

Dr. A. H. ROFFO



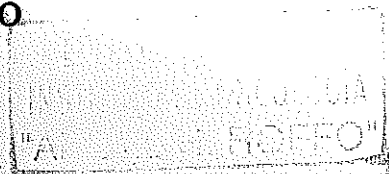
Biología del cáncer

(Publicado en la "REVISTA MEDICA LATINO-AMERICANA"
Año XI - Octubre 1925 - N.º 121)



BUENOS AIRES
IMPRENTA MERCATALI — AVENIDA ACOYTE 271
1925

Dr. A. H. ROFFO



Biología del cáncer

Separata

(Publicado en la "REVISTA MÉDICA LATINO-AMERICANA"
Año XI - Octubre 1925 - N.º 121)



BUENOS AIRES

IMPRENTA MERCATALI — AVENIDA ACOTTE 271
1925

I

La evolución de los conocimientos sobre el cáncer es tan larga como la de la medicina misma. La tendencia actual de las investigaciones sobre esta enfermedad, ha orientado los estudios en el dominio de la biología experimental y en la que tan importante colaboración prestan las ciencias afines: la química, la físico-química y la patología comparada.

Si la historia de la medicina señala reales progresos en el mejor conocimiento y tratamiento de muchas enfermedades, como las infectocontagiosas, no ha sucedido lo mismo en cuanto a los tumores malignos se refiere, en los que, si ha habido progresos, muchos de ellos de importancia en sus relaciones con la morfología, son aún numerosos los interrogantes que permanecen como cuestiones a resolver.

Conocidos los tumores malignos en épocas remotas, en la India, Grecia y Egipto, como así lo documentan Papiros que se conservan del siglo XV a. de J. C., el conocimiento de su génesis y terapéutica, permanecen todavía en el terreno de la hipótesis, observándose aún en la práctica el *nolú me tângere* que preconizaba Hipócrates en sus consejos terapéuticos.

Del examen circunstanciado del largo período histórico que comprende la evolución de los conocimientos sobre este proceso, se desprenden cuatro épocas que han ido dominando sucesivamente, de acuerdo con las ideas médicas que prevalecían en la interpretación de las enfermedades, desde la atrabilis hasta las doctrinas actuales parásito-celulares.

Hay sin embargo, en el cúmulo de trabajos producidos, una idea dominante y es la de que el cáncer es un producto del organismo, que obrando como un parásito, destruye localmente los tejidos, mo-

dificando profundamente los humores y la constitución general, que si para unos es consecuencia de su desarrollo, otros ven en ello la causa de su génesis. En relación con esto último, se encuentran no sólo las teorías más modernas, sino también las determinaciones que señalan los nuevos estudios de química biológica y de físico-química, que dan así, otra vez, actualidad a la antigua teoría de los humores viciados. Las épocas a que me refiero comprenden los siguientes períodos:

I) La de los humores, en la que domina la teoría de la atrabilis y la linfa.

II) La anatómica, que se caracteriza por los estudios anatómicos de Hunter, de Bichat, Laenec, Broussais y Cruveillier, los que a la vez que sientan bases sólidas para nuevas clasificaciones, individualizan al cáncer como entidad anatomoclínica.

III) La histológica, época que fundamentan dos escuelas: la alemana, con Schleiden, Müller, Virchow, y la francesa, con Lebert, Verneuil y Broca a la cabeza.

IV) La biológica, época moderna, que comprende el estudio del cáncer experimental y que se inicia con el conocimiento del cáncer transmisible de los animales. Es en ésta, que se han hecho las mejores conquistas, especialmente en el campo de la citofisiopatología.

II

La patogenia de los tumores malignos, cuestión que ha preocupado en todo tiempo, ha dado lugar a un sinnúmero de hipótesis y teorías que al pretender evidenciarlas no han resistido al control experimental. No está dentro del programa de esta comunicación el hacer un examen detallado de todas éstas, no sólo por el espacio que ello requeriría, sino también porque ellas se encuentran bien estudiadas por todos los tratadistas que se ocupan de la oncología. Sin embargo, pueden reunirse todas ellas en dos grupos: en el primero, que comprende aquellas que consideran los tumores como un producto de agentes extraños al organismo, parásitos animales o vegetales, o elementos del mismo animal, que pueden ser simples células del mismo organismo (Farmer), o una cópula celular con parásitos o embriones extraños (Kelling).

En el segundo, se encuentran todas aquellas teorías que consideran los tumores como un producto de la evolución de células del mismo organismo.

En la explicación de la estructura carcinomatosa se han debido

estudiar todos los hechos que caracterizan esta clase de neoformaciones, pretendiendo encontrar cada teoría, una modalidad que las explique. Es así que estas son tan numerosas, como consecuencia de la dificultad de encontrar una sola teoría que pueda comprender a todos los factores que contribuyen al desarrollo de tumores de origen y tipo tan variados. Por otra parte, los hechos observados y considerados como característicos en su época, han debido modificarse de acuerdo con los nuevos conocimientos. Las teorías han tenido especialmente en cuenta los fenómenos que señalan el desarrollo de un carcinoma, de los cuales el no menos importante es el que caracteriza su enorme poder proliferativo y la ubicuidad de las células. Así, se ha buscado, como elemento esencial de la patogenia, todo aquello que pudiera explicar este poder vegetativo anormal. Y en lo que a las teorías parasitarias se refiere, no hay bacterio, parásito u hongo, que no haya dejado de halagar a los investigadores, como descubridores del germen del cáncer, y que, con el control experimental, se ha producido una decepción más. No hay en toda la enorme producción en este orden de ideas, desde el simple cultivo del bacterio, hasta su inoculación positiva — micrococcus neoformans de Doyen; la producción de vacunas con el mucus rasemosus de Schmidt—, hasta los trabajos bien documentados de San Felice, con el sácaromices neoformans, un hecho experimental que pruebe categóricamente, no sólo el origen parasitario de los tumores, así como tampoco su infecciosidad. Todas aquellas neoplasias desarrolladas por los pretendidos agentes, no eran sino simples procesos inflamatorios desarrollados alrededor del cuerpo extraño inoculado. ¿Cómo explicar por otra parte, con esta teoría, los resultados obtenidos con la transmisión de los tumores en los animales y aun en el hombre, para cuyo éxito es indispensable someterse a la ley de especificidad, en las mismas condiciones y modalidades que rigen para los trasplantes de los tejidos normales? Se sabe además, en estos trabajos de transmisión, lo perjudicial que es para el desarrollo del injerto, cuando éste no se hace con la más rigurosa asepsia. Además, ¿a qué bacterio o parásito podría relacionarse este agente neo-formativo, que para desarrollarse es tan exigente, y que necesita que el animal sea de la misma especie, o más aun, de la misma raza? Si esto fuera así, ello haría suponer tantos agentes parasitarios, no solo uno para cada especie animal, sino también uno para cada tipo de tumor.

Los que han trabajado durante muchos años con los tumores transmisibles de ratas, conocen que, si bien éstos se transmiten con tanta

facilidad, cuando se trabaja con animales de la misma especie y criadero, cuánta es la resistencia que ofrecen cuando los animales no sólo cambian de raza, sino de criadero, resistencia que sólo es posible vencer por un acostumbramiento que atribuimos al terreno y que sólo se consigue a través de varias generaciones de pasajes. En este sentido, se deben agregar los resultados obtenidos con las culturas in vitro, de tejidos cancerosos y sarcomatosos y cuya experimentación se halla regida por los mismos principios que rigen para los tejidos normales, y si alguna diferencia debe anotarse, ella se relaciona tan sólo con el medio nutritivo.

Por otra parte, y refiriéndome ya a las condiciones que se observan en la oncología humana, se ve que no sólo hay desarrollo de tumor en determinada época, cuando comienza el envejecimiento del individuo, sino que también pareciera desprenderse de los datos estadísticos, que su desarrollo acompaña a la senectud de la especie.

Y por último, hay que señalar como un hecho de la mayor importancia, que todas las tentativas de transmisión por contagio directo que no respondan a las exigencias del injerto histológico han fracasado, lo que con los resultados anteriores hacen que éste sea un capítulo casi abandonado.

Considerando a las comunicaciones más recientes me referiré a la de Blumental quien (1924) anuncia que acaba de aislar de los tumores humanos un bacterio con el que ha reproducido tumores malignos en los animales, bacterio que acerca al tumefaciens B, preguntándose si estos microorganismos se pueden considerar los agentes de los tumores desarrollados, o son portadores de un virus invisible. Fichera, que se ha ocupado de este asunto, en una de sus conferencias, le resta todo valor asignándole a los tumores encontrados, el carácter de abscesos por cuerpos extraños.

En este año, esta cuestión ha vuelto a preocupar la atención general con motivo de la comunicación de Gye y Barnard, que dicen haber aislado un germen perteneciente a un virus filtrable, que sólo es posible observarlo con un dispositivo óptico ideado por uno de ellos. Estos autores que han trabajado con el sarcoma de pollo, que como se sabe bien, desde que Peyton Rous lo estudiara por primera vez en 1910, es producido por un virus filtrable en bujías de porcelana, resistente a la desecación. En el trabajo de los autores ingleses hay una novedad para esta clase de experiencias, y es, que sería necesario para obtener la infección, la presencia de dos factores: el factor específico y un factor accesorio químico. En lo que se refiere a las experiencias con los tumores mamíferos, ratas, lauchas y tumores huma-

nos, el método empleado consiste en substituir el virus de estos tumores por el sarcoma de pollo, filtrado, saturado de cloroformo, incubado a 39° y después de aspiración de cloroformo, inocula tres pollos: uno, con filtrado; otro, con 0,5 del mismo, más cultura del fragmento del carcinoma de rata. A otro pollo se le inocula sólo esta cultura, desarrollando tumor de pollo, el segundo animal, experiencia que según el autor, demostraría que la cultura de carcinoma puede reemplazar al virus de tumor de pollo. Con los tumores humanos, de los cuales han trabajado tan sólo con tres neoplasmas: un carcinoma de la mama, un sarcoma del muslo y un adenocarcinoma de la mama derecha; deshecha las dos primeras experiencias: una por contaminación y otra por fracaso, sola la tercera desarrolla sarcoma de pollo. Estas experiencias, según las cuales no basta solamente el virus sin el agregado del factor específico, sin lo cual es incapaz de producir tumor, necesitan mayor experimentación. Son tan pocos los casos estudiados, especialmente en los mamíferos, que sería prematuro deducir conclusiones categóricas.

*
* *

La llamada teoría celular es en la actualidad, la que mayor número de adeptos presenta en la explicación patogénica del desarrollo de los tumores malignos. Y si son muchas las observaciones y aun la experimentación que hablan en favor de este concepto, la causa primera, el *primum movens* que lleva a la cancerización de la célula, escapa aún al control experimental. La iniciación del proceso, la predilección de ciertos órganos y sobre todo, la época de su desarrollo en una edad determinada, que coincide con la aparición de alteraciones, sustentan más esta teoría. Dos cuestiones plantean su explicación y que están sobre el tapete de los investigadores. Reside en una alteración biofuncional de la célula lo que lleva a ésta una metaplasia primero, anaplasia y crecimiento atípico después; ¿o es ello producto del terreno biológico alterado químicamente por simple evolución o por causas externas?

La alteración que lleva a la célula a una multiplicación atípica, sea por una discitogénesis esencial, sea por un trastorno que las irritaciones prolongadas puedan traer en las propiedades proliferativas, no han sido suficientemente explicadas en la evolución de un elemento, que si histológicamente considerado es una célula del animal, biológicamente es una célula parasitaria.

En nuestra ignorancia del mecanismo íntimo de la multiplicación

celular, se ha debido recurrir a datos y a bases hipotéticas, la mayor parte de ellas fundadas hasta hace poco en apreciaciones de origen morfológico. Es así, que las teorías etiológicas de las neoplasias, las han tenido especialmente en cuenta y al considerar que el máximo de poder vegetativo de un célula, reside en el óvulo y las células embrionarias, era lógico suponer que estas pudieran dar origen a tumores, al quedar como restos y en un estado de crecimiento latente. Tal es el fundamento de la doctrina embrionaria de Conheim, que tantos adeptos ha tenido y que, sin embargo, a pesar de las comprobaciones anatómicas, de restos embrionarios en distintos órganos, presenta numerosas fallas. Si esta teoría explica el desarrollo de ciertas neoplasias de carácter netamente embrionario, no da razón de muchos tumores, especialmente de aquellos de origen epitelial, en que se puede seguir paso a paso la cancerización de la célula epitelial, sin la intervención de ningún elemento embrionario. A partir de esta teoría, se han sucedido muchas otras; como las de Bard, que las tienen especialmente en cuenta, y las Albrecht y Borst, que ven en este proceso alteraciones en el desarrollo ovular. Otras, que asignan como causa a la intervención de elementos heterólogos, leucocitos, tejido conjuntivo, teorías que han perdido hoy todo fundamento. Otras, basadas especialmente en alteraciones de crecimiento de los tejidos, que dependen de la pérdida de equilibrio, conservado gracias a la actividad igual de los dos tejidos, pérdida de resistencias de uno de ellos, el conjuntivo (Thiers), de acuerdo con la edad. En este sentido, debe señalarse también la teoría primitiva de Ribbert, sobre el aislamiento de células por tejido conjuntivo, concepto que ha debido modificar, en presencia de fenómenos contradictorios, como son los que se observan en ciertos procesos inflamatorios crónicos, y que, como sucede en la cirrosis de un órgano como es el hígado, y en el cual el desarrollo de tumores primitivos no es frecuente.

*
* *

Consideran todas estas teorías, hasta las más modernas, que son las alteraciones de las células epiteliales que las llevan a su anaplasia, donde reside la causa esencial, y que las causas del poder vegetativo extraordinario y demás condiciones que determinan la malignidad de estos tumores, está en las condiciones mismas de la alteración primera de la célula.

Hay una tendencia en la actualidad, en modificar este concepto,

dando gran importancia en el desarrollo de la neoplasia, a factores que dependen del terreno. En la actualidad, existe como un hecho adquirido, que el desarrollo de una neoplasia, depende de factores múltiples, entre los cuales tiene un valor indiscutible la preparación del medio, el llamado estado precanceroso, confundido muchas veces con la predisposición.

Estos estados son dependencia, ya de condiciones personales, en las cuales juegan el rol de factor, la edad y la profesión, o ya patológicos, que se relacionan con procesos crónicos, como son la sífilis e intoxicaciones prolongadas, condición esta última, que se relaciona con las irritaciones locales, irritaciones crónicas, de acción local por agentes químicos, físicos y aun mecánicos.

En relación con estas consideraciones, mencionamos el concepto de Fichera, al enunciar su teoría en el año 1910, que apoya en hechos que dependen de la regulación de factores que equilibran el desarrollo normal de los órganos y cuyo desequilibrio es el que daría lugar a la proliferación típica o atípica de los tejidos, de acuerdo con lo cual se encontraría en los niños el mayor poder regulador en relación con el poder oncolítico, poder que va descendiendo con la edad hasta llegar a cero en los ancianos. Reconoce esta teoría dos factores, uno de orden general, que es congénito para los jóvenes o adquirido en la vejez y otro local que dependería de causas externas, traumatismos, agentes físicos o químicos, ya actuando *in situ* o por vía general. Esta teoría fundamentada no sólo en hechos de observación clínica, sino también en la experimentación animal, ha sido desarrollada en las conferencias que recientemente ha desarrollado con tanto éxito en la Facultad de Medicina.

En este orden de ideas, y de acuerdo con las adquisiciones modernas de la química biológica, presenta un interés particular la teoría enunciada por Thomas y Fialip, que parten de la composición de la célula, que tendría una parte albuminoidea de acción reductora y la otra por moléculas de un metal oxidante, ligado a los albuminoides y a los lipoides. Si se admite la hipótesis de que la composición del protoplasma es una combinación de materias proteicas y lipoides, de poder reductor por una parte y los metales, de poder oxidante por otra, el estado normal consistiría en el equilibrio de estos dos poderes contrarios. El estado canceroso, sería la consecuencia de la ruptura del equilibrio entre la oxidación y la reducción. En apoyo de este concepto, los autores se refieren a argumentos de orden químico, tales como las cantidades anormales que los tejidos cancerosos encierran, de glucosa, lipoides, las catalasas, raras en el tejido canceroso y las

intoxicaciones prolongadas por agentes oxidantes, que intervienen en función de las dosis a las cuales han sido empleadas. El arsénico y el radio a débil dosis y prolongada durante largo tiempo, exaltan el poder reductor de la célula y pueden llegar a una ruptura del equilibrio y como sucede con el radio en particular, que en dosis suficientes, es susceptible de dar un latigazo a la evolución maligna. En el mismo sentido, se interpreta el cáncer experimental de alquitrán, en el cual la causa primera sería debida a la acción de los fenoles que terminan por inhibir el poder oxidante y que permite, con motivo de un traumatismo banal, la ruptura del equilibrio óxido-reductor. El potasio, cuya presencia es grande en los tejidos neoplásicos, al saturar la valencia libre, dando un grupo albúmina metal, con un poder reductor desde entonces no equilibrado por un poder oxidante. Y por último, tenemos el poder de reducción, aumentado en el suero de los cancerosos.

III

Desde 1916 (1) he orientado mis investigaciones, estudiando en su faz química, las modificaciones del terreno, habiendo obtenido resultados que nos afirman en este concepto.

Atribuyo la mayor importancia a la preparación del terreno, al que debe agregarse para el desarrollo de la neoplasia, un factor ocasional. En apoyo de ello, dejando de lado los factores bien conocidos de la edad y la predilección por ciertas localizaciones, especialmente de acuerdo con el funcionalismo de ciertos órganos, debemos mencionar, como un elemento de valor, la influencia que la raza tiene en el desarrollo de este proceso, hecho confirmado, no sólo en lo que a la oncología humana se refiere, sino también a la animal.

Los trabajos de Hoffman, en Estados Unidos y de Ellis Barker en Inglaterra y de Otto Peiper en Alemania señalan la rareza con que los tumores malignos, en su verdadera expresión anátomo-patológica, se desarrollan en las tribus salvajes, tanto en los indios de América, como en los negros de Africa.

