

# Algunos aspectos de la química del cáncer

POR

GINES GUZMAN GIMENEZ (\*)

Y

M.<sup>ca</sup> DEL CARMEN BONMATI LIMORTE (\*\*)

## INTRODUCCION

Un aspecto sugestivo de la Química, es la forma en que, durante los últimos años, ha colaborado con otras Ciencias hermanas. Quizá sea en la lucha contra la enfermedad, en donde, con más afán y actividad, la Química se ha esforzado en ayudar a la Medicina, constituyendo hoy día la Quimioterapia un campo vastísimo, común a ambas Ciencias.

Pero, si se estudia íntimamente la Quimioterapia, se observa, que cada hecho resuelto tiene un historial largo. El químico, no sólo pretende lograr un remedio, sino que busca siempre las causas primeras y la explicación de los resultados observados, e intenta comparar aquellas, minuciosamente, reproducirlas y observar efectos; hasta que los hechos experimentales permiten una interpretación científica firme, los fenómenos no se consideran explicados. El químico, también es cierto, distrae, en ocasiones, su atención; del aspecto concreto que estudia, para hacer una incursión a hechos ajenos, que, piensa, podrían significar una ayuda eficaz para la resolución de sus problemas; muchas veces, esta incursión carece, aparentemente, de valor práctico, pero proporciona al científico un punto de apoyo provisional en la hipótesis que mantiene hasta que los hechos se encarguen, tal vez, de hacerle desistir de la misma o de permitirle enunciar una teoría con todos los honores.

(\*) Doctor en Ciencias Químicas y Colaborador Científico del C. S. I. C. en la Sección de Química Orgánica de Murcia.

(\*\*) Licenciada en Ciencias Químicas y Becaria del C. S. I. C. en la Sección de Química Orgánica de Murcia.



Dentro de la labor de Seminario, que, en la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de Murcia, se realiza sobre temas de actualidad, ha parecido de interés abordar una cuestión palpitante, como es la del cáncer, enfermedad que ha superado ya el aspecto exclusivamente clínico de la misma, para merecer la atención de investigadores de todos los órdenes: médicos, biólogos, físicos, químicos..., que colaboran en magnífica armonía científica en los grandes Institutos y Centros de Investigación sobre el Cáncer, que existen en casi todos los países.

Pero desgraciadamente, todavía no puede considerarse, que, los, sin duda alguna, magníficos estudios y esperanzadores adelantos en los conocimientos alrededor de este problema, hayan llegado a constituir un capítulo importante de la Quimioterapia. Por ahora, la investigación se encuentra más bien en la etapa de conocimiento íntimo del problema central y de las cuestiones anejas, consideradas antes extrañas al mismo, pero que en realidad, le atañen muy directamente. Hipótesis las hay numerosas; nosotros en este aspecto, nos limitaremos a explicar aquellas que nos parecen de mayor lógica y solidez en su fundamento.

*Sin menoscabo de aclarar brevemente algunos de los conceptos y términos generales que habrán de manejarse a lo largo de este trabajo, el tema se centrará en los tres aspectos químicos de la cuestión, que consideramos básicos:*

- a) *Causas químicas del cáncer.*
- b) *Efectos químicos del cáncer.*
- c) *Remedios químicos del cáncer.*

Aunque nos consta, que, para la mayoría de los lectores, será innecesario, e incluso tal vez inoportuno, nos permitiremos, antes de entrar de firme en el tema, hacer unas consideraciones generales previas, aun saliéndonos un poco del aspecto puramente químico del mismo, que es el que eminentemente nos proponemos tratar. Al mismo tiempo, estas consideraciones, pueden servir como justificación del enfoque que actualmente se da al estudio del problema del cáncer; aun considerando al mismo, desde un punto de vista exclusivamente biológico, los fenómenos de mutación y de rejuvenecimiento de células, que se dan para explicar los hechos, entrañan la posibilidad de una intervención de agentes externos (biocinéticos), que, de forma casi insensible, nos conducen a la hipótesis fisicoquímica de cancerización; igualmente, toda mutación, o rejuvenecimiento, implica readaptación de su metabolismo con las consiguientes variaciones químicas, así en los metabolitos como en los agentes que los condicionan. Y, lógico es pensar, que si una causa fisicoquímica puede

originar una mutación positiva, puede también lograrse una retrogradación por factores del mismo tipo, adentrándonos de esta manera en la tercera parte de nuestro tema. Esta nueva orientación biológica del problema ha hecho posible la iniciación de los numerosos trabajos que sobre causas, efectos y remedios, existen aislados en la bibliografía y que aquí hemos tratado de reunir, limitándonos, casi exclusivamente, al aspecto químico.

## I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cuando, en pleno siglo XIX, la etiología de las enfermedades parecía totalmente conquistada por las ideas pasteurianas de *germen y especificidad*, el cáncer permaneció inconquistable, ya que, con tales ideas imperantes, la orientación que se dió al problema fué la búsqueda de los gérmenes específicos de dicha enfermedad, con resultados, naturalmente, negativos; fué necesario para iniciarse un avance en firme, la aplicación, a la génesis del cáncer, de las ideas de la «*Patología celular*» de VIRCHOW, con la clásica fórmula (realmente tomada de LEYDIG), del *Omnis cellula e cellula*, por cuya virtud el problema del cáncer se concentraba en el problema de la célula cancerosa.

Todos sabemos hoy, que, *cáncer* es una palabra vulgar que designa ciertos tumores o proliferaciones celulares, neoplasias (nueva formación), que, a diferencia de los tumores inflamatorios (inflamaciones, abscesos, etc.), no muestran tendencia curativa o resolutive, se diferencian cualitativamente (no sólo cuantitativamente) de sus tejidos, muestran tendencia invasora, destructiva, y no resolución cicatricial como las inflamaciones. Con la palabra cáncer, o carcinoma, se quiere significar esa neoformación, independientemente del tejido a que afecta o de la localización del mismo. Para especificar estos últimos extremos (tejido o localización) existen términos, generalmente explícitos, muy diversos: *sarcoma* (tumor maligno de tejidos conjuntivos), *liposarcoma* (tumor maligno de tejido adiposo), *epitelioma* (tumor maligno de células epiteliales), *hepatoma* (epitelioma hepático), *osteoma* (tumor benigno de tejido óseo), *papiloma* (tumor benigno de revestimientos malpighianos), etc.

La definición que RAMÓN Y CAJAL dió de los tumores o neoplasias

(a diferencia de los hechos inflamatorios), en términos análogos a los de la definición de CORNIL y LUCKE, es, que *tumor es toda formación neoplásica con tendencia a persistir o crecer indefinidamente y que no desempeña ninguna actividad útil al organismo*; definición con excelencia de clásica (por antigua y por buena), que ya implica un criterio funcional o dinámico. Pero antes de esa tendencia a crecer e invadir, es obvio que, en una primera o primeras células, apareció el impulso vital inarmónico, disrítico, en relación a su lecho o colonia celular. Es, prácticamente, la misma noción que encierra esta otra definición, debida a BLANCO SOLER, según la cual el cáncer consiste en *una lesión irreversible que sufren una o varias células normales, no totalmente diferentes, que, mediante un proceso de malignización, adquieren propiedades extrañas a la armonía del huésped, convirtiéndose en células parásitas, con autonomía propia y desentendimiento absoluto del resto del organismo*. Expresando el mismo concepto encontramos la definición de cáncer, de BICHAT, como un *tejido accidental*. El citado VIRCHOW empleó, como luego veremos, para explicar el primer hecho local de la célula cancerosa su teoría de la *irritación*, término vago, aunque con ello, VIRCHOW ya consideraba la colaboración de agentes externos sobre el tejido orgánico; pero de todos modos, transcurrió todo el siglo XIX sólo con hechos de observación, sin poderse demostrar, experimentalmente, la producción del carcinoma por agentes externos, parasitarios, físicos, químicos,...

Sin embargo, se habían producido ya muchas observaciones de hechos, que luego sustentarían las comprobaciones experimentales. En 1775, el cirujano inglés POTT describió, por primera vez, un cáncer profesional, *el de los deshollinadores*, lesión que antes se consideraba de origen sifilítico y que POTT atribuyó al hollín que impregnaba la piel al rozar por las chimeneas estrechas. SÖMMERING, en 1795, observó el cáncer labial de los fumadores de pipa. Equivalente a la de POTT, en Inglaterra, es la observación de SHAMBERG, en Massachussets, comprobando la frecuencia del cáncer de labio en los pescadores que sujetaban con los dientes las agujas con que cosían las redes impregnadas de alquitrán. HUTCHINSON, en 1857, observa cánceres cutáneos, que relaciona con la administración de arsénico al interior; al arsénico (aunque también pudiera ser debido al cobalto, al bismuto o a radiaciones) se atribuyó el cáncer de pulmón en los trabajadores de las minas de Schneeberg (HARTUNG y HESSE, 1879). REHN, en 1895, encuentra cáncer vesical frecuente en obreros de fábricas de anilinas; lo hace resaltar anteriormente, VOLKMANN, en 1874, que lo observa en los obreros que manejan, en las fábricas de gas, los subproductos de la hulla, en particular las breas, y, más recientemente, ULLMANN, en 1926, en los trabajadores de refinerías de petróleos

y parafinas, y, SOUTHAM y WILSON, en 1922, lo describen, en los algodones, atribuyéndolo a los contactos prolongados con ciertos aceites lubricantes. Ya hace tiempo, que con fundamentos más o menos firmes, se relaciona el aumento estadístico de la enfermedad cancerosa con el uso del tabaco y de los alquitranes y asfaltos en calles, carreteras, industrias y otros usos públicos, aunque ROSTOSKY duda de que el cáncer, precisamente de pulmón, se deba a esas causas. En torno al papel del tabaco, entre muchas observaciones y discusiones dudosas, las observaciones más concluyentes parecen las de DOLL y HILL, publicadas en 1954 en el *British Medical Journal* como resultado de una encuesta dirigida a todos los médicos de la British Association, que arrojan nula mortalidad por cáncer de pulmón entre no fumadores y, entre los fumadores, una mortalidad que va desde 0,48 por 1.000 entre los consumidores de 1-14 gr de tabaco hasta el 1,14 por 1.000 entre los que fuman de 20 a 25 gr diarios.

En relación con agentes vivos, se señalaron varias bacterias y parásitos cuyo papel etiológico, como veremos, en su lugar, no es concluyente. En Egipto, en carcinomas simultáneos de vejiga y de colon, se encontraron diversos huevos y parásitos, pero el hallazgo es poco probatorio de ser causa primera y no hecho secundario. Más valor tienen los hallazgos de ASKANAZY, en 1900, sobre relaciones de carcinomas en conductos biliares con el parásito *Distomum felineum*.

Referente al papel de agentes físicos, por ejemplo respecto a la influencia del calor (en realidad, indirecta, ya que se trata de cicatrices de quemaduras o también de acción más o menos crónica del calor), se recuerda, entre los indígenas de Kashmir, la aparición de un tumor, en pared abdominal, atribuible a la costumbre de calentar el vientre con pequeños braseros de carbón de leña, y, entre los japoneses, que llevan, análogamente, un pequeño hornillo llamado «kairo», por lo que su carcinoma se llama «kairocáncer».

Observaciones clínicas sobre la facilidad de aparición de carcinomas en la cara de niños afectados por la enfermedad cutánea llamada *xeroderma pigmentosum* y en la cara de ancianos (es decir, las partes expuestas a la luz), con seborrea concreta o senil, hablan en favor del papel de las radiaciones actínicas, luminosas, o solares.

Respecto al enorme papel de las radiaciones Roentgen, alfa, etc., comenzaron a hablar elocuentemente las gloriosas manos de Madame CURIE con sus quemaduras por radium, y la legión de médicos, radiólogos y hombres de Laboratorio, que, entregados, de corazón, a sus trabajos, podríamos decir, con frase vulgar, pero descriptiva, que «se dejaron la piel» en una de las más excelsas empresas humanas.

*La observación de estos cánceres, a los que se asigna el nombre de*

*profesionales, da lugar a la investigación de las causas de dicha enfermedad, o etiología del cáncer, y al estudio experimental de la misma, el cual nos encauzará hacia el descubrimiento y examen de las sustancias cancerígenas, así como, hacia el estudio del fenómeno de la carcinogénesis en sí y la manera de combatirlo.*

## II

## ETIOLOGIA DEL CANCER

Antes de la era histológica o de la patología celular, desde Galeno, existían observaciones que atisbaban empíricamente la acción de las sustancias cancerígenas modernamente conocidas. Por ejemplo, en Galeno, encontramos la «bilis negra» como sustancia productora de cáncer y, justamente, hoy se sabe que uno de los agentes cancerígenos poderosos, el metil-colantreno, puede derivar de los ácidos biliares.

Desde la antigüedad se han sucedido diversas teorías sobre la etiología del cáncer que podemos colocar bajo los siguientes epígrafes:

A) Irritación.—B) Agentes vivos, entre los cuales se citan los siguientes: a) bacterias; b) protozoos; c) parásitos y d) virus filtrables.—C) Desplazamientos embrionarios.—D) Desviaciones de la actividad celular.—E) Mutación.—F) Herencia.—G) Agentes físicos y químicos. El último capítulo, dada la índole del tema, requerirá, de una manera especial, nuestra atención.

**A) Irritación**

Según VIRCHOW, los tumores estaban condicionados por una irritación; traumatismos, lesiones inflamatorias, eritemas solares, etc., que provocarían, primero un incremento de actividad nutritiva, y luego, una excitación formativa.

Estos fenómenos se han observado, en efecto, en las enfermedades precancerosas. Se registró la aparición de cáncer sobre ciertas mastitis crónicas (BILLROTH); sobre ciertas lesiones de la mucosa bucal que se llaman leucoplasia (EWING); sobre la enfermedad cutánea tuberculosa lla-





mada *lupus vulgar*; sobre un eczema especial llamado *eczema de Paget*, etc. Pero, está también comprobado, que, no todos los estados de irritación (inflamación crónica) terminan en cáncer.

## B) Agentes vivos

Ante todo, hagamos constar, que las modernas técnicas de laboratorio han reconocido como simples parasitaciones o colonizaciones secundarias, a ciertos agentes que se habían considerado como primarios. Veámoslos:

a) *Bacterias*.—El primero que consideró bacterias como agentes etiológicos del cáncer fué SCHEUSLEN, pero desvirtuaron dicha teoría, bacteriólogos de la talla de BAUMGARTEN, ROSENTHAL y PFEIFFER, y otros.

b) *Protozoos*.—La idea de los agentes esporozoarios (protozoos semejantes a los del paludismo, observados, ya en el núcleo, ya en el protoplasma, en las células del epiteloma) fué defendida por MALASSEZ, RUSSEL y otros, pero ninguno de los autores ha logrado las comprobaciones de inoculación, cultivo y reproducción de la neoplasia, y, por otra parte, el citado VIRCHOW, y más modernamente KLEBS, TOROCK, UNNA, TOMMASOLI y otros, han demostrado que bajo aquel título de zooparásitos, se describieron sólo alteraciones morfológicas celulares, extrañas a toda acción etiológica.

También queda como recuerdo de errores en la historia del cáncer, la consideración de que la propia célula cancerosa era un esporozoo, el *Coccidium sarkolytus*, de ADAMKIEWICZ.

Tampoco se ha confirmado el hallazgo anunciado por SAN FELICE RONCALI y otros, de una levadura, perteneciente a los blastomicetos.

BOREL, LOWENTHAL y otros, han encontrado espiroquetos. Indudablemente, se trata de un caso más de parasitación secundaria por dichos espiroquetos frecuentes en las mucosas de las cavidades naturales (boca, nariz, etc.).

c) *Parásitos superiores*.—Menos rigor experimental y menos comprobación clínica se logró con respecto a parásitos superiores (metazoos), tales como *tricoides* (LOEWESTEIN), *distomas*, en el sarcoma de las ratas (RHODENBURG, CURTIS y otros) y el *Spiroptella neoplásica*, de FIBIGER, en el carcinoma espontáneo del estómago de ratas.

d) *Virus filtrables*.—Hoy está vigente en Medicina la etiología vírica para muchas lesiones neoplásicas benignas, como verrugas y papilomas, y, respecto á neoplasias malignas, pueden citarse los trabajos de ROUX (1909), en Estados Unidos, con el sarcoma de las gallinas, que demostró ser transmisible mediante el jugo filtrado por una bujía Berkefeld n.º 5 y por otros medios que cumplen las condiciones etiológicas de

los virus filtrables; dicho sarcoma fué conseguido casi simultáneamente por FUJINAMI e INAMOTO (Japón) y las propiedades del virus fueron confirmadas, posteriormente, por MURPHY y colaboradores. En 1933, SHOPPE encontró un papiloma de piel, espontáneo en los conejos, transmisible a otros individuos de la especie, silvestres o domésticos, también mediante filtrados de una bujía Berkefeld.

Junto a estos hechos es mucho mayor el número de fracasos para el hallazgo histológico del virus, aun por los modernos supermicroscopios, o por el método de inoculaciones, teniéndose actualmente la sensación por todos los clínicos y químicos experimentales, incluso por los más decididos defensores de la etiología virásica, de que es necesaria la colaboración de otros factores coadyuvantes o desencadenantes. Los trabajos de ROUX, sobre el alquitranado, pueden considerarse como la iniciación de un método de trabajo justificativo de una actividad desencadenante. También se ha observado la acción desencadenante de la luz en ciertas lesiones llamadas precancerosas. Actualmente existe una tendencia que considera a los virus como microsomas patológicos, que cuando se incorporan al sistema nucleoprotéido, del protoplasma de las células, son capaces de provocar el cáncer (1). No obstante, no faltan autores, como WARBURG (2) que consideran errónea la identificación de virus y microsomas o mitocondrias, por lo que el caso anterior se debe, más que nada, a analogías de constitución.

### C) Desplazamientos embrionarios

CONHEIM cree que la neoplasia depende de la evolución tardía de gérmenes embrionarios, yacentes en los tejidos. Pero es sabido, que la célula embrionaria, inicialmente tan activa, se multiplica cada vez más lentamente para constituir los tejidos normales, mientras que la cancerosa lo hace, de una manera indefinida, como embrionaria permanente. RIBBER sustenta una teoría análoga cuando habla de dislocación de una o varias células de su alineación primitiva y que luego evolucionan anárquicamente. Pero una y otra teoría no explican totalmente, sin la colaboración de otras sustancias u otros hechos, el despertar o el desplazamiento celular.

### D) Desviaciones de la actividad celular

La producción de tumores malignos la atribuyen SCHLEICH, HANSENMANN, SHULAZ, KLEBS y otros, a cambios ocurridos en el progreso de la

(1) MARTÍNEZ PÉREZ, R., *Arch. Fac. Medic. Zaragoza*, IV, 1, 25 (1956).

(2) WARBURG, O., *Triángulo*, II, 6, 205 (1956).

mitosis, o a conjugaciones análogas a las realizadas por las células sexuales.

Para KLEBS, la génesis del carcinoma se basa en un fenómeno de copulación análogo al que se da en el óvulo. En una célula epitelial cualquiera, penetraría accidentalmente un leucocito, cuyo núcleo se juntaría con el de aquella, engendrándose así una especie de óvulo fecundado dotado de gran tendencia proliferativa; sin freno nervioso que las contenga, las células epiteliales, del tumor, invadirían los tejidos mesodérmicos y segregarían sustancias venenosas, productoras de la caquexia y de la muerte. Se aprecia, pues, cierta relación o analogía entre las células cancerosas y las embrionarias.

Según HANSENMAN, al estudiar la mitosis del carcinoma, se observa, a menudo, que la división es desigual, produciéndose una célula grande y otra pequeña. Esta última sería un corpúsculo que se eliminaría antes de la conjugación aludida anteriormente; eliminación que, según este autor, desdiferenciaría las células convirtiéndolas en elementos independientes, o como opina WEISSMANN, perdiendo su carácter de célula de tejido y pasando a ser elemento indiferente.

Para FABRE-DOMERGUE, los tumores epiteliales tienen como causa inmediata una desviación o desorientación del plano de partición de sus células.

### E) Mutación

La teoría de la mutación fué emitida por MURRAY y STRONG, y desarrollada por BAUET, basándose en experimentos de transplante y de herencia. Se basa en la conservación de las diferencias características de las células cancerosas a través de innumerables pasos, en animales, e *in vitro*, lo que demuestra que ha debido producirse una modificación de los genes, determinando la mutación. Pero, aunque, efectivamente, ciertas acciones, por ejemplo, las radiaciones, que puedan ser cancerígenas, dan lugar a mutaciones, no hay por qué identificar los fenómenos de mutación y de cancerización. Además, esta hipótesis no explica, por ahora, la intimidad del proceso.

### F) Herencia

La teoría de la herencia en la etiología de los tumores es admitida por muchos autores, refiriéndose casos de cáncer en varios individuos de una misma familia (muy conocido es, por ejemplo, el caso de la de Napoleón). Algunos investigadores han comprobado antecedentes cancerosos en los antepasados y parientes de enfermos de esta clase. Otros, por el contrario,

los encuentran en proporción muy escasa, resultando por lo tanto muy dudosa la influencia hereditaria. En el campo experimental, la investigadora SLYE ha examinado la herencia, en los tumores espontáneos de ratones, durante 15 años, llegando a la conclusión de que en su aparición se cumplen las leyes de la herencia mendeliana, transmitiéndose con carácter recesivo; muchos investigadores sin embargo, no aceptan del todo esta afirmación. Otros opinan, que en general, no es el cáncer lo que se transmite hereditariamente, sino un *factor cáncer*, el cual no se exterioriza fatalmente, sino en ciertas condiciones, y así, en el *xeroderma pigmentosum* lo que se transmite hereditariamente es una sensibilidad aumentada de la piel a la luz, por lo que si un individuo portador de este factor pasase su vida protegido de la luz, no adquiriría la enfermedad.

### **C) Agentes físicos y químicos**

En su acción cancerígena se caracterizan por su efecto diferido (*persistencia*), queriendo significar con ésto que después de la causa hay un período de latencia de días, meses, etc., al cabo del cual aparecen las lesiones; así por ejemplo, las ocasionadas por una aplicación Roentgen (*radiodermatitis*) se manifiestan al cabo de tiempo por una proliferación epitelial neoplásica.

Entre los agentes físicos considerados como causa de cancerización, citaremos las radiaciones en general, tanto las emitidas por sustancias radioactivas, como las radiaciones electromagnéticas en su gama completa de longitudes de onda, desde los rayos X y ultravioletas hasta los infrarrojos o térmicos. La acción biológica de estas radiaciones disminuye gradualmente a medida que aumenta la longitud de onda.

Entre los agentes químicos cancerígenos, que son en los que, realmente, más nos detendremos (el haber asociado a ellos los físicos se debe a las analogías de acción que existen entre ambos), los hay de naturaleza inorgánica y orgánica, y, sobre ellos ya hablaremos detalladamente, aunque no en forma exhaustiva, en un nuevo capítulo, que, dado el carácter del tema, será uno de los más importantes del mismo.

No es de nuestro gusto, sin embargo, terminar este rápido recorrido a través de las distintas teorías sobre las causas o etiología del cáncer, sin señalar alguna de ellas como clara, firme e irrefutable, de manera que nos explicara el hecho, para permitirnos después actuar en consecuencia. Desgraciadamente, ésto no parece posible por el momento. La causa final, que debe ser única, puesto que el fenómeno se manifiesta siempre igual y con idénticos caracteres, nos es desconocida, y todos estos factores, anteriormente enumerados, se consideran, generalmente, como factores secundarios o coadyuvantes de dicha causa principal, o también, como

causas indirectas. No obstante WARBURG (3), como resumen y conclusión de sus interesantes estudios sobre la respiración de la célula cancerosa, sobre los que luego insistiremos, sugiere, como causa única y común a todos los cánceres, lo que él llama «*el deterioro irreversible de la respiración*».

Como etapa fundamental en toda investigación etiológica para la confirmación de la hipótesis sugerida, debe poder reproducirse el fenómeno a explicar por métodos experimentales. En el caso del cáncer, se ha avanzado mucho en cuanto a las técnicas de provocación de tumores por agentes preconcebidos, siendo numerosos los tipos de cáncer catalogados en la bibliografía y variadas las técnicas de producción, como tendremos ocasión de describir en el capítulo siguiente.

---

(3) WARBURG, O., *Triángulo*, II, 6, 207 (1956).

### III

#### CANCER EXPERIMENTAL

Muchos de los autores que habían expuesto hipótesis sobre la génesis del cáncer, trataron de obtener una comprobación experimental de las mismas, produciendo tumores en los animales, por distintos procedimientos de acuerdo con la naturaleza de sus hipótesis.

##### **A) Cáncer por injerto**

Para que el injerto de un tumor espontáneo pueda ser efectivo son necesarias tres condiciones: 1.<sup>a</sup>, las células injertadas han de ser células vivas; 2.<sup>a</sup>, el injerto ha de hacerse sobre animales de la misma especie; la célula cancerosa humana, por ejemplo, cultivada sobre un medio de conejo, conserva todas sus cualidades específicas, utilizando las proteínas del animal para construir proteínas humanas: transplantadas éstas al organismo del conejo, son reconocidas inmediatamente como extrañas y rápidamente destruidas. La 3.<sup>a</sup> condición expresa la necesidad de adaptar progresivamente el tejido neoplásico a las condiciones del injerto.

##### **B) Cáncer por irradiación**

Las experiencias con cáncer injertado, no tuvieron el resultado apetecido, pues no siempre aparecía el tumor. Para avanzar era necesario encontrar métodos que permitieran producir, en el animal, cáncer a voluntad, y así, los esfuerzos de los investigadores se dirigieron a conseguir provocarlo por todas las causas imaginadas en las diversas teorías etioló-

gicas conocidas. La primera serie de cáncer experimental provocado voluntariamente, se logró con los rayos X, y los primeros resultados fueron obtenidos por CLUNET que irradió ratas hasta la aparición de úlceras cuya curación impidió con nuevas irradiaciones; los animales presentaron sarcomas.

### C) Cáncer por sustancias químicas

Finalmente, entramos ya en el gran capítulo de la producción experimental de cáncer por sustancias químicas.

En 1906, produjo FISHER una neoplasia con caracteres histológicos de epiteloma, por inyección subcutánea de una disolución saturada de *rojo escarlata*, en aceite de oliva, pero el crecimiento del tumor cesaba cuando se absorbía el aceite. HAYWARD demostró, después, que la parte activa del rojo escarlata era el aminozotolueno, y, posteriormente, se han estudiado varios azobencenos y azonaftalenos.

En 1915, YAMAGIWA e ICHIKAWA produjeron un epiteloma, en la oreja de conejo, mediante repetición de pinceladas de *alquitrán* por espacio de dos meses a un año. Anteriormente se habían efectuado experiencias sin éxito, debido, indudablemente, a la poca constancia, puesto que es sabido que se necesita una dosis mínima de aplicación de las sustancias cancerígenas para que aparezca el tumor; a partir de esta dosis, el tumor sigue su desarrollo normal, como tal tumor, independientemente de que se aplique mayor cantidad de cancerígeno o no. No se gana nada en eficacia, pincelando con mayor frecuencia durante menos tiempo de uno determinado. Disminuyendo el número de aplicaciones, el porcentaje de tumores obtenidos se reduce y el tiempo de latencia aumenta. Estas peculiaridades de acción recuerdan grandemente a las de los rayos X y sustancias radioactivas, con los que también tiene lugar un *efecto acumulativo*. A título de curiosidad, diremos que, el ratón necesita 1 gr de *amarillo de manteca*, para que aparezca en él un hepatoma (DRUCKREY y KUPFMÜLLER), y que el hombre necesita aspirar 1 mg de *benzopireno*, para que se le produzca cáncer bronquial. Es decir, que estas cantidades son, en general, pequeñísimas, habiendo encontrado SHEAR (1938), DOBROWOLSKAIA-ZAVADSKAIA (1938), ROUSSY y GUERIN (1942), en algunas experiencias, que eran del orden de la gamma, o milésima de milígramo. O sea, que podemos comparar la actividad de ciertos compuestos cancerígenos con la de las hormonas, y, en particular, con la de las hormonas sexuales. Es por esta acción acumulativa, por lo que se necesita también un cierto tiempo, para que aparezca el cáncer, tiempo, que llamamos, de *latencia*.

Esta semejanza, en el efecto acumulativo de las radiaciones y de los

cancerígenos químicos, aparece en un grado elevado, cuando consideramos la acción fotosensibilizadora de estos últimos. En efecto, concentraciones apropiadas, no tóxicas o no cancerígenas, de los compuestos 3-4-benzopireno, 2-acetamidofluoreno, p-dimetil-aminoazobenceno, cloriformo, tetracloruro de carbono, estrona, dietil-estilbestrol, ácido metil arsónico, cacodilato sódico, ácido dietil arsónico, ácido dialilarsónico, clorhidrato del ácido etilaminopropil arsónico, ácido 2-hidroxi 4-amino-fenil-arsónico, clorhidrato del ácido ciclohexilamino propilarsónico, mostaza nitrogenada, uretano y Verde Luz F. S., ocasionan la muerte de células del *Paramecium bursaria*, cuando se irradian con luz ultravioleta filtrada, lo cual es una nueva prueba, del paralelismo entre la actividad cancerígena y la fotosensibilizadora (4). Es como si, lo que le falta al cancerígeno químico para la dosis mínima necesaria, lo supliera la actividad de la radiación. Se trata de un efecto *acumulativo mixto*.

Siguiendo el estudio del cáncer provocado experimentalmente con sustancias químicas, nos encontramos que, en 1918, TSUTUI, discípulo de YAMAGIWA, y en 1921, FIBIGER y BANG, extendieron las experimentaciones a diversas especies animales, con resultados igualmente positivos.

Se había comprobado que el alquitrán era un agente cancerígeno, como se había supuesto. Pero los alquitranes son sustancias extremadamente complejas, formadas por multitud de sustancias químicas, especies puras, por lo que la confirmación del poder cancerígeno, del alquitrán, llevó a los investigadores a buscar cuál sería la sustancia o las sustancias, responsables, de la acción cancerígena, tarea nada fácil, pero en la que se consiguieron resultados concluyentes.

