

## Tesis de Posgrado

# Acción teratógena de la fracción gamma globulina del plasma humano canceroso sobre embriones de pollo y cultivo de tejido

Fischer, Berta

1956

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Fischer, Berta. (1956). Acción teratógena de la fracción gamma globulina del plasma humano canceroso sobre embriones de pollo y cultivo de tejido. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0905\\_Fischer.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0905_Fischer.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Fischer, Berta. "Acción teratógena de la fracción gamma globulina del plasma humano canceroso sobre embriones de pollo y cultivo de tejido". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1956.

[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0905\\_Fischer.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0905_Fischer.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

ACCION TERATOGENA DE LA FRACCION  $\gamma$  GLOBULINA DEL PLASMA HUMANOCANCEROSO SOBRE EMBRIONES DE POLLO Y CULTIVO DE TEJIDO

Resumen de la Tesis presentada para optar al título de Doctor en Química  
por Berta Fiszer.

Hemos inculado intravenosamente 4.790 embriones de pollo (Leghorn) a los 9-11 días de desarrollo en parte con suero total, fracción IV,V,VI y fracción  $\gamma$ globulina del método N° 10 de Cohn de sangre de portadores de tumores malignos histológicamente diagnosticados, de enfermos de Holkin, de portadores de tumores operados, irradiados o tratados terapéuticamente.

A los 4-6 días de inoculación hemos estudiado la incidencia de embriones monstruosos entre los sobrevivientes observando que:

- 1º- Los sueros normales producen 1% de monstruos.
- 2º- Los sueros de tumores benignos producen 1% de monstruosidades.
- 3º- Los sueros de tumores operados, irradiados o tratados producen 1% de monstruosidades.
- 4º- La fracción IV,V,VI met. N° 10 de Cohn de canceroso produce 1,4% de monstruos.
- 5º- Suero canceroso total 52% de monstruosidades.
- 6º- La  $\gamma$ globulina produce 65% de monstruos.
- 7º- La fracción  $\gamma$ globulina recibe con mayor incidencia la monstruosidad del suero total, lo que nos hace pensar que en esta fracción se encuentra algún factor enzimático o viral que actúa sobre el embrión de pollo; este factor conserva su actividad a  $-20^{\circ}$  C y se destruye a  $60^{\circ}$ C, no es dializable y activaría la hialuronidasa. Las malformaciones observadas más frecuentes son de carácter general y se traducen en forma de edema generalizado en todo el embrión o localizado en la región occipital. A veces se observan inhibiciones

Res. de TESIS: 995

Las malformaciones de carácter local interesan al sistema óseo, (braquimelia, hemimelia, ausencia de huesos parietales, occipitales, maxilares) sistema nervioso central (excerebración, microcefalia, anencefalia) a los ojos (anofthalmia total o parcial, reabsorción del globo ocular, coloboma) o el pico, (entrecruzamiento, pico de loro, braquignatia) y repiten todas las monstruosidades producidas por agentes físicos, químicos o por virus.

8º- Por ahora no se puede establecer relación entre el tipo histológico y la respuesta del embrión.

Los tumores histológicamente más indiferenciados y vírgenes de tratamiento son los que han dado mayor incidencia.

9º- No se puede establecer una relación entre grado de evolución del tumor y grado de monstruosidad.

10º- No se puede establecer relación entre ubicación de las monstruosidades y ubicación del tumor, las malformaciones del sistema óseo aparecen con más frecuencia en cáncer de pulmón y mama; anoftalmia, microcefalia y anencefalia en el cáncer de lengua, pero hay muchos factores clínicos, hormonales: evolutivos propios del portador del tumor y otros en el embrión receptor que entran en acción contemporáneamente y hacen variar las incidencias de los procesos monstruosos.

Solamente el estudio estadístico cuantitativo de las proteínas plasmáticas de muchos portadores de tumores del mismo tipo histológico, en un mismo grado de evolución, de un mismo órgano sobre embriones de cepa genéticamente puros *nos podrá dar una idea del valor que pueda tener en el futuro esta investigación* desde un punto de vista diagnóstico.

Estamos ahora estudiando si un suero inmunizante anticanceroso puede actuar como antagonista de la acción teratógena del suero canceroso.

*Meta Fijera*

MINISTERIO DE EDUCACION  
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ACCION TERMOGENA DE LA FRACCION FIBROBLASTICA DEL PLASMA HUMANO  
CANCEROSO SOBRE TERIORES DE POLLO Y CULTIVO D. TEJIDO

TESIS presentada para optar al título de Doctor en Química  
(Orientación Biológica)

por Berta Fiszler

1956

**TESIS: 905**

7/12/56 905

Ami nosira

Ona. H. Sae mote to Luntia

Agradecemos al Director del Instituto Bacteriológico Malbran que nos ha permitido concurrir honorariamente durante dos años a este instituto. Al Jefe del Departamento de Virus Dr. Armando S. Parodi que ha puesto a nuestra disposición personal y material de su departamento. Al Jefe del Laboratorio de Virus y Rickettsias de la Dirección General de Sanidad del Ministerio de Ejército Dr. Mitre J. Sa Fleitas que ha permitido el uso de la centrífuga refrigerada sin la cuál no se hubiera podido realizar el presente trabajo. Al personal Técnico Sra. E. de Parma y Srta. C. Sasko de la Sección Cultivo de Tejido que han colaborado íntimamente en la preparación del material.

Agradecemos al Dr. Rodolfo E. Cucchiani Acevedo Interventor del Centro de Investigaciones Fisiológicas quien alentó y confió en todo momento, por habernos solucionado problemas técnicos y económicos, brindando además ayuda y donaciones particulares. Al personal técnico en general y particularmente a los de la Biblioteca que me han facilitado la búsqueda bibliográfica, al Laboratorio de Fotografía y al personal del Departamento de Biología Celular.

Agradecemos a los Jefes de los Servicios de Cultivo de Tejidos, Ginecología, Torácica, Otorrinolaringología, Quirúrgica y Clínica Médica del Instituto de Oncología Angel H. Roffo quienes nos han ayudado en la elección de los enfermos dadores de sangre cancerosa.

Agradecemos al Jefe y a los médicos de la sala 7 del Hospital Alvear que han puesto a nuestra disposición sus enfermos para el presente trabajo.

# NOTA

Al Dr. Fabio L. Sacerdote que siempre ha estado al lado nuestro para allanar y resolver nuestros inconvenientes.

A los anónimos enfermos que nos han dado su sangre queremos que llegue nuestro agradecimiento más profundo esperando que su sacrificio pueda ser de utilidad en un futuro para los innumerables seres que padecen del mismo mal.

El deseo de los investigadores de poder descubrir un medio de diagnóstico simple y efectivo para el cáncer, como se ha encontrado para otras enfermedades, ha llevado a estudiar detalladamente las modificaciones del organismo portador de un tumor; los tests usados para el diagnóstico precoz del cáncer, se basaron por un lado en el estudio funcional del hígado, riñón, suprarrenal y en los cambios de los componentes de los tejidos y por otra parte en las modificaciones enzimáticas y de los esteroides de la orina y principalmente en las modificaciones de los componentes de la sangre por ser éste material fácilmente obtenible en el hombre.

Las proteínas plasmáticas constituyen una parte de las proteínas lábiles del organismo y los cambios en la concentración o composición de estas sustancias reflejan probablemente alteraciones en la demanda de aquellos tejidos que sufren stress patológico, ya que el transporte de las proteínas se efectúa por medio del torrente sanguíneo.

Con excepción del fibrinógeno que se encuentra entre las proteínas fibrosas, las proteínas plasmáticas se encuentran en el grupo de proteínas globulares: son holoproteínas, compuestas macromoleculares <sup>o cuyas</sup> ~~donde~~ las masas varían desde alguna decena de mil hasta un millón o más y donde los productos hidrolizados son exclusivamente <sup>AMINO</sup> ácidos.

El examen con rayos X que ha permitido establecer la estructura del fibrinógeno: <sup>ha demostrado que</sup> el período de la fibra corresponde a un largo  $3,5 \overset{\circ}{\text{A}}$  para la estructura  $-\text{NH} - \text{CH} - \text{CO}-$ , <sup>y que</sup> en las proteínas globulares muestran dos circunferencias difusas correspondientes a una distancia de  $4,5 \overset{\circ}{\text{A}}$ , equivalente a la distancia entre  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}$  y de  $10-11 \overset{\circ}{\text{A}}$  del centro de la molécula a sus cadenas laterales.

En 1937 TISELIUS descubrió cuatro fracciones principales de movilidad anódica creciente a pH superior de 7,5 a las que denomina  $\alpha, \beta, \gamma$  globulina y albúmina. Estos cuatro grupos de proteínas séricas son aceptados como fundamentales en la terminología actual.



