

PROPIETATS DE L'AGENT CAUSAL D'UN TUMOR DEL POLLASTRE

L'EFECTE DE L'EXTRACTE TESTICULAR SOBRE LA VELOCITAT
DE CREIXEMENT DEL TUMOR

per

E. STURM

F. DURAN-REYNALS

L'observació que l'extracte testicular exalta marcadament la infectivitat de certs virus i bacteries, descrita per un de nosaltres (1), ha estat confirmada i ampliada per un nombre d'investigadors (2). Ulteriorment s'ha demostrat que l'extracte testicular exerceix una influència inhibidora en el creixement d'un epitelioma transplantable del conill (3) i en una extensió menor sobre un sarcoma de la rata (4). És interessant saber quin efecte els extractes testiculars tindran sobre els neoplasmes dels pollastres, transmissibles per extractes lliures de cèl·lules.

Recentment, Hoffmann, Parker i Walker (5) han publicat els resultats d'una investigació similar en la qual proporcionen proves de l'exaltació de l'agent del tumor del pollastre per l'extracte testicular de conill, però no pel del testicle de gall. Aquesta evidència es basa sobre dos experiments positius; el mateix extracte testicular fou usat en ambdues proves. No formulen conclusions sobre la naturalesa de l'agent del tumor per aquests resultats,

però donen la impressió que recerques ulteriors amb el mètode podrien portar a algunes conclusions sobre la qüestió. Durant els darrers tres o quatre anys s'havien anat acumulant en aquest laboratori una quantitat considerable de dades, però no havien estat publicades quan aparegué el referit article. Com que els nostres resultats s'apartaven dels donats pels autors anteriors, diferirem la publicació fins que s'haguessin fet proves addicionals amb certes petites modificacions de tècnica propugnades per ells en llur nota.

MATERIALS I MÈTODES

Els extractes testiculars es prepararen extirpant les glàndules de rates, conills o galls, separant-les dels teixits adherits i treient la càpsula. Aleshores el teixit es molia amb sorra en un morter, junt amb el seu mateix volum de sèrum fisiològic o de solució de Ringer. Després de separar per centrifugació les partícules més pesades, es decantava el líquid sobrenedant, es filtrava per una bugia de Berkefeld V i s'utilitzava per a les proves.

Els extractes testiculars de rata, conill i gall i l'extracte purificat de testicle de brau es provaren amb (1) l'extracte actiu del tumor 1 del pollastre dessecat (2), el filtrat per Berkefeld concentrat de tumor 1 de pollastre fresc i (3) suspensions de cèl·lules tumorals.

Efecte de l'extracte testicular sobre l'activitat dels extractes dessecats del tumor 1 del pollastre

En aquests experiments, tant en el mètode de preparació dels extractes testiculars com en els punts d'inoculació, se seguí exactament la tècnica emprada per a provar

l'acció del factor exaltant sobre els virus i les bactèries, descrita per un de nosaltres (Duran-Reynals).

Experiments. -- L'extracte tumoral fou preparat extractant completament 1 gr. de dessecat de tumor i de pollastre finament polvoritzat amb 50 cc. d'aigua destil·lada i afegint suficient NaOH n/10 per a fer la solució neutral o lleugerament alcalina. Generalment es mantenia un Ph 7,2-7,4 en totes les extraccions. La suspensió emulsió es barrejava ben bé fent-la entrar i sortir d'una xeringa grossa, proveïda d'una agulla de punció lumbar del n.º 12 durant alguns minuts. Després de centrifugar, el líquid sobrenedant es filtrava per un paper de filtre ordinari mullat i es dividia en cinc parts. A cada una de les quatre porcions primeres s'afegia una quantitat equivalent dels extractes testiculars que es volien provar; a la cinquena porció s'afegia un volum igual de sèrum fisiològic o de solució de Ringer, per a servir de control. En algunes de les proves els extractes testiculars es diluïren deu vegades amb Ringer, però aquesta modificació del mètode no tingué efecte sobre els resultats. En conseqüència, tots els experiments són descrits conjuntament. Les solucions dels extractes testicular i tumoral foren simplement barrejades i deixades a la temperatura de l'habitació el temps necessari per a realitzar la injecció. Aquest període ordinàriament varià entre vint i quaranta minuts. S'injectaren 0'4 cc. de cada una de les barreges, àdhuc del control, intradèrmicament a un pollastre normal. D'aquesta manera cada pollastre rebé les quatre injeccions de prova i el control d'activitat. Es notà que la butllofa formada per la injecció intradèrmica de les solucions que contenien extracte testicular s'aplanaven en pocs minuts, mentre que les que no en contenien necessitaven molt més temps per a difondre en els teixits veïns.

