

TRANSMISION DE UN CRECIMIENTO MALIGNO MEDIANTE UN FILTRADO LIBRE DE CELULAS*

Peyton Rous, M.D.

Un tumor de gallinas, histológicamente un sarcoma de células en forma de huso, ha sido propagado en este laboratorio desde 1909⁽¹⁾ y en los últimos meses se ha vuelto extremadamente maligno⁽²⁾. De una pequeña cantidad inoculada en el músculo del pecho de un ave susceptible, se desarrolla rápidamente un tumor grande y de consistencia firme que da metástasis a las vísceras y mata al huésped en 4 a 5 semanas. El comportamiento del nuevo crecimiento ha sido idéntico al de una verdadera neoplasia, por lo cual su transmisión por medio de un filtrado libre de células adquiere una importancia excepcional.

EXPERIMENTOS

Para los primeros experimentos se hizo uso de papel de filtro ordinario y el tejido tumoral fue macerado en solución de Ringer. Se supuso que la leve barrera de papel, que permite el paso de algunas células rojas y linfocitos, sería suficiente para descartar el tumor y hacer el filtrado inocuo. Tal ha sido la experiencia de otros investigadores con tumores de ratones y perros. Pero en este caso la inoculación de pequeñas cantidades del material filtrado fueron suficientes para reproducir el tumor; lo mismo ocurrió después de inocular el sobrenadante de la emulsión del tumor después de la centrifugación.

Estos resultados condujeron a experimentos más críticos, que serán detallados aquí. Tumores grandes, jóvenes y de rápido crecimiento y gallinas Plumouth Rock moteadas, fueron usadas en todos los experimentos.

* De los laboratorios del Instituto Rockefeller para investigación Médica. Publicación original: J. Am. Med. Assoc, 56:198. 1911. Traducción autorizada de Jorge E Ossa. L. del libro: Selected papers on virology. Nicholas Hahon Ed. Prentice-Hall, Inc. Engle wood cliffs, N.T. Pags: 93-96. 1964.

Experimento No. 1. Material tumoral del músculo pectoral de la gallina 92 (generación del tumor 6A) fue macerado con arena estéril y suspendido en una cantidad considerable de solución de Ringer; el material fue agitado en una máquina por 20 minutos. La arena y los fragmentos de tumor se separaron por centrifugación y en tubos largos por 5 minutos a 2.800 revoluciones por minuto. Un poco del sobrenadante fue extraído y centrifugado de nuevo por 15 minutos a 3.000 revoluciones por minuto. De las fracciones superiores se tomó cuidadosamente material para las inoculaciones. Aves puras fueron inyectadas en un músculo pectoral con 0.2 cc de fluido, y en el otro, con una pequeña porción de tejido tumoral. Todas las aves desarrollaron el tumor en el sitio de esta última inoculación y en 7, el mismo crecimiento apareció lentamente en el sitio de la inoculación del fluido.

Experimento No. 2. Tejido tumoral de la gallina 90 (generación del tumor 6A) fue macerado, suspendido y agitado como se describió antes. Pero después de la primera centrifugación el fluido fue pasado por un filtro de Berkefeld No. 2. Antes de la filtración el fluido era entre rosado y amarillo y opaco; después de la filtración era levemente amarillo y transparente. Se inocularon 9 gallinas con 0.2 cc cada una, en cada músculo pectoral y 22 más recibieron filtrado en un lado y un pedacito de tumor en el otro. De las 9, una desarrolló un sarcoma en cada lado, lentamente; y más tarde se encontraron crecimientos microscópicos en los pulmones. De las 22 que recibieron filtrado y tumor, 5 desarrollaron sarcoma en el sitio donde se había inoculado el filtrado; y estas cinco mostraron tumores particularmente grandes en el sitio de inoculación del fragmento de tumor. El filtrado de Berkefeld utilizado se halló levemente permeable al *Bacillus prodigiosus*.

Experimento No. 3. El filtrado se preparó de la misma manera, con la excepción de que un filtro Berkefeld de tamaño de poro más pequeño fue utilizado en este caso (No. 5 medio), impermeable a *Bacillus prodigiosus*. Como antes la filtración se hizo a temperatura ambiente. La gallina 124 (generación 7A), suministró el material tumoral. Veinte gallinas fueron inoculadas en cada lado con el filtrado, pero ninguna desarrolló el tumor.

Experimento No. 4. En este experimento el material no se dejó enfriar en ningún momento. Más o menos 15 gm de tejido tumoral de la gallina 140 (generación 7 B) fueron macerados en un mortero tibio, con arena tibia, mezclados con 200 cc de solución de Ringer tibia, agitados durante 30 minutos en un cuarto caliente, centrifugados y pasados a través de un filtro como el utilizado en el experimento 3. Tanto antes como después del experimento este filtro fue capaz de retener el *Bacillus prodigiosus*. La filtración del fluido se hizo a 38.5C, y la inoculación se hizo inmediatamente después. En cuatro de diez gallinas inoculadas con el filtrado solamente (0.2 a 0.5 cc en cada lado) se desarrolló un sarcoma en un lado; y aunque el crecimiento requiere varias semanas para su aparición, una vez que aparece, el crecimiento progresa más o menos rápidamente. Pedazos de tumor removidos mediante cirugía han demostrado la estructura característica del tumor.

