

L'EFECTE DE L'EXTRACTE TESTICULAR I DEL SÈRUM NORMAL SOBRE UN TUMOR EPITELIAL TRANSPLANTABLE DEL CONILL

per

F. DURAN-REYNALS

En el curs d'alguns experiments realitzats per comparar les propietats dels agents filtrables de tumors de pollastre amb les dels virus típics, es va notar que quan l'agent del tumor contactava, in vitro, amb aquells teixits d'animals susceptibles en els quals el tumor es desenvolupa bé, múscul, per exemple, era absorbit i fixat — o inactivitat — mentre que teixits similars de pollastres no susceptibles o d'altres espècies animals eren totalment inertes, en aquest sentit (1). Per altra part, el virus vacunal, que creix en el testicle, no era inactivat pel contacte in vitro amb l'extracte testicular, sinó que, contràriament, tenia la seva virulència enormement augmentada per aquest tractament (2). Aquest fenomen, l'exaltament de la virulència per l'extracte testicular, ha resultat, fins ara, ésser general per a un gran nombre de virus i bacteries (3). Recentment, s'han fet treballs que tendeixen a demostrar que l'extracte testicular actua causant un augment de la permeabilitat tissular (4). Aquest estudi tracta de l'efecte de l'extracte testicular sobre el

creixement de l'epitelioma transplantable del conill, quan la seva acció és contrastada per la del sèrum normal, que normalment interfereix en l'activitat dels agents més infectants.

MÈTODE I MATERIAL

Per a aquests experiments s'ha utilitzat l'epitelioma del conill de Brown-Pearce, que és un tumor que s'origina en els beines dels pèls de l'escròtum (5). Aquest tumor té la particularitat que el creixement progressiu rarament resulta d'altres localitzacions que les del testicle i del cervell. Els empelts subcutanis o intradèrmics creixen durant un cert temps, però gairebé invariablement regressen, cosa difícil d'explicar, si es té en compte que un empelt testicular dóna sovint difoses metàstasis cutànies.

El tumor del conill es prepara tallant-lo finament i fent-lo passar a través d'una glassa per a obtenir una suspensió uniforme de cèl·lules. Abans de la inoculació, el material es dilueix fins al doble o al triple del seu volum amb solució de Ringer. L'extracte testicular es prepara triturant el teixit glandular pur del testicle de la rata, conill o brau amb sorra i el seu volum de solució de Ringer. La barreja se centrifuga per a separar les restes cel·lulars i la sorra. S'han d'adoptar precaucions extremades durant tota la manipulació per a evitar la infecció incidental que seria exaltada per l'extracte.

Susceptibilitat dels conills a les inoculacions intracutànies del tumor. — Les proves preliminars demostraren que si s'utilitzava per a la inoculació intradèrmica, una suspensió rica en cèl·lules de tumor sà, primari o de les seves metàstasis, podien fer-se fins a dotze inoculacions d'aquest tipus en un sol conill que donessin tumors d'una

forma aproximadament uniforme. La majoria dels tumors cutanis regressen després de dues setmanes de creixement difós, durant el qual assoleixen un diàmetre aproximadament de 3 cm.

ACCIÓ DE L'EXTRACTE TESTICULAR DE RATA I DE CONILL
I DEL SÈRUM DE CONILL SOBRE EL TUMOR DEL CONILL

Es prepararen suspensions de cèl·lules de tumor de conill, com s'ha dit abans. Es dividiren en quatre parts. A cada part se li afegí, respectivament, una de les solucions següents : extracte testicular de rata, extracte testicular de conill, sèrum de conill normal i solució de Ringer. Aquestes suspensions es guardaren en tubs a 37° de dues a tres hores i mitja, agitant-los diverses vegades durant aquest temps. Després de la incubació, 1 cc. de cada barreja s'injectà intradèrmicament, fent-se dues o més inoculacions de cada barreja a cada conill. Per aquest sistema cada conill portava totes les proves a més del control, suprimint així el factor de les diferents susceptibilitats individuals. Els resultats de cinc experiments, en els quals deu conills foren inoculats a 8 o 10 llocs diferents cada un, es resumeixen a la taula 1.

TAULA I

Suspensió de cèl·lules tumorals, i a més:	N.º d'inoculacions	Creixement més gran que el control	El mateix creixement	Creixement més petit	No creixement
Extracte de testicle de rata.....	16	—	—	2	14
Extracte de testicle de conill....	16	—	1	6	9
Sèrum de conill..	32	19	10	3	—
Solució de Ringer (control).....	20	—	—	—	—

Paral·lelament a l'experiment anterior s'inocularen vuit animals al testicle amb una barreja de suspensió de cèl·lules de tumor i extracte testicular de rata. Com a control s'inoculà, intratesticularment, un grup de vuit conills amb la mateixa suspensió de cèl·lules diluïda amb solució de Ringer i guardats en les mateixes condicions. Els resultats indicaren una inhibició del creixement produïda per l'extracte testicular.