Es feren mesures setmanals dels tumors resultants.

Les xifres dels tumors registrats per a cada pollastre foren les darreres abans que s'obrissin al teixit subcutani o es fonguessin en la pell. Aquest mètode, creiem nosaltres, dóna una bona idea dels resultats. Com que cada animal portava totes les inoculacions de prova i la de control, la variació en susceptibilitat d'un pollastre a l'altre i en l'activitat dels diferents extractes tumorals queda reduïda al mínim. Els pollastres emprats en les proves eren del tipus de Plymouth Roch, adults d'edat incerta, comprats al mercat. En cada grup s'usaren extractes frescos. En la taula I es dóna el resum de quatre experiments, basat en setanta-dues inoculacions.

TAULA I

Acció de l'extracte testicular sobre els extractes del tumor I del pollastre

Extracte de tumor I de pollastre	N.º de inoculacions	Nombre de tumors	Dimensions mitjanes dels tumors <i>cm.</i>
Extracte testicular de rata.....	20	20	2'5 × 2'0
Extracte testicular de conill.....	8	8	2'3 × 1'8
Extracte testicular de gall.....	16	16	2'5 × 2'0
Extracte purificat de brau.....	4	4	1'6 × 1'1
Solució salina (control).....	24	24	2'3 × 1'9

No hi ha evidència d'exaltació de l'agent del tumor de pollastre pels diferents extractes testiculars amb els mètodes emprats en aquests experiments. Tampoc no es troba una acció inhibidora, amb la possible excepció de les proves amb extracte testicular purificat de brau; però les xifres són massa petites per ésser significatives. A més, en cap moment, en el curs dels experiments, hi hagué evidència d'exaltació o d'inhibició en el desenvolupament dels tumors.

L'efecte de l'extracte testicular sobre la producció de tumors per un filtrat per Berkefeld concentrat d'un tumor I del pollastre

Com una prova més del possible efecte de l'extracte testicular sobre l'agent del tumor de pollastre, s'utilitzaren filtrats d'extractes de tumors frescos en una nova sèrie experimental en lloc d'extractes de tumor dessecat, d'on procedia l'agent en el grup precedent.

Experiments. — Els filtrats de Berkefeld foren preparats movent 25 mgr. de teixit de tumor de pollastre pastat amb una quantitat de sorra estèril, diluint amb 500 cc. d'aigua destil·lada i afegint NaOH n/10 per a portar el Ph de la solució a 7,2-7,4. La solució s'agità durant vint minuts en un matràs tapat, es centrifugà i el líquid sobrenedant es filtrà per una bugia Berkefeld V a una pressió d'aire de 25 lliures. 300 cc. del filtrat es recolliren i es concentraren fins a 40 cc. a través de membranes de col·loidió al 8 per 100. Els extractes testiculars es prepararen de la mateixa manera que en els experiments anteriors.

Per a la prova s'injectaren intradèrmicament a pollastres, 0'4 cc. de barreges a parts iguals de filtrat concentrat i d'extracte testicular. Com a control d'activitat, s'injectà a cada pollastre una quantitat idèntica de filtrat concentrat diluït amb solució de Ringer. Per a cada experiment es prepararen extractes testiculars i filtrats tumorals nous. En la taula II es consignen els resultats dels dos grups de proves.

