomices*, que apellida meoformans. KAHANE, CORSELLI, ROSSI, DORIA, BONOME y otros muchos autores se entretienen en

describir en los cánceres diversas levaduras.

En 1904 ROGER, en el conejo, afirma haber conseguido la producción de un adenoma por la inoculación del *saccharomices linguae pilosae*, procedente de un individuo con melanoglosia, pero en este caso seguramente se consiguió tan sólo producir un proceso inflamatorio mal interpretado. MONTSARRAT describe una levadura que puede aislar en la mayoría de los carcinomas de mama. RONCALI también se muestra partidario de que los blastomicetos y sus toxinas son causa del estímulo de malignidad que incita la producción de los tumores cancerosos.

Gran número de autores, casi simultáneamente, iniciaron la crítica contra estas supuestas teorías parasitarias, en lo que se refiere a la intervención de las coccidias, esporozoarios, protozoarios, y blastomicetos, demostrando que en la mayoría de las veces no existían tales parásitos; citemos entre estos autores a CORNIL, RIBBERT, STEINHAUS, BANTI, UNNA, etc.

Respecto a las coccidias, se confundieron con un proceso anormal de queratinización celular. En algunos tumores las células, desde el punto de vista histológico, pueden adquirir un aspecto morfológico que les da un aspecto como un estado intermediario entre las células epidérmicas normales y los elementos de su transformación córnea, pudiendo aparentar el aspecto de falsas coccidias. Los supuestos esporozoarios y los protozoarios descritos eran también productos de fantasías forjadas al entorno de lesiones celulares y a modificaciones degenerativas que alteraban la morfología de la célula cancerosa. Si algún protozoario patógeno coincide con la aparición de algún cáncer, podría explicarse quizás la coincidencia, por el fondo inflamatorio que acompaña

a los tumores. En ningún caso ha sido posible, en un terreno de estricta experimentación científica, conseguir por inoculación, con alguno de los parásitos en cuestión, un solo tumor maligno. Los autores que se han referido a la acción cancerígena de las levaduras, más que creer en su acción directa, han supuesto, que en los casos de una predisposición especial, la acción irritante de sus toxinas y la inflamación crónica secundaria, favorecen la cancerización. Hay que recordar la facilidad y el medio favorable que pueden ofrecer a los parásitos las lesiones ulceradas y las inflamaciones de los cánceres, para explicarnos parte del problema, planteado de un modo demasiado simple.

Esta historia, la teoría parasitaria del cáncer, fatalmente debía tener también su capítulo de moda, en relación a la posible influencia etiológica de determinados microbios. Es indiscutible que en los cánceres ulcerados, así como también aquellos en comunicación sanguínea y linfática con territorios infectados, existen grandes posibilidades para anidar múltiples gérmenes microbianos. Evidentemente que los focos de necrosis que se observan en la intimidad de los tumores, es fácil medio para pulular la infección, favorecida, además, por el factor local congestivo. Era natural que no se hubiese pensado en la importancia de los gérmenes piógenos y saprocitos, sino que los autores primeramente hubiesen intentado encontrar gérmenes nuevos y específicos que complicaran más las fantasías personales; pero al fin, cuando la época pasteuriana realiza sus conquistas definitivas comienzan los microbios a interesar a algunos investigadores, que inician la teoría bacteriana en cancerología. RAPPIN fué el primero que en 1886, en el jugo extraído de algunas neoplasias, decía en-

contrar un diplococo, que consideró como agente causal del cáncer, que incluso, según él, al inocularlo en los conejos, producía en el hígado pequeños nódulos y mataba a los animales en plena caquexia. Más tarde son numerosos los investigadores que pretenden haber descubierto en los tumores supuestas bacterias específicas: SHCEIRLEN, DOMINGOS-FREIRE, RUBIÑO, ROSENTHAL, DELBET, describen distintas bacterias en los cancerosos, sin que valga la pena de hacer mención ninguna de estos recuerdos, ni de una larga lista de otros múltiples investigadores que trabajaron en el mismo sentido, porque la inconsistencia mismo de sus hipotéticos descubrimientos salta a primera vista. Por excepción, mentemos en este punto a DOYEN, que en su momento del apogeo, en 1910, suscitó unos días de subjetiva credulidad, al descubrir el *micrococcus neoformans*, que bien pronto pasó a ser olvidado, porque a lo más se trataba de un germen banal, entre los muchos que suelen infectar secundariamente los cánceres.

Todavía más recientemente, al iniciarse el concepto biológico de los virus filtrables, nacieron nuevas teorías, tanto más cuanto que en realidad este capítulo de la bacteriología sirve mejor para embocar fantasías. Hombres de gran prestigio científico, como ROUX y BORREL, entre otros muchos, pensaron que el problema etiológico del cáncer tenía que ver con una suposición de tal género, sobre todo después de haberse descubierto el contagio infectante del cáncer por la inoculación de los extractos filtrables de ciertos tumores, especialmente con el sarcoma descubierto por Roux en las gallinas. Esta cuestión de los extractos filtrables cancerígenos, se trata aparte en otros capítulos, y por eso no hacemos aquí la debida crítica de tales suposiciones en relación a la

posible existencia de virus filtrables cancerígenos.

Cuando la cancerología contemporánea parecía haber colocado fuera de todo crédito la teoría bacteriana, recientemente, en 1925, en Inglaterra, GYE sorprende al mundo por la acogida favorable que de momento se le dió en los centros científicos ingleses, con el supuesto descubrimiento de un virus ultra-microscópico, agente universal de todos los tumores.

GYE publicó en *The Lancet*, en 1925, su famoso trabajo, en el cual se fundamentaba una teoría ingeniosísima para explicar el origen del cáncer a base de un virus ultra-microscópico que otro autor, BARNARD creyó haber descubierto valiéndose de una técnica microscópica especial. Digamos aquí de paso que los trabajos de BARNARD resultaron una pura fantasía.

Según GYE existe un solo virus bacteriano para todos los cánceres y que las variedades histológicas de los cánceres dependerían de una substancia de origen tisular, sin la cual el virus sería incapaz de infectar; éstas son substancias inofensivas, y que GYE domina factores específicos.