Els experiments anteriors demostren, d'una manera concloent, que tant l'extracte testicular de conill com el de la rata interfereixen i fins inhibeixen el creixement de l'epitelioma de conill en la pell. Per altra banda, el sèrum de conill normal demostra, d'una manera igualment clara, l'exaltació del creixement de les cèl·lules del tumor (figs. 1 a 4). Quan la barreja de tumor i d'extracte testicular s'inocula en el testicle, hi ha senyals d'inhibició, però no és tan definida com en la inoculació intradèrmica.

L'efecte sobre les cèl·lules tumorals de l'extracte fresc de testicle de brau i d'una fracció purificada. — No hi ha una demostració en els experiments anteriors que el factor de l'extracte testicular que inhibeix el creixement del tumor de conill sigui el mateix que exalta les infeccions i augmenta la permeabilitat dels teixits. En col·laboració amb Claude i Helmer, la fracció de l'extracte testicular que conté el factor exaltant ha estat portada a un alt grau de puresa. Tot l'agent exaltant de 100 gr. de testicle de brau ha estat aïllat en 0'4 gr. de la part purificada, constituint un material estable i amb un baixíssim contingut proteic. En el següent grup d'experiments s'ha fet una comparació entre l'acció de l'extracte fresc del testicle de brau i la del factor exaltant purificat.

Experiments. — Es feren cinc experiments utilitzant els mateixos mètodes descrits anteriorment, essent els

materials de prova l'extracte total i la fracció purificada de testicle de brau. En quatre experiments, el tumor de conill i la solució es mantenien en contacte durant una a dues hores a la temperatura de l'habitació abans de la inoculació als conills, i en el cinquè experiment, la inoculació es féu immediatament després de barrejar-los. Els resultats es resumeixen a la taula II.

TAULA II

Suspensió de cèl·lules tumorals, i a més:	N.º d'inoculacions	Creixement més gran que el control	El mateix creixement	Creixement més petit	No creixement
Extracte fresc de testicle de brau.	8	—	—	8	—
Fracció purificada.	36	—	2	20	14
Solució de Ringer (control).....	44	—	—	—	—

Comparant els resultats d'aquests experiments amb els que ens ensenya la taula I, es notarà que mentre l'extracte fresc de testicle de brau té una acció inhibidora definida sobre el tumor, no és del tot tan actiu com l'extracte de testicle de rata o de conill. La durada del contacte abans de la inoculació no sembla tenir importància. La fracció purificada dona sempre resultats més accentuats que l'extracte total. Encara que aquest fet no ho demostrí d'una manera absoluta, suggereix la idea que el factor de l'extracte testicular que és responsable de l'exaltament de virulències sigui també l'actiu en inhibir el creixement del tumor de conill.

Efecte de dilució sobre l'extracte testicular. — Per a poder determinar la força efectiva de l'extracte testicular, s'estudiaren les conseqüències de la dilució.

Es posaren en contacte, durant dues hores i mitja, cèl·lules tumorals amb l'extracte testicular concentrat