Ya, antes de la era de las experimentaciones con alquitrán, ROSS y CROOPER, después de una serie de análisis, atribuyeron la propiedad que nos ocupa a los hidrocarburos cíclicos del grupo del antraceno, principalmente.

Después del descubrimiento del método experimental, los trabajos de BLOCH (1921-1926) y otros, destilando alquitrán a temperaturas distintas, y ensayando, cada fracción obtenida, sobre la piel de ratón, demostraron, que, efectivamente, las propiedades cancerígenas estaban ligadas a determinadas fracciones (que eran las de punto de ebullición más alto), y que la sustancia activa debía ser soluble en benceno y corresponder a un hidrocarburo cíclico de peso molecular muy elevado. Pero los hidrocarburos que cumplen estas condiciones son numerosísimos, había que precisar más.

Ante el lento avance, que permitían estos métodos, se hizo cargo del problema KENNAWAY, que emprendió su estudio por medio de ensayos

(4) CALCUTT, G., *Brit. J. Cancer*, 8, 177 (1954). [C. A. 48, 11630g (1954)].



con «alquitranes», sintetizados, a partir de sustancias químicas de constitución conocida; así, obtiene por pirólisis de *isopireno* en atmósfera de hidrógeno, alquitranes que resultan ser de un fuerte poder cancerígeno, y además, observó que cuanto más alta había sido la temperatura de obtención, dicho poder era mayor, llegándose a la suposición de que el responsable debía ser un derivado del acetileno. En realidad, estos alquitranes son todavía demasiado complejos.

Como se comprende, el método de comprobación del poder cancerígeno por ensayos sobre ratones, etc., era muy lento; por ésto, significó un gran avance en el campo de las experimentaciones que nos ocupan, el descubrimiento de MAYNEORD (1927), colaborador de KENNAWAY, de que las fracciones de alquitrán que aparecen como cancerígenas, y también las «mezclas de KENNAWAY», mostraban un espectro de fluorescencia con tres bandas muy características en la región del violeta (4000 Å, 4180 Å y 4400 Å), lo cual nos orienta hacia hidrocarburos, cuyo esqueleto carbonado deriva del antraceno. De esta manera, se sustituyó, con gran éxito y no menos ventajas, la prueba biológica por el examen espectrográfico. El primer hidrocarburo catalogado como activo fué el *1-2-5-6-dibenzantraceno*, aunque se mostró mucho más cancerígeno el *3-4-benzopireno*, que fué el primero que se aisló del alquitrán de hulla, lo cual no quiere decir, como muchos creían, que sea el único compuesto activo, de los alquitranes que poseen propiedades cancerígenas, puesto que, como veremos, existen otros que, además, tienen características, de acción, distintas a las de este compuesto. En efecto, BERENBLUM (5) y Miss SCHOENTAL (6), en 1945 y 1947, respectivamente, demostraron, que, fracciones en las que el análisis espectral no revelaba la más mínima traza de 3-4-benzopireno, se mostraban muy activas en los ensayos sobre el conejo y ratón, encontrando también, que una de las fracciones cuya actividad era considerable sobre el conejo, era inactiva frente al ratón. Esto constituye, pues, un indicio de *especificidad de acción cancerígena*.

El aislamiento del 3-4-benzopireno se llevó a cabo, en 1933, por COOK, HEWETT y HIEGER, a partir de las fracciones de brea, que destilaban entre los 500° y 510° C, por extracción con distintos disolventes y precipitación del hidrocarburo al estado de picrato. El mismo año, se realizó también la síntesis de dicho hidrocarburo.

*Por la índole del tema que nos ocupa, se comprende, que, para nosotros, sólo tenga interés el cáncer experimental producido por agentes químicos, y por ello el capítulo siguiente será dedicado a las técnicas utilizadas en su consecución.*

(5) BERENBLUM, I., *Cancer Research*, 5, 265 (1945).

(6) BERENBLUM, I. y MISS SCHOENTAL, R., *Brit. J. Cancer*, 1, 157 (1947).

## IV

TECNICAS UTILIZADAS EN LA PRODUCCION DE CANCER  
EXPERIMENTAL POR AGENTES QUIMICOS

Puesto que, en el estudio de las sustancias químicas cancerígenas, se va a hacer alusión, frecuentemente, a las técnicas de ensayos de cancerización, relacionadas con cada una de ellas, creemos oportuno exponer, aunque brevemente, aquellas técnicas que han servido para el descubrimiento y para la comprobación o negación de las propiedades cancerígenas en dichas sustancias. Siguiendo a TRUHAUT (\*) pueden resumirse así:

**1) Pinceladas o aplicaciones repetidas sobre la piel**

Se verifica con soluciones de las sustancias cancerígenas, en una concentración alrededor del 1%; como disolvente, se suele utilizar, casi siempre, el benceno y la acetona, disolventes orgánicos típicos, y, como lugar de aplicación, en el animal de experiencia, que preferentemente es el ratón, se elige, de ordinario, la nuca, pincelándose 2 ó 3 veces por semana; los tumores que se obtienen, son *epiteliomas*. En la rata y gallina, por ejemplo, esta técnica sólo da resultados tardíos, y, en el cobayo, nada más se obtienen hiperplasias al nivel de folículos vellosos, o reacciones benignas, del tipo *papiloma*; esta especie de resistencia, o inmunidad, de la piel del cobayo, ha sido puesta de manifiesto por OBERLING y

(\*) TRUHAUT, R., *Biol. Med.* 38, 35 (1949).

colaboradores (1935-1938) y por SHEAR (1938), entre otros; CHEVALLIER, DENOIX y MANUEL (1946) (7) han interpretado dicha resistencia, como debida a una transformación más rápida de las moléculas cancerígenas, al contacto con la grasa del cobayo, lo que daría lugar a una eliminación más rápida también.

Esta técnica constituye el procedimiento empleado en los primeros ensayos de cáncer experimental.

## 2) Inyecciones subcutáneas o intramusculares

Provocan la aparición de tumores del tejido conjuntivo (*sarcomas*). Generalmente, se inyecta el compuesto disuelto en diferentes sustancias grasas (manteca de cerdo, aceite de oliva, de sésamo, etc.) en una concentración próxima a 1<sup>o</sup>/<sub>100</sub>. La elección de estos disolventes, viene determinada por el hecho de que, los compuestos cancerígenos, son, generalmente, solubles en los lípidos y en otros disolventes orgánicos típicos, mientras que no lo son en agua. SHIMKIN y ANDERSON (1940) y, después, LEITER y SHEAR (1943) (8), recomiendan, como disolvente de lípidos, un glicérido puro: la tricaprilina, o triglicérido correspondiente al ácido caprílico.

## 3) Inyecciones intravenosas

Puesto que las disoluciones en lípidos, no se pueden inyectar por vía intravenosa, se utilizan, generalmente, en esta técnica, soluciones acuosas coloidales (9); pero así resulta difícil obtener una concentración mayor del 1<sup>o</sup>/<sub>100</sub> y es por esto por lo que se ha intentado la preparación de compuestos cancerígenos hidrosolubles.

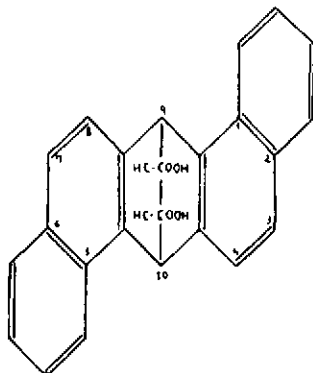
En este sentido, Cook ensayó las sales alcalinas solubles de los ácidos 1-2-5-6-dibenzantraceno carboxílicos o sulfónicos, pero, no mostrando estos compuestos actividad alguna, preparó el ácido 1-2-5-6-dibenzantra-

(7) CHEVALLIER, A., MANUEL, S. y DENOIX, P., *Arch. intern. physiol.*, 54, 144 (1946), [C. A., 41, 811 g (1947)]; Idem., *Compt. rend. Acad. Sciences*, 222, 824 (1946).

(8) LEITER, J. y SHEAR, M. J., *J. Natl. Cancer. Inst.*, 3, 455 (1943). [C. A. 37, 6736<sup>a</sup> (1943)].

(9) TRUHAUT, R., *Les facteurs chimiques de cancérisation. Le problème des substances cancérogènes* Société d'édition d'Enseignement Supérieur, París, 1947.

ceno 9-10-endo- $\alpha$ - $\beta$ -succínico (I), por condensación del anillo antracénico con el anhídrico maleico; la sal sódica de dicho ácido, que es soluble en agua, resultó cancerígena frente al ratón.



(I)

WINTERSTEIN y VETTER primero, y FIESER y sus colaboradores después, han ensayado las combinaciones de hidrocarburos policíclicos cancerígenos, en especial del 3-4-benzopireno y del metil colantreno, con el ácido desoxílico, cuyas sales alcalinas son solubles en agua, pero no ha sido posible llegar a ningún resultado, puesto que, debido a dicho ácido desoxicólico, estas sustancias presentan propiedades hemolíticas que impiden llevar a cabo el ensayo.

Más arriba, dimos una razón que ya justificaba, en parte, el interés por encontrar compuestos cancerígenos hidrosolubles; pero existe otra razón, mucho más interesante, que surge al comprobar que ciertos disolventes de lípidos pueden manifestar, en determinadas condiciones, un débil poder cancerígeno, incluso en inyecciones no intravenosas. Esto último, quedó demostrado por los experimentos de BARRY y COOK (1934), que inyectaron manteca de cerdo en los animales de experiencia, y también por los de BURROWS, HIEGER y KENNAWAY (1936), que ensayaron diferentes lípidos (manteca de cerdo, aceite de oliva, etc.) por medio de inyecciones subcutáneas e intraperitoneales, en el ratón y en la rata. Como resultado, sobre 248 ratones, no obtuvieron ningún tumor, pero, sobre 217 ratas, obtuvieron 12 sarcomas. DOMACK (1939) ha conseguido algunos sarcomas, inyectando con frecuencia, aceite de oliva a ratones por vía intramuscular. Según MUELLER y KLINE (1943), los aceites de origen vegetal favorecen la cancerización, mientras que muchos lípidos de origen animal la retardan. Sin embargo, TRUHAUT hace notar, que en sus experiencias con aceite de oliva, neutralizado y esterilizado, no ha obser-

vado nada más que un caso de tumor maligno sobre varios centenares de ratones tratados.

Esta técnica ha sido utilizada también por OBERLING y colegas sobre la gallina.

#### **4) Inyecciones o inserciones intraviscerales**

Las inyecciones en el peritoneo, en la pleura y en la mayoría de las vísceras, producen, en general, sarcomas. Al nivel del riñón y de la próstata, se han obtenido epitelomas malpighianos.

La inserción de cristales de hidrocarburos cancerígenos en el bazo, da lugar, según FURTH, a leucemias.

#### **5) Inserción de cristales bajo la piel**

Esta técnica, utilizada para otras sustancias con fines terapéuticos, ha sido aplicada en el sentido contrario, principalmente por SHEAR, utilizando hidrocarburos cancerígenos, bien en disolución sólida en colesterol (al 1, 0,1, 0,01, 0,001 %) o bien formando aglutinados con glicerina.

#### **6) Inyecciones intra-traqueales**

Constituyen una técnica, que ha sido utilizada por OBERLING y colaboradores, pensando obtener con ella, tumores de pulmón, pero el resultado real ha sido la formación de sarcomas peritraqueales.

#### **7) Administración por vía bucal**

De esta técnica se hace uso, principalmente, en el ensayo de los compuestos azoicos; para los hidrocarburos, sólo en casos muy raros, da resultados positivos, lo que pone de relieve que existe una especial resistencia de la mucosa estomacal para la cancerización (OBERLING y cols.).

## V

INTRODUCCION AL ESTUDIO DE LAS SUSTANCIAS  
CANCERIGENAS

Así como la Medicina actual, en sus aspectos clínico e histológico, ha definido bien la morfología (macro y microscópica) de los diversos tumores malignos, queda aún por precisar el aspecto etiológico de los mismos. La experimentación etiológica actual se orienta hacia un grupo importantísimo de sustancias químicas, genéricamente llamadas cancerígenas, que van a ser objeto de nuestra atención en el capítulo inmediato.

Es un hecho, de todos conocido, que el crecimiento y multiplicación de las células, desde las que pertenecen a los organismos más inferiores hasta las de los mejor organizados, están influidos por una serie de factores ambientales, que, en el sentido más íntimo, pueden ser agentes físicos o químicos, en inmediato contacto con tales células por medio generalmente, de los flúidos que las bañan (sangre, linfa, savia, etc.). Muchos de estos factores, sobre todo los químicos, pueden ser de actuación normal, como es el caso de las sustancias, que, con el nombre de hormonas, enzimas, etc., estimulan la actividad celular, interviniendo en los procesos vitales; en otros casos, tales sustancias son aportadas del exterior, pudiendo provocar un efecto, ya beneficioso, ya perjudicial, en lo que a estímulo de crecimiento de tejidos se refiere.

Desde un punto de vista general, considerando en conjunto todas las sustancias activas (en cuanto que son capaces de modificar el crecimiento celular), cabría hacer varias clasificaciones.

Una de ellas, podría basarse en el origen de tales sustancias, clasificándolas en *exógenas* y *endógenas*. Las exógenas se introducen en el organismo, ya sea como aportación normal de las dietas alimenticias o por



suministro extraordinario para suplir deficiencias, reales o imaginadas. Muchas de estas sustancias exógenas, sobre todo las introducidas con carácter extraordinario, a veces queriendo suplir una deficiencia de la dieta, restablecer un equilibrio funcional, o producir un mejoramiento en propiedades organolépticas de alimentos, pueden provocar anomalías en algunas de las actividades vitales, y, como anomalía particular cabe considerar la de un estímulo, que afecte al crecimiento celular, con visos de degenerativo, y que, insensiblemente, conduciría a algún tipo de cáncer.

Las endógenas son productos de la actividad vital, normal o anormal, del organismo, surtiendo sus efectos sobre el propio ser que las produce. De éstas las hay, unas de síntesis total en el organismo, como es el caso de las de naturaleza hormonal, caracterizadas, como se sabe, por ser de producción localizada y de actuación en puntos más o menos distantes a su origen; otras, como las que constituyen los sistemas enzimáticos, actúan en el lugar de origen, sin que ello quiera decir, que su actividad no pueda influirse por alteraciones existentes, ya sea en el lugar de actuación, ya a bastante distancia del mismo. Este último hecho es una consecuencia de la concatenación general de actividades.

Muchas veces, factores externos, en apariencia inocuos, son culpables de una actividad anormal en cuanto a la producción de alguna de las segregaciones endógenas, y, entonces, aparecen éstas, como si fuesen responsables directas de la anomalía observada. No obstante, estas consideraciones, hechas en términos demasiado generales, serán especificadas, aclaradas y discutidas, en lo posible, en los lugares correspondientes a cada punto particular.

Otra clasificación de las sustancias activas podría hacerse atendiendo al estímulo fundamental que ocasionan, y así, podrían dividirse en dos grandes grupos: sustancias *biocinéticas* y sustancias *biostáticas*, según que faciliten o entorpezcan, respectivamente, la actividad celular. Dentro de las biocinéticas, cabrían igualmente tantas clasificaciones como pretendamos, de acuerdo con la minuciosidad de examen de su actuación. Según esto, podrían incluirse como biocinéticas todas las sustancias agrupadas bajo los nombres de *hormonas*, *vitaminas* y *fermentos*, más toda una serie de sustancias descubiertas, con carácter más o menos específico, tales como *biotinas*, *meso-inosita*, *ergosterina*, *factores de crecimiento embrionario*..., que, en último término, siempre pueden ser incluidas en alguno de los tres grandes grupos fundamentales que acabamos de citar. No obstante, dada la peculiaridad de su acción biocinética, cabría hacer un grupo especial, con todo el conjunto de sustancias que intervienen en crecimientos o multiplicaciones degenerativas, bajo el nom-

bre de «*cancerígenos*», aunque no puede ocultarse que siempre sería posible también asimilar tales sustancias a alguno de los grupos anteriores.

En el grupo de las biostáticas, menos numeroso y más heterogéneo que el anterior, podrían citarse los *factores de inhibición de crecimiento embrionario*, el grupo de los *antibióticos*, *venenos mitóticos*, etc.

Por la naturaleza del tema en desarrollo, serán los *cancerígenos* y *venenos mitóticos* los que ocuparán nuestra atención de manera preferente.

Cabe todavía una nueva subdivisión de todos los grupos, atendiendo a la estructura de las especies químicas que los integran; en este trabajo sólo se desarrollarán con detalle, bajo tal aspecto, los dos grupos susodichos de cancerígenos y venenos mitóticos (estos últimos en su concepto restringido de *cancericidas*), procurando además aunar esta clasificación, en lo que se pueda, con la primeramente expuesta, que distinguía entre sustancias de naturaleza exógena y endógena.



## VI

### SUSTANCIAS CANCERIGENAS DE NATURALEZA EXOGENA

Las sustancias químicas cancerígenas, conocidas en la actualidad, son numerosísimas. Nosotros, aquí, revisaremos, brevemente, las de naturaleza inorgánica y nos detendremos, de una manera especial, en el estudio de los compuestos orgánicos, por parecernos éstos de mayor interés, entre otras cosas, porque el conocimiento de sus estructuras ha hecho posible la elaboración de teorías (que la mayoría de las veces no pasan de ser hipótesis), sobre el mecanismo de acción de las sustancias portadoras de actividad cancerígena. Además, este tipo de compuestos, es, con mucho, el más nutrido de las sustancias que presentan dicha actividad.

#### COMPUESTOS INORGÁNICOS CANCERÍGENOS

Su estudio está circunscrito a casos aislados, aunque ello no es obstáculo que impida agruparlos de la siguiente forma:

##### 1.º *Derivados del arsénico*

Según LACASSAGNE (10), «el arsénico ha sido la primera sustancia química pura, identificada como poseedora del curioso poder de hacer aparecer la degeneración maligna de ciertas células del organismo». Los trabajos de numerosos investigadores (POZZI, HUTCHINSON, RAPOSO, HUE-

(10) LACASSAGNE, A., Les cancers produits par des substances chimiques exogènes. *Actualités scientifiques et industrielles*, Hermann et Cie, París, 1946.

PER, SCHINZ, UEHLINGER, y otros) demuestran, que, los derivados minerales del arsénico, especialmente el anhídrido arsenioso, los arsenitos y el ácido arsenioso, pueden provocar la cancerización de la epidermis.

El citado LACASSAGNE y sus colaboradores han encontrado también una débil actividad cancerígena en la *10-cloro 6-9-dimetil 5-10-dihidro 3-4-benzo fenarsazina*, compuesto orgánico con un átomo de arsénico intranuclear, estando, actualmente, en estudio, la posible actividad cancerígena de diversas fenarsazinas sintetizadas (11).

### 2.<sup>o</sup>) Sales de cinc

En 1925, fué observada por primera vez, por MICHALOVSKY, la actividad cancerígena del cloruro de cinc, inyectado, en solución acuosa, en el testículo de un pollo, actividad que confirmaron, posteriormente, otros investigadores, como LIVRAGE, GAGG, etc., y que se ha encontrado también en el sulfato de cinc, habiendo obtenido FALIN y GROMZAWA, en 1939, tumores de estructura análoga a la de los descritos por MICHALOVSKY, por medio de inyecciones intratesticulares. La actividad cancerígena de estas sales se atribuye al catión.

### 3.<sup>o</sup>) Polvos metálicos

Entre éstos, se suelen citar los de Cr, Co, etc., incluyendo algunos autores, en este grupo, al arsénico, es decir, que coincide el grupo con lo que SCHINZ y UEHLINGER (1942) llaman «Métallkrebs»; con ellos se ha conseguido la formación de sarcomas en conejos. En otros casos, se atribuye esta propiedad a combinaciones volátiles del tipo metal-carbonilo, cuya inhalación prolongada se ha considerado capaz de producir cáncer de pulmón. Posteriormente, se han señalado también como cancerígenos, los polvos de derivados del Be, y así, POLICARD (12) refiere concretamente la acción del polvo de hidróxido de berilio. Otro elemento metálico, portador de tal propiedad, es el Ni, que, finamente dividido, produce cancerización en los tejidos de ratones en contacto con él (13).

## COMPUESTOS ORGÁNICOS CANCERÍGENOS

El estudio de estos compuestos tuvo sus comienzos en los experimentos con alquitrán, que ya referimos al iniciar esta cuestión en el estudio de la etiología del cáncer.

(11) BIRU-HOÏ, N. P., JACQUINON, P. y LAVIT, D., *J. Chem. Soc.*, 2593 (1956).

(12) POLICARD, *Comp. rend. Acad. Sciences*, 226, 1778 (1948).

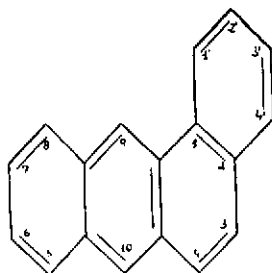
(13) HUEPER, W. C., *Repts. Biol. Med.*, 10, 167 (1952).

Los compuestos cancerígenos de carácter orgánico, podemos clasificarlos en distintos grupos, los cuales integran dos más amplios, que son los siguientes:

- A.—Compuestos orgánicos cancerígenos no nitrogenados.
- B.—Compuestos orgánicos cancerígenos nitrogenados.

### A.—Compuestos orgánicos cancerígenos no nitrogenados

De acuerdo con su estructura, los dividiremos en dos subgrupos, según que se puedan considerar derivados del *1-2-benzantraceno* (II), o no. Dicho compuesto, cuya fórmula y numeración es la siguiente:



(II)

tiene en sí un poder cancerígeno nulo o casi nulo, pero presenta una gran importancia por el hecho de encontrarse su esqueleto carbonado en un gran número de compuestos muy cancerígenos, y además, porque a él se deben las tres rayas características del espectro de fluorescencia de los alquitranes y aceites minerales, que permitieron los primeros descubrimientos de hidrocarburos cancerígenos.

Así pues, dentro del grupo A, podemos considerar los subgrupos siguientes:

- 1.º Compuestos orgánicos cancerígenos no nitrogenados, relacionados con el 1-2-benzantraceno.
- 2.º—Compuestos orgánicos cancerígenos no nitrogenados, que no derivan del 1-2-benzantraceno.

A su vez, entre los primeros, se encuentran:

- a) Hidrocarburos pentacíclicos, formados por acoplamiento de un nuevo anillo, hexagonal o pentagonal, sobre la estructura anterior.
- b) Hidrocarburos tetracíclicos, que resultan de la introducción de radicales alifáticos sobre la misma estructura fundamental.

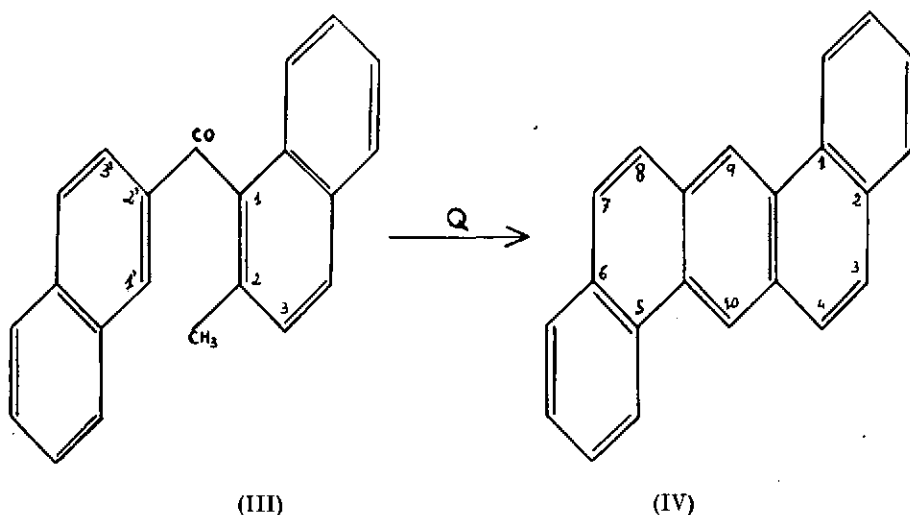
1.º *Compuestos orgánicos cancerígenos no nitrogenados relacionados con el 1-2-benzantraceno*

a) *Hidrocarburos pentacíclicos*

Pertenecen a este grupo hidrocarburos muy activos, tales como el 1-2-5-6-dibenzantraceno, el 3-4-benzopireno y el colantreno y metilcolantreno.

El 1-2-5-6-dibenzantraceno (IV) es, como ya dijimos, el primer hidrocarburo policíclico en que se observó actividad cancerígena (KENNAWAY y HIEGER, 1930).

Este hidrocarburo fué descrito, en 1929, por CLAR, el cual creyó que se trataba del 1-2-7-8-dibenzantraceno, siendo COOK, en 1931, el que estableció su verdadera estructura. CLAR lo obtuvo por pirólisis de la 2-metil 1-2-dinaftil-cetona (III), es decir, por una reacción del tipo de la de ELBS:



Según se observa, este compuesto resulta de la adición, en 5-6, de un núcleo bencénico a la molécula del 1-2-benzantraceno.

El metabolismo del 1-2-5-6-dibenzantraceno se ha podido estudiar marcando dicho compuesto con  $C^{14}$ , habiéndose identificado, en los excrementos de ratón, el anhídrido 5-hidroxi 1-2-naftálico como producto de degradación (14).

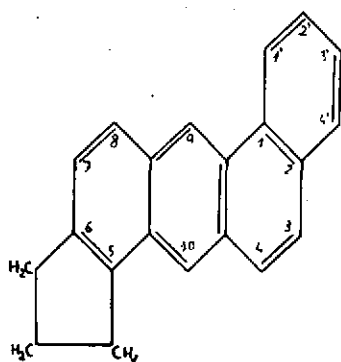
En el estudio de todos estos hidrocarburos, se ha comprobado, que tiene una importancia extraordinaria el lugar de adición o acoplamiento

(14) HEIDELBERGER, C. y WEIST, W. G., *Cancer Research*, 10, 223 (1950).

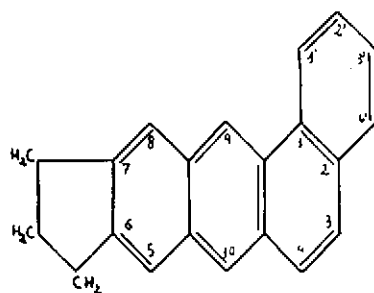
to, de un nuevo ciclo, sobre la estructura que hemos tomado como fundamental, pues, según la posición, la actividad cancerígena del compuesto resultante, queda incrementada o disminuída, de tal manera que, por ejemplo, en el caso aquí considerado, si en vez de estar el nuevo ciclo en la posición 5-6, estuviera en la 7-8, el hidrocarburo con esta estructura presentaría un débil poder cancerígeno, que llegaría a anularse cuando dicho ciclo se encontrara en la posición 3-4.

Esto nos demuestra, una vez más, la íntima relación existente entre la estructura química de una sustancia y su actividad biológica o fisiológica, relación, que, más adelante, veremos explicada, por la configuración electrónica de estos compuestos.

El mismo fenómeno tiene lugar si se trata del acoplamiento, en el 1-2-benzantraceno, de un anillo pentagonal en vez de hexagonal; así, el 5-6-ciclopentano 1-2-benzantraceno (V) es mucho más cancerígeno que el 6-7-ciclopentano 1-2-benzantraceno (VI). Deducimos, pues, de ésto, que las posiciones 5-6 del 1-2-benzantraceno son posiciones favorables a la cancerización.



(V)



(VI)

Por modificaciones sobre esta estructura obtenemos, por ejemplo, el 1-2-5-6-dibenzofluoreno (VII), que resulta del intercambio del anillo hexagonal central con el pentagonal. El hidrocarburo que obtenemos de esta manera, conserva cierto poder cancerígeno, así como el 1-2-3-4 y el 1-2-7-8-dibenzofluoreno, que también lo conservan, según demuestran BADGER, COOK, KENNAWAY, MARTIN y otros (1942) (15); sin embargo, el 3-4-5-6-dibenzofluoreno aparece desprovisto de actividad.

Fijándonos, por lo tanto, en la estructura fluoreno, se encuentran como posiciones favorables para las propiedades cancerígenas, la 1-2,

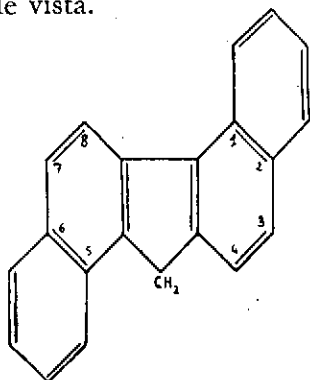
(15) BADGER, M., COOK, J. W., HEWETT, C. L., KENNAWAY, E. L., KENNAWAY, N. M. y MARTIN, R. H., *Proc. Roy. Soc., (Londres)*, B 131, 170 (1942) [C. A. 37, 1764 (1943)].

puesto que, cuando no aparecen sustituidas, es decir, cuando el anillo adicional no se encuentra unido al resto por medio de ellas (caso del 3-4-5-6-dibenzofluoreno), el compuesto es inactivo; las 5-6 y 3-4 deben ser indiferentes, y así, cuando en el hidrocarburo, a la vez que una de ellas, sea la que sea, está interesada la posición 1-2, la sustancia resultante es activa, mientras que si no aparece sustituida la 1-2, tampoco aparece actividad cancerígena en el compuesto, que es lo que ocurre en el caso ya citado en el que las posiciones de acoplamiento de los dos anillos adicionales son, precisamente, las 3-4 y 5-6 a la vez.

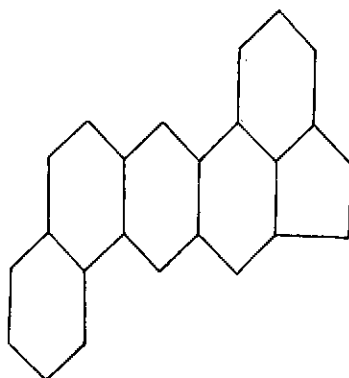
También se ha estudiado el efecto de la sustitución de uno o de los dos carbonos *meso* (9 y 10) del dibenzantraceno, por uno o por dos átomos de N, respectivamente. En el primer caso obtendríamos las dibenzacridinas, cancerígenas; en el segundo, las dibenzofenazinas, no cancerígenas. Sobre esto volveremos cuando hablemos de las sustancias cancerígenas nitrogenadas.