Para el caso del sarcoma de Rous, que sirvió de base para las investigaciones de GYE, el factor específico, muy lábil, podría ser destruido, cultivando a 37 % en un medio como el de Hartley o el caldo de Martín, fragmentos del sarcoma de Rous, de tal manera que la inyección de la parte líquida del cultivo no engendra el sarcoma. Por otra parte, el virus puede ser destruido en un filtrado del mismo sarcoma por la acción del cloroformo durante un cierto tiempo, de modo que la inoculación de este filtrado no reproduce el tumor. Ahora bien, la inyección simultánea de estos dos líquidos, que se

paradadamente son inertes, origina el tumor, porque de esta manera decía GYE, reunimos los dos factores indispensables para la cancerización. GYE afirmó haber conseguido con la misma técnica, reproducir otros cánceres en los mamíferos. Unos pocos autores han defendido, confirmando con sus resultados favorables, los hechos esenciales de GYE; pero la mayoría de los investigadores no han podido reproducir dichos experimentos.

MURPHY supone que GYE está equivocado al pensar que destruye un virus con el cloroformo, porque en realidad se necesita mayor concentración de cloroformo de la que él usa, de manera que quedan algunos elementos activos, suficientes para que al aumentar en cantidad, o activándose, al juntarse al tejido tumoral, originan el sarcoma. Los cultivos de los autolizados tumorales, por otra parte, al ser inyectados, en busca del factor específico, contienen substancias irritantes que hacen más sensibles las células, a dosis de virus, inactivas por ellas solas. ¡He aquí el secreto de la teoría que equivocadamente forjó GYE!

La teoría bacteriana de GYE ha caído en descrédito y no ocupa más interés que el de un pequeño círculo de investigadores ingleses, que a poco desertan de dicha escuela.

## LOS TUMORES FILTRABLES

*El sarcoma fuso-celular de Rous. — Diferentes tipos de tumores. Las condiciones de reproducción del sarcoma de Rous. — El proceso histogénico de los tumores filtrables.*

\* \* \*

*La leucemia transmisible de las gallinas. — Las condiciones de su reproduc-*

*ción experimental. — Relación biológica entre el virus o agente de los tumores filtrables y la leucemia de las gallinas.*

\* \* \*

*El agente de los tumores filtrables. — Discusiones sobre la naturaleza de dichos agente. — Importancia del factor químico, como agente de los tumores filtrables.*

\* \* \*

Peyton Rous, trabajando en el Instituto Rockefeller para investigaciones médicas, estudió en 1910 un tumor de las gallinas, un sarcoma fuso-celular, transmisible por injerto. Un año después, con el extracto filtrado por bujías de Berckefeld, reprodució el tumor. La reproducción también era posible con el polvo desecado.

Casi simultáneamente, FUJINAMI e INAMOTO descubrieron un hecho parecido descubriendo un mixo-sarcoma en una gallina, transmisible por injerto y también con sus extractos, después de destruidas las células, agitándolas con arena fina.

Más tarde, otros autores, ROUS, MURPHY y TITLER describen un osteo-condrosarcoma de parecida biología. ROUS y LANGE dan a conocer otro tumor parecido, un sarcoma fuso-celular, pero con grandes lagunas vasculares. TENTSCHLANDER también describe otro tumor por el estilo, de tipo polimorfo.

PEYTON ROUS había descubierto el tumor en una gallina *plymouth-rock*, que resultó ser la raza más apta para la experiencia. Los primeros tumores resultaban de una relativa virulencia; pero con los pasos sucesivos se hicieron extraordinariamente virulentos, hasta prender en el cien

por cien de los casos. Esta virulencia del tumor ha permitido injertarlo a gallinas de otras razas, y nosotros hemos podido mantenerlo por injerto en las gallinas de la raza Prat. Este tumor es específico de las gallináceas y no prende en ninguna otra ave.

El tumor resulta tan grave que, entre las tres y seis semanas suele matar a la gallina, pasando antes por una fase de caquexia pronunciada. Su infiltración es fácilmente visible, y aunque a veces adquiere, por excepción, un tipo infiltrante y difuso, en general forma tumores nodulares, tumores hasta del tamaño del puño (fig. 24, 25). Puede producir múltiples metástasis, especialmente en pulmones, ovarios, músculos, hígado, corazón, peritoneo, etc; raras son las gallinas que resisten a la inoculación, si bien nosotros hemos podido encontrar una gallina inmune a repetidos intentos de inoculación.

El crecimiento del tumor es progresivo por infiltración inmediata y sus metástasis se producen por embolias vasculares, linfáticas y sanguíneas.

Para trasplantarlo pueden usarse los procedimientos seguidos para el injerto ordinario de los tumores. El sitio de elección es el tejido muscular y el más cómodo y apto el músculo pectoral.

Cuanto más joven y bien nutrida es la gallina más grande impulso evolutivo toma el tumor.

Lugares muy a propósito para su desarrollo lento son: la barba y las crestas, favoreciéndose de esta manera la posibilidad de los tejidos de debajo histogénicos.

Ya hemos dicho que son posibles las inoculaciones directas como en todo injerto corriente, pero vale la pena de insistir sobre el hecho sorprendente de que sean posibles las inoculaciones sin células vivas, previo triturado mecánico de

las células tumorales, agitándolas con arena, o bien calentándolas a 40 y 50 grados, o utilizando el jugo de un filtrado a través de espesas bujías.

La destrucción de las células con arena se debe a FUJINAMI, y la experimentación con el jugo filtrado a través de las bujías se debe a ROUS.

Para conseguir los extractos filtrables aconseja ROUSSY mezclar 10 grs. del tumor en 200 a 400 c. c. del líquido de Ringer, y luego de hecha una emulsión, se filtrará a baja presión con las bujías de Chamberland o con las bujías de Berkefeld.

Para transmitir el tumor bastaría hacer un injerto tal como se aconseja para cualquier injerto tumoral, pero también puede aprovecharse una suspensión del polvo desecado, que es activo aún mucho tiempo después.