Si bé el nombre de pollastres en aquest grup no és gran, presenten una absència uniforme de qualsevol efecte dels extractes testiculars sobre les dimensions dels tumors produïts pels filtrats de tumors.

TAULA II

Acció de l'extracte testicular sobre filtrat frec concentrat de tumor de pollastre I per Berkefeld

Dos experiments

Filtrat per Berkefeld concentrat de tumor I de pollastre	N.º de inoculacions	Nombre de tumors	Dimensions mitjanes dels tumors <i>cm.</i>
Extracte testicular de rata.....	6	6	1'8 × 1'3
Extracte testicular de gall.....	6	6	1'8 × 1'6
Solució salina (control).....	6	6	2'1 × 1'5

Efecte de l'extracte testicular sobre les dimensions dels tumors resultants de la inoculació de cèl·lules tumorals

Com s'ha dit anteriorment, l'extracte testicular inhibeix definidament el creixement d'un tumor transplantable del conill i, en menys extensió, de certs tumors transplantables de la rata. En aquests casos els tumors són transmesos solament per les cèl·lules. Per a assimilar més aquests experiments hem provat l'efecte de l'extracte testicular sobre les dimensions de tumors produïts per cèl·lules de tumor de pollastre.

Experiments. — Les suspensions de cèl·lules de tumor de pollastre es feren agafant 1 cc. de teixit tumoral recentment triturat, passant-lo per una fina glassa a una lleugera pressió i suspenent les cèl·lules en 5 cc. de solució de Ringer. Per a la injecció es féu una barreja a parts iguals de suspensió cel·lular i dels diferents extractes testiculars. El volum total, injectat en cada àrea de pell d'un pollastre normal, fou 0'4 cc. Els resultats dels experiments es troben en la taula III.

TAULA III

Acció de l'extracte testicular sobre les cèl·lules del tumor I del pollastre

Tres experiments

Suspensió de cèl·lules del tumor I del pollastre	N.º de inoculacions	Nombre de tumors	Dimensions mitjanes dels tumors cm.
Extracte testicular de rata.....	4	6	2'0 × 1'4
Extracte testicular de conill.....	61	14	2'2 × 1'6
Extracte testicular de gall.....	3	3	2'0 × 1'4
Extracte testicular purificat de brau.....	2	2	1'9 × 1'5
Solució salina (control).....	12	12	2'3 × 1'5

De les xifres donades no sembla haver-hi exaltació de la velocitat de creixement dels tumors, resultant de les barreges de cèl·lules tumorals i d'extracte testicular de quatre espècies diferents.

L'efecte de l'extracte testicular sobre el desenvolupament de tumors en els pollastres joves

Hoffmann, Parker i Walker (5), en llurs experiments anteriorment esmentats, empraren pollets de vuit setmanes i assenyalen exaltació amb extracte testicular de conill (dos experiments amb el mateix extracte), però no amb l'extracte de gall. Per a suprimir la possibilitat que l'edat dels pollastres afecti els resultats, els nostres experiments han estat repetits emprant pollets d'entre sis i vuit setmanes d'edat.

Experiments. — Les proves es limitaren a l'efecte dels extractes testiculars de conill i de rata, però es provaren

amb cèl·lules tumorals i amb extractes de tumor dessecat, fent-se les inoculacions per via intradèrmica. Les condicions dels experiments eren les mateixes que en els grups precedents, amb la sola diferència que s'empraren pollastres joves. El resultat d'aquests experiments, amb extractes frescos per a cada un, es consignen en la taula IV.