La electroforesis si se efectua con buffers diferentes para variar el pH, y la fuerza iónica, permite observar una heterogeneidad, marcada en algunas fracciones, principalmente en las  $\gamma$ -globulinas. DEUTSCH (1946), GANN (1949).

La  $\gamma$  globulina no solamente es heterogénea a la electroforesis sino también en la precipitación salina, en la ultracentrifugación, en presencia de detergentes aniónicos y catiónicos y en el fraccionamiento por solventes. La inmunología refleja igualmente esta heterogeneidad. ENDERS (1944)

Otro factor de heterogeneidad es la coexistencia de algunas moléculas proteicas con lípidos, glúcidos o metales. Los lípidos están generalmente presentes en  $\alpha_1$  globulina y  $\beta$  globulina; los glúcidos se encuentran en  $\alpha_2$ , el hierro en  $\beta$  globulina.

La composición de las proteínas de un suero normal varía poco para una misma especie, Durante una enfermedad, un shock, una depresión, electrocución puede modificarse muy considerablemente. La depresión barométrica disminuye la cantidad de  $\gamma$  globulina.

En 1930 SØRENSEN emitió la hipótesis que las proteínas constituyen una serie de complejos reversibles combinados por las valencias residuales que se supone que cada complejo posee, en 1934 BLOCK sugiere la existencia de un complejo único en donde los ácidos aminados juegan un rol privilegiado.

Recientemente (1949) HARKNESS considera que existe un equilibrio entre una molécula compleja de albúmina, de globulinas y fibrinógeno unido, con las moléculas libres correspondientes y lo llama factor K, cuya variación será específica de algunas afecciones patológicas.

Según ROBERTS y WHITE (1949) la albúmina y la  $\alpha$  globulina son elaboradas por el hígado, mientras que la  $\beta$  y  $\gamma$  globulina se forman en otros órganos. PETERS y ANFINSEN (1960) han precisado con una técnica inmunológica el origen hepático de la albúmina con  $C^{14}$ .

Los fosfolípidos se forman igualmente en el hígado.

JANSEN considera que la albúmina y algunas  $\alpha$  globulinas se sintetizan en el tejido del parénquima hepático y el tejido retículo endotelial transforma la albúmina en  $\gamma$  globulina.

#### LOS PROCESOS DE FRACCIONAMIENTO

A) Ultracentrifugación: Separación por diferencia de masa molecular.

Si una solución de proteínas es sometida a una centrifugación donde la fuerza centrífuga es igual a 5.000 g las partículas se separan según el orden creciente de sus masas. El examen de esta separación se efectúa por medio de un dispositivo óptico: se dirige un haz luminoso de rayos paralelos sobre el tubo en rotación, se registran la desviación de los rayos provocados por la diferencia del índice de refracción debidos a la diferencia de concentración realizada dentro del tubo. KOENIG y PEDERSEN (1950), CHARLWOOD (1952)

En 1940 se atribuyó a la  $\gamma$  globulina una constante de sedimentación de 7,1. SWEDBERG, PEDERSEN.

B) Separación fundada en las propiedades eléctricas de las proteínas.

I) Electroforesis: la molécula proteica rodeada por una atmósfera eléctrica se desplaza en un campo eléctrico uniforme .

La movilidad depende del pH y de la fuerza iónica de la fase líquida por este método se ha podido verificar la heterogeneidad de las proteínas. CANN y colab. (1949) encontraron por ejemplo 8  $\gamma$  globulinas diferentes cuyas movilidades se sitúan entre 0,88 y 1,6 con buffer veronal a pH 8,6.

Después de un cierto tiempo de pasaje de corriente las proteínas que estaban íntimamente unidas ocupan planos diferentes.

Existen varios métodos de electroforesis:

a) Electroforesis libre. TISELIUS A. (1938)

b) Electroforesis de zona. GORDON (1949), DURRUM EL. (1950)

JENCKS (1955)

c) Electroforesis por Convención. PAULI W. (1942) , CANN (1949)

II) Separación por adsorción: SURGENOR (1952)

III) Separación por precipitación en el punto isoeléctrico:

ARDRY J. (1954)

IV) Separación por disminución de la fuerza iónica:

a) Dilución simple.

b) Diálisis y electrodiálisis, FISCHER (1950)

c) Dilución a pH constante.

d) Con resinas intercambiadoras de iones. REID (1951)

V) Separación por aumento de la fuerza iónica: La precipitación

de las proteínas por medio de sales neutras ya era conocido en 1856 y 1859. DENIS

la aplica a la precipitación de proteínas sanguíneas. Los trabajos posteriores son muy numerosos y las sales que en general se emplean son:

- ) Sulfato de Magnesio, saturación (que precipita todas las globulinas.
- ) Sulfato de amonio
- ) Sulfato de sodio
- ) Sulfito de sodio
- ) Fosfato mono y dipotásico
- ) Triosulfato de sodio.

Esta multitud de trabajos reflejan las dificultades encontradas para un buen aislamiento de proteínas. Durante un largo tiempo la precipitación salina representaba practicamente el único método de precipitación y aislamiento de las proteínas.

En 1936-38 HEWITT L.F. utilizando igualmente el sulfato de amonio distingue dos euglobulinas I y II y una pseudoglobulina.

VI) Separación por solventes orgánicos: La introducción en el plasma de moléculas orgánicas más o menos miscibles y menos polarizables que el

agua, modifica la constante dieléctrica del solvente y varía la ionización de los grupos polares de las proteínas. El método más importante está fundado en la precipitación con alcohol 95%. El glicol LOISELEUR J.) (1944), metanol, PILLEMER (1945), acetona, eter, son también usados para la determinación analítica de la relación albumina globulina. Pero en estos procesos hay una desnaturalización, si las proteínas son destinadas a uso terapéutico conviene trabajar a baja temperatura. Los solventes son luego eliminados por dialisis o liofilización de las proteínas aisladas. Estos métodos que se efectúan a baja temperatura fueron estudiados por COHN y colab. que efectuaron una selección de proteínas variando el medio con etanol a diversas concentraciones.

Han publicado 10 métodos y uno complementario para el fraccionamiento de las proteínas plasmáticas, fundados en general en 5 parámetros:

Concentración de proteínas

Concentración de alcohol

Concentración de sal (fuerza iónica)

Temperatura

pH

Los estudios detallados sobre el plasma de enfermos cancerosos de PETERMANN (1948), SEIBERT (1947), MIDER (1950, WINZLER (1948) demostraron que existen en el plasma canceroso una disminución de proteínas a expensas principalmente de las albúminas y un aumento notable de los niveles de fibrinógeno de globulinas y globulina. En estos últimos años se han realizado en el Instituto de Oncología una serie de investigaciones sobre el efecto del suero canceroso en la migración de un cultivo de tejido normal y en el desarrollo del embrión de pollo.

LUSTIG y colaboradores (1945-55) han observado que el suero canceroso agregado al medio de cultivo produce una constante hiperactividad de creci-

miento, aumento del número de mitosis, particularmente atípicas, y que tiene acción teratógena sobre embriones de pollo cuando se lo inocula por vía endovenosa a los 10 días del desarrollo.

Con el fin de sensibilizar esta reacción biológica de los fibroblastos normales frente al medio canceroso, LUSTIG y CORREA URQUIZA por un lado fraccionaron el suero y LUSTIG y SACERDOTE utilizaron fibroblastos jóvenes más sensibles en vía de migración en un cultivo herido.

La mayor respuesta observada en los fibroblastos normales frente a la fracción  $\gamma$  globulina de la sangre cancerosa y el aumento de  $\gamma$  globulina observada por MIDER (1950) en los portadores de tumores de los órganos internos y por LAMIRANDE y CANTERO (1952) y LOBO-ONEILL y colab. (1952), durante la carcinogénesis nos ha hecho sospechar que las  $\gamma$  globulinas son las responsables de los procesos de degeneración monstruosa observados anteriormente con suero total.

Nos proponemos ahora:

1ª) Inocular embriones de pollo con suero total de portadores de tumores malignos, con el objeto de determinar la mortandad, el porcentaje de monstruos sobre los sobrevivientes, la dilución óptima, la variación en función de la temperatura, tiempo, etc.

2ª) Fraccionar el plasma y estudiar la incidencia de monstruosidades según la fracción inyectada.

3ª) Comparar la acción de la sangre total normal y fraccionada con la sangre patológica total y fraccionada.

4ª) Comparar los resultados obtenidos en embrión de pollo con los obtenidos en cultivo de tejido.

5ª) Comparar la acción teratógena observada con sangre de portadores de tumores malignos con la observada por otros autores por agentes físicos, químicos y virus.