En relación con este factor, señalamos una observación común en el país y que los clínicos confirman diariamente, y es la frecuencia con que el cáncer ataca a determinadas razas, especialmente a

(1) A. H. Rorro. — El cáncer experimental. — Su diagnóstico y tratamiento. — *Anales de la Facultad de Medicina de Montevideo*. — Diciembre, 1916.

los vascos, a tal punto que no es aventurado decir que ellos son los que rinden mayor tributo a esta enfermedad. Otro tanto se puede decir de otra raza, vinculada etnológicamente y por costumbres: la irlandesa, seriamente castigada por los tumores malignos. Es esto debido a un factor puramente racial, o va involucrado en ello condiciones que dependen de factores del *modus vivendi*, en el que tendría su mayor importancia el sistema de nutrición?

Con estos hechos de observación humana, pueden relacionarse lo que sucede en los animales y que adquiere el carácter de resultados experimentales. Se sabe lo exigente que es con la especificidad animal, la célula neoplásica para el desarrollo ulterior, en la que es suficiente la modificación de raza, y a veces de criadero, para detener su desarrollo. Pero en condiciones iguales, tanto de especie como de raza, se observa que si se cambia de medio, el porcentaje de tumores que desarrollan se modifica también. Es así, que desde las primeras investigaciones efectuadas en las ratas, se desprende, no sólo la existencia de un factor individual, sino aun de raza y familia, y se observaba, que los tumores de laucha desarrollados en Berlín, producían con dificultad tumores en las lauchas criadas en Copenhague, resultados éstos de las comprobaciones hechas por Jensen, Ehrlich, Baschford, etc. Además existe este otro hecho mucho más interesante, señalado por Yanovics y es el que se refiere a las lauchas berlinesas mantenidas en Copenhague, y que por una especie de adaptación, iban presentando campo propicio para el desarrollo del tumor de este país, perdiendo consecutivamente su receptividad para el tumor de Berlín. Otro tanto ha sucedido con mis tumores de rata, los que habiéndose remitido, respondiendo a pedidos de Río de Janeiro y Montevideo y al tratar de efectuarse pasajes en las razas de esos países, se encontraron resistencias, a pesar de tratarse de neoplasias que desarrollan aquí el 100 por 100. ¿Es ésto dependencia solamente de un factor racial, o debemos ver en el fenómeno modificaciones del terreno en el nuevo medio de vida?

Las interesantes experiencias de Haaland, confirmadas por Es-tard y Yanovics, dan razón de este último factor. Modificando la nutrición de los animales, llegan a modificar también el porcentaje de tumores desarrollados. Es a este factor terreno, producto de un metabolismo alterado, confundido con una predisposición individual que es la causa de que no todos los sujetos sometidos a intoxicaciones o irritaciones crónicas, como el tabaco, el alcohol, desarrollen un epiteloma? ¿Es también por ello que el traumatismo o una úlcera gástrica no es seguida siempre por el desarrollo de un tumor maligno? Por otra parte el fenómeno se reproduce en los animales sometidos a la

aplicación del alquitrán, en las que no sólo hay diferencias individuales, sino de raza por próximas que ellas sean.

Las experiencias de inmunización, haciendo refractario el animal para el desarrollo del tumor, apoyan suficientemente la importancia que tiene este factor. En experiencias que he comunicado anteriormente, he podido vencer el factor raza, llegando a hacer el terreno de la rata negra común, que se mostraba siempre refractario para el tumor que tenía en estudio y hacerlo receptivo, desarrollando sólo tumores después que éstos habían hecho numerosos pasajes por ratas mestizas, fenómeno que interpretamos por un acostumbramiento gradual al nuevo terreno (2).

Es en este sentido que he orientado las experiencias, creyendo que estas investigaciones han entrado de lleno en el dominio de la investigación química. Mucho se debe esperar en el conocimiento del metabolismo de ciertas sustancias en la explicación del fenómeno del crecimiento anormal de la célula. La experimentación con el cáncer transmisible en los animales, ha facilitado enormemente estas investigaciones, permitiendo estudiar la relación que guarda la dietética con la evolución de la neoplasia. Las determinaciones que comuniqué en 1916 señalando un contenido mucho mayor de lipoides y entre éstos la colesantina en el tumor neoplásico sobre los tejidos normales, han sido punto de partida de experimentaciones que señalan que hay en la alteración morfológica de la célula, un trastorno funcional referible a un trastorno nutritivo, que si no es causa, acentúa por lo menos el crecimiento de la célula. De acuerdo con ello he dedicado preferente atención al mejor conocimiento de las grasas, al estudio de los lipoides y entre los cuales, la colesantina, que se halla siempre formando parte integrante de todo tejido, aun en los casos en la que toda ingestión de esta sustancia ha sido suprimida, como lo ha observado Morazzi en los animales invernantes o en la inanición provocada, lo que da enorme valor al origen endógeno de la misma.

IV

La colesantina es un elemento que contribuye a la neoformación de células y de las determinaciones de Ellis y Gardner (3), se des-

(2) A. H. ROFFO. — Sur le rôle du facteur race dans la transmission du cancer chez le rat. — Transformation progressive d'une race non réceptive en réceptive. — *Comp. rend. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920.

(3) ELLIS A. GARDNER. — The origin and destiny of Cholesterol in the animal organism. — *Journ. of Chem. Soc.*, 1912.

prende que esta sustancia va disminuyendo en la yema del huevo a medida que el embrión se desarrolla. Si bien esta acción sobre la proliferación celular, no ha sido bien especificada aun, de las experiencias de estos autores pareciera desprenderse que se trata más bien de una función de nutrición, tan aumentada en los procesos de neoformación, como en el caso de los neoplasmas.

La colesantina se encuentra en toda célula en actividad vital, y si bien su tenor en la sangre es constante en el estado normal, él varía en ciertos procesos, hallándose en mayor cantidad, en determinados tejidos, como consecuencia del metabolismo de este cuerpo, alterado en ciertos procesos (embarazo, infecciones).

Es teniendo presente estas condiciones, así como los caracteres biológicos que distinguen al tejido neoplásico, tanto en lo que al crecimiento como a su biología se refiere, que he iniciado una investigación metódica sobre este cuerpo en los tumores de rata, que son los que reúnen condiciones de una buena experimentación, por ser siempre del mismo tipo histológico, la misma especie o familia animal, y estar sometidos a una misma alimentación y género de vida. Las determinaciones efectuadas han sido:

1.º) en la sangre:

El suero de las ratas normales ha dado cifras que varían de 0.370 gr. 0/00, a 1.33, resultados que guardan una relación con la edad y que refiriendo ésta para mejor control al peso, nos da los siguientes números:

Rata joven de	61 grs.	0.375	0/00
" "	81 "	0.370	"
" "	87 "	0.55	"
" "	90 "	0.549	"
" "	97 "	0.65	"
" adulta "	106 "	0.615	"
" "	136 "	0.78	"
" "	145 "	0.72	"
" viejas "	150 "	0.90	"
" "	160 "	0.85	"
" "	171 "	0.90	"
" "	180 "	0.83	"
" "	211 "	0.98	"
" "	258 "	1.33	"

2.º) En los tejidos de los tumores:

El resultado obtenido en 30 determinaciones de sarcomas y carcinomas, demuestran un aumento de colesrerina a veces considerable, cifras que están siempre por encima de 3 grs. % de materia seca. En algunos tumores ha llegado a 9.306 y a 10.309 grs. %. En los resultados obtenidos, se observa también que las cifras más altas corresponden a tumores jóvenes, es decir, en pleno crecimiento, sin zonas de necrosis. Esta variación de la fijación de la colesrerina, depende también del estado vital del tejido, como lo evidencian los siguientes dosajes, efectuados en dos tumores de mucho desarrollo (35 días):

Tumor	Peso	Colesrerina del tejido periférico	Colesrerina del tejido necrosado
Sarcoma.....	42.531	4.30 % m. s.	3.80 % m. s.
Carcinoma.....	39.511	5.80 » »	4.11 » »

3.º) Relación entre el contenido de colesrerina del animal normal y de animal portador de tumor.

a) Contenido según edad.

Rata normal de	82.25 grs.		0.6324 % m. s.
" "	" 116	"	0.6584 " " "
" "	" 180	"	1.105 " " "

b) Ratas que han desarrollado tumor.

Rata de	120 grs.		1.515 grs. % m. s.
" "	" 172	"	1.177 " " " "
" "	" 195	"	1.255 " " " "
" "	" 202	"	1.444 " " " "
" "	" 205	"	1.255 " " " "

Se aprecia en estos resultados, no sólo un aumento de colesrerina en la rata normal según la edad, sino que este es más acentuado en aquella que ha desarrollado tumor.

Si las determinaciones se hacen comparativamente entre el tumor y el animal en que se ha desarrollado, se observa que el contenido de los tejidos de aquél, es mucho mayor. Así por ejemplo, un carcinoma que contiene 3.44 grs. %, el animal correspondiente tiene 1.134 %.

En 14 determinaciones paralelamente efectuadas, se tiene una relación de 1.106 para el animal, por 3.011 en el tumor.

Ahora bien, si efectuando determinaciones semejantes en órganos que como la cápsula suprarrenal son supuestos colesrerinógenos, las cifras obtenidas guardan relación con las anteriores:

Cápsulas supra-renales de ratas normales		Cápsulas supra-renales de ratas con tumor
Peso	Colesrerina	
86	0.95 % m. s.	Con sarcoma = 1.1 % m. s.
99	0.69 » »	» » = 1.08 » »
108	0.63 » »	» » = 0.92 » »
107	0.83 » »	Carcinoma = 1.1 » »
167	0.72 » »	
167	0.71 » »	

Por otra parte, en relación con estos resultados que señalan, no solamente una mayor fijación de la colesrerina en el tejido neoplásico sino que su metabolismo se halla regularizado por la mayor actividad de los órganos colesrerinógenos, es posible modificar el terreno para el desarrollo de la neoplasia, modificando el contenido en colesrerina? Es en este sentido, que hemos efectuado experiencias sometiendo a los animales a una dieta descolesrerinada, alimentándolos con maíz en el que se ha extraído esta substancia. Se aprecia en los resultados obtenidos con la supresión de una fuente de colesrerina, la exógena, una influencia sobre el crecimiento de los tejidos del animal y especialmente en el tumor. Es así, que si el tumor al iniciarse la dieta había iniciado su crecimiento, su desarrollo es raquítico y en igualdad de tiempo no alcanza a la mitad del volumen de los controles, fenómeno que se acentúa si la dieta se había iniciado días antes del trasplante.

¿Qué relación guardan estos resultados con la oncología humana?

Tenemos en primer término, que en el suero normal o de enfermos no neoplásicos, el porcentaje de colesrerina es más bajo que el del suero de neoplásico; en el primero se encuentra siempre por debajo de 1 y en el segundo, pasa esta cifra llegando a 1.5 y a veces 2 grs. por mil.

DETERMINACIONES EN SUEROS NO NEOPLÁSICOS

Ficha	Diagnóstico	Colesterina o/oo	$R \frac{C}{L}$
Normal		0.680	0.647
2073	Uretritis crónica...	0.622	0.540
3072	Eczema cara...	0.668	0.607
2641	Sífilis...	0.776	0.597
3097	Anexitis...	0.781	0.578
2896	Linfogranuloma...	0.720	0.514
3123	Corea...	0.50	0.588
3130	Eritema pernio...	0.95	0.730
		1.07	0.891

DETERMINACIONES EN SUEROS DE ENFERMOS NEOPLÁSICOS

Ficha	Diagnóstico	Tiempo de evolución	Colesterina o/oo	$R \frac{C}{L}$
3077	Epitelioma surco nasogeniano....	8 años	1.892	1.401
3085	» labio inferior..	2 »	2	1.333
3096	Carcinoma matriz...	6 meses	0.800	0.941
3094	» lengua...	1 mes	0.533	0.444
2411	» mama...	7 meses	0.961	0.800
2897	» »	7 años	2.62	1.690
2184	» »	2 »	1.51	1.118
3075	Epitelioma nariz...	2 meses	1.30	1.690
2376	Carcinoma matriz...	6 »	1.500	1.034
2869	» velo paladar...	3 »	1.428	1.190
726	» mejilla...	20 »	1.35	1.772
1558	Sarcoma axila...	5 »	0.833	1.041
2906	Carcinoma mama...	4 »	1.111	0.822
2961	» cara...	6 »	1.615	1.292
1211	Sarcoma brazo...	8 días	1	0.625
847	Carcinoma mama...	5 años	1.857	1.614
2678	» »	5 meses	1.153	0.854
3131	» »	1 año	1.812	1.294
3126	» labio...	5 meses	1.85	1.577
3121	» »	1 año	1.173	1.076
2989	» estómago...	2 años	1.615	

Se aprecia también que la relación colessterina-lecitina se encuentra muy aumentada, llegando a ser el doble y a veces el triple de lo normal.

¿Estas modificaciones del terreno se encuentran también en los estados precancerosos? Mis investigaciones se han dirigido en dos sentidos; en el suero primero y después en los tejidos.

Se sabe ya que el poder oncolítico de un suero aumentado en la niñez, disminuye con la edad, llegando a la vejez a ser casi nulo.

Hemos visto que el contenido de colessterina, aumenta en el suero de la rata con la edad. De las determinaciones efectuadas en el hombre, se desprende un fenómeno análogo, si bien no tan acentuado. Se ha determinado el contenido de colessterina en personas en edad de cáncer, por encima de 50 años, y la cifra que normalmente oscila alrededor de 0.90 por 100, asciende a más de 1 gr. como puede apreciarse en seguida:

Edad	o/oo de colessterina en el suero
50 años	1.61
65 »	1.69
69 »	1.59
68 »	1.44
72 »	1.31
73 »	1.48
80 »	1.42
83 »	1.42
90 »	1.—

De mayor interés, son los resultados que han proporcionado las determinaciones efectuadas en tejidos, con lesiones precancerosas, que desarrolladas en la piel, han podido ser cotejadas en determinaciones en la piel sana del mismo individuo.

Una primera serie comprende las determinaciones efectuadas en piel de sujetos no neoplásicos, y en una segunda serie, en aquellos enfermos con lesiones precancerosas o cancerosas definidas.

a) Determinación de colessterina en la piel de enfermos no neoplásicos.

ENFERMEDAD.

Peritonitis. — 22 años, piel del abdomen	0.535 % m. s.
Tuberculosis crónica, 23 años, piel del abdomen ...	0.138 „ „
Tuberculosis pulmonar, 45 años, piel del abdomen.	0.323 „ „
Tuberculosis pulmonar, 25 años, piel del abdomen.	0.241 „ „
Litiasis biliar, 75 años, piel del abdomen	0.174 „ „
Bronconeumonía, piel del abdomen	0.158 „ „
Tuberculosis pulmonar, piel del abdomen	0.396 „ „
Cardíaco, 32 años, piel del abdomen	0.228 „ „
Tuberculosis pulmonar, 52 años, piel del abdomen.	0.372 „ „
Tuberculosis pulmonar, 45 años, piel del abdomen.	0.128 „ „
Tuberculosis pulmonar, 35 años, piel del abdomen.	0.191 „ „
Tuberculosis pulmonar, 33 años, piel del abdomen.	0.431 „ „
Tuberculosis pulmonar, 38 años, piel del abdomen.	0.268 „ „
Leucemia, 34 años, piel del abdomen	0.111 „ „
Aneurisma aorta, 54 años, piel del abdomen	0.814 „ „
Litiasis biliar, 49 años, piel del abdomen	0.351 „ „

b) En la determinación de la colessterina en la piel con lesiones pre-cancerosas, y cancerosas definidas, en relación con la piel sana en el enfermo N° 2237, con un epiteloma de nariz, de 80 años de edad, se obtiene:

Región de la piel	Colessterina o/o m. s.
Piel sana de abdomen	0.44 gr.
» » » la mano	0.54 „
» queratósica de oreja izquierda. Lesión pre-cancerosa...	0.73 „
» de la lesión ulcerosa de nariz	0.60 gr.

Enfermo N° 6535. — 60 años.

	Colessterina % m. s.
Piel sana	0.49 gr. F.
Piel epitelomatosa	1.10 „

Enferma N° 6193.

	Colessterina % m. s.
Piel sana	0.39 gr. F.
Piel epitelomatosa	0.74 „

Enferma N° 1585. — Lesiones pre-epiteliomasas múltiples.

	Colessterina % m. s.
Piel sana	0.33 gr. F.
Piel lesiones pre-epiteliomasas.	0.79 „

Enfermo N° 3559. — Lesiones pre-epiteliomasas múltiples.

	Colessterina % m. s.
Piel sana	0.45 gr.
Piel epitelomatosa	0.79 „

Enfermo N° 2754. —

	Colessterina % m. s.
Piel sana	0.30 gr.
Piel pre-epitelomatosa	0.63 „

Enfermo N° 2849. — Lesiones epitelomasas de la cara.

	Colessterina % m. s.
Piel sana abdomen	0.29 gr.
Piel sana pierna	0.39 „
Piel lesión epitelomatosa	1.01 „

Enfermo N° 6493. — Epiteloma párpado inferior (tamaño grano de maíz).

Piel sana de cara	0.52 gr. % m. s.
Piel enferma epiteloma	1.22 „

Enfermo N° 6658. — 82 años. Lesión pre-epitelomatosa.

Piel sana de cara	0.51 gr. % m. s.
Piel enferma	1.80 „

Enferma N° 845. — 59 años. Epiteloma de nariz.

Piel sana de cara	0.68 gr. % m. s.
Piel enferma	1.61 „

Enferma N° 6160. — 53 años. Lesión pre-epitelomatosa nariz noevica.

Enfermo N° 5740. — 80 años.

Epiteloma del labio	1.46 gr. % m. s.
---------------------------	------------------

Enfermo N° 4782. — 65 años.

Epitelioma región mastoidea.. 1.83 gr. % m. s.

Enfermo N° 6015. — 70 años.