TAULA IV

*Acció de l'extracte testicular sobre el tumor I del pollastre
Injecció en pollets de vuit setmanes*

Tres experiments

Material injectat	N.º de inoculacions	Nombre de tumors	Dimensions mitjanes dels tumors <i>cm.</i>
Cèl·lules de tumor de pollastre amb:			
Extracte testicular de rata.....	4	4	3'3 × 2'5
Extracte testicular de conill.....	4	4	3'2 × 1'9
Solució salina (control).....	8	8	3'2 × 2'3
Extracte de tumor de pollastre més:			
Extracte testicular de rata.....	7	7	2'3 × 2'2
Extracte testicular de conill.....	7	7	2'1 × 1'6
Solució salina (control).....	14	14	2'2 × 1'7

Es practicà un altre experiment amb pollastres de vuit setmanes, injectant una barreja de cèl·lules tumorals i extracte testicular de rata a un costat, per via intramuscular, i a l'altre la suspensió cel·lular diluïda, com a control. Les mesures dels tumors resultants indiquen un cert exaltament en tres o quatre pollastres. Es mataren en el punt culminant de l'experiment i les mesures veritables fetes a l'autòpsia demostraren l'absència de diferència entre els dos costats. Això fou comprovat per la pesada dels dos tumors en un pollastre, que presentava la diferència màxima a la mesura grollera.

D'aquestes darreres proves sembla dependre's que no hi ha evidència d'exaltació de tumors per l'extracte testicular en els pollastres joves, confirmant així els resultats obtinguts en els animals adults.

DISCUSSIÓ

Amb l'extracte tenim un factor o factors que augmenten la infecció dels virus i les bactèries per una banda, i per l'altra, semblen retardar el creixement de certs tumors transplantables. D'aquests fets podria suposar-se que l'acció de l'extracte testicular sobre el tumor de pollastre proporcionaria coneixements interessants sobre la naturalesa de l'agent causal. Malgrat que l'extracte testicular exalta els agents infecciosos (6) augmentant la permeabilitat tissular i cel·lular, i també exalta l'acció de certes toxines (7), sembla que no pot fer-se cap deducció sobre la naturalesa de l'agent del tumor de pollastre, àdhuc si els experiments haguessin presentat una exaltació definida. Com a fet positiu, no hem trobat cap prova d'exaltació definida o d'inhibició amb els diferents extractes testiculars investigats. Pot haver-hi una explicació senzilla d'aquesta falla, tal com l'estructura de la pell del pollastre, però això no sembla probable, ja que la capacitat de l'extracte testicular d'augmentar l'àrea de difusió dels materials injectats és tan evident en la pell del pollastre com en la dels mamífers. No veiem una explicació immediata de la diferència entre els nostres resultats i els d'Hoffmann, Parker i Walker.

RESUM

Els extractes preparats del teixit testicular de la rata, del conill, del pollastre i del brau, injectats junt amb extractes del tumor i del pollastre o amb cèl·lules d'aquest tumor, no mostren un efecte clar, exaltador o inhibidor, en el referent al desenvolupament dels tumors resultants.

*The Rockefeller Institute for Medical Research.
New York.*

BIBLIOGRAFIA

1. *F. Duran - Reynals*, Compt. rend. Soc de Biol., CIX, 6, 1928; Journ. Exp. Med., I, 327, 1929. — *F. Duran - Reynals* i *J. Suñer i Pi*, Compt. rend. Soc. de Biol., XCIX, 1908; 1928.
2. *D. McClean*, Journ. Path. and Bact., XXXIII, 1045; 1930. — *D. C. Hoffman*, Journ. Exp. Med., LIII, 43; 1931. — *M. Pijoan*, Journ. Exp. Med., LIII, 37; 1931.
3. *F. Duran - Reynals*, Science, LXXII, 1876, 1930; Journ. Exp. Med., LIV, 493, 1931.
4. *R. C. Tanzer*, Journ. Exp. Med., IV, 455; 1932.
5. *D. C. Hoffman*, *F. Parker* (jr.) i *T. T. Walker*, Am. Journ. Path., VII, 523; 1931.
6. *D. C. Hoffman* i *F. Duran - Reynals*, Journ. Exp. Med., LIII, 387; 1931.
7. *C. McClean*, Journ. Path. and Bact., XXXIII, 1045; 1930.