6ª) Comparar la incidencia de monstruosidades según la localización del tumor.

7ª) Según el tipo histológico del tumor.

Material y método: Hemos empleado 4.700 huevos Leghorn y elegido como vía de inoculación la endovenosa habiéndose descartado las otras vías por no haber dado resultados positivos con el suero total.

La edad de los embriones varía de 9 a 11 días, una vez inculado el suero o su fracción en una vena corioalantoidea se observan los embriones a los 2,3,4 y 6 días.

Se ha hecho control con huevos sin abrir, abiertos y vuelto a cerrar, con huevos inoculados con solución fisiológica, con suero normal, total y fraccionado con suero de portadores de tumores malignos con tratamiento, irradiados, operados, con radium, Hodgkin, tumores benignos, suero de enfermos hepáticos.

La cantidad observada como óptima de inculación de suero es de 0,01 ml llevada a 0,1 ml con solución fisiológica para mayor comodidad en la inculación y el volumen de fracción  $\gamma$  globulina inyectada es de 0,1 ml de la solución obtenida a partir del fraccionamiento, dializada y esterilizada.

Los sueros empleados provenían de: individuos portadores de tumores malignos histológicamente diagnosticados y sin tratamiento, en esta proporción:

- 19 Tumor de pulmón
- 12 Tumor de mama
- 6 Tumor de lengua y laringo
- 5 Tumor de cuello uterino
- 4 Tumor del sistema digestivo
- 2 Enfermedad de Hodgkin

Los sueros normales provinieron de dadores clínicamente sanos de

distintos grupos sanguíneos.

La sangre se extrae en condiciones asépticas.

El método utilizado para el fraccionamiento es el N° 10 de COHN y colab. (1950)

La separación se efectúa en soluciones etanol-agua de fracción molar 0,066, a una temperatura de -5° C., a una fuerza iónica de 0,8 y a un pH y concentración proteica definida.

El plasma usado se obtiene centrifugando sangre con A.C.D. ( 12 ml de sangre y 2 ml de anticoagulante.)

Las soluciones deben ser frescas, el etanol de 95° a 25° C. Se usan buffers para proteger a las proteínas de eventuales liberaciones de ácido. La centrifuga es refrigerada.

Marcha de la separación de proteínas del plasma:

a 5 ml de plasma A.C.D. enfriado a 0° C se le agrega lentamente y agitando mecánicamente durante 15 m. en un baño a -5°C, 20 ml de la solución. Se centrifuga durante 1 hora a 1700 rpm y -5°C, se redisuelve el precipitado con 5 ml de sol. 1, se centrifuga, se juntan los líquidos.

Solución IV,V,VI

Precipitado I,II,III

Albúmina

α y β globulinas

α glucoproteínas

mucoproteínas

polisacáridos

polipéptidos

estearasas

Se dializa 24 hs. con agua a 1° C

24 hs. con solución fisiológica

El precipitado más 10 ml de solución I,II y III, se homogeiniza, se centrifuga una hora a 1700 rpm. Se lava el precipitado con 2 ml. de sol. I,II,III, se centrifuga, se juntan los líquidos.

Solución

Precipitado

Fracción γ globulina

Fibrinógeno

Se dializa 24 hs. a

Globulinas insolu-

1°C. con agua, 24 hs, 3 veces en frío

levemente hipertónica  
Se esteriliza con bujía 5L3, se  
inyecta.

con solución fisiológica  
levemente hipertónica, se esteriliza  
con bujía 5L 3 e inyecta.

Globulinas antihe-  
mofíticas.  
Protrombina  
Plasmógeno  
Lipoproteína

A.C.D. 24,7 g Citrato de sodio (55,5 de agua)  
8,0 g Acido cítrico  
22,0 g Dextrosa  
llevar al litro.

Sol. I. 250 ml de etanol 95°  
2,5 buffer acetato de sodio 0,8 pH 4,0  
Llevar a: 1 litro.

Sol. I, II, y III.  
150 ml etanol 95°  
2,0 ml acetato de sodio M  
1,4 ml ácido acético M.  
45 gr glicina  
Llevar a 1 litro.

Para cada enfermo se utilizan 60 embriones de pollo Leghorn, incubados a 37°C y 75% de humedad, durante 9-11 días. 20 huevos para suero total, 20 para la fracción  $\gamma$  globulina y 20 para las restantes fracciones. Después de marcar la vena corioalantoidea más conveniente que se observa al ovoscopio, se talla un pequeño triángulo con un torno en la zona de la cáscara donde se ha hecho la señal, se levanta con una pinza estéril, se coloca una gota de vaselina con el objeto de hacer transparente esa zona y se inyecta con una jeringa Becton Dickinson de 0,25 ml la cantidad deseada, luego se cierra con cinta de celofan y se coloca en incubadora durante 4 días. Se compara la acción de la fracción  $\gamma$  globulina, con



la acción del suero del mismo portador sobre el crecimiento celular de un cultivo in vitro de fibroblastos de embrión de pollo LUSTIG, LYONNET 1946, observándose ~~que~~ siempre <sup>que</sup> hay actividad teratogena, ~~hay~~ hiperactividad mitótica ( el porcentaje de mitosis en el cultivo tratado con suero canceroso es de 7-8%, mientras que en los tratados con suero normal es de 1-2%) producción de divisiones atípicas, netamente patológicas como: mitosis tripolar, metafase tripolar con aglomeración cromosómica, metafase con cromosomas cortos y espesos, mitosis picnóticas o cromosomas aberrantes que quedan como inertes en la periferia de la célula.

3) Se hace el control electroforético de las fracciones con el objeto de determinar su grado de pureza.

1) Se estudió la variación de la actividad en función de los cambios de temperatura y del tiempo.

2) Se esbozaron las curvas de actividad en función de la dilución.

### RESULTADOS

1) Incidencias de monstruosidades según el líquido inyectado. Como resume en el cuadro I los resultados de la inoculación del embrión de pollo con solución fisiológica, suero total, y fraccionado normal, suero de tumores benignos, malignos, de operados y de irradiados. Las monstruosidades que con suero normal no pasan del 1,2% con suero canceroso llegan a valores del 90%.

Estudiando ahora detalladamente la acción teratogénica de la  $\gamma$  globulina cancerosa empezaremos por las modificaciones de carácter general ya observadas anteriormente con suero total que se traduce en forma de edema generalizado o localizado Fig. 1 y que se obtiene frecuentemente con la inoculación de

$\gamma$  globulina de cualquier tipo de tumor; cuando el edema es generalizado confiere al embrión una fisonomía anormal, este adquiere un aspecto gelatinoso, tumefacto y tan transparente que se pueden entrever todos los órganos a través de la piel.

El grado de la gelatinización es muy variable es decir que va, desde una pequeña infiltración y pérdida de tonicidad de los músculos hasta la desaparición total del tejido muscular, que deja lugar a una masa de tejido conectivo, pobre en células y muy rico en sustancia fundamental; en los grados más avanzados todo el cuerpo se reduce a una masa edematosa llena de líquido intersticial sin que los órganos vitales sufran mayormente de esta metaplasia de todos los tejidos de origen mesodérmico. La piel es brillante, móvil sobre el plano subcutáneo. Esta lesión es irreversible y sus resultados son fatales; el edema localizado en la pared abdominal produce, cuando es intenso, una retracción de la cavidad y puede ser causa de celosomia. Fig. 9. Se produce en este caso la evisceración de los órganos internos. Fig. 4,5,6, y 8.

La trama de los vasos a causa de la mayor transparencia de sus paredes externas es tan evidente que permite ver, como en un ovoscopio, la circulación general del embrión.

En otros casos el edema está localizado solamente en la región occipital y confiere al embrión un aspecto monstruoso como si tuviera dos cabezas. Fig. 2 y 3. Esta deformación contrariamente al edema generalizado puede desaparecer lentamente en el desarrollo. Otras malformaciones de carácter general que aparecen frecuentemente son:

- b) Ausencia de las plumas: los embriones son completamente iguales a los tratados con antibioticos.  
Fig. 7.
- c) Hemorragia: Subcutánea difusa en todo el cuerpo o solamente cerebral muy frecuente.
- d) Inhibición del desarrollo: Fig. 1,5,9 y 10
- e) Estado anémico; Observado con inhibición de desarrollo.

Ahora pasaremos a considerar las malformaciones más evidentes de carácter local y de los órganos, según la frecuencia de aparición.