Epitelioma labio 2.07 gr. % m. s.

Enfermo N° 6248. —

Queloides 0.23 gr. % m. s.

Enfermo N° 4363. —

Piel sana alrededor del tumor. 0.486 gr. % m. s.

Tejido alrededor del tumor... 2.120 „

Tumor 2 „

Enferma N° 3635. —

Piel sana 0.386 gr. % m. s.

Tejido del tumor 1.454 „

Enfermo N° 4602. —

Piel sana 0.215 gr. % m. s.

Piel pre-epiteliomatosa 1.686 „

Enfermo N° 299. — Este enfermo presenta el mayor interés, pues presentaba lesiones múltiples pre-epiteliomatosas en la mano y cara, una de las que había evolucionado como un epitelioma, y en el cual se han podido hacer determinaciones múltiples de acuerdo con las lesiones epidérmicas.

Piel sana del abdomen 0.263 gr. % m. s.

„ „ de frente 0.454 „

„ con lesiones queratodérmicas del antebrazo 0.412 „

Piel con lesiones queratodérmicas de la muñeca derecha.. 0.521 „

Piel de la muñeca izquierda, con lesiones queratodérmicas muy pronunciadas 0.922 „

Piel con lesión epiteliomatosa.. 1.941 „

*

* *

Existe por otra parte, una observación que se relaciona con esta cuestión, y es la que se refiere a la evolución del embarazo, que produce en el organismo un estado fisiológico, con reacciones biológicas semejantes a las que provocan los tumores (Abderhalden, meiotagmina, etc.).

Los trabajos de Blumental, de Neuberg, de Petri, estudiando los primeros la catalasa en los tejidos embrionarios y neoplásicos, y el último la autólisis que se produce en ambos tejidos, señalan resultados análogos. Y si a esto se agrega los resultados obtenidos con la reacción de Abderhalden, con la tensión superficial y sobre todo con la reacción de Freund y Kaminer, que según las determinaciones efectuadas por Krauss, el suero normal sería citolítico para las células embrionarias como lo es para las células cancerosas, poder que pierde el suero fetal, dan a este paralelismo una gran importancia biológica.

Por otra parte las observaciones de Johnson (4) hablan en favor de esta relación. Es así que con el embarazo no sólo la evolución del cáncer de mama se hace extraordinariamente rápida, sino que también es más frecuente la bilateralidad de las lesiones. Vignes (5) señala un hecho de mayor importancia aun, al mencionar que si después de la extirpación de un cáncer de mama sobreviene un embarazo ello es causa frecuente de la aparición de un tumor en otro seno. Hay en esto indudablemente una relación con el terreno, modificado químicamente y que como se ve más adelante, con una hipercolesterinemia muy marcada.

Esta afinidad biológica entre los dos procesos de crecimiento y en cuya interpretación, es posible considerar el embrión y los fenómenos que su desarrollo da lugar, a un tumor en lo que se refiere a lo menos en las reacciones que provoca. El quimismo de estos tejidos que tanta similitud guardan, ya en su composición mineral (potasio y zinc), o en su composición lipídica, la colessterina, apoyan este modo de ver.

Es, en lo que a la colessterina se refiere, que se producen también resultados semejantes. Las determinaciones efectuadas en el suero de embarazadas, señalan una hipercolesterinemia, cuyo porcentaje guarda relación con el desarrollo del feto, como puede apreciarse en las siguientes cifras:

(4) JOHNSON R. — Some clinical aspects of carcinoma of the breast. — Brit Journ. of Surgery. Ap. 1925.

(5) VIGNES H. — Evolution du cancer du rein pendant la gestacion. — Progrès Medical. N.° 33. 1923.

Duración del embarazo	Colesterina o/oo en el suero	Duración del embarazo	Colesterina o/oo en el suero
2 meses	0.692		
3 »	0.812	9 »	2
5 »	0.666	9 »	2.285
5 »	0.736	9 »	2.875
6 »	1.444	9 »	2.08
7 »	1.600	a término	2.928
8 »	1.800	»	2.444
8 »	2	»	3
8 »	2.400	»	2.454
8 »	2.800	»	2.738
9 »	2.833	»	2.692

Como un complemento de estos resultados, se han efectuado determinaciones en la cápsula suprarrenal de la rata embarazada, encontrando que este órgano de función colessterinógena, reacciona en forma semejante, que cuando hay desarrollo de tumor.

Determinaciones en cápsula suprarrenal:

COLESTERINA TOTAL EN LA CÁPSULA SUPRARRENAL DE LA RATA BLANCA, POR 100 DE MATERIA SECA

Ratas normales		Ratas con tumor	Ratas embarazadas	
Peso	Colesterina % de materia seca	Colesterina % de materia seca	Peso	Colesterina % de materia seca
167 gr.	0.71 gr.	Sarc. peritoneal 1.1 gr.	120 gr.	1.150 gr.
86 »	0.95 »	Carcinoma.... 1.1 »	210 »	1.125 »
107 »	0.83 »	Sarcoma 0.92 »	205 »	1.255 »
99 »	0.69 »	» 1.08 »	240 »	1.151 »
152 »	0.33 »		195 »	1.134 »
167 »	0.72 »		160 »	1.202 »
108 »	0.63 »		202 »	1.441 »
178 »	1.42 »		200 »	1.393 »
150 »	1.23 »		172 »	1.177 »
176 »	1.2 »		211 »	1.181 »
145 »	1.2 »		116 »	0.6584 »
151 »	1.3 »		146 »	0.835 »

Los resultados anteriores señalan una modificación del contenido en colessterina en el tereno, en cuanto se relaciona con una neoformación del tejido, modificación que no sólo es evidenciada en el cáncer experimental de las ratas, sino también en el humano, en el que encontramos un estado de hipercolesterinemia en el suero, así como también un aumento en los tejidos en evolución maligna. Este aumento se señala ya en la simple alteración hiperqueratósica, cuyo contenido está aumentado en relación con el de la piel normal, contenido que puede, como en el último caso anotado, alcanzar cifras muy altas que van de 0,262 a 1,041 %.

He citado la particular predisposición de dos razas — vascos e irlandeses — para el desarrollo de tumores malignos, localizados en el tubo digestivo y más comúnmente en la piel. Se conoce el género de alimentación con que se nutren estos sujetos, nutrición a base de huevos, tocino, carne de cerdo y preparados con sangre y carne de cerdo, lo que equivale a una nutrición muy cargada en colessterina. Determinaciones efectuadas en el Instituto en distintos menús, vegetarianos puros, vegetocarnívoros y carnívoros puros, dan a este último las cifras más elevadas de colessterina, y de entre éstos especialmente aquel que guardan las razas de referencia. Esta colessterina de origen exógeno modifica el terreno y da esta predisposición racial?

Lo poco frecuentes que son los tumores en los sujetos de vida salvaje, indios y negros, vida que supone una alimentación frugal, especialmente vegetariana; las modificaciones que el cáncer transplantable experimenta con los cambios de nutrición, dan a este factor una importancia nada despreciable, si no en la producción del proceso, por lo menos en su desarrollo.

Se conoce en biología la importancia que tiene la relación de los cuerpos, colessterina-lecitina, de propiedades antagónicas, en la regulación de las funciones y que según Strauss, sería ella la reguladora del equilibrio orgánico. En trabajos anteriores he señalado la acción destructiva de los rayos Röntgen sobre la molécula de colessterina, tanto in vivo, como in vitro. No residirá en ello la acción terapéutica de estos rayos?

Si se tiene presente la importancia que las investigaciones modernas asignan, en los fenómenos biológicos, a los lipoides, que son los que regulan el proceso celular, se desprende fácilmente que al destruirse la molécula de una substancia que se encuentra siempre en el protoplasma y en mayor cantidad en la célula neoplásica, su

vitalidad tiene que estar profundamente alterada. Tanto más es ello de tenerse en cuenta, si se acepta la importancia que recientes trabajos asignan a la colesrerina, especialmente en lo que se relaciona con el crecimiento de los tejidos vivos, como reguladora de la permeabilidad celular. La membrana celular es considerada actualmente como un coloide, que tiene bajo su función los intercambios con el medio. Por otra parte, tratándose de una substancia tenso-activa la que nos ocupa, ello guarda relación con el teorema de Gibbs, que hace depender la concentración o acumulación de una substancia de la superficie, de su tensión superficial. Es de la semipermeabilidad de esta membrana, que depende el metabolismo, y en la cual, de acuerdo con las ideas de Overton, priman los lipoides, aceptándose en general, que es la colesrerina la que predomina.

Los trabajos de Mayer y Schaeffer, traen una importante contribución en el mejor conocimiento de los fenómenos de permeabilidad celular y en los que la principal acción, estaría reservada a la colesrerina. En una mezcla de lipoides y colesrerina, ésta actúa para hacer penetrables a los lipoides por el agua y en consecuencia, para disminuir la restricción a la imbibición que determinan los ácidos grasos. Cuanto más colesrerina contenga una gelalbuminoide mezclado con lipóide, más se imbibirá de agua.

Cuanta relación hay en esto con lo que se observa en los tejidos y especialmente en los neoplásicos. Es así que se debe interpretar el enorme porcentaje de agua encontrado en los tumores de rata tan ricos en colesrerina, que alcanza al 80 y en algunos casos al 90 %, porcentaje que solo alcanzan los tejidos embrionarios, que tanta relación bioquímica tienen con los neoplásicos. Es así también que en las determinaciones efectuadas en los fetos de rata, el contenido de agua guarda relación con la evolución de los mismos, en forma semejante a lo que sucede con el tejido neoplásico, cuyo contenido en agua, tanto en uno como en otro, es superior al de la rata adulta, estableciéndose así, una vez más una relación bioquímica entre tejidos de caracteres tan semejantes, a lo menos en lo que a su poder vegetativo se refiere (6).

(6) A. H. ROSE. — La relación lipocítica y el contenido en agua de los tejidos normales y neoplásicos. — Boletín Inst. Méd. Exp. — N.º V. 1925.

V

Como vinculado a este factor debo mencionar lo que se refiere al valor que desempeña el equilibrio de ciertos iones que, como el potasio y calcio con propiedades antagónicas, son reguladores de los fenómenos biológicos y en especial de aquellos que se relacionan con el crecimiento y desarrollo de los tejidos. Las investigaciones de Popoff (7) evidencian la función estimulante que el potasio tiene sobre las células embrionarias de las semillas en crecimiento. Esta acción ha sido también señalada en los procesos neoplásicos por Wolf (8), que consigue en sus experiencias retardar o acelerar el desarrollo de los injertos neoplásicos, según que actúe el calcio o potasio; opinando Rohdenberg y Krehbiel que en el desarrollo de los tumores hay una relación estrecha con el contenido potásico. Por otra parte las determinaciones de Theis y Benedik han señalado el aumento de potasio (9) en la sangre de los cancerosos con tumores a evolución rápida, opinando Renaud que un exceso de este metal o un déficit de Ca, produciría la predisposición para los tumores malignos.

Las determinaciones que hemos efectuado en tejidos adultos, embrionarios y neoplásicos señalan la relación que el metal tiene con el tejido en crecimiento. Para ello se han tomado tumores transplantables de rata, la única vía con que se puede relacionar el crecimiento con el contenido iónico, ya que el desarrollo de estos tumores responden a un ciclo evolutivo determinado.

Las determinaciones en tejidos normales, han dado las siguientes cifras:

- a) Tejido embrionario. (Embriones de pollo).

(7) POPOFF. — Les stimulants cellulaires et le fondement théorique de son action. *Journ. de Phys. et Path.* 1923.

(8) WOLF: *L'action biologique de l'ion calcium*. "An. de Biol.", 1923.

(9) THEIS Y BENEDICT: *Inorganic constituents of the serum in cancer*. "The Journ. of Cancer Research", 1924.

DETERMINACIONES DE K EN TEJIDOS NORMALES

Edad	Peso seco Gramos	K total Gramos	K p. 100 Gramos
Huevo sin fecundar.....	11.10	0.0390	0.35
9 días	0.40	0.0132	3.30
14 »	2.60	0.0354	1.37
17 »	3.95	0.03668	0.98
18 »	4.40	0.0395	0.86

CUADRO II

b) Pollos de distintas edades.

Edad	Peso seco Gramos	K total Gramos	K p. 100 Gramos
10 horas	11	0.0686	0.62
5 días	5.30	0.0328	0.62
9 »	8.70	0.0590	0.165
18 »	9.40	0.0564	0.96

CUADRO III

c) De rata blanca normal.

Fetos a término.....	5.70	0.808	0.0492	1.04
5 días	35.50	13.800	0.1416	1.02
20 »	89.14	39.82	0.2610	0.65
30 »	101	27.50	0.1854	0.66
2 meses	108.20	34	0.1920	0.567
3 »	106.35	31.35	0.1780	0.58
4 »	119.60	70.40	0.3960	0.56
4 » 15 días.....	144	49.90	0.2794	0.56
7 »	173	60.41	0.3124	0.51
5 »	226	82	0.4224	0.51
6 »	150	66.80	0.3680	0.54

CUADRO IV

d) Determinaciones en tejidos neoplásicos. (Sarcoma fusocelular).

Días de desarrollo	Peso húmeda Gramos	M. s. Gramos	K total Gramos	K p. 100 Gramos
12	6.500	1.350	0.0158	1.17
24	29.20	4.25	0.0448	1.05
30	12.400	2.100	0.0238	1.13
37	7.500	1.400	0.01398	1
38	12.80	2.200	0.0234	1.06
36	20	3.200	0.0310	0.96

CUADRO V

e) Determinaciones en el tumor y rata correspondiente. (Sarcoma fusocelular).

Tejidos	Evolución del tumor en días	Peso fresco Gramos	Peso m. s. Gramos	K total Gramos	K p. 100 Gramos
1.—Tumor	36	20	3.205	0.0310	0.96
Rata	—	226	81	0.4224	0.51
2.—Tumor	38	12.80	2.200	0.0234	1.06
Rata	—	119.900	70.400	0.3960	0.56
3.—Tumor	30	12.400	2.100	0.0238	1.13
Rata	—	111	34.80	0.2186	0.62
4.—Tumor	50	30.75	4.25	0.00522	1.12
Rata	—	119.800	35.80	0.1370	0.40
5.—Tumor	37	7.500	1.400	0.01398	1
Rata	—	166.00	52.60	0.3016	0.58
6.—Tumor	12	6.500	1.350	0.0158	1.17
Rata	—	144.90	66.80	0.3680	0.54
7.—Tumor	24	29.20	4.25	0.0448	1.05
Rata	—	150.60	49.90	0.2794	0.56

CUADRO VI

f) Determinaciones en tumor y rata total portadora del mismo, y pertenecientes a una misma serie injertadas con el mismo material y en la misma fecha. Los animales han sido sacrificados en fechas sucesivas.

Serie ratas 475/11-14-18	Edad tumor Días	Edad rata Meses	Peso fresco Gramos	Peso m. s. Gramos	K total Gramos	K p. 100 Gramos
1.—Tumor.....	20	—	8	1.15	0.00520	0.48
Rata.....	—	4	129.90	36	0.4010	0.52
2.—Tumor....	30	—	20	3.200	0.0310	0.96
Rata.....	—	6	226	82	0.4224	0.51
3.—Tumor.....	40	—	12.80	2.200	0.0234	1.06
Rata.....	—	4	119.900	70.400	0.3690	0.56
4.—Tumor.....	44	—	18.500	3.45	0.0366	1.07
Rata.....	—	5	183	65.700	0.4118	0.62

CUADRO VII

Determinaciones de calcio

a) En ratas con sus correspondientes tumores.

Tejidos	Naturaleza del tumor	Evolución del tumor en días	Peso Gramos	Calcio p. 100 Gramos
492/3.—Tumor.....	Carcinoma	26	2.884	0.25
Rata.....			103.77	0.56
480/15.—Tumor.....	Sarcoma	40	8.174	0.23
Rata.....			152.92	0.49
571/5.—Tumor.....	»	70	6.636	0.124
Rata.....			121.40	0.126
597/14.—Tumor.....	»	40	1.4390	0.147
Rata.....			60.13	0.148
613/4.—Tumor.....	»	27	1.3816	0.146
Rata.....			87.950	0.150
607/6.—Tumor.....	Carcinoma	27	1.3890	0.129
Rata.....			78.200	0.1312

Tejidos	Naturaleza del tumor	Evolución del tumor en días	Peso Grano	Calcio p. 100 Gramos
607/8.—Tumor.....	»	33	3.7448	0.14
Rata.....			85.300	0.14
613/7.—Tumor....	»	26	4.538	0.139
Rata.....			68.300	0.143
613/8.—Tumor.....	»	30	2.8708	0.147
Rata.....			50.300	0.151
611/19.—Tumor.....	Sarcoma	28	2.0840	0.116
Rata.....			74	0.138
616/20.—Tumor.....	»	40	1	0.142
Rata.....			75	0.0143

CUADRO VIII

Determinaciones de calcio

En ratas normales totales.

Peso de la rata Gramos	Ca. p. 100
68.400	0.129
75.400	0.143
85.15	0.147
103.15	0.139
121.40	0.126
149.700	0.141
60.13	0.148
65.23	0.132

CUADRO IX

Determinaciones de calcio

En tumores.

Evolución	Naturaleza	Peso	Ca. p. 100
30	Sarcoma	7.840	0.21
25	»	4.105	0.23
28	»	4.597	0.30
40	»	8.174	0.23
70	»	6.636	0.12

Evolución	Naturaleza	Peso	Ca. p. 100
25	Carcinoma	2.814	0.15
27	"	1.3890	0.129
20	"	1.4592	0.139
30	"	2.8708	0.147

Hay en estas cifras una relación del contenido en potasio con la intensidad del crecimiento del tejido. De 0.35 % que contiene el huevo en reposo, pasa a una cifra grande de 3.30 % en el embrión de 9 días, que coincide con la enorme actividad de crecimiento para ir descendiendo hasta 0.86 % que contiene en los últimos días de vida fetal.