Se intentó acrecentar la actividad cancerígena del 1-2-5-6-dibenzantraceno por sustituciones sobre posiciones adecuadas, sin conseguirse; por el contrario, tenemos, que el 3'-*metil* 1-2-5-6-dibenzantraceno, por ejemplo, es menos cancerígeno que el hidrocarburo sin sustituir. Independientemente de esto, se observa, que, también el cambio de estructura por desplazamiento, introducción o supresión de un radical, influye en el poder cancerígeno de un hidrocarburo.

En cuanto al aumento de complejidad molecular, puede decirse, que, aunque no está en razón directa con el poder cancerígeno, tampoco lo está en razón inversa, no encontrándose, pues, relacionados, al menos a simple vista.



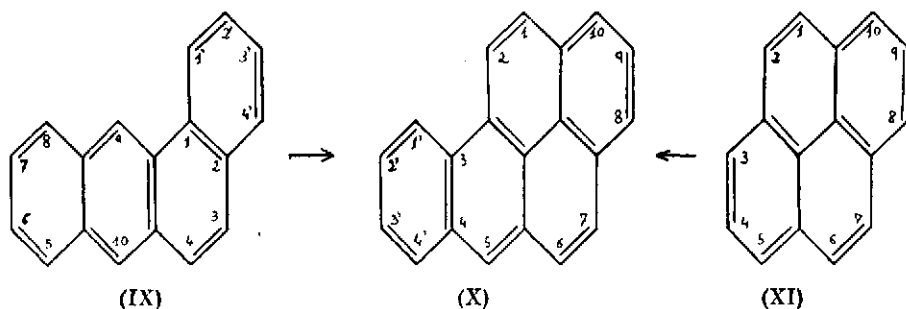
(VII)



(VIII)

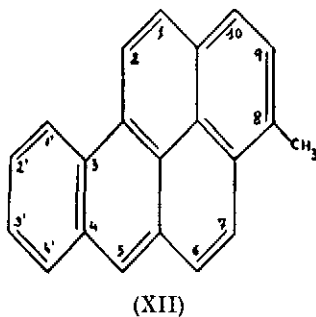
Cook preparó derivados del 1-2-5-6-dibenzantraceno por acoplamiento de uno, dos o tres ciclos, y de estos derivados, todos los que se han ensayado, salvo el *fenantracenafteno* (VIII), han resultado inactivos.

Otro hidrocarburo cancerígeno pentacíclico es el *3-4-benzopireno* (X), que, como dijimos, es el único hidrocarburo activo aislado del alquitrán de hulla, encontrándose también, según han demostrado COOPER, LINDSEY y WALLER, en el humo del tabaco. Es un hidrocarburo muy activo, siendo su poder cancerígeno casi dos veces superior al del 1-2-5-6-dibenzantraceno. Puede considerarse, como los anteriores, derivado de la estructura 1-2-benzantraceno (IX), por acoplamiento, en este caso de un anillo hexagonal en 1'-9, o también, como derivado del pireno (XI) con el nuevo anillo en 3-4:



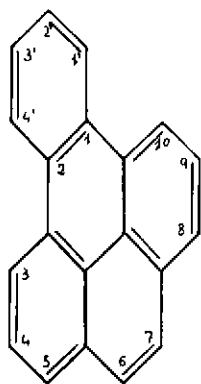
Comparando, pues, entre sí, las actividades cancerígenas y las estructuras de los compuestos *3-4-benzopireno* y *1-2-5-6-dibenzantraceno* (IV), podemos decir, que el acoplamiento en 1'-9 es más activo, desde el punto de vista cancerígeno, que el 5-6, lo cual parece quitar solidez a la conclusión sacada antes respecto a la máxima actividad de estas posiciones del antraceno; sin embargo, según BARRY, COOK, HASLEWOOD, HEWETT, HIEGER y KENNAWAY (1935), esto se debe a que el compuesto último está constituido por un sistema de ciclos aromáticos, mucho más condensado que el de los otros derivados del 1-2-benzantraceno.

Entre los derivados del *3-4-benzopireno* encontramos uno con una actividad, al menos igual a la del *3-4-benzopireno* mismo: el *8-metil 3-4-benzopireno* (XII) (16).

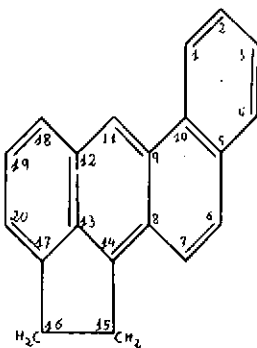


(16) CAMERON, J. M. C., COOK, J. W. y SCHOENTAL, R., *J. Chem. Soc.*, 257 (1952).

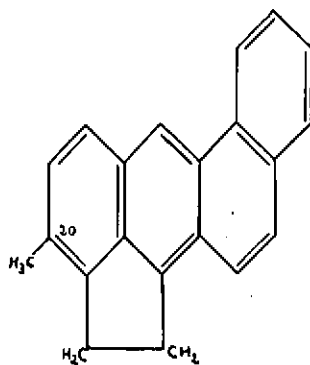
El compuesto *1-2-benzopireno* (XIII), aislado de la brea por COOK, HEWETT y HIEGER, junto con el *3-4-benzopireno*, y sintetizado después por los mismos investigadores, no muestra acción cancerígena, fenómeno de cambio de actividad paralelo al cambio de estructura, a que ya nos referimos anteriormente.



(XIII)



(XIV)



(XV)

El *colantreno* (XIV) y el *metilcolantreno* (20-metilcolantreno) (XV), hidrocarburos pentacíclicos, en los que uno de los anillos es pentagonal, tienen una actividad cancerígena mayor aún que la del *3-4-benzopireno*. Ambos compuestos derivan también de la estructura *1-2-benzantraceno*, por acoplamiento de un anillo pentagonal. Su numeración es la adoptada para los esteroides.

Cook, en 1933, predijo, por simple examen de su fórmula, que el metilcolantreno sería, probablemente, una sustancia cancerígena, lo que comprobó inmediatamente, junto con HASLEWOOD (1934). Dicho compuesto se manifestó como una sustancia muy activa, obteniendo un caso de cáncer cutáneo, en el ratón, después de pincharlo, con ella, durante 75 días. Por otro lado, BACHMANN, COOK, DANSI, DE WORMS, HASLEWOOD, HEWETT y ROBINSON (1937), consiguieron, mediante dicho compuesto, vencer la resistencia de la epidermis de la rata frente a otros cancerígenos químicos, obteniendo dos casos de epiteloma sobre 22 animales ensayados, después de 461 y 657 días, respectivamente. El tratamiento con este compuesto, induce también fibrosarcomas en ratones (17).

El colantreno posee casi el mismo poder cancerígeno que el metilco-

(17) FLEMING, R., WALTERS, C. L., y WILLIAMS, J. L., *Acta Unio Intern. contra Cancrum*, 7, 456 (1951) [C. A. 48, 8935, (1954)].

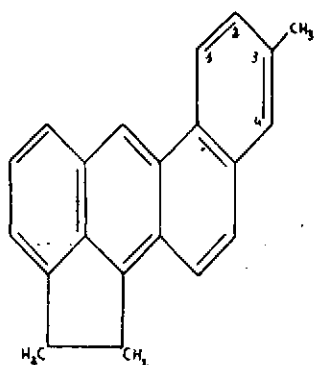


lantreno por lo que, el radical  $\text{CH}_3$  añadido sobre el primero, parece ejercer un efecto muy débil sobre la actividad cancerígena.

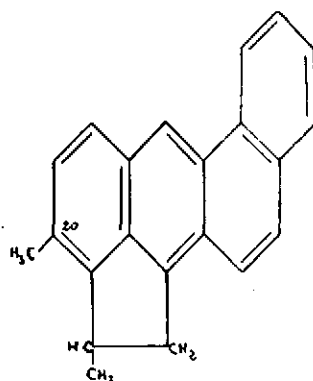
Tiene interés el estudio de estos dos compuestos por su íntima relación, como estudiaremos en otro capítulo, con constituyentes importantes del organismo animal. Así, encontramos, que el metilcolantreno puede obtenerse de cada uno de los ácidos principales que existen en la bilis (ácido cólico y desoxicólico), y también, según algunos autores, a partir del colesterol (ROSSNER) (18).

Podríamos citar, aquí, otro ejemplo de la influencia del cambio de posición de los radicales, en la molécula del compuesto, cuyas propiedades cancerígenas se estudian, influencia que, en el caso que vamos a exponer, no sólo tiene el sentido de anular, aumentar o disminuir la actividad cancerígena, sino que hace que el compuesto se comporte como anticancerígeno. Este es el caso del *3-metil colantreno* (XVI), inhibidor del cáncer hepático inducido por el 3'-metil 4-dimetilamino-azobenceno en ratas alimentadas con este compuesto.

Introduciendo, en el ciclo pentagonal del metilcolantreno, un segundo sustituyente, se atenúa la actividad cancerígena, y así, el *16-20-dimetil colantreno* (XVII) es tres veces menos cancerígeno que el 20-metil colantreno.



(XVI)



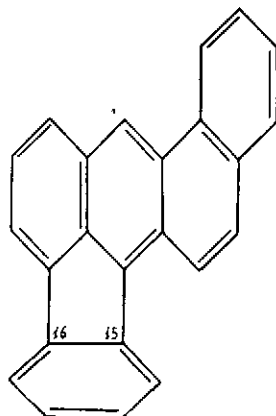
(XVII)

Si en el ciclo pentagonal del metilcolantreno existe condensado uno hexagonal, el poder cancerígeno del compuesto disminuye considerablemente. Este es el caso del *15-16-benzodeshidrocolantreno* (XVIII), que, prácticamente, está desprovisto de actividad cancerígena.

Si esta estructura la comparamos con la 1-2-5-6-dibenzantraceno, ob-

(18) ROSSNER, W., *Zschr. Phys. Chem.*, 243, 267 (1937).

servamos, de nuevo, el efecto negativo, del aumento de complejidad molecular, sobre la actividad cancerígena.



(XVIII)

Para terminar con los hidrocarburos pentacíclicos, queremos hacer notar un hecho interesante, que se refiere a la desaparición completa de la actividad cancerígena, en el metilcolantreno y en el colantreno por efecto de la hidrogenación de dichos compuestos. De esta manera, el *hexahidrometilcolantreno*, el *dodecahidrocolantreno* y el *deshidronorcoleno*, este último, producto intermedio en la obtención del metilcolantreno a partir del ácido desoxicólico, aparecen inactivos. Lo mismo ocurre con el *tetrahidrobenzopireno*, producto de hidrogenación del benzopireno, que ya vimos poseía actividad cancerígena.

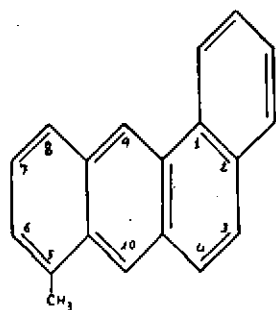
La introducción de grupos polares, tales como OH, OCH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, etc., ejerce en general, un efecto desfavorable sobre el poder cancerígeno de un compuesto. Así, el *5-hidroxi 3-4-benzopireno*, el *3 ó el 6-ciano 20-metil colantreno* y sus isólogos clorados, son inactivos.

#### b) *Hidrocarburos tetracíclicos*

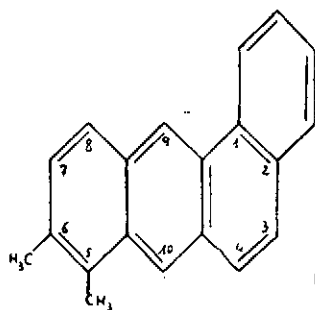
Vamos a considerar, ahora, los hidrocarburos cancerígenos tetracíclicos, que son, como dijimos, los que derivan del 1-2-benzantraceno por sustitución de hidrógenos, en distintas posiciones, por radicales alquílicos.

Cook y sus colaboradores, han preparado numerosos derivados de este tipo, poniendo de manifiesto el efecto, particularmente favorable, de la sustitución en las posiciones 5 y 6 del benzantraceno, sobre todo en la primera, hasta el punto de que muchos derivados de este hidrocarburo, con sustituyentes en otras posiciones, distintas de las anteriores, se han mostrado inactivos.

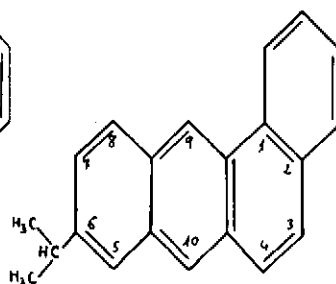
Todos estos hidrocarburos, son siempre menos cancerígenos que los colantrenos y que el 3-4-benzopireno, e incluso, algo menos también, que el 1-2-5-6-dibenzantraceno. Entre ellos, tenemos como más activos, el 5-metil-1-2-benzantraceno (XIX), el 5-6-dimetil-1-2-benzantraceno (XX) y el 6-isopropil-1-2-benzantraceno (XXI).



(XIX)



(XX)



(XXI)

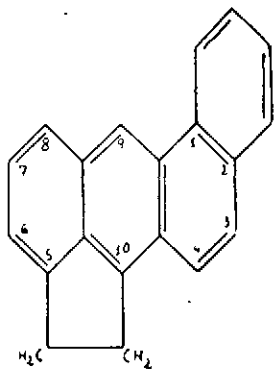
En la serie 5-alcohol 1-2-benzantraceno, los compuestos con más de tres átomos de carbono en la cadena lateral, presentan cierta actividad cancerígena sobre la epidermis; sin embargo, no se ha conseguido la formación de sarcomas por inyección de los mismos, como han demostrado BADGER, COOK, HEWETT, KENNAWAY, MARTIN y ROBINSON (1940) (19). Esto no es más que un ejemplo de un fenómeno que ocurre con bastante frecuencia, es decir, que existen sustancias, cuya actividad cancerígena es distinta, según que se mida por ensayo sobre la epidermis (pinceladas o embadurnamiento) o sobre el tejido conjuntivo (inyecciones subcutáneas).

FIESER y FIESER, HERSHBERG, NEWMAN, SELIGMAN y SHEAR (1937), estudiando la influencia de las distintas posiciones de sustitución en el 1-2-benzantraceno, demostraron, a la vez que la escuela inglesa de Cook, que las posiciones 9 y 10, ó posiciones *meso*, eran todavía más favorables para la actividad del derivado obtenido, que la 5 y la 6. Estos investigadores prepararon los cuatro isómeros conocidos del derivado etilén 1-2-benzantraceno, y encontraron que los tres, en los que hay sustitución en una posición *meso*, son cancerígenos; éstos son, el 5-10-etilén 1-2-benzantraceno (Colantreno) (XXII), el 8-9-etilén 1-2-benzantraceno (XXIII) y por último, el 4-10-etilén 1-2-benzantraceno (XXIV).

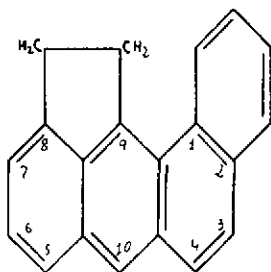
Por el contrario, el 3-4-etilén 1-2-benzantraceno (XXV), que no tiene sustituida ninguna posición *meso* (C 9 ó 10), es inactivo.

(19) BADGER, M., COOK, J. W., HEWETT, C. L., KENNAWAY, E. L., KENNAWAY, N. M., MARTIN, R. H. y ROBINSON, A. M., *Proc. Roy Soc. (Londres)*, B 129, 430 (1940) [C. A. 35, 2963 (1941)].

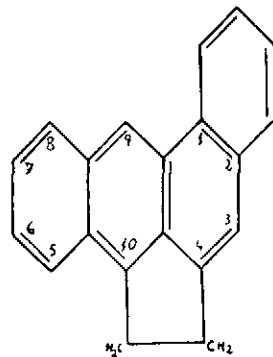
FIESER y sus colaboradores prepararon entonces el *9-metil 1-2-benzantraceno* (XXVI) y, ensayándolo sobre la piel de ratón, encontraron que su actividad era análoga a la del *5-metil 1-2-benzantraceno* (XXVII).



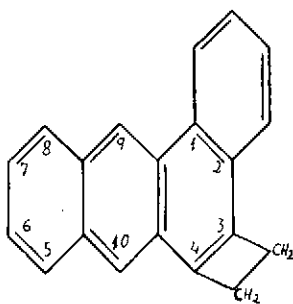
(XXII)



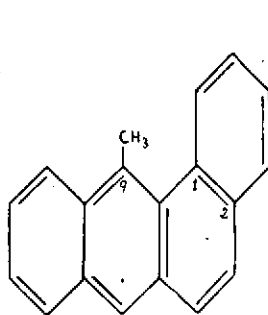
(XXIII)



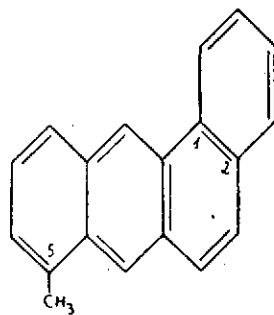
(XXIV)



(XXV)

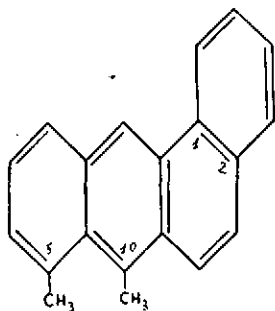


(XXVI)

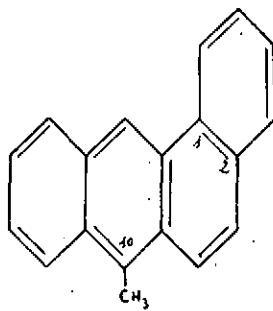


(XXVII)

Después se sintetizaron el *5-10-dimetil 1-2-benzantraceno* (XXVIII) y el *10-metil 1-2-benzantraceno* (XXIX), que se mostraron tan cancerígenos como los *colantrenos*.



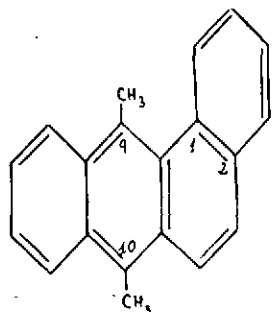
(XXVIII)



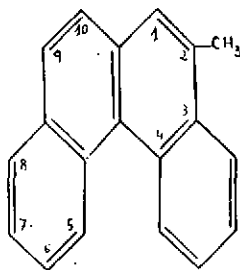
(XXIX)

BACHMANN y CHEMERDA (1938) (20) prepararon el 9-10-dimetil 1-2-benzantraceno (ó 1-4-dimetil 2-3-benzofenantreno) (XXX), el 1-2-dimetil 1-2-benzantraceno, el 5-9-dimetil 1-2-benzantraceno y el 5-9-10-trimetil 1-2-benzantraceno, que fueron ensayados sobre el ratón por BACHMANN, KENNAWAY y KENNAWAY (1938), comprobándose que eran dos veces más activos, como cancerígenos, que el metilcolantreno, puesto que se observaron algunos tumores al cabo de sólo 35 días después del ensayo.

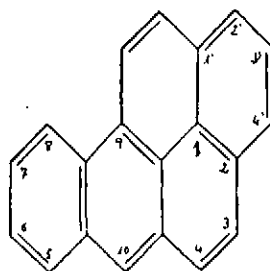
También se ha observado actividad cancerígena en el 2-metil 3-4-benzofenantreno (XXXI).



(XXX)



(XXXI)



(XXXII)

Este hidrocarburo tetracíclico, había sido sintetizado, anteriormente, por HEWETT y NEWMAN mediante métodos bastante laboriosos, que han sido sustituidos por los métodos de síntesis de policiclos desarrollados por MUKHERJI y otros, obteniéndolo en cuatro etapas a partir de la 2-alil 1-tetralona (21).

De todos los resultados anteriores, deducimos, que, el orden creciente de actividad cancerígena de las posiciones sustituidas en el 1-2-benzantraceno es el siguiente: 6, 5, 9 y 10, aunque entre las *meso* no existe, prácticamente, ninguna diferencia. También podemos decir, que, el poder cancerígeno, de los colantrenos, no está ligado al hecho de constituir sistemas pentacíclicos, sino más bien al de haberse acoplado un anillo pentagonal a un sistema tetracíclico, en las posiciones 5 y 10 de este último, precisamente.

De manera análoga, el 3-4-benzopireno mismo (XXXII), compárese con (X), podemos considerarlo derivado del 1-2-benzantraceno, por adición de un nuevo ciclo ligado a los carbonos 9 y 1' de este último compuesto.

El cumplimiento de la regla anterior se observa claramente en el curso de los derivados monometilados.

(20) BACHMANN, W. E. y CHEMERDA, J. M., *J. Amer. Chem. Soc.*, 60, 1023 (1938).

(21) MUKHERJI, S. M. y RAO, P. N., *Nature*, 168, 1041 (1951).

Por otro lado, el aumento de longitud de la cadena del sustituyente, contribuye a disminuir la actividad cancerígena del compuesto. Así encontramos, que el *10-isopropil 1-2-benzantraceno*, estudiado por Cook en 1942, no presenta dicha actividad, y de la misma manera, el *5-n-butil*-, el *5-n-amil*-, el *5-n-hexil*- y el *5-n-heptil 1-2-benzantraceno*, se muestran inactivos en los ensayos con inyecciones subcutáneas, si bien es cierto, que presentan una débil actividad cancerígena sobre la piel. (Recuérdese que ya señalamos la variación de actividad cancerígena de algunos compuestos, según la técnica de ensayo; es decir, que existe cierta especificidad de acción sobre los distintos tejidos).

Si en lugar de un sustituyente, introducimos dos, y los dos en posiciones favorables, tiene lugar un incremento de la actividad cancerígena. Así, el *9-10*, el *5-10* y el *5-9-dimetil 1-2-benzantraceno* son muy cancerígenos. Por el contrario, si el segundo sustituyente ocupa una posición no favorable, se produce una disminución de actividad cancerígena con relación al derivado monosustituído en la posición privilegiada. Este es, por ejemplo, el caso del *6-7-dimetil 1-2-benzantraceno*, mucho menos activo que el *6-metil 1-2-benzantraceno*, y el del *1-10-dimetil 1-2-benzantraceno*, que, prácticamente, es inactivo.

La introducción de grupos polares, como OH, OCH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, etc., en los hidrocarburos cancerígenos tetracíclicos, disminuye, en general, la actividad cancerígena, igual que ocurría en el caso de los pentacíclicos. Como ejemplos que ilustren lo que decimos, podemos citar el caso del *3-amino 1-2-benzantraceno*, el del *10-amino 1-2-benzantraceno* y el del *3-hidroxi 1-2-benzantraceno*, los tres inactivos.

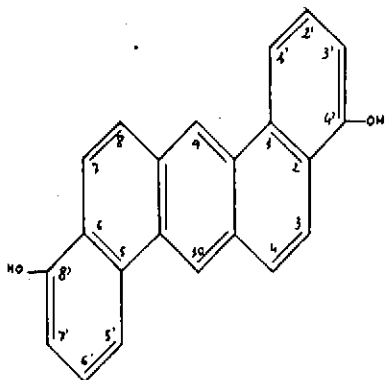
Hay derivados sustituidos en el C. 10, tales como el *10-hidroximetil* y el *10-ciano benzantraceno*, que poseen una notable actividad, y, posteriormente, se encontró, según LACASSAGNE, BUU-HOÏ, NGUYEN HOAN y RUDALI (22), que el *10-cloro 1-2-benzantraceno* tenía un poder cancerígeno sólo un poco inferior al del *1-2-5-6-dibenzantraceno*. Por el contrario, manifiestan los mismos autores, que el isólogo bromado, correspondiente al compuesto anterior, parece mostrarse inactivo.

Todos estos hechos, y algunos otros observados al estudiar el metabolismo de las sustancias cancerígenas en el organismo (transformación en compuestos hidroxilados), hacen pensar que dicho organismo se vale de la introducción del grupo oxhidrilo en la molécula de las sustancias cancerígenas, como medio de defensa para desactivarlas. Así, se ha observado, según BOYLAND, LEVI, MAWSON y ROE (1941) (23). DOBRINER, RHOADS

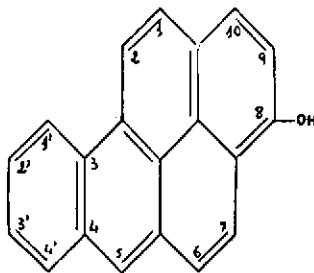
(22) LACASSAGNE, A., BUU-HOÏ, N. P., NGUYEN HOAN y RUDALI, G., *Compt. rend. Acad. Sciences*, 226, 1852 (1948).

(23) BOYLAND, E., LEVI, A. A., MAWSON, E. H. y ROE, E., *Biochem. J.*, 35, 184 (1941).

y LAVIN (1942) (24), que el 1-2-5-6-dibenzantraceno se oxida, en la rata y en el ratón, al derivado dihidroxilado en 4'-8' (XXXIII), y, de la misma manera, el 3-4-benzopireno se transforma, en los mismos animales, en el derivado monohidroxilado, probablemente en 8 (XXXIV), a la vez que en 3-4-benzopireno 5-8-quinona, según manifiestan CHALMERS y CROWFOOT (1941) (25), BERENBLUM, CROWFOOT, HOLIDAY y SCHOENTAL (1943) (26), WEIGERT y MOTTRAM (1943 y 1946) (27) (28) y OTROS.



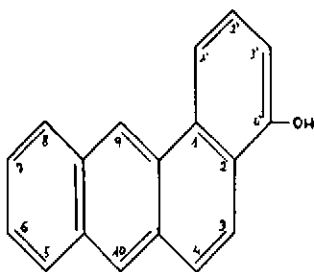
(XXXIII)



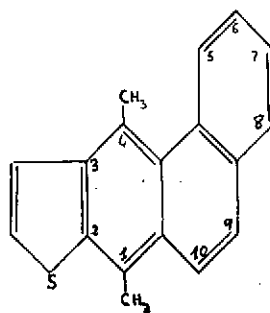
(XXXIV)

En el conejo, el 3-4-benzopireno se elimina bajo la forma de 10-hidroxi 3-4-benzopireno y de 3-4-benzopireno 5-10 quinona.

El mismo 1-2-benzantraceno se transforma, en el organismo de las ratas y en el del ratón, en el derivado hidroxilado en 4' (XXXV) (BERENBLUM y Miss SCHOENTAL, 1943) (29):



(XXXV)



(XXXVI)

(24) DOBKINEH, K., RHOADS, C. P. y LAVIN, G. I., *Cancer Research*, 2, 95 (1942) [C. A., 36, 3209 (1942)]

(25) CHALMERS, J. G. y CROWFOOT, D., *Biochem. J.*, 35, 1270 (1941).

(26) BERENBLUM, I., CROWFOOT, D., HOLIDAY, E. R. y SCHOENTAL, R., *C. A.*, 37, 5479 (1943).

(27) WEIGERT, F. y MOTTRAM, J. C., *Biochem. J.*, 37, 497 (1943).

(28) WEIGERT, F. y MOTTRAM, J. C., *Cancer Research*, 6, 97 (1946).

(29) BERENBLUM, I. y SCHOENTAL, R., *Cancer Research*, 3, 686 (1943).

Finalmente, consideraremos, entre los derivados cancerígenos del 1-2-benzantraceno, el isólogo tiofénico del 9-10-dimetil 1-2-benzantraceno (30), sintetizado por SANDIN y FIESER (1940), *1-4-dimetil 2-3-tiofen fenantreno* (XXXVI), que resulta de reemplazar, en el 1-2-benzantraceno (tomado como esqueleto fundamental), el ciclo bencénico portador de los carbonos 5, 6, 7 y 8, por el anillo pentagonal del tiofeno.

Este derivado, es tan cancerígeno como el 9-10-dimetil 1-2-benzantraceno y tiene gran interés, porque puede prepararse conteniendo azufre radiactivo, pudiéndose de esta manera observar con facilidad el camino que sigue el compuesto en el organismo, es decir, el recorrido durante el proceso de su metabolismo [HERSBERG y FIESER (31), DUNLAP y WARREN (32)].

Esto puede conseguirse también con otros elementos que no sean el S. Así, se ha introducido el C<sup>14</sup>, isótopo radiactivo del carbono, en la molécula de hidrocarburos muy activos, y de esta manera, HEIDELBERGER y JONES (1947) (33) han podido ensayar, en el ratón, un dibenzantraceno marcado en la posición 9, con C<sup>14</sup>, encontrando, que, una pequeña parte del hidrocarburo, sufre una degradación oxidativa total, que se manifiesta por la aparición, de CO<sub>2</sub> radiactivo, en los gases que el animal espira.

Como derivados de hidrocarburos tetracíclicos, entre los cuales se ha discutido también su actividad cancerígena, podemos citar algunos, de estructura ciclopentano-fenantrenica, como por ejemplo, el colesterol, cuyo estudio incluimos en otra parte especial, dedicada a sustancias cancerígenas de naturaleza endógena. Precisamente, en la brea que desprende el tabaco rubio, se han encontrado hidrocarburos ciclopentano-fenantrenicos, considerados como responsables de las propiedades cancerígenas de dicho tabaco.

## 2.º *Compuestos cancerígenos no nitrogenados que no derivan del 1-2-benzantraceno*

Este grupo comprende los hidrocarburos cancerígenos cuya estructura molecular no presenta el esqueleto del 1-2-benzantraceno. Entre ellos podemos citar los siguientes:

### a) *3-4-benzo-fenantreno* (XXXVII).

De este compuesto prepararon y ensayaron algunos derivados BADGER, COOK y colaboradores (1942) (34).

(30) SANDIN, R. B. y FIESER, L. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 3098 (1940).

(31) HERSBERG, E. B. y FIESER, L. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 2561 (1941).

(32) DUNLAP, C. F. y WARREN, S., *Cancer Research*, **1**, 953 (1941).