Malformaciones del sistema óseo:

1) Malformaciones de huesos craneanos; hemos notado como muy frecuente la falta de huesos parietales que produce en consecuencia la excerebración parcial o total, microcefalia y hasta anencefalia total, Fig. 8,9,10,11,12 y 14. solamente un residuo del bulbo sale de la pequeña cavidad craneana. Fig. 7. Falta del maxilar que se acompaña algunas veces con la falta de los parietales y siempre con la ausencia del hemipico superior, alteración del paladar; más rara es la ausencia de la mandíbula.

2) malformaciones de huesos largos: micromelia o acondroplasia, acortamiento de los huesos de las extremidades en relación al largo del cuerpo que se acompaña a menudo con una curvatura tibio-tarsal debida a una osificación incompleta. Fig. 5,8,9 y 14.

Hominelia: Reducción del largo de los miembros con ausencia total del elemento periférico; el fémur termina en un muñón afilado. Fig. 4. Encorvamiento de las extremidades de los dedos. Fig. 12. Articulación femuro-tibial engrosada. Fig. 13.

Extrodactilia, ausencia de algún dedo, muy raro como malformación espontánea, a diferencia de la sindactilia que es la unión de dos dedos y puede aparecer espontáneamente.

Malformaciones de pico: 1) Braquignatia: malformación caracterizada por el acortamiento de la mitad superior del pico cuya extremidad libre es sobrepasada por la mitad inferior que posee una longitud normal. Fig. 12,13,18, 20 y 21. 2) Pico cruzado: Malformación caracterizada por el entrecruzamiento de ambas mitades del pico que poseen un desarrollo normal. Fig. 12,16 y 22. 3) Pico de loro o de rapiña: En el que el pico superior en lugar de ser rectilíneo descubre una curva de concavidad inferior, rodea la extremidad libre del hemipico inferior, y termina debajo de ella. 4) Falta total del hemipico superior: Ausencia de los elementos laterales del maxilar asociado generalmente a una mandíbula

y paladar hendido. Fig. 4,7,12 y 14, y 17, 2º. 5) Falta total del pico. Fig.15

Malformaciones de ojos: Las malformaciones de pico acompañan casi siempre a las malformaciones de ojos que tanto pueden interesar al globo ocular como a sus anexos; el pico cruzado se acompaña a menudo con microftalmia, Fig.6 reabsorción de los ojos, anoftalmia unilateral, Fig. 4, bilateral, Fig. 7,8,12 16 y 17, ciclotismo con falta de comisura oral, Fig. 15, cristalino sobresaliente, exoftalmia, hidroftalmia, Fig, 14, deformación de párpados que se desarrollan incompletamente.

II) Incidencia monstruosidades según localización del tumor:

(cuadro Nº 2) Aunque de los resultados obtenidos no podemos sacar conclusiones definitivas, podemos sin embargo observar:

1º) Que el edema general o localizado y la evisceración es propia de cualquier tipo de tumor.

2º) Las malformaciones de huesos largos que van de la micromelia a la homimelia, son las monstruosidades que aparecen en general con más frecuencia, excepto el tumor de útero.

3º) Los tumores de lengua actúan más bien sobre cerebro, inhibiendo su desarrollo. Los cánceres de pulmón parecerían ser los que actúan con más constancia produciendo todo tipo de monstruosidad.

III) Incidencia <sup>de</sup> monstruosidad según el tipo histológico del tumor

No podemos concluir nada sobre este capítulo, pero los sueros de los portadores de carcinoma semidiferenciados han demostrado ser los más teratógenos.

IV) Comparación entre resultados con suero total y resultados con

γ globulina (Cuadro 3) Del cuadro 3 podemos concluir que, a pesar de no tener los resultados de los fraccionamientos de todos los casos estudiados, la

γ globulina nos ha dado un porcentaje de monstruosidades siempre superior al suero.

Además desde el punto de vista descriptivo, tenemos que poner de re-

lieve que el tipo de monstruosidad observado con suero total se ha repetido en la misma forma y con la misma ubicación con la fracción  $\gamma$  globulínica. Fig. 21 y 22.

Estudiando comparativamente la acción de un mismo suero sobre el cultivo de tejido y el embrión de pollo hemos observado que los sueros más teratógenos para el embrión son los que han producido mayor número de mitosis atípicas en un cultivo de fibroblastos normales.

Se ha observado que el porcentaje máximo de sobrevivientes (cuadro 4) <sup>el porcentaje</sup> y monstruos sobre estos sobrevivientes se encuentran cuando se inocula 0,01 ml de suero; (cuadro 5) <sup>concentración</sup> en ~~cantidades~~ <sup>en cantidades</sup> mayores produce un aumento en el número de embriones muertos, en ~~cantidades~~ <sup>en cantidades</sup> menores (se ha llegado a 0,0001 ml) <sup>se observa también</sup> siendo los resultados positivos pero el porcentaje de monstruosidad menor y en algunos casos incierto, esto se deberá probablemente a variaciones de <sup>la</sup> del factor teratógeno relacionado <sup>con</sup> ~~posible~~ <sup>la</sup> acción de la fracción  $\gamma$  globulina que como ya lo han determinado distintos investigadores y <sup>en</sup> ~~este~~ <sup>este</sup> trabajo, varía con el estadio del enfermo portador del tumor. En general hemos encontrado los valores de la  $\gamma$  globulina aumentados.

La actividad del factor teratógeno no varía durante 15 días y se conserva a 4°C., persiste a -20°C y se destruye en pocas horas a 30°C. perdiendo absolutamente toda su actividad si se lo mantiene durante una hora a 60°C.  
Cuadro 6.

Es una substancia no dializable.

El control electroforético hecho con las fracciones para determinar su grado de pureza, ha demostrado que si bien en la fracción IV, V y VI observa una mancha que indica restos de  $\gamma$  globulina <sup>en</sup> ~~la~~ <sup>la</sup> solución en los embriones de pollo, <sup>no</sup> ~~no~~ <sup>no</sup> en absoluto ninguna actividad, mientras que la fracción  $\gamma$  globulina o suero del mismo enfermo, puede tener hasta un 100% de actividad teratógena, aún en diluciones muy grandes, lo que in-

dicaría que este factor no se encuentra en la fracción IV, V y VI a pesar de observarse pequeñas cantidades de  $\gamma$  globulina.

El suero y la fracción  $\gamma$  globulina de portadores de tumor no presenta actividad hialuronidasa ni antihialuronidasa, pero al parecer activaría la hialuronidasa presente en el medio, llegando en algunos casos corresponder a una activación equivalente a 120 U.I. por ml de suero, mientras que el suero y  $\gamma$  globulina normal no presentan actividad.

#### D I S C U S I O N

Las malformaciones según ANCEL (1950) pueden ser espontáneas o producidas por agentes químicos, físicos, deficiencias nutritivas o por virus. Veamos si es posible comparar nuestros resultados con los obtenidos por estos medios, analizando tanto la incidencia como las variaciones morfológicas de las monstruosidades.

Según LANDAUER (1954) los caracteres, la localización y la incidencia de las monstruosidades depende cuando se trata de drogas, del genotipo del huésped embrionario, de la naturaleza de los factores ambientales y del grado de desarrollo embrionario, según WILLIAMSON (1953) y ROBERTSON (1955) de la vía de inoculación y del título cuando se trata de agentes infecciosos.

En lo posible, hemos intentado uniformar nuestro material de experimentación, utilizando siempre la misma raza de huevos, cantidad de inoculo y vía de inoculación en igual período de desarrollo embrionario.

Como manifestación de carácter general las sustancias químicas teratógenas tienen acción inhibitoria sobre el desarrollo total o sobre una parte del embrión, mientras que los sueros cancerosos, pueden producir a menudo fenómenos de falso gigantismo debido a la gelatinización y edema del embrión total o de una de sus partes, o también inhibición de crecimiento, micromelia, anemia evisceración.

Este tipo de degeneración ha sido observado por Karnofsky y col.

(1949-1952) con material proveniente de un enfermo de linfogranuloma maligno, por TAYLOR y CARMICHAEL con un adenocarcinoma de ratón (1949) por LEVI MONTALCINI (1952) con los sarcomas 37 y 180 injertados en el embrión en el curso de investigaciones realizadas con fines muy distintos de los nuestros.

Las monstruosidades de tipo localizado que se observan más frecuentemente con suero canceroso son las de hueso, pico y ojos. Las malformaciones de pico han sido observadas por LANDAUER y colab. al estudiar los efectos teratogénicos de la sulfanilamida, insulina (1952), pilocarpina (1953), talio, ácido bórico (1952) eserina que producen en general pico de loro, en algunos casos acortamiento de algunos de los hemipicos, paladar hundido, coloboma facial.

RIDGWAY y KARNOFSKY (1952) observaron que el talio y el cromo, producen también pico de loro en el embrión de 4 días.

Nosotros lo observamos principalmente en el tumor de mama.