Con el desarrollo de los animales se produce un fenómeno semejante, tanto mayor es la actividad de crecimiento tanto mayor es el porcentaje de potasio. Y si en el feto de rata a término hay 1.04 %, desciende a 1.02 en la rata de 5 días, hasta alcanzar la cifra de 0.54 % en la rata adulta.

Ahora bien, comparando estas cifras con las obtenidas en los tumores, se observa que se pueden relacionar con aquellas de los tejidos embrionarios y cuyo porcentaje se encuentra por encima de un gramo, cifra doble del contenido de la rata total portadora de tumor. Estos resultados se relacionan también con la intensa proliferación que caracteriza a estos tejidos, que pueden ser parangonados una vez más a los tejidos embrionarios, bio y químicamente considerados.

Por otra parte, en los resultados que hemos comunicado anteriormente sobre la conductibilidad de los tejidos normales y neoplásicos (10), se observan variaciones que señalan una conductibilidad específica muy aumentada en estos últimos en relación con el hígado, bazo y sangre normales, modificaciones que atribuimos a la acción de los electrolitos, cuyo contenido varía según los tejidos y especialmente con el K y Ca, fenómeno que estaría de acuerdo con las experiencias de Clowes que señalan una acción (aumento o disminución de la conductibilidad) según se trate del ClK o del ClCa.

En resumen, las investigaciones efectuadas en los tumores y animales normales, demuestran un aumento de potasio en el tejido neoplásico (carcinoma y sarcoma), que alcanza en muchos casos al do-

(10) A. H. RORRO y H. DE GIORGI: La conductibilidad de los tejidos normales y neoplásicos en "Boletín Inst. Med. Exp.", Núm. 3, 1925.

ble del contenido en todo el animal portador. En cuanto a los tejidos normales, su contenido en potasio se encuentra en relación con la intensidad del funcionalismo, alcanzando su máximo en los primeros momentos de la vida embrionaria (cuadro I y III).

En lo que se refiere al calcio, su contenido sufre pocas variantes, tanto en la evolución de los animales normales (cuadro VI), como en los tumores (cuadro VII).

Un fenómeno semejante se observa con otro metal de propiedades bioquímicas semejantes: el zinc.

Encontrado en los tejidos animales y vegetales, su presencia ha sido determinada después de las interesantes investigaciones de Delezenne (1919) y considerado como un constituyente esencialmente celular. Es así también que se ha llegado a demostrar en las experiencias con veneno de serpiente, que el zinc tiene una acción de importancia en los "fenómenos diastásicos que presiden al desdoblamiento de los fosfátidos y núcleos proteidos". Estos venenos son tanto más hemolíticos, cuanto mayor es su contenido de zinc. Por otra parte, las determinaciones de Ghigliotto, Giaya (11) y Vladesco (12), indican más zinc en los tejidos fetales que en los adultos.

Para conocer mejor esta acción del zinc, hemos efectuado varias series de experiencias, primero en animales normales, en fetos y adultos de distintas edades, y después en tumores y en animales portadores de los mismos. Se ha procedido para ello con el método de Bertrand, habiéndose tenido especial cuidado en las determinaciones, de evitar las causas de error ya por la introducción accidental durante las manipulaciones, o ya por el agregado de partículas adheridas en el pelo de los animales, que han sido sometidos todos ellos a un mismo régimen de alimentación y de vida.

En lo que al tejido del tumor se refiere, es posible establecer una gradación con su evolución, observándose entonces que, cuanto más joven es el tumor, tanto más zinc contiene por 100 de materia seca. Por otra parte, estos resultados han recibido una amplia confirmación con las culturas de tejidos in vitro en la que es posible modificar el desarrollo y crecimiento del tejido, tanto normal

(11) S. GIAYA: *Le zinc dans l'organisme humain*. C. R. Sc. Sc. t. LCIV. 1920.

(12) VLADESCO R.: *Recherches sur la presence et le rôle du zinc chez les animaux*. Paris. 1921.

como neoplásico, alterando el contenido iónico del medio, prevaleciendo el potasio en su función de metal biogénico.

He aquí los resultados obtenidos:

a) Determinación del zinc en el desarrollo del embrión.

Edad	Peso seco Gramos	SO ⁴ Zn Gramos	Zn % Gramos
Huevos (yema).....	7.900	0.0035	0.019
Embrión de 9 días.....	0.27	0.008	0.12
» » 11 »	0.61	0.0015	0.098
» » 15 »	4.06	0.0038	0.037
» » 20 »	8.17	0.0055	0.027

b) Zinc de ratas normales según edades.

[Edad	Peso húmedo Gramos	m. s. Gramos	SO ⁴ Zn Gramos	Zn % m. s. Gramos
6 días.....	19.300	3.950	0.0021	0.0224
15 »	42.700	12.400	0.0020	0.0066
30 »	46	13.500	0.0025	0.0076
60 »	83.300	23.800	0.0035	0.0058

c) Zinc en los tumores.

Tiempo de desarrollo	Tipo histológico	Peso húmedo	Peso m. s.	SO ⁴ Zn. grs.	Zn. % m. s.
20 días.	Sarcoma.	49.600	8	0.0048	0.0251
20 »	Carcinoma.	31	4.950	0.0002	0.0166
30 »	Sarcoma	20.300	4	0.0014	0.0146
30 »	Carcinoma	39.700	7.450	0.0020	0.0110
40 »	Sarcoma	36.500	5.200	0.0016	0.0132
40 »	»	24.300	5.500	0.0012	0.0091
50 »	»	26.700	4.900	0.0012	0.0101
50 »	»	27.150	4.900	0.0020	0.0171

d) Zinc en los tumores y animales portadores de los mismos.

TEJIDOS	Peso húmedo	Peso seco	SO ⁴ Zn gramos	Zn. % m.
304/1 .—rata.....	98.400	26.100	0.0050	0.0080
tumor	49.600	8.—	0.0048	0.0251
361/2 .—rata.....	156.300	37.200	0.0068	0.0076
tumor	8.100	1.830	0.0012	0.0001
345/4 .—rata.....	159.700	68.—	0.008	0.0050
tumor	16.—	2.500	0.002	0.0166
401 .—rata.....	79.200	18.600	0.003	0.0067
tumor	12.500	3.200	0.0016	0.0137
351/12.—rata.....	94.600	30.900	0.0045	0.0062
tumor	20.300	4.—	0.0014	0.0145
345/9 .—rata.....	95.500	29.300	0.0043	0.0062
tumor	39.700	7.450	0.0020	0.0110

e) Determinación en tejidos humanos. (Carcinoma de hígado).

FICHA 4753	SO ⁴ Zn gramos	Zn % gramos m. s.
Hígado.....	0.004	0.017
Carcinoma.....	0.006	0.026

Ahora bien. ¿De dónde procede este metal?

Es indudable que la universalidad de su presencia, tanto en los órganos de un mismo sujeto, como para las distintas especies, hace pensar que su mayor parte debe provenir de la ingestión de alimentos animales y vegetales, que lo contienen, algunos de estos últimos, en gran cantidad. Sin embargo, su existencia en órganos que nada tienen que ver con la digestión, como el cerebro y el feto, y más aun el huevo, prueban suficientemente que este metal es un elemento celular, que entra en la composición normal del organismo. Las determinaciones de Delezenne, de Vladesco y Birckner y las nuestras, en los huevos de gallina, señalan su presencia en cantidades que varían de un miligramo a miligramo y cuarto en un huevo, pero todo él fijo tan solo en la yema. La existencia de mayor cantidad de zinc en los tumores que en los tejidos normales, no escapa a la ley de Delezenne; tanto más rico en fosfátidos es el tejido, tanta más cantidad de zinc contiene.

Si a esto se agrega que cuanto más embrionario es el tejido, tanto más zinc encierra, se aprecia fácilmente que hay en estos dos caracteres, semejanzas de composición química y de función con el tejido no es dializable—Christol (13)—, que él debe encontrarse bajo de lecitina, mucha proteína y por una activa proliferación.

Es teniendo presente de que el zinc que se encuentra en estos tejidos no es dializable—Christol (13)—, que debe encontrarse bajo forma de combinación con un compuesto proteico sobre todo, si nos referimos a las investigaciones de Delezenne, al comprobar que los venenos de víboras son tanto más ricos en zinc en relación con las proteínas. Estos resultados establecen entre el potasio y el zinc una relación en lo que se refiere a sus propiedades bioquímicas, sobre todo si nos atenemos a su presencia en los tejidos (14). Si a esto se agrega lo que se relaciona con el papel que juega en los fenómenos diastásicos, es fácil apreciar toda la importancia que en los procesos de crecimiento y muy especialmente en el neoplásico, tiene este metal, motivo por el cual nos hemos interesado en la continuación de los trabajos.

Desde los trabajos de Freund y Kaminer, se conoce el poder citolítico que tiene el suero normal para la célula cancerosa, propiedad de la que carece el suero de cancerosos. Esta acción, atribuida por unos a la presencia de fermentos, no ha sido bien determinada aún.

Es teniendo presente esta condición de los sueros, que hemos efectuado las siguientes experiencias, haciendo actuar previamente sobre el tejido de transplante, distintos sueros en la forma que se enumera más abajo y que en relación con lo anteriormente dicho, son un complemento del estudio de la acción de los iones sobre el desarrollo de los tumores.

EXPERIENCIAS

- 3 animales con suero humano normal solo.
- 3 animales con el mismo suero más potasio.
- 3 animales con el mismo suero más calcio.

Suero humano normal (f. 5854).

Contenido de potasio = 0.023 por ciento.

„ calcio = 0.13 „ „

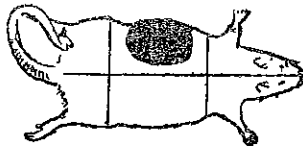
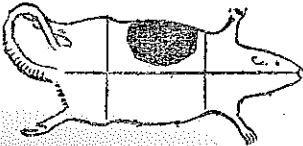
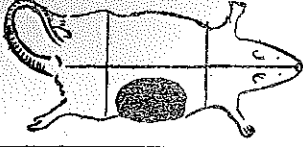
(13) CRISTOL P.: Contribution a l'étude de la physiopathologie du zinc, Montpellier, 1922.

(14) BERTRAND G.: Sur les zincates alcalino-terreux, en C. R. Acad. Sciences, tomo CXV, 1922.

a) Suero solamente.

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado
1	24	Subcutáneo	Nada
2	24	—	—
3	24	—	—

b) Suero más 0.018 por ciento de ClK:

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado Desarrollo del tumor
1	24	Subcutáneo	
2	24	—	
3	24	—	

c) Con suero más Cl²Ca (0.012 %):

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado
1	24	Subcutáneo	Nada
2	24	—	—
3	24	—	—

Suero normal (f. 5744).

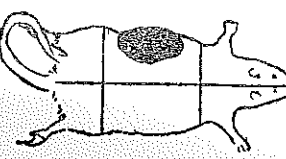
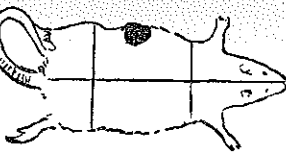
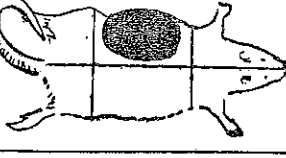
Potasio = 0.029 por ciento

Calcio = 0.014 „ „

a) Suero solamente:

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado
1	24	Subcutáneo	Nada
2	25	—	—
3	24	—	—

b) Con suero más CIK (0.018 %):

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado Desarrollo del tumor
1	24	Subcutáneo	
2	24	—	
3	24	—	

c) Suero más 0.012 por ciento de $Cl^{2}Ca$:

Ratas	Tiempo de acción del suero en la estufa, horas	Transplante	Resultado
1	24	Subcutáneo	Nada
2	24	—	—
3	24	—	—

En los resultados obtenidos en las experiencias anteriores, se aprecia que la acción ejercida por el suero normal, es moderadora del desarrollo del tumor, acción que no es posible asignar a un factor determinado, ya provenga éste de una propiedad enzimática o ya de su composición iónica. Sin embargo, esta última juega un papel importante sobre el crecimiento del tejido.

En el segundo grupo de experiencias, se aprecian resultados que hablan en este sentido; la acción moderadora del suero normal, es destruida por el agregado de CIK; no así por el $Cl^{2}Ca$.

La importancia que este estudio tiene en sus relaciones con los tumores malignos, ha sido motivo de que estudiáramos la acción de los iones K, Ca y Mg sobre el desarrollo de los tejidos cultivados in vitro. En la imposibilidad de poder hacer actuar los iones en estado de libertad, hemos utilizado una sal, la misma en todos los casos, de modo de equiparar la acción del anión, ya que en todos los casos actuaría en la misma forma. Las experiencias se han realizado sobre tejidos normales (corazón de embrión de pollo) y en tejidos neoplásicos (sarcoma fusocelular de rata) con la técnica comunicada en una nota anterior (15). Estos metales se han incorporado al plasma en distintas diluciones, antes de colocar el tejido por desarrollar. Las experiencias se han repetido varias veces y los resultados obtenidos han sido comparables por su regularidad, pudiéndose resumir en la siguiente forma:

CULTURA DE CORAZÓN DE EMBRIÓN DE POLLO DE 10 DÍAS
Plasma y CIK, $Cl^{2}Mg$ y $Cl^{2}Ca$ en difusión por ciento:

Dilución	CIK	$Cl^{2}Mg$	$Cl^{2}Ca$
1 x 50.....	+	0	0 (1)
1 x 100.....	+	0	0
1 x 200.....	+	0	0
1 x 300.....	+	+	0
1 x 400.....	+	+	0
1 x 500.....	+	+	+
1 x 600.....	+	+	+

(1) Los resultados están indicados como sigue:

0. Desarrollo nulo.

++ Desarrollo escaso (zona fértil).

+++ Desarrollo abundante (zona fértil y zona de invasión).

(15) BERTRAND G.: Sur une méthode permettant de doser de tres petites quantités de zinc, en *Bulletin de la Société chimique*. — Tomo III, 1908.

CULTURA DE SARCOMA FUSOCELULAR

Plasma de pollo y de rata con ClK, Cl²Mg y Cl²Ca:

Dilucion	ClK	Cl ² Mg	Cl ² Ca
1 x 50... ..	0	0	0
1 x 100.....	+ +	0	0
1 x 200.....	+ +	+	0
1 x 300.....	+ + +	+ +	0
1 x 400.....	+ + +	+ +	+ +
1 x 500.....	+ + +	+ +	+ +

Estas experiencias se han repetido empleando en lugar de diluciones por ciento, soluciones equimoleculares en relación con el ClK, tomando como tipo ClK al uno por ciento, colocándonos así dentro de un mayor rigorismo experimental. Los resultados son los siguientes:

CULTURA DE CORAZÓN, EMBRIÓN POLLO DE 10 DÍAS

Soluciones equimoleculares. Plasma y ClK, Cl²Ca y Cl²Mg en las siguientes diluciones:

Dilucion	ClK	Cl ² Mg	Cl ² Ca
1 x 50.....	0	0	0
1 x 100.....	+ +	0	0
1 x 200.....	+ + +	0	+ +
1 x 300.....	+ + +	0	+ + +
1 x 400.....	+ + +	0	+ + +
1 x 500.....	+ + +	+ + +	+ + +

CULTURA DE SARCOMA FUSOCELULAR

Plasma de pollo y de rata con ClK, Cl²Ca y Cl²Mg en solución equimolecular:

Dilucion	ClK	Cl ² Mg	Cl ² Ca
1 x 50.....	0	0	0
1 x 100.....	0	0	0
1 x 200.....	+ +	0	0
1 x 300.....	+ + +	0	0
1 x 400.....	+ + +	0	0
1 x 500.....	+ + +	0	0
1 x 600.....	+ + +	0	0
1 x 700.....	+ + +	0	0
1 x 800.....	+ + +	0	0
1 x 900.....	+ + +	0	0
1 x 1000.....	+ + +	+	+ + +

Hay en estas experiencias una correlación en los resultados, tanto con unas como con las otras soluciones empleadas. Es evidente la acción inhibitoria que tiene el magnesio y el calcio sobre el desarrollo de los cultivos. Así como con el ClK, aun en soluciones muy concentradas, se desarrollan las células, con el Cl²Ca y magnesio no hay desarrollo, siendo necesario llegar a diluciones muy altas, especialmente con el calcio, para que haya algún desarrollo. Si comparamos los resultados obtenidos con los tejidos normales y neoplásicos, se ve que estas diferencias se acentúan en favor de estos últimos, que solo desarrollan en diluciones de uno por mil (Cl²Ca) cuando al uno por 500 hace posible el desarrollo del tejido normal (corazón).

Estos resultados no son imputables a la toxicidad de los metales empleados, como sucede con otras sustancias que ya hemos estudiado (16-17), desde el momento que la toxicidad es mucho más acentuada justamente con el ClK, que es el que permite el desarrollo a una mayor concentración, según puede apreciarse en los siguientes resultados:

(16) A. H. Rorro: Acción de los colorantes sobre el desarrollo de las culturas "in vitro" de tej. norm. y neoplásicos. "Prens. Méd. Arg.", 23. 1925.

(17) A. H. Rorro: Acción de los rayos Roentgen sobre corazón cultivado "in vitro". "Prens. Méd. Arg.". 1924.

Dosis mortal por 100 gramos de cobayo:

CIK	0.007 gramos.
Cl ² Ca	0.01 „
Cl ² Mg	0.02 „

Es bien conocida la influencia que tiene el medio sobre el desarrollo de los tejidos *in vitro*, bastando a veces para obtener modificaciones en el crecimiento, alterar la concentración de las soluciones que, modificando su ionismo, produce cambios físico-químicos, que dan de por sí razón del fenómeno. Como un complemento de los resultados obtenidos, estudiando la acción de los iones potasio, calcio y magnesio ya incorporados al plasma en soluciones equimoleculares o ya modificando la composición iónica del líquido de Ringer (18) que entra en la mezcla, he efectuado otras experiencias incorporando los iones directamente en el medio; éstos se encuentran en el plasma del animal que lo provee, obteniendo en esta forma un producto que se aproxima al medio orgánico en que normalmente se desarrollan las células. Los tejidos empleados han sido: corazón de embrión de pollo, como tejido normal y sarcoma fusocelular como tejido neoplásico. He aquí los resultados obtenidos:

CULTURA DE CORAZÓN DE EMBRIÓN DE POLLO DE 5 DÍAS

Medio: Plasma de pollo normal y Ringer.

a) Control.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas (*)
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

(*) La intensidad del desarrollo está indicada así: 0 Crecimiento nulo; + Desarrollo escaso; ++ Desarrollo de zona fértil; +++ Desarrollo de la zona de invasión.