(33) HEIDELBERGER, C. y JONES, H. B., *Cancer Research*, **7**, 720 (1947).

(34) BADGER, M., COOK, J. W., HAYETT, C. L., KENNAWAY, E. L., KENNAWAY, N. M. y MARTIN, R. H., *Proc. Roy. Soc. (Londres)*, **B 131**, 170 (1942).





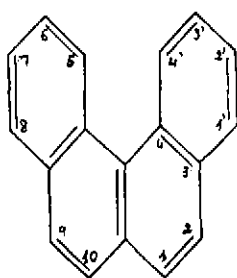
Este hidrocarburo manifiesta sólo un débil poder cancerígeno, y lo mismo ocurre con sus derivados metilados en las posiciones 6, 7 u 8, mientras que los metilados en 1 y en 2', y también en 2, son más activos. Es interesante hacer notar que dichos compuestos tienen una acción, que pudiéramos llamar específica, presentando mayor tendencia a dar epitelomas que sarcomas. En el 3-4-benzo-fenantreno, las posiciones de sustitución favorables son, pues, la 1 y la 2.

Si son dos las sustituciones, desaparece la actividad cancerígena, como ocurre en el 2-9-dimetil y en el 2-9-isopropil-metil 3-4-benzo-fenantreno, que son inactivos.

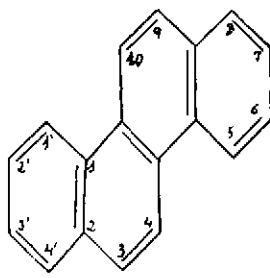
Otro compuesto de este grupo es el 1-2-benzo-fenantreno o *criseno* (XXXVIII), que se puede comparar con el 1-2-benzantraceno, estructura fundamental de la serie anterior, estando ambos desprovistos de actividad cancerígena.

Aunque TWORT y FULTON (1930) y BOTTOMLEY y TWORT (1934) creyeron haber encontrado en él un débil poder cancerígeno, éste resultó ser debido a ciertas impurezas que le acompañaban. BARRY y COOK (1934), por medio de inyecciones subcutáneas del producto puro, en el ratón, no consiguieron producir ningún tumor, habiéndose visto confirmados sus resultados, más tarde, por SHEAR y LEITHER (1941).

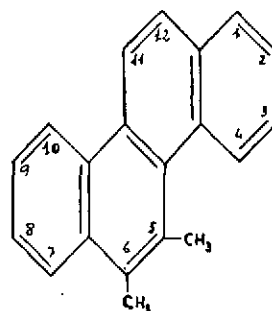
En cambio, algunos derivados del criseno sí son activos, y así, inyectando subcutáneamente el 6-metil criseno, obtuvieron SHEAR y LEITHER (1941) un tumor por cada 20 animales ensayados. HEWET (1940) ensaya el 5-6-dimetil criseno (XXXIX), el cual, en las aplicaciones sobre la piel del ratón, se muestra muy activo.



(XXXVII)



(XXXVIII)



(XXXIX)

Por último, DUNLAP y WARREN (1943) (35), han encontrado que el 5-metil criseno es capaz de producir sarcomas después de una sola inyección subcutánea de 0,2 cm<sup>3</sup> de una solución del hidrocarburo, en tricapi-

(35) DUNLAP, C. E. y WARREN, S., *Cancer Research*, 3, 606 (1943) [C. A. 38, 2724 (1944)].

lina, a una concentración de un 1 a un 4 por 1000, siendo su actividad cancerígena intermedia entre la del 20-metilcolantreno y la del 1-2-5-6-dibenzantraceno. También encontraron, que el 4-5-metil criseno y el ya citado 5-6-dimetil criseno, son mucho menos activos que los dos compuestos anteriores, típicamente cancerígenos. El 4-metil criseno y el 4-5-dimetil criseno, son muy poco activos o inactivos.

Tiene interés el estudio de la actividad cancerígena de ciertos derivados del criseno, por la semejanza de su estructura química con la de hormonas naturales del grupo de los esteroides, especialmente, las hormonas estrógenas.

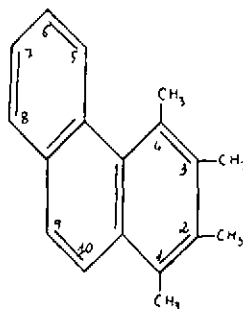
b) 1-2-3-4-tetrametil fenantreno (XL)

Este compuesto débilmente cancerígeno, fué preparado por HEWETT y MARTIN en 1930 (36).

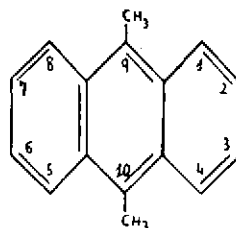
c) Dimetil-antracenos

La influencia que se demostró tenían los sustituyentes en las posiciones *meso* 9 y 10 del 1-2-benzantraceno, para la aparición de propiedades cancerígenas, y, sobre lo cual ya hablamos, sugirió a KENNAWAY, KENNAWAY y WARREN (1942) (37) la idea de que, sustituciones análogas sobre moléculas de hidrocarburos más simples, podrían tener efectos semejantes. Para la confirmación experimental de esta hipótesis, los citados autores prepararon los isómeros 9-10, 1-2, 1-3, 1-4 y 2-3-dimetil antraceno. El animal de experimentación, fué, una vez más, el ratón, en el cual ensayaron estos derivados por medio de aplicaciones sobre la piel, por inyecciones subcutáneas de las sustancias disueltas en glicerina o en aceite de sésamo, y, finalmente, por inserción de cristales.

Como resultado, se vió, que, el 9-10-dimetil antraceno (XLI) daba lu-



(XL)



(XLI)

(36) HEWETT, C. L. y MARTIN, R. H., *J. Chem. Soc.*, 1396 (1940).

(37) KENNAWAY, E. L., KENNAWAY, N. M. y WARREN, F. L., *Cancer Research*, 2, 157 (1942) [*C. A.*, 36, 3250 (1942)].

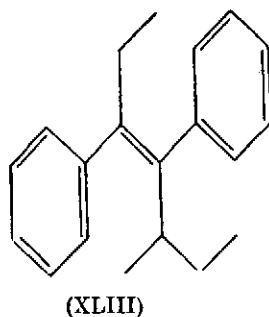
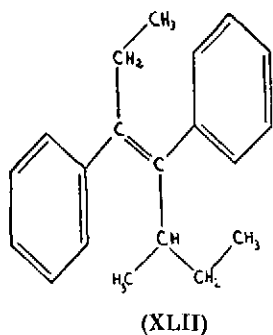
gar a epitelomas, habiéndose obtenido resultados positivos en 4 animales, de los 40 en que se había ensayado sobre la piel (el tiempo de latencia fué de 13, 18, 20 y 22 meses, respectivamente). Por el contrario, el mismo compuesto resultó inactivo en los ensayos por vía subcutánea.

d)  $\alpha$ -etil  $\beta$ -sec-butil estilbeno (XLII).

DODDS, LAWSON y WILLIAMS (1941) (38) han estudiado este compuesto, disuelto en benceno, ensayándolo sobre la piel de ratón. De 50 animales sobre los que se ensayó, 2 presentaron un epiteloma y un sarcoma a los 12 ó 15 meses, resultados muy interesantes por dos razones principales:...

1.<sup>a</sup> Porque este compuesto presenta propiedades estrógenas semejantes a las de las hormonas sexuales femeninas, del tipo de la foliculina o estrona. Si consideramos, de acuerdo con Cook, la analogía, en ciertos aspectos, entre la proliferación celular que caracteriza el estro de los roedores y las etapas precoces de un crecimiento maligno, comprenderemos el interés de la observación anterior; tanto más cuanto que, compuestos, como por ejemplo el 5-6-ciclopentano benzantraceno y el 3-4-benzopireno, que son hidrocarburos cancerígenos, presentan una pequeña actividad estrógena, y por otra parte, las hormonas estrógenas naturales, especialmente la foliculina, se ha comprobado, que, pueden favorecer la aparición de ciertos cánceres de una manera indirecta, modificando la aptitud hereditaria en cánceres espontáneos.

2.<sup>a</sup> El  $\alpha$ -etil  $\beta$ -sec-butil estilbeno es un compuesto con sólo dos ciclos bencénicos; pero, como hacen notar DODDS y colaboradores (1938), aunque a primera vista su estructura parece no estar muy relacionada con la de los hidrocarburos cancerígenos conocidos, cuenta, realmente, con «núcleos potenciales» (véase fórmula XLIII):

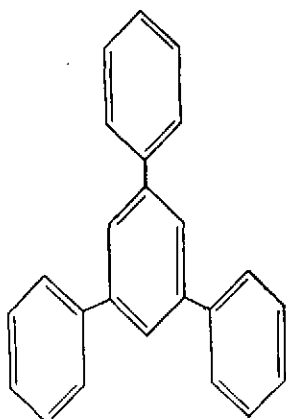


(38) DODDS, E. C., LAWSON, W. y WILLIAMS, P. C., *Nature*, 148, 142 (1941).

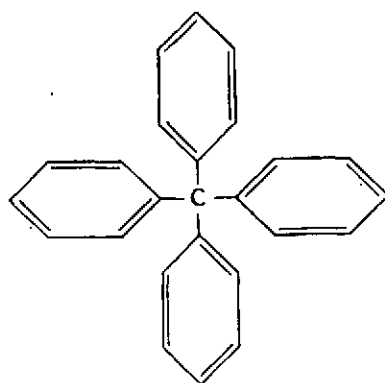
Vemos, pues, que su estructura se asemeja no sólo a la de la estrona o foliculina, sino también a las del benzopireno (XXXII) y derivados del criseno (XXXIX y otros).

Por lo tanto, el factor preponderante que determina la actividad fisiológica será, según DODDS, la configuración espacial de las moléculas, es decir, la disposición de los átomos en el espacio. Esta interpretación nos ha descubierto nuevas perspectivas, aplicables a diversas cuestiones farmacodinámicas.

Por último, podemos citar, entre los hidrocarburos cancerígenos tetracíclicos, unos cuantos que ya no se pueden considerar derivados de las estructuras fundamentales, citadas a lo largo de lo que precede. Así tenemos, por ejemplo, el *1-3-5-trifenil benceno* (XLIV) y el *tetrafenil metano* (XLV), compuestos que fueron estudiados por MORTON, CLAPP y BRANCH en 1936 y a los que estos autores atribuyeron una débil actividad cancerígena, sobre el ratón, que se puede manifestar, bien por aplicación de disoluciones bencénicas sobre la piel, o bien por inyecciones subcutáneas de disoluciones en aceite; sin embargo, dicha actividad no ha podido ser comprobada, posteriormente, por otros investigadores, y, en particular, por SHEAR (1938).



(XLIV)



(XLV)

### B.—Compuestos orgánicos cancerígenos nitrogenados

Los compuestos pertenecientes a este grupo pueden ordenarse en tres series principales, a saber:

- 1.º Compuestos isocíclicos aminados.
- 2.º Compuestos azoicos.
- 3.º Compuestos nitrogenados heterocíclicos.

1.º *Compuestos isocíclicos aminados (aminas isocíclicas)*

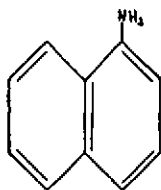
Estructural y funcionalmente, tales compuestos están caracterizados por la presencia de uno o varios grupos amino, más o menos sustituidos, en carbonos de núcleo aromático.

Dentro de esta serie, vamos a estudiar los compuestos por grupos.

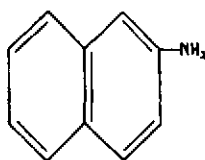
a) *Naftilaminas*

La observación de la frecuencia con que aparecían tumores vesicales en obreros de las fábricas de colorantes derivados de la anilina, condujo al descubrimiento de las propiedades cancerígenas, bajo determinadas condiciones, de la  $\beta$ -naftil amina (XLVII) [REHN (1895 y 1906), LEUENBERGER (1912), NASSAUER (1919 y 1920), LEWIN (1913 y 1928) y CURSCHMANN (1920) y OTROS].

No obstante haber llamado a este cáncer profesional «cáncer de los tintoreros de anilina», parece no ser la anilina misma quien los produce, sino más bien las impurezas que le acompañan, habiendo atribuído, algunos autores, a la benzidina la actividad cancerígena observada, pero, aun con ésta, los resultados obtenidos han sido también contradictorios. No obstante SPITZ, MAGUIGAN y DOBRINER (39) han encontrado, que, administrada a las ratas, ataca al hígado produciendo cirrosis; en las ratas supervivientes, se observa la existencia de hepatomas y adenocarcinomas de recto. Por el contrario, no ha podido observarse la formación de tumores de vejiga.



(XLVI)



(XLVII)

La  $\beta$ -naftil amina, sin embargo, presenta una indudable actividad cancerígena, demostrada experimentalmente por SHEAR, en 1930, haciendo respirar al conejo aire saturado de este compuesto. En 1932. PERLMANN y STAEHLER comprobaron dicha actividad también, sobre el conejo, por medio de inyecciones subcutáneas, igual que hicieron HUEPER, WILEY y WOLFE (1938), sobre el perro, en el que obtuvieron 13 tumores sobre 18 ensayos. Finalmente, BONSER, en 1943, confirmó dicha actividad, sobre el perro también, administrándolo por vía bucal.

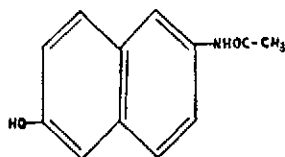
La  $\alpha$ -naftil amina (XLVI) es mucho menos activa que la *beta*, y las

(39) SPITZ, S., MAGUIGAN, W. H. y DOBRINER, K., *Cancer*, 3, 789 (1950).

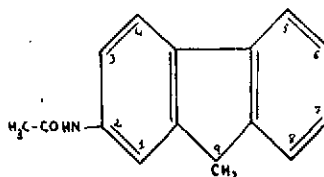
proliferaciones a que ha dado lugar, cuando se ha empleado pura, no presentan caracteres de malignidad.

Es interesante el hecho, demostrado, en 1938, por WILEY, de que, en el perro, la  $\beta$ -naftil amina es eliminada, en la orina, como derivado hidroxilado en posición *alfa*, contigua a la *beta* que lleva el  $\text{NH}_2$ . Es decir, que sufre una transformación metabólica, del mismo tipo que la que ya vimos tenía lugar en los hidrocarburos cancerígenos. En la rata, en el conejo y en el mono, la  $\beta$ -naftil amina aparece bajo la forma de derivado hidroxilado en 6, y, más precisamente, como *2-acetil-amino 6-hidroxi naftaleno* (XLVIII).

La  *$\alpha$ -naftoquinona* podemos considerarla relacionada, en el aspecto cancerígeno, con las naftilaminas, y con ella, consiguió TAKIZAWA, en 1940, producir epitelomas en el ratón por ensayos sobre la piel.



(XLVIII)



(XLIX)

### b) *2-acetilamino fluoreno*

Examinando el empleo del *2-acetilamino fluoreno* (XLIX) como insecticida, WILSON, DE EDS y COX (1941) (40) estudiaron su toxicidad, señalando, que administrada dicha sustancia, a la rata, por vía oral, daba lugar, en tres o cuatro meses, a la formación de cáncer de diversos tipos y en órganos distintos (hígado, riñón, páncreas, pulmón, glándulas mamarias, intestino, útero, conducto auditivo, y sobre todo, vejiga) a la vez que leucemias. BIELSCHOWSKY (1944 y 1945) (41) (42) y ARMSTRONG y BORSER (1944) (43) confirmaron los resultados anteriores sobre la rata y el ratón.

Primeramente se creyó que el compuesto no actuaba más que cuando se administraba por vía bucal, pero MORRIS y colaboradores (44) demos-

(40) WILSON, R. H., DE EDS, F. y COX, A. J., *Cancer Research*, 1, 595 (1941) [C. A. 35, 8111 (1941)]

(41) BIELSCHOWSKY, F., *Brit. J. Exptl. Pathol.*, 25, 1 (1944).

(42) BIELSCHOWSKY, F., *Biochem. J.* 39, 287 (1945).

(43) ARMSTRONG, E. C. y BORSER G. M., *J. Path. Bact.*, 56 507 (1944).

(44) MORRIS H. P., DUBNICK, C. S. DUNN TH. B. y WESTFALL, B. B. 4.º Congreso Internac. investig. Cáncer, San Luis del Missouri (EE. UU.), septiembre 1947

traron, en 1947, que era igualmente activo cuando se ensayaba por aplicaciones sobre la piel. Por lo tanto, se deducía que no era necesario, para la acción cancerígena, una reacción metabólica tal como la de formación del derivado hidroxilado, que en este caso sería el *7-hidroxi 2-acetilamino fluoreno*, aislado en la rata por BIELCHOWSKY.

La amina sin acetilar, o sea, el *2-amino fluoreno*, provoca también la formación de cáncer de hígado y de conducto auditivo externo (BIELCHOWSKY), habiendo sido estudiada, además, por LACASSAGNE, BUU-HOÏ, ROYER, RUDALI y ZAJDELA (45), los cuales comprobaron, que, química y fisiológicamente considerada, esta sustancia ocupa un lugar intermedio entre los compuestos azoicos, que, en general, son activos únicamente por ingestión, y los hidrocarburos policíclicos y sus derivados, que se muestran activos, en los ensayos sobre la piel, con producción de epitelomas, y en las inyecciones subcutáneas, provocando sarcomas.

Esta sustancia, en efecto, presenta una acción cancerígena, a distancia, por ingestión, como veremós que ocurre en los azoicos, y una acción local, en la rata, por efecto de una inyección subcutánea, a semejanza de los hidrocarburos y derivados.

Durante el curso de la carcinogénesis, producida por el *2-acetilamino fluoreno*, se produce un incremento progresivo en la proporción de proteínas y ácidos pentosa-nucleicos en la fracción nuclear, es decir, que se notan alteraciones en la composición química de los núcleos de las células, y también de las mitocondrias.

El compuesto *2-7-di-acetilamino fluoreno* presenta también actividad, mientras que los compuestos con radicales fluoril y fluoriliden son relativamente inactivos (46).

Las propiedades cancerígenas que aparecen en el fluoreno, por introducción de un grupo amino en el núcleo, según hemos visto, aparecen, igualmente, por acoplamiento de dos núcleos bencénicos sobre el mismo fluoreno, como sería el caso del *1-2-5-6-dibenzofluoreno* (L). Es decir, que un grupo amino resultaría más activo que un núcleo bencénico.

### c) *Derivados aminados del estilbeno*

Los compuestos derivados del *4-amino estilbeno* (LI), presentan características especiales en cuanto a su actividad cancerígena, con claras diferencias respecto a los compuestos polibencénicos, pudiendo manifestarse su poder cancerígeno, tanto a distancia como en el lugar de aplica-

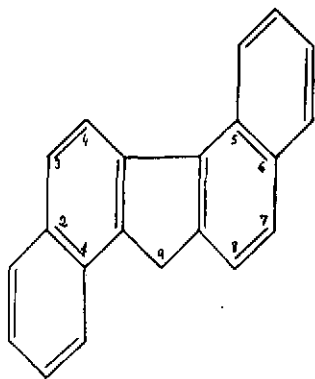
(45) LACASSAGNE, A., BUU-HOÏ, N. P., ROYER, R., RUDALI, G. y ZAJDELA, F., *Compt. rend. Soc. Biol.*, 142, 481 (1948).

(46) DYER, H. M., ROSS, H. F. y MORRIS, H. P., *Cancer Research*, 10, 214 (1950).

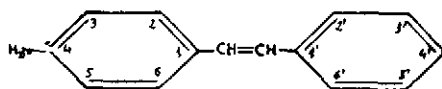
ción, y pareciéndose la distribución, y la naturaleza de los tumores, a la que da lugar el 2-acetilamino fluoreno (47), también cancerígeno, como acabamos de ver.

HADDOW, HARRIS, KON y MISS ROE (48) demostraron, en 1947, la actividad cancerígena, frente al ratón, del 4-amino estilbeno y de algunos de sus derivados, como el 4-acetilamino, 4-dimetilamino, 2-metil 4-dimetilamino y 4-dietilamino estilbenos. Es curioso que estas mismas sustancias, en condiciones distintas, presentan actividad anticancerígena (experimentos sobre el carcinoma 1563 de WALKER, en la rata).

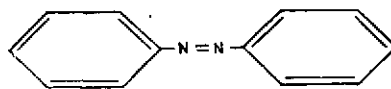
La escuela inglesa, después de los primeros resultados obtenidos, emprendió un estudio sistemático de los compuestos aminodiariletílenos, a los que pertenece el 4-amino estilbeno de que tratamos, investigando su actividad, cancerígena o anticancerígena.



(I)



(LI)



(LII)

## 2.º Compuestos azoicos

Son compuestos derivados de la estructura *azobenceno* (LII).

Desde el punto de vista de su actividad cancerígena, también estos compuestos son distintos a los hidrocarburos polibencénicos; estos últimos producen, por ejemplo, tumores locales, generalmente, siendo capaces de producirlos en una gran variedad de órganos y en distintas especies animales, manifestándose como activos algunos términos, a dosis muy pequeñas y con un período de latencia relativamente corto. Por el

(47) PULLMAN, A. y PULLMAN, B., *Cancérisation par les substances chimique et structure moléculaire*. Ed. Masson et Cie., París, 1955.

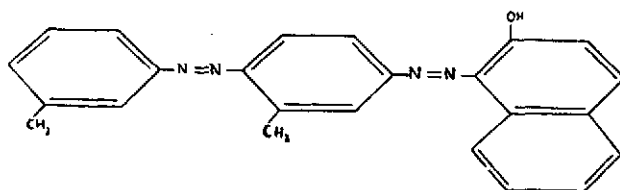
(48) HADDOW, A., HARRIS, R. J. C., KON, G. A. R. y MISS ROE, E. M. F., 11.º Congreso Internacional de química pura y aplicada, Londres, 17-24 julio, 1947 y 4.º Congreso Internac. invest. Cáncer, San Luis del Missouri (EE. UU.), septiembre, 1947.



contrario, los azoicos son de acción lenta aun a grandes dosis, y, en general, sólo producen cáncer de hígado (49).

a) *Rojo escarlata*

En 1906, FISCHER logró proliferaciones epiteliales, del tipo de las observadas en los comienzos de un cáncer, por inyección subcutánea, en la oreja del conejo, de una solución del colorante *rojo escarlata* (LIII), en aceite.



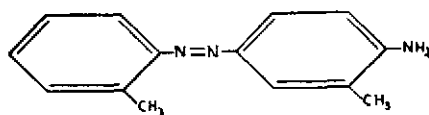
(LIII)

De esta observación, parten los descubrimientos que se han llevado a cabo sobre esta serie de compuestos.

Los resultados de FISCHER fueron comprobados por muchos investigadores, particularmente por BEUTHIN (1911), HAGA (1913) y YAMAGIWA y OHNO (1918). En 1924, SCHMIDT señala, que la administración, al ratón, de rojo escarlata, *per os*, da lugar a la formación de adenomas y de sarcomas, al nivel del hígado, resultados que fueron confirmados por KORTWEG, en 1940.

b) *Orto-amino azotolueno*

En 1932, el profesor japonés YOSHIDA confirmó experimentalmente la hipótesis, según la cual, la parte activa de la molécula del rojo escarlata que provoca la proliferación celular es la estructura *o-amino azotolueno* (LIV).



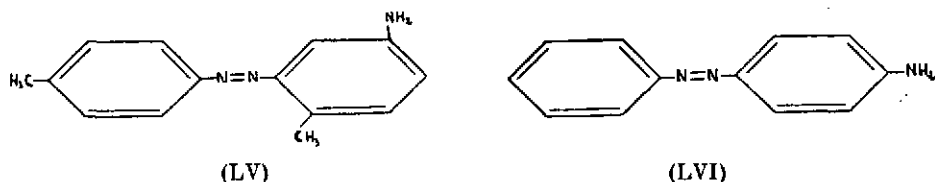
(LIV)

YOSHIDA, administrando este compuesto por vía bucal y subcutánea, observó que la acción cancerígena se ejercía selectivamente sobre el hígado, produciendo hepatomas, transplantables, lo mismo en los ratones

(49) COOK, J. W., *J. Chem. Soc.*, 1210 (1950).

machos que hembras, y, aunque más frecuentes en las segundas, ambos sexos responden a los efectos tóxicos (50). Este hecho encerraba un gran interés, puesto que era la primera vez que se conseguía la producción de un tumor, lejos del lugar de experimentación, y en un tejido parenquimatoso distinto al del pulmón.

Sin embargo, el mismo YOSHIDA, demostró, en 1935, juntamente con SASAKI, que, en igualdad de condiciones, compuestos azoicos tan semejantes al anterior, como el *p*-amino azotolueno (LV) y el *o*- y el *p*-amino azobenceno (LVI), dan resultados negativos.



Los experimentos de YOSHIDA fueron confirmados sobre el ratón por NISHIYAMA (1935), SHEAR (1937), KINOSITA (1940) y KIRBY (1945) (51).

Ya hicimos notar la localización selectiva, a nivel del hígado, de los tumores producidos por el *o*-amino azotolueno, no obstante lo cual, SHEAR, en 1937, observó algunos casos en los que el cáncer se localizaba en la vejiga, y ANDERVONT y colaboradores (1939 a 1943) (52) consiguieron tumores pulmonares e incluso sarcomas bajo la piel, por administración subcutánea de dicho compuesto, en el ratón. También LAW, en 1941, obtuvo fibrosarcomas en el referido animal. Por el contrario, no se ha conseguido ningún cáncer de piel, por pinceladas, con el compuesto azoico, de que venimos hablando.

Respecto a la actividad cancerígena de los derivados del *o*-amino azotolueno, podemos decir, que, ésta se conserva en su producto de acetilación.

NAGAO comprobó, en 1937, que el poder cancerígeno del *o*-amino azotolueno sobre el hígado, desaparece al sustituir el grupo NH<sub>2</sub> por el OH, pero que el compuesto 4'-hidroxi 2-3'-dimetil azobenceno (LVII) que así resulta, da lugar a la formación de papilomas.

### c) *p*-dimetilamino azobenceno

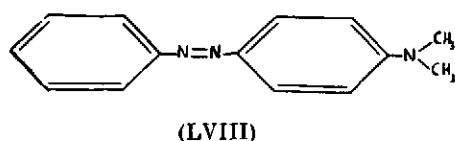
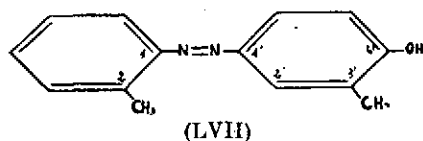
El poder cancerígeno del *p*-dimetilamino azobenceno (LVIII), administrado por vía digestiva al ratón, fué comprobado, en 1937, por KINO-

(50) ANDERVONT, H. B., *J. Natl. Cancer Inst.*, 10, 927 (1950).

(51) KIRBY, A. H. M., *Nature*, 154, 668 (1944).

(52) ANDERVONT, H. B., GRADY, H. G. y EDWARDS, J. E., *J. Natl. Cancer Inst.*, 3, 131 (1942) [*C. A.*, 37, 1502 (1943)].

SITA, que observó, en el mismo, una actividad semejante a la del o-aminoazotolueno, pero más marcada, sobre el hígado, que la de éste, mientras que, por el contrario, no se ha podido comprobar actividad alguna, sobre la vejiga, en aquellos animales.

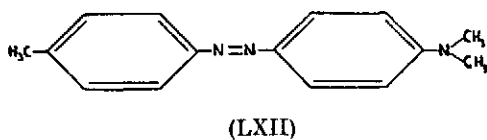
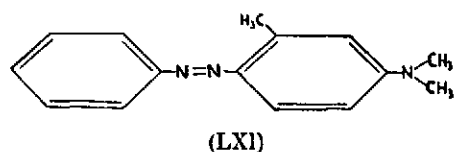
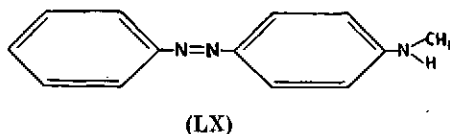
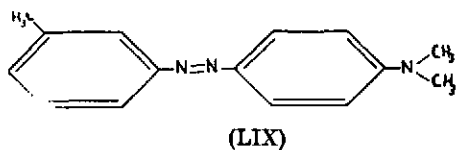


MARUYA y TAMAKA (1936) emplearon esta sustancia sobre la piel, comprobando la actividad cancerígena de la misma.

El ratón se muestra sensible a ella con menos frecuencia que la rata, y la gallina y el conejo son insensibles a la misma.

Este compuesto, con el nombre comercial de *amarillo de manteca*, era una sustancia utilizada con frecuencia para colorear artificialmente ciertas materias grasas alimenticias. Naturalmente, al descubrirse sus propiedades cancerígenas, quedó prohibido su empleo.

MILLER y BAUMANN (53) han estudiado una serie de compuestos que se pueden considerar derivados del p-dimetilamino azobenceno, encontrándose, entre los más cancerígenos, en orden decreciente de actividad, los siguientes: *m*'-metil p-dimetilamino azobenceno (LIX), p-monometilamino azobenceno (LX), o-metil p-dimetilamino azobenceno (LXI) y p-metil p-dimetilamino azobenceno (LXII).



