

ALGUNAS INVESTIGACIONES SOBRE INFLUENCIAS CANCERIGENAS

Por PAUL ENGEL

En primer lugar tengo que agradecer al doctor Velásquez por haberme ofrecido la oportunidad de seguir con mis investigaciones en este ambiente científico tan maravilloso de la Escuela de Veterinaria y de agradecerle a él, así como también a muchos otros miembros de esta Escuela su grata ayuda científica y práctica en mis ensayos.

En un lugar común repetido por casi todos los laicos, pero desgraciadamente también algunas veces por hombres de ciencia que no sabemos nada sobre el cáncer. Esto no es verdad, quizá sea lo contrario. Conocemos sumamente bien la morfología de la célula cancerosa y del tejido canceroso, gracias a las investigaciones de los mejores histólogos y patólogos de todas las naciones. Pero el "problema del cáncer" seguramente no se puede aclarar por los estudios morfológicos, sino son las investigaciones fisiológicas y bioquímicas las que siempre exigen un mayor interés.

Hay, según nuestra opinión, dos progresos fundamentales en la ciencia biológica de los tumores malignos. (En este trabajo vamos a usar la palabra "Cáncer" para significar los tumores malignos, considerando que su biología es poco diferente). El uno son los hechos encontrados por WARBURG con respecto al carácter embrional del metabolismo de los carbohidratos en el tejido neoplástico, y el otro es la producción de tumores malignos

por ciertas influencias físicas o químicas en los animales de laboratorio.

Los primeros en encontrar esta actividad cancerígena de ciertas sustancias químicas fueron YAMAGIVA e ICHIKAWA, quienes mostraron la actividad cancerígena del alquitrán. Hoy sabemos —gracias a las investigaciones de COOK, KENNEWAY y otros investigadores— que las sustancias cancerígenas son hidrocarburos y que algunas de éstas (como el metil colantrena) son muy parecidas a sustancias fisiológicas como los ácidos biliares o los esteroides a los cuales pertenecen sustancias tan importantes como las hormonas sexuales y la hormona de la corteza suprarrenal.

Más tarde se mostraron varias influencias cancerígenas. Parece que todas las producciones de tumores por parásitos, (como la spiróptera neoplástica de FIBEGGER y el bacillus tumefaciens de BLUMENTHAL), no fueron sino otras formas de irritaciones. Conocemos también varias irritaciones de un carácter puramente físico, que después de un tiempo (en muchos casos muy largo) pueden producir tumores malignos, como radium, rayos X, quemaduras y rayos ultravioletas. ROFF opina, que también en estos casos el desarrollo del neoplasma se debe a ciertas sustancias químicas, derivadas del colesterol. Me parece que habla en favor de esta opinión, la relación estrecha que se observa entre la foliculitis y las sus-

tancias cancerígenas. Hay varios trabajos que muestran esta relación tan importante.

LACASSAGNE trataba a los machos de una raza de ratones, cuyas hembras si odas se murieron por un cáncer del seno por foliculina, y encontró que después de este tratamiento, el cáncer del seno se desarrolló también en los machos. Puede ser que esto se deba únicamente a la influencia hormonal de la foliculina, es decir, que bajo la influencia de dicha hormona se desarrolla la glándula mamaria de los machos a tal punto que la disposición de esta raza de ratones puede manifestarse en el órgano. Pero hay una prueba, según nuestra opinión, mucho más clara y segura para la relación biológico-química que existe entre la hormona femenina y las sustancias cancerígenas. Investigadores ingleses —COOK, DODDS y sus colaboradores— encontraron que los agentes más cancerígenos del alquitrán como el 5,6-ciclopenteno-12—benzantrena y el 1,2 benzo-pirena producen el estro en las hembras castradas, es decir, dan el test de ALLEN DOIS positivo.