(18) A. H. Rorro: Influencia del medio sobre la actividad del desarrollo de los tejidos normales y neoplásicos "in vitro". Modificación del contenido iónico del líquido de Ringer. "Boletín Inst. Med. Exp.". N. 6. 1925.

b) Medio: plasma de pollo (I) que ha recibido previamente 4 inyecciones de CIK al 2 por ciento, 1 c. c. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

c) Medio: plasma de pollo (III) que ha recibido previamente 4 inyecciones de Cl²Ca al 2 por ciento, 1 c. c. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	0
2.....	3	0
3.....	3	0
4.....	3	0

d) Medio: plasma de pollo que ha recibido previamente 4 inyecciones de Cl²Mg al 2 por ciento, 1 c. c. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	++
2.....	3	++
3.....	3	++
4.....	3	++

Con estos mismos plasmas se efectúan simultáneamente cultivos de sarcoma fusocelular de rata blanca, con la técnica que he descrito en una nota anterior y que desarrolla ordinariamente espléndidas culturas (19).

(19) Rorro A. H.: La cultura de los tejidos neoplásicos "in vitro", en "Boletín del Instituto de Medicina Experimental", núm. 4, 1925.

Control.

Medio: plasma de rata y plasma de pollo normal.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

Medio: plasma de rata y plasma de pollo (I) con ClK.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	++++
3.....	3	++++
4.....	3	++++

Medio: plasma de rata y plasma de pollo (III) con Cl²Ca.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+
2.....	3	0
3.....	3	+
4.....	3	+

Medio: plasma de rata y plasma de pollo (III) con Cl²Mg.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	++
2.....	3	+++
3.....	3	++
4.....	3	++

En las siguientes experiencias se han preparado los animales inyectando los iones K, Ca, y Mg, en combinaciones orgánicas, colocándolos así en condiciones bioquímicas semejantes al estado de los iones en el plasma sanguíneo, siendo los resultados obtenidos comparables a los anteriores.

CULTURA DE CORAZÓN DE EMBRIÓN DE POLLO DE 9 DÍAS

a) Control.

Medio: plasma de pollo normal.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

c) Con plasma de pollo (IV) con 4 inyecciones subcutáneas de peptonato de calcio al 2 por ciento, 1 c. c. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+
2.....	3	+
3.....	3	0
4.....	3	0
5.....	3	0

d) Con plasma de pollo (V) con 4 inyecciones subcutáneas de peptonato de potasio al 2 por ciento, 1 c. c. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++++
2.....	3	+++++
3.....	3	+++++
4.....	3	+++++

CULTURA DE SARCOMA FUSOCELULAR

a) Control; medio plasma de pollo normal y de rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

b) Con plasma de pollo (V) con peptonato de calcio y plasma de rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+ No hay zona de invasion
2.....	3	+ En la zona fértil las células neoformadas son escasas.
3.....	3	+
4.....	3	0
5.....	3	0

c) Con plasma de pollo (VI) con peptonato de potasio y plasma de rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++++
2.....	3	+++++
3.....	3	+++++
4.....	3	+++++
5.....	3	+++++

Como un complemento de las experiencias anteriores, se han practicado culturas con plasma de pollo, en los que se han injectado

los iones K y Ca por vía subcutánea. Los resultados obtenidos, como se aprecia a continuación, son comparables con los anteriores, si bien es cierto que se ha tenido que prolongar la preparación de los animales durante ocho días.

CULTURA DE CORAZÓN DE EMBRIÓN DE POLLO DE 9 DÍAS

255. Medio: plasma de pollo normal.

a) Control.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

b) Medio: plasma de pollo (VII) con 8 inyecciones subcutáneas de Cl^2Ca al 2 por ciento 1 cc. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	0
2.....	3	0
3.....	3	0
4.....	3	0
5.....	3	0
6.....	3	+
7.....	3	++

c) Medio: plasma de pollo (VIII) con 8 inyecciones subcutáneas de CIK al 2 por ciento 1 cc. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++
5.....	3	+++
6.....	3	+++
7.....	3	+++

CULTURA DE SARCOMA FUSOCELULAR

a) Control: medio plasma de pollo normal y rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++
5.....	3	+++
6.....	3	+++
7.....	3	+++

b) Medio: plasma de pollo (VII) con Cl_2Ca y plasma de rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	0
2.....	3	0
3.....	3	0
4.....	3	0
5.....	3	++
6.....	3	++
7.....	3	++

c) Medio: plasma de pollo (VIII) con CIK y plasma de rata.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++
5.....	3	+++
6.....	3	+++
7.....	3	+++

Como en las culturas de sarcoma fusocelular, el medio utilizado es una mezcla de plasma de pollo y de rata, así como la composición iónica del primero influye tanto, como se desprende de los anteriores resultados, hemos efectuado las siguientes experiencias para ver si la composición del segundo influía a su vez, tanto más si se tiene presente la dilución a que éste se emplea.

CULTURA DE SARCOMA FUSOCELULAR

a) Control.

Medio: plasma de pollo y rata normales.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+++
2.....	3	+++
3.....	3	+++
4.....	3	+++

b) Medio: plasma de pollo normal y de rata (IX) con 13 inyecciones subcutáneas de Cl^{45}Ca al 1 por ciento, 1 cc. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+ +
2.....	3	+
3.....	3	0
4.....	3	+

c) Medio: plasma de pollo normal y de rata (X) con 13 inyecciones de Cl^{45}K al 1 por ciento 1 cc. *pro die*.

Cápsulas	Trozos de tejidos sembrados	Resultados a las 48 horas
1.....	3	+ + +
2.....	3	+ + +
3.....	3	+ + +
4.....	3	+ + +

¿Hay una vinculación entre estos resultados con el contenido iónico del plasma? Las siguientes determinaciones con plasma normal y con plasma tratado, establecen una relación con los resultados enunciados.

DETERMINACIÓN DEL POTASIO

- a) Plasma de pollo normal 0.014 % de K
— — — 0.016 — —
- b) Plasma de pollo inyectado con Cl^{45}K 1 cc. de Cl^{45}K al 1 % = 0.026 % de K.
Plasma de pollo I. — 4 cc. de Cl^{45}K al 2 % = 0.035 % de K.
8 cc. — 2 — = 0.036 —

DETERMINACIÓN DEL CALCIO

- a) Plasma de pollo normal = 0.010 % de Ca.
— — — 0.009 —
- b) Plasma de pollo inyectado con Cl^{45}Ca .
Plasma II. — 4 cc. de Cl^{45}Ca al 2 % = 0.028 % de Ca.
5 cc. — — = 0.32 — —
8 cc. — — = 0.36 — —

DETERMINACIÓN DEL MAGNESIO

- a) Plasma de pollo normal = 0.0062 % de Mg.
b) Plasma de pollo inyectado con Cl^{45}Mg .
Plasma III. — 4 cc. de Cl^{45}Mg al 2 % = 0.0016 % de Mg.
8 cc. — — = 0.0215 — —

Se comprueba una vez más en éstos, así como en los resultados comunicados anteriormente, la influencia que la composición iónica del medio tiene sobre el crecimiento y desarrollo de las células, fenómeno que, por otra parte, se encuentra de acuerdo con las recientes adquisiciones de la bioquímica de los tejidos, y que señalan una acción de tanta importancia al potasio en los fenómenos biocelulares.

Si bien es un hecho la existencia de propiedades antagónicas entre los metales potasio y calcio, la causa íntima de su acción escapa a la investigación, permaneciendo aún como uno de los tantos misterios que encierra la vida celular.

Sin embargo, podemos ver más bien en este fenómeno, el resultado de una acción en relación con las propiedades inherentes de los cuerpos mismos y no a las modificaciones físico-químicas que ellos son capaces de producir ya que no solo son estas tan pequeñas, sino que hay una correlación entre la concentración de los iones y las constantes físico-químicas (20). La concepción y los trabajos de Zwaandemaker, que con los de Campbell y Wood asignan al potasio la propiedad de emitir rayos beta, son muy sugerentes para la explicación del fenómeno, tanto más cuando el biólogo holandés ha demostrado el poder retardante de la acción radioactiva que tiene el calcio.

(20) A. H. ROFFO y L. M. CORREA: Sobre el antagonismo iónico y su relación con las constantes físico-químicas, en *Boletín del Instituto de medicina experimental*, número 3, 1924.

VI

La evolución de la experimentación en el cáncer, abarca varios períodos. En el primero, se hallan comprendidos los trabajos y tentativas de transmisión de un tumor de un animal a otro de especie distinta. Esta es una cuestión que ha perdido hoy todo interés, después de haberse fijado lo esencial que es el factor especificidad y que domina toda la biología de los tumores.

A las experiencias realizadas en el siglo XVIII (Peyreille), inyectando jugo de tumor humano a un perro, se suceden otras numerosas: Langenbeck (1840), Lebert y Follin (1850), Weber (1859), Goujou (1866), Dagonet y Mauclair (1904), Gaylord (1905), Lewin, etc., todas ellas con transmisión de tumores humanos. Pero si bien hay en los resultados obtenidos desarrollo de neoplasia, la verdadera naturaleza de los tumores producidos en el exacto concepto anatómopatológico adolece de fallas sobre la malignidad, especialmente en aquellas experiencias que se hacían en una época en que las leyes de especificidad no dominaban estos estudios. Este es un asunto que pertenece a un capítulo abandonado.

*
* *

El segundo período se señala por el conocimiento de los tumores espontáneos en los animales, cuyo interés se intensifica en los últimos 25 años.

Estas neoplasias han sido descritas en las especies más variadas: salvajes, domésticas, en los animales de sangre caliente y de sangre fría.

Es así que Plehn describe un carcinoma en el ovario de la rana, Petit un fibroepitelioma, Murray un carcinoma de riñón y otro de la piel en la misma especie.

En los peces, los tumores descriptos son numerosos, y desde los trabajos de Buignon, Plehn y Pick, se han señalado los tipos más variados ya como tumores benignos — papilomas, osteomas y odontomas —, o ya como tumores malignos — sarcomas y carcinomas —. Estos últimos, como neoplasias malignas bien definidas en el concepto bioanatómo-patológico, no son sin embargo, muy numerosas. La mayor parte de los tumores desarrollados en estos animales, son producidos por procesos inflamatorios en los que intervienen como agentes cau-

sales, infecciones, parásitos o cuerpos extraños que dan lugar a la neoformación conjuntiva, hasta llegar a formar masas neoplásicas epitelio-granulomatosas.

Los tumores malignos o benignos que se han descrito, responden a variados tipos histológicos y que guardan semejanza, por otra parte, con la histología de los tumores humanos y demás especies animales. En 1902, M. Plehn describe un adenocarcinoma en los salmonidos. En 1903, L. Pick (21) estudia entre otros en el *Cryptobranchus*. En 1906, M. Plehn (22) describe los caracteres anatómo-patológicos de algunos tumores más: sarcoma en el estómago de una trucha (*Salmo irideus*); mioma en un dardo (*Alburnus lucidus*); fibroma del *carassius vulgaris*; fibroma en una perca (*abramis brama*); lipofibroma en un lucio (*Esox lucius*); osteoma en la misma especie; cistosarcoma en el salmón (*Salmo fontinalis*); sarcoma en un orfo (*Bencisus idus*); sarcoma en el vario (*Phoxinus laevis*); fibrosarcoma en un *Chondrestoma nasus*; miosarcoma de la órbita de la tenca (*Tinca vulgaris*); un hemangioma y un epitelioma en dos gasterosteos (*Gasterosteus aculeatus*).

J. Fiebeger describe, en 1909 (23), algunos tumores de peces de tipos histológicos diferentes; un epitelioma de la trucha, papilomas múltiples del *Anabus scadens* (Kletter fisch); epitelioma en una carpa y un fibroma en un *Gadus vireus* (Kohler). Beatti (24), en 1912, describe en la corvina: epitelioma del labio superior e inferior, papiloma en la cabeza y epitelioma del labio superior, sarcomas múltiples y osteomas. En 1922, I. Bergman (25), describe un rabdomioma en el espírenque, lipoma en el rodaballo y en el lucio, melanoma en el anguila.

El año próximo paasdo (26), ha descrito un tumor en el Caras-

(21) RICK L.: Ueber einige bemerkwerthe für morbildungen aus der Thierpathologie neubildungen bei Kaltblättern. — *B. Kl. Woch.* — 24, 1903.

(22) PLEHN M.: Ueber Geschivulte bei Kaltblütern. — *Zeit. f. Krebsf.* 1906.

(23) FIEBEGGER I.: Ueber Hantgesfwülste bei Fischen, etc. — *Zeit. f. Krebsf.* — 17, 1909.

(24) BEATTI M.: Tumores de pescados. — *Revista Soc. Méd. Argentina*, 1912.

(25) BERGMAN I.: Einige Geschwülste bei Fischen. — *Zeit f. Kresf.* 18. — 1922.

(26) A. H. ROFFO: Sarcoma de pescado. Neoplasmes. 1924.

sus auratus L. con los caracteres de un sarcoma, tumor que se desarrolló en varios individuos en la misma piscina.

En un solo año he podido reunir 65 tumores, desarrollados todos en corvinas pescadas en Mar del Plata, respondiendo a distintas variedades histológicas. En esta nota me ocuparé de uno de ellos por creerlo particularmente interesante y cuyo desarrollo en este animal es común, representando el 90 % de los tumores que he observado.

Los tumores se han desarrollado en la corvina blanca *Micropogon opercularis* (Quey y Gain), con dientes cortantes villiformes, sobre los huesos intermaxilares y mandibulares, presentando también dientes aciculares sobre los huesos faríngeos (Lahille). Son todos tumores localizados en la boca.

Las variedades histológicas que he encontrado son papilomas, epitelomas, sarcomas, respondiendo los más numerosos a tumores dentarios.

Estimando de interés el desarrollo de estos últimos, describo a continuación la estructura de uno de ellos. Se encuentran localizados en el labio superior, formando una ancha saliencia redondeada muy pronunciada hacia el lado derecho. De consistencia dura, color blanco lechoso, forma cuerpo con la encía y el hueso maxilar superior (fig. 1).

En el examen histológico de una zona de tejido tomada de la porción periférica del tumor, se observan de inmediato, dos variedades de tejidos: uno que forma el substractum y el estroma del tumor, constituido por un tejido conjuntivo en su mayor parte adulto, fibroso, en una zona con degeneración hialina y en otras con un tejido de tipo embrionario, donde predominan células estrelladas y una masa intercelular de aspecto mucoide (Microf. 1). Es entre este tejido conjuntivo que se encuentran cordones de células de tipo epitelial, poliédricas, cordones que se insinúan irregularmente, formando numerosas arborizaciones y rodeados casi siempre de una membrana conjuntivo-fibrosa muy espesada (Microf. 2).

Estas células epiteliales se disponen en varias capas (Microf. 3), de las cuales la más inferior, adosada a la banda fibrosa, son células cilíndricas y las más centrales, cúbicas o poliédricas. Estas formaciones epiteliales constituyen, a veces, focos circunscriptos, muchos de ellos cavitarios, observándose entonces que las células centrales son células estrelladas provistas de largos filamentos que se unen entre sí (Microf. 4 y 5). Es posible observar de trecho en trecho pequeñas cavidades, en las cuales las células estrelladas, muy filamentosas, rodean concreciones córneas (Microf. 6), así como también formacio-

nes dentarias, en las cuales se puede apreciar perfectamente la formación de la dentina y esmalte, con una capa de fibrillas soldadas estrechamente entre sí, y en las que se observan zonas hematoxilínicas muy marcadas (Microf. 7). Estas producciones tienen en su zona central una hilera de odontoblastos, que la recorren en toda su extensión, dando la impresión y la forma del revestimiento de la zona pulpácea, donde penetra una ancha banda de tejido conjuntivo con capilares sanguíneos, que se encuentran en conexión con el resto del tejido conjuntivo.

Relacionamos la estructura de este tumor con aquellos de origen dentario, no sólo por los caracteres de los cordones y cavidades, con sus células polimorfas, estrelladas, con largos prolongamientos en su porción central, sino también por la presencia de gérmenes dentarios en distintas fases de desarrollo (Microf. 9). La presencia de estas producciones que, en algunos cortes aparecen netamente con la forma del diente, haciéndole inconfundible con las formaciones osteoides, dan a estas nuevas formaciones razón de su origen. Ellas se relacionan con las inclusiones de Malassez, que demuestran que los restos epiteliales paradentarios, son capaces de dar lugar al desarrollo de epitelomas heterotópicos paradentarios. Se pueden vincular estas neoformaciones, de acuerdo con los trabajos de Malassez, Boudin, Ball (27), y especialmente, los de Delater y Bercehr (28), que han estudiado a fondo estos tumores en el hombre, con la existencia de pequeños islotes epiteliales, que son capaces de sufrir una evolución neoplásica ulterior, a raíz de un proceso inflamatorio. Se sabe bien, después de los trabajos de los autores mencionados, que los núcleos de Malassez se los divide en tres grupos, según que estén situados, profundamente en la extremidad de la raíz, superficiales, por debajo de la encía o entre los dos, teniendo todos ellos orígenes distintos. Los profundos serían restos del órgano adamantino propiamente dicho. Los superficiales serían así, restos del gubernáculum y que tendrían el papel del canal escretor del diente, cuyas células quedarían indiferenciadas. En cuanto a la evolución de estos tumores, se reconoce a estos epitelomas adamantinos como neoformaciones de origen inflamatorio, ya que los brotes epiteliales que se han señalado se conservan bien circunscriptos por su membrana conjuntiva y que clínicamente se encuentran bien localizados y sin pro-

(27) BALL V.: Anatomie Pathologique, 1924.