Pero, repito, que el hecho verdaderamente de interés, consiste en la posibilidad de reproducir el tumor con el extracto filtrado, porque en este caso actuamos al margen de toda acción citológica y cabe pensar que existe un agente causal que se podría clasificar, como un virus filtrable o bien como una substancia inerte, de acción diastásica, específica en este caso.

Este virus o factor infectante, aparte del tumor, se encuentra en la sangre de las gallinas, porque con su extracto directamente pueden reproducirse los tumores hasta el punto que PENTIMALLI y BURSCH, creen que se encuentra fijado en los glóbulos rojos, porque con ellos, después de defibrinada la sangre y lavados con una solución fisiológica, es posible conseguir efectos positivos. Después de estas consideraciones aumenta el interés sobre el fondo infectante del sarcoma de Rous.

DURAN REYNALS en su memoria "In-

troducción al estudio del cáncer" (*Monografías Médicas*, 1929), resume sus experiencias para demostrar que al usar la vía intravenosa, el factor infectivo pronto desaparece de la sangre, y se localiza finalmente en el hígado y bazo; posiblemente en éste último órgano es destruido en último término, de manera que las inyecciones de pulpa esplénica de las gallinas inyectadas, reproducen el tumor, cuando ya no se conseguía con la sangre ni con el hígado de dichos animales. Este hecho resultaría paradójico, si se tiene en cuenta que el bazo es un órgano refractario a los tumores, pero quizás ésta es la causa que localiza en él dicho agente infectante, para ser destruido lentamente.

Hechas las consideraciones generales anteriores, tiene interés pasar revista a los hechos conocidos en relación a la histogénesis del sarcoma de Rous.

Admitida la existencia de un factor infectante, de cuya naturaleza hablaremos en otro capítulo, al generalizar dicho concepto, era natural que histogénicamente el tumor debiera tener su origen en una reacción específica del tejido conjuntivo, propio del lugar donde es inoculado dicho agente, reacción que, naturalmente, tomará el aspecto de un sarcoma.

Después de los primeros trabajos de Rous, muchos otros autores lo han estudiado histogénicamente y entre ellos debemos citar a PENTIMALLI, FUJINAMI, ROUSSY, MENETRIER y muy principalmente a PEYRON, que en una serie sucesiva de artículos publicados en *Bull. de l'As. F.* para el estudio del Cáncer en los años 1928, 19, 21, ha venido estudiando detalladamente esta cuestión.

Alrededor del punto de inoculación se produce una reacción del tejido conjuntivo, esencialmente polimorfa, que intere-

sa todos los elementos fijos y móviles del tejido conjuntivo muscular, reacción que, aunque algunos autores como ROUSSY la asimilen al tipo de la reacción inflamatoria banal, otros, como MENETRIER, la consideran de un modo diferente, sin querer ver, como de ningún interés, las reacciones macrofágicas y linfocíticas concomitantes, características de la inflamación; en realidad parece que la cuestión fundamental estriba en que la reacción tiende a movilizar y activar los fibroblastos, que se modifican, alargándose, hinchándose y alterándose el núcleo, que luego de llenarse de vacuolas entra rápidamente en división mitótica. De esta manera iniciada la multiplicación fibroblástica, el nódulo inicial se extiende, invade la vecindad y constituye al fin un tumor que, a las más de las veces histológicamente se define como un sarcoma fusiforme, en el que, puede observarse un desdiferenciación citológica, para que, desde estas células conjuntivas, puedan producirse elementos de tipo mixomatro u óseo. A veces en el tumor pueden encontrarse células emigrantes, macrófagos, mieloblastos, linfáticos; sobre todo cuando los tumores tienden a la regresión.

El agente infectante del tumor de PEYTON-ROUS es de exclusiva afinidad mesodérmica; por eso el estímulo reproductivo sobre el fibroblasto es el problema basal, si bien cabe discutir la intimidad de su mecanismo, todavía hipotético.

CARREL ha expuesto un punto de vista personal, interesante, que se refiere a la entraña misma de dicha histogénesis. CARREL, con los macrófagos de los cultivos artificiales (monocitos, clasmocitos, etcétera), procedentes del tumor de las gallinas, reproduce el tumor. Sin embargo, estos macrófagos tienen especiales características que indican una alteración, son

menos resistentes y en ellos se observa masas celulares amorfas, células amiboides con granulaciones y tipos alargados con aspecto de fibroblastos. En cambio, operando CARREL, por otra parte, con los fibroblastos, mantenidos en cultivo, procedentes del tumor, observó que pierden rápidamente el poder contagiante para la reproducción del tumor. Los macrófagos normales, cultivados a partir de la sangre de animales sanos y adicionados con una gota de extracto filtrado o polvo del tumor de ROUS, se hacen malignos en sentido de reproducir el tumor, y sufren las alteraciones anormales citadas en los macrófagos por CARREL; pero actuando de la misma manera, con fibroblastos normales en cultivo, no se consigue infectar las gallinas. De estas experiencias podría deducirse que los macrófagos son paradójicamente los vectores de la malignidad; que directamente dan lugar a la reproducción de los fibroblastos, o que por un mecanismo indirecto contribuyen a estimular su división, debido, tal vez, a las sustancias estimulantes (trefonas) que contienen los dichos macrófagos, forzadas a segregarse por el agente en cuestión o porque simplemente adquieren dicha propiedad excitante a título de haberse malignizado. Estos puntos de vista son aún demasiado hipotéticos para ser juzgados, pero no dejan de tener un gran interés para orientar estos estudios.

También tiene mucho interés recordar el hecho curioso de que este agente causal puede, diferentemente, orientar el estímulo tumoral según la distinta afinidad para los diversos elementos citológicos; sobre los fibroblastos tal como hemos dicho; sobre la fibra muscular estriada, dando lugar a la producción de los rhabdomiomas, o sobre los distintos elementos conectivos mesenquimatosos, para engendrar los dis-

tintos tipos histológicos de los distintos tumores filtrables, estudiados en las gallinas y descritos por distintos autores, mixo-condromas, ósteo-sarcomas, sarcomas polimorfos, etc.

Parece que, aparte de la acción directa del agente, debe contarse, además, para explicarnos la especificidad histológica del estímulo tumoral, con una determinada sensibilidad citológica en cuestión, que DURÁN REYNALS ha contribuido a aclarar con algunos hechos experimentales muy bien resumidos en su monografía citada y que por su interés merecen ser tenidos en cuenta.