Hace algunos años LAQUEUR y sus colaboradores encontraron una cantidad sorprendente (hasta 10.000 unidades por litro) de foliculina en la sangre de enfermos (varones) de cáncer. Creyeron que se trataba de una "necrohormona", es decir, un producto de la destrucción del tejido epitelial. Nosotros hemos investigado la sangre de ratones con carcinomas, sarcomas y condromas transmisibles. Seguramente una concentración bastante alta de una sustancia estrógena en la sangre de los animales con carcinomas y sarcomas, pero no en los animales con condromas. De manera que la llamada "Hormona" se encontró en animales con tumores de origen mesenquimal tanto

como en tumores de origen epitelial. Pero la sustancia se encuentra únicamente en animales con tumores de un crecimiento muy rápido (el adenocarcinoma de Ehrlich usado en estos experimentos mata a un ratón en período de 2 a 4 semanas), es decir, malignos, mientras no aparece en los animales con tumores **benignos**, es decir, de un crecimiento lento como el condroma. Hemos continuado estas investigaciones encontrando sustancias estrogénicas (en colaboración con SILBERSZTEIN y FELLNER) también en el mismo tejido neoplástico verosímil que el mismo tumor sea la fuente de estas sustancias.

También hemos encontrado una sustancia estrogénica en la sangre de perros machos irradiados con elevadas dosis de rádium. En las partes irradiadas de la piel también se encontró la actividad hormonal. Lo mismo en el líquido vesicular de una quemadura de mujer postclimática (es decir cuyos ovarios no producen foliculina) y más tarde también en la sangre y en la piel de conejos machos irradiados con rayos ultravioletas.

Hace ya bastante tiempo dudé que esta sustancia o estas sustancias, que dan el test ALLAN doisy positivo fueran idénticas a la hormona producida por el folículo. Así, por ejemplo, los extractos de la sangre de perros irradiados que produjeron claramente el estro en la vagina de hembras castradas, no produjeron un aumento del útero de curies infantiles, actividad biológica que también corresponde a la hormona femenina.

En resumen: después de varias influencias físicas como quemaduras, irradiaciones con rayos X, con rádium, con rayos ultravioletas se observa la producción de sustancias estrógenas. Recordemos, pues, que todas estas influencias son

cancerígenas. Es conocido de todos los casos de cáncer en los radiólogos, en enfermos irradiados con dosis elevadas de rádium o de Rayos X, (he visto varios de estos casos en enfermos que fueron irradiados por un Lupus-tuberculosis cutánea— y 20 años más tarde se desarrollaron epitelomas en el terreno irradiado), y desde algunos años atrás conocemos, gracias a las cuidadosas investigaciones de ROFFO, en Buenos Aires, la actividad cancerígena de los rayos solares especialmente los ultravioletas.

Teniendo en cuenta estos hechos se nos ocurrió que la actividad estrógena observada en el tejido canceroso después de las irritaciones cancerígenas, se debe a ciertas sustancias cancerígenas que se encuentran en el organismo o se desarrollan en él. ROFFO cree, que los rayos cancerígenos del sol producen una oxidación del colesterol y que éstos productos de la oxidación de la colesteroína sean la causa del cáncer. Sería esto de suma importancia teórica y práctica. Entonces no hubiera diferencias entre las causas químicas y físicas de los tumores malignos, sino que el mecanismo siempre fuera del mismo, ligado a la presencia de ciertas sustancias cuyo papel importante que desempeña en la biología es conocido.

Hemos usado tres métodos y estamos cerca a estos experimentos por tres vías para contribuir modestamente a la aclaración de este problema importantísimo, quizá fundamental.

En la primera investigación no hemos hecho otra cosa sino contribuir a los hechos encontrados por ROFFO y amplificarlos un poco.

ROFFO observó que el cáncer se desarrolla frecuentemente en el cutis de individuos expuestos a

los rayos solares y confirmó esta observación por experimentos interesantísimos y fundamentales en ratas blancas, a quienes expuso durante largo tiempo a los rayos solares o a los rayos ultravioleta de una fuente de luz artificial. En un porcentaje muy elevado, estos animales desarrollaron cánceres de la piel, mostrando así claramente lo bien fundado que son las teorías del investigador argentino.

El cáncer es una enfermedad bastante frecuente entre los animales traídos a la Escuela de Veterinaria de Bogotá. Más frecuente es entre las reses. La localización casi exclusiva de esta enfermedad es el ojo. Hace algún tiempo que al doctor Velásquez le ocurrió la idea, que este cáncer de una localización superficial se debe también a la irradiación solar, sin duda sumamente fuerte en esta región ecuatorial y además a la gran altura de la altiplanicie de Bogotá.