DURAI SWAMI (1950) considera que pueden prevenirse las anomalías en el pico y las afecciones en el esqueleto inyectando al mismo tiempo nicotinamida o riboflavina.

Las malformaciones de ojo acompañan casi siempre las de pico. Las malformaciones de ojo espontáneas consisten generalmente en una microftalmia. LANDAUER (1954) describe embriones hidroftálmicos por la acción de la insulina. FERGUSON y colab. (1954) observan opacidad de lente en caso de avitaminosis y otros formación de ciclopes por irradiación prolongada de embriones de 15 somitos.

Nosotros observamos principalmente anoftalmia unilateral o ceguera de ojos en los embriones tratados con sueros y fracción de globulina de portadores de tumores de: mama, lengua y más raramente pulmón, estómago, útero.

Hemos observado todos los grados de malformación de ojos, de la reabsorción <sup>parcial</sup> ~~parietal~~ a la falta de uno o dos ojos hasta la formación de ciclopes. La micromelia que observamos a menudo en el cáncer de pulmón y mama ha sido estudiada a fondo por LANDAUER en 1954, quien considera el acortamiento de los huesos.

sos largos como efecto característico de la insulina, la unión tarso-metatarsal y sindactilia, efecto característico de la pilocarpina y ácido bórico. Mientras que ANCEL observa iguales malformaciones con eserina, ZWILLING y DE SELL con sulfanilamida y DAGG. y col. (1955) con L-azaserina. Sueros cancerosos de distintos tipos y localización de tumores producen acortamiento y espesamiento de la diáfisis de los huesos largos, encorvamiento caudal de los dedos y hasta ausencia de la parte distal de la pierna.

La celosomía que se puede obtener por agentes físicos o por acción de la saponina ha sido observada muy frecuentemente acompañada por evisceración total con sueros de portadores de distintos tipos de tumores, especialmente útero. No sólo se trata de platinización sino hasta de falta de formación de la pared muscular ventral. La microcefalia raramente observada como malformación por inducción química es considerada por HÄBURGUER y HUBER (1951) característica de los embriones infectados con virus de influenza A. Nosotros la encontramos complicada con acefalia y exencefalación como consecuencia de la falta de formación de los huesos parietales. Queremos insistir sobre esta malformación que da un aspecto muy raro al embrión, acompañado generalmente por un pico anormal y anoftalmia, contrastando con una gran vitalidad y desarrollo normal de los órganos viscerales, nos parece hasta ahora característica de los sueros portadores de cáncer de lengua. Luego de haber comparado nuestros resultados con los obtenidos por medios físicos, químicos o infecciosos, podemos concluir que las sustancias teratógenas actúan siempre por acción inhibitoria general sobre el desarrollo del embrión o selectivamente sobre alguno de los órganos en vía de diferenciación particularmente sensible en el momento de inoculación a la acción de las sustancias teratógenas, mientras que los sueros cancerosos no siempre inhiben el crecimiento general del embrión, a veces lo estimulan.

Los inductores químicos y los virus, exceptuando el de New Castle que actúa hasta 13 días WESTWOOD (1952), actúan solamente en embriones muy jo-



venos selectiva y alternativamente sobre algunos grupos celulares en un estadio de pro-diferenciación y deja de actuar en los embriones más avanzados, mientras que los sueros cancerosos, tienen acción sobre los embriones ya diferenciados.

Los agentes químicos y particularmente los virus producen gran mortalidad por acción tóxica, que aumenta con la dosis. En nuestro caso el porcentaje de sobrevivientes es muy alto a la dilución usada, la mortalidad correspondiente a traumatismo o infecciones en el momento de inoculación, la acción teratogénica no aumenta con la concentración ya que se observan monstruosidades hasta con sueros muy diluidos.

Por todas estas consideraciones y por el hecho que hacemos actuar los sueros cancerosos entre los 9 y 12 días en un momento muy importante del metabolismo de los hidratos de carbono, el hígado comienza a almacenar glucógeno pensamos que el suero canceroso lleve a la teratogénesis por un camino distinto de los agentes anteriormente citados. La mayor cantidad de hidratos de carbono observada por GELARIE (1940) en los huevos de 12 días tratados con suero canceroso, la frecuente presencia de fibroblastos muy ricos en polisacáridos, nos hacen pensar en una perturbación del sistema mesenquimal que inhibido o estimulado según los casos, desplazaría órganos o tejidos organizados produciendo monstruosidades.

En cuanto a su mecanismo íntimo de acción, basándonos en las propiedades físico-químicas, termolabilidad, persistencia de la actividad aún en dosis mínimas, somos de la opinión que se trata posiblemente de una enzima que actuaría en el metabolismo intermedio de los hidratos de carbono. El virus no siempre presente en todos los sueros en la misma concentración. La globulina es la fracción proteica del suero que interviene principalmente en la producción de monstruosidades,

La sangre de portadores de tumores de las vías respiratorias y de los linfogranulomas malignos que han producido el máximo de monstruosidades,

inoculados en embriones, corresponden a los tipos de tumores que según PETERMAN (1950) y MIDER (1952) presentan aumento de  $\gamma$  globulina.

Mientras que la fracción albumínica no ha provocado monstruosidades, la fracción  $\gamma$  globulina repitió con más frecuencia aun las monstruosidades observada con suero total. La mayor acción de la  $\gamma$  globulina respecto al suero total podría estar en relación al contenido anormal de polisacáridos asociados a la  $\gamma$  globulina descrito por LUSTIG (1937) SHETLAR (1950) PETERMAN (en el cáncer gástrico precoz) y por WINZLER (1948-1950) en el cáncer de pulmón.

La presencia de un activador de la hialuronidasa específico del suero canceroso y ligado a la  $\gamma$  globulina, podría explicar parte de los fenómenos de gelatinización y edema, metaplasia.

Será necesario hacer por un lado un estudio sistemático de las modificaciones del huésped tratado con suero canceroso y del contenido enzimático de los sueros por el otro lado, para poder establecer si hay una relación entre respuesta del embrión, concentración  $\gamma$  globulina y concentración de mucopolisacáridos.

Estamos ahora tratando de estudiar si un suero inmunizante anticanceroso puede actuar como antagonista de la acción teratógena del suero canceroso.

Queremos insistir sobre algunos casos que nos han parecido muy interesantes ya que su diagnóstico clínico era muy dudoso. Después del estudio experimental del suero y  $\gamma$  globulina realizada en el embrión de pollo, hemos podido dar una orientación diagnóstica al clínico que se confirmó más tarde en la mesa de operaciones o con la histología patológica. De los 86 casos estudiados en 1 año y medio, más de 30 se hallan en esas condiciones.

Por ejemplo nuestro caso N° 35 AIG. del Instituto de Oncología de 44 años, operado de cancer de mama hace 8 meses. Aparentemente en perfecto estado de salud. Su suero produjo monstruosidad muy notable. Ver fotografía. 15

Caso Nº 45 A.B. Instituto de Oncología. Operada hace los años pro-  
ducir metástasis de columna. Monstruosidad muy notable.

R E S U M E N

Hemos inoculado intravenosamente 4.700 embriones de pollo (Leg-  
horn) a los 9-11 días de desarrollo en parte con suero total, fracción IV,V,VI y  
fracción  $\gamma$  globulina del método Nº 10 de Cohn de sangre de portadores de tumores  
malignos histológicamente diagnosticados, de enfermos de Hodgkin, de portadores  
de tumores operados, irradiados o tratados terapéuticamente.

A los 4-6 días de la inoculación hemos estudiado la incidencia de  
embriones monstruosos entre los sobrevivientes observando que:

- 1º- Los sueros normales producen 1% de monstruos.
- 2º- Los sueros de tumores benignos producen 1% de monstruosidades.
- 3º- Los sueros de tumores operados, irradiados o tratados 1% de monstruos  
siervos.
- 4º- La fracción IV,V,VI Met. Nº10 de Cohn de canceroso produce 1,4% de monstruos.  
5º- La fracción total 50% de monstruosidades.
- 6º- La  $\gamma$  globulina produce 65% de monstruos.
- 7º- La fracción  $\gamma$  globulina recibe con mayor incidencia la monstruosidad del sue-  
ro total, lo que nos hace pensar que en esta fracción se encuentra algún fac-  
tor enzimático o viral que actúa sobre el embrión de pollo; este factor con-  
serva su actividad a -20°C y se destruye a 60° C., no es dializable y activa-  
ría la hialuronidasa. Las malformaciones observadas más frecuentes son de ca-  
rácter general y se traducen en forma de edema generalizado en todo el em-  
brión o localizado en la región occipital. A veces se observan inhibiciones  
de crecimiento, hemorragia general, anemia.