CARACTERISTICAS DEL TUMOR

Como se señaló antes, la significancia especial de estos resultados se deben a la identidad del crecimiento como un tumor. El tumor original fue encontrado en una gallina de un lote de aves sanas; y aunque gallinas susceptibles y normales se han mantenido mezcladas con gallinas afectadas en cuartos cerrados por períodos largos de tiempo, nunca ha ocurrido nada que indique una infectividad natural del tumor. Al inocular las aves la primera reacción es una enfermedad localizada, muy dependiente de la buena salud del huésped. En este mo-

mento una enfermedad de otra naturaleza en la gallina, estabiliza el crecimiento del nódulo o puede aún, causar la desaparición temporal del mismo. Por mucho tiempo el sarcoma podía mantenerse solamente en gallinas de la misma variedad pura en que este apareció, y esto sólo en algunos individuos; pero como muchos tumores, este ha ganado malignidad al ser transplantado repetidamente y adquiere además la cualidad de crecer en otras cepas de animales. Sin embargo en éstos, el tumor no crece muy bien y tampoco se ha podido transplantar a otras especies.

Histológicamente el tumor siempre ha consistido de un mismo tipo de células, o sea las células en uso dispuestas en "bundles" con un poco de tejido conectivo de soporte. El cuadro no sugiere en ningún momento un granuloma; y el cultivo del tumor permanece estéril, en cuanto hace relación con bacterias. Al borde de la masa invasiva, no hay prácticamente ninguna reacción celular, pero se pueden encontrar linfocitos en pequeña cantidad, como es lo común con tumores en general. Las metástasis tienen lugar tempranamente, por vía sanguínea, y los nódulos secundarios tienen las mismas características como el nódulo primario. Se han encontrado algunos casos de invasión de los vasos por el sarcoma. Las metástasis se distribuyen especialmente en el pulmón, el corazón, el hígado y en este último órgano el tumor es algunas veces umbilicado. El huésped se torna emaciado, frío, letárgico, y muere muy pronto.

Experimentos de trasplantes de los tumores resultantes de los filtrados, están siendo realizados en estos momentos. El tumor del experimento 2, que apareció en la gallina que recibió el filtrado solamente, ya ha sido transplantado exitosamente.

Nota del Editor

Uno de los primeros tumores virales en ser transmitidos con extractos de tejidos, fue la Mixomatosis del conejo, reportada al final del siglo pasado por G. Sanarelli⁽³⁾. Aunque él creyó que el agente causal era un virus, en el sentido de que éste era demasiado pequeño para ser visto al microscopio, Sanarelli no realizó pruebas para demostrar la filtrabilidad del agente. El origen viral de tumores animales fue sugerido en primer lugar por Borrel⁽⁴⁾, pero éste se basó en comparación de carcinomas y lesiones causadas por virus en células epiteliales, como en el caso de viruelas. La transmisión de una forma de leucemia de las gallinas mediante un extracto libre de células fue reportado por Ellermann y Bang⁽⁵⁾, pero la posible etiología viral de esta condición neoplásica pasó desapercibida. Fue Rous, en el artículo transcrito en estas páginas, quien demostró conclusivamente la transmisibilidad de un tumor sólido. Él fue capaz de inducir una enfermedad neoplásica con un extracto libre de células y de bacterias de un sarcoma aviar (más tarde llamado Sarcoma de Rous) que podría ser transferido a otros animales en forma indefinida. La filtrabilidad del agente era una fuerte indicación de que se trataba de un virus. El concepto de que algunas formaciones tumorales pueden tener un origen viral, no fue aceptado inmediatamente, por el contrario, la idea encontró una considerable resistencia en la comunidad científica. La aceptación gradual del concepto, se debió a subsiguientes descubrimientos de virus en tumores de plantas, insectos, anfibios y mamíferos.

En el mismo año, una importante extensión de este trabajo fue publicado por Rous y Murphy⁽⁶⁾. Ellos demostraron que las células del sarcoma o filtrados de las mismas, inducían tumores o lesiones en la membrana corioalantoide de huevos embrionados. Tuvieron que pasar muchos años antes de que el potencial del embrión de pollo en la investigación de los virus, fuera reconocido y utilizado para la medición de la actividad viral. Los prominentes estudios de Rous, aunque lentos para ser reconocidos y explotados, fueron la base para la investigación subsecuente sobre los virus tumorales.