

# CONTRIBUCION AL ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL CANCER

ETIOPATOGENIA. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL

Por OSCAR MIRÓ QUESADA CANTUARIAS

*Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de  
Higiene y Salud Pública*

## INTRODUCCION

Ciñéndonos al criterio esencialmente experimental de la Cancerología contemporánea, podemos dividir el estudio del cáncer hasta la fecha en nueve períodos de importancia trascendental, a saber :

1er. Período. Trasmisión experimental del cáncer animal por medio del injerto tumoral (Trasmisión celular). HANAU, Suiza 1889 (Fecha en que nace la Cancerología moderna) (169).

2º Período. Producción experimental del cáncer por medio de estímulos irritativos crónicos. A. BORREL, Francia 1901. (Fecha en que nace el estudio inflamatorio del cáncer) (26).

3er. Período. Cultivo de tejidos "in vitro", que facilita el estudio citofisiopatológico de las células neoplásicas. ALEXIS CARREL (38) y M. T. BURROWS (31). Estados Unidos de Norteamérica, 1910. (Nace el estudio metacelular del cáncer).

4º Período. Trasmisión experimental no-celular del cáncer en las aves. PEYTON ROUS (133). Estados Unidos de Norteamérica, 1910. (Fecha en que nace el estudio bacteriológico del cáncer).

5º Período. Comprobación experimental del factor hereditario de predisposición cancerosa. E. E. TYZZER (163) y MAUD SLYE (148). Estados Unidos de Norteamérica, 1907 y 1914, respectivamente. (Nace el estudio genético del cáncer).

6º Período. Producción experimental del cáncer con alquitrán de hulla. YAMAGIWA E YCHIKAWA (177). Japón, 1915. (Fecha en que nace el estudio químico del cáncer).

7º Período. Profilaxis del cáncer mamario en los ratones hembra por la castración. LEO LOEB (103). Estados Unidos de Norteamérica, 1916. (Fecha en que nace el estudio endocrinológico del cáncer).

8º Período. Estudio experimental del metabolismo de los tejidos neoplásicos. OTTO WARBURG (166). Alemania, 1926. (Nace el estudio metabólico del cáncer).

9º Período. Estudio químico experimental del cáncer con los notables trabajos de las escuelas de JAMES WILFRED COOK (43) en Inglaterra en 1932, de A. WINTERSTEIN, H. VETTER y K. SCHÖN (172), y de GERHARD DOMAGK (53) en Alemania, en 1935 y 1936, respectivamente; y de LOUIS F. FIESER (57) en los Estados Unidos de Norteamérica en 1935. (Epoca actual de los estudios sobre etiología bioquímica del cáncer).

Como es fácil observar en la literatura cancerológica, es de estas nueve firmes columnas que arranca el prolífero estudio científico del cáncer. En la actualidad, el incalculable número de trabajos experimentales que atacan aparentemente el problema desde muy diversos ángulos, en el fondo traslucen el nexo directo que los une con sus 9 bases históricas de origen. Podemos pues considerar los datos positivos que nos ofrecen los trabajos experimentales en cáncer hasta la fecha, como nueve direcciones de trabajo que convergen hacia un mismo centro : el Mecanismo Etiopatogénico del Cáncer.

#### *HIPOTESIS DE TRABAJO*

“El hecho, pues, de que una teoría científica afirme cosas opuestas a nuestras creencias habituales y a lo que percibimos, no significa que su afirmación no sea verdadera y no exprese lo que hay de más profundo y cierto en la realidad” (119). Es basándonos exclusivamente sobre esta observación y sobre el acopio de hechos experimentales que nos ofrece la Cancerología contemporánea, que elaboramos la presente hipótesis de trabajo sobre la etiopatogenia del cáncer, la cual pensamos, nos servirá de cauce firme en la orientación del trabajo experimental.

De las 9 direcciones fundamentales que ha tomado la investigación cancerológica moderna se desprenden ciertos hechos que llaman poderosamente la atención, sobre todo en el campo de la producción de tumores malignos en animales. Se destacan entre muchos ensayos experimentales por su indiscutible respaldo estadístico tres técnicas, a saber :

1º La obtención espontánea de tumores cancerosos por medio de la selección genética. 2º La obtención experimental de neoplasmas por me-

dio de la inyección prolongada de hormonas sexuales. 3º La producción experimental de blastomas malignos por medio de sustancias químicas puras.

Las cifras de morbilidad cancerosa obtenidas por diversos autores en la producción de cánceres experimentales por medio de estas tres técnicas, sobrepasa por amplio margen a las cifras estadísticas que arrojan otros métodos empleados con igual objeto. Así :

I. Los notables trabajos que vienen realizando por más de 20 años las escuelas de E. E. TYZZER, M. SLYE, A. E. C. LATHROP y LEO LOEB (163, 149, 94, 104, 105), en los Estados Unidos y de N. DOBROVOLSKAIA-ZAVADSKAIA (50) en Francia, han demostrado terminantemente que en los ratones la aparición del cáncer espontáneo se halla ligada a un gene mendeliano. Así MAUD SLYE (150, págs. 83-84), basándose en los resultados de selección genética obtenidos con cerca de 65.000 ratones de razas cáncer-sensibles y cáncer-resistentes puras, opina que las irritaciones o lesiones tanto microscópicas como macroscópicas, parecen desempeñar un papel preponderante en la génesis del cáncer animal, cuando tienen lugar en un terreno hereditariamente predispuesto a dicha enfermedad por los factores genéticos antes mencionados. Estos hechos han quedado consagrados en los últimos años por los originales trabajos de J. J. BITTNER (21, 22, 23, 24), K. B. DEOME (49) y H. B. ANDERVONT (5, 6, 7), sobre el interesante fenómeno de la influencia que ejerce la lactación materna en la aparición del cáncer mamario en los ratones de sepas cáncer-sensibles. Es decir, pues, hechos que corroboran el papel fundamental que juegan los mecanismos hereditarios en la transmisión de la predisposición o susceptibilidad cancerosa. Por otro lado, aunque a priori parezca que el trabajo de los mencionados autores complica el cuadro del estudio genético del cáncer, al poner en juego el Factor Lácteo Cancerígeno de Bittner o MTI de WOOLLEY, LAW Y LITTLE (176), creemos sin embargo, que por el contrario estos nuevos hechos que aporta la Cancerología moderna sirven de magnífico anillo de enlace entre la investigación genética y endocrinológica del cáncer. Basta para ello recordar los trabajos de actualidad sobre el control endocrino de la lactación realizado por las hormonas esteroides aisladas de la corteza suprarrenal, llevados a cabo por la escuela de E. C. KENDALL (66).

De este cúmulo de datos positivos que nos ofrece el estudio genético del cáncer, podemos generalizar sin temor científico, que en la etiopatogenia del cáncer del ratón intervienen dos factores fundamentales :

1º Susceptibilidad al cáncer condicionada por un factor hereditario de carácter mendeliano, y 2º Un estímulo irritativo tisular, fisiológico u

accidental en alguna época de la vida del animal, que representaría el "disparo" que inicia la proliferación celular atípica en el animal predisuesto por el factor hereditario.

II. En cuanto al hecho trascendental que registra la Cancerología moderna de la inducción de tumores malignos en los animales por medio de inyecciones prolongadas de hormonas sexuales, ya no es posible dudar de su veracidad científica dado el enorme acopio de resultados experimentales que lo respaldan. Son las escuelas de A. LACASSAGNE en Francia (84, 85, 86, 87, 88, 89, 90), de LEO LOEB y A. E. C. LATHROP en Norte América (106, 107, 108, 109, 110) y de ALEJANDRO LIPSCHÜTZ en Chile (97, 98, 99, 100, 101, 102), así como numerosos autores contemporáneos (2, 30, 64, 123, 145), las que han demostrado concluyentemente que la administración prolongada de hormonas de la serie de los estrógenos induce la aparición de cánceres en los animales de experimentación. Es altamente significativo el hecho que los neoplasmas obtenidos con esta técnica se desarrollan en mayor porcentaje en aquellos tejidos que fisiológicamente presentan especificidad reaccional frente a esta clase de compuestos químicos : glándula mamaria, útero y vagina. Es aún más llamativo el hecho comprobado últimamente por la escuela de MICHAEL B. SHIMKIN y HOWARD B. ANDERVONT, que el tejido intersticial del testículo también reacciona en forma atípica a la estimulación prolongada con estrógenos (145). En este sentido los resultados experimentales de muchos otros autores (25, 71, 92, 124), corroboran ampliamente el concepto emitido por LEO LOEB y su escuela, quien atribuye rol preponderante como factor estimulante de la proliferación tisular en el origen del cáncer mamario de los ratones, a las hormonas sexuales estrógenas; principalmente Estrona y alfa-Estradiol (111). La confirmación experimental de esta interpretación la da el resultado obtenido por el mismo Loeb con diferentes razas homocigotes de ratones (sepas norteamericanas A, D, C57, CBA y C3H), en las que consiguió hacer inportos positivos de lóbulos anteriores de hipófisis en ratones hembras normales y castradas. Las primeras desarrollaron un 24.7 % de adenocarcinomas de la mama, mientras que las segundas acusaron 0 % de aquel proceso neoplásico (112). Estos hechos no dejan lugar a duda del papel que desempeñan los Estrógenos en la etiología del cáncer animal, sabiendo el estrecho sinergismo endocrino existente entre el lóbulo antehipofisiario y las gonadas (1,40).

Loeb sintetiza en forma brillante el resultado de 24 años de investigaciones experimentales en su ecuación de la etiología del cáncer (111) :

$$S \times H - C$$

en la que S significa factores estimulantes de la proliferación tisular, H, representa al factor hereditario de la predisposición cancerosa y C el cáncer resultante, haciendo la salvedad en el trabajo que comentamos, que dicha ecuación probablemente no sea exacta desde un punto de vista cuantitativo. Es decir, que para la escuela de Leo Loeb el cáncer es el resultado de la acción de un factor hereditario (H) que prepara el terreno sobre el cual actuarán los factores estimulantes (S); mecanismos hormonales que incitan la proliferación celular en los tejidos ya preparados.

Todo lo anteriormente expuesto tiende a indicar que los factores estimulantes que condicionan el inicio de la proliferación celular activa para ciertos tipos de cáncer animal (Glándula mamaria y órganos genitales), han sido localizados dentro del complejo armónico de las secreciones internas; hecho este, que vienen a reforzar los trabajos antes citados de las escuelas de J. J. BITTNER y H. B. ANDERVONT sobre la existencia de un factor lácteo cancerígeno (MTI) en relación con un gene mendeliano en las razas de ratones cáncer-susceptibles. En otras palabras, el factor Genético y el factor Endócrino se hallan estrechamente vinculados el uno al otro en el mecanismo íntimo de la etiopatogenia cancerosa. Este concepto encuentra sólido apoyo en la autorizada opinión del profesor EDGAR ALLEN (2).

De esta serie de importantes trabajos experimentales en el estudio endocrinológico del cáncer, podemos inferir lo siguiente:

Que las hormonas esteroideas, en especial las hormonas sexuales estrógenas y ciertos productos exócrinos aún desconocidos químicamente (factor lácteo cancerígeno de BITTNER o MTI (28), desempeñan un papel preponderante como estimulantes tisulares específicos de la proliferación celular activa en un organismo predispuesto al cáncer por el factor Hereditario.

III. Al lado de estas dos importantes direcciones del estudio experimental del cáncer, se halla hoy día en pleno desarrollo otra línea no menos importante de la investigación cancerológica, la cual se ha consagrado a dilucidar, desde un punto de vista químico, la posible estructura de los aún imprecisos "factores estimulantes". Son principalmente las escuelas de J. W. COOK en Inglaterra; de H. WIELAND, A. WINDAUS, G.

DOMAGK, A. BUTENANDT, E. CLAR y E. LAQUEUR en Alemania; y de LOUIS F. FIESER y M. J. SHEAR en los Estados Unidos de Norteamérica, las que en magistral forma han contribuido a la investigación etiológica del cáncer empleando la herramienta química en su estudio.

Desde que YAMAGIWA e YCHIKAWA en el Japón, en 1915, hicieron el trascendental descubrimiento que con pincelaciones repetidas de alquitrán de hulla aplicadas durante un periodo de tiempo suficientemente largo en la cara interna de las orejas de conejos, se desarrollaban neoplasmas de tipo papilomatoso (177), el número de investigadores que "asaltaron" al alquitrán para tratar de descubrir la causa del cáncer, fué incontable. Solo después de innumerables y pacientes trabajos se pudo arrancar el secreto maligno que escondía el negro alquitrán de hulla. Corresponde este mérito al esfuerzo en conjunto de un grupo de investigadores notables. L. KENNAWAY, I. HIEGER, W. V. MAYNEORD y E. M. F. ROE en Inglaterra; y MIESCHER, ALMASY y KLÄUI en Alemania. Estos investigadores aplicaron al análisis químico del alquitrán de hulla el control físico-óptico de la Espectrografía fluorescente y ultravioleta (82, 74, 75, 4), descubriendo que el alquitrán de hulla en determinadas condiciones experimentales, poseía bandas de emisión fluorescente definidas, cuyas máximas constantes se encontraban entre las 4,000 y 4,400 Å de la región del espectro visible. Estas características espectrográficas fueron observadas posteriormente con mayor nitidez, en las fracciones de alquitrán de hulla de máximo poder cancerígeno, o sea aquellas que destilaban entre los 300° y los 400°C. Ya BLOCH y WIDMER en 1920 en Alemania, habían atribuido la acción cancerígena de estas fracciones del alquitrán de hulla a la posible presencia de Hidrocarburos aromáticos de gran peso molecular.