Hemos estudiado las historias clínicas de las reses tratadas en la Escuela de Veterinaria durante un período de 5 años. Entre 131 reses que fueron traídas a la Escuela, 19 animales sufrieron de cáncer, porcentaje sin duda bastante alto ($14\frac{1}{2}\%$). Estudiando, pues, la influencia del sexo se encontró que el cáncer es más frecuente entre las hembras que entre los machos. Entre los 49 machos, fueron, es decir, 78% cancerosos, mientras que el porcentaje entre las 63 vacas alcanzó 18,2% (14 animales). Conocemos la frecuencia más grande del cáncer en el sexo femenino, pero ésta se debe en el género humano por ejemplo a la circunstancia que las localizaciones más frecuentes son el cáncer del útero y del seno, y esta localización está considerada como la causa de frecuencia más grande de esta enfermedad en las mujeres

que en los varones. También se conoce la frecuencia más grande de neoplasmas malignos en las pecheras que en los perros, debida también a la frecuencia del cáncer de la glándula mamaria en esta especie. De los ratones, especie en la cual el cáncer es muy frecuente, se puede sostener lo mismo. Pero en el vacuno no ocurre lo propio, puesto que en nuestro material se encuentra no más de una vaca con un carcinoma de la ubre, mientras que en todos los otros animales se observó el cáncer en el ojo. No me atrevo sacar de nuestro material la conclusión tan seductora, de que haya de veras una predisposición del sexo femenino, debida talvez a la influencia de la hormona del folículo. Repito que para esta conclusión, nuestro material me parece demasiado pequeño.

Más característica y más importante me parece la localización de los tumores. He mencionado ya, que de los 19 tumores no más de uno, es decir 4.5% se encontró en la ubre, mientras que el tumor se encontró en todos los otros 18 casos, o sea el 94.5% de los animales en el ojo. Esta localización en un lugar de los más expuestos a los rayos solares (y de las regiones expuestas sin duda el lugar donde se encuentran los tejidos más sensibles), lo hace muy probable, que la irradiación ultravioleta sea la causa de estos neoplasmas.

Pero hay un punto más que me parece de algún interés. Al estudiar la raza de los animales cancerosos se encuentra una cosa muy curiosa. De los 131 animales, fueron 28 de raza Holstein, 27 normandas, 48 de raza criolla y 27 animales de otras razas. (De los Shorthorn, Red polled). De los 28 animales de raza Holstein 8 (28.5%) fueron cancerosos; de las

27 reses normandas también 8 o (29.5%), mientras que el cáncer se encontró en no más de 3 (o sea 6.1% de los 48 animales de raza criolla, y de éstos animales una tenía un cáncer de la ubre, así que el cáncer por irradiación solar fue de veras todavía menos frecuente) y en ningún animal de las otras razas. Vemos, pues, que el cáncer por rayos solares se encuentra en primer lugar en las razas introducidas del Norte de Europa, poco pigmentadas y seguramente no acostumbradas a esta irradiación del sol tropical. Observación muy parecida ROFFO ha hecho en los hombres en Argentina. El cáncer cutáneo que se observa en primer lugar en los trabajadores en la pampa, expuestos a los rayos solares, es muy frecuente en los inmigrantes y menos frecuente en los criollos. El cáncer se encontró también más frecuente entre los hombres rubios de ojos azules y cutis muy blanco que en los morenos. No se encontró ningún caso de cáncer de la cara en indígenas o en hombres que tenían sangre de negro. Me parece que la disposición más grande de las razas "nórdicas" en las reses o mejor dicho su resistencia a los rayos solares, corresponde perfectamente a las observaciones hechas por ROFFO en el hombre.

Las otras investigaciones sobre las cuales queremos hablar hoy fueron trabajos experimentales. Hemos hablado ya sobre el hecho interesante, que en las lesiones que pueden ser cancerígenas, como quemaduras, irradiaciones por radium y por rayos ultravioletas, se encuentran sustancias estrógenas y que las sustancias de la actividad cancerígena más fuerte que hay hoy, conocemos, dan la reacción biológica característica para la foliculina. Me parece una pregunta muy interesante si esta reacción estrógena se debe a la pre-

sencia de sustancias cancerígenas. Hemos dicho que también en el mismo tejido canceroso encontramos sustancias estrógenas, y después de nosotros, otros autores confirmaron estos resultados. Por este hemos iniciado una serie de ensayos en este sentido.