Si se deja en contacto, de una parte, tejido muscular de la gallina con el extracto filtrado del tumor de Rous, y por otra parte, tejido muscular de un animal resistente al tumor, como el palomo, con el mismo filtrado, si después de tres o cuatro horas se centrifuga y el líquido sobrante se inoculara separadamente, sólo se consigue la producción de tumores con la mezcla filtrado-tejido resistente, como si el agente hubiese sido absorbido e inactivado por el tejido sensible. La inactivación del agente es sinónimo de la sensibilidad del tejido inactivante in vivo.

Según estos argumentos cabría preguntarnos: ¿es realmente entonces la fibra muscular la que bajo la influencia del agente se transforma en fibroblasto maligno? Esta suposición puede tener algunos visos de verisimilitud, pero no puede admitirse de un modo absoluto. MURPHY y Rous ya habían demostrado que sólo pueden hacer el sarcoma filtrable donde existe una capa mesodérmica, de manera que es posible pensar en la receptividad de diferentes tipos de células mesodérmicas, y según el tipo celular estimulado por el agente, pueden observarse las diferentes

estructuras, señaladas por diversos autores entre los cánceres filtrables.

\* \* \*

A título de interés, y casi me atrevería a decir de novedad, creo que merece ser considerada como capítulo especial de la cancerología experimental, se refiere cuanto la leucemia transmisible o eritroblastosis transmisible de las gallinas. Se trata de una afección que, como veremos a lo largo del relato en que vamos a resumirla, puede transmitirse con la sangre y con los extractos filtrados de determinados órganos hematopoyéticos de las gallinas infectadas. La importancia de estos tumores estriba, no solamente en el concepto puramente neoplásico con que deben hoy considerarse las leucemias, a título de cánceres de la sangre, sino que además el supuesto virus o agente infectante de la eritroblastosis tiene que ver con la producción de otros tipos de tumores malignos cuando se experimenta en determinadas condiciones.

Esta afección fué conocida en sus primeros tiempos con la denominación de leucemia infecciosa, a título de una infección de dicho tipo sanguíneo, que sufrían espontáneamente las gallinas en Europa y América. ELLERMAN y BANG fueron los primeros autores que se ocuparon detalladamente de la enfermedad, en varias publicaciones, que culminan en la monografía publicada en Londres por ELLERMAN en 1921. Otros autores se han ocupado de la cuestión con interés, y merecen ser citados BUCHARDAT, CHIRCHESFELD, JARMAI, FURCH EGELBETCH y HOLM en Dinamarca; ROUSSY, OBERLING y GUEBIN, en Francia, etc.

Pueden padecer la enfermedad todas las razas de gallina; parece que son tanto

más sensibles los animales más jóvenes; la enfermedad puede aquejar por igual a ambos sexos.

Experimentalmente, una vez inoculadas, transcurren 15 ó 20 días sin que se observe síntoma morboso ninguno, pero luego aparecen trastornos en el estado general, que se traducen con una anemia que se manifiesta por la palidez de la cresta y se complica con astenia, somnolencia, inapetencia y progresiva caquexia hasta que el animal sucumbe con intensa anemia. El estudio de la fórmula sanguínea determina claramente las importantes alteraciones de dicha fórmula y la anemia. En general sucumben todas las gallinas infectadas y sólo excepcionalmente se puede salvar alguna. Estudiando la sangre, puede conocerse la intensidad de sus lesiones específicas. Los animales suelen morir término medio entre las tres y cuatro semanas después de la inoculación; pero por excepción se han observado casos de gran rapidez evolutiva, y otros en cambio de muy larga evolución.

Esta afección ha sido denominada eritroblastosis transmisible, porque aparte de las alteraciones en la serie blanca, en la sangre de dichos animales se observan modificaciones que interesan la línea de los elementos rojos.

La cifra normal de glóbulos rojos, habitualmente de 3.000.000 en las gallinas normales, disminuye notablemente hasta dos, y a un millón de glóbulos, y la emoglobina también descende, aunque el valor globular se mantiene alto. Los glóbulos blancos se elevan hasta varios centenares de miles de elementos y OBERLING cita un caso con 800.000 leucocitos.

En la sangre, pueden observarse importantes modificaciones en los elementos de la serie mieloide. Puede observarse frecuentemente la presencia de mielocitos,

mietemelocitos, promielocitos, y mieloblastos. En la serie linfóide no se observan alteraciones de mucha importancia, pudiendo encontrarse linfoblastos o monoblastos y algunas anomalías celulares. Pueden observarse, con mayor rareza, tipos celulares aun más primitivos, de difícil clasificación, y también elementos de tipo claramente endotelial, primitivos, el hemohistioblasto de Ferrata.

Entre las alteraciones cualitativas de los hematíes, aparte de múltiples alteraciones de forma, volumen, pigmentación, etc., pueden aparecer eritroblastos, policromatófilos, eritroblastos basiófilos, y etitrogenias.

Según OBERLING y GUERIN pueden agruparse las imágenes sanguíneas de esta lesión en cuatro formas principales más frecuentes: eritroblástica pura, en el 65 % de los casos, en la cual las alteraciones de la serie roja constituyen las alteraciones únicas; forma eritroblástica con hemocitoblastos, en el 8 % de los casos; forma eritroblástica con reacción mieloide, con alteraciones de las dos series, y una frecuencia de un 35 % de los casos; y forma mieloide con exclusiva predominancia de las alteraciones de dicha serie.

En la autopsia de los animales se observa el bazo enormemente aumentado de volumen, hasta diez veces su peso normal; el hígado hasta dos y tres veces más voluminoso que de ordinario, y también se observa hipertrofia del riñón y del timo. Se observan alteraciones macroscópicas bien objetivas en estos órganos, alteraciones de tipo congestivo y con reacción perivisceral. En la médula ósea se observan manifiestas alteraciones, presentando a veces un color más rojo y otras más palido, y por otra parte también se observan alteraciones en su consistencia, tomando un aspecto más flúido.