Fueron JAMES WILFRED COOK y colaboradores en Inglaterra, quienes aplicando el control espectrográfico de MAYNEORD, HIEGER y KENNAWAY, tuvieron el honor de llegar a aislar por primera vez en el mundo en 1932, y en forma químicamente pura, la sustancia de potencia cancerígena inusitada que encerraba el alquitrán de hulla, pudiéndola preparar además por vía sintética (43). Esta misteriosa sustancia que tantos desvelos había causado a los hombres de ciencia del mundo entero, fué bautizada con el nombre de 3 : 4-Benzopireno de acuerdo con la nomenclatura química moderna. Su estructura, como bien lo había previsto muchos años antes el genio de BLOCH y WIDMER, correspondía al grupo de los Hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus caracteres espectrográficos fluorescentes mostraban bandas netas con máximas de emi-

sión en las 4,040 y 4,270 Å, es decir, comprendidas en la región espectral de las 4,000 a las 4,400 Å.

Por otro lado, en el año 1929, E. CLAR en Alemania, había conseguido preparar por un nuevo método de síntesis, una sustancia química derivada del tan conocido y común Antraceno: el 1:2:5:6-Dibenzantraceno (39). Esta sustancia como todas las de la serie del Antraceno, posee propiedades fluorescentes. Valiéndose de los resultados del análisis espectrográfico, la escuela inglesa de KENNAWAY y HIEGER emitieron la hipótesis, que esta sustancia debería poseer propiedades cancerígenas. El ensayo biológico subsiguiente comprobó ampliamente tal suposición.

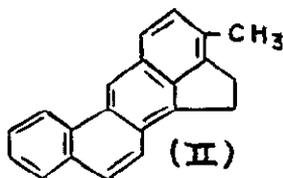
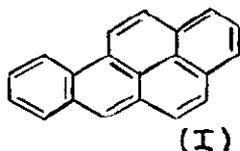
Dentro de este enorme bagaje de datos experimentales con que cuenta hoy día la química del cáncer, descuella por sus trascendentales proyecciones, el descubrimiento de la sustancia cancerígena más potente que se halla registrado hasta la fecha: nos referimos al 20-Metilcolantreno.

Tan lejos como el año 1925, la escuela alemana de H. WIELAND empeñada en su brillante estudio de la serie de los Ácidos Biliares, obtuvo por procesos de degradación catalítica partiendo del ácido Desoxicólico, una nueva sustancia química que catalogó como el Dehidronorcoleno (170). Posteriormente H. WIELAND y E. DANE continuaron el estudio de degradación oxidativa de este producto, obteniendo en 1933, como producto final de degradación del ácido Desoxicólico, el 20-Metilcolantreno (171). La escuela inglesa de J. W. COOK, E. L. KENNAWAY y colaboradores, concluyeron el trabajo de la escuela alemana al descubrir en las pruebas biológicas que el 20-Metilcolantreno poseía una potencia cancerígena inigualada hasta la fecha, y un espectro fluorescente en concordancia con sus propiedades cancerígenas. Con posterioridad la escuela norteamericana de LOUIS F. FIESER obtuvo el terrible 20-Metilcolantreno por una degradación oxidativa del más abundante de los ácidos biliares de la Bilis normal: del ácido Cólico (57).

Es desde esta memorable fecha que se inicia con ímpetu cada vez mayor la investigación química de compuestos cancerígenos, colaborando en esta ardua y proficua tarea hombre a hombre el químico, el físico y el biólogo. En la actualidad existen más de doscientos cuerpos químicos diferentes, preparados por vía sintética, que han sido ensayados biológicamente para determinar su poder cancerígeno (142, 143). Y si consideramos que el ensayo biológico para investigar la potencia cancerígena de una sola sustancia química exige de 3 meses a 2 años de trabajo, según sea el poder del producto, podemos comprender cuan laboriosa ha sido la investigación química del cáncer.

De este admirable conjunto de trabajos del estudio químico del cáncer se desprenden dos hechos fundamentales:

1º Las sustancias químicamente puras de estructura perfectamente establecida, que se han logrado preparar por vía sintética y que poseen el grado más alto de poder cancerígeno conocido hasta la fecha, son:



2º Ambas sustancias pertenecen al grupo químico de los Hidrocarburos policíclicos de anillos bencenoides condensados, es decir poseen carácter aromático en su molécula.

3º El Hidrocarburo policíclico aromático de máxima potencia cancerígena conocido, posee dentro de su estructura química íntima el esqueleto del ciclopentanoperhidrofenantreno aromatzado; esqueleto estructural que caracteriza al grupo químico de los esteroides al que pertenecen sustancias químicas de importancia biológica fundamental.

Analizando las conclusiones que se desprenden de estas tres direcciones que sigue el trabajo experimental en cancerología moderna, podemos llegar a formular ciertos conceptos que por el respaldo que poseen en hechos positivos, ofrecen suficiente consistencia para apoyar en ellos una hipótesis de trabajo experimental. Las conclusiones generales a que podemos llegar son:

I. Que en la Etiopatogenia del cáncer intervienen dos factores fundamentales: a) Predisposición al cáncer condicionada por un factor hereditario de tipo mendeliano, y b) Un estímulo irritativo tisular, fisiológico u accidental en alguna época de la vida del animal, que inicia una forma activa de proliferación celular. (Conclusiones que se desprenden

del análisis de los resultados experimentales en el estudio genético del cáncer).

II. Que en la Etiología del cáncer las hormonas pertenecientes al grupo químico de los Esteroides, en especial las hormonas sexuales estrógenas y ciertas sustancias químicamente desconocidas de origen exócrino, desempeñan un papel preponderante como estimulantes específicos de ciertos tejidos, desencadenando en ellos fenómenos de activa proliferación celular. Si dichos estímulos coinciden con un terreno predispuesto al cáncer por el factor hereditario, el cáncer desarrollará en aquel de dichos tejidos mayormente expuesto a la acción de los estímulos específicos arriba mencionados. (Conclusión que se desprende del análisis del estudio endocrinológico experimental del cáncer).

III. a) Que para la producción experimental de tumores malignos con sustancias químicas puras, parece ser atributo indispensable de la cualidad cancerígena el carácter aromático de dichas sustancias; y b) Entre todas las sustancias químicas cancerígenas conocidas hasta la fecha, destaca por su extraordinario poder cancerígeno el 20-Metilcolantreno; sustancia que posee dentro de su estructura molecular el esqueleto del Ciclopentanoperhidrofenantreno aromático. Siendo esta última estructura molecular saturada, el esqueleto estructural que caracteriza al grupo químico de los esteroides, al que pertenecen sustancias de importancia biológica fundamental. (Conclusiones que se infieren del estudio químico experimental del cáncer).

Hemos visto que en el mecanismo de la cancerización animal intervienen aparentemente dos factores: Un factor de predisposición cancerosa transmitido por un mecanismo hereditario y diversos factores estimulantes de la proliferación celular activa que parecen guardar íntima relación con los caracteres hereditarios y que se hallan en estrecha vinculación con el funcionamiento patológico del sistema endocrino. La entrada al escenario fisiológico de estos dos factores en un mismo individuo, tendría por epílogo forzoso la tragedia del cáncer.

Este concepto se halla condensado en la ecuación de Loeb (III), que ya hemos ilustrado al discutir el estudio endocrinológico del cáncer. Pero si es cierto que la ecuación de LOEB sintetiza en forma magistral los conceptos fundamentales que se desprenden por análisis lógico de los resultados obtenidos por la Cancerología moderna, sin embargo existen una serie de datos experimentales que aparentemente invalidan dicha

ecuación. Nos referimos a la producción experimental de tumores malignos por estímulo inespecíficos. Así por ejemplo, L. I. FOLIN y K. E. GROMZEWA (60, 61) han llegado a inducir la aparición de Teratomas testiculares en las aves inyectando soluciones de Sulfato de Zinc dentro del tejido testicular. Dichos tumores no aparecen sino durante los meses de primavera, cuando comienza la espermatogénesis en dichos animales, siendo posible que en su mecanismo determinante entren en juego factores estimulantes hormonales; como piensa el mismo FOLIN quien atribuye dicho fenómeno a las hormonas Gonadotropas.

Por otro lado LEO LOEB y colaboradores, tratando de demostrar como las neoformaciones sarcomatosas se desarrollan bajo condiciones mucho menos específicas que las carcinomatosas, obtuvieron sarcomas en ratones inyectados con una solución de ácido clorhídrico tamponada con ftaleína, después de aplicaciones repetidas y prolongadas (154).

Además, debemos considerar aquí los variados factores estimulantes que intervienen en los conocidos cánceres profesionales; como son: el cáncer de los destiladores de carbón de hulla (58), el cáncer de los radiólogos, el cáncer de los deshollinadores (62) y el cáncer del pulmón de los policías de tráfico y mecánicos de vehículos motorizados de las ciudades modernas (131). Del mismo modo debemos considerar los resultados experimentales del jefe de la escuela cancerológica argentina, profesor ANGEL H. ROFFO, quien ha logrado inducir carcinomas en la cara interna de las orejas de una serie de 110 conejos con pincelaciones repetidas del producto de la destilación seca de 9 variedades de tabacos, obteniendo un promedio de cancerización de 45.17 % en los animales así tratados (132).

Por último, debemos añadir a nuestro análisis de los factores inespecíficos, el resultado de las experiencias llevadas a cabo con cierta clase de tumores trasmisibles de las aves, de mamíferos y de batracios, los cuales según las apariencias indican, parecen originados por virus filtrables (133, 134, 135, 115). En la actualidad, sin embargo, para el distinguido fundador de la doctrina bacteriológica del cáncer, profesor PEYTON Rous, el mecanismo de la inducción del cáncer por medio de virus filtrables sería debido a una invasión por el virus de un tejido previamente preparado por el estímulo hormonal, siendo el virus el estímulo directamente responsable de la transformación maligna del tejido (134).

Para terminar este sucinto análisis de la diversidad de factores estimulantes que son capaces de inducir la proliferación maligna en determinados tejidos, debemos recordar que los estímulos cancerígenos que destacan en primer plano por la regularidad con que inducen la apari-

ción del cáncer experimental y por el alto porcentaje de tumores malignos obtenidos en los animales de experimentación sometidos a su acción (100 % de tumores malignos en ratones homocigotes cáncer-sensibles y 85 % en ratones homocigotes cáncer-resistentes, con una sola inyección subcutánea) (56,144), son los Hidrocarburos cancerígenos. Hecho este que destaca claramente la autoridad del profesor GERHARD DOMAGK (53, pág. 274). Por todo lo expuesto, de esta gran variedad de estímulos cancerígenos aparentemente contradictorios, se desprende que el factor "predisposición cancerosa" es el que domina el panorama de la inducción experimental de tumores, como últimamente ha quedado sancionado por los trabajos de E. LORENZ y M. B. SHIMKIN (114); mientras que dentro de la gran diversidad de estímulos cancerígenos artificiales, saltan a primer plano los compuestos químicos de la serie de los hidrocarburos policíclicos aromáticos por su gran potencia cancerígena inigualada hasta la fecha por todos los demás estímulos cancerígenos ensayados (42, 56, 142, 143, 144). Es dable preguntarse: ¿y estos hechos qué relación guardan el uno con el otro? ¿Qué vinculación puede tener un hecho biológico como es la predisposición con un dato artificial como es la inducción experimental de cánceres animales por medio de hidrocarburos policíclicos aromáticos? Creemos que ambos hechos seleccionados de la gran cantidad de datos experimentales que nos ofrece la oncología contemporánea, no se excluyen sino se complementan. Y tan se complementan, que pensamos rehabilitan en forma perfectamente lógica la ecuación de LOEB:  $S \times H = C$ . En que H podría ser reemplazada por P, que representaría la "predisposición cancerosa" transmitida por un mecanismo hereditario o adquirida durante la vida del animal por su relación con el medio ambiente (intoxicaciones crónicas específicas? Estímulos del tipo del factor lácteo cancerígeno de BITTNER?); y S representaría al estímulo específico que inicia la proliferación celular atípica en el organismo predispuesto (probablemente de tipo Hidrocarburo policíclico con carácter aromático fabricado por el mismo organismo animal con predisposición cancerosa; es decir, que sería una sustancia "Endoncógena"). C, sería el cáncer resultante de la interacción complementaria de los dos factores antes señalados. En último análisis, el cáncer (C) sería la función de dos variables estrechamente unidas entre sí: Predisposición Cancerosa (P) y Factor Estimulante (S). Conceptos que pueden condensarse en la siguiente expresión:

$$C = f(P, S)$$

en que C = cáncer resultante; P = predisposición cancerosa hereditaria o adquirida; S = factor estimulante de la proliferación celular atípica; y f = ley de relación funcional en que se hallan los argumentos con la variable dependiente, y que es precisamente la relación que debe ser determinada por la experimentación cancerológica.

