

FENOMENOS INMUNOLOGICOS EN CANCEROLOGIA

Por el Dr. Werner Jaffé (h)
INSTITUTO QUIMICO BIOLOGICO

Observaciones clínicas como también resultados experimentales con animales han demostrado que existen casos de gran susceptibilidad para el desarrollo de tumores, y al otro lado casos de resistencia completa o casi completa. Esta observación sirvió de base a numerosos estudios para investigar la causa de la resistencia de ciertos individuos contra el cáncer.

Factores hereditarios: La resistencia o susceptibilidad contra el crecimiento neoplástico es muy evidente en diferentes cepas de ratones. Se han criado cepas con un porcentaje muy alto de adenomas pulmonares espontáneos y carcinomas mamarios espontáneos, y se conocen, por otra parte, cepas en que no se pueden observar tales tumores (1). En el caso de los tumores de la mama se puede demostrar un factor contenido en la leche de las madres que causa la aparición de los tumores en la cría. Si se crían cachorros de una cepa con incidencia reducida de tumores mamarios espontáneos con madres de la cepa con incidencia alta, la cría demuestra un aumento en el porcentaje de tales tumores. Sin embargo, también intervienen factores hereditarios, porque la incidencia no llega a la misma altura comparada con la propia cría de las madres susceptibles.

Observaciones semejantes se hicieron con tumores inducidos por hidrocarburos cancerígenos. En este caso también el porcentaje de tumores y la localización son factores de gran variabilidad según la

cepa usada. Se ha comprobado la existencia de factores hereditarios que rigen la resistencia de los animales tratados con tales sustancias contra el efecto cancerígeno. (2).

Inmunidad natural: Una forma de inmunidad natural contra el crecimiento neoplástico es la conocida dificultad de transplantaciones heterólogas. Es sumamente difícil conseguir el crecimiento de tumores de ratas en ratones, de tumores humanos en ratas, etc. La explicación más probable para este fenómeno es que el organismo del animal inoculado reacciona contra el tejido tumoral derivado de otra especie como si fuera una proteína extraña, formando anticuerpos específicos. Pero hay que admitir que bajo ciertas condiciones experimentales es posible la heterotrasplatación. Por ejemplo, ciertos tumores de ratones prenden en ratas que han recibido un tratamiento con rayos X. Otra técnica para la heterotrasplatación que da buenos resultados es la de implantar en la cámara ocular anterior. Con esta técnica ha sido posible cultivar tumores de origen humano en acures (4).

La inmunidad natural es perceptible también en experimentos de transplantación homóloga. Ciertos tumores transplantables no prenden sino en la misma cepa de ratas o ratones de donde tienen su origen. Siempre hay unos animales refractarios contra la trasplatación, aún entre los de cepas susceptibles al tumor con que se había trabajado.

ENSAYOS PROPIOS

A continuación presentamos una serie de experimentos que comprueban la existencia de esta inmunidad natural: 50 ratones se inocularon con un sarcoma de células gigantes transplantables. Este tumor fué originalmente producido por nosotros por inyección subcutánea de metilcolantreno en un ratón de la misma cepa en que se inoculó posteriormente. De los 50 animales inoculados 23 desarrollaron tumores en el curso de 6 semanas. Los animales restantes se inocularon otra vez con el mismo tumor tomado de un animal de esta serie. Como controles se usaron 25 animales frescos que no se habían inoculado antes. Entre los controles había 11 animales positivos en el curso de 6 semanas, mientras entre los 27 animales que se inocularon por segunda vez, únicamente cuatro tenían tumores después del mismo período. Los 23 ratones se inocularon otra vez sin que ninguno desarrollara tumor. Un grupo de 25 ratones inoculados al mismo tiempo con

el mismo tumor, demostraba 8 animales positivos después de 6 semanas. Así se habían separado los animales susceptibles y quedaron los resistentes en que no prende el tumor transplantado.