Hicimos extractos de dos cánceres del ojo de vacas normandas. Los extractos fueron hechos por extracción del alcohol, éter, acetona y benzol caliente. Estos extractos en benzol se disolvieron en solución benzólica. Con esta solución, una serie de ratones fueron tratados durante 3 meses. Después de tres meses, todos los animales se murieron y mostraron eczemas e inflamaciones locales muy parecidas a las producidas por el alquitrán, pero ningún animal tenía un tumor.

Una segunda serie de ratones tratados durante 3 meses, dió el mismo resultado. En los riñones y en los hígados de algunos de estos animales se encontraron amiloidosis.

También fueron tratados 3 conejos con extractos parecidos. Estos animales se murieron después de 4 meses, mostrando también graves ulceraciones de las orejas tratadas, y también degeneraciones hepáticas y renales sin verdaderos tumores.

Hay que tener en cuenta que también después del tratamiento con alquitrán, casi nunca se observa un tumor antes de 4 meses, por lo menos, y que todos nuestros animales se murieron antes de este período. En fin, tratamos a una serie de ratones, con un extracto sacado de la misma manera del cáncer del rectum de un burro castrado. Logramos tener vivos unos pocos de estos animales durante más tiempo. El animal que más tiempo vivió alcanzó un tratamiento de 4 meses. En el cavo abdominal de este animal se en-

contró un gran tumor que parecía tener su origen en la vesícula seminal. La investigación histológica (estoy muy agradecido al señor Santiago Reyes, quien hizo las preparaciones histológicas en todas estas investigaciones) confirmó que el tumor salió de la vesícula seminal. El tumor, que fue bastante hemorrágico, fue formado por glándulas atípicas y muy rico en mitosis y células atípicas. No cabe duda que se trató de un carcinoma. En la raza de ratones usada para estas investigaciones, no hemos observado nunca un tumor espontáneo, y como además no conocemos en toda la literatura ningún caso de cáncer espontáneo en la vesícula seminal del ratón, nuestro resultado nos parece muy interesante.

Se preguntará con razón, por qué el tumor se desarrolló en la glándula vesicular, si el animal fue pintado en la piel. Pero también otros autores describieron la disposición grande del tracto urogenital para los neoplasmas artificiales, así por ejemplo, el autor japonés TOMIZO encontró tumores malignos en la vejiga urinaria de ratas tratadas por administración de mono-amido-azo-toloul por vía oral.

Me parece muy verosímil que este tumor maligno fue producido por el tratamiento con el extracto de cáncer. Conocemos la transmisión del sarcoma del pollo de ROUS por filtrados sin células, pero este caso sería la primera observación de producción de un tumor en un mamífero (y además de un mamífero de especie distinta) por un extracto de un neoplasma maligno. Considerando el hecho que no se encuentran tumores espontáneos en nuestros ratones y la localización rara de este neoplasma, el caso nos parece de importancia, aunque estamos continuando nuestras investigaciones y

no nos podemos dar por satisfechos con este resultado, que talvez nos muestra el camino que tenemos que seguir.

Nosotros ya hemos mencionado los trabajos importantes de ROFFO sobre los tumores producidos por la irradiación solar. Según nuestra opinión, estos tumores se deben únicamente a la influencia de los rayos ultravioletas (hablo de los tumores en las ratas), teniendo en cuenta que dichos tumores se desarrollan en un porcentaje altísimo de los animales tratados, mientras que nunca se observan como neoplasmas espontáneos.

Hace poco, PELLER y STEPHENSON publicaron una estadística sumamente interesante. Investigaron la frecuencia del cáncer en los mamíferos de la armada de los Estados Unidos y en la población civil. Los marineros son sin duda los individuos más expuestos a los rayos solares y también el alquitrán y otras influencias cancerígenas. El resultado fue sorprendente —el cáncer de la piel es cuatro veces más frecuente entre los marineros que en el resto de la población— pero la mortalidad de cáncer es más pequeña debido a que los tumores de los órganos internos (mucho más peligrosos que el cáncer de la piel) son más raros en los marineros. Con cierta razón PELLER y STEPHENSON sacaron de sus investigaciones la conclusión que los rayos solares determinan la localización de los neoplasmas y defienden al individuo en cierto sentido de un cáncer de los órganos internos.