No pretendemos afirmar a priori que esta expresión corresponda a una función estrictamente matemática, pero si tenemos el derecho de interpretarla como una "Función Proposicional" de acuerdo con las leyes de la lógica (96); es decir, como una expresión cuya verdad o falsedad depende de los valores atribuibles a las variables independientes, en cuanto dicha verdad está determinada de una manera u otra por éstas. Raciocinio que se halla en perfecto acuerdo con las premisas de la Epistemología (120). Y no cabe duda que el número de hechos experimentales que ofrece la cancerología moderna, permite sin mayores interpretaciones llegar a esta expresión explicativa del mecanismo de la cancerización.

#### FACTOR ESTIMULANTE "S"

¿Cual sería la naturaleza del factor estimulante "S"? ¿Qué razón nos induce a suponer que el estímulo específico "S" pertenece al grupo de los Hidrocarburos policíclicos con carácter aromático en su molécula? Simplemente uno de los tantos ejemplos demostrativos que nos ofrece la química endocrinológica moderna en el campo de los Esteroides Estrógenos.

Es hoy día bien conocido de todos que mientras siete de los Estrógenos aislados de fuentes naturales inducen la reacción fisiológica del celo en los animales en mayor o menor grado, un Estrógeno preparado artificialmente, el 4,4'-Dihidroxi-alfa, beta-Dietilestilbeno, lo hace en grado mucho mayor. Sin embargo, ninguno de estos ocho compuestos de acción fisiológica intensa es el Estrógeno natural específico del tejido folicular; o sea, el alfa-Estradiol. ¿Porqué no sería este el caso de los compuestos cancerígenos? En la actualidad conocemos muchos y muy potentes compuestos químicos que ocupan el primer puesto entre todos los estímulos cancerígenos ensayados experimentalmente; porqué no como en el caso de los estrógenos, en el organismo predispuesto al Cáncer se elaboraría una sustancia química cancerígena similar en su estructura a la de los Hidrocarburos cancerígenos artificiales, sin ser necesariamente la misma?

En este sentido existen dos hechos muy significativos que hace algún tiempo llamaron poderosamente nuestra atención: 1º Ciertos resultados experimentales en relación con el funcionamiento de la Corteza Suprarrenal y el cáncer de los animales. Y, 2º La lejana pero indiscutible semejanza química estructural entre el 20-Metilcolantreno y los Esteroides de importancia biológica fundamental, a saber: los Estrógenos y los Andrógenos; las Hormonas Corticales; los Ácidos Biliares; y el grupo de la serie del Colestano (Colesterol, Stigmasterol, Ergosterol, Lumisterol, la Vitamina D<sub>2</sub>, las Agluconas de los Venenos Cardiacos, ciertas Saponinas y los Venenos de los Sapos).

En primer lugar sabemos hoy día que la Corteza Suprarrenal es un órgano de importancia trascendental para el organismo animal (1, 16, 165, 158, 159, 160, 153, 17, 68, 162, 8, 55, 125, 122, 127, 138, 139, 141, 161) la que se halla unida por estrecho sinergismo endócrino con las Gonadas y con la Hipófisis (1, 41, 48, 73, 139, 91, 92); pudiéndose decir si cabe la expresión que esta glándula endocrina constituye la encrucijada del trípode del dinamismo metabólico animal: Hipófisis-Corteza Suprarrenal-Gonadas.

Ahora bien, MAX ARON en Francia (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) tratando de investigar una reacción específica para el diagnóstico del cáncer con la orina de cancerosos, descubrió que las inyecciones subcutáneas de extractos de orina de cancerosos aplicadas a conejos sanos producían una alteración notable de la Corteza Suprarrenal. Afirma el autor haber obtenido un 90 % de positividad en la reacción de la Corteza Suprarrenal de conejos y cuyes para el diagnóstico del cáncer (12).

Los trabajos de MAX ARON tienen el mérito de ser los primeros que experimentalmente han llamado la atención sobre la posible relación existente entre el funcionamiento de la Corteza Suprarrenal y el cáncer. Posteriormente W. CRAMER y E. S. HORNING en Inglaterra (44, 45, 46) y A. LACASSAGNE (92) y N. DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA (51, 52) en Francia, han demostrado que en el cáncer de ratones existe un porcentaje enorme de alteraciones degenerativas en la Corteza Suprarrenal de dichos animales. Este porcentaje estudiado en un número apreciable de ratones pertenecientes a la sepa francesa R-III (cáncer-susceptible) por DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA, arroja del 72 al 74 % de degeneración de la Corteza Suprarrenal en los animales investigados (52). Lo interesante de estas constataciones es que en las razas de ratones muy susceptibles al cáncer espontáneo (razas de Homocigotes cáncer sensibles) la degeneración de la Corteza Suprarrenal se inicia mucho tiempo antes de la aparición de los tumores malignos, como lo han demostrado W. KRA-

MER y E. S. HORNING (44) quienes denominan a dicha lesión de la Corteza "Brown degeneration" (degeneración bruna). Por otro lado, A. LACASSAGNE ha demostrado que las inyecciones prolongadas de sustancias estrógenas en razas de ratones cáncer-resistentes, condiciona la aparición de la degeneración córtico-suprarrenal descrita por KRAMER y HORNING (92); habiendo comprobado además que la misma inyección prolongada de estrógenos, en la misma raza de ratones cáncer-resistentes, induce la aparición de tumores malignos. Hechos éstos que han quedado confirmados recientemente por los trabajos de la escuela Norteamericana de M. B. SHIMKIN y H. B. ANDERVONT (145).

Como vemos de lo que antecede todas las apariencias tienden a indicar que la Corteza Suprarrenal desempeña un rol de primer orden en el complejo mecanismo endócrino de la Etiopatogenia cancerosa, estando además dicha glándula aparentemente ligada a la impresión hereditaria que dejan los genes en el somatoplasma de la descendencia de padres cancerosos.

En segundo lugar, respecto al hecho de la semejanza química estructural entre el 20-Metilcolantreno y ciertas sustancias químicas de importancia biológica fundamental para el organismo, deseamos llamar la atención sobre el siguiente raciocinio: Los hechos hasta ahora expuestos inducen a pensar que la Corteza Suprarrenal sea probablemente la glándula endócrina que inicia el desequilibrio metabólico característico del proceso neoplásico. ¿Por qué mecanismo sería posible este fenómeno? Pensemos sencillamente en términos fisiopatológicos. Sabemos que la Corteza Suprarrenal es el "órgano llave" del metabolismo orgánico general (1, 165, 158, 159, 160, 153, 17, 8, 66, 69, 78, 81, 121, 113, 129, 154). Controla por medio de sus múltiples hormonas el metabolismo de los Glúcidos, Lípidos, Prótidos, de las sales minerales y por lo tanto el equilibrio ácido-básico y el metabolismo del Agua, y la absorción intestinal de ciertas Vitaminas, Lipoides y sales minerales. Por medio de este complejo control metabólico regula la circulación general (Hemodinamia, Presión Arterial, Eritropoyesis y Leucopoyesis), el Metabolismo Basal y la temperatura del organismo, el Metabolismo muscular y pigmentario, y por último la Desmólisis. Y si un órgano de importancia tan vital que controla el dinamismo orgánico "in toto" es alterado en alguna parte de su funcionalismo o de su estructura metacelular, ¿qué pasa? Es conclusión lógica que si la causa es alterada el efecto de ella forzosamente debe modificarse también. Muy probablemente es esto lo que pasa con la corteza suprarrenal y los múltiples mecanismos metabólicos que controla, cuando un individuo se canceriza. Sabemos que en el cáncer prácti-

camente todos los mecanismos metabólicos se hallan comprometidos, como lo expone ampliamente el profesor AMÉRICO GARIBALDI en su magnífica obra (65). ¿Cuál sería la base de esta perturbación general del metabolismo orgánico que lleva al canceroso en astenia, hipotensión, hipotermia, deshidratación y acidosis irremediablemente a la muerte? Creemos que la respuesta se impone por el peso de lo expuesto hasta este momento: La base del trastorno metabólico general que caracteriza al proceso canceroso, creemos, reside en una disfunción específica de la Corteza Suprarrenal.

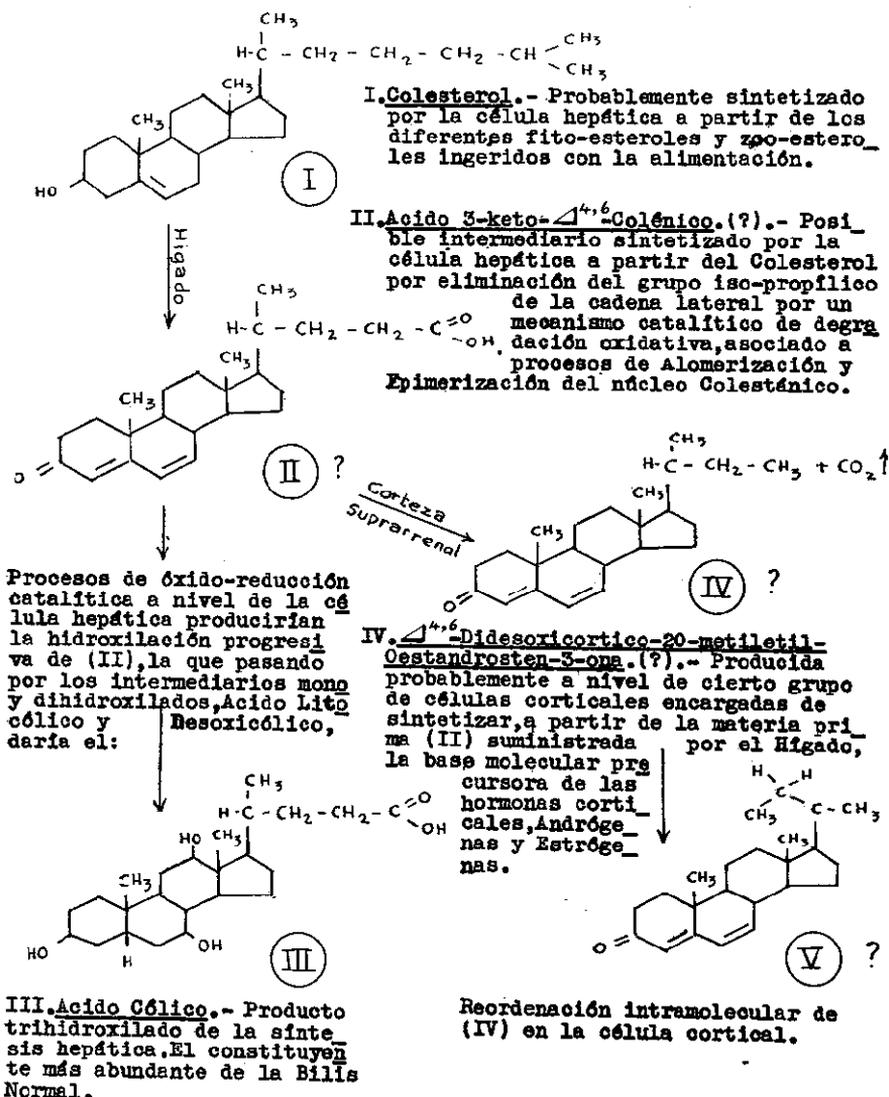
El mecanismo íntimo de esta disfunción cortical es imposible explicarlo en el estado actual del conocimiento metacelular de la corteza suprarrenal, pero pensamos que con la base experimental expuesta se puede plantear una Hipótesis de Trabajo en términos generales.

Conocemos en la actualidad bastante bien la estructura histológica de la corteza suprarrenal así como sus alteraciones anátomo-patológicas (16) y sus reacciones histo-químicas (18, 137). También conocemos mucho de su fisiología y fisiopatología (178, 55, 48, 125, 73, 127, 138, 139, 141, 32, 69, 66, 81, 121, 113, 129, 155) y en la actualidad se está vislumbrando con admirable precisión su quimiofisiología y quimiofisiopatología (80, 128, 173, 174, 33, 37, 78, 81, 129, 155, 140). Con todos estos hechos positivos añadidos a los resultados experimentales que hemos discutido con respecto a la "Brown degeneration" de CRAMER y HORNING, y apoyándonos en opiniones de autoridades mundiales en la materia, como son el profesor GERHARD DOMAGK (53, pág. 292), Sir JAMES WILFRED COOK y su escuela (42, pág. 242) y el profesor LOUIS F. FIESER y su escuela (174, pág. 589), así como en los hechos perfectamente establecidos en el campo de la química de los Esteroides de importancia fisiológica (58, 93, 117, 34, 35, 36, 151, 76, 81, 140) y en el admirable desarrollo de correlaciones químicas que hace el profesor FIESER de los esteroides de la serie de los estrógenos, andrógenos y colestano (58): elaboramos el esquema hipotético de la génesis de los esteroides de importancia fisiológica para el organismo animal y del probable origen de la sustancia "Endooncógena" factor S de la ecuación de LOEB modificada), que ilustramos a continuación.