(28) DELATER Y BERCHER: Comment les tumeurs des mâchoires se développent, etc. — Bull. Ass. Franc. p. l'étude du cancer. — 3, 1923.

ducir metamorfosis. Sin embargo, sobreviene a veces una evolución maligna y entonces las células pierden su diferenciación adamantina infiltrándose en el tejido conjuntivo y es entonces que se presenta como un epiteloma, en el que es difícil afirmar su parentesco con un tumor originado a expensas de un resto paradentario.

En el tumor que acabo de describir con la localización y los caracteres que le da un corte sagital de la cabeza a su nivel: convexidad saliente, recubierta de la mucosa que lo recorre en toda su extensión, hasta la región gingival, su origen se relaciona con los islotes superficiales paradentarios.

*
* *

En las aves los tumores son menos frecuentes. Se han descripto varios tipos de tumores malignos: adenocarcinomas, sarcomas a células redondas, etc. En una bien documentada comunicación de Wernike, se encuentran: de 2144 gallináceas, 0.6 % con tumor; de 1989 papagallos, 2.3 %; de 44 palomas, 5 %. Petit ha descripto un adenocarcinoma de la glándula tiroidea del loro y un carcinoma del ovario de una gallina. Murray, un adenocarcinoma del intestino delgado de un gallo, así como numerosos sarcomas a células redondas. Kitt, ha estudiado en la gallina un linfosarcoma de un ovarioblastón y Renguenbonguen un sarcoma de la piel.

En 1923, he hallado un sarcoma en la gallina con un tipo histológico de células redondas, y transmisible en animales de la misma especie y raza (Plymouth Rock) por trasplante de tejido vivo (30). En 1910, Plyton Rous halló en los Estados Unidos y simultáneamente Fuginami y Einamote en el Japón, describía también un tumor de las gallinas cuya característica ha hecho que se lo designe como un sarcoma infeccioso. En efecto, este tumor que tiene el aspecto de un sarcoma que se desarrolla rápidamente con metástasis en casi todos los órganos, de una evolución de cuatro o cinco semanas, responde al tipo histológico de un sarcoma fusocelular. Se transmite, no solamente por trasplante de tejido, sino también por filtrado a través de bujías Berkefeld, siendo el animal más receptivo el Plymouth Rock, pudiéndose obtener desarrollo en animales de otra raza después de varios pa-

(29) A. H. Rorro: Sarcoma de gallina a células redondas transmisible. — *Prensa Méd. Arg.*, 1924.

(30) A. H. Rorro: El cáncer en los animales domésticos en la Argentina. — *Bol. Inst. Bacteriología*, — 1918.

sajes. La forma de transmisión de este tumor, ha hecho pensar que se trata de un agente de las propiedades de un virus filtrante, cuya naturaleza no ha sido aún bien demostrada y que algunos autores creen que se trata de células que atraviesan las bujías, como ha sido demostrado por Teutschlaender. La proliferación de células así provocada por la existencia de un virus puesto en duda por unos y aceptada por otros autores, dan a este tumor, junto con su histogénesis si se la compara a los tumores malignos conocidos, un tipo muy especial, que se aleja por completo de la experimentación con los demás tumores. Si su estructura histológica, su evolución, su desarrollo infiltrativo y metastásico, caracteriza bien al sarcoma, la poca participación que el elemento celular vivo tiene en su transmisión, así como la reacción de tejido con elementos inflamatorios en el sitio de inoculación, ha sido motivo para que algunos autores quieran ver en esta neorformación, un pseudo tumor inflamatorio, modo de ver que no comparto, en presencia de un cuadro con una evolución e histopatología tan característica, y que cuando menos, debe pensarse con Roussy, que hasta nuevas adquisiciones, puede considerarse a este tumor como un tipo aparte.

*
* *

El desarrollo de los tumores malignos en los mamíferos, no es raro. Teniendo presente las estadísticas de Sticker y Casper, se desprende, no sólo que él se presenta en todas las especies, sino que su desarrollo y localizaciones guardan relación con las actividades de los animales. Es así que el sitio de predilección en el cerdo, es el maxilar inferior, región expuesta a continuas irritaciones y ulceraciones; en el vacuno, es en el aparato genital que alcanza a su más alto porcentaje, etc. Tanto las cifras estadísticas de Ball, como las de Cadiot, establecen una morbilidad cancerosa mucho más acentuada para el perro que en el caballo y bovinos, que de uno por mil en este último, llega a 6.2 para el primero. Estas diferencias guardan relación con la distinta duración de la vida que alcanzan estos animales, como lo señala Cadiot. Se sabe que los perros y gatos, por su domesticidad, alcanzan la vejez y con ella la edad de cáncer, mientras que los otros animales, especialmente los bovinos, son sacrificados prematuramente. Este concepto es reforzado por las cifras estadísticas de Destroyer, que atribuye el desarrollo del cáncer en los bovinos, a uno por mil en los viejos y tan solo a uno por 50.000 en los jóvenes.

En 1918 (31) describí algunos tumores desarrollados en animales domésticos del país, perros, gatos y caballos que comprendían varios tipos histológicos: sarcomas, carcinomas pavimentosos, basocelulares, adenocarcinomas, etc.

VII

Las investigaciones que comprenden este período, han tenido por base dos hechos fundamentales que han orientado a su vez la experimentación, dando origen a numerosos trabajos, que si bien no han dado aún todo lo que de ellos se esperaba, han aclarado muchos de los conceptos que sobre los tumores se tenían, especialmente en lo que se refiere a transmisión, evolución, inmunidad, etc.

La experimentación desarrollada en estos últimos veinte años, comprende así dos facetas: la primera, que tiene su punto de partida en el hallazgo efectuado por Moreau, en Francia (1891), de un carcinoma en la laucha blanca; tumor transmisible por ingertos. Es con el conocimiento de estos tumores espontáneos de la laucha y rata blanca, que se inicia la verdadera experimentación del cáncer y las investigaciones efectuadas con éstos caracterizan toda esta última época, con la producción de interesantes investigaciones en muchos países: en Francia, Moreau, Contamin, Borrel, etc.; en Inglaterra (Bashford, Murray); en Alemania (Ehrlich, Apolant, Haaland, Lewin, etc.).

La segunda faz de este período, tiene por objetivo provocar el desarrollo del cáncer en los animales por la acción de agentes externos, se inicia con una base seria, recién con los trabajos de Iamaghiva e Itchikawa, al obtener el desarrollo de carcinomas con el alquitrán.

A estas dos fuentes de experimentación, debe agregarse otra más reciente, que se relaciona con la cultura de tejido in vitro, método que iniciado por Carrel y Burrows, se presenta lleno de recursos, para el mejor conocimiento de la citofisiología, tanto de la célula normal como neoplásica, ya en lo que se refiere a sus relaciones con el medio, como a su quimismo funcional.

El estudio del cáncer transmisible por ingertos, tiene especialmente por base, los tumores de la laucha y la rata blanca.

La aparición en otras especies de mamíferos de tumores malignos, ha permitido efectuar algunos trasplantes con éxito; en el

(31) A. H. ROFFO: El cáncer en los animales domésticos del País. *Boletín del Inst. de Bacter.*, 1918.

perro (Bashford, Bosc, etc.), en el caballo (Petit y Borrel) y en el cobayo (Murray), etc. Sin embargo los resultados obtenidos con estos tumores, están muy lejos de ser comparables a aquellos producidos en las lauchas y ratas, fenómeno que atribuimos al factor raza, tan variado en los animales de referencia.

Moreau inicia en Francia una serie de trabajos, entre los que se destacan los de Contamin, Chunet y especialmente los de Borrel, que en el Instituto Pasteur, es un ferviente sostenedor de la teoría parasitaria.

Son numerosos los tumores que después de Moreau, se han descrito en la laucha. Jensen, desde 1903, trabajó con un carcinoma de laucha encontrado accidentalmente. Ehrlich y Apolant, un adenocarcinoma y posteriormente Murray, Bashford, Borrel, etc., han descrito también carcinomas pavimentosos en este animal. Estas variedades de tumor comprenden también a las de origen conjuntivo, habiéndose descrito sarcomas transmisibles, condro-ósteo-sarcomas y condromas puros, por Ehrlich, Murray y Haaland.

En la rata se han descrito también, tumores semejantes, y es así que Eiselsberg describe en 1890, un sarcoma en la rata blanca, describiéndose más tarde otros por Firket, Hlava, que demostraban una fácil transmisibilidad. En Estados Unidos de América, L. Loeb encuentra tres tumores en el tiroide: uno de ellos que describe como un tumor mixto y los otros como un sarcoma. La aparición de estos neoplasmas espontáneos en la rata, se hace después con más frecuencia y se describen algunos otros por Apolant, por Jensen, Lewin, Michaelis, Bashford, Hanau, etc.

En 1909 he descrito el primer tumor transmisible descrito en el país y hallado en una rata blanca y cuya estructura era la del sarcoma fusocelular (32). El segundo es de un tipo histológico pavimentoso. El tercero, encontrado en 1911, es un carcinoma. El cuarto, en 1913, encontrado en el abdomen y tiene el tipo de un tumor mixto semejante al descrito por Haalang (33). En 1917 un epiteloma de la vulva transmisible en la rata blanca (34); en 1919 un carcinosarcoma del ovario de la rata blanca (35). Tanto el carcinoma como el sarcoma con los que he trabajado hasta ahora, es decir, durante 15 años, han conservado la condicionabilidad de transmisión,

(32) A. H. ROFFO: El cáncer. Contribución a su estudio. 1909.

(33) A. H. ROFFO: El cáncer experimental, 1913.

(34) A. H. ROFFO: Epiteloma pavimentoso transmisible de la vulva.

(35) A. H. ROFFO: Carcinosarcoma del ovario de la rata blanca, *Boletín del Inst. de Bacter.*, 1918.

así como el tipo histológico que ha permanecido sin modificación estructural alguna. Posteriormente y en animales del mismo criadero, se han producido otros tumores espontáneos, que suman hasta ahora 32, con distintos tipos histológicos, entre los cuales debo citar especialmente, un carcinoma de la vesícula biliar, un carcinoma pavimentoso de la matriz, un adenocarcinoma de la mama, etc.

En el trasplante del tejido neoplásico, la célula debe encontrar, no sólo un terreno nutritivo que le facilite su proliferación, sino que sea capaz de dar elementos para el estroma conjuntivo, en cuya dependencia está el desarrollo de la neoplasia, condiciones que están regidas como en los tejidos normales, por la especificidad animal.

No todos los tumores reglan su evolución en la misma forma. El que se presta mejor para una experimentación coordinada y de control, es el sarcoma fuso-celular, que da tumores compactos, que a los 30 y 35 días de evolución presentan zonas de necrosis. En cambio, hay tumores como el carcinoma de rata, que no sólo es irregular en su evolución, sino que presenta precozmente zonas de necrosis, con liquefacción de su contenido, y que le quitan a esta neoplasia valor para las experiencias comparativas.

Esta variación del ritmo de crecimiento, que es indispensable tenerla presente para no caer en errores de interpretación, es consecuencia muchas veces del injerto mismo, y otras del huésped que lo recibe. Es así que en cuanto a la primera condición, es de la vitalidad de sus elementos, que dependerá el ritmo de crecimiento, vitalidad que puede ser acelerada o disminuida.

En los factores que intervienen en el primer caso, se encuentra la repetición de pasajes, y sobre todo, si éstos se hacen con tejidos de tumores jóvenes, en los que las células se hallan en plena y activa multiplicación. Es en este sentido que interpreto los resultados que he obtenido con los tumores desarrollados por la inoculación de células desarrolladas *in vitro* y que en los trabajos que efectúo en el Instituto, son los que proveen, no sólo tumores de mayor desarrollo o equivalente malignidad, sino también tumores en mayor estado de pureza.

Como atenuantes del poder proliferativo de estas células, se encuentran, excluyendo lo que se relaciona con el tiempo de desarrollo, la temperatura, que actúa en forma desigual. A baja temperatura su virulencia se atenúa, pero no desaparece; a 0° puede conservarse perfectamente y dar desarrollo de tumores aún después de 5 días y más, señalando Ehrlich, que sólo una temperatura de 30° era capaz de destruir toda vitalidad. En cambio, son más sensibles a la elevación

de temperatura y a este respecto los resultados dependen de los tumores, siendo en general destruída por encima de 46°.

Pero las modificaciones más interesantes están más en relación con el terreno y con éste se involucra la edad, origen y alimentación. Es en este sentido que debe interpretarse las modificaciones que sobrevienen en el ritmo de crecimiento de un tumor que se ha desarrollado regularmente y que de un momento a otro lo modifica o detiene.

*
* *

En el resumen de las adquisiciones que el estudio del cáncer transmitido por injertos ha aportado, se desprende que comprenden dos hechos que se relacionan: primero, con la biología del tejido trasplantado, y segundo, con la biología del terreno.

En lo que al primero se refiere, las condiciones de éxito dependen de la vitalidad de sus elementos, especialmente de las células del parénquima del tumor, que son las que han de continuar la evolución neoplásica en el nuevo huésped, y el estroma conjuntivo y sus vasos, que es también indispensable para la nutrición del mismo, al establecer vinculaciones con los vasos en el sitio de implantación. Sin embargo, la conservación del estroma del tumor no es indispensable. La inyección de células en suspensión en el peritoneo o en los vasos desarrollan tumores múltiples, así como las culturas *in vitro*, que están libres de tejido conjuntivo, que desarrollan tumores del mismo tipo que los de origen, restan al estroma del tumor toda importancia para el éxito de un trasplante. Vencida la reacción que en un primer período se produce en el animal, reacción que da muchas veces lugar a una necrosis total o parcial de las células neoplásicas introducidas, en cuyo caso el trasplante será negativo; el tejido así trasplantado desarrollará un tumor cuya evolución estará bajo la dependencia de condiciones que dependen de la capacidad proliferativa de las células neoplásicas por un lado, y del terreno animal por el otro. Se tiene así, que para cada tumor hay un ritmo de crecimiento, ritmo que sin embargo puede ser modificado, acelerado o retardado. Los pasajes repetidos a corto plazo de tumores jóvenes, antes de que los tumores presenten zonas de necrosis muy extendidas, aumentan el poder de crecimiento, siempre que esto se efectúe en animales de un mismo origen. Si esta última condición se modifica, no sólo se produce un retardo, sino que a veces no hay desarrollo, fenómeno éste que se confunde con la inmunidad natural. Por otra parte, este crecimiento

puede modificarse bajo la acción de agentes extraños, físicos o químicos. Ya se ha visto como actúa la temperatura. Los rayos Roentgen, a dosis débiles aumentan la proliferación del tumor; a dosis fuertes la disminuyen.

Se sabe ya la importancia que juegan ciertos metales en el crecimiento de los tejidos, sobre todo aquellos que, como el potasio, se le ha señalado un poder biogénico antagónico al calcio, y que los trabajos de Zwanderker atribuyen a una propiedad de rayos de

Estos tejidos en activo crecimiento, como el neoplásico y embrionario, tendrían así una relación más en cuanto a su contenido en potasio muy aumentado. Experiencias hechas en este sentido, según las que el agregado previo de $Cl^{2}Ca$, paraliza el crecimiento, y que el ClK modifica, permitiendo el desarrollo de los tumores, señalan toda la importancia que el estudio de la composición química mineral y lipídica de estos tejidos ha de traer para el mejor conocimiento, en lo que a la evolución de estos tumores se refiere.

En lo que a la biología del terreno de transplantación se relaciona, juega un rol de factor no sólo la especie y raza del animal, sino también el sexo y la edad, cuyo valor es muy de tenerse en cuenta, sobre todo cuando se desea tener resultados experimentales comparativos, ya que de su variación depende también la evolución de los tumores.

La mejor edad para el trasplante, la proporcionan los animales en la edad media de la vida, cuando éstos son capaces de proporcionar abundante nutrición. En cambio, los animales enfermos o viejos, constituyen un terreno pésimo. Hay en las células trasplantadas una avidez nutritiva que sobrepasa a la de las células del huésped. Es posible atribuir a esta avidez, lo poco frecuente que son las metástasis en estos tumores, fenómeno que se explicaría aplicando en parte la teoría de Ehrlich, y según la cual el tumor en desarrollo acapararía los elementos nutritivos para sí, destruyéndose por inanición, las células que podrían haberse desprendido y que se encuentran en la circulación.

Es también en este sentido, que se explicaría la falta de éxito de un segundo trasplante, cuando el primero se ha desarrollado, fenómeno que otros autores atribuyen a una inmunidad activa.

Pertenece al factor terreno la receptividad de órgano. En los trasplantes efectuados en los distintos órganos, se aprecia una receptividad general, pero variable. Es así que el hígado, riñón, testículo y aún el cerebro (36), forman un terreno muy propicio para el desarrollo

(36) A. H. ROFFO: Tumores cerebrales experimentales. *Rev. de la Universidad*. 1917.

del trasplante, que forma grandes masas de tumor, no así el bazo, que se presenta como órgano resistente. En 1916, comuniqué a este respecto, los resultados obtenidos con los tumores que tengo en experiencia, concordando en ello con la escuela italiana, cuyos trabajos iniciados por Brancati (37), han sido continuados por numerosos autores.

En relación con estos resultados, deben mencionarse las modificaciones que sufre el bazo paralelamente al desarrollo del tumor. La relación de peso entre el animal y el bazo, que es en la edad media de la vida de la rata de 1 : 130 a 1 : 110, se modifica en el animal con tumor y a consecuencia del desarrollo del mismo, hipertrofiándose, llegando entonces la relación a ser de 1 : 50. A la par que ésta aumenta de volumen, se produce una modificación de la estructura histológica, con hipertrofia de los corpúsculos de Malpighi, que se hacen difusos, con hiperplasia de células linfáticas y con numerosas células de bordes irregulares, con protoplasma abundante, granuloso, y numerosos núcleos de 6 a 8, unidos por filamentos; células que son del tipo de megacariocitos.