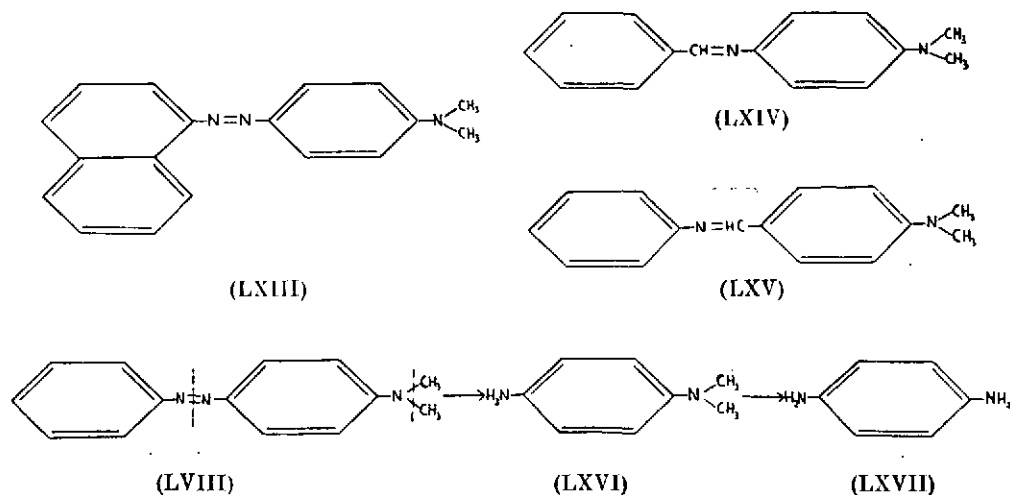
El *m*'-metil p-dimetil (LIX) es más activo que el p-dimetil (LVIII), es decir, más activo que la misma estructura, pero sin el -CH<sub>3</sub> que va unido directamente al núcleo; sin embargo, el p-monometil (LX) muestra una actividad sensiblemente igual a la del p-dimetil (LVIII).

(53) MILLER, J. A. y BAUMANN, C. A., *Cancer Research*, 5, 157 (1945).

Al mismo tiempo, se observa, que, este último compuesto se diferencia, estructuralmente, de cada uno de los otros dos, en un  $\text{CH}_3$ , por exceso o por defecto, de lo que se podría esperar, que la diferencia en actividad cancerígena, fuese, cuantitativamente, del mismo orden. Sin embargo, ésto no ocurre así, lo que quizás sea debido a que, en el compuesto (LIX), el  $\text{CH}_3$ , en exceso sobre el *p*-dimetilamino, va ligado directamente al núcleo bencénico, mientras que, el metilo que falta en el otro (LX), sería del grupo amino.

Por el contrario, el *o*-metil *p*-dimetil (LXI), el *p*-dimetilamino benceno azo 1-naftaleno (LXIII), la *N-N*-dimetil *N*-benciliden *p*-fenilen diamina (LXIV), la *N* (*p*-dimetilamino benciliden) anilina (LXV), la *N-N*-dimetil *p*-fenileno diamina (LXVI) y la anilina, ensayados de la misma manera que los compuestos anteriores, se mostraron inactivos.

Se ha estudiado el metabolismo del *p*-dimetilamino azobenceno (LVIII), habiendo aislado STEVENSON, DOBRINER y RHOADS (1942) (54), la *p*-fenilen diamina y el *p*-amino fenol y sus derivados acetilados, en ratas a las que se había administrado dicho azo-compuesto. Para la interpretación de estos hechos, los autores, anteriormente citados, propusieron un proceso de degradación del compuesto azoico, cuya primera etapa sería la ruptura del grupo azo ( $-\text{N}=\text{N}-$ ), dando lugar al *N-N*-dimetil *p*-fenilen diamina (LXVI), que, a continuación, pierde los metilos, convirtiéndose en *p*-fenilen diamina (LXVII).



También se ha estudiado el metabolismo del 2-amino azofluoreno

(54) STEVENSON, E. S., DOBRINER, K. y RHOADS, C. P., *Cancer Research*, 2, 160 (1942) [C. A. 36, 3250 (1942)]

marcado con C<sup>14</sup> (55) y el resultado obtenido indica que el grupo acetilo se ha eliminado en dicho proceso metabólico.

Debemos señalar la influencia tan efectiva que parece ejercer el régimen alimenticio sobre la producción de cáncer hepático por los compuestos azoicos. Así, en el Japón, donde los animales se alimentan a base de arroz, se ha observado mayor regularidad y rapidez, en su producción, que en los demás países del mundo en donde es el trigo el alimento fundamental. También se ha demostrado, que un régimen que contenga un 15 % de levadura de cerveza inhibe, casi con toda seguridad, la aparición del cáncer. Los factores activos son, principalmente los proteídeos y ciertas vitaminas del grupo B, especialmente la *riboflavina*. La *piridoxina* y la *biotina* ejercen, por el contrario, una acción favorable.

#### d) Los azonaftalenos

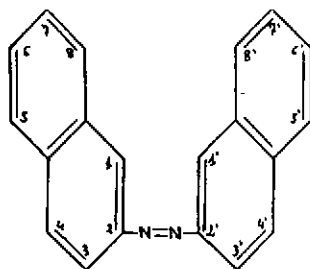
Guiados por la idea de que los azonaftalenos se debían formar por oxidación de las *alfa* y *beta* naftilaminas, Cook y colaboradores (1940) se dedicaron a su preparación, con el fin de estudiar la acción sobre la vejiga, que algunos le atribuían.

Fueron estudiados principalmente tres compuestos: el 1-1', el 2-2' y el 1-2'-azonaftaleno.

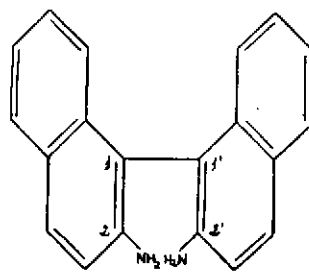
La actividad cancerígena de estos compuestos se ensayó en el ratón, utilizando las técnicas de aplicación sobre la piel, inyecciones subcutáneas y administración *per os*.

Si bien es verdad que no se consiguió ningún cáncer de vejiga, el 2-2'-azonaftaleno (LXVIII) produjo sin embargo, numerosos tumores de hígado (hepatomas y colangiomas).

Las reacciones que provocaron los otros dos compuestos no se pudieron considerar como tumorales.



(LXVIII)



(LXIX)

El 2-2'-diamino 1-1'-dinaftilo (LXIX), derivado del 2-2'-azonaftaleno, aunque en realidad no es un compuesto azoico, ha sido preparado y en-

(55) HEICELBERGER, C. y WEITS, W. G., *Cancer Research*, 10, 223 (1950).

sayado, por razones teóricas, habiéndose encontrado que también producía tumores de hígado, en el ratón. Frente a la rata, son inactivos ambos compuestos, aun en las mismas condiciones en que son activos para el ratón.

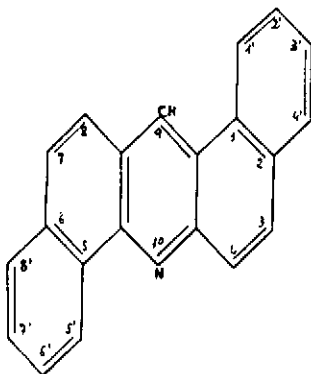
En Inglaterra se ha ensayado en el ratón, por vía bucal, toda una serie de compuestos azoicos hidrosolubles, empleados corrientemente como colorantes de sustancias alimenticias, no habiendo manifestado actividad cancerígena ninguno de ellos.

### 3.º Compuestos nitrogenados heterocíclicos

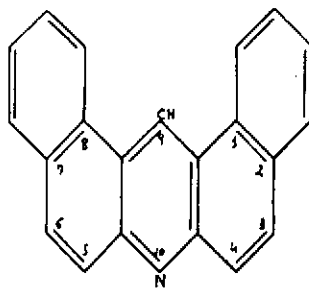
#### a) Dibenzacridinas

Estos compuestos están relacionados con el 1-2-5-6-dibenzantraceno, del que derivan por sustitución de un carbono *meso* de dicho hidrocarburo por un átomo de nitrógeno.

En 1935, BARRY, COOK y colaboradores, estudiaron dos dibenzacridinas: la 1-2-5-6- (LXX) y la 1-2-7-8-dibenzacridina (LXXI).



(LXX)



(LXXI)

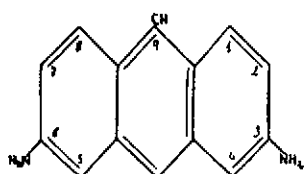
Al examinar las fórmulas de estos compuestos se observa, que, la primera, corresponde al 1-2-5-6-dibenzantraceno. Ahora bien, desde el punto de vista cancerígeno, es la 3-4-5-6-dibenzacridina la más activa, es decir, que si nos fijamos, sus actividades relativas son inversas a las de los hidrocarburos correspondientes.

Estas conclusiones fueron alcanzadas, por Cook y colaboradores, a partir de sus ensayos sobre la piel del ratón, viéndose confirmadas, en 1936, por las obtenidas de los estudios de RONDONI y CORBELLINI. Sin embargo, al estudiar la acción de estos derivados en el mismo animal, pero por medio de inyecciones subcutáneas de su disolución en aceite, BACKMANN,

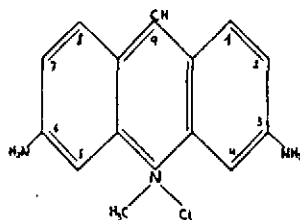
COOK y colaboradores (1937), encontraron, que, inversamente al caso anterior, la 1-2-5-6-dibenzacridina producía sarcomas (8 sobre 19 animales ensayados), mientras que la 1-2-7-8 se mostraba inactiva.

Se ha encontrado también poder cancerígeno en algún derivado de la dibenzacridina, como por ejemplo, en la 14-butil dibenzacridina, que manifiesta dicha actividad en el tratamiento por inyecciones subcutáneas (56).

Por el contrario, la *acridina* misma y derivados, como la *proflavina* (3-6-diamino acridina) (LXXII) y la *tripaflavina* (cloruro de 3-6-diamino metil acridinio), (LXXIII), no muestran actividad cancerígena alguna.



(LXXII)



(LXXIII)

Esta observación es de gran interés, ya que muchos derivados de la acridina, entre ellos la propia tripaflavina, son de uso muy extendido en Medicina (la *tripaflavina*, como antiséptico de heridas y en la enfermedad del sueño; el *rivanol* ó 7-etoxi 3-9-diamino acridina, en la disentería; la *atebrina* ó 7-metoxi 9-dietilaminoisoamilamino acridina, se asocia con la *plasmaquina* en el conocido ATP, usado contra el paludismo; etc., etc.).

Muy relacionadas, estructuralmente, con las dibenzacridinas, están las *dibenzofenazinas*, que, teóricamente, pueden considerarse derivadas de los dibenzantracenos, por sustitución de los dos carbonos *meso*, de estos últimos, por dos átomos de nitrógeno. Los compuestos resultantes, o *dibenzofenazinas*, tienen una actividad carcinogénica nula, resultado que está relacionado con un fenómeno bastante general, en el que haremos hincapié al finalizar este capítulo.

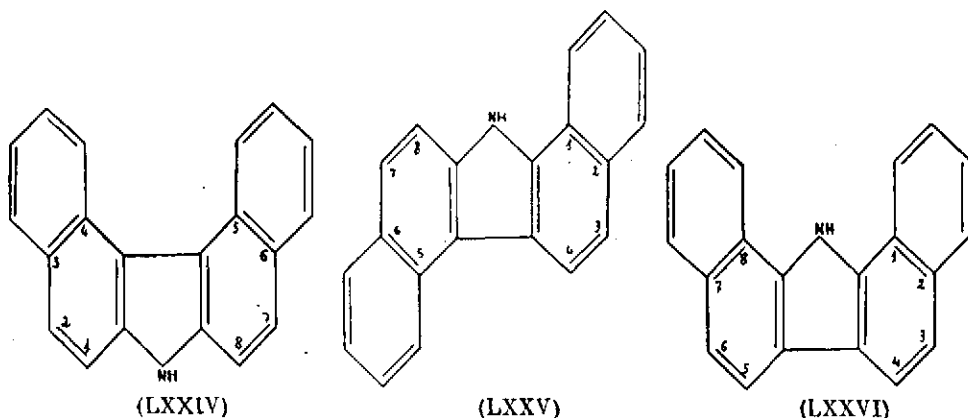
### b) Benzocarbazoles

Según MAISIN, DESMEDI y JACQMIN (1927) se había conseguido producir, con el carbazol, un epiteloma sebáceo en el ratón. Pero este resultado fué único y obtenido después de dos años y medio, pareciendo

(56) ZAJDELA, F. y BUU-HOÏ, N. P., *Acta Union. Intern. contra Cancrum*, 7, 184 (1950). [C. A., 48, 8934 (1954)].

más seguro atribuir la formación del epiteloma a las impurezas, que acompañan al carbazol, en el producto comercial.

En cambio, algunos derivados del carbazol sí que aparecen, ciertamente, como derivados cancerígenos. Así BOYLAND y BRUES (57) encontraron, que, el 3-4-5-6-dibenzocarbazol (LXXIV) (análogamente a las dibenzacridinas) se mostraba fuertemente cancerígeno en los ratones, ejerciendo su acción sobre la piel y sobre el hígado. También se ha comprobado cierta actividad carcinogénica en el 1-2-5-6-dibenzocarbazol (LXXV). El 1-2-7-8- (LXXVI) tiene una acción variable.



Podemos observar, que, los dibenzocarbazoles, resultan de sustituir, en los dibenzofluorenos, el  $> \text{CH}_2$  del anillo pentagonal central por un grupo  $> \text{NH}$ .

La actividad cancerígena del 3-4-5-6-dibenzocarbazol es interesante, pues esta sustancia deriva fácilmente de la  $\beta$ -naftilamina, considerada, según dijimos, como responsable del cáncer de vejiga, en obreros que trabajan con materias colorantes.

BOYLAND y BRUES (1937) (*loc. cit.*), ensayaron los dibenzocarbazoles sobre la piel del ratón, en la que daban lugar a la formación de epitelomas, resultados confirmados por STRONG, SMITH y GARNER (1938) en sus ensayos, tanto por aplicaciones cutáneas, como por inyecciones subcutáneas con las que se obtenían sarcomas.

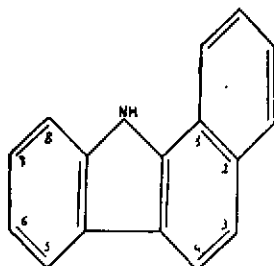
Asimismo, SHURCH y WINTERSTEIN (1935) observaron, que, el 1-2-benzocarbazol (LXXVII) estimula la proliferación de células epiteliales.

Todos estos resultados conseguidos con los benzocarbazoles fueron confirmados por BOYLAND y MAWSON (1938), los cuales, además de haber observado la formación de tumores cutáneos y sarcomas, nos dan noticia de la producción de reacciones proliferativas a nivel del hígado. De esta

(57) BOYLAND, E. y BRUES, A. M., *Proc. Roy. Soc. (Londres)* [B] 122, 429 (1937).



manera, como señala LACASSAGNE (1946), los benzocarbazoles ocuparían, desde el punto de vista químico y fisiopatológico, un lugar interme-



(LXXVII)

dio entre las sustancias nitrogenadas, muy activas sobre el hígado y muy poco sobre la epidermis y tejido conjuntivo, y los hidrocarburos policíclicos, que provocan fácilmente epitelomas y sarcomas, sin que se produzcan proliferaciones epiteliales en el hígado.

La estructura del 2-2'-diamino 1-1'-dinaftilo (véase LXIX) es muy semejante a la del 3-4-5-6-dibenzocarbazol, y el compuesto produce, fácilmente, hepatomas; el cierre del anillo en virtud del cual el 3-4-5-6-dibenzocarbazol se puede considerar como procedente del 2-2'-diamino 1-1'-dinaftilo, lleva consigo una disminución de la actividad cancerígena sobre el hígado, pero hace aparecer la propiedad de producir epitelomas, lo que no se daba con los compuestos azoicos, ni con el diamino dinaftilo.

### c) Benzacridinas

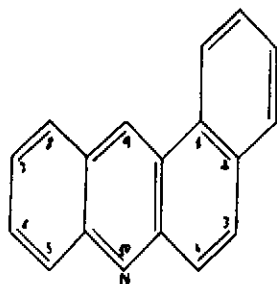
Conocidos los resultados de los estudios de la inhibición del poder cancerígeno de los hidrocarburos aromáticos, por diversas sustancias, en sí cancerígenas, de configuración próxima, LACASSAGNE, BUU-HOÏ, LECOCQ y RUDALI (1944 a 1946) (58) (59) se dedicaron a la preparación de una serie de compuestos con la estructura de la 1-2 (LXXVIII) o de la 3-4-benzacridina (LXXIX). Esto proporcionó el conocimiento de la actividad cancerígena, de algunos de ellos, sobre la piel.

Varios homólogos de la 3-4-benzacridina dan lugar con frecuencia a tumores de epidermis, mientras que los derivados de la 1-2-benzacridina, isómeros de los anteriores, se muestran inactivos o débilmente activos.

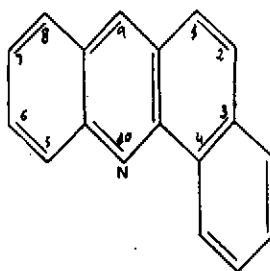
(58) BUU-HOÏ, N. P. y LECOCQ, J., *Compt. rend.*, 218, 792-4 (1944).

(59) LACASSAGNE, A., BUU-HOÏ, N. P., LECOCQ, J. y RUDALI, G., *Bull. assoc. franç. étude cancer*, 33, 48-59 (1946). [C. A. 41, 196 (1947)].

Algunas benzacridinas presentan un poder cancerígeno próximo al del metilcolantreno, tanto por lo que se refiere al período de latencia como por el porcentaje de tumores producidos. Este poder es incluso mayor aún que en aquel, en el caso de la *7-9-dimetil 3-4-benzacridina*



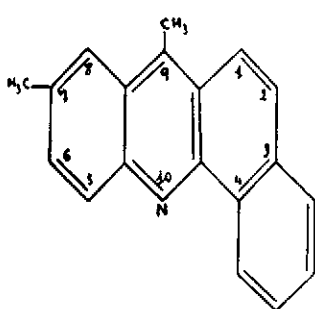
(LXXVIII)



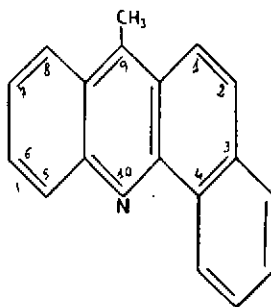
(LXXIX)

(LXXX) (60). Estos compuestos se muestran también activos en los ensayos por medio de inyecciones subcutáneas.

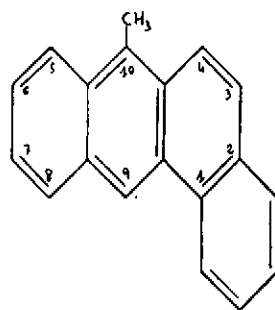
Es curioso hacer notar, que, la dependencia entre estructura molecular y actividad fisiológica, en estas sustancias, es, en general, paralela a la de la serie del 1-2-benzantraceno, y así por ejemplo, el considerable poder cancerígeno de la *9-metil 3-4-benzacridina* (LXXXI) corresponde al del *10-metil 1-2-benzantraceno* (LXXXII), ambos de estructuras estrechamente relacionadas.



(LXXX)



(LXXXI)



(LXXXII)

Según ZAJDELA y BUU-HOÏ (1950) [*loc. cit.* (59)], las siguientes benzacridinas presentan actividad carcinogénica, sobre la piel, decreciente según el orden que sigue: *7-9-10-trimetil*, *7-8-11-trimetil*, *5-7-11-trimetil* y *7-metil 9-fenil benzacridinas*.

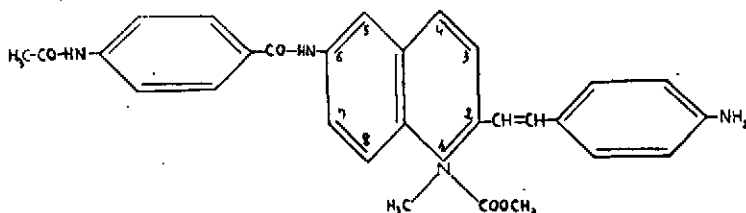
Por vía subcutánea, solamente dos, de las veinte benzacridinas ensa-

(60) LACASSAGNE, A., RUBALI, G., BUU-HOÏ, N. P. y LECOCQ, J., *Compt. rend. soc. biol.*, **139**, 955-7 (1945). [*C. A.*, **40**, 6627 (1946)].

yadas, se muestran activas, siendo éstas la 9-10-12-trimetil benzacridina y la 14-butil dibenzacridina, que ya mencionamos antes.

d) Derivados quinoleínicos

Tienen como esqueleto fundamental la estructura de la quinoleína. Cabe citar, por su importancia, la sustancia conocida con el nombre de Estiril 430 ó acetato de 2 (*p*-amino estiril), 6 (*p*-acetilamino-benzoil), *N*-metil quinoleínio (LXXXIII).



(LXXXIII)

El descubrimiento de las propiedades cancerígenas de este compuesto fué un hecho, en gran parte, casual. Tuvo lugar en los mismos animales de experiencia utilizados en los estudios sobre sustancias cancerígenas, pero cuando no se pensaba en este problema, sino en el de combatir la infección originada, en las ratas y ratones, por el *Trypanosoma Brucei*. Ensayando sustancias, con este fin, BROWNING y sus colaboradores (1933 y 1939) observaron, que la sustancia cuya fórmula hemos dado más arriba, y que era conocida por el nombre de Estiril 430, provocaba sarcomas en el ratón, en el punto donde se había inyectado subcutáneamente.

En 1936, fué confirmado este resultado por GULBRANSEN, por NIVEN y por el citado BROWNING, los cuales llegaron a la conclusión de que una sola inyección era suficiente para hacer aparecer un sarcoma.

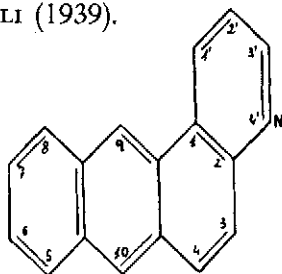
Este compuesto presenta la interesante particularidad de ser soluble en agua, mientras que los otros agentes químicos cancerígenos son, en su mayoría, liposolubles.

POURBAIX, DECLERE y MAISON han demostrado que esta sustancia provoca mutaciones en determinadas razas de levaduras (61), lo cual podría ser una prueba a favor de la teoría etiológica de las mutaciones, en la explicación del cáncer.

La  $\beta$ -antraquinoleína (LXXXIV), cuya estructura resulta de la sustitución, en el 1-2-benzantraceno, de un eslabón  $> \text{CH}$  (el 4') por un átomo

(61) MARTÍNEZ PÉREZ, R., Arch. Fac. Medic. Zaragoza, IV, I, 22 (1956).

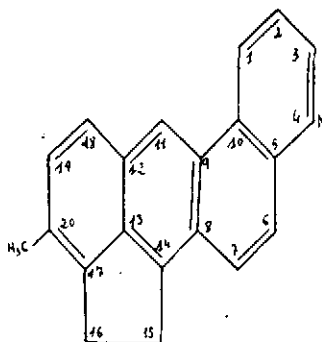
de nitrógeno, produce tumores, en el riñón de la rata, según han demostrado SEMPRONJ y MORELLI (1939).



(LXXXIV)

Una vez terminada esta revisión de los agentes químicos cancerígenos, de naturaleza exógena, pertenecientes a los dos grandes grupos A y B, creemos de interés señalar de nuevo, pero de una manera más general, las posibles relaciones comparativas entre unos tipos y otros, al objeto de quedarnos con alguna o algunas ideas simples, pero por lo mismo claras, que centren por fin nuestra atención, distraída necesariamente en el estudio particular o monográfico de cada compuesto cancerígeno, en una conclusión única, a ser posible.

Así, haremos notar que, excepto las benzacridinas, la 3-4-5-6-dibenzacridina, el 3-4-5-6-dibenzocarbazol y el 2-acetilamino fluoreno, los demás compuestos cancerígenos nitrogenados presentan una actividad muy inferior a la de sus isólogos no nitrogenados. Un ejemplo, de lo que acabamos de decir, puede encontrarse al comparar la 1-2-5-6-dibenzofenazina con el 1-2-5-6-dibenzantraceno, observándose que la primera, según dijimos, aparece inactiva. Casos semejantes tenemos en el 3-4-benzo 8-azofe-



(LXXXV)

nantreno, isólogo del 3-4-benzofenantreno, cuya actividad es nula según JOSEPH (1939), e igualmente en el 20-metil 4-azocolantreno (LXXXV),

isólogo nitrogenado del metilcolantreno (a la vez que homólogo de la  $\beta$ -antraquinoleína), que aparece también inactivo. Este último compuesto fué preparado por FIESER y HERSBERG en 1940.

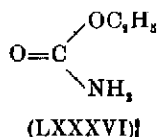
También debemos incluir, entre los compuestos cancerígenos, al *p*-nitrobenceno-azo-benzopireno, compuesto, que, por una parte, se puede considerar perteneciente a la serie de los hidrocarburos cancerígenos, y, por otra, a la de los compuestos nitrogenados. Fué preparado por FIESER y CAMPBELL, en 1938, y ensayado por DITTMAR, en 1942, inyectándolo subcutáneamente en el ratón; de esta manera, al cabo de los 4 ó 5 meses, obtuvo 7 tumores especiales, del tipo *hemangiosarcoma*, entre los 15 animales de ensayo, y, a la vista de tal resultado, deduce que debe existir una cierta afinidad selectiva del compuesto para los endotelios vasculares.

### C.—Otros compuestos orgánicos cancerígenos de naturaleza exógena

En la bibliografía existen referencias diseminadas de toda una serie de compuestos cuya actividad carcinogénica ha sido observada, y que, por sus peculiaridades estructurales, no pueden encajarse, de una manera fácil, en los apartados en que se han subdividido los dos grandes grupos A y B. Por este motivo, hemos reunido tales compuestos en un tercer grupo heterogéneo, que, por otra parte, no pretende, en manera alguna, ser exhaustivo.

#### a) Uretano (carbamato de etilo)

La actividad cancerígena de este compuesto (LXXXVI) fué descubierta por NETTLESHIP, HENSHAW y MEYER en 1943 (62).



Dichos investigadores observaron, que la inyección repetida de *uretano*, en el ratón, aumentaba claramente la proporción de adenomas pulmonares espontáneos, observación que fué confirmada por LARSEN y HESTON (1945) (63) y por JAFFE, lo mismo administrando el uretano por vía bucal que por medio de inyecciones intraperitoneales, y tanto sobre el ratón (1944) como sobre la rata (1947), animal este último en el que

(62) NETTLESHIP, A., HENSHAW, P. S. y MEYER, H. L., *J. Natl. Cancer Inst.* 4, 309 (1943) [C. A., 38, 4673 (1944)].

(63) LARSEN, C. P. y HESTON, W. E., *Cancer Research*, 5, 592 (1945) [C. A., 40, 397 (1946)].

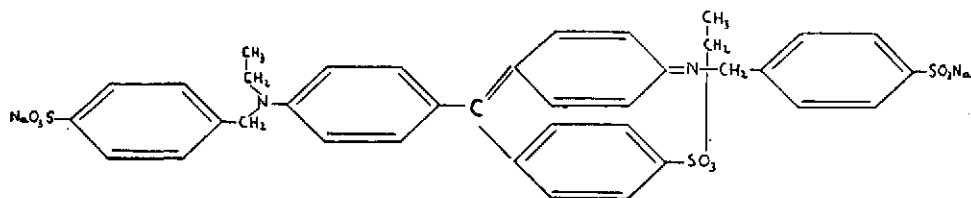
nunca se habían observado adenomas pulmonares espontáneos. Es curioso, sin embargo, que el uretano presenta propiedades anticancerígenas en los casos de leucemias mieloides o linfoides (64), pero sobre esto insistiremos posteriormente. ROSIN (65) ha estudiado también la proliferación de células epiteliales del pulmón, al cabo de una o dos semanas de la administración de uretano.

Sin embargo, un intento para demostrar la teoría sustentada por algunos autores, de que algunos productos de degradación del uretano producían tumores pulmonares en los ratones, ha fracasado en una serie de experimentos, llevados a cabo por LARSEN (66) usando etanol, carbonato amónico, bicarbonato sódico, cianuro, etc..

Un derivado de la tiourea: el *propil tiouracilo*, resulta también cancerígeno, según los trabajos de MOORE y otros (67), los cuales, usando tal sustancia, han provocado, en ratones, la formación de tumores, de pituitaria, así como carcinomas de tiroides.

b) *Verde luz S. F.*

También SCHILLER, en 1937, consiguió producir sarcomas en la rata inyectándole un colorante nitrogenado y sulfonado, el *Verde Luz S. F.*, (LXXXVII).



(LXXXVII)

En 1947, HARRIS (68), comprobó la acción cancerígena de esta sustancia, aunque no está dilucidado si dicha acción se debe a ella o a una impureza que le acompaña.

(64) PATERSON, E., THOMAS, I., HADDOW, A., y WATRINSON, J., *Approaches to tumour Therapy*, 401 (1947).

(65) ROSIN, A., *Cancer Research*, 9, 583 (1949).

(66) LARSEN, C. D., *Cancer Research*, 10, 230 (1950).

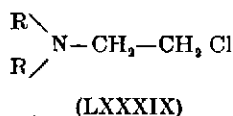
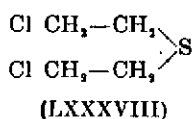
(67) MOORE, G. E., BRACKNEY, E. L. y BOOK, F. G., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 82, 643 (1953).

(68) HARRIS, P. N., *Cancer Research*, 7, 35 (1947).



c) *Mostazas y compuestos relacionados*

HESTON (69) describe un aumento en el número de tumores pulmonares en ratones (cepa A) expuestos al gas mostaza (*Iperita* o sulfuro de  $\beta$ -cloroetilo) (LXXXVIII), así como describe también (70) la aparición de tumores en ratones a los que se ha inyectado, subcutáneamente, mostazas nitrogenadas (LXXXIX).



Según HESTON y LORENZ, los rayos X tienen un efecto inhibitor sobre la acción cancerígena de la mostaza nitrogenada. ROGERS (71) describe la iniciación de adenomas pulmonares en el ratón por la exposición *in vitro* a la acción de la mostaza nitrogenada. Por otra parte, la actividad cancerígena de las mostazas y de las radiaciones ionizantes presenta puntos de contacto, no obstante lo cual, su acción, en la inducción de neoplasias, parece no aditiva.

Las mostazas nitrogenadas y sulfuradas, igual que el metilcolantreno, producen alteración en la constitución histopatológica y química de la corteza adrenal.