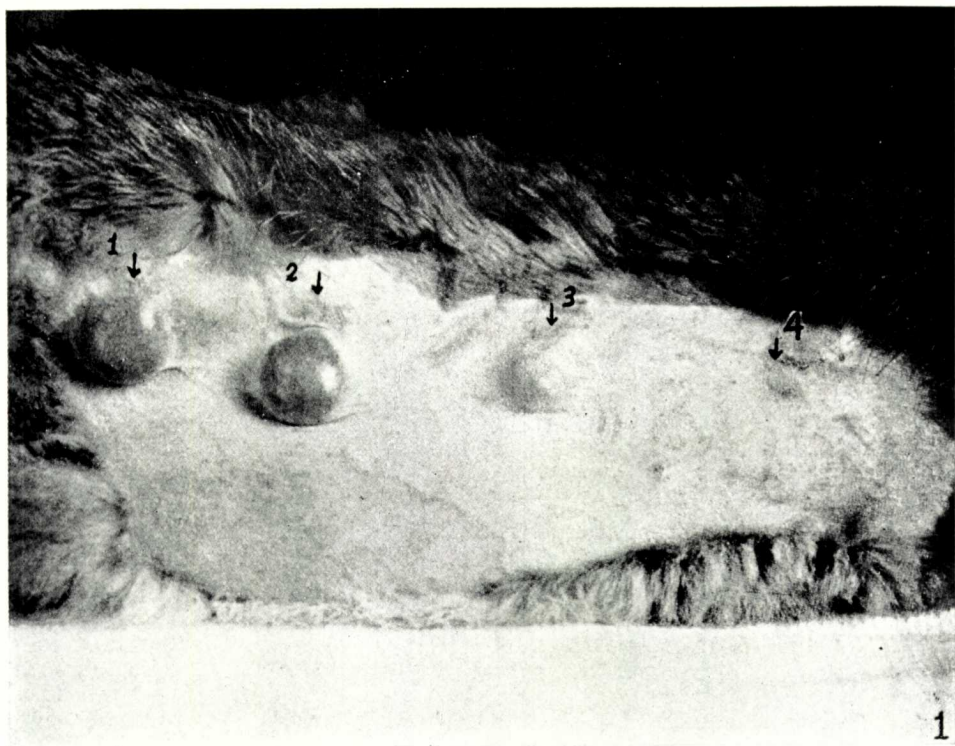


Fig. 1. — *Costat dret.* 1 i 2, tumors resultants de la inoculació intradèrmica de suspensió de cèl·lules neoplàsiques en solució de Ringer. 3 i 4, tumors resultants de la inoculació de cèl·lules neoplàsiques i extracte testicular.

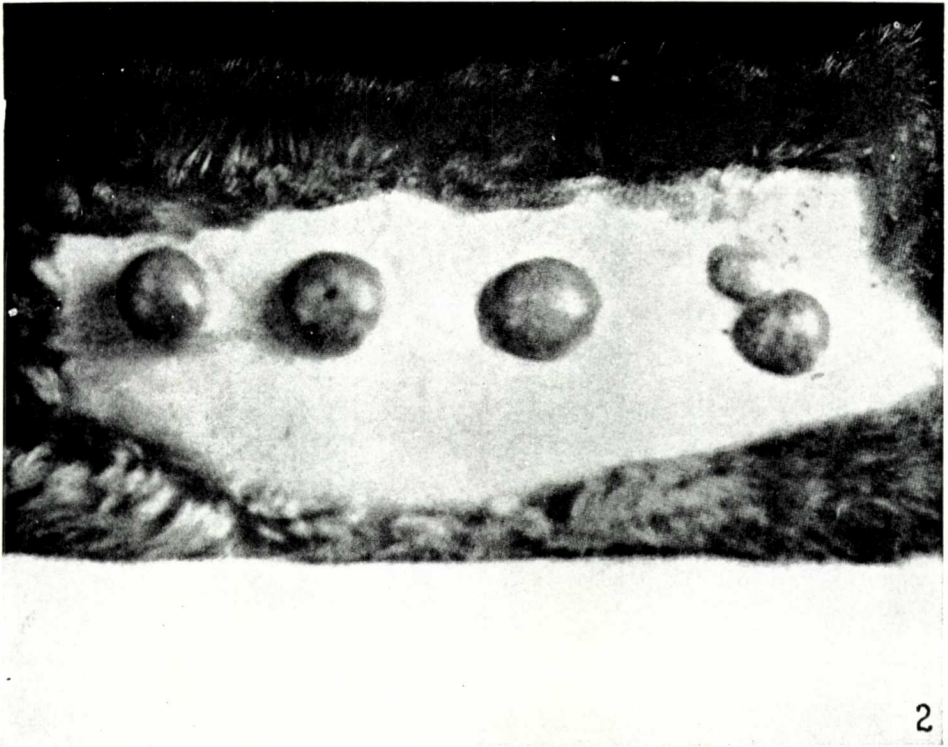


Fig. 2. — *Costat esquerre.* Tumors resultants de la inoculació en quatre llocs diferents de cèl·lules neoplàsiques, junt amb sèrum de conill.