Inmunidad adquirida: Si ciertos tumores contienen ciertas substancias específicas que pueden actuar como antígenos, es de esperar que haya animales que se puedan inmunizar contra la transplantación de estos tumores. Son muy numerosos los trabajos sobre este problema y los resultados son muchas veces contradictorios. Un resultado más o menos constante es que en un animal que tiene un tumor inoculado, la segunda inoculación con el mismo tipo de tumor casi nunca prende. Si un tumor inoculado se cura espontáneamente, casi nunca prende la segunda inoculación en el mismo animal. Esta inmunidad adquirida es específica, es decir, protege al animal únicamente contra la clase de tumores inoculados y no contra otra clase de tumores.

La naturaleza de esta inmunidad es objeto de muchas discusiones. En unos casos, por lo menos, se puede comprobar que se trata de fenómenos de inmunidad verdadera, es decir, la formación de anticuerpos específicos. Por ejemplo, conejos inoculados con tumor de Brown-Pearce y curados espontáneamente contienen en su suero sanguíneo una substancia que precipita de una manera específica células de este tipo de tumor. Además, conejos que recibieron tal suero antes de ser inoculados con el tumor, se mostraron resistentes contra la inoculación (5). En otros casos se puede demostrar que intervienen fenómenos genéticos en la inmunidad adquirida.

Otros investigadores probaron determinar la naturaleza de las substancias contenidas en los tumores que sirven como antígenos. Si se pudieran aislar tales substancias, podrían servir para fines diagnósticos. Extractos acuosos de tumores no demostraron ningún efecto, mientras que en unos casos se podía demostrar una reacción con lipóides aislados de tumores. Fijación complementaria se observó en unos casos, pero no con la regularidad necesaria para que el método pudiera servir para fines diagnósticos prácticos.

Estos experimentos fueron conducidos también en un sentido tal para usarlos con fines terapéuticos. Tumores cultivados "in vitro" fueron inhibidos en el crecimiento si se usaba como medio de cultivo suero de animales que habían recibido inyecciones de células del mismo tipo de tumor. Experimentos posteriores revelaron, sin embargo,

que tal inhibición muchas veces no es específica y se puede lograr también con sueros de animales tratados con órganos sanos.

Ensayos propios: Los animales que se mostraron resistentes contra la inoculación de sarcoma transplantable como lo describimos más arriba se usaron para un ensayo que tenía el fin de estudiar si esta resistencia era específica o se manifestaba también frente a otros estímulos cancerígenos. Inyectamos 10 animales con 15 mgr. de uretano en solución al 10% vía intraperitoneal. Esta cantidad produce adenomas pulmonares en 67% de los ratones de nuestra cría dentro de 75 días. De los 10 animales inmunes contra la implantación de sarcoma, 5 tenían adenomas cuando se sacrificaron al cabo de 75 días. Esta cifra es practicamente idéntica con la observada en los animales de control. Se puede concluir que los ratones inmunes contra la transplatación de sarcoma no son a la vez inmunes contra la acción cancerígena del uretano, sino que esta substancia produce el mismo porcentaje de adenomas pulmonares como en los animales no seleccionados. La inmunidad contra el sarcoma transplantable es pues, específica y no se extiende a cualquier crecimiento neoplásico. No se pueden sacar conclusiones sobre la naturaleza de tal inmunidad.

Los 13 animales restantes que se habían mostrado resistentes contra la implantación se pusieron a una dieta que contenía 0.015% de amarillo de mantequilla, colorante de acción cancerígena. Nos interesaba si con este tratamiento sería posible vencer la inmunidad natural de los animales y lograr que en otra implantación prendieran los tumores transplantados. La cantidad del cancerígeno fué insuficiente para producir tumores por sí solo en el período de tiempo que duró el experimento. Dos semanas después del comienzo de la dieta con amarillo de mantequilla se volvió a implantar los animales con el mismo tumor maligno. Los animales seguían también después de la implantación con la dieta. Sin embargo, ninguno de estos ratones desarrolló un tumor dentro de un mes.

Es este ensayo otra prueba para lo específico de la inmunidad de los animales contra el crecimiento del sarcoma transplantable, aunque queda por probar si con dosis más altas del cancerígeno y tratamiento más prolongado no será posible suprimir esta inmunidad y lograr que prenda el tumor implantado.