La afección se transmite por inyección intravenosa de la sangre de un animal enfermo a otro sano; OBERLING inyecta de 0,1 a 2 c. c. de sangre pura o diluida en suero fisiológico a concentraciones que no sean superiores al 1 %. Con las leucemias muy graves, es fácil conseguir su transmisión con dosis más pequeñas. FURT ha estudiado la cantidad mínima que debe ser de una millonésima de centímetro cúbico de plasma o de una cien milésima de centímetro cúbico de una suspensión de células; pueden también conseguirse resultados positivos con la inoculación de fragmentos de órganos diversos, hígado, bazo, cerebro, médula ósea, o con emulsiones introducidas debajo de la piel o en el músculo pectoral; también puede reproducirse la afección inyectando el líquido de la ascitis, que puede complicar estos casos. También se consigue la transmisión con filtrados de extractos de los órganos hematopoyéticos a través de filtros Berkefeld, número 11 y número 12. También es posible la transmisión con polvo desecado.

El agente o virus resiste a la congelación momentánea y precisan además varias semanas para inactivarlo por el frío; en cambio, el calor lo altera más fácilmente, pues a 56 grados en 30 minutos se destruye el poder infectante, así como después de permanecer varios días a 37 grados en la estufa. En la glicerina es posible conservar largamente el poder patógeno del virus.

Después de inyectar por vía intravenosa con filtrados de órganos, pronto desaparece de la sangre el poder infectante del virus o agente, para fijarse en los órganos hematopoyéticos, desde donde vuelven a pasar a la sangre varios días después, coincidiendo con la aparición de las lesiones hemáticas características. Con los ele-

mentos leucémicos, inyectados directamente por vía intravenosa, no se observa, en cambio, ninguna fase negativa, y desde que se inoculan hasta la muerte del animal, la sangre del huésped infecta siempre, como si aquellas células inyectadas, con la inoculación, continuasen proliferando en el nuevo organismo; como si estuviesen en un medio de cultivo.

Se ha podido demostrar que los casos de curación espontánea, muy raros en las gallinas leucémicas, dejan un estado de resistencia e inmunidad a una nueva re-inoculación.

El factor infectante retenido en las células vivas, leucémicas, debe ser un virus filtrable o un principio químico. Este agente tiene una afinidad particular sobre los elementos jóvenes de la serie roja o blanca, incitándoles a proliferar desordenadamente y a multiplicarse excesivamente. Dada la semejanza biológica que existe entre el agente de la leucemia transmisible y el que provoca el sarcoma de Rous, es lógico juntar en el factor común de su incógnita y de las mismas características infectantes a dichas dos afecciones experimentales.

Pero el dicho supuesto parentesco entre la leucemia de las gallinas y otros procesos cancerosos en los animales, es tan real, que se ha llegado a demostrar que un mismo agente puede dar lugar a un estímulo citotrópico alternante, que sorprende y ha de interesar vivamente el celo de los cancerólogos.

ELLERMAN, en su clásica monografía sobre la leucemia de las gallinas ya plantea el problema. En 3 animales afectos de leucemia linfoidea encontró, en el riñón, hígado y tejido subcutáneo, unas formaciones medulares de aspecto tumoral, constituidas por elementos linfoides, que dicho autor los relaciona con la leuco-sarco-

matosis. BATTAGLIA hace la misma observación. ELLERMAN vuelve a citar otros casos de mielosis aleucémica, con múltiples nódulos en distintas vísceras y en los huesos. FURT constata 3 casos de sarcomas polimorfos, observados entre un lote de gallinas leucémicas. Otros autores demuestran que las células leucémicas pueden presentar signos de proliferación exuberante para acumularse en un punto y dar la impresión de un proceso tumoral.

OBERLING y GUERIN, trabajando en el Instituto del cáncer de la Universidad de París, han establecido las relaciones etiológicas que en realidad existen entre la leucemia transmisible de la gallina y otras neoplasias malignas que pueden sufrir dichos animales. De su excelente monografía, publicada en el *Bull. de l'Ass. F.* para el estudio del Cáncer de marzo de 1933, entresacamos parte de nuestros datos.

Los citados autores observaron que algunas gallinas que habían sido inoculadas con tumor o extracto filtrado del tumor maligno de Rous, padecían y podían morir con lesiones leucémicas. A base de este descubrimiento, usando injertos de tumores de Rous, que se habían desarrollado en alguna gallinas a la vez leucémicas y también inoculando su sangre, se llegó a obtener una fuente de leucemias experimentales que permitió a OBERLING y GUERIN sentar sus notables conclusiones experimentales: entre los cuatro primeros animales con extracto de dichos tumores de Rous, tres presentaron un síndrome leucémico, hecho muy importante por cuanto que la inoculación de la misma serie tumoral, otras veces, puede también reproducir solamente el tumor y finalmente en otros casos produce tumor y leucemia. Cabía pensar si el tumor de Rous, que se encontraba en gallinas leucémicas, podía contener a la vez el agente tumoral y el

de la leucemia, si bien también cabía pensar en la posibilidad de que los dos procesos se deban al mismo agente, respondiendo diferentemente en unos u otros casos, por factores y razones desconocidos que modifican su cito-tropismo.

Si volvemos la cuestión del revés, es aún más fácil llegar a conclusiones admisibles. En vez de injertos tumorales, pueden hacerse las inoculaciones con emulsiones de órganos leucémicos o directamente con sangre leucémica, y con este modo de hacer se llegó a la conclusión experimental de que, buscando la manera de exaltar la virulencia del virus, se conseguía transmitir solamente la leucemia; pero que al contrario, cuando se atenuaba, por una estancia más o menos prolongada del material de inoculación conservado en glicerina y a la nevera, disminuía su actitud para transmitir la leucemia y, en cambio, se producían infiltraciones en diversos órganos, en el hígado, riñón, bazo, etcétera. Estos infiltrados tumorales estaban constituidos por unas células basófilas, con gran núcleo vesiculoso, células por su aspecto, primitivas, del sistema retículo endotelial. Continuando las inoculaciones con las emulsiones en glicerina, de la sangre y médula ósea, de las gallinas en cuestión, de manera que se disminuía progresivamente la virulencia con un más largo tiempo de conservación en la nevera, puede conseguirse la reproducción de tumores que desde el punto de vista histológico se asemejan al sarcoma de Rous, pero observándose también a la vez una reacción proliferativa de células del tejido retículo-endotelial. Estos tumores se han conseguido en la proporción de 5 casos, entre 16 gallinas, y a su vez pudo observarse en ellos, con mayor o menor intensidad, un claro síndrome de eritro-blastosis.