Esto me pareció de una importancia práctica y teórica fundamental. Si la influencia de los rayos ultravioletas (que según ROFFO y también según nuestras investigaciones sobre las cuales aca-

bamos de hablar, producen sustancias cancerígenas en la parte irradiada) determina únicamente la localización de los tumores, entonces debe existir una disposición que no depende de estas sustancias. Es entonces la predisposición del individuo a enfermarse de un neoplasma, pero depende de la localización de las irritaciones en qué órgano este tumor se va a desarrollar. Pues yo creo que las experiencias en animales, hablan en contra de esta opinión, si tenemos en cuenta que bajo la influencia del alquitrán o de los rayos ultravioletas se desarrollan tumores en un porcentaje por lo menos cien veces más elevado como en los animales no tratados.

Clara está también la importancia práctica de esta cuestión. ROFFO repite en varias publicaciones, que la irradiación desmesurada en la playa que tanto gusta a los deportistas de nuestro tiempo, es muy peligrosa y no aconsejable; pero si la teoría de PELLER y STEPHENSON tiene razón, quizá sería mejor exponerse al sol. Si le toca a uno tener un cáncer, siempre es mejor tenerlo en la piel que un tumor del estómago.

Para ver si la irradiación y la irritación de la piel inhibe el desarrollo de los tumores en los órganos internos, hemos realizado los siguientes ensayos.

Casi todos los métodos de producir cánceres artificiales por cualquier influencia cancerígena, se refieren a la producción de tumores cutáneos. ASKENAZY mostró que se puede conseguir tumores después de no más de 5 inyecciones intraperitoneales de sustancias cancerígenas, como el benzopirena, el dibenzantrena o el metilcolantrena. El observó en unos 50% de las ratas tratadas de esta manera el desarrollo de sarcomas después de 9 a 12 meses de tratamiento. Se

puede producir los tumores más rápidamente si se inyecta dichas sustancias por vía subcutánea, pero claro está que para nuestra investigación nos sirvió únicamente la vía intraperitoneal.

Hemos hecho los siguientes ensayos. Un grupo de 23 ratones fue irradiado todos los días durante 5 minutos con una lámpara sunshine

dos y 6 de los animales no irradiados. Ninguno de estos animales mostró un tumor. Pero los otros 7 animales se murieron en el curso del mes de mayo y todos estos animales mostraron tumores del tracto gastrointestinal. En dos casos se trató únicamente de un aumento del tejido linfático del intestino mientras que en los otros



**Tumor de la vesícula seminal.
Ratón tratado por extracto de cáncer
de burro.**

(rayos ultravioletas) desde una distancia de 70 centímetros. Este tratamiento duró 6 meses. 3 de los animales se murieron durante este tiempo. Después estos animales así como 11 ratones no irradiados fueron inyectados con 0,2cc. de una solución de 0,5% de benzopirena en aceite de olivas esterilizado. La primera inyección se hizo el 2 de febrero de 1939, y fue repetida el 20 de febrero y el 3 de marzo. Hasta el 9 de mayo se murieron 13 de los animales irradiados



**Tumor (sarcoma fusocelular) del
intestino.
Ratón inyectado con benzopirena
e irradiado.**

5 animales los tumores fueron verdaderos neoplasmas malignos. En cuatro animales encontramos adenocarcinomas; en un animal, un sarcoma fusocelular. Los animales no irradiados fueron sacrificados 5 meses después de las inyecciones de benzopirena y ninguno mostró un tumor.