Las malfo  
localiz  
homb  
, ausencia de huesos parietales, occipitales, maxilares,) sistema  
nervioso central (excerebración, microcefalia, anencefalia), a los ojos (anof-  
talmia total o parcial, reabsorción del globo ocular, coloboma) o el pico

(entrecruzamiento, pico de loro, braquignatia) y repiten todas las monstruosidades producidas por agentes físicos, químicos o por virus.

8º- Por ahora no se puede establecer relación entre el tipo histológico y la respuesta del embrión.

Los tumores histológicamente más indiferenciados y vírgenes de tratamiento son los que han dado mayor incidencia.

9º- No se puede establecer una relación entre grado de evolución del tumor y grado de monstruosidad.

10º- No se puede establecer relación entre ubicación de las monstruosidades y ubicación del tumor, las malformaciones del sistema óseo aparecen con más frecuencia en cáncer de pulmón y mama; anoftalmia, microcefalia y anencefalia en el cáncer de lengua, pero hay muchos factores clínicos, hormonales; evolutivos propios del portador del tumor y otros en el embrión receptor que entran en acción contemporáneamente y hacen variar las incidencias de los procesos monstruosos.

Solamente el estudio estadístico cuantitativo de las proteínas plasmáticas de muchos portadores de tumores del mismo tipo histológico, en un mismo grado de evolución, de un mismo órgano sobre embriones de cepa genéticamente pura *no podrá dar una idea del valor que pueda tener en un futuro esta investigación desde un punto de vista diagnóstico.*

Estamos ahora estudiando si un suero inmunizante anti-  
de actuar como antagonista de la acción teratógena del suero canceroso.

### C O N C L U S I O N S

We have inoculated intravenously 4,700 Leghorn eggs between the 9th and the 11th day of their development with total serum and fractions IV, V, VI, Met. 10 Cohn and  $\gamma$ -globuline of the blood of patients suffering from malignant tumores, histologically diagnosed as Hodgkins diseases and of patients operated for tumors and later irradiated or treated therapeutically. 4-6 days after the inoculation, we have studied the incidence of embryonic monsters among the sur-

viving chicks, having observed that:

- 1) Normal sera produce 1, % of monstruosities;
- 2) Sera of benign tumors produce 1% of monstruosities;
- 3) Sera of operated (or irradiated or treated) tumors produce 1% of monstruosities;
- 4) The fractions IV, V and VI Met. Cohn produce 1,4% of monstruosities;
- 5) The total cancerous sera are responsible for 52% of all monstruosities produced;
- 6) The  $\gamma$ -globuline produces 65% of monstruosities;
- 7) The fraction  $\gamma$ -globuline repeats with a remarkably high incidence the monstruosities caused by the total serum which has made us think that this fraction may contain some enzymatic or virus factor, acting on the embryo, this factor conserves its activity at  $-20^{\circ}$  C, but is destroyed at  $60^{\circ}$  C and would activate the hialuronidase.

The most frequently observed malformations are of general character and appear under the form of generalized edema in the whole embryo or localised in the occipital region. Sometimes inhibitions of local character invade the osseous system (brachimelia, hemimelia, absence of parietal, occipital and maxillary bones) or the central nervous system (exacerbation, microcefalia, anencefalia) of the eyes (anophthalmia, total or partial coloboma, roabsorption of the eyeball as such) or the beak (crossed parrots beak and brachinatism) and repeat all the monstruosities produced by physico-chemical agents or by virus diseases.

- 8) It has not been possible to establish a relation between the histological type and the reaction of the embryo.

The tumors which displayed the greatest histological resemblance and had never received any treatment are those which were most frequently observed.

- 9) It has not been possible to establish a relation between the degree of evolution of the tumor and the degree of monstruosity.

10) It has not been possible to establish a relation between the side of the monstruosities and the side of the tumor, as the malformations of the osseous system appear with greater frequency in the cancer of the lung and the female breast; anophthalmia, microcephalia and anencephalia in cancer on the tongue, but there are many clinical factors and hormonal evolutions in existence, which are particular for the tumor carrier and others in the embryo who enter contemporaneously into action and are causing a variety of incidence of the monstruosities observed.

Only the statistical study of quantitative analysis of plasma proteins on a large scale, of a great number of tumor carriers for the same histological type and within the same degree of evolution, of one and the same organ about embryos of a genetically pure strain, are able to give us an idea of the value which this investigation may possess from a diagnostical point of view in the future.

We are now studying whether an immunisign anticancerous serum is able to act as an antagonist for the teratogenous action of a cancerous serum.

#### R E S U M E

Nous avons inoculé par voie intraveineuse à 300 souris, entre le 9ème et le 11ème jour du développement avec du sérum total et des fractions IV, V et VI Met. 10 Cohn et du  $\gamma$ -globuline du sang des porteurs de tumeurs malignes (histologiquement diagnostiquées), des malades atteints de la maladie de Hodgkin, des porteurs des tumeurs opérées, irradiées, ou traitées thérapeutiquement. Entre le 4ème et le 6ème jour de l'inoculation, nous avons étudié l'incidence des embryons monstrueux entre les animaux survivants et nous avons pu observer que:

- 1) Les séras normaux produisent 1% de monstruosités;
- 2) Les séras de tumeurs bénignes produisent 1% de monstruosités;
- 3) Les séras de tumeurs opérées ou irradiées ou traitées produisent 1% de monstruosités;

4) Les fractions IV, V, et VI Met. 10 Cohn concréues produisent 1,4% de monstruosités;

5) Les séra cancéreuses totaux produisent 52% des monstruosité;

6) Le  $\gamma$ -globuline produit 65% de monstruosités;

7) La fraction  $\gamma$ -globuline répeto avec la plus grande incidence les monstruosités de serum total, ce que nous a permis de penser que ce facteur doit renfermer un facteur enzymatique ou viral agissant sur l'embryon; ce facteur conserve son activité a  $-20^{\circ}$  C. et il est détruit a  $60^{\circ}$ C.

et activeait le hialuronidase.

Les malformations observées le plus fréquemment sont d'un caractere général et se traissent sous la forme d'un œdeme généralisé dans tout l'embryon ou localisé dans la région occipital. On observe parfois des inhibitions de la croissance, des hemorrhagies générales et l'anémie.

Les malformations du caractere local intéressent surtout, soit le système osseux (brachymélie, hémimélie, absence des os pariétaux, occipitaux et maxillaires), soit le système nerveux central (exaccébatation, microcéphalie, anencéphalie), soit les yeux (anophthalmie, totale ou partielle, coloboma, reabsorption du globe oculaire), soit le bec (croisement du bec de perroquet, brachygnathie) et répetent toutes les monstruosités produites par les agents physio-chimiques ou par l'influence des virus.

8) Il n'était pas possible d'établir une relation entre la type histologique et la réponse de l'embryon.

Les tumeurs, histologiquement les plus indifferenciées et jamais été traitée sont les néoplasmes qui ont fourni la plus grande incidence.

9) Il fut impossible d'établir une relation entre le siège des monstruosités et la siège de la tumeur, parce que les malformations du système osseux apparaissent avec une plus grande fréquence dans les cancers pulmonaires et mammaires; l'anophthalmie, la microcéphalie et l'anencéphalie dans le cancer de la langue, mais il y a de nombreux facteurs cliniques, hormonaux

évolutives du porteur de la tumeur et d'autres dans l'embryon récepteur qui entrent contemporanément en action et produisent des variétés monstrueuses.

Uniquement l'étude statistique quantitative des protéines plasmatiques d'un nombre considérable de porteurs des tumeurs de même type histologique, dans un même degré de l'évolution, dans un même organe sur les embryons de la souche identique génétiquement pure, pourrait nous donner une idée de la valeur qui cette investigation pourrait signifier dans l'avenir, point de vue diagnostique.

Nous sommes actuellement occupés d'étudier, si un sérum immunisant anticancéreux pourrait se porter comme antagoniste de l'action tératogène du sérum cancéreux.