En resumen, aparece dudosa la existencia de anticuerpos especí-

ficos tumorales con pocas excepciones. Entre estas cítanse los tumores producidos por virus filtrables que producen anticuerpos demostrables. Sin embargo, se ha usado para fines terapéuticos humanos, la observación de que inoculando tejidos tumorales virulentos en animales portadores de tumores produce muchas veces cesación y hasta regresión del tumor original. En casos de carcinomas uterinos inoperables se ha extirpado una parte del tumor e implantado intracutáneamente. Los resultados obtenidos fueron ha'agadores según los autores del método pero no se ha vuelto a usar. También autolisados de material neoplástico se han usado en el mismo sentido, sin que se pueda hasta ahora hacer conclusiones sobre el valor terapéutico.

Inmunización no específica: Una gran variedad de experimentos han sido efectuados para averiguar la posibilidad de obtener una resistencia del cuerpo animal contra el desarrollo de tumores por diferentes métodos. Estas experiencias no tienen relación directa con la inmunología clásica, sin embargo, caben bien en una discusión de este problema, porque con pocas excepciones no se han comprobado las reacciones inmunológicas clásicas en el ramo de la cancerología.

Observaciones clínicas y estadísticas han estimulado investigaciones sobre el efecto beneficioso de varias infecciones en casos de cáncer. Tal acción se atribuyó a gérmenes de grupo de las salmonelas, eberthelas y bacterium erysipelatus y prodigiosus. Especialmente los gérmenes del primer grupo se han estudiado últimamente en este sentido (6). Inyecciones con filtrados bacterianos producen hemorragias y regresiones de sarcomas transplantados o producidos con hidrocarburos cancerígenos en ratones. El efecto se denominó, según su descubridor "Shwartzman". Las substancias activas se identificaron como polisacáridos. Tales substancias tienen evidentemente una acción específica contra el tejido tumoral. En ratones inmunizados contra las bacterias en referencia no se observó tal acción sobre los tumores, lo que indica que el fenómeno es probablemente de índole inmunológico (7).

Para nuestro país es de especial interés que una acción similar se atribuya a la infección con malaria y con Schizotrypanum cruzi. Animales con tumores se curaron después de ser infectados con este último microorganismo, mientras que no se observó regreso de crecimiento neoplástico si se usaron Trypanosoma equiperdum o Spirochaeta

Duttoni. Endotoxinas de *Schizotrypanum cruzi* han sido empleadas también en casos humanos y se observaron resultados beneficiosos (8).

Además de las toxinas bacterianas se ha experimentado con toxinas de culebras para investigar su acción sobre el desarrollo de tumores. Inyecciones en los mismos tumores de animales experimentales han producido necrosis y hasta regresiones. Pero tal tratamiento no se puede aceptar como específico porque muchas sustancias y soluciones pueden producir tal efecto sin que tengan valor terapéutico alguno. Toxina de cascabel se recomendó también para aliviar los dolores de pacientes que padecen de cáncer y se señalaron resultados satisfactorios por unos autores, mientras que otros no observaron tal efecto.

Cierta inmunidad contra el crecimiento neoplástico se puede lograr con tratamiento físico y químico. En un extenso estudio se comprobó que ratones quedan inmunizados contra la implantación de tumores cutáneos después de recibir tratamiento de irradiación con rayos X. Esta inmunidad fué lograda para la parte de la piel irradiada. La inoculación de otros sitios no impidió el crecimiento. El tumor irradiado conservó su capacidad de crecimiento si era transplantado a un pedazo de piel no irradiado. Así se comprobó que la inmunidad adquirida por la irradiación era localizada únicamente en la piel del animal (9).

Ensayos propios.—A continuación vamos a referir una serie de experimentos todavía no concluídos y que se describirán extensamente más tarde. Estos experimentos demuestran la posibilidad de producir una inmunidad relativa en ratones contra el desarrollo de adenomas pulmonares por un tratamiento químico. Como agente cancerígeno usamos uretano. Ultimamente describimos nuestros resultados con esta sustancia en la producción de adenomas pulmonares en ratones, acción muy específica, porque nunca se han observado otros tumores producidos por esta droga. Como agente de inmunización nos sirvió otra sustancia cancerígena, pero menos específica en su acción: el llamado amarillo de mantequilla o "para-dimetil-amino-azo-benzol". Observamos, que ratones inyectados con una sola dosis de 0.15 cc. de solución acuosa de uretano al 10% desarrollaron adenomas pulmonares dentro de 75 días en un porcentaje de 67%. Si se administraba el amarillo de mantequilla con la dieta en un porcentaje de 0.02%, la