Parece que de esta manera puede excluirse la supuesta coincidencia de un doble mecanismo independiente de estímulo, neoplásico y leucémico, por cuanto que OBERLING había dejado de trabajar con el sarcoma de Rous y sólo practicaba las inoculaciones con emulsiones de órganos leucémicos. Aún admitida esta posible casualidad en una serie experimental, no cabe esperar que los hechos se repitiesen en otras series con gallinas leucémicas de distinta procedencia. A mayor garantía, entre las 16 gallinas de la serie citada, 5 escaparon a la infección leucémica, y casualmente tampoco padecieron tumor alguno.

Nuevos trabajos realizados por OBERLING y GUERIN, publicados en el *Bull. de l'Ass. F.* para el estudio del Cáncer, de 1923, demostraron otra vez más la realidad de tales hechos y confirmaron que, practicando la inoculación con emulsiones de sangre leucémica en glicerina, largamente mantenidas en la nevera, a veces hasta durante varios meses, conseguían un mayor porcentaje de tumores de tipo leucémico y de tipo fuso-celular; a veces se observa que estos tumores pueden ser muy ricos en fibras colágenas, recordando cierto fibro-sarcoma o fibromas de tipo invasor y metastizante. Finalmente pudieron observar en dos casos, dos tumores epiteliomatosos, recordando la estructura de los epitelomas espino-celulares; y como precisamente estos tumores se encontraron junto con la aparición de otros tumores múltiples, francamente sarcomatosos, cabe pensar que la génesis de estos tumores epiteliales debe ir ligada a la acción de un mismo virus, tanto más si recordamos que los epitelomas son tumores muy raros en las gallinas.

OBERLING y GUERIN afirman que debe tratarse del virus leucémico que se difun-

de por el organismo y se fija sobre las células sensibles; el interés particular de este virus estriba en la extremada labilidad de su citotropismo que le permite actuar sobre células de naturaleza distinta, variando ampliamente en su campo de acción y desarrollando su actividad estimulante sobre los elementos sanguíneos, para determinar la leucemia o sobre los elementos epiteliales o conjuntivos, determinando la distinta variedad de tumores citados. Cabe pensar que debe tratarse de una desviación de la acción patógena del virus, mejor que de una transformación.

Las condiciones biológicas que intervienen en esta diferenciación de efectos, no son aún conocidas, y tan sólo se sabe cuanto hemos referido en relación a la procedencia del virus y a su acción, que va disminuyendo en su potencialidad leucémica, para actuar entonces en sentido de estímulo tumoral por el envejecimiento en la nevera. La acción del virus leucémico, mientras actúa con intensa virulencia, no puede llegar a la producción de tumores, porque las gallinas mueren rápidamente como una consecuencia de las lesiones sanguíneas que sufren, y solamente las que han resistido y curado de la leucemia son las que llegan a sufrir tumores sarcomatosos un poco más tarde.

Dejando aparte la multiplicidad de consideraciones alrededor de una cuestión tan reciente y tan esperanzadora, cabe llegar a una afirmación categórica, sobre la evidencia de una relación etiológica que debe existir entre la leucemia y los tumores malignos de las gallinas. Otros autores también consiguen conclusiones experimentales parecidas y entre ellos citamos FURTH, ROTHE-MEYER, y especialmente EGBRETH-HOLM, que citan más de 60 casos de sarcomas experimentales de la

gallina en relación a la inoculación de productos de origen leucémico.

El horizonte que se ofrece al campo de la cancerología experimental, a propósito de los estudios y experiencias citados, es extraordinario, sobre todo, por demostrarse que la orientación del estímulo canceroso depende de la labilidad del agente y de una extemporánea sensibilidad de una u otra clase de células, para dar lugar a la diversidad histológica de los tumores así conseguidos experimentalmente.

Al dedicar un capítulo especial para resumir, a la manera de una breve crítica, cuanto se refiere a la naturaleza del agente de los tumores filtrables, se observará que todos los argumentos y consideraciones que serán transcritas en estas líneas, se referirán, en particular, al sarcoma de Rous, por lo que precisa hacer la declaración de que el tipo de tumor filtrable descubierto por Rous, engloba toda la esencia biológica de la cuestión. Las relaciones biológicas descubiertas entre todos los tipos de tumores filtrables y las nuevas investigaciones sobre la leucemia filtrable, permiten condensar en los trabajos, tradicionalmente realizados con el sarcoma de Rous, el espíritu científico de esta cuestión.

Demostrada la existencia de un agente infectante, en los llamados cánceres filtrables, puesto que se mantiene dicha actividad a través de los filtros, es natural que los investigadores se interesen por conocer la categoría de este factor, dividiéndose las opiniones entre los partidarios de un agente vivo, un virus filtrable y los que lanzaron la idea de un factor puramente químico.

Vamos a analizar en líneas generales cuanto se conoce sobre las propiedades generales de este agente para ver si así

nos podemos aproximar hasta determinar su naturaleza.

Dicho agente filtra a través de las bujías Berckefeld y de las bujías Chamberland L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>. No filtra a través de las membranas de colodión, impermeables a las albúminas, pero no a las peptonas.

Es destruido por los antisépticos, especialmente: el cloroformo, el formol al 1/120, el sublimado al 1/1.000, el fenol al 5/100, el alcohol al 50/100. Aguanta la acción del alcohol absoluto y de la acetona. La bilis y la saponina lo destruyen.

Desecado, aguanta casi indefinidamente, y diluido se inactiva en pocas horas, especialmente a 37°, y es destruido a 55° (las células se destruyen a 50°). Resiste al frío y la congelación. Con la autólisis del tejido sarcomatoso, el agente, a 41°, se destruye en 48 horas.