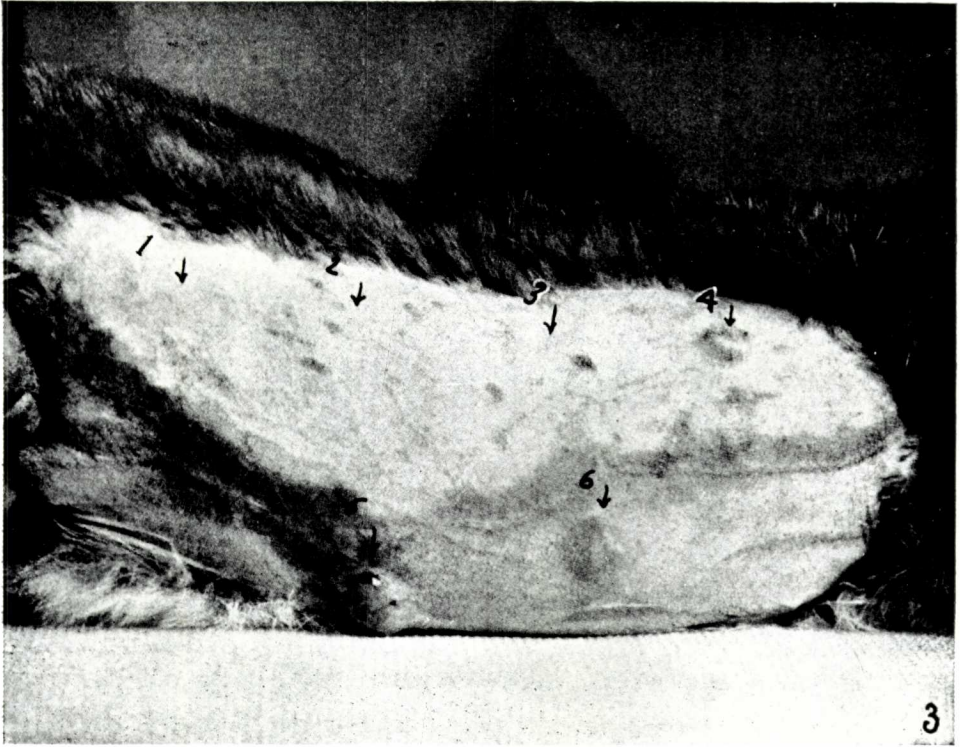


Fig. 3. — *Costat dret.* 1 i 2, resultats de la inoculació intradèrmica de suspensió de cèl·lules neoplàsiques, junt amb extracte de testicle de rata. 3 i 4, resultats de la inoculació de suspensió de cèl·lules neoplàsiques junt amb extracte de testicle de conill. 5 i 6, resultats de la inoculació de la suspensió de cèl·lules neoplàsiques, més solució de Ringer.

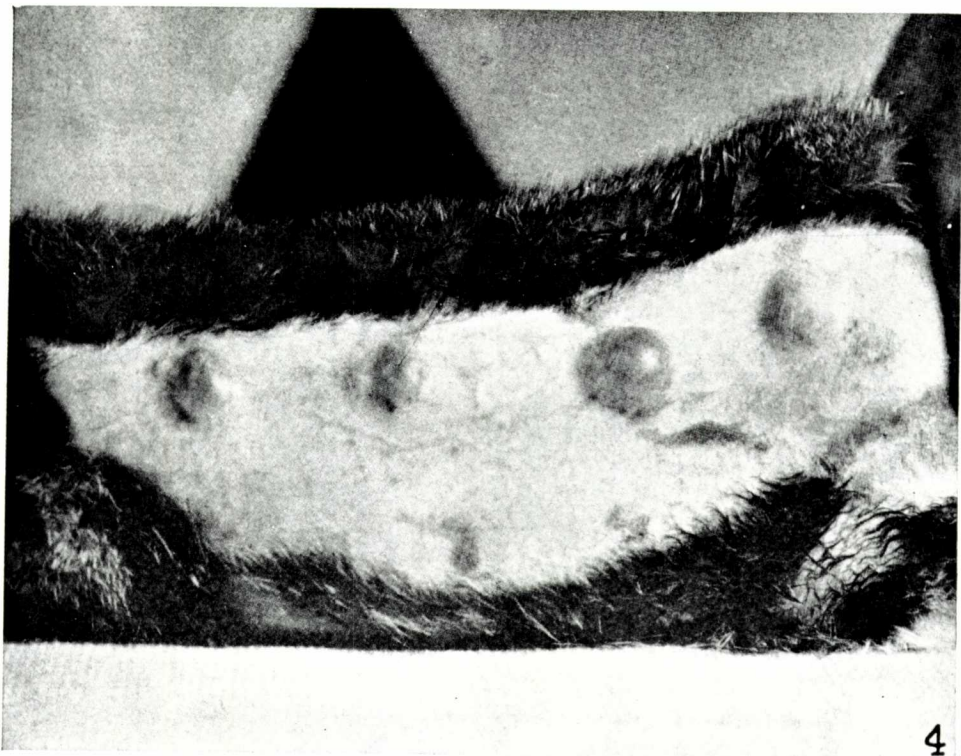


Fig. 4. — *Costat esquerre*. Resultats de la inoculació de suspensió de cèl·lules neoplàsiques, junt amb sèrum de conill, en quatre llocs diferents.

i amb l'extracte diluït a l'1 : 10, 1 : 100 i 1 : 1,000. A dilucions d'1 : 100 o més fortes, l'acció inhibidora ja no s'evidenciava. S'obtingueren els mateixos resultats en dos altres experiments, en els quals s'emprà extracte de testicle de brau. Els resultats d'un experiment típic es consignen a la taula III.