También las *etilenoinimas* aumentan la frecuencia de tumores pulmonares en los ratones, y SHIMKIN (72) señala además la inducción de tumores por administración de *trietilenomelamina* (trietileno-imina-s-triazina), en ratones. Se ha encontrado actividad cancerígena (73) sobre ratas y ratones, en las *N-acil etilenoinimas* y en algunos otros derivados monofuncionales de la etilenoinima, en la propia *etilenoinima* y en la  $\beta$ -*propiolactona*.

d) *Polímeros y plásticos*

Se ha comprobado que muchos polímeros y plásticos son cancerígenos por sí mismos, y OPPENHEIMER y OPPENHEIMER (74) comunican sus observaciones respecto a estos resultados, habiéndose llegado a establecer

(69) HESTON, W. E., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **82**, 457 (1953).

(70) HESTON, W. E., *J. Natl. Cancer Inst.*, **14**, 131 (1953).

(71) ROGERS, S., *Am. J. Pathol.*, **29**, 607 (1953).

(72) SHIMKIN, M. B., *Cancer*, **7**, 410 (1954).

(73) WALPOLE, A. L., ROBERTS, D. C., ROSE, F. L., HENDRY, J. A. y HOMER, R. F., *Brit. J. Pharmacol.*, **9**, 306 (1954).

(74) OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T. y STOUT, A. P., *Surgical Forum*, **4**, 672 (1954).

que pueden inducirse sarcomas, por implantación, en los tejidos de roedores, de *celulosa* comercial regenerada (purificada con metanol y benceno), películas de *Dacrón*, «*Kel-F*», *nylon*, *polietileno* (comercial y puro), *poliestireno*, películas de *cloruro de polivinilo*, algunas *siliconas*, y películas de *teflón*.

De los 144 tumores obtenidos por los OPPENHEIMER, en roedores, alrededor de un 80 % son fibrosarcomas.

DUCKREY y SCHMAHL (75) han descrito, hace poco, tumores inducidos por incrustaciones de *silice*.

LASKIN y otros (76) han conseguido también sarcomas por incrustación de *metacrilato de metilo (plexiglás)* y OPPENHEIMER ha obtenido un fibrosarcoma 313 días después de la inserción de una película de *seda* en los tejidos de una rata albina, siendo el primer ejemplo en el cual un tumor puede haber sido inducido por un polímero natural.

Este tipo de observaciones y la inercia general de tales polímeros, como polietileno, terileno y teflón, parece hacer inadecuada e imprecisa, toda teoría de acción puramente química, si bien, los factores físicos por sí solos son igualmente insuficientes para una explicación total. DUCKREY y SCHMAHL (77) han postulado la existencia de valencias residuales, sobre la superficie del polímero, como única explicación, pero ha sido necesario modificar dicha interpretación, al confirmarse la acción cancerígena del polietileno (78). Sin embargo, los citados autores aluden al hecho, demostrado por HOPFF, de que el polietileno puede ligarse intermolecularmente por puente de oxígeno en enlaces cruzados, lo cual demuestra, que el polietileno, no es tan inerte, como se supone comúnmente.

En el caso de las poliamidas (*nylon*, por ejemplo) ya no es necesario recurrir a los enlaces puente, pero hay que admitir, que, algunas de las valencias o radicales libres intermedios, pueden quedar como atrapados en la condensación y ser los responsables de la acción biológica.

Se encuentran en la bibliografía otros muchos casos contradictorios, lo cual permite concluir, que todavía es necesaria mucha experimentación en este campo. Así, las películas de *politetrafluoretileno*  $(-CF_2-CF_2)_n$  han sido calificadas de cancerígenas por OPPENHEIMER, y éstas sí que son completamente inertes; no reaccionan con el oxígeno y, de hecho, son tan resistentes, desde el punto de vista químico, que es difícil prever cualquier reacción en la que tomen parte. Se confía en que puedan lograrse explicaciones más satisfactorias con el uso de polímeros marcados

(75) DUCKREY, H. y SCHMAHL, D., *Naturwissenschaften*, 41, 534 (1954).

(76) LASKIN, D. M., ROBINSON, I. B. y WEINMANN, J. P., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 87, 329 (1954).

(77) DUCKREY, H. y SCHMAHL, D., *Z. Naturforsch.*, 7b, 353 (1952).

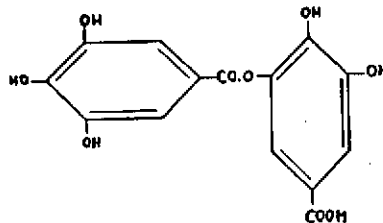
(78) DUCKREY, H. y SCHMAHL, D., *Z. Naturforsch.*, 9b, 529 (1954).



En este sentido, cabe citar los experimentos iniciados por DANISHEFSKY, al trabajar con polimetacrilato de metilo, marcado en su carbono metanólico, y con poliestireno con  $C^{14}$  en el carbono *beta*.

e) *Acido tánico*

También el *ácido tánico* (o m-galoil gálico) (XC) muestra actividad cancerígena. KORPASSY y sus colaboradores (79) describen la influencia de las proteínas dietéticas en la producción, sobre ratas, de una hemoblastosis experimental por ácido tánico. Igualmente es conocida la rápida producción de hepatomas malignos por la administración simultánea de ácido tánico y 2-acetilamino fluoreno (80).



(XC)

f) *Vitaminas*

Es interesante el resultado obtenido con las vitaminas, de las cuales, se han estudiado, en relación al problema del cáncer, la *biotina* y la *vitamina B<sub>12</sub>*, sustancias típicamente biocinéticas. Respecto a la biotina, se encontró que, suministrada diariamente a dosis de 2  $\mu$ gr, incrementaba la producción de tumores trasplantables en los ratones, siendo más marcado el aumento cuando se comparaba con los casos de animales tratados con *avidina* y con *sulfoguanidina*, que son biostáticas. La vitamina B<sub>12</sub> elevaba marcadamente el efecto cancerígeno del p-dimetilamino azobenceno (amarillo de manteca) en ratas alimentadas con una dieta deficiente en metionina.

g) *Factores de carencia*

Según algunos autores, que consideran el cáncer como una enfermedad de carencia (MAISIN), el agente, o más propiamente, la causa cance-

(79) KORPASSY, B. y MOSONYI, M., *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.*, 3, 353 (1953).

(80) MOSONYI, M. y KORPASSY, B., *Nature*, 171, 791 (1953).

rígena. es la deficiencia acusada del «factor Q», es decir, de una sustancia nueva, que dicen haber descubierto en la sangre. De acuerdo con esta teoría, STANB y colaboradores han comprobado, que, un régimen exento de colina basta para producir adenomas de hígado, e igualmente, en 1951, consiguió WILSON adenomas y cáncer de hígado con una alimentación carente de colina y de proteínas.

Por último, es curioso citar el hecho referido por algunos autores, según los cuales, se ha conseguido la formación de sarcomas, en el ratón y en la rata, inyectando, repetidamente, sustancias, de propiedades cancerígenas, poco previsibles, tales como la *glucosa* y el *ácido clorhídrico* en solución diluida. Con los dos compuestos, obtuvieron resultados positivos TAKAZAWA y NONAKA (1938) y SUNTZEFF, BARCOCK y LOEB, respectivamente. Sin embargo, son tan pocas las pruebas concluyentes, que no nos parece razonable incluir estas dos sustancias entre las cancerígenas, sino más bien sugerimos que se les considere como sustancias que presentan una acción coadyuvante de la verdaderamente cancerígena de otro agente, sea el que sea, que no se manifiesta.

Observamos, pues, por una parte, que el número de sustancias, calificadas como cancerígenas, es bastante considerable, y, por otro lado, llegamos a la conclusión, un tanto pesimista, de que la actividad cancerígena no está tan relacionada como se creyó, con un tipo especial de configuración molecular, relación, que, indudablemente, hubiera constituido una poderosa ayuda para la predicción, casi inmediata, de propiedades cancerígenas en los compuestos.

## VII

ESTIMACION CUANTITATIVA DE LA ACTIVIDAD  
CANCERIGENA DE LAS SUSTANCIAS

Vistos los principales compuestos químicos cancerígenos, y algo sobre el aspecto cualitativo de su actividad, trataremos ahora brevemente de un intento de evaluación cuantitativa. Para ésto nos parece útil ofrecer la tabla dada por IBALL (1939), [recogida de TRUHAUT (81)], en la que se encuentran los principales compuestos cancerígenos ordenados según su actividad decreciente y acompañados por un índice numérico que se determina dividiendo el número que indica el porcentaje de tumores que provoca cada uno («A») por el que nos da el período de latencia en días («B»), y multiplicando por 100.

TABLA I

COMPUESTOS	Núm. de ratones(*)	Núm. de tumores	A Porcentaje de tumores	B Período de latencia en días	Índice A/B x 100
9-10-dimetil 1-2-benzantraceno	20	13	65	43	151
20-metilcolantreno	18	8	100	99	101
3-4-benzopireno	9	7	78	109	72
Colantreno	49	28	57	112	51
5-6-ciclopenteno 1-2-benzantraceno	14	13	93	194	48
2-metil 3-4-benzantraceno	16	12	75	155	48
10-metil 1-2-benzantraceno	18	12	66,5	147	45
5-6-dimetil 1-2-benzantraceno	19	16	84	220	38
6-isopropil 1-2-benzantraceno	15	11	73,5	204	36
3-4-5-6-dibenzocarbazol	19	9	47,5	143	33
3-4-8-9-dibenzopireno	17	10	59	205	29
5-metil 1-2-benzantraceno	8	7	87,5	317	28
5-etil 1-2-benzantraceno	9	7	77,5	285	27
1-2-5-6-dibenzantraceno	65	41	63	239	26
3-4-dibenzofenantreno	18	12	67	387	17
1-2-5-6-dibenzocarbazol	9	4	44,5	263	17
5-n-propil 1-2-benzantraceno	20	6	30	192	16
3-4-5-6-dibenzacridina	28	11	39,5	357	11
3'-metil 1-2-5-6-dibenzantraceno	25	7	28	325	9
1-2-5-6-dibenzacridina	25	6	24	350	7

(\*) Sólo se consideran los ratones vivos en el momento de aparecer el primer tumor.

(81) TRUHAUT, R., *Biol. Méd.*, 38, 38 (1949).

Los valores de esta tabla se refieren a los obtenidos por ensayos sobre la piel del ratón.

Junto a esta clasificación podemos dar otra (Tabla II) propuesta por FIESER (1938) y tomada por nosotros del trabajo de TRUHAUT antes citado, en la que se expresa el período de latencia necesario para la aparición de sarcomas provocados por inyecciones subcutáneas, lo que es muy interesante, puesto que nos da una explicación de los hechos observados, por ejemplo, en los obreros de las fábricas de sulfato de cobre, en las de refinado de níquel, etc., los cuales presentan con mucha frecuencia cáncer de vías respiratorias, afectando especialmente a algunos huesos nasales (cornetes, etmoides), después de varios años de haber dejado de trabajar con aquellas sustancias, y además, habiéndose ocupado, en lo mismo, sólo durante dos o tres años. Estos detalles traen a nuestra memoria, de nuevo, aquellas consideraciones, que, sobre la dosis mínima, necesaria y suficiente, de sustancia cancerígena, hicimos al principio de este trabajo. Lo mismo se observó en el caso de algunos tintoreros, en los que aparecían cánceres vesicales, después de 15 ó 20 años de haber dejado el trabajo con derivados de la anilina, advirtiéndose, que, en los casos estudiados con este fin, los obreros solamente habían trabajado, con dichas sustancias, durante un período de 2 ó 3 años, como en el caso anterior.

TABLA II

Período de latencia corto	Período de latencia mediano	Período de latencia largo
3-4-benzopireno	1-2-5-6-dibenzantraceno	3-4-benzofenantreno
20-metilcolantreno	9-metil 1-2-benzantraceno	6-metil 1-2-benzantraceno
	o	
5-10-dimetil 1-2-benzantraceno	5-metil 1-2-benzantraceno	3-metoxi 1-2-benzantraceno
9-10-dimetil 1-2-benzantraceno	20-etilcolantreno	
10-metil 1-2-benzantraceno	2-metil benzofenantreno	

Esto, por lo que se refiere a los resultados obtenidos, en el aspecto cuantitativo de la cuestión. Por otro lado, se ha intentado la predicción del poder cancerígeno de los compuestos químicos (82), habiéndose representado gráficamente, por medio de una curva, la relación entre el índice carcinogénico experimental y el exceso de carga electrónica de la región mesofenántrica, producido por sustituyentes y heteroátomos, para el benzantraceno y varios de sus derivados más conocidos. Todo esto se com-

(82) BUU-HOI, N. P., DAUDEL, P., DAUDEL, R., LACASSAGNE, A., LECOQ, J., MARTÍN, M. y RUDALI, G., *Compt. rend.*, 225, 238 (1947).



prenderá mejor, cuando hayamos tratado del papel de la configuración electrónica, de los compuestos, en la interpretación de la actividad cancerígena de los mismos.

Así, pues, por medio de las curvas de que hablamos y de los datos conocidos sobre el exceso de carga, han podido predecirse índices carcinogénicos, por inter o extrapolación, según los casos. He aquí unos ejemplos, sobre derivados de la acridina y antraceno (Tabla III):

TABLA III

	Índice carcinogénico calculado		Índice carcinogénico calculado
5-6-benzacridina	0	1-3-dimetil 7-8-benzacridina	12
7-8- »	0	1-2- » » »	12
2-metil 5-6-benzacridina	0	2-3- » » »	15
3- » » »	0	6-metil benzantraceno	24
1- » » »	0	6-8-dimetil benzantraceno	70
10- » » »	0	7-8- » »	70
1-metil 7-8-benzacridina	0	6-7- » »	70
3- » » »	0	8-9- » »	70
2- » » »	0	6-9- » »	90
2-3-dimetil 5-6-benzacridina	0	5-9- » »	90
1-2- » » »	4	8-10- » »	120
1-3- » » »	6	7-10- » »	120
3-10- » » »	6	5-10- » »	120

Los valores que se obtengan experimentalmente, para estos compuestos, deberán coincidir con los anteriores, deducidos teóricamente.

También se ha sugerido, que un compuesto químico será cancerígeno, si, durante su metabolismo, libera suficiente energía en forma de radiación, de una determinada longitud de onda. Otros interpretan, que el poder cancerígeno, de un compuesto, dependerá de la facilidad con que pueda unirse el mismo a un determinado sistema enzimático (83). Como veremos más adelante, estas dos teorías tienen, en parte, su justificación, y muy bien pudiera ocurrir, que las configuraciones electrónicas especiales a que hemos hecho alusión, fuesen la condición requerida para este comportamiento, que, en dicho caso, sería una causa más inmediata del fenómeno de cancerización.

(83) ANDERSON, W., *Nature*, 160, 892 (1947).

## VIII

TEORIAS SOBRE EL MECANISMO DE ACCION  
DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS CANCERIGENOS

Este capítulo vamos a dedicarlo a la exposición de las principales teorías que existen sobre la manera de actuar, en el proceso de cancerización, los compuestos orgánicos cancerígenos.

Para ello, hemos procurado reunir y revisar numerosos datos y fuentes de información, que nos llevan a concluir que, hoy por hoy, no existe una explicación firme y segura, sobre el mecanismo íntimo de la cancerización; existen varias teorías, pero se refieren más bien a la explicación y predicción de actividad de diversos compuestos, al tomar como referencia la innegable carcinogenesis de otros, considerados como primarios.

Considerando las diferencias de actividad en los distintos compuestos cancerígenos y su relación evidente con las estructuras moleculares, se podría pensar en mecanismos de acción muy distintos para los diferentes tipos de compuestos. Sin embargo, se han encontrado elementos comunes, en los diferentes cancerígenos que se pronuncian a favor de una interpretación única (84).

Siguiendo a A. PULLMAN (85), que, juntamente con B. PULLMAN, ha de servirnos constantemente de guía en este capítulo, podemos decir, que, el problema de la actividad cancerígena es, con gran probabilidad, un problema de *reactividad química*. Además, dicha actividad, parece que viene determinada por las características electrónicas, de regiones bien definidas, de los compuestos.

(84) PULLMAN, A. y PULLMAN, B., *Cancérisation par les substances chimiques et structure moléculaire*. Ed. Masson et Cie., París, 1955.

(85) PULLMAN, A., *Boll. Scient. Fac. Chim. Ind. Bologna*, 13, 17 (1955).



Pero entendamos, que, afirmar que el problema de la actividad cancerígena, es, en primer lugar, un problema de reactividad química, no quiere decir que la cancerización sea el resultado directo de una reacción química entre la molécula del cancerígeno y el elemento celular que interviene en el fenómeno. Esto, con los conocimientos que se poseen actualmente, no se puede afirmar de una manera rotunda. Sólo se pretende decir, que la existencia de una reacción química, específica entre la molécula y un sustrato, parece imprescindible para que se manifieste la actividad, y es, en este momento, cuando podemos pensar en distintas posibilidades, que, en realidad, constituirán las distintas teorías que se han dado, sobre el mecanismo de acción de los agentes cancerígenos:

a) *Inducción directa*, en la que, el cambio químico que acompaña a la reacción cancerígeno+sustrato, provoca una mutación genética, transformando una célula somática en cancerosa.

b) *Acción indirecta*, que consiste en modificar el sustrato, de forma que aumente la probabilidad de acción de un agente mutante o de un virus, o sencillamente, de manera que facilite la proliferación de células cancerosas, aparecidas antes, en el organismo, de manera espontánea o no determinada.

c) *Acción catalítica*, que consistiría, simplemente, en facilitar ciertas transferencias de energía, suficientes para dar lugar a la aparición de otras reacciones, ligadas, más íntimamente, a la cancerización.

Todas estas posibilidades, de mecanismo, resultan compatibles con la idea fundamental de la necesidad de una fijación selectiva, de la molécula, sobre un elemento celular definido, aunque desconocido.

Según A. PULLMAN (*loc. cit.*) podemos, pues, explicar la naturaleza probable de las interacciones que tienen lugar entre la molécula cancerígena y su receptor celular (*adición electrofílica*) y las condiciones necesarias para que tales interacciones puedan darse (condiciones relativas a las regiones *M* y *L*). Pero sin embargo, volvemos a repetir, no es posible, aún, conocer el papel exacto que dichas interacciones desempeñan, en el desarrollo de la actividad cancerígena.

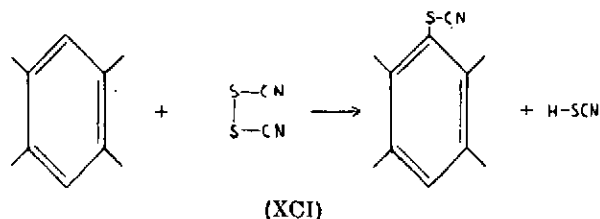
Hechas todas estas salvedades, pasamos a exponer, en concreto, dos de las teorías que se han propuesto, últimamente, para explicar el mecanismo de acción de los compuestos químicos cancerígenos:

A) Teoría de FIESER, o de los grupos sulfhidrilo.

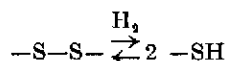
B) Teoría de SCHMIDT, o teoría electrónica.

### A.—Teoría de Fieser, o de los grupos sulfhidrilo

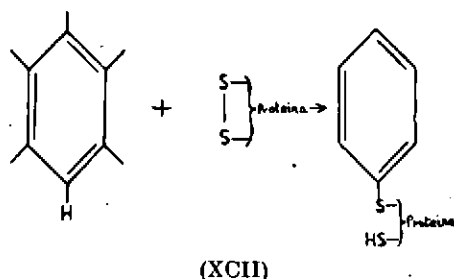
Esta teoría se debe, en realidad, a WOOD y FIESER, que la enunciaron, en 1941, al comprobar que el 3-4-benzopireno y el metilcolantreno, hidrocarburos típicamente cancerígenos, eran capaces de escindir la molécula de sulfocianógeno (86), con liberación de un grupo sulfhidrilo (-SH), según la reacción (XCI):



De acuerdo con esto, los citados autores suponen, que el mecanismo de acción primaria, de los hidrocarburos cancerígenos, consiste en la desnaturalización de ciertas proteínas celulares por adición de los hidrocarburos sobre los enlaces disulfuro, -S-S-, de dichas proteínas (XCII), dando lugar de esta manera a la aparición de grupos SH libres, lo que equivaldría a romperse el equilibrio



en favor de la forma reducida, o sea, de los grupos sulfhidrilo, con la producción consiguiente de la glicólisis anormal y del desorden característico del proceso canceroso:



En favor de esta hipótesis podemos citar varios hechos, que parecen confirmarla:

1.º En 1931, HAMMET había conseguido una proliferación de células epiteliales, de la piel del ratón, por pincelaciones diarias con una di-

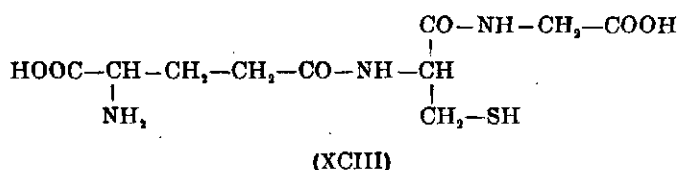
(86) WOOD, J. L. y FIESER, L. F., *J. Am. Chem. Soc.*, 63, 2323 (1941).



solución de *bencil-tiol*,  $C_6H_5-CH_2-SH$ , al 5 %, observándose en algunos casos, una tendencia al crecimiento anárquico, característico del cáncer.

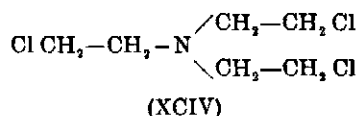
2.º REIMANN, por aplicaciones de tiocresol,  $H_3C-C_6H_4-SH$ , sobre la piel, ha logrado aumentar el número de mitosis y multiplicaciones, en la epidermis.

3.º Por otra parte, CRABTREE (1944 y 1946) (87) ha demostrado, que, la aplicación local de *bromobenceno*,  $C_6H_5Br$ , al rebajar la proporción de *glutation* reducido (XCIII), y transformarse él en mercapturato, inhibe la acción cancerígena, del 3-4-benzopireno, sobre la piel



4.º Más recientemente, la escuela americana, con GILMAN y PHILIPS (1946) (88), WINTROBE y colaboradores (1946), y otros, han señalado los efectos anticancerígenos, frente a algunos tipos de cáncer (enfermedad de HODGKIN), de sustancias con una acción vesicante, entre las que podríamos poner, como ejemplo, la *tri(β-cloroetil) amina* (XCIV).

Este compuesto, homólogo nitrogenado de la iperita, conocido también



como *mostaza nitrogenada*, es base de una serie de sustancias, de alto interés, ya sea por su carácter carcinogénico (que hemos citado en otro lugar, anteriormente) o por las propiedades cancericidas, a que haremos referencia en su momento. Ahora bien, según las experiencias bioquímicas, en particular, las de BINET y WELLER (1934) en Francia, de WATERS y STOCK (1945) (89) en América, de PETERS y sus colaboradores (1946) (90) en Inglaterra y, finalmente, de BACQ (1947) (91) (92), en Bélgica, parece ser, que los vesicantes actúan, precisamente, bloqueando los grupos -SH de las proteínas. En general, se ha demostrado, y no por interés puramente científico, sino incluso con fines militares, que, efectivamente, las sus-

(87) CRABTREE, H. G., *Cancer Research*, 4, 688 (1944).

(88) GILMAN, A. y PHILIPS, F. S., *Science*, 103, 409-415, 436 (1946).

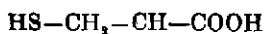
(89) WATERS, L. L. y STOCK, C., *Science*, 102, 601 (1945).

(90) PETERS, R. A. y WAKELIN, R. W., *Biochem. J.*, 40, 513 (1946).

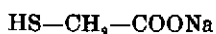
(91) BACQ, Z. M., *Bull. Acad. roy. med. Belg.*, 7, 453 (1942). [C. A. 41, 1041 (1947)].

(92) BACQ, Z. M., *Experientia*, 2, 349 (1946).

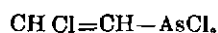
tancias con grupos -SH libres, tales como la *cisteína* (XCV), *glutión* y *tioglicolato sódico* (XCVI), ejercen una indudable acción desintoxicante frente a los agresivos vesicantes como la *iperita*, *lewisita* (XCVII) y *tri(β-cloroetil) amina*. Aquí tiene su origen la experimentación y el estudio emprendido en Francia, por ejemplo, sobre la actividad de la *iperita* y de las mostazas nitrogenadas, en su aspecto anticancerígeno.



(XCV)



(XCVI)



(XCVII)

No obstante, y a pesar de las conclusiones que parecen deducirse de estos hechos, existen otros que contradicen la hipótesis de WOOD y FIESER. Entre éstos podemos citar algunos:

1.º KENSLER y colaboradores (1942) (93) (94), POTTER (1942) (95) y COHEN y colaboradores (1943), observaron que los productos de desintegración del *p-dimetilaminoazobenceno*, compuesto cancerígeno, ya citado, inhibían ciertos sistemas enzimáticos y, en particular, los correspondientes a carboxilasas, transaminasas, ureasa y succinodeshidrogenasa, cuyas actividades parecen anularse cuando no existen grupos -SH. Esto parece demostrar, que, el compuesto cancerígeno tiene una acción contraria, completamente, a la prevista por la teoría de FIESER, puesto que, la inactivación de las proteínas enzimáticas, puede explicarse como efecto de un bloqueo, en el organismo, de los grupos -SH (responsables de la actividad) por los productos de desintegración del compuesto azoico.

2.º Análogamente, TRUHAUT (96) ha obtenido resultados que no están de acuerdo con la teoría de FIESER. Así, podemos hacer notar que:

a) La cantidad de glutión reducido (grupos -SH) en la sangre de los cancerosos no sólo no es mayor, sino que es menor que la normal, en la mayoría de los casos.

b) Ni el glutión reducido ni los aminoácidos que lo constituyen (glicocola, ácido glutámico y cisteína), actuando sobre las células en cultivo, son capaces de provocar la menor anomalía que recuerde la cancerización, aun a concentraciones bastante considerables (0,5 por 100).

(93) KENSLER, C. J., DEXTER, S. O. y RHOADS, C. P., *Cancer Research*, 2, 1 (1942) [C. A., 36, 1961 (1942)].

(94) KENSLER, C. J., YOUNG, N. F. y RHOADS, C. P., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 48, 22 (1941) [C. A., 36, 134 (1942)].

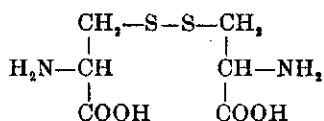
(95) POTTER, V. R., *Cancer Research*, 2, 688 (1942) [C. A., 37, 1501 (1943)].

(96) TRUHAUT, R., *Les facteurs chimiques de cancérisation. Le problème des substances cancérogènes endogènes*. Société d'édition d'Enseignement Supérieur, Paris, 1947.

Después de las consideraciones anteriores, se deduce, que es preciso someter la teoría de WOOD y FIESER al examen y comprobación experimental. En efecto, si fuese cierto que los hidrocarburos cancerígenos actuaban en el organismo, según la reacción expresada de liberación de grupos -SH, se revelaría también *in vitro* cierta reactividad química de estas sustancias, frente a los compuestos biológicos con uno o más enlaces -S-S-.

En este sentido, TRUHAUT y BUU-HOÏ encuentran los siguientes resultados:

1) TRUHAUT (*loc. cit.*) haciendo actuar el 3-4-benzopireno, el 1-2-5-6-dibenzantraceno y el metilcolantreno (hidrocarburos cancerígenos), sobre las proteínas de la sangre, *in vitro*, no observa ninguna aparición de grupos -SH, incluso después de la adición de *cistina* (XCVIII), aminoácido con un grupo disulfuro -S-S-.



(XCVIII)

2) BUU-HOÏ (97) utiliza para la observación de los grupos -SH liberados la reacción de color de los mismos con el nitroprusiato sódico, la cual nos permitiría afirmar si ha habido o no interacción entre el hidrocarburo y el compuesto biológico. Como compuestos cancerígenos utiliza BUU-HOÏ el metilcolantreno, el 3-4-benzopireno, el 1-2-5-6-dibenzantraceno, el 1-2-5-6-dibenzofluoreno y la 1-2-5-6-dibenzacridina, en orden de actividad creciente. Como sustancias biológicas, conteniendo enlaces disulfuro, utiliza directamente la cistina y la forma oxidada del glutatión, en un medio homogéneo (no la sangre como TRUHAUT). Tampoco en este caso se observa actividad alguna de los hidrocarburos cancerígenos sobre los compuestos disulfurados, a pesar de la extraordinaria sensibilidad de la reacción del nitroprusiato.

Por otra parte, no se ha podido lograr la inactivación fisiológica, ni siquiera parcial, de la hormona *insulina*, por acción de los hidrocarburos anteriores, aun empleando varias moléculas de éstos por una de insulina, lo cual constituye una comprobación más de los resultados de antes, puesto que es sabido, que son los grupos disulfuro, precisamente, los responsables de la actividad de aquella hormona, necesitándose al menos uno, para que ésta sea activa; esta hormona altera su actividad incluso

(97) BUU-HOÏ, N. P., *Compt. rend. Soc. Biol.*, 23, 725 (1943).

por sustancias tan inactivas como el azul de metileno, pero no por los hidrocarburos cancerígenos, los cuales a su vez, en otros casos en que no se trata de enlaces disulfuro, llegan a comportarse como sistemas químicos muy reactivos.

Los mismos WOOD y FIESER han sintetizado derivados sulfhidrúlicos (más concretamente, cisteínicos), de hidrocarburos cancerígenos como el 3-4-benzopireno, metilcolantreno, 10-metil 1-2-benzantraceno..., no habiendo manifestado actividad cancerígena, ninguno de ellos.

A la vista de todos estos hechos, podemos concluir, que, si en realidad existe interacción entre los compuestos químicos cancerígenos y las proteínas celulares, dicha interacción no ocurre según la reacción de FIESER.

Más satisfactoria parece la teoría que vamos a tratar a continuación.