Es más resistente que las bacterias a la luz ultravioleta, y posee una curva de inactivación óptima, a longitudes de ondas determinadas. *In-vivo*, las células del tumor son resistentes a la acción de los rayos X, y sus filtrados aún mucho más.

El agente es destruido por la digestión tripsica en medio alcalino y, en cambio, es activado en medio ácido. El agente en solución ácida, sin fermentos, no origina tumores y, en cambio, su poder se activa en solución alcalina.

Como dice DURÁN REYNALS, las condiciones de actuación del agente filtrable estarán condicionadas por múltiples factores, fermentos, concentración iónica, temperatura y tiempo, etc.; factores que pueden interpolarse entre ellos, explicando la diversidad en los resultados experimentales de diferentes autores.

Puestos a resumir los argumentos y discusiones entre los que se muestran partidarios y los que no aceptan la categoría de virus filtrable, para el agente infec

tante del sarcoma de Rous, quizás será conveniente, en primer lugar, que recordemos aquí la definición que de dichos virus ha hecho RIVERS, del Instituto Rockefeller. Los virus filtrables son "ciertos agentes activos y transmisibles, capaces de producir estados patológicos en las bacterias, plantas, insectos, peces, pájaros y mamíferos; e incapaces de ser cultivados, a no ser sobre la materia viva — añade DURÁN REYNALS.

Dicho último autor resume en los siguientes puntos sus propiedades características: 1.º Engendran inmunidad duradera después de la infección. 2.º No son capaces de engendrar inmunidad cuando han sido totalmente inactivados. 3.º Son filtrables. 4.º Originan, cuando infectan, en las células afectadas, unas formaciones especiales denominadas cuerpos de inclusión. 5.º Son incapaces de cultivarse en medios inertes; sólo se multiplican en la materia viva. 6.º Una vez penetrados en el interior de la célula viva, la estimulan a dividirse y multiplicarse, y pueden originar formaciones de tipo canceroso.

Recordemos entre otros que hoy se consideran como tales virus los agentes de muchas enfermedades que padece el hombre y ciertos procesos patológicos que se observan en animales y vegetales: rabia, sarampión, herpes zóster, poliomiélitis, viruela, etc., etc. Si nos atenemos absolutamente al examen crítico de las características que definen los virus filtrables, encontraríamos suficientes argumentos para poder incluir entre ellos al agente del sarcoma de Rous, hasta el punto que se cumplen para dicho agente casi todas las condiciones antes expuestas, y aun aquellas difíciles de ser confirmadas, como las que atañen a la producción de la inmunidad, no son una excepción siquiera, sino que su falta de comprobación es una

consecuencia, por no escapar apenas ninguna gallina a la acción fatalmente mortal de la afección.

Los autores que creen en la posibilidad de que dicho agente sea un virus filtrable, colocan al sarcoma de Rous como un tipo intermediario que ocupa un lugar oportuno en una lógica seriación biológica, entre otros tipos de cánceres epidémicos, y los tumores clásicos, en lo que se refiere a su producción de tipo, absolutamente celular. Así, sitúan el sarcoma de Rous, cerca del epiteloma contagioso de los pájaros y el mixoma contagioso de los conejos, tumores que por sus apellidos pertenecen a la familia neoplásica, pero que por sus condiciones epidémicas parecen a propósito para llevarnos gradualmente de la mano, desde el tumor francamente bacteriano a la infección incógnita de Rous.

Dejando aparte, para no alargar este capítulo, la descripción de estas dos afecciones, tan sólo cabe aclarar que en ellas se producen unos tumores que son en realidad reaccionales, sin las características del crecimiento progresivo y metastásico de los tumores cancerosos y que, por lo tanto, resultan excesivamente gratuitos aquellos calificativos.

Pero frente a los autores que se han encastillado en la creencia de que debe tratarse de un virus, otros, desde que FUGINAMI e INAMOTO sentaron la idea de que podía ser un factor químico, han dado este nuevo giro a la cuestión.

No basta dar valor absoluto a las características biológicas, coincidentes en el agente del sarcoma de Rous, para aceptar obligadamente que debe tratarse de un virus; debemos llegar en nuestra crítica al estudio de otros detalles interesantes, en lo que atañe a aquellas características.

El hecho de que se reproduzca el tumor con extractos acelulares, no exige la idea

de que el contagio se deba a un virus. En último término, el carácter de filtrabilidad podría servirnos para informarnos sobre el tamaño del agente, y basándose en ello, PENTIMALLI estableció que podía tener unas dimensiones entre las de la molécula proteica, que no pasa a través de las membranas de diálisis, de colodión, y las de un corpúsculo que atraviesa los poros de un filtro Berkefeld V y N.

Por el hecho de ser filtrable, no debe eliminarse la posibilidad de que se trate de un factor químico, porque es sabido que también filtran los fermentos y las toxinas. Su resistencia a la acción abiótica de los ultravioleta de cierta longitud de onda, le acerca más a los fermentos. El hecho de que el agente se inactiva en las emulsiones con los tejidos sensibles, le acerca a la misma propiedad, en virtud de la cual, con la toxina tetánica se produce su inactivación al emulsionarla con el tejido nervioso central, sensible al ataque de la toxina *in vivo*.

Unas experiencias de DURÁN REYNALS, consideradas hoy como de gran valor experimental, sirven precisamente para argumentar, favorablemente, la creencia de que dicho agente no debe ser, precisamente, un ser vivo. Por simple trituración y suspensión del testículo de la mayoría de animales en líquido de RINGER o suero, se consigue la disolución de una cierta substancia, denominada por su autor el factor T. Inyectando uno o dos centímetros cúbicos de la suspensión en cuestión, junto con un virus infeccioso o una bacteria, gracias a la propiedad del factor T, se exalta la virulencia de aquellos microbios, e inversamente, disminuye la actividad germinal para el caso de los clásicos injertos neoplásicos. Precisamente bajo la influencia del factor T, los filtrados del tumor de Rous disminuyen su actividad, inversa-

mente a lo que debería ocurrir si se tratase de un agente vivo.

Las condiciones de crecimiento del tumor, por difusión progresiva y porque las metástasis producidas parece que se deben a embolias vasculares sanguíneas o linfáticas, le acercan a las condiciones generales que rigen el crecimiento de los tumores, ya que, de no tratarse de una reproducción celular, el crecimiento se produciría con un carácter de infiltración múltiple y difusa, bien distinta.