TAULA III

Cèl·lules tumorals més extracte de testicle de conill	Nombre de proves	Creixement més gran que el control	El mateix creixement	Creixement més petit	No creixement
No diluït.....	2	—	—	—	2
1 : 10.....	2	—	—	1	1
1 : 100.....	2	—	2	—	—
1 : 1000.....	3	—	3	—	—

En dos casos en els quals s'inoculà a la pell dels conills una barreja de cèl·lules tumorals i extracte testicular diluït, el tumor no regressà com gairebé sempre feia quan s'inoculava sol, sinó que continuà creixent i donà metàstesis amplament difoses. Això suggereix la possibilitat que l'extracte testicular pugui actuar com un estimulant.

DISCUSSIÓ

Els experiments que es consignen ací demostren que un factor existent en els extractes testiculars de conill, rata i brau interfereix fortament i àdhuc inhibeix el creixement d'un epitelioma transplantable del conill. Aquests fets contrasten fortament amb els de la influència dels components del mateix òrgan sobre les infeccions bacterianes o per virus. Si el factor que afecta el tumor inhibint-lo és el mateix que exalta les infeccions i augmenta l'àrea de difusió del material injectat, no s'ha

determinat d'una manera absoluta. Amb tot, el fet que el factor altament purificat de l'extracte de testicle de brau manifesta el poder de difusió i una influència inhidora sobre el tumor del conill, fa semblar probable que un mateix factor sigui responsable d'ambdues manifestacions. El que ha estat evidenciat fins ara suggereix que l'augment de permeabilitat tissular i probablement cel·lular, (6) causada per l'extracte testicular actiu, és el motiu bàsic del fenomen. La relació d'aquest factor a altres activitats de l'extracte testicular, l'estímul de la multiplicació de cèl·lules normals i malignes *in vitro* (7) i *in vivo* (8), ha estat encara establerta.

RESUM

L'extracte testicular de rata, conill o brau impedeix o endarrereix el creixement d'un tumor del conill quan s'inocula intradèrmicament una barreja de l'extracte i una suspensió de cèl·lules del tumor. Mescles similars, fetes amb sèrum normal de conill en lloc d'extracte testicular, donen lloc a tumors que creixen amb rapidesa inusitada. Els resultats són oposats als obtinguts amb bacteries patògenes o amb virus filtrables que són exaltats per l'extracte testicular i generalment inhibides pel sèrum normal.

*The Rockefeller Institute for Medical Research.
New York.*

BIBLIOGRAFIA

1. *Duran-Reynals, F.*, i *Murphy, J. B.*, *J. Exp. Med.*, L, 315; 1929.
2. *Duran-Reynals, F.*, *Compt. rend. Soc. Biol.*, xcix, 6; 1928. — *J. Exp. Med.*, L, 327; 1929.
3. *Duran-Reynals, F.*, i *Suñer-Pi, J.*, *Compt. rend. Soc. Biol.*, xcix, 1908; 1928. — *Hoffman, D. C.*, *J. Exp. Med.*, LIII, 43; 1931. — *Pijoan, M.*, *J. Exp. Med.*, LIII, 37; 1931. — *Olitsky, P. K.*; *Knutti, R. E.*, i *Tyler, J. R.*, *J. Exp. Med.*, LIII, 753; 1931.
4. *Hoffman, D. C.*, i *Duran-Reynals, F.*, *J. Exp. Med.*, LIII, 387; 1931. — *McClellan, D.*, *J. Path. and Bact.*, xxxiii, 1045; 1930.
5. *Brown, W. H.*, i *Pearce, L.*, *J. Exp. Med.*, xxxvii-49; 1923-1929.
6. *Favilli, G.*, *J. Exp. Med.*, LIV, 197; 1931.
7. *Zakrewski, Z.*, *Zeits. f. Krebsforsch.*, xxx, 106; 1929. — *Pybus, F. C.*, i *Fawns, H. T.*, *J. Path. and Bact.*, xxxiv, 39; 1931.
8. *Rho, F.*, *J. Trop. Med.*, xxxiii, 103; 1930.