Si recordamos la fisiología de la Corteza Suprarrenal, su fisiopatología y su quimismo, podemos entonces explicarnos en forma lógica el obligatorio cuadro sintomático del cáncer aplicando el esquema que antecede. Sabemos que en el cáncer se halla profundamente alterado el Metabolismo General así como la respiración tisular (166, 70, 72, 146, 59). También es un hecho indiscutible que los mecanismos de elabo-

## Esquema genético de los Esteroides Orgánicos

I



**III. Acido Cólico.** - Producto trihidroxilado de la síntesis hepática. El constituyente más abundante de la Bilia Normal.

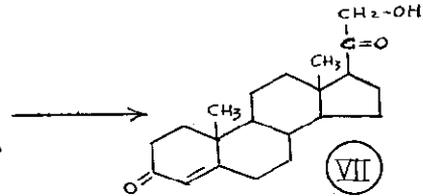
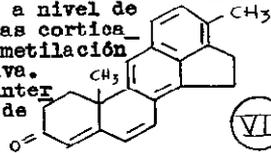
Esquema genético de los Esteroides Orgánicos

II

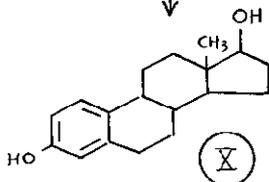
Deshidrogenación oxidativa + Desmetilación de (V)

**VI. 10:20-Dimetil-Colantrenona-3.**

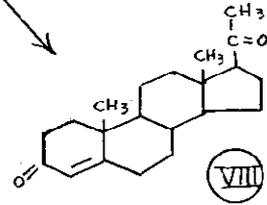
(?) - Producida por una deshidrogenación catalítica masiva de (V) a nivel de las células corticales y desmetilación consecutiva. Posible intermediario de corta vida en el organismo normal, núcleo molecular precursor de las hormonas Corticales, Andrógenas y Estrogénicas. Probable sustancia "Endoconógena" en el organismo con insuficiencia metabólica esteroidea crónica de la Corteza Suprarrenal.



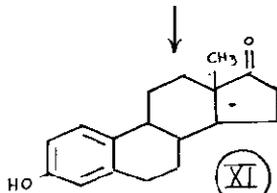
**VII. Desoxicorticosterona.** - Derivada de (VI) por procesos de óxido-reducción catalítica a nivel de algún grupo de células especializadas de la Corteza Suprarrenal.



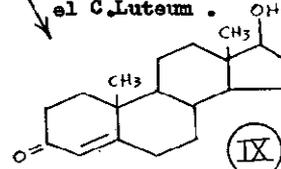
**X. Estradiol.** - Elaborado a expensas de (VI) por procesos de óxido-reducción a nivel de la Corteza Suprarrenal, con el concurso catalítico del quimismo metabólico Folicular.



**VIII. Progesterona.** - Posiblemente producida a expensas de (VI) por mecanismos de óxido-reductores a nivel de la Corteza S. con la ayuda catalítica de el C. Luteum.



**XI. Estrona.** - Producto catabólico de (X) a nivel de los tejidos.



**IX. Testosterona.** - Producida por mecanismos de hidrogenación catalítica de (VI) con la consecuente oxidación activa de la cadena de vértice, por medio del sinergismo químico-catalítico: Corteza-células Intersticiales del parénquima Testicular.

ración y secreción normal de hormonas esteroideas se encuentran profundamente desequilibrados en el organismo canceroso; como lo traduce el hecho comprobado por E. LAQUEUR, G. F. MARRIAN y C. CLAUBERG, que en un organismo canceroso (sea masculino o femenino) el tenor de sus humores en sustancias estrógenas es exorbitante (40, 93). Y todos estos hechos no son calcados sobre un trastorno profundo de la Corteza Suprarrenal? Por lo menos, tanto los hechos experimentales como la observación clínica parecen confirmarlo.

En síntesis pues, nos explicamos el mecanismo etiopatogénico del cáncer en la siguiente forma provisional: Alguna zona celular de la Corteza Suprarrenal que normalmente segrega varias hormonas de estructura esteroidea, entra en disfunción metabólica; o por herencia, o por lesión tóxica cito-específica en alguna época de la vida del individuo, que altera su estructura metacelular y por consiguiente su funcionalismo en forma fisiológicamente irreparable en la mayoría de los casos. Desde el momento en que dicha disfunción se instala en determinado grupo celular de la corteza, ésta perdería el poder de metabolismo esteroideo que le es propio incrementando, ya no sus hormonas normales, sino precursores insuficientemente saturados. Estos esteroides insuficientemente saturados y por lo tanto con carácter aromático dentro de su molécula, tendrían la propiedad (cuando en concentración suficiente en el organismo) de desviar los procesos mitóticos normales de los tejidos en activa reproducción celular (post-inflamatoria, cicatricial, fisiológica), hacia la proliferación atípica. El tumor así desarrollado, por la increción de catabolitos derivados de su metabolismo anormal, crearía condiciones incompatibles con los mecanismos bioquímicos vitales, acarreado más o menos rápidamente la muerte del individuo por agotamiento tóxico de la Corteza Suprarrenal.

#### PARTE EXPERIMENTAL

Según nuestra hipótesis, esta génesis ininterrumpida de correlaciones químicas que acabamos de exponer, se hallaría pues alterada al nivel de cierto grupo de células corticales, las que al liberar gran cantidad del esteroide hipotético "10 : 20-Dimetilcolantrenona-3" romperían el equilibrio catalítico del metabolismo hormonal esteroideo. Por consiguiente junto a una gran cantidad de la sustancia (Endoncógena) aparecerían en los humores animales gran variedad de productos esteroideos derivados de su metabolismo incontrolado; entre ellos principalmente esteroides, algo más saturados que la sustancia "endoncógena", pero con-

servando aún carácter aromático en su molécula. Tal como es el caso de la serie de los estrógenos en que el anillo A es de tipo bencenoide. Este raciocinio estaría de acuerdo con la autorizada opinión del profesor LOUIS F. FIESER (174, pág. 589) y por otro lado el esquema que antecede de la génesis de los compuestos esteroideos de importancia fisiológica, también solucionaría la objeción que hace el mencionado profesor FIESER desde el punto de vista bioquímico, al opinar que es prácticamente imposible que cualquiera de los estrógenos conocidos pueda ser transformado por el organismo en hidrocarburo cancerígeno, ya que el mecanismo esencial de esta transformación implicaría la eliminación del átomo de oxígeno, de la posición C-3 del estrógeno; puesto que si este oxígeno permaneciera en aquella posición en la forma de grupo hidroxílico (carácter específico de la función estrógena), al aromatizarse la molécula es muy probable que el producto resultante no tendría propiedades cancerígenas. Esto se debe a que, desde el punto de vista químico, una vez que el anillo terminal A de la molécula se ha aromatizado (como es el caso de todas las hormonas estrógenas), existen muy pocas probabilidades que el grupo hidroxílico desactivador, de tipo fenólico, pueda ser eliminado de la molécula. Efectivamente, pensamos que nuestro esquema soluciona esta acertada objeción sobre el origen de una sustancia cancerígena endógena, puesto que como hemos visto la probable sustancia "Endooncógena" no tendría carácter fenólico ni aromático en el anillo A ni tampoco se derivaría de un estrógeno, sino que por el contrario sería el precursor de estas hormonas esteroideas y en lugar de grupo hidroxílico poseería un grupo carbonílico en la posición C-3, el cual posiblemente exaltaría la actividad normal de dicha posición reforzando las propiedades cancerígenas de la molécula.

Pero cómo comprobar la existencia de esta hipotética sustancia "Endooncógena"?

Por dos medios totalmente diferentes: el ensayo biológico y la investigación química.

#### I. ENSAYO BIOLÓGICO

En ensayo biológico es sencillo pero largo, sobre todo no sospechando la posible potencia cancerígena de la sustancia a investigar. Basándonos en las reglas impecables aconsejadas por el Dr. MICHAEL B. SHIMKIN del "National Cancer Institute" (Dependencia del Departamento de Salud Pública del Gobierno de los Estados Unidos) (144) y en los trabajos experimentales de L. SCHABAD (136), JOHN F. MENKE (118) y

PAUL E. STEINER (152), iniciamos el trabajo experimental en Agosto de 1940. Aunque SHIMKIN recomienda al ratón blanco de raza cáncersensible, como animal de experimentación ideal para la prueba de potencia cancerígena, nosotros cuando iniciamos los ensayos biológicos pensamos que la rata blanca convendría más a las exigencias de nuestro trabajo por ser animal más grande y que puede soportar mayor número de inyecciones, motivo por el cual la elegimos como animal de prueba.

Enseguida necesitábamos estudiar la forma más apropiada para extraer del organismo canceroso la sustancia hipotética cuya presencia tratamos de comprobar si es efectivamente real o no. Perteneciendo esta sustancia hipotética por su estructura química teórica al grupo de los esteroides por un lado y al de los hidrocarburos policíclicos parcialmente aromatzados, por otro, era lógico suponer que sería soluble en los solventes de los lípidos. Por este motivo elegimos como solventes extractores a: el alcohol etílico, el éter dietílico, la acetona y el benzol. Además como último solvente extractor residual, empleamos el agua destilada, con el objeto de arrastrar las fracciones hidrosolubles que restaran.

¿En qué parte u órgano se encontrará la sustancia "Endooncogena"?

Otra pregunta de suma importancia práctica para el proceso de extracción. De la hipótesis planteada se desprende que siendo una sustancia producida por el parénquima de un órgano de secreción interna, lógicamente debe encontrarse repartida en todos los tejidos y humores del organismo canceroso. Sin embargo cabe la suposición que el parénquima tumoral posiblemente contenga dicha sustancia en mayor concentración que el resto de los tejidos no neoplásicos, como puede juzgarse a primera vista por los resultados experimentales del Dr. JOHN F. MENKE (118) de la Universidad de Stanford, California, quien afirma haber logrado la inducción de tumores cancerosos en un reducido número de ratones hembra de la sepa "Little C57" (2 ratones de 9) con extractos hechos de un carcinoma humano. Este dato experimental creemos, carece de valor trascendente desde el punto de vista que nos interesa, frente a los excelentes trabajos de I. BERENBLUM y L. P. KENDALL (20) y de J. G. CHALMERS con P. R. PEACOCK (47), quienes aplicando el análisis espectrográfico fluorescente pudieron trazar el metabolismo de hidrocarburos cancerígenos inyectados en los tejidos de diferentes animales. En este sentido nos parecen concluyentes ambos trabajos, pudiéndose asegurar en términos generales que cuando se inicia la transformación maligna de un tejido la sustancia química cancerígena responsable de dicha transformación, ya ha desaparecido totalmente del tejido. Por lo tanto

pensamos como los autores antes citados, que una vez desencadenada la proliferación maligna por una sustancia química específica, ésta es metabolizada por las células neoplásicas a quienes sirve probablemente de catalizador energético para su exaltado metabolismo, siendo la sustancia cancerígena modificada en su constitución química íntima y transformada en producto catabólico del metabolismo tumoral, desapareciendo por este mecanismo la estructura cancerígena inicial de la molécula.

Es por este motivo, que seguramente la sustancia "Endooncógena" que buscamos debe encontrarse (si es que se encuentra) en concentración ínfima en el parénquima tumoral, teniendo su concentración máxima a nivel del resto de los tejidos aparentemente normales del individuo canceroso, ya que siendo un producto elaborado por una glándula endócrina deberá comportarse como lo hacen las sustancias hormonales. De allí que para nuestros ensayos optáramos por buscar dicha sustancia endooncógena en los tejidos no-neoplásicos de cancerosos.

#### METODO

El material escogido para nuestros ensayos fué material humano, ya que en él las cantidades de tejidos obtenidos son mucho más abundantes que en cualquiera de los pequeños animales de experimentación y por ser más fácil encontrar individuos cancerosos en el hospital que entre nuestras crías de animales, debido a que entre nosotros aún no tenemos razas de animales seleccionados genéticamente que ofrezcan un porcentaje regular de neoplasmas espontáneos en sus crías.

El método de extracción fué elaborado por nosotros para satisfacer las necesidades del caso basándonos en la técnica descrita por MENKE para la preparación de sus extractos y en los datos consignados por W. N. ALLEN (3) para la extracción de hormonas esteroideas de tejidos animales.