Analizando la intimidad del crecimiento tumoral, se adivina la influencia de un factor de tipo citoquinético a diferencia de los efectos citolíticos que caracterizan los de otros virus, como el zóster, la vacuna, el bacteriófago, etc.

La índole de este resumen no permite que nos extendamos más sobre el pro y el contra, en favor de la teoría bacteriana o química y diastásica, para explicarnos la índole orgánica del agente del sarcoma de Rous. Sin embargo, no debemos pasar adelante sin mentar otra nueva hipótesis sobre tal cuestión, que puede encarnar una solución intermedia.

A este propósito, para poder insistir en este párrafo aparte, dejé de mentar, al citar algunos de los importantes procesos debidos a los virus, la bacteriofagia.

Precisamente, a propósito del bacteriófago, también se han dividido las opiniones entre los que, como HERELLE, definen como una entidad viva e independiente de las otras bacterias, considerando todo su proceso con el mismo dinamismo de la infección bacteriana, y aquellos que la definen como una nueva entidad antigénica, considerándolo como una diastasa hija de la misma bacteria. El caso es que se trata de un agente originado en la bacteria, incultivable en los medios inertes; pero que se multiplica en los medios vivos, a la vez

que y con las mismas bacterias que han sido incitadas a reproducirse bajo su estímulo.

Si comparamos las condiciones biológicas y las dudas que han sugerido los problemas planteados por los tumores filtrables y los que antes hemos reunido, al hablar de los virus filtrables, se comprenderá cómo las nuevas ideas sobre bacteriología permiten orientar la cuestión en un terreno teórico que, sin alejar la cuestión definitivamente del campo de la bacteriología, permite pensar que el agente de los tumores filtrables debe sus cualidades fundamentales a factores de orden químico.

Las experiencias de CARREL, antes citadas, demostrando la reproducción del sarcoma de Rous con los macrófagos, cultivados artificialmente y extraídos de dichos tumores, hablan en favor de que todo se produzca bajo los efectos de un producto de secreción celular de dichos macrófagos a título de sustancias estimulantes que exciten la reproducción de los fibroblastos. Siguiendo por el camino de comprobar el valor de los agentes químicos, CARREL afirma haber llegado a la producción experimental de un sarcoma filtrable en las gallinas, inyectando pulpa embrionaria, conteniendo pequeñas cantidades de determinadas sustancias químicas, indol, arsénico o alquitrán. Desde el momento en que hasta ahora, inyectando pulpa embrionaria sólo se han podido producir teratomas que por sí solos regresaban, es evidente que gracias al factor químico que se añade, es posible el estímulo de la malignidad.

MURPHY ha contribuido a demostrar la naturaleza química del agente del tumor de Rous. Dicho autor, tratando extractos concentrados y filtrados con una solución ácida débil, conseguía la rápida precipita-

ción de una sustancia mucoide capaz de disolverse de nuevo y volverse a precipitar sin pérdida de actividad con estas operaciones y que, inoculada a la gallina, reproduce el sarcoma. El resto del líquido era inactivo y, por consiguiente, en el precipitado aislado debe existir una sustancia responsable de la producción del sarcoma. Prosiguiendo estos estudios se llegó a la purificación de la fracción proteica que lleva el agente activo. Eliminada químicamente la presencia de una mucoproteína por la existencia de bases púricas y de fósforo, ha sido posible sugerir la idea de que debía tratarse de un nucleoproteido, y como daba la reacción de FEULGEN, se creyó que la reacción pertenece al grupo del ácido timo-nucleído. Recientemente STURM, GATES y MURPHY, del Instituto Rockefeller (*Journ. exp. méd. de N. Y. en julio de 1932*), han separado de aquella fracción proteica, sometiendo el precipitado a la acción del hidróxido de aluminio, el principio activo, en un líquido que contiene el factor tumoral desprovisto de toda traza de proteínas.

Es lógico pensar que este agente, que puede someterse a determinadas técnicas de extracción y purificación química, difícilmente puede tratarse de un virus o de cualquier otro organismo vivo. Por si faltase poco, MURPHY, en la Conferencia Internacional de Londres, en 1928, pretendió haber extraído del testículo del gallo, en animales a cubierto de toda posibilidad de contagio, un producto capaz de reproducir en la gallina el sarcoma de Rous. Este último descubrimiento de MURPHY no ha merecido mucho crédito.

De todas estas consideraciones, sobre el agente del sarcoma de Rous, puede llegarse a la conclusión de que puede admitirse que un factor químico estimula a reproducirse los elementos del tejido con-

juntivo, especialmente los fibroblastos, y que seguramente la intervención de los macrófagos especiales tienen la misión de librar las sustancias excitantes en cuestión.

No han faltado detractores del valor biológico que en patología comparada se ha querido dar al sarcoma de Rous, pero si dicha identidad entre aquel tipo de tumor y el cáncer de los mamíferos no es muy exacta, sin embargo, para la cancelología experimental el descubrimiento de los extractos filtrables ha abierto un campo de nuevas investigaciones de trascendental interés.

\* \* \*

Al terminar este trabajo debo citar el nombre de mi más directo colaborador en el Laboratorio, el Dr. Basilio A. CUEVAS,

cuya constancia y asiduidad en su cometido, cuidando y preparando la labor diaria para las series experimentales y los detalles complejos que exige esta experimentación, se hace digno de una consideración muy cordial.

Precisa agradecer al Dr. A. FERRER y CAJIGAL, catedrático de histología, y a su auxiliar el Dr. Diego FERRER, entre otros de sus colaboradores, por su prestación para que en el Laboratorio de dicha Cátedra pudiésemos conseguir la mayoría de las microfotografías transcritas en este trabajo. También debo agradecer al Dr. BLUMENTHAL su fotografía sobre el tumor del geriano y al Dr. THOMAS, las fotografías sobre los tumores de los peces. Al Dr. F. FORNELLS debo recordarle también porque en más de una ocasión ha contribuido a nuestros trabajos en forma de muy sincera y útil colaboración.