### B.—Teoría electrónica de Schmidt

Para entrar en una explicación un poco detallada de la misma, es necesario tener presente las configuraciones estructurales electrónicas de las moléculas químicas, configuraciones que pueden ser tratadas según los conceptos de la Mesomería, o según los principios de la Mecánica Ondulatoria (98) (99).

Sabemos que existen dos tipos distintos de electrones: *electrones*  $\sigma$  muy localizados en la molécula y, por tanto, dotados de una actividad prácticamente nula, y *electrones*  $\pi$ , muy lábiles, lo que les permite cambiar de posición fácilmente. Así, se admite que, por ejemplo, en el benceno o en otro hidrocarburo aromático, los electrones  $\pi$  circulan alrededor de todo el anillo, dando lugar a la existencia de un *sistema mesómero* (resonante). Estos electrones  $\pi$  son los que se consideran responsables de las propiedades químicas de las moléculas.

Hasta aquí, la escueta exposición de las ideas más básicas de la teoría de la mesomería.

Por otro lado, la Mecánica Ondulatoria sustituye el concepto clásico del electrón puntual y localizado, por una noción más estadística, que se refiere a la probabilidad de encontrarse el electrón en un cierto lugar del espacio. El electrón se describe por una función matemática: su *orbital*  $\psi$  que depende de sus coordenadas, y cuyo cuadrado, en un punto determinado del espacio, representa la probabilidad de encontrar el electrón en ese punto. Los orbitales se obtienen por la resolución de la ecuación de

(98) PULLMAN, A., *La Mesomérie*. Editions de la Revue d'optique théorique et instrumentale.

(99) DAUDEL, R., *Bull. Assoc. franç. Cancer*, 35, 110 y 319 (1948).



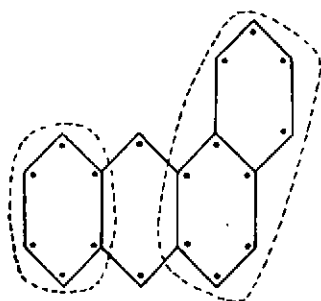
ondas, o ecuación de SCHRÖDINGER, correspondiente. El espacio que corresponde a las probabilidades de presencia del electrón, queda claramente delimitado por una figura geométrica simple, que es el «dominio de localización del electrón».

Además de por su orbital, un electrón está caracterizado por su *spin*, cuyo valor sólo puede ser  $+1/2$  ó  $-1/2$ , siendo un principio fundamental de la Mecánica Ondulatoria el *principio de exclusión de Pauli*, que dice, que, en un orbital determinado, no pueden existir más de dos electrones, y que en el caso de existir dos, sus *spines* serán opuestos.

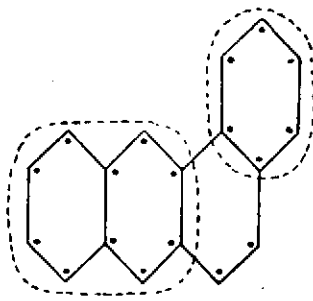
Con estas nociones previas y sumamente ligeras, pero creemos que suficientes para nuestros fines inmediatos, pasamos a considerar la teoría electrónica de la cancerización, en sí.

En 1938, el químico-físico OTTO SCHMIDT (100) (101), intuyó una posible relación entre la actividad cancerígena de las sustancias y la presencia de electrones  $\pi$  en sus sistemas moleculares. Según él, los hidrocarburos cancerígenos deberían su actividad a la existencia de gran densidad de electrones  $\pi$  en determinados puntos particulares de sus moléculas. De hecho, la actividad cancerígena de estos hidrocarburos desaparece en la hidrogenación de los mismos, que transforma los electrones  $\pi$  en electrones  $\sigma$ .

SCHMIDT explicaba, que cada grupo de 6 (núcleo bencénico) o de 10 electrones  $\pi$  (núcleo naftalénico) constituía como un sistema estable, aislado y cerrado, que, por sucesivos acoplamientos, podía dar lugar a los demás hidrocarburos polibencénicos, en los cuales quedarían, entonces, parejas de electrones  $\pi$  que gozarían de más libertad y que se podrían considerar como responsables de la actividad cancerígena. Veamos, por ejemplo, el caso del *1-2-benzantraceno* en el que podemos concebir a los dos electrones  $\pi$  constituyendo la región *mesoantracénica* (XCIX) o la *mesofenantrénica* (C):



(XCIX)



(C)

(100) SCHMIDT, O., *Ztschr. f. Physical. Chem.*, 39, 59 (1938).(101) SCHMIDT, O., *Ztschr. f. Physical. Chem.*, 42, 83 y 44, 185 (1939).

Si hubiese un sustituyente, próximo a estos puntos o regiones, disminuiría, según SCHMIDT, el espacio disponible para los electrones  $\pi$  y aumentaría la densidad electrónica, por lo cual, un hidrocarburo polibencénico, tendría un poder cancerígeno, tanto mayor cuanto más sustituidas estuviesen las posiciones *meso*. Aparte de ésto, veremos, que es fundamental, la influencia de los efectos electrónicos (por ejemplo, el *efecto inductivo*, ya sea negativante o positivante) de los sustituyentes sobre la molécula.

Por otro lado, al hacer el estudio cuantitativo cuidadoso, de la estructura electrónica de los hidrocarburos polibencénicos con núcleos condensados, ya sea por el método de la mesomería, ya por el de los orbitales moleculares, se ha puesto de manifiesto (102) (103) que la actividad cancerígena viene determinada, no sólo por la *región K* favorable [región correspondiente al enlace 9-10, llamada también región *mesofenantrénica*, y a la que corresponde el *índice de enlace móvil* (\*) más elevado de toda la molécula], sino también por una *región L* [correspondiente a una *mesoantracénica*, la de *índice de valencia libre* (\*\*) más elevado en la molécula], no tan reactiva como la anterior, pero a la que se puede considerar constituida por centros secundarios de reactividad. Junto a ésto, Mme. PULLMAN (104) refiere también el caso, excepcional, del *3-4-benzofenantreno* (CI), compuesto probadamente cancerígeno, y que, no obstante, carece de *región L* y en el que la *K*, es insuficientemente reactiva. En general, la *región K* es electiva o permisiva, mientras que la *L* es exclusiva (105).

Por otra parte, así como A. PULLMAN y B. PULLMAN encuentran una relación entre la estructura electrónica y el poder cancerígeno de la molécula, análogamente, para la interpretación de la actividad metabólica, P. DAUDEL y R. DAUDEL (106) han llegado a identificar una nueva región, la *región M*, (caracterizada por el llamado *índice de carga eléctrica*

(\*) Se denomina *índice de enlace móvil*, para una ligazón entre dos carbonos consecutivos, a la suma de los coeficientes de participación de las estructuras mesómeras portadoras del enlace móvil en la posición considerada. Según este criterio, a una unión entre carbonos, de un compuesto no saturado (tipo etilénico puro), correspondería un índice 1, en tanto que a un enlace exclusivamente saturado (tipo etano) habría que asignarle un índice de enlace móvil cero. Tal vez expresaría más exactamente este concepto, la denominación de *índice* o *grado de participación de enlace móvil*.

(\*\*) La necesidad del concepto de *índice de valencia libre* surge de la existencia de enlaces entre carbonos más o menos lejanos, pero no consecutivos, y su valor viene dado por el coeficiente de participación en el sistema mesómero de las fórmulas portadoras de los mismos. La existencia de tales enlaces, de interacción débil, crea la posibilidad de transformarse en valencias libres.

(102) PULLMAN, A., *Compt. rend.*, 236, 2508 (1953).

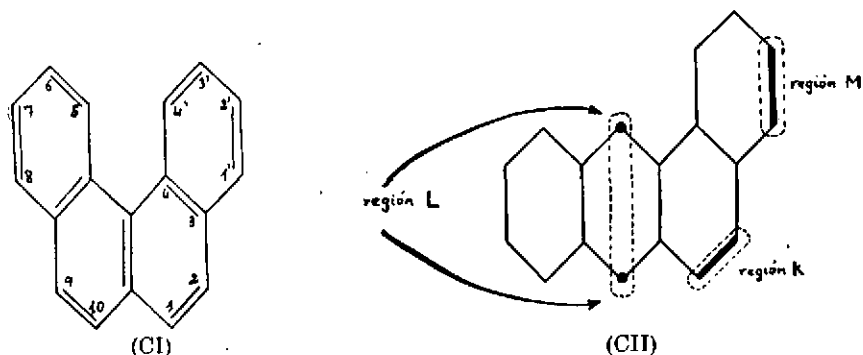
(103) PULLMAN, A., *Compt. rend.*, 237, 173 (1953).

(104) PULLMAN, A., *Compt. rend.*, 236, 2318 (1953).

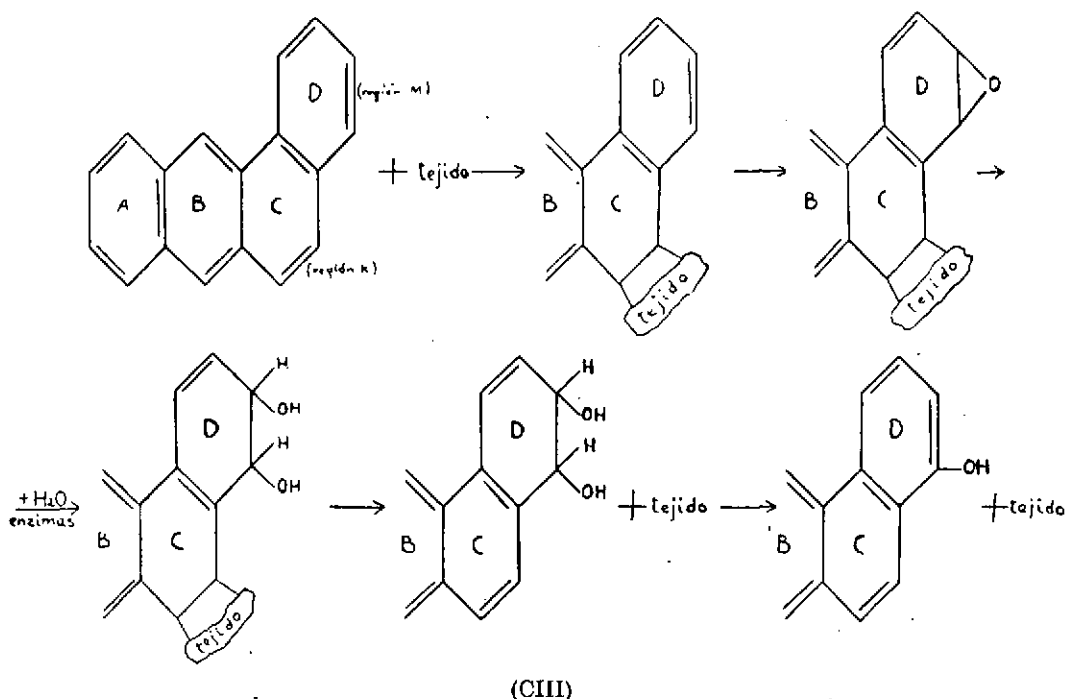
(105) HADDOW, A., *Ann. Rev. Biochem.*, 24, 694 (1955).

(106) DAUDEL, P. y DAUDEL, R., *Biol. Méd.*, 39, 201 (1950).

ca (\*\*\*) (CII). La *región M* es el centro metabólicamente activo de la molécula, que explica la hipótesis de la perhidroxilación y formación in-

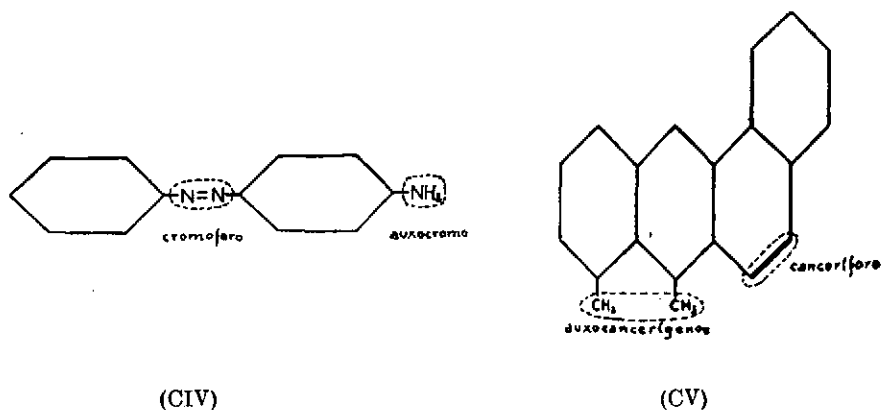


termedia de un epóxido, es decir, que corresponde a carbonos sobre los que tienen lugar las hidroxilaciones que gobiernan las primeras transformaciones metabólicas del cancerígeno químico (CIII).



(\*\*\*) El índice de carga eléctrica o atómica es una medida cuantitativa de los electrones  $\pi$  copulados o relativamente «libres», existentes alrededor de un átomo. En un hidrocarburo alifático o bencénico, desprovisto de sustituyentes y de heteroátomos, la carga eléctrica sería igual a la unidad en todos los carbonos de la molécula, es decir, que, en tales hidrocarburos, los enlaces y los carbonos sólo se diferenciarían por los dos índices anteriormente citados.

Con una significación análoga, aunque distinta en especie, a la de los términos *chromóforo* y *auxocromo* (CIV), correspondientes a los grupos responsables del color de una molécula y de la intensificación del mismo, respectivamente, BOYLAND (107) ha establecido las denominaciones de grupo *carcinóforo* o *cancerífero* y *auxocancerígeno* (CV), refiriéndose la pri-



mera a la región K, cuya existencia en un compuesto es necesaria para que se manifieste actividad cancerígena en el mismo, y la segunda a los sustituyentes, como el metilo, que desempeña el papel de exaltar dicha actividad.

Según SCHMIDT, los hidrocarburos cancerígenos, debido a sus zonas características de fuerte densidad electrónica, actúan como catalizadores de transferencia de energía, característica de los procesos biológicos, favoreciendo o provocando roturas y modificaciones estructurales en ciertas moléculas de la célula viva, en especial en las proteínas, llevando así a la *mutación cancerosa*. De esta manera, el cáncer podría ser considerado como una verdadera «enfermedad electrónica» (108).

Esta teoría explica, según el mismo mecanismo, la acción cancerígena de los agentes químicos y de las radiaciones, factores cancerígenos ambos, entre los que ya encontramos, al principio de este trabajo, otros puntos de contacto. A semejanza de lo que ocurre con las radiaciones, SCHMIDT considera también un umbral superior de densidad electrónica, por encima del cual desaparecería la actividad cancerígena de los compuestos, pues, a consecuencia de una demasiada reactividad, serían destruidos rápidamente una vez introducidos en el organismo.

En Francia, DAUDEL y Mme. PULLMAN (de soltera Mademoiselle

(107) BOYLAND, E., *J. de Chim. Phys.*, 47, 942 (1950).

(108) TRUBAUT, R., *Biol. Méd.*, 38, 41 (1949).



BUCHER) (109), químicos teóricos del equipo del Profesor LACASSAGNE, en el Instituto del Radio, han desarrollado e interpretado la teoría de SCHMIDT, sirviéndose de los *diagramas moleculares* (\*) o diagramas de mesomería, lo que permite determinar con bastante precisión, la distribución de cargas en los diversos puntos de las moléculas aromáticas.

Valiéndose de este método, Mme. PULLMAN demuestra que la hipótesis de SCHMIDT, al considerar los vértices *meso* de la estructura antracénica como puntos activos de los hidrocarburos cancerígenos, no era exacta. Señala, en cambio, en todos los compuestos de los que forma parte el núcleo fenantrénico (que son casi todos los hidrocarburos cancerígenos policíclicos), la existencia de una zona fuertemente cargada, situada en la región *meso* del fenantreno y constituida por un enlace muy denso, teniendo, en sus dos extremos, puntos cargados también fuertemente. Es decir, que esta gran densidad electrónica se localiza sobre un doble enlace determinado y los dos carbonos adyacentes. Mme. PULLMAN (110) dió primeramente a esta zona, que corresponde a un enlace aromático activado (9-10), el nombre de *región mesofenantrénica*, como ya dijimos. Pero teniendo en cuenta, que, las características de esta región pueden también aparecer en otros puntos de la molécula, por influencia de distintos factores (grupos sustituyentes, por ejemplo), es por lo que, la misma Mme. PULLMAN (1945), sustituyó aquella denominación, por la más general de *región K*.

Por los resultados obtenidos, se deduce, que, realmente, debe existir una relación muy estrecha entre la *región K* y la actividad bioquímica de las sustancias examinadas.

Según los estudios realizados, la actividad cancerígena aparecerá cuando la carga de la *región K* sobrepase el valor de 1,38e [Mme. PULLMAN, (*loc. cit.*)].

En 1946, B. PULLMAN (111) extendió la teoría electrónica a los compuestos azoicos cancerígenos, en los que la mayor densidad de carga electrónica se encuentra localizada entre los dos nitrógenos del grupo azo,  $-N=N-$ , constituyendo la llamada *región K'*.

Sobre la base de todas las consideraciones precedentes, se ha podido explicar, de la misma manera, la influencia de los sustituyentes (especialmente del  $-CH_3$ ), que, según la posición que ocupen, darán lugar a distintas transferencias electrónicas, que pueden llegar incluso a invertir el

(\*) Se entiende por *diagrama molecular* la representación esquemática de una estructura química con indicación de los valores numéricos de los distintos índices de estructura (índice de enlace móvil, índice de valencia libre, etc.).

(109) DAUDEL, R. y PULLMAN, A., *Compt. rend.* 222, 663 (1946).

(110) PULLMAN, A., *Compt. rend.*, 221, 140 (1945).

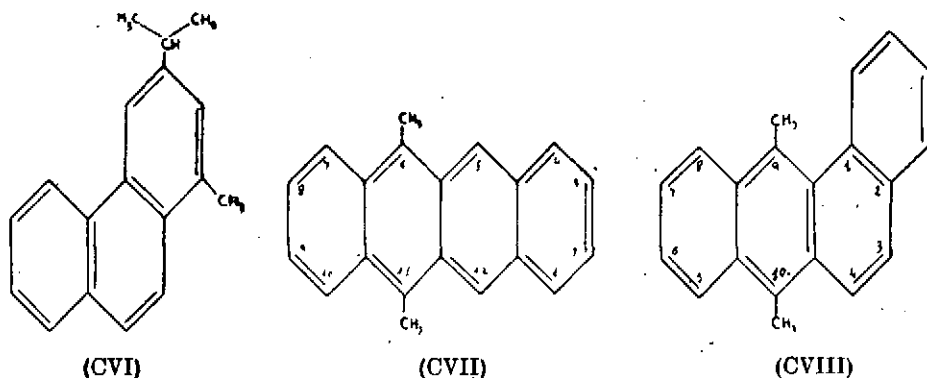
(111) PULLMAN, B., *Compt. rend.*, 222, 1501 (1946).

sentido de la actividad cancerígena, y así, entre los aciertos de mayor importancia de la teoría electrónica, que demuestran su valor, se encuentra el de la interpretación de la diferencia esencial existente entre los *derivados metilados* de la 7-8-benzacridina, activos por lo general, como se ha encontrado experimentalmente, y los de la 5-6-benzacridina, de ordinario, mucho menos activos. Esto queda claro, desde el punto de vista de la teoría electrónica, puesto que el nitrógeno, más electronegativo que el carbono, y que por lo tanto, atrae más hacia él la carga electrónica, está más cerca de la *región K* en el caso de las 5-6-benzacridinas.

De la misma manera, se explica la actividad de los compuestos 1-2-5-6- y 1-2-7-8-dibenzantracenos, al igual que la inactividad del 1-2-3-4-dibenzantraceno, isómero de los anteriores.

WOLF (112) ha preparado varios compuestos con vías a ensayar, también, la influencia del doble enlace 9-10, del fenantreno, sobre la actividad cancerígena. Entre dichos compuestos tenemos el 1-metil 3-isopropil fenantreno (CVI) en el que BERENBLUM (113) ha encontrado una débil actividad cancerígena.

Otro compuesto estudiado por WOLF (*loc cit.*), es el 6-11-dimetil nftaceno (CVII), isómero del 9-10-dimetil 1-2-benzantraceno (CVIII), compuesto fuertemente cancerígeno, en el que aparece el sistema fenantrénico, que no existe en el otro.



Otro caso muy curioso es el de los *derivados metilados del benzantraceno*, en los que, según Mme. PULLMAN y B. PULLMAN, se comprueba un paralelismo sorprendente entre el poder cancerígeno, determinado experimentalmente, y el exceso de cargas en la *región mesofenantrénica*, determinado por el cálculo. El efecto activante o exaltante del poder cancerígeno, que presentan los grupos alquilo, queda perfectamente explica-

(112) WOLF, G., *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 2673 (1953).

(113) BERENBLUM, I., 24th. *Ann. Rept. Brit. Empire Cancer Campaign*, 126 (1947).

do por la acción repulsiva, de tales grupos, frente a los electrones. En otras palabras, esto es debido al efecto *electrómero* negativante del grupo alquilo, sustituyente de primera clase. Para explicar, ahora, el papel preponderante del grupo metilo, en la actividad cancerígena, cabe aducir, además del efecto *electrómero*, el de *hiperconjugación* o efecto BAKER-NATHAN, también de carácter negativante, y que, como se sabe, es originado por los sustituyentes alquílicos, siendo máximo en el metilo, que, entre éstos, es el radical menos sustituido, puesto que el carbono lleva ligados tres hidrógenos.

Además de apoyarse en los ya convincentes resultados de sus investigaciones, MME. PULLMAN y B. PULLMAN, encuentran nuevos argumentos, que revalidan la teoría electrónica, en las investigaciones de A. ROBINSON (114) sobre la actividad de los *derivados del benzantraceno*, derivados, en los cuales, la sustitución de un anillo bencénico por uno tiofénico, no lleva consigo la desaparición del poder cancerígeno, sucediendo lo mismo con la sustitución de cualquier núcleo que no sea el portador de la región *mesofenantrénica*. Es más, si en el 1-2-benzantraceno, que, como dijimos, es inactivo, o muy débilmente activo, se lleva a cabo la citada sustitución por el núcleo tiofénico, éste se hace activo, lo cual es debido a la concentración de cargas en la *región K*, por el efecto de mesomería que provoca el heteroátomo.

Un fenómeno análogo tiene lugar en el *benzocarbazol*, en donde el heteroátomo es el nitrógeno. Por el contrario, si se reemplaza el núcleo portador de la *región K*, se obtiene un compuesto inactivo. El mismo efecto se consigue al hidrogenar dicha región en un compuesto activo, como es el *metilcolantreno*, mientras que la hidrogenación de otras regiones, en moléculas semejantes, no lleva consigo, necesariamente, la desaparición de la actividad de las mismas.

BADGER y REED (115), llevaron a cabo también un examen experimental sistemático sobre la reactividad de la *región K*, en función de las concentraciones de cargas, calculadas teóricamente en las distintas series de derivados cancerígenos de hidrocarburos aromáticos tetracíclicos. La reacción de ensayo consiste en la adición de tetróxido de osmio, que, en estas moléculas, tiene lugar, precisamente, sobre la región que se estudia. Los resultados obtenidos, demostrarían, según el matrimonio PULLMAN, un paralelismo entre la carga de la *región K*, el poder de adición del tetróxido de osmio y la actividad cancerígena de la molécula.

La teoría electrónica explica también, según han demostrado LACAS-

(114) ROBINSON, A., *Brit. J.*, 1, 945 (1946).

(115) BADGER, G. M. y REED, R. J., *Nature*, 161, 238 (1948).

SAGNE, BUU-HOÏ y RUDALI (1945) (116), el decrecimiento de la actividad de sustancias cancerígenas, al estar en presencia de otras sustancias, de estructura suficientemente semejante. Así, se puede pensar en un compuesto que tenga una *región K* próxima al umbral y que se introduce en el organismo a la vez que otra sustancia con una *región K* fuerte; al entrar ambas en interacción, puede resultar entorpecida la actividad de la sustancia cancerígena por la de la otra. Las leyes de la probabilidad, bastarían, pues, para explicar el fenómeno de inhibición de la actividad cancerígena. La *región K*, responsable de la cancerización, tendría así, un papel fundamental en la acción de las sustancias antagónicas. Respecto a ésto, es una confirmación interesante, el hecho de que las sustancias cuya *región K* tiene una densidad electrónica muy por debajo del umbral, no parecen poseer acción antagonista. De aquí, que se pueda prever también la existencia de un *umbral de inhibición*, muy próximo, probablemente, al de *cancerización*.

Según todos estos fenómenos e interpretaciones, queda demostrado, que la *región K* (o *K'*, para los compuestos azoicos) interviene, en realidad, directa o indirectamente, en los procesos de cancerización; puede pensarse, pues, que dicha región es el asiento de múltiples fenómenos de interacción electrónica entre el hidrocarburo cancerígeno y una molécula de la célula, interacción que puede ser de los mismos y variados tipos que las reacciones químicas (catálisis, ruptura, adición, etc.). Igualmente, se puede admitir que es también asiento de las perturbaciones energéticas, que pueden intervenir en el origen del cáncer.

Posteriormente DAUDEL (117) (recuérdense las características de su *región M*), con BOYLAND y WEIGER (118), admitió la formación de un complejo de adición entre las moléculas cancerígenas y los tejidos sometidos a su acción.

Los anteriores autores señalan, que, *in vivo*, los compuestos son atacados en su región más reactiva solamente, mientras que, por el contrario, *in vitro* y bajo la influencia de oxidantes, ocurre siempre. A tales observaciones se debe, el que, dichos autores, saquen la conclusión de que, durante el metabolismo, la región reactiva debe permanecer bloqueada por formación de un complejo eventual, cuyas condiciones teóricas de formación y estabilidad, han sido estudiadas por DAUDEL (119), el cual expone, que, si admitimos que la formación del complejo de adición, ne-

(116) LACASSAGNE, A., BUU-HOÏ, N. P. y RUDALI, G., *Brit. J. Exptl. Path.*, 26, 5 (1945) [*C. A.*, 39, 3829 (1945)].

(117) DAUDEL, R., *Compt. rend.*, 226, 1546 (1948).

(118) BOYLAND y WEIGERT, *British Medical Bulletin*, 4, 968 (1947).

(119) DAUDEL, R., *Bull. Assoc. franç. Cancer*, 35, 319 (1948) y 8.º Congreso de Química Biológica, París, octubre, 1948.

cesario para la cancerización, sólo puede formarse en ciertos puntos particulares de la célula, queda explicado, perfectamente, el por qué, mezclando una sustancia cancerígena muy activa con otra menos activa, esta última puede ocupar determinados puntos, que podemos llamar débiles o cancerizables, y proteger así, a la célula, frente a la acción de la primera sustancia, más activa. Además, según el mismo DAUDEL, parece haber sido demostrada la existencia de los complejos a los que se ha hecho referencia. Así, por ejemplo, MILLER y MILLER (120) han encontrado un complejo, constituido por el *p*-dimetil-amino azobenceno y un constituyente celular, en el hígado de ratas, que habían sido tratadas con dicho compuesto (*p*-dimetil-amino azobenceno). También MAYER (121) ha puesto de manifiesto la existencia de otro complejo de este tipo, formado por la quinon-diimina y los núcleo-proteídos de los cromosomas; junto a este hecho, se ha observado, que, en la desintegración de algunos compuestos cancerígenos nitrogenados, se forma quinon-diimina, lo cual, hace pensar, que, en efecto, su combinación con los nucleoproteídos, debe estar íntimamente relacionada con el proceso de cancerización. El compuesto cancerígeno 9-10-dimetil 1-2-benzantraceno forma también un complejo con las proteínas, al que se debe, según GREEN (122), la detención del desarrollo embrionario observado por el citado autor, en el tratamiento con dicho derivado del benzantraceno. En este caso, se trataría de un efecto inhibitor indirecto, del compuesto cancerígeno. BOYLAND (123) señala, a su vez, que los compuestos aromáticos, en general, forman complejos con derivados de la purina, como es el ácido desoxiribonucleico.

BOOTH, BOYLAND y ORR (124), en un estudio espectroscópico de la naturaleza de los complejos formados por las purinas con compuestos aromáticos, encuentran que los cambios de absorción en el infrarrojo, en la formación de complejos cristalinos de cafeína y ácido tetrametil úrico con hidrocarburos policíclicos, dibenzocarbazoles y otros compuestos aromáticos policíclicos, son pequeños, pero siempre en la misma dirección, lo cual hace suponer, que, los complejos, deben formarse por fuerzas atractivas entre los dos componentes, mutuamente polarizados.

En el desarrollo de la teoría electrónica de la cancerización, por el método de los *diagramas moleculares*, se hace uso de los conceptos de *carga de vértice* y *carga de enlace*. Sin embargo, por razones teóricas, DAUDEL

(120) MILLER, y MILLER, *Cancer Research*, 7, 469 (1947).

(121) MAYER, R., 8.º Congreso de Química Biológica, París, octubre, 1948.

(122) GREEN, E. U., *Cancer Research*, 14, 591 (1954).

(123) BOYLAND, E., 2.º Congr. intern. biochim. (Resúmenes), pág. 462, París, 1952.

(124) BOOTH, J., BOYLAND, E. y ORR, S. F. D., *J. Chem. Soc.*, 598 (1954).

y colaboradores (125) han creído más conveniente utilizar, en vez de estos dos conceptos, los de *índice de valencia libre*, *índice de enlace* y *carga atómica*, que ya vimos cómo quedaban relacionados con las significaciones de las *regiones L, K y M*, respectivamente. Siendo, pues así, la carga de la región activa puede definirse como la suma de las cargas de los dos átomos que la constituyen. Precisamente, LACASSAGNE y sus colaboradores (126) adoptaron esta última definición para su clasificación de las sustancias cancerígenas, y observaron, que, dentro de una misma familia, los resultados son iguales que los que se obtienen valiéndose de la definición primitiva; no obstante, el valor que se encuentra para el umbral, es distinto, pues mientras antes era de 1,29 e, ahora es de unos 2 e, para los derivados del benzantraceno.