Los tejidos humanos empleados en nuestro trabajo los obtuvimos, en los hospitales "Dos de Mayo" y "Arzobispo Loayza", de tres sujetos cancerosos (casos I, IV y V) dentro de las 6 primeras horas del fallecimiento. En todos los casos el diagnóstico de Neoplasia fué hecho por examen anátomo-patológico de la tumoración, ya sea por biopsia o durante la necropsia. Empleamos también tejido sanguíneo (sangre total) de dos cancerosos diagnosticados por biopsia (casos II y III). Como control usamos los tejidos de un sujeto adulto normal fallecido por precipitación (suicidio), según consta en el protocolo de autopsias N° 7954 de la Morgue de Policía de Lima del 30 de Setiembre de 1941 y sangre total de nosotros mismos.

Basándonos en los trabajos realizados por las escuelas de A. BUTENANDT (34, 35, 36), E. LAQUEUR (93), H. WIELAND y E. DANE (171) sobre la química de los esteroides, así como en los recientes trabajos de las escuelas de J. W. COOK (33), N. H. CALLOW (37), y de LOUIS F. FIESER (58, 174), pensamos que se aumentaría la probabilidad de extracción de la sustancia buscada si empleáramos para extraerla, no uno sino varios de los solventes especiales de los esteroides. Por esta razón es que usamos el éter dietílico, la acetona, el benzol y el alcohol etílico de 95 %.

Todos los solventes empleados fueron de máxima pureza química, para evitar la introducción de impurezas desconocidas que pudieran falsear los resultados. Por ello solamente usamos productos de la casa "Merck" de Darmstadt, garantizados. El orden de los solventes en las extracciones seriadas de los tejidos de los casos IV y V, así como del control humano, normal, ha variado, del primero a los dos últimos citados, en que en el caso IV empleamos el orden acetona-éter dietílico-benzol-alcohol etílico y agua destilada; mientras que en el caso V y en el control usamos el orden alcohol etílico-éter dietílico-acetona-benzol y agua destilada. Este cambio en el primer solvente empleados al iniciar la extracción en serie de los tejidos humanos, se debe a que la acetona se hidrata demasiado al entrar en contacto con los tejidos frescos, perdiendo la oportunidad de extraer mayor cantidad de esteroides.

Los tejidos extraídos (previa desinfección de la superficie del cuerpo del cadáver con alcohol etílico) consistieron en una larga franja de tejidos no-neoplásicos, compuesta por piel, tejido celular subcutáneo, pániculo adiposo, tejido muscular y peritoneo. Dicha franja medía unos 5 centímetros de ancho por 80 centímetros de largo y 8 centímetros de espesor aproximadamente, disecándola con instrumental estéril desde el mango del esternón hasta el púbis. En seguida los tejidos así obtenidos eran cortados en trozos convenientes para ser acomodados en un frasco de boca ancha, cubriéndolos luego con 150 cc. de alcohol etílico de 95 %. Dichos frascos, cerrados herméticamente eran almacenados en la nevera de 0°C. Luego los tejidos fueron molidos en una máquina de moler carne, cuyo embudo, tornillo sin fin y sedazo fueron previamente lavados, secados y esterilizados en seco. Empleamos para la molienda de tejidos humanos una máquina moladora eléctrica marca "Dayton" de 220 volts, 60 ciclos, 2.45 amp., y 1750 rp.m. con sedazo de 5 mm.

La papilla de tejidos humanos así obtenida fué acomodada en el tubo extractor de un aparato Soxhlet de 300 cc. de capacidad. A falta de recipiente de bizcocho de porcelana empleamos un cucurucho de papel de filtro doble, de 4 cm de diámetro por 25 cm. de alto, dentro del cual se pueden colocar de 250 a 270 gramos de papilla tisular. Empleamos un baño maría de aceite de pepita de algodón con el fin de mantener constante la temperatura del baño y evitar grandes oscilaciones de la temperatura de extracción. Usamos como fuente de calefacción constante un baño maría eléctrico automático marca "Küster" de 220 volts, 1.2 amps. y 0.25 kilowatts. Con este material hicimos los siguientes extractos:

A. Extracto etéreo de tejidos neoplásicos del caso I (490 cc de extracto obtenido por extracción continua durante 24 horas de 272 gramos de papilla tisular con 400 cc. de éter dietílico).

B. Extracción continua durante 24 horas de 270 grs. de papilla de tejidos no-neoplásicos del caso IV, con 5 solventes (5 días de extracción continua). Obtuvimos 430 cc. de extracto acetónico (con 400 cc. de acetona). 480 cc. de extracto etéreo (con 400 cc. de éter dietílico). 360 cc. de extracto benzólico (con 350 cc. de benzol). 355 cc. de extracto alcohólico (con 350 cc. de alcohol etílico de 95 %). 455 cc. de extracto acuoso (con 400 cc. de agua destilada). Reducción ponderal de la papilla tisular después de las 5 extracciones: 130 grs.

C. Extracción continua de 24 horas de 275 grs. de papilla tisular no-neoplásica del caso V, con 5 solventes (5 días de extracción continua). Obtuvimos 435 cc. de

extracto alcohólico (con 400 cc. de alcohol etílico de 95 %). 460 cc. de extracto etéreo (con 400 cc. de éter dietílico). 412 cc. de extracto acetónico (con 400 cc. de acetona). 437 cc. de extracto benzólico (con 400 cc. de benzol). 487 cc. de extracto acuoso (con 450 cc. de agua destilada). Reducción ponderal de la papilla tisular después de las 5 extracciones: 184.5 grs.

4. Extracción continua de 24 horas de 273.4 grs. de papilla de tejidos normales del control humano I, con 5 solventes (5 días de extracción continua). Obtuvimos 460 cc. de extracto alcohólico (con 400 cc. de alcohol etílico de 95 %). 480 cc. de extracto etéreo (con 400 cc. de éter dietílico). 435 cc. de extracto acetónico (con 400 cc. de acetona). 450 cc. de extracto benzólico (con 430 cc. de benzol). 475 cc. de extracto acuoso (con 450 cc. de agua destilada). Reducción ponderal de la papilla tisular después de las 5 extracciones: 227.5 grs.

Todos estos extractos fueron debidamente envasados, previa filtración y almacenados en la nevera a 0°C.

Con el objeto de investigar la posibilidad de encontrar la sustancia buscada en la sangre humana de individuo canceroso extrajimos 50 cc. de sangre total de los casos II y III. Inmediatamente después de extraída dicha sangre fué almacenada en el cajón central de la nevera a -10°C. Luego las muestras de sangre así conservadas fueron desecadas durante 90 minutos a 45°C y bajo un vacío de 15 mm. de Hg. En estas condiciones la sangre total sufrió una reducción ponderal del 75 % de su peso original. Esta sangre así deshidratada y en polvo fué sometida luego a una extracción por éter dietílico en aparato Soxhlet, en la forma ya descrita anteriormente para los tejidos sólidos. Aplicamos esta forma de extracción aparentemente complicada, por que la extracción de esteroides de la sangre por el método corriente de agitación con el solvente extractor, como lo describen los profesores A. Peralta Ramos (126) y J. Slosse con N. I. Joukowsky (147) en sus importantes trabajos sobre determinación de hormonas sexuales en la sangre humana, nos parece ser insuficiente dado el alto poder absorbente de los elementos figurados de la sangre y la gran actividad de superficie que presentan estos esteroides fisiológicos (29). Con la técnica empleada por nosotros destruimos las partículas que manifiestan poder de absorción (elementos figurados) al mismo tiempo que concentramos al máximo el tenor de esteroides sanguíneos, al reducir el volumen de la masa de sangre por evaporación del agua, ofreciendo así condiciones más ventajosas para una extracción continua en aparato Soxhlet.

En esta forma obtuvimos los siguientes extractos:

A. 82 cc. de extracto etéreo de 10.3310 grs. de sangre total en polvo del caso II. Reducción ponderal de la sangre en polvo extractada durante 24 horas con éter dietílico: 0.0264 grs.

B. 80 cc. de extracto etéreo de 10.1590 grs. de sangre total en polvo del caso III. Reducción ponderal de la sangre extractada durante 24 horas con éter dietílico: 0.0200 grs.

C. 85 cc. de extracto etéreo de 11.0000 grs. de sangre total en polvo del control humano II. Reducción ponderal de la sangre en polvo extractada durante 24 horas con éter dietílico: 0.0270 grs.

Todas las extracciones arriba mencionadas fueron practicadas con 100 cc. de éter dietílico. Las pérdidas registradas en el solvente extractor se han debido a las manipulaciones durante la extracción, con lo cual parte del solvente se evapora debido a la temperatura del baño de maría y paredes del recipiente que lo contienen.

### INOCULACIONES

Siendo el ensayo biológico la prueba concluyente para determinar la propiedad cancerígena de una sustancia química, empleamos este método para analizar los extractos preparados. Hasta la fecha solo hemos ensayado el extracto etéreo de tejido neoplásico del caso I, ciéndonos a las normas descritas por M. B. SHIMKIN (144), L. F. FIESER (58) y M. J. SHEAR (142), ligeramente modificadas para adaptarlas a nuestras posibilidades materiales de trabajo.

Iniciamos las inyecciones de extracto etéreo de tejido neoplásico del caso I, el 6 de Febrero de 1941. Empleamos 10 ratas blancas del stock mixto Instituto Nacional de Higiene, de 4 a 5 meses de edad. Seis de las 10 ratas, recibieron 0.5 cc. en inyección subcutánea en la región interescapular, de una solución al 60 % en aceite de olivo puro "A.B.F.", del residuo oleoso obtenido por evaporación del solvente de 35 cc. de extracto etéreo de carcinoma humano (Caso I). Las inyecciones en los seis animales se practicaron cada 10 días, habiéndoles aplicado un total de 12 inyecciones o sean 6 cc. de solución oleosa de extracto etéreo de tejido neoplásico humano. Los cuatro animales restantes, recibieron una única inyección de 0.5 cc. de solución oleosa de extracto por vía intraperitoneal.

Como control empleamos otro grupo de 10 ratas blancas; 6 recibieron la misma dosis de 0.5 cc. que las del primer grupo, pero sólo de aceite puro de olivo "A.B.F.", en las mismas fechas que las primeras y por la misma vía de inoculación. Las 4 restantes recibieron 0.5 cc. de aceite de olivo puro "A.B.F." por vía intraperitoneal.

Durante la duración de este experimento (20 meses de observación) murieron dos animales por causas ignoradas (no practicamos la investigación anátomo-patológica microscópica completa como aconseja SLYE (149, 150)). El primer animal que murió fué la rata R-5, el 3 de Junio de 1941, después de haber recibido 11 inyecciones subcutáneas de solución oleosa de extracto de tejido neoplásico humano del caso I. En la necropsia no se encontró lesión macroscópica digna de mención. En la región cervico-escapular, zona correspondiente al lugar de las inyecciones, se observó una masa oleosa quística, la que al ser punzada en varios sitios dejó escapar aceite líquido. Dicha masa oleosa se encontraba bastante circunscrita en la región cervico-escapular, constatándose trabéculas de tejido conjuntivo neoformado, que saliendo de las masas musculares subyacentes se insinuaban entre los tabiques del quiste fijándolo fuertemente al plano muscular. Hacia la axila izquierda se insinuaban las trabéculas de conjuntivo neoformado, impregnadas en grasa. (Lámina I). El examen histológico de los tejidos constitutivos de la tumoración oleosa no reveló nada anormal.

El segundo animal que murió durante el curso de estas observaciones fué la rata control R-3, inoculada por vía intraperitoneal con aceite puro de olivo A.B.F. Causas de la muerte ignorada. Hallazgos necróticos: ninguno de importancia, salvo la

existencia de 3 quistes oleosos limpios dentro de la cavidad abdominal adosados al peritoneo parietal para-vertebral. El de mayor volumen se hallaba adosado al polo inferior del riñón izquierdo y los otros dos, uno a la altura de cápsula suprarrenal y el otro más pequeño inmediatamente por encima de ella. (Lámina I).

### RESULTADOS

Negativos hasta los 20 meses de observación. En ningún animal de los inoculados con la solución oleosa de extracto etéreo de tejido neoplásico humano, se observó la aparición de neoformaciones malignas; ni en el lugar de la inyección ni en ningún otro tejido u órgano distante. Tanto las inyecciones de extracto así como las de aceite control fueron toleradas perfectamente por los animales. Por regla general en los animales inyectados por vía subcutánea se formaron quistes oleosos subcutáneos de diferente volumen y forma lo que podían ser fácilmente rotos por presión bidigital. Con el tiempo dichos quistes desaparecieron paulatinamente, persistiendo solamente en un animal control, la rata R-2, inyectado con aceite puro de olivo "A. B. F."

## II. INVESTIGACION QUIMICA

Desde el punto de vista químico, la investigación de una sustancia hipotética dentro del pavoroso complejo bioquímico del organismo, parece prácticamente imposible, si no imposible del todo. Indudablemente, para poder extraer y purificar una sustancia química conocida tan solo por ciertas propiedades definidas, pero cuya concentración en el organismo es del orden de gammas, la serie de manipulaciones químicas y la cantidad de material orgánico requerido es pavorosa. Recordemos simplemente la genial serie de investigaciones de A. BUTENANDT en Alemania, quien para llegar a aislar 15 miligramos de la hormona masculina Androsterona en forma químicamente pura, tuvo que trabajar con 15,000 litros de orina de caballo (34).