incidencia de adenomas era 54% o casi igual. Pero, si se administraba el amarillo de mantequilla ya seis semanas antes de la inyección con uretano, el porcentaje de adenomas era sólo de 17%. Aparentemente el tratamiento prematuro con el colorante produjo un estado de inmunidad en los animales, de modo que quedaron resistentes contra la acción cancerígena del uretano. El tratamiento con amarillo de mantequilla únicamente produjo adenomas pulmonares en un reducido número de los ratones tratados.

Resultados comparables han sido descritos últimamente por autores franceses. Ellos observaron una reducción en la reacción tumorigena a la acción del dibenzantraceno en ratones si era aplicado simultáneamente con otros cuerpos de estructura química semejante pero de acción cancerígena muy débil. Estos autores creen que existen centros celulares donde son fijados los cuerpos cancerígenos y de donde actúan sobre las células. La reducción en la acción si son aplicadas simultáneamente con otros cuerpos de estructura semejante dec'aran así: Tales cuerpos ocupan los centros de fijación en competencia con los hidrocarburos más activos y así eliminan parte de ellos (10).

Los fenómenos de inmunidad observados en experimentos con tumores se han atribuido a una relación entre el crecimiento neoplástico y el sistema retículo-endotelial. Por cierto, muchas observaciones confirman la existencia de tales relaciones. Animales con tumores inducidos e implantados demuestran, por lo general, una hiperplasia del bazo. La prueba con colorantes coloidales en animales y hombres con tumores reveló una disminución de la facilidad de almacenar estos colorantes, lo que se interpretó como prueba para una actividad disminuida del sistema retículo-endotelial. Esplenectomía o inyecciones con tinta china o rojo Congo, ambos procedimientos que probablemente inhiben la actividad de este sistema, aumentan la susceptibilidad para tumores implantados. Hasta heterotransplantaciones han sido logradas por esta técnica. Se ha afirmado que el tratamiento con alquitrán u otros agentes cancerígenos produce ciertos daños en el sistema reticuloendotelial.

Estas observaciones han estimulado estudios para buscar una forma para tratar el cáncer. Extractos de bazo han sido usados por muchos investigadores en experimentos con animales y también en casos clínicos. Los resultados obtenidos han sido contradictorios; sin embargo, existen unos estudios bien controlados y ejecutados en una

cantidad considerable de animales que comprueban aparentemente que existe a gún efecto beneficioso, si las experiencias son conducidas de una manera apropiada. Por ejemplo, unos investigadores norteamericanos prepararon concentrados de bazo con una técnica nueva y trataron gran número de ratones con tumores implantados o espontáneos. Los controles fueron tratados con extractos de preparación análoga, pero de otros órganos. 60% de los animales curaron los tumores mientras que 8% de los controles se recuperaron (11).

Buscando una explicación común para todos los fenómenos descritos de inmunidad contra el crecimiento neoplástico, la tesis más acertada parece que es la de que se trata de un estímulo de la actividad del sistema retículo-endotelial. Pero hay que admitir que no basta para explicar todas las observaciones. Por ejemplo, la inmunidad específica observada en ciertos casos contra ciertas formas de tumores no se puede explicar de esta manera. Ni tampoco es la única explicación posible.

P. y R. González Rincones publicaron una teoría sobre el origen del crecimiento neoplástico que puede servir también para explicar algunos aspectos de la inmunidad en esta enfermedad. Según estos autores "el tejido de sostén funciona como glándula de secreción interna segregando una substancia frenadora de la proliferación celular (15). Llamam "Sux" a esta substancia y asumen que el crecimiento neoplástico puede ser ocasionado por ausencia e inactivación del Sux. Bajo este punto de vista la inmunidad o resistencia contra la formación de tumores consiste de una activación o aumento del principio frenador.

Reacciones diagnósticas: Es inmensa la cantidad de trabajos que se efectuaron sobre posibles reacciones diagnósticas que se basan en fenómenos inmunológicos para revelar la presencia de crecimiento neoplástico.