Tabla 4. 1 Incidencia de monstruosidades según el líquido inyectado

Características	Huevos in- yectados	sobrevivientes	Porcentaje de monstruos sobre sobreviviente
	Cantidad	%	%
Huevos intactos	173	96	1
Huevos abiertos, vueltos a cerrar	94	92	1
Huevos inyectados con solución fisiológica	110	83	1
Huevos inyectados con suero normal	690	74	1
Huevos inyectados con $\gamma$ globulina normal	120	70	1,3
Huevos inyectados con fracción IV, V, VI, método 10 Cohn canceroso	120	85	1
Huevos inyectados con suero canceroso	756	61	52
Huevos inyectados con fracción de $\gamma$ globulina cancerosa	607	65	65
Huevos inyectados con fracción IV, V, VI, método 10 Cohn canceroso	99	72	1,4
Huevos inyectados con suero de enfermos con linfogranuloma maligno	20	50	90
Huevos inyectados con suero de enfermo canceroso irradiado	60	77	1
Huevos inyectados con suero de enfermos cancerosos con radium	19	-	-
Huevos inyectados con suero de enfermo con tumor benigno	40	80	1
Huevos inyectados con suero de enfermo hepático	40	90	1

Cuadro N° 2 Incidencia de los distintos tipos de monstruosidades en función de la localización del tumor

Localización del tumor	Edema general o localizado		Evisceración		Implante		Inhibición de desarrollo		Anémicos Hemimelia		Variación de los huesos planos		Microcefalia, anencefalia y exencefalia		Hemorragia cerebral		Asfobia total o parcial		Alteración de pico	
	%		%		%		%		%		%		%		%		%		%	
Pulmón	25		4,5		16,9		15,3		3,2		18,8		2,7		0,5		2,7		5,9	
Mama	16,2		13,9		-		4,5		-		22,4		10		6,5		4,6		10	
Utero	7		31		-		-		-		-		4		11		4		4	
Laringe, lengua	33		2		-		25		0		14		4		-		7		5	
Gastrointestinal	36		0,7		20		25		-		16		0,3		0,5		1,3		1,4	



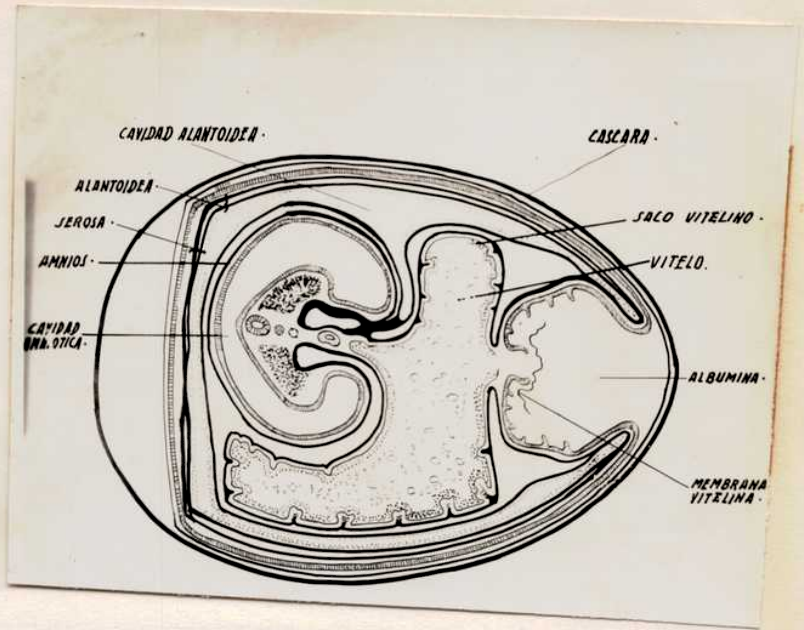
Cuadro N° 5

Porcentaje de monstruos en función de la dilución del suero

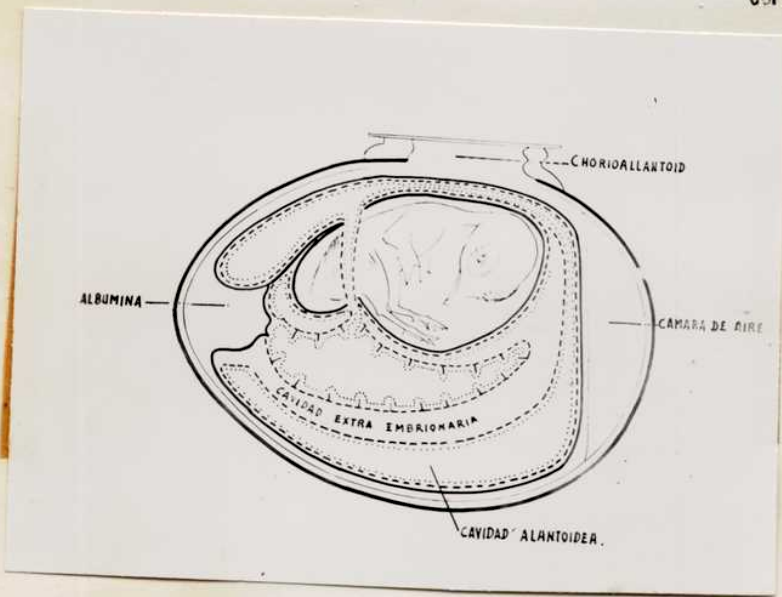
Caso	Dilución	Monstruos
N°	ml	%
1	0,025	0
	0,015	100
	0,010	100
2	0,025	75
	0,010	100
3	0,010	9
	0,005	20
	0,001	75

Cuadro N° 6 Porcentaje de monstruos en función de t°

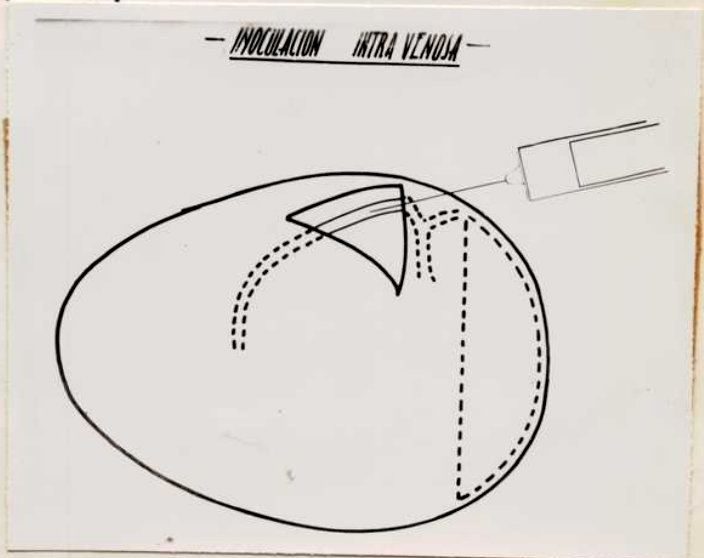
Caso	Temperatura	Tiempo	Monstruos
N°	°C	minutos	%
1.	4	15	100
	40	"	100
	56	"	0
	75	"	0
2	4	30	23
	40	"	18
	56	"	0
	75	"	0



Corte sagital de un huevo fertil incubado 4 días.



Desarrollo del embrión en el momento de inoculado (9-11 días)





Embrión normal de 15 días.

Fig. 1- Cáncer de pulmón  
a) atraso en el crecimiento, inplume, algo gelatinoso. Falta total de huesos occipitales y maxilar superior.  
b) Edema general-muy importante, pico corto agruesado.



Fig. 2- Notable edema



Fig. 3 -  
Tumor de mama - notable edema.





Fig. 4 - Cancer de pulmón. Anoftalmia, pico cruzado, braquimelia, evisceración, falta la tibia en una pata y en la otra falta una parte de la tibia.



Fig. 5 - Cancer de pulmón, evisceración, atraso en el crecimiento curvatura tibio tarsal.



Fig. 6 - Cancer de pulmón. Evisceración, hígado con bilis en difusión.



Fig. 6' - Tumor de pulmón con metástasis en huesos, evisceración, inhibición de desarrollo, corazón de tamaño aumentado, hígado pequeño, curvatura tibio-tarsal.





Fig. 7 - Blastoma de pulmón. Anecefalia casi completa falta de hemipico superior, sin ojos, inhibición de desarrollo, implume.



Fig. 8 - Eviscerado, inhibido el desarrollo, sin cuello, acortamiento de alas y patas, principalmente de pies. Falta de huesos occipitales, excerebrado, anoftálmico, sin el hemipico superior. Se observa macroscópicamente como único órgano corazón.



Fig. 9 - Enfermedad de Hodgkin. Notable inhibición de crecimiento, micromelia, excerebrado, falta de huesos parietales, anemico, córnea sobresaliente, ojos reducidos.



Fig. 10 - Tumor de lengua y laringe. Microcéfalo, gelatinoso, desarrollo inhibido. Algo implume.



Fig. 11 - Neó de útero. Falta de los huesos planos de la cabeza, excerebrado anoftálmico, pico corto y grueso.

Fig. 12 - Tumor de mama

- a) Pico torcido, anoftalmia unilateral
- b) Microcefalia, anoftalmia hemipico superior más corto, gelatinoso, eviscerado, ansas intestinales con bilis, articulaciones edematosas.
- c) mecrocéfalo, excerebrado, falta de hemipico superior.