¿Cómo atacar entonces el problema de identificar una sustancia química hipotética de concentración ínfima en el organismo humano? Para comenzar esta ardua tarea solo podemos pensar en términos cualitativos, pues antes tenemos que conocer la sustancia para poder luego pesarla.

Los métodos de análisis micro-químicos cualitativos que tenemos hoy a nuestra disposición, son indiscutiblemente muy precisos, siempre y cuando se trabaje con cantidades ponderales. Pero esto presupone que para emprender un trabajo de análisis micro-químico cualitativo, se disponga de suficiente cantidad de materia prima con el fin de poder aislar can-

tidades suficientes de la sustancia por investigar, que permitan su manipulación. Pero en el caso que nos hemos planteado la cosa es muy diferente. Primero, tenemos que trabajar con material orgánico humano, lo cual automáticamente reduce las posibilidades de reunir suficiente cantidad de material fresco en poco tiempo; y segundo, que la cantidad de sustancia investigada en los tejidos probablemente es parecida a la concentración que tienen las hormonas conocidas en esos mismos tejidos, que como sabemos es del orden de milésimos de miligramos. Es decir, cantidades impalpables. El problema es difícil pero no insoluble. Por suerte hoy día contamos con un método de análisis físico-químico que respaldan miles de experiencias en el mundo entero, las que han probado no solo su bondad científica, sino su superioridad a los métodos micro-químicos de análisis cuando las condiciones experimentales no permiten disponer sino de cantidades infinitesimales de sustancias. Nos referimos al análisis espectrográfico. La sensibilidad del método, desde el punto de vista del análisis cualitativo y cuantitativo de sustancias orgánicas de estructura molecular compleja, es tal, que I. BERENBLUM y L. P. KENDALL es una brillante investigación sobre el metabolismo de sustancias químicas cancerígenas por el organismo animal, han podido detectar la presencia de 0.01 de miligramo de 1:2:5:6-Dibenzantraceno en todo el organismo de un ratón; lo que equivale a detectar una parte de sustancia en 5 millones de muestra (20).

Por todas estas razones pensamos que el método de análisis espectrográfico era el único que podía resolver el problema que nos habíamos planteado. Desgraciadamente entre nosotros este importante método de análisis micro-químico se halla aún poco desarrollado, motivo por el cual hemos tropezado con infinidad de dificultades de orden técnico para poder llevar a la práctica la investigación espectrográfica de nuestros extractos. De las diferentes formas del análisis espectrográfico, creemos que la que mejor se adapta a las condiciones experimentales de nuestro trabajo es la espectrografía de emisión y de absorción para sustancias en solución (67, 156, 27, 79, 83). Por este motivo elegimos para nuestros análisis de extractos de tejidos humanos de cancerosos, el método de la espectrografía fluorescente y de la espectrografía de absorción. Empleamos ambos métodos analíticos con el fin de determinar si en los extractos preparados con tejidos humanos de sujetos cancerosos es posible evidenciar la presencia de bandas de emisión o de absorción, que confirmen la hipótesis de la existencia en dichos tejidos de una sustancia del grupo de los esteroides, parcialmente aromatizada. (Ver nuestro esquema de la posible génesis química de dicha sustancia en el organismo).

Según han demostrado los interesantes trabajos de la escuela polaca de la Universidad de Varsovia, la relación que existe entre la estructura química íntima de una sustancia y su espectro fluorescente o de absorción, es función de la clase de enlaces químicos que mantienen unidos a los átomos dentro de la molécula (167, 77, 164, 168, 116, 54). Además, los trabajos de la escuela inglesa de J. W. COOK, H. BURROWS, E. M. F. ROE, E. L. KENNAWAY, W. V. MAYNEORD y I. HIEGER (82, 33) y de la escuela alemana de F. ALMASY (4), aplicando el análisis espectrográfico a los esteroides orgánicos, confirman los resultados experimentales de la escuela polaca al comprobar que los grupos químicos responsables de los fenómenos de fluorescencia o de absorción en una sustancia orgánica son aquellos, en los que la unión entre sus átomos, constituye un centro de inestabilidad eléctrica por la interferencia de pares electrónicos. Tal sucede por ejemplo con los compuesto químicos que presentan dentro de su molécula dos o más de los siguientes grupos químicos:  $C = C$ ,  $C = O$ ,  $N = N$ ,  $N = O$ ,  $S = S$  y  $S = O$ . De estos grupos químicos que presentan caracteres de insaturación y por consiguiente son focos de interferencia de pares electrónicos, parece que los más potentes en inducir fenómenos óptico-electrónicos de fluorescencia y absorción son los grupos  $C = C$  y  $N = N$ . Y precisamente, entre los compuestos del grupo de los esteroides tenemos sustancias de suma importancia biológica y cuya molécula se halla parcialmente aromatizada, debido a la existencia de grupos  $C = C$  conjugados en forma de anillos becenoides. Estas sustancias presentan fenómenos de absorción en el espectro ultravioleta, como lo han demostrado J. SLOSSE y N. I. JOURKOWSKY (147) y últimamente los geniales trabajos de la escuela americana de R. B. WOODWARD sobre la relación existente entre la estructura química íntima de los esteroides y su espectro de absorción ultravioleta (175). Además, los recientes trabajos de S. R. M. REYNOLDS y N. GINSBURG (130) han coronado estas investigaciones al demostrar terminantemente que por medio de la espectrofotometría ultravioleta es posible dosar en la sangre las hormonas de tipo delta, 4-3-Ketosteroide, tales como las de la serie de la Progesterona y afines. (No parece oportuno llamar la atención sobre la curiosa coincidencia que nuestra hipotética sustancia endoncógena, desde el punto de vista químico teórico, pertenece al grupo de los delta, 4-3-Ketosteroides).

## TECNICA

A. *Espectrografía fluorescente.*

Debido a la falta de material adecuado nos limitamos a realizar el examen de nuestros extractos por medio de la espectroscopia fluorescente, ya que la fuente de rayos ultravioletas empleada no poseía la intensidad suficiente como para permitir el registro espectrográfico. Empleamos como fuente de excitación una lámpara de vapor de mercurio "Winzil Quarzlicht" W. Albrich, Jena, de 50 ciclos, 220 volts, 3 amperes y 500 watos. Esta lámpara se hallaba provista de un filtro Wood colocado entre la caseta del tubo y la cámara de observación. Para la observación de la fluorescencia excitada en las soluciones investigadas, empleamos un espectroscopio "Gaertner" con óptica de cuarzo, el cual lo adaptamos a la cámara de observación del aparato generador de luz de Wood. Usamos cubetas de cuarzo pulido cuadrangulares de 100 cc. de capacidad para contener las soluciones investigadas durante las determinaciones. El espectroscopio fué colocado con la hendidura del colimador a 1 mm. de una de las caras planas de la cubeta, orientando el tubo del colimador en ángulo de 90° con respecto a la dirección de incidencia de los rayos excitadores de luz de Wood. Las observaciones se realizaron en completa oscuridad (Lámina II).

## RESULTADOS

Por falta del equipo necesario ya anotada, no nos fué posible determinar la longitud de onda de las bandas de emisión que observamos ni su coeficiente de extinción. Sólo nos cabe expresar que en los diferentes extractos de tejidos neoplásicos y no-neoplásicos de hombres cancerosos investigados hasta la fecha, hemos podido comprobar los siguientes fenómenos de emisión espectral:

1° Cuatro de los extractos preparados de tejidos no-neoplásicos de sujetos cancerosos (extracto alcohólico, etéreo, acetónico y acuoso) fluorescen con regular intensidad y emisión de una ancha banda espectral que abarca desde la región del amarillo hasta la del azul inclusive.

2° Los extractos benzólicos no mostraron fenómenos de fluorescencia a la excitación con luz de Wood.

3° De los extractos controles de sujetos normales solo presentaron fenómenos de fluorescencia los extractos alcohólicos y etéreo del caso Control humano I (extractos tisulares). El control humano II fué prácticamente negativo debido a lo tenue e impreciso de la fluorescencia (extracto etéreo de sangre total).

4° La excitación con luz de Wood de los solventes empleados como extractores (alcohol etílico de 95 %, éter dietílico, acetona, benzol y

agua destilada), no determinó la aparición de fenómenos de fluorescencia en ninguno de ellos.

#### B. *Espectrografía de absorción.*

Para nuestros ensayos empleamos un espectrógrafo tipo Littrow, modelo pequeño, con óptico de cuarzo y una amplitud de banda de 2,100 Å a 7,000 Å, con una dispersión aproximada de 80 Å. Por no contar con una fuente de iluminación ultravioleta adecuada, tuvimos que limitar nuestras observaciones a la región visible del espectro. La fuente luminosa más adecuada que encontramos para nuestros ensayos fué la lámpara Foto-Enlarger A 21 (Special) "Mazda" con filamento de tungsteno y con un poder de iluminación equivalente a una lámpara de 750 watts. Esta fuente luminosa produce una impresión suficientemente contrastada en la plancha fotográfica, la que abarca la totalidad del espectro visible. Como material fotográfico empleamos planchas de doble ancho 5 × 18 cm., Eastman-Kodak, pancromáticas, antihalo, supersensitivas. Los baños fotográficos empleados para el desarrollo de los negativos han sido los baños standard para película pancromática, salvo en lo que respecta al baño fijador, al que agregamos XX gotas de ácido acético por mil.

El dispositivo empleado para el trabajo espectrográfico ha sido el siguiente: cubeta de cuarzo de caras plana-paralelas y sección cilíndrica, pegadas al colimador del espectrógrafo colocando la fuente luminosa en el eje del tubo del colimador y a 13 cm. de distancia de la hendidura de éste. Los tiempos de exposición para los diferentes espectrogramas han variado de 5 a 30 minutos, de acuerdo con el espesor de capa de absorción empleado (Lámina II).

### RESULTADOS

1° Los extractos alcohólico, etéreo, acetónico, benzólico y acuoso de tejidos no-neoplásicos de sujetos cancerosos evidenciaron fuertes bandas de absorción en el espectro visible, pudiéndose observar cuatro bandas definidas en los extractos etéreos y una banda definida en los extractos alcohólicos. (Lámina II, Figs. 1 y 2).

2° El extracto etéreo de tejido neoplásico (Caso I) no acusó ningún fenómeno de absorción, salvo un ligero esbozo de absorción al emplear un espesor de capa de 30 mm. (Lámina II, Fig. 5).

3° Los extractos alcohólico, etéreo, acetónico y benzólico del control humano normal I (extractos tisulares) mostraron fenómenos de absorción de discreta intensidad, solamente en el primero y segundo de los extractos mencionados, pudiéndose observarse el esbozo de cuatro bandas ténues en el extracto etéreo y una banda aislada en el extracto alcohólico. (Lámina II, Fig. 3).

*ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LA CORTEZA SUPRARRENAL*

Al lado del ensayo biológico y de la investigación química de los extractos de tejidos de sujetos cancerosos, hemos iniciado también el estudio histoquímico de la corteza suprarrenal de hombres cancerosos. Este estudio lo hemos iniciado con el objeto de constatar si es que en los individuos con cáncer se presenta alguna lesión anatómica o química de dicha glándula, que represente para el hombre, lo que CRAMER y HORNING (44) han descrito como la "Brown degeneration" para el ratón canceroso.

Por este motivo, con el fin de confrontar las lesiones descritas por los autores ingleses en el ratón canceroso, con las glándulas suprarrenales de hombres muertos por cáncer, comenzamos nuestro estudio por el examen histo-químico de una glándula suprarrenal de ratón canceroso. El diagnóstico de cáncer en el animal fué hecho por examen anatómico-patológico de la tumoración. Las glándulas suprarrenales se extranjeron y prepararon según la técnica descrita por los autores antes citados (44). (Lámina III). Para las glándulas suprarrenales humanas seguimos la misma técnica, salvo que solo pudimos obtener dichas glándulas de cadáveres (las glándulas se extranjeron antes de las 6 horas del fallecimiento). Estudiamos las glándulas suprarrenales de los casos IV y V y del control humano normal I.

*RESULTADOS*

1º El estudio de un ratón con cáncer espontáneo aparecido entre las crías del Instituto, dió como resultado la confirmación del diagnóstico macroscópico: Adenocarcinoma de la mama. Las glándulas suprarrenales extraídas después de sacrificar al animal por dislocación cervical, evidenciaron el comienzo de la "Brown degeneration" de CRAMER y HORNING a nivel de la zona reticular de la corteza. (Lámina IV).

2º El estudio histoquímico de la corteza suprarrenal del caso humano IV, muestra enorme impregnación lipóidica de las células corticales de la zona fascicular, las cuales comienzan a perder sus contornos citológicos normales. (Lámina IV).