¿Es esta alteración esplénica, consecuencia del desarrollo de tumor, o se trata de una reacción biológica de resistencia, con modificación del terreno? Las experiencias efectuadas en este sentido apoyan este último.

En las modificaciones del terreno intervienen, por último, causas que se relacionan con la nutrición, involucrando en ello el quimismo de ciertos cuerpos —lipoides, colessterina, potasio, etc.—, y de lo cual me he ocupado ya.

*
* *

Las modificaciones del terreno, haciéndolo refractario para el desarrollo del ingerto, se relaciona con el conocimiento de la inmunidad. Esto es un proceso que comprende el estudio de los ingertos de tejidos; es una inmunidad histológica muy diferente de la bacteriana, ya que no ha sido posible evidenciar la existencia de anticuerpos. Es así que se distinguen dos especies de inmunidad: la natural y la adquirida.

(37) BRANCATI R.: Sul comportamento dei tumori innestati in varia sed. *Tumori*. Giugno, 1912.

BRANCATI R.: Sul comportamento della milza negli animali con tumori. *Tumori*. Giugno, 1912.

En la primera interviene en primer término el factor individual, y según el cual, hay siempre un número de animales que son absolutamente refractarios al ingerto; y en lo que interviene el factor edad, el criadero, la alimentación, raza, etc.

De acuerdo con esto, es que los animales jóvenes son mucho más receptivos que los viejos, fenómeno que se relaciona con la robustez y por lo tanto, con un mejor terreno nutritivo. En cuanto al factor individual, éste se transmite muchas veces a numerosas generaciones, confundiéndose de este modo con un terreno hereditariamente refractario. En nuestro criadero se ha mantenido separada una familia de estos animales y en los que el éxito del ingerto en los primeros trasplantes, apenas alcanzó al 8 % y que, solo después de diez generaciones, este porcentaje subió al 70 %, pero nunca al 100 %, como sucede en los otros animales que pertenecen al de origen del tumor. Hay en estos resultados una resistencia del terreno para los animales de un mismo tronco, naturaleza biológica, a la que ha debido adaptarse el tejido injerto, que lo ha alcanzado por un acostumbramiento, después de varias generaciones.

Esta inmunidad puede conferirse artificialmente por medio de tejidos, que pueden ser de un tumor ya desarrollado y reabsorbido, o por inoculaciones de tejidos neoplásicos, cuya virulencia ha sido destruida, o de tejido normal. Esta última es la que ha proporcionado los mejores resultados. Es así, que tanto los tejidos órganos normales de adultos: hígado, riñón, testículo, bazo, etc., la sangre, así como los tejidos embrionarios, inmunizan, aunque no todos, con el mismo poder en cuanto a la duración de este estado se refiere, como también en lo que a los tipos de tumores se relaciona.

En resumen, se puede decir que toda esta cuestión de inmunidad neoplásica, tiene por fundamento las modificaciones del terreno en presencia del ingerto, lo que se reduce a una resistencia para el tejido, cuestión que se presenta compleja y que en la investigación será necesario conocer el grado de intervención que tienen en el proceso determinados órganos de secreción interna, especialmente el bazo. Que se trata de una inmunización para el tejido transplantado, lo demuestra el hecho de que los animales así inmunizados son capaces de desarrollar un tumor espontáneo.

Para terminar este capítulo del cáncer experimental, y refiriéndome a las experiencias realizadas por el sinnúmero de autores extranjeros y a las nuestras que se han desarrollado durante 15 años, se desprende que la transplatación de un tumor debe considerarse como

una continuación de su desarrollo con cambio tan sólo del huésped, del cual agota todo el material nutritivo.

Se aprecia de este modo que estos tumores, y a pesar del largo período de tiempo transcurrido y de las innumerables transmisiones efectuadas, tanto en las observaciones de numerosos autores, confirmados con aquellos que tengo en transmisión, que el tipo histológico que tenían los tumores primitivos, no se ha modificado en absoluto. Se trataría en realidad de una cultura de tejido in vivo, con pasajes por el medio (animal).

Es en este sentido que debe mencionarse también los resultados obtenidos con las culturas de tejidos neoplásicos in vitro, para el mejor éxito de las cuales solo hay que tener en cuenta el medio. Del mismo modo, debe citarse que en esta transmisión, el único elemento que debe tenerse presente, es la célula, y que su desarrollo ulterior es dependencia del terreno y de las garantías de nutrición que éste puede aportarle por medio del estroma.

Se desprende también la no contagiosidad de estos tumores, que ha sido evidenciada agotando en este sentido los recursos del laboratorio, actuando en forma directa o indirecta. Sin embargo, como hemos visto ya, hay algunos autores que aún son partidarios de la existencia de un agente microbiano o virus (Borrel, Blumental, Gay), y que a pesar del entusiasmo puesto a su favor, llegando a la suposición de un virus, llevado ya por parásitos o en las células mismas, no ha podido resistir al control experimental. Por otra parte, la irritación crónica en la producción experimental de cáncer, ya por acción directa o indirecta, como quieren algunos autores, viene a traer una importante contribución en este sentido.

*
* *

El período que comprende la producción experimental de tumores malignos, ha adquirido en estos últimos años un impulso muy grande con el llamado cáncer de alquitrán. Con este fin han sido empleados agentes de diversa naturaleza físico-químicos.

Entre los primeros figura la producción de tumores malignos, desarrollados a consecuencia de radiodermitis profesionales, de los cuales la biografía menciona numerosas víctimas entre los radiólogos. Experimentalmente Clunet ha podido obtener en la rata, después de 14 meses de irradiaciones, un sarcoma a células polimorfas y otro en una radiodermitis ulcerosa. En el mismo sentido deben señalarse los tumores obtenidos por L. Barlow, ya por inyecciones de pequeñas

cantidades de sulfato de radio, o ya por introducción del tubo de radio, así como también los de Bloch, que después de 3 años de irradiaciones en la oreja del conejo, ha visto desarrollar un cáncer epitelial.

Entre los segundos, se encuentra la producción de carcinomas por agentes químicos, que inician los trabajos de los japoneses Yikawa y Yamaghiwa. Tentativas semejantes se habían hecho muchos años antes, empleando substancias químicas para provocar proliferaciones epiteliales. Y es así, que de acuerdo con los epitelomas profesionales, se han utilizado las substancias más diversas; Fischer, el escarlata; R. Stahr, Jores, Schmieden, Reinke, Askanazi, el éter; Hanan Leitch, la parafina; Brochs y Ritti, Haag, con escarlata y Sudan; Boret, la nicotina; Leitch y Kennaway, el arsénico, etc. En la actualidad el cáncer de alquitrán ha llegado a ser un procedimiento de fácil adquisición y que ha traído una contribución de la mayor importancia en el mejor conocimiento de la histogénesis de los tumores epiteliales. Se ha podido apreciar así la estrecha vinculación que tienen los procesos irritativos crónicos con el desarrollo de los tumores, y que como estados precancerosos, son las avanzadas de los procesos neoplásicos, que si en un principio se manifiestan tan solo por una hiperplasia epitelial, terminan con un crecimiento en profundidad e infiltrativo con formación de verdaderos epitelomas. Este método ha sido tomado con entusiasmo por todos los cancerólogos y ya se han encontrado resultados confirmatorios por Murray, Fibiger, Dellman, Bayet, Roussy, Menetrier, Kasama, Herrenschnit, asunto que ha dado motivo a una conferencia especial en Holanda (1922), así como también en el Congreso de Cáncer de Strasburgo en el año 1923.

Resumiendo, las adquisiciones que con este procedimiento se han efectuado y tanto de los autores extranjeros, como con los nuestros cuyos primeros resultados comunicamos en 1923, se desprende una vez más la importancia que tiene sobre el desarrollo del cáncer el factor terreno, no solamente en lo que a las especies de animales se refiere, mostrándose unas muy predispuestas (conejo) y otras, aunque muy próximas, refractarias (cobayo), sino también la distinta receptividad entre los de una misma especie. Las lesiones iniciales se manifiestan ya al cabo de dos o tres semanas, con la caída de pelo, espesamiento de la piel y la producción de pequeños papilomas costrosos, lesión "precancerosa" que se ulcera y al cabo de 180 a 250 días, se obtiene una lesión que responde histológicamente a un carcinoma espino-celular. La substancia cancerógena encerrada en el alquitrán, no ha sido aún aislada y es a su calidad que deben atribuir-

se los fenómenos y sobre todo el período de irritación (Dellman). Los trabajos de Kotzareff (38) reduciendo el tiempo de aparición de la neoplasia con el alquitrán electrolisado, traen a este respecto una interesante contribución. Tiene, pues, la mayor importancia la obtención del alquitrán, pues depende de ella la acción cancerígena, habiéndose encontrado que las fracciones que destilan por debajo de la brea, no tienen este poder. Se sabe por otra parte, que el alquitrán de los tubos horizontales es el que contiene mayor cantidad de hidrocarburos de punto de ebullición elevado. Estudiando los distintos productos de la destilación fraccionada, Deelman señala que las sustancias activas se encuentran en las fracciones de la brea, en tanto que las que provienen de baja temperatura, carecen de todo poder.

Ahora bien, no es indispensable para obtener la concerización definitiva, que las pinceladas de alquitrán sean continuadas. Provocadas las lesiones iniciales, existe un período que Bang (39) llama de latencia y en el que interviene indudablemente, el factor individual vinculado al terreno, al que se ha hecho referencia y que no sólo explicaría este fenómeno sino todas las variaciones que se han observado con respecto a la duración del proceso. Otro de los resultados que la experimentación ha traído, es el que se refiere al modo de actuar de esta sustancia. Es por acción directa sobre el epitelio, o por una acción sobre el terreno, que esta sustancia produce la concerización?

Es indudable que hay una acción general que se traduce por fenómenos tóxicos, que matan, como nos ha sucedido en un principio en lotes enteros de animales, especialmente cuando trabajábamos con la laucha. De esta acción que Fichera atribuye a la aparición de la senectud más precozmente, dependería una mayor disposición para el desarrollo de la neoplasia. Un hecho que estaría en favor de la acción general, se comprueba a diario y es que, suspendidas las pinceladas, la evolución de las lesiones epidérmicas no se detienen hasta su concerización. Otro tanto sucede con el desarrollo de tumores, no solamente en el sitio de aplicación, sino a distancia. Algunos autores y entre ellos especialmente Bayet, han relacionado estas producciones con el cáncer producido por el arsénico. Experiencias que hemos realizado en el Instituto, han sido hasta ahora negativas, ya con aplicaciones dia-

(38) KOTZAREFF. — *Bull. de l'Ass. Franc. p. l'étude du cancer.* — Número 2, 1925.

(39) BANG, F. — Contribution a l'étude de la cancerisation de la célula, etc. *Bull. de l'Ass. franc. p. l'étude du cancer.* 1923.

rias de pastas arsenicadas, así como también en la investigación del arsénico en los conejos tratados con alquitrán y cuyo contenido en arsénico, no ha variado del que tienen los tejidos normales. Por otra parte, existe en el país una región donde se produce el arsenicismo crónico debido a sus aguas, proceso estudiado por los Profesores Ayerza y Ransillac. Sin embargo, una encuesta que hemos hecho a los colegas de esa región, nos han manifestado que el cáncer no es más frecuente ahí.

Hay en todos estos resultados una correlación de fenómenos que ponen de manifiesto en la producción de la cancerización de la célula, la acción de un agente externo, físico, mecánico, químico, o parasitario, que está subordinada a una acción general y que en nuestra ignorancia, relacionamos hoy por hoy con el factor individual.

*
* *

Como un complemento de la experimentación en el cáncer, debe mencionarse el método de las culturas *in vitro* y que el interés que han despertado desde que Carrel y Burrows lo iniciaron, han orientado hacia una de sus aplicaciones más importantes, cual es la que se relaciona con la cultura de los tumores, no solamente por lo que ellas prometen, para el mejor conocimiento del funcionalismo de estos tejidos de estructura y funciones desviadas, sino también en lo que se refiere al mejor estudio de su génesis, desarrollo y aún del tratamiento. Las culturas de tumores iniciadas por Carrel y Burrows, han sido continuadas por otros investigadores, ya con tumores humanos, Lose y Ebeling, Champy y Coca (40), o ya de los animales, Lambert y Haynes (41), Roffo (42) y Drew (43), que preconizan medios con plasma homólogo, así como también medios líquidos salinos.

(40) C. CHAMPY: Cultures des tissus des tumeurs, en Bull. Ass. franç. pour l'étude du cancer.

CHAMPY ET COCA: Patogénie du cancer et culture des tissus, en Journ. de phys. et path. gén., 18, 1919.

(41) LAMBERT ET HAYNES: Characteristics of growth of sarcoma and carcinoma cultivated, en Journ. of Exp. Med., 13, 1911.

(42) A. H. ROFFO: La cultura "in vitro" de células de sarcoma fusocelular, en "Prensa Médica Argentina", 1917.

(43) A. H. DREW: Three lectures on the cultivation tissues and tumours "in vitro", in Lancet, 200, 1923.

Es después de haber ensayado abundantemente estos diversos medios, que he adoptado un medio mixto, desechando el medio salino, que es poco práctico para la observación sistemática, dado su estado líquido, así como también los medios plasmáticos con agregados de extractos embriornarios que complican la técnica, ya que sin ellos obtenemos culturas de rápido y abundante desarrollo.

El medio formado de una mezcla de plasma de pollo y de rata, nos ha dado las mejores culturas de sarcoma fusocelular de rata. Para la obtención del plasma de este animal, se extrae la sangre directamente por punción del corazón, con pipetas de bola parafinadas. La sangre recogida en tubos de centrifuga parafinados y enfriados previamente a 0°, se centrifuga pocos minutos (de 3 a 4) para evitar la coagulación del plasma. Este se recoge en tubos parafinados y se conserva a 0°.

El tejido del tumor se recoge con la mayor asepsia y se introduce en la caja aséptica que hemos descripto ya (44), donde se practican todas las manipulaciones de la siembra. Es necesario lavar el trozo de tejido repetidamente para eliminar todo rastro de sangre, que puede inhibir el crecimiento. En estas condiciones se secciona en pequeños trozos, de un milímetro de espesor, utilizando para esto una pinza de irectomía de Weber. Se colocan los trozos de tejido sobre la tapa del recipiente, se cubren con la mezcla del plasma, que coagula en seguida, y habiendo colocado en el fondo del salero una o dos gotas del líquido de Ringer para mantener la humedad, se da vuelta la lámina y se tapa el salero, teniendo cuidado de bordearlo con parafina.

A las 24 horas de efectuada la siembra, se observa ya una zona concéntrica de células neoformadas (zona fértil), que 24 horas más tarde se extiende duplicando o triplicando su extensión (zona de invasión), caracterizada por la abundancia de células migratorias. Es en este período que conviene renovar el medio, sin lo cual las células entran rápidamente en regresión.

El tumor que hemos utilizado más en las experiencias, es el sarcoma fusocelular de rata blanca. Para el mejor éxito de las culturas deben preferirse tumores jóvenes, de 10 a 15 días, blandos, es decir, en plena actividad proliferativa. Es este un factor que debe tenerse muy en cuenta, pues de su grado de actividad depende el éxito e intensidad del desarrollo de la cultura. En la cultura de este

(44) A. H. ROFFO: La cultura "in vitro" del corazón, en "Prensa Méd. Arg.", 1924.

tumor, no es de rigor que el plasma del medio sea homólogo. Con el plasma de pollo, hemos obtenido culturas bien desarrolladas.

Se aprecia en estos resultados, que si bien el poder del medio es influenciado por la presencia de plasma homólogo, éste no es absolutamente necesario. Lo mismo acontece con el agregado de extracto embrionario, obteniéndose culturas de desarrollo tan abundante con medios que contengan plasma de rata y pollo con o sin extractos embrionarios.

Pero donde estos extractos parecen influir poderosamente, por la presencia de los trefones, es en la renovación del medio para prolongar por largo tiempo la cultura, de lo cual me ocuparé en otra nota. Consideraciones semejantes se pueden hacer de los líquidos que intervienen en la dilución.

Es en presencia de estos resultados que empleamos como medio ordinario en los trabajos que realizamos, la mezcla de plasmas de pollo y rata, muy superior a la de plasma de rata solo.

En la producción de este fenómeno deben intervenir los trefones señalados por Carrel en el tejido embrionario y en el plasma de animal joven, razón también de la acción inhibitoria que el suero de animales viejos tiene sobre los cultivos. El plasma de pollo, cargado de estas sustancias activaría el plasma de rata, dando al medio mayor poder nutritivo.

Este poder fertilizante del jugo embrionario, que los investigadores asignan a los trefones, y que consideran como alimentos nutritivos, presenta una estabilidad muy marcada, siendo destruido por las irradiaciones, el calor de 65°, no pasando por filtraje en bujía Chamberland. El alcohol, acetona y anhídrido carbónico lo precipitan, no teniendo por otra parte una acción específica para determinado tejido.

El ciclo evolutivo de las culturas de sarcoma fusocelular, se caracteriza por una diferenciación muy acentuada a las nuevas células. En las 24 horas se desarrolla ya una zona fértil, en la que se aprecian nítidamente células neosoformadas que conservan su aspecto fusiforme. Desde este momento comienza una activa proliferación de células, que se caracterizan por su poder de emigración muy acentuado hacia la periferia, a la par que la diferenciación se hace más marcada con la producción de monstruosidades, adquiriendo en general los caracteres de células estrelladas, de tipo embrionario. Durante este proceso, se aprecian en el protoplasma la aparición de granulaciones lipoideas, como exponentes del metabolismo acentuado, en el crecimiento acelerado, no sólo de éstos, sino también de los tejidos

normales, y de lo que me he ocupado anteriormente. Iniciado este proceso y si no se renueva el medio, la célula anabólica es totalmente invadida por las granulaciones hasta su destrucción total.