La reacción de fijación complementaria no dió resultados satisfactorios en casos de tumores. Se usaron antígenos obtenidos por extracción de tumores con agua o alcohol y se estudió la reacción entre ellos y el suero de personas normales y cancerosos. El porcentaje con reacción positiva era sin duda más elevado en los cancerosos pero la diferencia era suficientemente grande como para que la reacción pudiera lograr valor práctico (12).

En experimentos con reacción cutánea, los resultados no eran superiores. El número de personas no cancerosas que dan positivo es demasiado grande como para que esta reacción hubiera podido prevalecer en el diagnóstico clínico.

La reacción de Abderhalden se basa en la teoría de que el cuerpo produce fermentos defensores específicos contra sustancias extrañas introducidas en el organismo. Si los tumores contienen tales sustancias extrañas, es de esperar que aparezcan tales fermentos en el suero y la orina. Abderhalden y otros numerosos investigadores han aplicado este método para el diagnóstico de tumores, aunque existen grandes dificultades prácticas. Hay que investigar el efecto proteolítico de suero y orina de los pacientes sobre proteínas obtenidas del tipo de cáncer que se sospecha estar presente en el paciente. Los resultados son valiosos en gran número de casos pero no dan absoluta seguridad (13).

Una reacción similar fué descrita por Freund y Caminer. Estos autores demostraron que el suero normal ataca a las células cancerosas destruyéndolas. En el suero de personas cancerosas, o predispuestas, existe según estos autores otra sustancia que impide la acción cancerolítica del suero normal. Aislaron de suero normal una sustancia que aparentemente era un ácido graso dicarboxílico saturado, mientras que en el suero canceroso existe un ácido semejante pero no saturado que impide la acción del primero. Ambos ácidos son asociados con cierta fracción de las globulinas sanguíneas. Los autores creen que estas sustancias son formadas en el tracto gastro-intestinal (14).

La reacción misma se efectúa mezclando una suspensión de células cancerosas de origen humano con el suero y contando la cantidad de células presentes al comienzo y después de 12 ó 24 horas. Para la práctica, ese método es muy complicado y el resultado depende mucho de la suspensión de células usadas.

Los fenómenos inmunológicos enumerados no comprenden la totalidad que se describió en la literatura mundial. Pero ya esta selección debe ser suficiente para demostrar que sin duda no son explicables por un solo mecanismo. Interfieren varios factores para producirlos, por ejemplo, factores hereditarios, el sistema retículo-endotelial, fenómenos de formación de anticuerpos, de fermentos protectores específicos y probablemente también mecanismos especiales como sustancias cancerolíticas y protectoras para células cancerosas. Esta

variedad de efectos inherentes a la defensa natural del cuerpo contra el crecimiento neoplástico hace extremadamente difícil formarse una idea clara y sinóptica sobre los factores que intervienen en la cancéro-génesis y en la reacción del cuerpo contra la misma. Sin embargo, será sin duda de gran importancia conocer más a fondo tales fenómenos para llegar al punto de vista de que se puedan concebir posibles métodos para combatir las enfermedades malignas.

RESUMEN

Experimentos de numerosos autores comprueban la existencia de factores hereditarios que rigen la resistencia o susceptibilidad contra las diferentes formas de neoplasias. Tales resistencias se observan trabajando con tumores espontáneos, inoculados o producidos por acción de cancerígenos.

En una serie experimental propia se inocularon 60 ratones con un sarcoma transplantable. Se repitió el procedimiento con los mismos animales que no desarrollaron tumores, hasta cuatro veces. Así se separaron 23 ratones resistentes al crecimiento del sarcoma.

La inmunidad adquirida se observa en casos de tumores curados o en animales tratados con extractos de tumores. Esta inmunidad es siempre muy específica y no protege contra cualquier crecimiento neoplástico. Comprobamos lo específico de la inmunidad de nuestros animales resistentes al crecimiento del tumor transplantado. Se inyectaron con una dosis de uretano que produce 67% de adenomas pulmonares en un gran número de controles. De 10 animales resistentes 5 desarrollaron adenomas, lo que comprueba que no eran resistentes a esta clase de tumores.