3º El examen histoquímico de la glándula suprarrenal del caso humano V, evidenció una degeneración lipóidica neta de la corteza, la cual no solo compromete la reticular y fascicular sino que aún abarca la zona glomerular en toda su extensión. Las células de la reticular se hallan repletas de lipóides lo que ha hecho que pierdan sus relaciones citológi-

cas normales, haciendo imposible identificar el aspecto fascicular de las trabéculas. (Lámina IV).

4° El estudio histoquímico de la corteza suprarrenal del caso control humano I, mostró una neta diferencia al confrontar la preparación con las descritas anteriormente. En ésta se pudo apreciar el aspecto normal de la zona glomerular, fascicular y reticular, observándose perfectamente las clásicas trabéculas fasciculares y las formaciones de aspecto adenoideo de la glomerular. La impregnación lipóidica más intensa se halla a nivel de la reticular, como es lo normal. Pueden apreciarse los clásicos aspectos citológicos de "espongiocitos corticales" en casi toda la fascicular. (Lámina IV).

#### CONCLUSIONES

El presente trabajo plantea una nueva dirección en el estudio experimental del cáncer.

#### SUMMARY

This report presents a new point of view in the experimental research of carcinoma.

#### BIBLIOGRAFIA

1. D. ACEVEDO : *Fisiología General*, Lima, 1939.
2. E. ALLEN : *Endocrinology*, t. 30, p. 942, 1942.
3. W. N. ALLEN : *J. Biol. Chem.*, t. 92, p. 612, 1932.
4. F. ALMASY : *Biochem. Ztschr.*, t. 291, p. 421, 1937.
5. H. B. ANDERVONT : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 1, p. 147, 1940.
6. H. B. ANDERVONT : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 2, ps. 1, 7 y 13, 1941.
7. H. B. ANDERVONT & W. J. MCELENEY : *Pub. Health Rep.*, t. 53, p. 777, 1938 y t. 54, p. 1597, 1939.
8. V. ARNET, M. KESSLER & E. GELLHORN : *Am. J. Physiol.*, t. 137, p. 653, 1942.
9. M. ARON : *Compt. rend Soc. de biol.*, t. 115, p. 403, 1934.
10. " " " t. 118, p. 85 y 88, 1934.
11. " " " t. 121, p. 973, 1936.
12. " " " t. 123, p. 246 y 248, 1936.
13. " " " t. 124, p. 370 y 373, 1937.
14. " " " t. 127, p. 442, 1938.
15. " " " t. 128, p. 91, 1938.

16. ASCHOFF : *Tratado de Anatomía Patológica*, t. II, p. 1020, 1934.
17. BAUKE : *Münch. Med. Wschr.*, t. 39, p. 1595, 1936.
18. H. S. BENETT : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 42, p. 786, 1939.
19. I. BERENBLUM & L. P. KENDALL : *Biochem. J.*, t. 28, p. 1214, 1934.
20. I. BERENBLUM & L. P. KENDALL : *Biochem J.*, t. 30, p. 429, 1936.
21. J. J. BITTNER : *J. Genetics*, t. 31, p. 471, 1935.
22. „ *Am. J. Cancer*, t. 30, p. 530, 1937.
23. „ *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 45, p. 805, 1940.
24. „ *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 1, p. 155, 1940.
25. G. BONSER, L. H. STRICKLAND & K. I. CONNAL : *J. Path. and Bact.*, t. 45, p. 709, 1937.
26. A. BORREL : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. 15, p. 49, 1901.
27. A. BOUTARIC : *Précis de Physique*, 3<sup>eme</sup> Ed., Paris 1933.
28. W. R. BRYAN, H. KAHLER, M. B. SHIMKIN & H. B. ANDERVONT : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 2, p. 451, 1942.
29. G. BUCCIARDI : *Valutazione Biologica dei Medicamenti*, (p. 143), 1938.
30. E. L. BURNS & J. R. SCHENKEN : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 43, p. 608, 1940.
31. M. T. BURROWS : *J. A. M. A.*, t. 55, p. 2057, 1910.
32. H. BURROWS : *J. Path. and Bact.*, t. 43, p. 121, 1936.
33. H. BURROWS, J. W. COOK, E. M. F. ROE & F. L. WARREN : *Biochem. J.*, t. 31, p. 950, 1937.
34. A. BUTENANDT : *Ztschr. f. Angew. Chem.*, (Sonderab.), t. 44, 1931.
35. A. BUTENANDT : *Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem.* (Sonderab.), t. 191, 1930.
36. A. BUTENANDT, J. STÖRMER & M. WESTPHAL : *Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem.* (Sonderab.), t. 202, 1932.
37. N. H. CALLOW & R. K. CALLOW : *Biochem. J.*, t. 32, p. 1759, 1938 y t. 33, p. 931, 1939.
38. A. CARREL : *J. Exper. Med.*, t. 12, p. 460, 1910.
39. E. CLAR : *Berichte d. Chem. Ges.*, t. 62, p. 350 y 1574, 1929.
40. C. CLAUBERG : *Las Hormonas Sexuales Femeninas*, Edit. Labor, Barcelona 1935.
41. J. B. E. M. COLLIP : *Lancet*, t. 2, p. 397, 1933.

42. W. J. COOK, G. A. D. HASLEWOOD, C. L. HEWETT, I. HIEGER, E. L. KENNAWAY & W. V. MAYNEORD : *Am. J. Cancer*, t. 29, p. 219, 1937.
43. W. J. COOK : *Proc. Roy. Soc., Ser. B.*, t. 111, p. 477, 1932.
44. W. CRAMER & E. S. HORNING : *J. Path. and Bact.*, t. 44, p. 633, 1937.
45. W. CRAMER & E. S. HORNING : *Lancet*, t. 236, p. 192, 1939.
46. W. CRAMER & E. S. HORNING : *Am. J. Cancer*, t. 37, p. 343, 1939.
47. J. G. CHALMERS & P. R. PEACOCK : *Biochem. J.*, t. 30, p. 1242, 1936.
48. V. DANTCHAKOFF : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 131, p. 464, 1939.
49. K. B. DEOME : *Am. J. Cancer*, t. 40, p. 231, 1940.
50. N. DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 126, p. 287, 1937.
51. N. DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 125, p. 877, 1937.
52. N. DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 131, p. 240, 1939.
53. G. DOMAGK : *Medizin und Chemie, Bayer*, t. 3, p. 274, 1936.
54. R. ESTERA : *Acta Phys. Polonica*, t. 3, p. 415, 1934.
55. O. P. ESTRADA : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 127, p. 1031, 1927.
56. L. F. FIESER : *Am. J. Cancer*, t. 34, p. 37, 1938.
57. L. F. FIESER & M. S. NEWMAN : *J. Am. Chem. Soc.*, t. 57, p. 971, 1935.
58. L. F. FIESER : *Monograph Series N° 70 of the Am. Chem. Soc.*, 2nd Ed., 1937.
59. A. FISCHER : *Gewebezüchtung, 3. Ausgabe, Verlag R. Muller & Steinicke, München* 1930.
60. L. I. FOLIN & K. E. GROMZEWA : *Am. J. Cancer*, t. 36, p. 233, 1939.
61. L. I. FOLIN : *Am. J. Cancer*, t. 38, p. 199, 1940.
62. E. FÖRGUE : *Précis de Pathologie Externe*, t. I, p. 309, 9<sup>eme</sup> Edit., Paris, 1935.
63. R. T. FRANK, E. KLEMPER, F. HOLLANDER & B. KRIS : *Endocrinology*, t. 31, p. 63, 1942.
64. W. U. GARDNER, G. M. SMITH & L. C. STRONG : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 33, p. 148, 1935.
65. AMÉRICO GARIBALDI : *Mecanismo probable de la Cancerización. Ensayo Patogénico*. Edit. Facultad de Medicina, 1936.

66. R. GAUNT, W. J. EVERSELE & E. C. KENDALL : *Endocrinology*, t. 3, p. 84, 1942.
67. W. A. GERLACH : *Die chemische Emissionspektralanalyse*, t. II. Leipzig 1930-33.
68. J. GILLMAN & L. GOLDBERG : *Endocrinology*, t. 31, p. 201, 1942.
69. O. GÖBEL : *Klin. Wschr.* (Sonderab.), t. 33, 1941.
70. P. GYÖRGY, R. KUHN & TH. WAGNER-JAUREGG : *Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem.*, t. 223, p. 21, 1934.
71. C. R. HALTER : *Am. J. Cancer*, t. 33, p. 218, 1938.
72. H. VON HEULER : *Bruxelles Méd.*, t. 19, p. 281, 1939.
73. J. IAN HEUVERS WYN, V. J. COLLINS, W. L. WILLIAMS & W. U. GARDNER : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 41, p. 552, 1939.
74. I. HIEGER : *Biochem. J.*, t. 24, p. 505, 1930.
75. I. HIEGER : *Am. J. Cancer*, t. 29, p. 705, 1937.
76. W. HÜCKEL : *Lehrbuch der Chemie.—Organische Chemie*, t. II, p. 566, 1937.
77. B. HURWICZ : *Acta Phys. Polonica*, t. 3, p. 339, 1932.
78. D. J. INGLE : *Endocrinology*, t. 31, p. 419, 1942.
79. M. B. JACOBS : *The Chemical Analysis of Foods and Food Products*. Edit., van Nostrand C°, New York, p. 51, 1938.
80. E. C. KENDALL : *J. A. M. A.*, t. 105, p. 1486, 1935.
81. E. C. KENDALL : *Endocrinology*, t. 30, p. 853, 1942.
82. E. L. KENNAWAY : *Biochem. J.*, t. 24, p. 497, 1930.
83. J. KLEIBER & B. KARSTEN : *Tratado de Física Popular*. 4ª Edit. Barcelona, 1929.
84. A. LACASSAGNE : *Compt. rend. Acad. des Scs.*, t. 195, p. 630, 1932.
85. " *Paris Méd.*, t. 1, p. 233, 1935.
86. " *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 122, p. 183, 1936.
87. " *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 126, p. 190 y 193, 1937.
88. " *Bull de la Ass. Fran. p. l'étude du Cancer*, t. 27, p. 96, 1938.
89. " *Ergeb. der Vit.—und Hormonforsch.*, t. 2, p. 259, 1939.
90. " *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 126, p. 385, 1937.
91. " *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 121, p. 607, 1936 y t. 129, p. 641, 1938.
92. " *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 124, p. 1183 y 1186, 1937.
93. E. LAQUEUR : *Arch. f. Gynäkol.* (Sonderab.), t. 141, 1930.

94. A. E. C. LATHROP & L. LOEB : *J. Exper. Med.*, t. 22, p. 644 y 713, 1915.
95. M. R. LEWIS : *Am. J. Cancer*, t. 30, p. 95, 1937.
96. C. I. LEWIS & C. H. LANFORD : *Symbolic Logic. Pub. The Century*, New York, 1932.
97. A. LIPSCHÜTZ & R. IGLESIAS : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 129, p. 519, 1938.
98. A. LIPSCHÜTZ & L. VARGAS (fils) : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 130, p. 9, 1939.
99. A. LIPSCHÜTZ, F. RODRÍGUEZ & L. VARGAS (fils) : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 130, p. 939, 1939.
100. A. LIPSCHÜTZ, R. IGLESIAS & L. VARGAS (fils) : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 130, p. 1536, 1939.
101. A. LIPSCHÜTZ & L. VARGAS (jr.) : *Lancet*, t. 1, p. 1313, 1939.
102. A. LIPSCHÜTZ & J. ZAÑARTU : *Endocrinology*, t. 31, p. 192, 1942.
103. L. LOEB & A. E. C. LATHROP : *J. Cancer Research*, t. 1, p. 1, 1916.
104. „ *Am. Nat.*, t. 55, p. 510, 1921.
105. „ *J. Cancer Research*, t. 6, p. 197, 1921.
106. „ & A. E. C. LATHROP : *J. Cancer Research*, t. 1, p. 1, 1916.
107. „ *Rep. Internat. Conf. on Cancer*, London, p. 48-60, 1928.
108. „ & I. T. GENTHER : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 25, p. 809, 1928.
109. „ E. L. BURNS, V. SUNTZEFF & M. MOSKOP : *Am. J. Cancer*, t. 30, p. 47, 1937 y t. 32, p. 256, 1938.
110. „ E. L. BURNS, V. SUNTZEFF & M. MOSKOP : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 33, p. 197, 1935.
111. „ *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 1, p. 169, 1940.
112. „ & M. M. KIRTZ : *Am. J. Cancer*, t. 36, p. 56, 1939.
113. C. N. H. LONG : *Endocrinology*, t. 30, p. 870, 1942.
114. E. LORENZ & M. B. SHIMKIN : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 2, p. 491, 1942.
115. B. LUCKÉ : *Am. J. Cancer*, t. 20, p. 352, 1934 y t. 34, p. 15, 1938.
116. M. MAKOWICKA : *Acta Phys. Polonica*, t. 2, p. 357, 1934.
117. G. F. MARRIAN : *Ergebniss d. Vit.—Hormonforsch.*, t. 1, p. 419, 1938.
118. J. F. MENKE : *Science*, t. 92, p. 290, 1940.
119. OSCAR MIRÓ QUESADA : *La Relatividad y los Quanta* (cita págs. 150 y 151), Lima 1941.
120. FRANCISCO MIRÓ QUESADA CANTUARIAS : *Crítica de las Vivencias Epistemológicas*. (Inédito), Lima 1941.