En las culturas comparativas del sarcoma y carcinoma se observan particularidades inherentes a la variedad de tejido de procedencia. Es así que si el desarrollo de las células del carcinoma se hace en forma compacta, concéntricamente al tejido madre formando un sutil velo, casi siempre sin zona de invasión, las del sarcoma se caracterizan en cambio, por el crecimiento aislado, y con un poder emigratorio muy acentuado, a veces con movimientos muy activos, fenómeno que comparado con el desarrollo de las células conjuntivas, muestra mayor intensidad, dando en 48 horas una zona de invasión mucho más extendida.

Las células neoplásicas cultivadas in vitro se caracterizan, a la vez, por un activo proceso anabólico y por una diferenciación muy acentuada, modificación estructural que guarda un estrecho paralelismo con la intensidad de proliferación. Este fenómeno, que es mucho más marcado en las culturas del sarcoma que en las del carcinoma, está relacionado con la estructura de células de tipo embrionario, con filamentos protoplasmáticos a veces muy largos, que adquieren aquéllas y que facilitan los movimientos activos, que les dan la propiedad de dispersión tan grande, que poseen estos elementos en la zona de invasión de la cultura. Ahora bien, este nuevo estado de la célula, no sólo morfológicamente considerado, que le da caracteres embrionarios acentuados, sino también bajo el punto de vista del nuevo medio en que se desarrollan y que produce trastornos en su biología, ¿es causa también de modificaciones de la malignidad? Los resultados de las experiencias efectuadas con inoculaciones de ción, demuestran no sólo la conservación de esta propiedad adquirida de la célula, sino también la transmisión de ésta a las células hijas y lo que es más interesante aún, su intensificación, si se comparan los tumores desarrollados con el ritmo que tienen ordinariamente los tumores.

En una serie de experiencias efectuadas, se han inoculado culturas de 24, 48 y 76 horas y de 13 días. En otra se han inoculado culturas de distinta edad, pero que han permanecido en el frío hasta cinco días.

tumor, no es de rigor que el plasma del medio sea homólogo. Con el plasma de pollo, hemos obtenido culturas bien desarrolladas.

Se aprecia en estos resultados, que si bien el poder del medio es influenciado por la presencia de plasma homólogo, éste no es absolutamente necesario. Lo mismo acontece con el agregado de extracto embrionario, obteniéndose culturas de desarrollo tan abundante con medios que contengan plasma de rata y pollo con o sin extractos embrionarios.

Pero donde estos extractos parecen influir poderosamente, por la presencia de los tréfoles, es en la renovación del medio para prolongar por largo tiempo la cultura, de lo cual me ocuparé en otra nota. Consideraciones semejantes se pueden hacer de los líquidos que intervienen en la dilución.

Es en presencia de estos resultados que empleamos como medio ordinario en los trabajos que realizamos, la mezcla de plasmas de pollo y rata, muy superior a la de plasma de rata solo.

En la producción de este fenómeno deben intervenir los tréfoles señalados por Carrel en el tejido embrionario y en el plasma de animal joven, razón también de la acción inhibidora que el suero de animales viejos tiene sobre los cultivos. El plasma de pollo, cargado de estas sustancias activaría el plasma de rata, dando al medio mayor poder nutritivo.

Este poder fertilizante del jugo embrionario, que los investigadores asignan a los tréfoles, y que consideran como alimentos nutritivos, presenta una estabilidad muy marcada, siendo destruido por las irradiaciones, el calor de 65°, no pasando por filtraje en bujía Chamberland. El alcohol, acetona y anhídrido carbónico lo precipitan, no teniendo por otra parte una acción específica para determinado tejido.

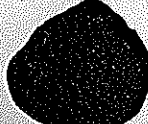
El ciclo evolutivo de las culturas de sarcoma fusocelular, se caracteriza por una diferenciación muy acentuada a las nuevas células. En las 24 horas se desarrolla ya una zona fértil, en la que se aprecian nítidamente células neosoformadas que conservan su aspecto fusiforme. Desde este momento comienza una activa proliferación de células, que se caracterizan por su poder de emigración muy acentuado hacia la periferia, a la par que la diferenciación se hace más marcada con la producción de monstruosidades, adquiriendo en general los caracteres de células estrelladas, de tipo embrionario. Durante este proceso, se aprecian en el protoplasma la aparición de granulaciones lipoideas, como exponentes del metabolismo acentuado, en el crecimiento acelerado, no sólo de éstos, sino también de los tejidos

normales, y de lo que me he ocupado anteriormente. Iniciado este proceso y si no se renueva el medio, la célula anabólica es totalmente invadida por las granulaciones hasta su destrucción total.

En las culturas comparativas del sarcoma y carcinoma se observan particularidades inherentes a la variedad de tejido de procedencia. Es así que si el desarrollo de las células del carcinoma se hace en forma compacta, concéntricamente al tejido madre formando un sutil velo, casi siempre sin zona de invasión, las del sarcoma se caracterizan en cambio, por el crecimiento aislado, y con un poder emigratorio muy acentuado, a veces con movimientos muy activos, fenómeno que comparado con el desarrollo de las células conjuntivas, muestra mayor intensidad, dando en 48 horas una zona de invasión mucho más extendida.

Las células neoplásicas cultivadas in vitro se caracterizan, a la vez, por un activo proceso anabólico y por una diferenciación muy acentuada, modificación estructural que guarda un estrecho paralelismo con la intensidad de proliferación. Este fenómeno, que es mucho más marcado en las culturas del sarcoma que en las del carcinoma, está relacionado con la estructura de células de tipo embrionario, con filamentos protoplasmáticos a veces muy largos, que adquieren aquéllas y que facilitan los movimientos activos, que les dan la propiedad de dispersión tan grande, que poseen estos elementos en la zona de invasión de la cultura. Ahora bien, este nuevo estado de la célula, no sólo morfológicamente considerado, que le da caracteres embrionarios acentuados, sino también bajo el punto de vista del nuevo medio en que se desarrollan y que produce trastornos en su biología, ¿es causa también de modificaciones de la malignidad? Los resultados de las experiencias efectuadas con inoculaciones de ción, demuestran no sólo la conservación de esta propiedad adquirida de la célula, sino también la transmisión de ésta a las células hijas y lo que es más interesante aún, su intensificación, si se comparan los tumores desarrollados con el ritmo que tienen ordinariamente los tumores.

En una serie de experiencias efectuadas, se han inoculado culturas de 24, 48 y 76 horas y de 13 días. En otra se han inoculado culturas de distinta edad, pero que han permanecido en el frigo hasta cinco días.

Ratas	Tiempo de la cultura	Observación	
		A los 11 días $\frac{1}{4}$ del tamaño	A los 22 días, $\frac{1}{4}$ del tamaño
144/30	24 horas		
511/1	24 »		
531/3	24 »		
531/4	24 »		
531/5	24 »	—	—

(1)

(1) Se inoculan dos culturas.

Ratas	Tiempo de la cultura	Observación	
		A los 11 días, $\frac{1}{4}$ del tamaño	A los 22 días, $\frac{1}{4}$ del tamaño
531/1	36 horas		
531/2	36 »		
515/1	48 »		
515/2	48 »		
515/4	48 »		
513/1	48 »		
513/2	48 »		
513/3	48 »		

(1)

(1)

(2)

(1)

(1) Se inoculan dos culturas.

(2) Se inoculan tres culturas.

Ratas	Tiempo de la cultura	Observación		
		A los 11 días	A los 35 días	A los 22 días
513/5	48 horas			 (1)
599/1	48 >			
499/2	48 >			
499/3	72 >			

(1) Se inoculan dos culturas.

Culturas conservadas en frigo

Ratas	Tiempo de la cultura	Permanencia en el frigo	Observación	
			A los 11 días, 1/4 del tamaño	A los 22 días, 1/4 del tamaño
520/7	48 horas	2 días		
145/44	48 >	2 >		
517/2	48 >	3 >		
517/1	48 >	3 >	—	—
517/3	48 >	4 >		
517/4	48 >	4 >	—	—
517/5	48 >	7 >	—	—
516/1	96 >	24 horas		
516/2	96 >	24 >		
516/3	96 >	24 >		
516/4	96 >	24 >		
516/5	96 >	24 >		 (1)

(1) Se inoculan dos culturas.

Cultura de 14 días, mantenida en desarrollo por renovación sucesiva del plasma

Cultivo	Fecha de la siembra	Fecha de la inoculación	Observación a los 90 días $\frac{1}{4}$ del tamaño	Evolución
171/30	13/XII	27/XII	—	
171/29	13/XII	27/XII		49 días
171/27	13/XII	27/XII		42 "
171/26	13/XII	27/XII		40 "
171/25	13/XII	27/XII		45 "
171/23	13/XII	27/XII		41 "
171/22	13/XII	27/XII	—	
171/21	13/XII	27/XII		38 "

En una tercera serie de experiencias se han inoculado culturas que han alcanzado un mayor desarrollo — de 14 días — por renovación periódica del medio nutritivo.

De los anteriores resultados resumidos en el cuadro se desprende:

- Que la célula neoplásica cultivada in vitro, conserva el poder de proliferación que caracteriza su malignidad y que trasplantada al animal, desarrolla tumores que evolucionan en forma semejante a los de origen. Sin embargo, se aprecia que el ritmo de crecimiento de estos tumores es más acelerado, notándose esta particularidad especialmente en los primeros días, observándose que hay ya desarrollo de neoplasia antes que en los controles;

- La proliferación de varias culturas inoculadas en un mismo animal se hace independientemente unas de otras, desarrollando varios tumores hasta que su masa se confunde, como se observa con los cultivos 531/1, 531/2 y 531/3.

Cuando la inoculación de dos o más culturas se ha efectuado a mayor distancia una de otra, el desarrollo de los tumores conservan su independencia hasta el final de su evolución, como ha sucedido con las culturas 215/2, 213/5, 516/5, de inoculación doble y la 513/2 de inoculación triple;

- La permanencia en el frigo por más de 24 horas, período de tiempo que puede alcanzar hasta cuatro días (cultura 517/4), no modifica el poder proliferativo de las células neoplásicas;
- Las culturas mantenidas en actividad, por renovación del medio hasta 14 días, no altera sus condiciones proliferativas, desarrollando tumores en las condiciones ordinarias.

Estos resultados se repiten inyectando las culturas en la circulación venosa y que reproducen también tumores, evidenciando así la participación tan activa que tiene la célula cancerosa en la formación de una neoplasia maligna en un terreno propicio. Esta célula embolizada por la corriente linfática o sanguínea, al detenerse y fijarse en otro órgano, continúa multiplicándose con el potencial de crecimiento y de función que ha adquirido en su evolución maligna.

Las experiencias efectuadas con el objeto de producir tumores que pueden relacionarse con las metástasis, utilizando para ello culturas de varios días, de sarcoma fusocelular de rata, han dado los siguientes resultados:

EXPERIENCIA I. — Cultura 283/56 de 48 horas. — Se inyectan tres ratas. Una muere en seguida y las otras dos restantes se sacrifican a los 30 días, encontrándose en el pulmón de la rata 2, numerosos nódulos metastásicos del tamaño de una cabeza de alfiler a una lenteja. En el examen histológico se observa la estructura del sarcoma fusocelular (prep. 1). En la rata 3, se ha desarrollado en el lóbulo inferior del pulmón derecho, un tumor que ocupa todo el lóbulo, y además metástasis diseminadas en los dos pulmones. La estructura histológica reproduce el sarcoma fusocelular original.

EXPERIENCIA II. — Cultura 284/21 de 4 días. — Se inyectan tres ratas que son sacrificadas a los 40 días, observándose en todas la producción de pequeñas tumoraciones, que responden al tipo histológico del sarcoma fusocelular.

Los tumores así desarrollados se presentan en estado de pureza histológica, sin zonas de necrosis y en actividad proliferativa muy marcada.

El crecimiento periférico del nódulo (prep. I) se hace por invasión de las paredes alveolares (prep. II), rodeando preferentemente los capilares sanguíneos (prep. III) y posteriormente se produce una irrupción celular en el alveolo, que se llena por completo con tejido neoplásico (prep. IV).

Como podría atribuirse estos resultados a una posible conservación de la vitalidad del pequeño trozo de tejido, origen de la cultura, se han tomado trozos de iguales dimensiones y se han conservado en líquido de Ringer en la estufa a la misma temperatura que las culturas, transplantándose por vía subcutánea, en ratas blancas, 2, 3, 4 y 5 días después. De las 12 ratas así tratadas, ninguna desarrolló tumor.

En presencia de los resultados obtenidos, debe atribuirse la célula neoplásica, desarrollada *in vitro*, la conservación de su propiedad y actividad neoplásica biomorfológicamente considerada, carácter que conserva a través de varias generaciones.

*
* *

En la exposición de los hechos mencionados anteriormente se desprende que la biología del cáncer comprende dos factores subordinados, uno que es inherente a la célula cancerizada y el otro que es dependencia del terreno en el cual se desarrolla. Las modificaciones en la evolución de los tumores, observadas de acuerdo con modificaciones biológicas del terreno; las diferencias de composición química mineral, de materias ternarias, de coloides, etc., dan a este factor una importancia particular, en cuyo mejor conocimiento deben tender las investigaciones. Ahora bien está en las alteraciones del quimismo de los tejidos del huésped y de sus humores, lo que prepara el terreno para el desarrollo del tumor. ¿O las modificaciones que la investigación ha comprobado, son una consecuencia de la biología tan alterada de la célula neoplásica?

Se comprende el valor de esta cuestión, en cuya solución está, no solo lo que a la etiología se relaciona, y aún al tratamiento biológico, sino que en ello va involucrado también el mejor conocimiento del estado precanceroso, que interesa establecer lo antes posible, no solo como elemento de diagnóstico, sino como prevención y aún como

báse de un buen tratamiento. El factor terreno ejerce una marcada influencia sobre la evolución del tumor, como se aprecia:

I°) En el cáncer trasplantado, en el cual las condiciones individuales que pertenecen a la edad, origen, raza, etc. del animal, o a condiciones artificiales, ya por modificaciones de nutrición, por vacunación, etc., regulan el desarrollo del tumor.

II°) En el cáncer provocado por el alquitrán, donde la receptividad es muy variable en animales de especies diversas aunque próximas, y aún entre los de un mismo tronco.

III°) En la observación del cáncer humano, donde a la par que muchos de estos factores se repiten — edad, raza —, encontramos la influencia poderosa que tienen ciertas intoxicaciones crónicas — el alcoholismo, el tabaco, la parafina, la sífilis. — No es solamente en el sentido de irritantes que debemos considerar su acción, sino como modificadores del terreno y que, refiriéndonos especialmente a la sífilis y alcohol, lo hacen profundamente.

Existen, por otra parte, elementos de juicios derivados de la contenido mineral, pero, de mayor importancia en este sentido, son las recientes determinaciones que establecen la relación antagónica que el potasio y el calcio tienen como reguladores del crecimiento de los tejidos y que se encuentra modificada en los cancerosos. Se sabe, por otra parte, todo el valor que tiene el potasio como elemento biogénico, y es en relación con ello que su existencia se encuentra aumentada en estos tejidos y en otros de funciones de crecimiento tan activas como son los embrionarios. Otro tanto puede decirse de un metal de funciones bioquímicas semejantes, como es el zinc, que se encuentra a su vez aumentado de los tumores en relación con los tejidos normales de la rata, así como también en los tejidos embrionarios. Por otra parte, la composición ternaria presenta a su vez modificaciones, no solamente en los tejidos, sino en los humores, cuya riqueza en coloides, especialmente en colestérina y el poder reductor, son más acentuados en los cancerosos que en los normales; resultados que se relacionan a su vez con las modificaciones que señalan las determinaciones físico-químicas de tensión superficial, conductibilidad, etc.

Estas informaciones establecen que al terreno modificado, sea por un estado previo de preparación, o como producto del metabolismo alterado, se le dé una importancia preponderante e las investigaciones actuales.

ble del contenido en todo el animal portador. En cuanto a los tejidos normales, su contenido en potasio se encuentra en relación con la intensidad del funcionalismo, alcanzando su máximo en los primeros momentos de la vida embrionaria (cuadro I y III).

En lo que se refiere al calcio, su contenido sufre pocas variantes, tanto en la evolución de los animales normales (cuadro VI), como en los tumores (cuadro VII).

Un fenómeno semejante se observa con otro metal de propiedades bioquímicas semejantes: el zinc.

Encontrado en los tejidos animales y vegetales, su presencia ha sido determinada después de las interesantes investigaciones de Delezenne (1919) y considerado como un constituyente esencialmente celular. Es así también que se ha llegado a demostrar en las experiencias con veneno de serpiente, que el zinc tiene una acción de importancia en los "fenómenos diastásicos que presiden al desdoblamiento de los fosfátidos y núcleos proteídos". Estos venenos son tanto más hemolíticos, cuanto mayor es su contenido de zinc. Por otra parte, las determinaciones de Ghiglioto, Giaya (11) y Vladesco (12), indican más zinc en los tejidos fetales que en los adultos.

Para conocer mejor esta acción del zinc, hemos efectuado varias series de experiencias, primero en animales normales, en fetos y adultos de distintas edades, y después en tumores y en animales portadores de los mismos. Se ha procedido para ello con el método de Bertrand, habiéndose tenido especial cuidado en las determinaciones, de evitar las causas de error ya por la introducción accidental durante las manipulaciones, o ya por el agregado de partículas adheridas en el pelo de los animales, que han sido sometidos todos ellos a un mismo régimen de alimentación y de vida.

En lo que al tejido del tumor se refiere, es posible establecer una gradación con su evolución, observándose entonces que, cuanto más joven es el tumor, tanto más zinc contiene por 100 de materia seca. Por otra parte, estos resultados han recibido una amplia confirmación con las culturas de tejidos in vitro en la que es posible modificar el desarrollo y crecimiento del tejido, tanto normal

(11) S. GIAYA: *Le zinc dans l'organisme humain*. C. R. Sc. Sc. t. LCIV. 1920.

(12) VLADESCO R.: *Recherches sur la presence et le rôle du zinc chez les animaux*. Paris. 1921.