En otro ensayo se trataron 13 animales resistentes al sarcoma transplantable con amarillo de mantequilla, coloreante cancerígeno y se repitió la inoculación. No prendió el sarcoma en ningún animal. El tratamiento no específico con el cancerígeno no había vencido la inmunidad específica.

Entre ejemplos de inmunidad no específica contra tumores se menciona el efecto de "Shwartsman" es decir la acción anticancerígena de ciertas infecciones del tipo salmonelas y bacterium erysipelatus y de sus toxinas. Acción semejante se atribuyó a schizotrypanum

cruzi y venenos de culebras. También la irradiación con rayos X puede producir una resistencia no específica en el sitio de la exposición.

Se presenta el caso de la inducción de resistencia no específica contra la producción de adenomas pulmonares en ratones que se habían tratado antes con el colorante cancerígeno amarillo de mantequilla. Si se aplica a la vez el colorante y uretano, cancerígeno para producir adenomas pulmonares, no se observa disminución de los casos positivos. Animales que se habían tratado antes por 2 semanas con amarillo de mantequilla, sin embargo, se muestran resistentes contra la acción del uretano. Un tratamiento químico ha producido una inmunidad no específica.

Se discuten las posibles explicaciones para aclarar los fenómenos de inmunidad observables en cancerología. Se enumeran las reacciones diagnósticas que se basan en tales fenómenos.

TABLA N^o 1

Serie N ^o	Inoculación	Número de animales	Animales con tumores después de 6 semanas
214	1	30	18
215	1	30	12
227	2	30	5
228	1	20	10
244	3	25	2
252	4	23	0
253	1	20	6

Selección de los ratones resistentes a la inoculación de sarcoma transplantable. La segunda columna indica si los animales se inocularon por primera vez.

TABLA N^o 2

Serie N ^o	Número de animales	Animales con adenomas al cabo de 75 días	Controles
205	61	41	Resistentes al sarcoma inoculado
254	10	5	(de la serie N ^o 252)

Demostración de la susceptibilidad de ratones resistentes a la inoculación de sarcoma transplantable a la acción de producir adenomas pulmonares del uretano inyectado en la dosis de 15 mg.

TABLA N° 3

Serie N°	Número de animales	Tratamiento	Animales con adenomas pulmonares al cabo de 75 días
205	61	Uretano 15 mg. inyectado	67%
254	32	Igual y dieta con amarillo de mantequilla 0.015% el mismo día.	84%
256	30	Igual y dieta amarillo de 17% mantequilla 0,015% limpieza dos semanas antes.	17%

Adenomas pulmonares producidos por inyección de uretano 0,015 gr. en ratones alimentados con dietas con y sin amarillo de mantequilla.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—C. C. LITTLE.—J. Nat. Cancer Inst., 1, 727 (1941).
- 2.—C. C. LYNCH.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 52, 382.
- 3.—P. A. GORER.—J. Path. Bact. 44, 691 (1937).
- 4.—H. S. N. GREENE.—Cancer Research 2, 694 (1942).
- 5.—A. J. KID.—Science, 99, 348 (1944).
- 6.—M. J. SHEAR.—J. Nat. Cancer Inst., 4, 461 (1944).
- 7.—Z AHL, HUNTER y COOPER.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 54, 48 (1943).
- 8.—K. STERN y R. WILLHEIM.—The Biochemistry of Malignant Tumors, p. 687.
- 9.—J. B. MURPHY, J. MAISIN, y E. STURM.—J. Exper. Med. 38, 645 (1923).
- 10.—A. LACASSAGNE, BUU-HOI, y P. CAGNIANT.—Compt. rend. soc. biol., 138, 16 (1944) Chem, Obstr. 39, 4137.
- 11.—R. LEWISOHN, C. LEUCHTENBERBER, R. LEUCHTENBERGER, y D. LAZLO.—Am. J. Path. 17, 25 (1941).
- 12.—M. E. MAYER.—J. Nat. Cancer Inst., 4, 571 (1944).
- 13.—E. ABDERHALDEN.—Abwehrfermente.
- 14.—K. STERN y R. WILLHEIM.—The Biochemistry of Malignant. Tumors, p. 822.
- 15.—GONZALEZ RINCONES.—Revista de la Policlínica Caracas, junio 27 (1940).