121. M. G. MULINOS, L. POMERANTZ & M. E. LOJKIN : *Endocrinology*, t. 31, p. 276, 1942.
122. NAJIB-FARAH : *Lancet*, t. 239, p. 777, 1938.
123. W. O. NELSON : *Endocrinology*, t. 24, p. 50, 1939.
124. M. D. OVERHOLSER & E. ALLEN : *Surg. Gynec. and Obst.*, t. 60, p. 129, 1935.
125. W. M. PARKINS, W. W. SWINGLE, A. R. TAYLOR & H. W. HAYS : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 37, p. 675, 1938.
126. A. PERALTA RAMOS : *Pren. Méd. Argentina*, t. 27, p. 1, 1940.
127. D. PERLA, D. G. FREIMAN, M. SANDBERG & S. C. GREENBERG : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 43, p. 397, 1940.
128. T. REICHSTEIN : *Ergebn. d. Vit.-u. Hormonforsch.*, t. 1, p. 334, 1938.
129. J. W. REMINGTON, V. A. DRILL, W. KLEINBERG & W. W. SWINGLE : *Endocrinology*, t. 30, p. 192, 1942.
130. S. R. M. REYNOLDS & N. GINSBURG : *Endocrinology*, t. 31, p. 147, 1942.
131. A. H. ROFFO : *Bol. del Inst. de Med. Exper.*, t. 52, p. 1, 1939.
132. A. H. ROFFO : *Bol. del Inst. de Med. Exper.*, t. 48, p. 349, 1939.
133. P. ROUS : *J. A. M. A.*, t. 55, p. 2148, 1910.
134. „ *Am. J. Cancer*, t. 28, p. 233, 1936.
135. „ & J. W. BEARD : *J. Exper. Med.*, t. 60, p. 741, 1934.
136. L. SCHABAD : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 124, p. 212, 1937.
137. SCHMORL : *Die Pathologisch-Histologischen Untersuchungsmethoden*. Verlag F. C. Vogel, Berlin 1934.
138. H. SELYE & V. SCHENKER : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 39, p. 518, 1939.
139. H. SELYE : *J. A. M. A.*, t. 115, p. 2246, 1940.
140. „ *Endocrinology*, t. 30, p. 437, 1942.
141. „ & CH. DOSNE : *Endocrinology*, t. 30, p. 581, 1942.
142. M. J. SHEAR : *Am. J. Cancer*, t. 36, p. 211, 1939.
143. M. J. SHEAR, J. LEITER & A. PERRAULT : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 2, p. 99, 1941.
144. M. B. SHIMKIN : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 1, p. 211, 1940.
145. M. B. SHIMKIN, H. G. GRANDY & H. B. ANDERVONT : *J. Nat. Cancer Inst.*, t. 2, p. 65, 1941.
146. C. SILVA-LAFRENTZ : *Ztschr. f. Krebsforsch.*, t. 48, p. 532, 1939.
147. J. SLOSSE & N. I. JOUKOWSKY : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 130, p. 1375, 1939.

148. M. SLYE : *J. Med. Research*, t. 30, p. 281, 1914.
149. „ *J. Cancer Research*, t. 10, p. 15, 1926.
150. „ *J. Cancer Research*, t. 12, p. 83, 1928.
151. W. STAIN : *Organic Chemistry, an Advanced Treatise. Henry Gilman*, t. II, p. 1220, New York 1938.
152. P. E. STEINER : *Science*, t. 92, p. 431, 1940.
153. J. STÖRMER : *Med. Klin. (Sonderab.)*, t. 38, 1936.
154. W. SUNTZEFF, R. S. BABCOCK & L. LOEB : *Am. J. Cancer*, t. 39, p. 56, 1940.
155. W. W. SWINGLE, J. W. REMINGTON, V. A. DRILL & KLEINBERG : *Am. J. Physiol.*, t. 136, p. 567, 1942.
156. P. SWINGS : *La Spectroscopie appliquée*, Hermann & Cie., Paris 1935, y H. DINGLE : *Modern Spectroscopy (Lectures Roy. Soc. Arts.)* 1934.
157. S. TSCHAKHOTINE : *Compt. rend. Soc. de biol.*, t. 127, p. 415, 1938.
158. THADDEA : *Klin. Wschr.*, t. 9, p. 295, 1935 y t. 36, p. 1275, 1935.
159. „ *Ztschr. f. exper. Med.*, t. 95, p. 600, 1935.
160. „ *Deutsche Med. Wschr.*, t. 28, p. 1117, 1936.
161. G. W. THORN & H. EISENBERG : *Endocrinology*, t. 25, p. 39, 1939.
162. G. W. THORN, B. F. JONES, R. A. LEWIS, E. R. MITCHELL & G. F. KOEPF : *Am. J. Physiol.*, t. 137, p. 606, 1942.
163. E. E. TYZZER : *J. Med. Research*, t. 17, p. 199, 1907 y t. 21, p. 519, 1909.
164. B. TWAROWSKA : *Acta Phys. Polonica*, t. 2, p. 268 y 273, 1933.
165. VERZÁR fl *Die Funktion der Nebennierenrinde*, Basel 1939.
166. O. WARBURG : *Über den Stoffwechsel der Tumoren. Verlag Julius Springer*, Berlin 1926.
167. S. WASZCZEROWICZ : *Acta Phys. Polonica*, t. 2, p. 283, 1932.
168. S. WASZCZEROWICZ & K. BOGNA : *Acta Phys. Polonica*, t. 2, p. 1, 1933.
169. PEDRO WEISS : *Curso de Anatomia Patológica (corr. y aum.)*, Lima 1940.
170. H. WIELAND & O. SCHLICHTING : *Ztschr. f. physiol. Chem.*, t. 150, p. 267, 1925.
171. H. WIELAND & E. DANE : *Ztschr. g. physiol. Chem.*, t. 219, p. 240, 1933.
172. A. WINTERSTEIN, H. VETTER & K. SCHÖN : *Berichte d. Chem. Ges.*, t. 68, p. 1079, 1935.
173. WINTERSTEINER & PFIFFNER : *J. Bio. Chem.*, t. 116, p. 291, 1936.

174. J. K. WOLFE, L. F. FIESER & H. B. FRIEDGOOD : *J. Am. Chem. Soc.*, t. 63, p. 582, 1941.
175. R. B. WOODWARD : *J. Am. Chem. Soc.*, t. 63, p. 1123, 1941 y t. 64, p. 72 y 76, 1942.
176. G. W. WOOLLEY, L. W. LAW & C. C. LITTLE : *Cancer Research*, t. 1, p. 955, 1941.
177. YAMAGIWA & YCHIKAWA : *Mitteilung der medizinischen Fakultät der kaiserlichen Universität, Tokio*, t. 15, p. 295, 1915.
178. M. ZALESKY, L. J. WELLS, M. D. OVERHOLSER & E. T. GÓMEZ : *Endocrinology*, t. 28, p. 521, 1941.

---

\* Nuestro sincero agradecimiento al Dr. Carlos Ramirez Núñez, ex-Inspector General de Investigaciones, por las facilidades que brindó en el Laboratorio de Técnica Policial del Cuerpo de Investigaciones y Vigilancia, para la realización de nuestras determinaciones espectrográficas.

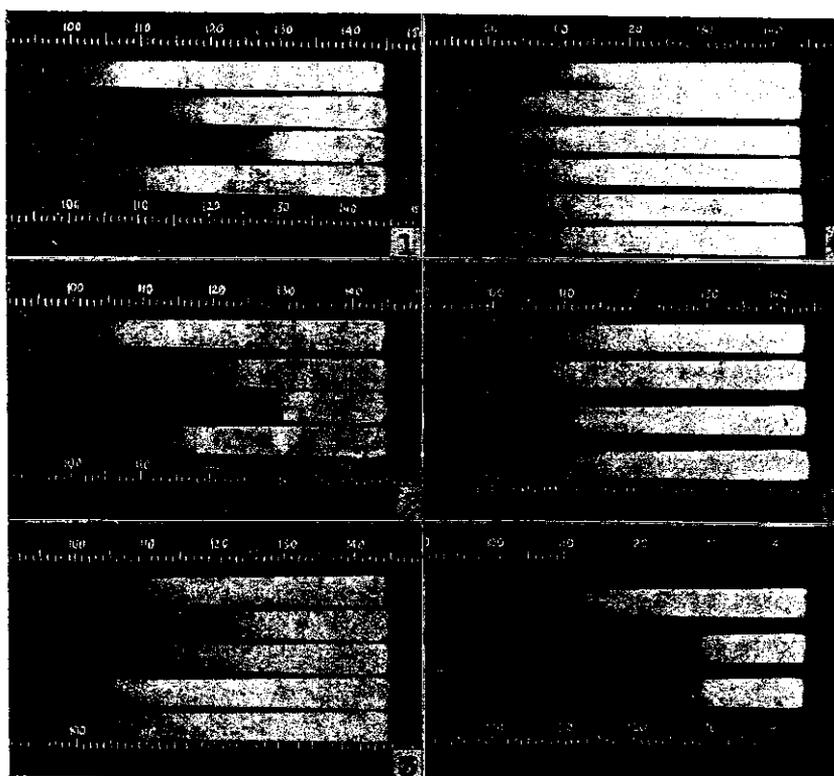
*LAMINA I*

- Fig. 1 Rata R-5, perteneciente al primer grupo de animales inoculados con extracto de tejido neoplásico humano y muerta espontáneamente. Vista de la región cervico-escapular mostrando la zona inoculadora y el gran quiste oleoso multitabicado.
- Fig. 2 Vista de la cavidad peritoneal de la rata control R-3 muerta espontáneamente. Nótese la presencia de los tres quistes oleosos lípidos ocupando la región supra e infra-renal.

*LAMINA II*

Vista de los espectrogramas obtenidos en nuestras determinaciones por examen espectrográfico de los extractos de tejidos humanos de cancerosos y de sujeto normal.

- Fig. 1 Espectrogramas de los extractos del Caso IV. En orden descendente, espectro de la fuente luminosa empleada, espectro de absorción del extracto alcohólico, espectro de absorción del extracto atéreo (notar 4 bandas de absorción definidas) y espectro del extracto acetónico.
- Fig. 2 Idem. Fig. 1 correspondiente a los extractos del Caso IV.
- Fig. 3 Espectros correspondientes a los extractos del Caso Control Humano I. Además de los espectrogramas descritos en la Fig. 1, al pie aparece el espectrograma del extracto benzólico. Nótese en el extracto etéreo (tercero de arriba) el esbozo de 4 tenues bandas de absorción.
- Fig. 4 Espectrogramas controles. De arriba abajo: Fuente luminosa, alcohol, éter, acetona, benzol y agua destilada.
- Fig. 5 Espectrogramas de 1 extracto etéreo de tejido neoplásico humano del Caso I, tomados con diferentes espesores de capa.
- Fig. 6 Espectrogramas de los extractos acuosos de tejidos noneoplásicos de los Casos IV y V. El primer espectrograma corresponde a la fuente luminosa. Nótese la fuerte absorción presentada por los extractos.



*LAMINA III*

- Figs. 1 y 2** Ratón con tumor espontáneo. Nótese el volúmen de la tumoración.
- Fig. 3** El mismo animal después de sacrificado por dislocación cervical. Nótese aspecto, volúmen y adherencias de la tumoración.
- Fig. 4** Microfotografía del corte histológico del tumor. Nótese los nidos carcinomatosos de tipo adenoide. Diagnóstico histo-patológico: Adenocarcinoma de la mama.
- Fig. 5** Microfotografía de la glándula suprarrenal izquierda del mismo animal. Coloración según el método de W. Cramer y E. S. Horning  $\times 80$  aumentos. Nótese área incipiente de "brown degeneration" en la reticular.
- Fig. 6** Idem. Detalle a  $\times 800$  del foco de "brown degeneration".



*LAMINA IV*

Microfotografías a pequeño y gran aumento de las glándulas suprarrenales de hombres cancerosos y de sujeto normal.

- Figs. 1 y 2 Corteza suprarrenal del Caso IV. Coloración de Cramer y Horning. Aumentos  $\times 80$  y  $\times 800$  respectivamente. Nótese la casi desaparición de la estructura normal de la fascicular debido a la enorme impregnación lipóidica.
- Figs. 3 y 4 Corteza suprarrenal del Caso V. Técnica idem. Figs. 1 y 2. Nótese la degeneración por impregnación lipóidica de la cito-arquitectura de la corteza suprarrenal.
- Figs. 5 y 6 Microfotografías de corteza suprarrenal humana normal. Técnica histológica idem. Figs. 1 y 2. Nótese la disposición normal de las trabéculas fasciculares, las células claras de la glomerular y el aspecto clásico de los espongocitos fasciculares.