De estos experimentos se puede sacar la conclusión que la irradiación por rayos ultravioletas no inhibió el desarrollo de un cáncer de

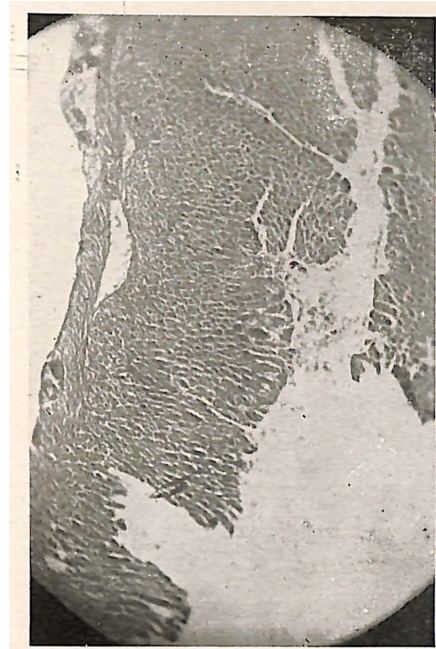
los órganos internos, sino que al contrario, lo favoreció de una manera sumamente clara. ASKENAZY obtuvo tumores intestinales en sus ratas 9 a 12 meses después de la inyección, y necesitaba por lo menos inyecciones. Nosotros hemos inyectado a nuestros ratones no más de 3 veces y vimos el desarrollo de los tumores en un pe-



**Adenocarcinoma del intestino.
Ratón tratado por benzopirena
e irradiación.**

ríodo corto de 14 a 16 semanas. Además, ASKENAZY vio tumores de 50% de sus animales, mientras que en nuestros animales hemos visto el desarrollo maligno en 5, de 7 animales. Pero lo más importante es que en ninguno de los animales no irradiados se desarrolló un cáncer bajo el mismo tratamiento y en un tiempo de observación más largo. Creemos que no cabe duda que en nuestros ensayos la irritación del cutis por los rayos ultravioletas no solamente

no ha disminuído el desarrollo de los cánceres de los órganos internos, sino que los ha favorecido en alto grado. Creemos, pues, que cualquier influencia que favorece la producción de sustancias cancerígenas aumenta la disposición para el desarrollo de tumores malignos en cualquier parte del organismo.



**Adenocarcinoma. Ratón tratado con
benzopirena e irradiación.**

Nuestras investigaciones en las reses confirman perfectamente las observaciones de ROFFO en el hombre, y afirman su teoría de la influencia cancerígena de los rayos ultravioletas. Como en investigaciones anteriores hemos observado la presencia de sustancias estrógenas en el tejido canceroso así como en individuos irradiados por rayos X, rayos de Rádium o rayos ultravioletas, así como después de una quemadura, lesiones todas éstas que en ciertos casos pueden ser cancerígenas, supongamos que se

puede tratar de sustancias cancerígenas, puesto que algunas de éstas también dan el test de Allen y Doisy positivo. Creemos, pues, que en las sustancias estrógenas, que se observen en individuos cancerosos no se trata de la foliculina sino de sustancias cancerígenas.



**Adenocarcinoma intestinal.
Ratón irradiado y tratado por
benzopirena.**

Esto sería muy importante, pues en este caso cada tumor fuera producido por ciertas sustancias químicas y también la actividad cancerígena de ciertas influencias físicas cancerígenas (rayos ultravioletas, etc.) sería debida a la producción de las mismas sustancias

cancerígenas, es decir, que el cáncer tiene siempre la misma causa, que sería una causa química.

Para éstos hemos hecho extractos del tejido canceroso y hemos visto en animales tratados por estas lesiones muy parecidas a las producidas por las sustancias cancerígenas del alquitrán y en un caso el desarrollo de un verdadero carcinoma. Claro está que lo consideramos como nuestro deber de continuar estos ensayos incompletos todavía y estamos trabajando en esto.

En la tercera serie de ensayos pudimos mostrar claramente que la disposición general para el desarrollo de tumores malignos ésta aumenta por la influencia previa de los rayos ultravioletas. Así que se puede decir que la acción de estos rayos no es únicamente local sino general. La conclusión teórica de estos experimentos es otra vez, que cada influencia cancerígena es una influencia general y creo lógico que esto es decir una influencia química puesto que únicamente sustancias químicas y no simples lesiones físicas pueden actuar sobre el organismo.

Como conclusión práctica, tenemos que confirmar la opinión de ROFFO, que la irradiación exagerada por rayos X en las montañas y en las playas, debe considerarse como contraria a las exigencias de la higiene, que quizá no es saludable y al menos peligrosa.

Paul Engel

Bogotá, Junio de 1940.