Fig. 12' - Fotografía del mismo pollo visto de dos ángulos. Neo de lengua y laringe. Algó implume, inhibición desarrollo, anoftalmia unilateral, el otro ojo en vías de reabsorción.



Fig. 13 - Tumor de pulmón. Anoftálmico con hemipico superior más corto que el inferior.



Fig. 14 - Fotografía del mismo pollo visto de dos ángulos. Adenocarcinoma diferenciado de cardias; suero excerebrado monoftálmico, hidroftálmico, falta de hemipico superior, gelatinoso, atrasado, falta del músculo interno del muslo.



Fig. 15 - Cáncer de mama. Microcéfalo, hidroftálmico ciclope, falta de los huesos maxilares, falta de boca, residuo de pico único, arriba.



Fig. 16 - TUMOR DE MAMA - Pico torcido, corto, edema submandibular, sin ojos.



Fig. 17 - CARCINOMA DE CUELLO UTERINO - Falta de hemipico superior, oftalmia, microcefalia.



Fig. 18 - CANCER DE LENGUA - Cornea gelatinosa, ojos en vías de reabsorción, con femur reducido. Microcefalo, anoftalmico, evisceracion, pico inferior mas largo.



Fig. 19 - CANCER DE TUBO GASTRICO - Anoftalmico, pico cruzado, hemipico inferior mucha más largo que el superior.



Fig. 20 - CANCER DE PULMON

α globulina

suero

Hidroftálmico, excerebrado, falta total de maxilar superior y del hemipico superior, edema occipital.

Anoftalmia completa, gelatinización de las patas y acortamiento, gelatinización de la pared parietal, inhibición del desarrollo, implume, falta de los huesos parietales y maxilares superior.



Fig. 21 - BLASTOMA DE PULMON - suero - Falta de los huesos del cráneo, excerebrado, anoftálmico, hemipico superior muy corto, patas edematosas.



Fig. 22 - CARCINOMA SEMIDIFERENCIADO DE PULMON - α globulina, anoftalmia unilateral, pico torcido.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Ancel P., Paris Doin Edit., 1950
- 2) Ardy Robert, Biol. Med. 44:662, 1955
- 3) Ardy R., Storck J., Bull. Soc. Chim. Biol. 36:1077, 1954
- 4) Block R.J., J. Biol. Chem. 104:343, 1934
- 5) Block, R.J., J. Biol. Chem. 105:663, 1934
- 6) Block R.J., Danow D.C., Gary M.K., J. Biol. Chem. 104:347, 1934
- 7) Cann J.R., Brown R.A., Kirkwood J.G., J. Am. Chem. Soc. 71:1609, 1949
- 8) Cann J.R., Brown R.A., Kirkwood J.G., J. Biol. Chem. 181:161, 1949
- 9) Cann J.R., Kirkwood, etc., J. Am. Chem. Soc. 71:1603, 1949
- 10) Cohn E.J. colab., J. Clin. Invest. 23:417, 1944
- 11) Gahrwood P.A., Biochem. Jnal. 51:113, 1952
- 12) Dass C.P., Karnofsky D., J. Exp. Zool. 130:555, 1955
- 13) Deutsch H.F., Alberty R.A., y Gosting L.J., J. Biol. Chem. 165:21, 1946
- 14) Duraiswami M.S., Br. Med. J. 2:384, 1950
- 15) Durrum E.L., J. Am. Chem. Soc. 71:1943, 1950
- 16) Ferguson T.M., Atkinson R.L., Couch J.R., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 86:868  
1954
- 17) Fischer M.A., Steinman P.A., J. Lab. and Clin. Med. 35:141, 1950
- 18) Fulers J.F., Clin. Invest. 23:510, 1944
- 19) Gelari A.J., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 45:351, 1940
- 20) Hamburger V., Habel K., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 66:608, 1947
- 21) Harkness J., Bioch. and Bioph. Acta, 3:34, 1949
- 22) Hewitt L.F., Bioch. Jnal. 32:126, 1938
- 23) Jencks W.P., Jetton M.R., Durrum E.L., Bioch. Jnal. 60:205, 1955
- 24) Karnofsky D., Parisette L.M., Patterson A., Acta un. Intern. contra Cancrum  
6:641, 1949
- 25) Karnofsky D.A., Ridgway L.P., Patterson P.A., Fed. Proc. Biology 40:596, 1951
- 26) Koehnig U.L., Pedersen T.O., Arch. Biochem. Biophys. 19:107, 1950
- 27) Lamirande G., Cantero A., Cancer Research 12:330, 1952
- 28) Landauer W., Jnal. Exp. Zool. 122:469, 1955
- 29) Landauer W., Jnal. Cell. Comp. Physiol. 43:261, 1954
- 30) Landauer W., P.S.E.B.M., 82:633, 1953
- 31) Levi Montalcini R., Ann. N. York Acad. Sc., 55:330, 1952
- 32) Levi Montalcini R., Hamburger V. Jnal. Exp. Zool., 123:23, 1953
- 33) Lobo-Onell G., Leyton G.R., Waldmann H., Sem. Hop. Paris 29:84, 1952
- 34) Loisleur G., Thillard M.J., Bull. Soc. Chim. Biol. 26:481, 1944
- 35) Lustig E., Leiner G., Ernst T., Ztsch. Ges. Exp. Med., 100:492, 1937
- 36) Lustig E. Sacerdote de, Lyonnet J., Rev. Soc. Arg. Biol., 22:487, 1946
- 37) Lustig E. Sacerdote de, Mancini E., Arch. Soc. Arg. Anat. Normal. y Patol.  
9:380, 1947
- 38) Lustig E. Sacerdote de, Mancini E., Monit Zool. Ital. 57, 1943, Supl.
- 39) Lustig E. Sacerdote de, Gernica de Roux A., Correa Urquiza L., Rev. Soc.  
Arg. Biol. 25:4, 1949
- 40) Lustig E. Sacerdote de, Gernica de Roux A., Rev. Soc. Arg. Biol. 25:10, 1949
- 41) Lustig E. Sacerdote de, Mancini R.E., Rev. Soc. Arg. Biol. 26:1, 1950
- 42) Lustig E. Sacerdote de, La prensa Med. Arg. 19:117, 1949
- 43) Lustig E. Sacerdote de, Rev. Soc. Arg. Biol., 30:256, 1954
- 44) Lustig E. Sacerdote de, Sacerdote de, Pub. del C.I.T. 18:241, 1954-5
- 45) Lustig E. Sacerdote de, Mancini R.E., Cancer 1:56, 1950
- 46) Pauli W., Helv. Chim. Acta 25:137, 1942
- 47) Peterman M.L., Hogness K.R., Cancer 1:100, 1948

- 48) Peters T., Anfinsen C., Jnal. Biol. Chem. 182:171, 1950
- 49) Pillemer L., Hitchinson M.C., Jnal. Biol. Chem. 158:299, 1945
- 50) Reid A., Jones F., Ind. Engin. Chem. 43:1074, 1951
- 51) Ridway L.P., Karofsky D., Patterson, Am. N. York Acad. Sc., 55:203, 1952
- 52) Roberts S., White A., Jnal. Biol. Chem. 180:505, 1949
- 53) Robertson G.G., Williamson P.A., Blattner R.J. Jnal. Exp. Zool. 129:5, 1955
- 54) Seibert F.B., Seibert M.V., Atmo A.J., Jnal. Clin Investig. 26:90, 1947
- 55) Shetlar M.R., Shetlar C.L., Richmond V., Cancer Research, 10:681, 1950
- 6) Sørensen S.P.L., Sørensen M., Comp. Rend. Lab. Carlskery, 19:11, 1933
- 57) Surgenon D.M., Neertker J.F., Jnal. Amer. Chem. Socl. 74:3449, 1952
- 58) Taylor A., Carmichael N., Cancer Research, 1:498, 1949
- 59) Tiselius Arne, Bioch. Jnal. 31:1464, 1937
- 60) Westwood, J.C.N., Brit. Jnal. Exp. Pathol. 33:610, 1954
- 61) Williamson A.P., Blattner R.J., Robertson G.G., Jnal. Immunol. 71:207, 1953
- 62) Winzler R.J., Smith J.M., Jnal. Clin. Invest. 27:617, 1948
- 63) Zwilling E., J. De Bell, Jnal. Exp. Zool. 115:59, 1950

*W. F. P.*



# FORMA

## I N D I C E

Introducción	Pág. 1
Material y Método	Pág. 7
Resultados	Pág. 10
Discusión	Pág. 15
Resumen	Pag. 20
Conclusions	Pág. 21
Resumé	Pág. 23
Cuadros	Pág. 24
Fotografías	Pág. 29
Bibliografía	Pág. 39