Más tarde, Mme. PULLMAN, en colaboración con BERTHIER y otros (127), llevó a cabo un estudio sistemático de las estructuras electrónicas de las sustancias cancerígenas, por el método de los *orbitales moleculares* de COULSON y LONGUET-HIGGINS, con el que se puede obtener una mayor uniformidad, dentro de las aproximaciones empleadas, e introducir el factor energético, que no se había tenido en cuenta hasta ahora. A la vista de los resultados que se obtuvieron, se puede afirmar, que existe, en realidad, bastante concordancia con lo deducido siguiendo el método de la mesomería, a pesar de lo cual, se han observado hechos, que, aparentemente, no pueden ser explicados por la teoría electrónica de la cancerización. Tal es, por ejemplo, el del poder cancerígeno mucho mayor en la  $\beta$ -naftilamina que en la  $\alpha$ -naftilamina. Efectivamente, si suponemos, con DAUDEL, que las cargas tienden a ser más débiles en el caso de la *beta*, el índice de enlace, en cambio, es más fuerte, y por lo tanto, estos dos factores, que parecen influir en la aparición de la actividad cancerígena, varían inversamente en este caso, resultando, pues, difícil interpretar, o explicar, teóricamente, la diferencia de actividad entre ambas moléculas. Sin embargo, existen otros hechos que nos inducen a pensar, que la sustancia activa no es la  $\beta$ -naftilamina en sí, sino un producto de su transformación metabólica, quizás de naturaleza quinónica, que se elimina por la orina, actuando sobre el epitelio vesical. Según WILEY, esta sustancia se elimina en la orina del perro bajo la forma de derivado hidroxilado en 1, como ya vimos; por ello, sería en este metabolito hipotético en el que deberían cumplirse las condiciones exigidas por la teoría electrónica. Probablemente, la actividad cancerígena de otras sustancias puede atribuirse también a sus productos de transformación metabólica,

(125) DAUDEL, R., *Revue Scientifique*, 84, 489 (1946).

(126) LACASSAGNE, A., y cols., *Compt. rend. Acad. Sciences*, 225, 238 (1947).

(127) PULLMAN, A., BERTHIER, G., COULSON, CH., GREENWOOD, H., *Compt., rend.*, 226, 1906 (1948).

y, en relación con ésto, encontramos, por ejemplo, que COOK y SCHOENTHAL (128) señalan, como producto del metabolismo del 3-4-benzopireno, al derivado hidroxilado del mismo, en el C 8, es decir, al compuesto 8-hidroxi 3-4-benzopireno, que es débilmente cancerígeno, presentando gran actividad su éter metílico, o sea, el 8-metoxi 3-4-benzopireno.

Hemos intentado, en este capítulo, ofrecer una visión, de conjunto, de los principales problemas que plantea la teoría electrónica de la cancerización y la manera de resolverlos.

Aunque, sin duda, la teoría es todavía incompleta, no es menos cierto que posee un indiscutible valor, que queda bien patente con sólo recordar, con LACASSAGNE, la concordancia, prácticamente general, que existe entre los resultados obtenidos experimentalmente y los calculados según la teoría electrónica. El matrimonio PULLMAN, que con tanto acierto se ha servido de las teorías electrónicas más modernas para interpretar un hecho, tan eminentemente experimental por otra parte, como es el de la cancerización, escribía: *Hay, en el momento actual, un conjunto de datos teóricos y experimentales, que convergen hacia conclusiones precisas sobre el carácter electrónico del proceso de cancerización.*

Todas estas consideraciones nos hablan, pues, del valor actual de la teoría electrónica de la cancerización, independientemente de que pueda verse, más adelante, suplantada o modificada por otras todavía más precisas.

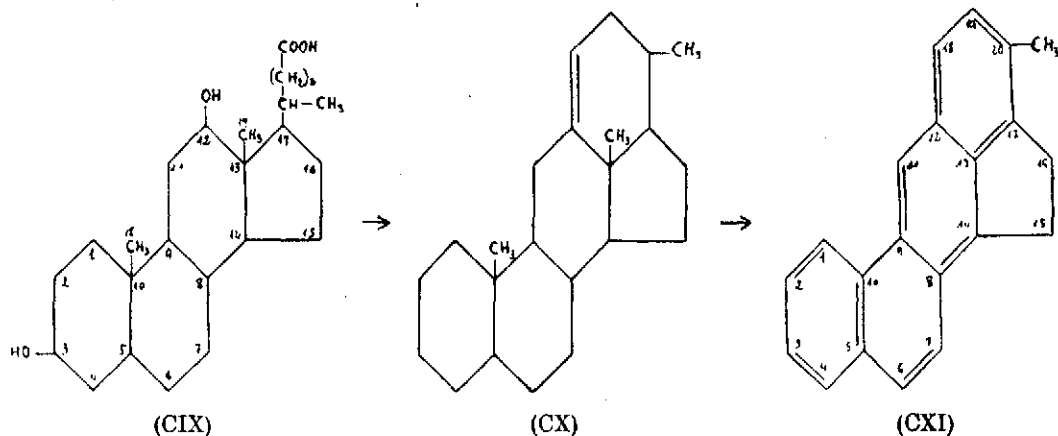
(128) COOK, J. W. y SCHOENTHAL, R., *Brit. J. Cancer*, 6, 400 (1952).

## IX

## SUSTANCIAS CANCERIGENAS DE NATURALEZA ENDOGENA

A pesar de la mayor intimidad, de las sustancias que incluiremos en este grupo, con el organismo animal, no fué en ellas, precisamente, en las que se pensó primero como una de las posibles causas de cancerización, sino cuando se observaron las grandes relaciones y semejanzas, existentes entre la estructura de las mismas y la de algunos hidrocarburos, probadamente cancerígenos y de los más activos, tales como el *1-2-5-6-dibenzantraceno*, el *3-4-benzopireno* y los *colantrenos* (ya citados repetidamente), en todos los cuales, así como en otros muchos compuestos cancerígenos, se encuentra el esqueleto del fenantreno.

Pero, no encontrándose estos hidrocarburos en el organismo vivo, seguía sin poderse probar su influencia en la aparición de cáncer espontáneo, hasta que WIELAND y SCHLICHTING obtuvieron, en 1925, el *metilcolantreno*, fuertemente cancerígeno, a partir del *ácido desoxicólico* (CIX) (un ácido biliar), y a través del *deshidronorcoleno* (CX), hidrocarburo, que, por deshidrogenación, daba el *metilcolantreno* (CXI), según el siguiente esquema:





Asimismo, GHIRON y después KENNAWAY, empleando ácido desoxicólico, consiguieron producir tumores en el tejido conjuntivo de ratones.

Las sustancias a las que queremos hacer referencia, pertenecientes al grupo de los esteroides, existen normalmente en el organismo, en donde desempeñan un importante papel. Como principales, podemos citar las siguientes:

- a) *esteroles*, especialmente el colesterol.
- b) *ácidos biliares*.
- c) *hormonas sexuales*.
- d) *hormonas corticoadrenales*.

Todos estos compuestos presentan la estructura ciclopentanofenántrica, común a todos los esteroides, y, en la cual, el anillo fenántrico, existente en la mayoría de los hidrocarburos cancerígenos, puede encontrarse más o menos hidrogenado.

Como ya hemos visto, y seguiremos viendo, parece confirmarse la existencia de cierta relación química entre estos compuestos y algunas moléculas cancerígenas, y así, se puede obtener también el *metilcolantreno* a partir de otros *ácidos biliares* distintos del desoxicólico, o del *colesterol*, pareciendo posible, por lo tanto, que dicho hidrocarburo se encuentre en los organismos como consecuencia del metabolismo del colesterol.

Si examinamos el esquema anterior de la síntesis del *metilcolantreno* a partir del *ácido desoxicólico*, es decir, de la síntesis de un esqueleto pentacíclico a partir de uno tetracíclico, observaremos, que, además de la deshidrogenación de los ciclos hidroaromáticos, tiene lugar la formación de un nuevo ciclo, a expensas de los carbonos de la cadena lateral que soporta el ciclo pentagonal del compuesto primitivo. Se comprende pues, fácilmente, que esta transformación no podría verificarse a partir de hormonas naturales, ni aún de las de estructura esteroide, toda vez que en ellas no existe dicha cadena lateral, pudiendo, por lo tanto, originar solamente compuestos tetracíclicos. Referente a esto se sabe, que SHOPPEE (129) ha efectuado estudios sobre la eventualidad de una transformación metabólica del *17- $\alpha$ -metil-D-homoandrostano*, en *metilcrisenos* cancerígenos.

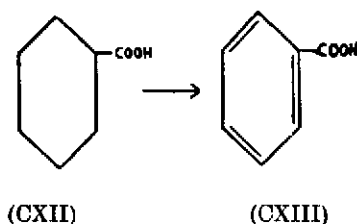
Considerando todo lo anterior, parece natural pensar, con COOK y KENNAWAY (1933), que, en el organismo, sede de los procesos químicos más complejos, podrían verificarse, igualmente, las anteriores transformaciones de compuestos naturales en compuestos cancerígenos, en las condiciones bioquímicas precisas, y, de esta manera, la producción del cáncer sería efecto de compuestos químicos endógenos, quedando explicada

(129) HIEGER, I, *Nature*, 161, 385 (1948).



la aparición de cánceres espontáneos en órganos profundos (vísceras, por ejemplo), para los que resulta difícil pensar en la acción de agentes externos.

En la obtención, en el laboratorio, de compuestos cancerígenos a partir de moléculas fisiológicas, una de las fases consiste, según hemos visto, en la deshidrogenación de estas últimas; hoy día, sabemos ya, por el estudio de las hormonas sexuales (foliculina, equilenina, etc.), que el organismo es capaz de realizar esta deshidrogenación de ciclos hidroaromáticos. Por otra parte, ha demostrado BERNHARD (130), que el *ácido ciclohexanocarboxílico* (CXII) sufre una deshidrogenación durante su metabolismo en el hombre, perro y conejo, pasando a *ácido benzoico* (CXIII). En



1947, DICKENS (131) consiguió la misma transformación, por acción de cortes de hígado de conejo sobre el citado ácido ciclohexanocarboxílico. De manera análoga, son deshidrogenados a sistemas aromáticos otros derivados del mismo ácido ciclohexanocarboxílico, como por ejemplo, la hidrobenzamida.

Estas consideraciones iniciales excitaron la curiosidad científica, siempre despierta en este sugestivo campo de la química del cáncer, y se emprendieron numerosos estudios e investigaciones, que, siguiendo a R. TRUBAUT (132), dividiremos en tres grupos:

- 1.º Investigaciones cuyo objeto era demostrar la acción cancerígena, en condiciones determinadas, de compuestos normales del organismo.
- 2.º Investigaciones que tienden a poner de manifiesto las transformaciones de dichas moléculas fisiológicas en compuestos cancerígenos, bajo la influencia de distintos factores.
- 3.º Investigaciones encaminadas a aislar sustancias cancerígenas del organismo canceroso.

(130) BERNHARD, K., *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, 248, 256 (1937).

(131) DICKENS, F., *Nature*, 159, 839 (1947).

(132) TRUBAUT, R., *Biol. Med.*, 38, 93 (1949).

### 1.º Acción cancerígena de compuestos normales del organismo

Los compuestos que vamos a estudiar en este sentido, son los ácidos biliares, el colesterol y las hormonas estrógenas.

#### a) Ácidos biliares

Los ácidos biliares son sustancias del grupo de los esteroides (estructura ciclopentanofenantánica), que poseen una función carboxilo en la cadena lateral del ciclo pentagonal.

Entre ellos se encuentra el *ácido desoxicólico* (CIX), esteroide de estructura *colano*, con los anillos A y B en posición relativa *cis*, del que ya hemos visto su transformación en *metilcolantreno*.

En 1938, obtuvo GHIRON fibrosarcomas en 2 ratas, sobre 5 ensayadas, introduciendo polvo de este ácido, bajo la piel dorsal de los animales; dicho resultado fué confirmado dos años después por COOK, KENNAWAY y KENNAWAY (1940), inyectando en ratones, el ácido disuelto en aceite de sésamo; la cantidad total inyectada fué de 70 mg en 300 días, con lo que consiguieron 3 tumores de células fusiformes, pero no trasplantables, en 3 ratones, sobre 10, de los cuales solamente 5 sobrevivieron más de 6 meses. Los mismos autores obtuvieron, con una cantidad de ácido biliar mucho menor, un tumor idéntico a los anteriores, después de 155 días, en 1 ratón sobre 10, de una cepa bastante propensa al cáncer.

Los citados investigadores no consideran que tenga lugar la transformación del *ácido desoxicólico* en *metilcolantreno*, sino que piensan más bien en la posibilidad de otras síntesis, dado el largo período de latencia y la necesidad de numerosas inyecciones, a dosis relativamente elevadas, para conseguir que aparezca el tumor.

En 1941, LAW (133) inyectó, subcutáneamente, en ratones, *ácido cólico* (ácido biliar de estructura igual al desoxicólico, pero con otro OH en posición 7) y *sal sódica del ácido desoxicólico*, en disolución de aceite de oliva. La cantidad de ácido inyectada fué de 30 mg, distribuidos a partes iguales en 3 inyecciones y 3 meses. Con el *desoxicolato sódico*, se obtuvo un porcentaje de tumores pulmonares, muy superior al observado en la serie testigo y en la del *ácido cólico*.

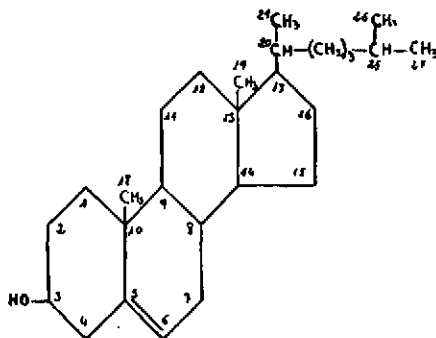
Hay autores, como SHEAR, LEITER y PERRAULT (134), que, sin embargo, no han podido comprobar la actividad cancerígena del *ácido desoxicólico*.

(133) LAW, L. W., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 47, 37 (1941) [C. A., 35, 5177 (1941)].

(134) SHEAR, M. J., LEITER, J. y PERRAULT, A., *J. Nat. Cancer Inst.*, 2, 99 (1941).

b) *Colesterol*

En 1947, HIEGER (135) observó una débil actividad cancerígena del *colesterol* comercial sobre el ratón, al que lo inyectó en disolución de manteca de cerdo. Teniendo en cuenta que el colesterol de la experiencia era un producto comercial, caben dos interpretaciones distintas del fenómeno observado, cuando permanece constante el resto de las condiciones (resistividad individual de los animales, por ejemplo). Una interpretación permitiría pensar que el colesterol fuese, realmente, un compuesto cancerígeno de pequeña actividad, la cual podría resultar algo favorecida por la presencia de otras sustancias de naturaleza lipóide; la otra interpretación podría consistir en suponer, que, el poder cancerígeno se debe, no al propio *colesterol* (CXIV), sino a otras sustancias que pudieran acompañarle, como impurezas, en el producto comercial.



(CXIV)

Según TRUHAUT (136), parece más probable la segunda hipótesis expuesta, ya que él, con inyecciones, a dosis relativamente fuertes de colesterol purificado, disuelto en aceite de oliva, no ha conseguido producir ningún tumor en el ratón.

Esto no quiere decir, sin embargo, que algunos derivados de los que se forman en el metabolismo del colesterol, no sean cancerígenos, y en efecto, el metabolismo de los esteroides aparece muy perturbado durante el curso del proceso canceroso, según observan, por ejemplo, DOBRINER, LIEBERMANN, RHOADS y colaboradores (137), que, por utilización combinada de reactivos químicos y de los métodos de cromatografía y especto-

(135) HIEGER, I., *Nature*, 160, 270 (1947).(136) TRUHAUT, R., *Compt. rend. Acad. Sciences*, 225, 544 (1947).(137) DOBRINER, K. y RHOADS, C. P., *J. Biol. Chem.*, 172, 241 (1948); *id.*, 172, 297 (1948).

grafía en el infrarrojo, han demostrado la existencia, en la orina de pacientes con cáncer, de cetosteroides anormales, aunque, en realidad, estos productos no son absolutamente específicos del estado canceroso.

### c) *Hormonas estrógenas (foliculina)*

LACASSAGNE ha comprobado el papel de la *foliculina* o *estrona*, como agente de cancerización en el cáncer mamario, si bien es necesaria una «predisposición hereditaria» que permita la aparición del cáncer, y que ha sido estudiada por MURRAY y LITTLE (1936), y, principalmente, por BITTNER (1936, 1939 y 1940), habiendo comprobado, este último, la influencia que ejerce la lactancia (138) con ratones pertenecientes a cepas muy predispuestas; como resultado se encontró, que la adopción de los ratones recién nacidos por otros sin antecedentes cancerosos, tiene como consecuencia una gran disminución en el porcentaje de aparición de tumores. ANDERVONT y MAC ELENEY (1941) (139) dedujeron conclusiones análogas.

Se ha pensado, pues, a la vista de ello, que el agente químico cancerígeno se transmite por la leche, pero los resultados obtenidos en los intentos de comprobación de esta hipótesis, han sido, o no probatorios, o claramente negativos. Por ésto se llegó a pensar en un virus filtrable, pero tampoco parece satisfactoria esta hipótesis, para la que, por el contrario, existen numerosas objeciones.

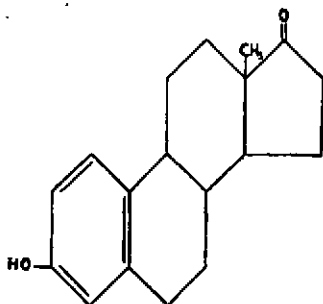
BITTNER afirma haber encontrado el *factor láctea* en algunos extractos de tejidos (hígado, por ejemplo), y también en la sangre. Además, el citado BITTLER, SAMUEL y HUSEBY, señalan, que, dicho factor, parece actuar por intermedio de un metabolismo hormonal. Efectivamente, se ha comprobado que el estímulo hormonal juega, junto con el factor hereditario, un papel muy importante en la aparición del cáncer mamario en los ratones. La producción de cáncer por acción de sustancias estrógenas, en otros órganos, parece ser más rara.

Ante tales resultados, podría pensarse en la acción de la *foliculina* (CXV) sobre las células del tejido, actuando, quizás, transformada en un compuesto tetracíclico del tipo de los *metilcrisenos* (dicho compuesto hormonal no podría transformarse en un compuesto pentacíclico, como ocurría con el ácido desoxicólico, puesto que, en este caso, no es suficiente, para ello, la longitud de la cadena lateral). Pero parece más probable la tesis de BUTENANDT, que limita el papel de la foliculina al hecho de

(138) BITTNER, J. J., *Cancer Research*, 1, 290 (1941) [C. A. 35, 7522 (1941)].

(139) ANDERVONT, H. B. y Mc. ELENEY, W. J., *J. Natl. Cancer Inst.*, 2, 13 (1941) [C. A., 35, 8087 (1941)].

permitir la predisposición hereditaria, pues, entre otros fenómenos que abogarían también en favor de lo mismo, nunca se ha podido obtener, por ejemplo, ningún caso de cáncer cutáneo, a pesar de la constancia con que se ha llevado a cabo la aplicación de hormonas estrógenas, por medio de pincelaciones repetidas.



(CXV)

No está de más indicar, para terminar, que las dosis mínimas, necesarias para que se manifieste el efecto cancerígeno de estas hormonas, son muchísimo más fuertes que las utilizadas en sus aplicaciones terapéuticas, lo que crea un amplio margen de seguridad para su empleo en este último sentido.

## 2.º) Transformación de moléculas fisiológicas en compuestos cancerígenos

Entre los diversos agentes a los que es atribuido el poder de verificar la transformación de moléculas fisiológicas en compuestos cancerígenos bajo la acción de distintos factores, citaremos las bacterias y las radiaciones térmicas, solar, ultravioleta y Roentgen.

### a) Bacterias

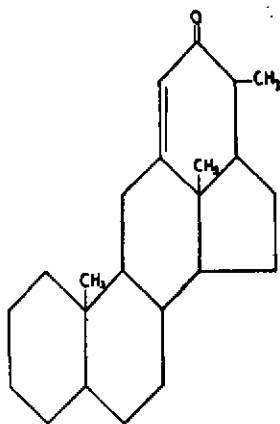
En 1941, DRUCKREY, RICHTER y VIERTHALER (140), prepararon cultivos de colibacilos, aislados de las heces de pacientes con cáncer de recto. A algunos de estos cultivos se adicionó una cantidad determinada de ácido desoxicólico o de deshidronorcoleno, y, a partir de estos cultivos, los investigadores anteriores prepararon extractos bencénicos, que inyec-

(140) DRUCKREY, H., RICHTER, R. y VIERTHALER, R., *Naturwissenschaften*, 29, 63 (1941). [C. A., 35, 7446 (1941)].

taron a ratas, después de evaporado el benceno y de haber disuelto el residuo en aceite de cacahuete.

Los resultados obtenidos, en igualdad de condiciones, permitieron a estos autores, confirmar la hipótesis de la transformación de compuestos normales del organismo en sustancias cancerígenas.

Sin embargo, no se ha podido demostrar la formación de metilcolantreno en el organismo [FRIEDRICH y KOYENUMA, 1942 (141), y BUTENANDT y DANNENBERG, 1942 (142)]. Tan sólo se ha comprobado, que, tanto en los medios con colibacilos, como en los que no contienen a aquellos, aparecen derivados de oxidación del *deshidronorcoleeno* (CX), y, en particular, se origina (CXVI).



(CXVI)

Vemos, pues, que las bacterias y, en general, los microorganismos (microparásitos, microbios, virus), juegan un papel eventual, pero de gran interés, en la producción de sustancias cancerígenas, lo cual podría llevarnos a adoptar una posición intermedia entre la teoría bioquímica de la producción de cáncer y la parasitaria, teoría esta última, que volvió a considerarse después de una época en la que no se le concedía crédito alguno.

#### b) *Calor*

Es otro factor, que se ha señalado como causa capaz de transformar algunos compuestos fisiológicos en sustancias cancerígenas. Ejemplos de

(141) FRIEDRICH, W. KOYENUMA, N., *Naturwissenschaften*, 30, 145 (1942). [C. A., 37, 4123 (1943)]

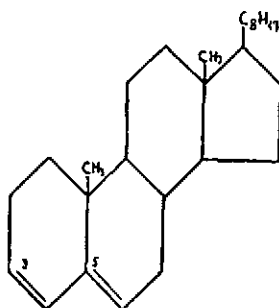
(142) BUTENANDT, A. y DANNENBERG, H., *Naturwissenschaften*, 30, 52 (1942). [C. A., 37, 152 (1943)].

este hecho tenemos en el caso de lípidos alimenticios, que se han utilizado como disolventes, en los ensayos de cancerización experimental. Así, entre otros casos, encontramos, que STEINER, STEELE y KOCH (143), obtuvieron, en 1943, 3 sarcomas sobre 31 animales a los que se había inyectado, por vía subcutánea, aceite de sésamo calentado a 350°. Igualmente, se han producido cánceres de tubo digestivo, en el ratón, con aceites comestibles sobrecalentados a 356° y mezclados con aceites de ricino.

De mayor interés aún, para lo que estamos tratando, es el resultado obtenido por KENNAWAY y SAMPSON en 1928, cuando consiguieron un producto cancerígeno calentando colesterol entre 750° y 800°; no obstante, se comprende fácilmente que esta temperatura no se alcanza nunca en la preparación de los alimentos, ni mucho menos, en las condiciones bioquímicas.

Más tarde, obtuvo ROFFO (1939) cánceres de estómago, intestino ciego e hígado, en la rata blanca, por ingestión de grasas, animales o vegetales, ricas en esteroides, y que habían permanecido sometidas a ebullición durante 30 minutos, habiéndose añadido después a la alimentación ordinaria del animal.

En 1941, el mismo ROFFO (144), anunció haber obtenido un alquitrán cancerígeno por calentamiento del *colesterol* (en presencia de oxígeno) a 145-150°. VELDSTRA (1939), en el calentamiento a 300-340°, en vacío, del *oleato de colesterol*, que se encuentra en las grasas alimenticias, pudo aislar el  $\Delta$ -3-5-*colestadieno* (CXVII), que fué aislado también por BERG-



(CXVII)

(143) STEINER, P. E., STEELE, R. y KOCH, F. C., *Cancer Research*, 3, 100 (1943). [C. A., 37, 3164 (1943)].

(144) ROFFO, A. H., *Bol. inst. med. exptl. estud. cancer*, 18, 929 (1941). [C. A., 36, 6221 (1942)].



MANN y HIRSHBERG (1938), en los productos de la irradiación del acetato de colesterol. Este hidrocarburo fué administrado por WATERMAN (1939) a ratones, por vía bucal, obteniendo solamente algunos papilomas en el estómago.

Por otra parte, el autor americano KIRBY (145), en 1943, obtuvo con el *colesterol*, calentado a 270°-300°, resultados contrarios a los de ROFFO.

Por último podemos decir, que quizás la aparición de cánceres, sobre las cicatrices de quemaduras, esté relacionada con la influencia del calor, tal como la hemos estudiado aquí.

### c) Radiaciones solares y ultravioletas

LACASSAGNE, en 1945, sugirió, que, la formación de cánceres cutáneos, dependería de reacciones fotoquímicas sufridas por el colesterol o por otros compuestos esterólicios.

De acuerdo con ésto, ROFFO (1937, 1938 y 1939), POLETTINI (1938) y otros, han conseguido cánceres con el colesterol irradiado con rayos ultravioleta. Pero contrariamente, BERGMANN, STAVELY, STRONG y SMITH (1940), no han podido comprobar lo mismo con experimentos similares.

También se han estudiado (BUTENANDT y KUDFUSS, 1938), las transformaciones fotoquímicas del  $\Delta$ -2-4-colestadieno obtenido por calentamiento del colesterol en determinadas condiciones. Respecto al poder cancerígeno de este compuesto y de su peróxido, podemos decir, que ha sido estudiado, sin resultados positivos, al parecer, habiéndose notado, tan sólo, una acción irritante sobre la piel de los ratones.

Como productos resultantes de la irradiación del colesterol, se han podido observar diversos derivados oxigenados del mismo, pero nunca hidrocarburos fenantrénicos, como pensaba ROFFO.

### d) Rayos X

Señalamos en otros lugares de este trabajo, que, tanto los rayos X como las radiaciones emitidas por las sustancias radioactivas, son productores de cáncer, siempre que se utilicen a dosis suficientes; acción cancerígena, que podría quizás explicarse por la transformación en compuestos cancerígenos, de sustancias, tales como el colesterol, existentes en el organismo o introducidas en él por la alimentación.

ROFFO, en 1925, estudió la acción de los rayos X sobre el colesterol disuelto en cloroformo o en benceno, obteniendo un producto oleaginoso, verde oscuro y de olor aromático, y, quedando, después de la evaporación

(145) KIRBY, A. H. M., *Cancer Research*, 3, 519 (1943). [C. A., 38, 1788 (1944)].

de los disolventes, una sustancia que no da la reacción de LIEBERMANN.

DOGNON (1926) y HIEGER (1927), han comprobado, que los disolventes alifáticos clorados, particularmente el cloroformo y el tetracloruro de carbono, se descomponen por la acción de los rayos X, con producción de cloro, que actúa sobre el colesterol, dando productos de puntos de fusión muy inferiores al del alcohol terpénico. Estas conclusiones quitan, pues, toda garantía a los resultados obtenidos por ROFFO en esta cuestión; a pesar de lo cual, BURROWS y MAYNEORD, consiguieron, en 1937, producir sarcomas fusocelulares en el ratón, por medio de inyecciones de una solución de colesterol en manteca de cerdo (sin sal), después de la irradiación con rayos X.

Si estos hechos se llegaran a confirmar plenamente, el mecanismo de cancerización por acción de los rayos X, quedaría reducido a un mecanismo de tipo químico, también.

Para conseguir mayor confianza en los resultados obtenidos, se repitieron los experimentos con el colesterol, pero disuelto, no en un disolvente graso, que sería, a su vez, capaz de modificarse al ser irradiado, sino en otro disolvente orgánico que no se alterase. Por ésto, se desecharon, en general, los disolventes clorados de la serie grasa, habiendo sido el benceno, especialmente purificado, el utilizado para disolver el colesterol. La solución preparada de esta forma, (al 5 %) se sometió a fuertes dosis de rayos X, habiéndose observado actividad cancerígena del colesterol, así irradiado, al inyectar subcutáneamente, en el ratón, una solución del mismo.

### 3.º) Aislamiento de sustancias cancerígenas en el organismo canceroso

En este apartado, se tiende a demostrar, según indicamos, la existencia en el organismo canceroso, de moléculas cancerígenas. Los resultados de las investigaciones realizadas en este sentido son, en parte, contradictorios.

Así encontramos, que, por ejemplo, FRANICEVIC y STANOYEVITCH (1936) no consiguieron provocar cánceres inyectando, en ratones, líquido ascítico y exudado de tumores. JOBLING, SPROUL y STEVENS (1937) obtuvieron resultados positivos, al parecer, con el sarcoma de ROUS, pero estos resultados no pudieron ser confirmados por POLARD y AMIES (1937).

El primer resultado indiscutiblemente positivo lo obtuvo SCHABAB, en 1937 también, inyectando subcutáneamente, en ratones, un extracto benecénico procedente del hígado de una paciente fallecida de un cáncer de estómago con numerosas *metástasis*, aunque el hígado en sí estaba exen-

to de ellas. En los distintos ratones sobre los que se llevó a cabo la experiencia, aparecieron los tumores en diversos lugares.

La razón de que sea el hígado el órgano que más atrae la atención de los investigadores, en este sentido, está en el papel que desempeña en el metabolismo del colesterol, y, en general, en el metabolismo de los esteroides.

TRUHAUT (146), (147), (148), realizó también ensayos con la fracción insaponificable de los lípidos del hígado, obteniendo, entre otros resultados, un porcentaje de sarcomas en el punto de inyección, análogo al obtenido utilizando soluciones poco concentradas de *3-4-benzopireno* o de *metilcolantreno*. Estos sarcomas presentaron, más tarde, características idénticas a las de los tumores producidos por los hidrocarburos cancerígenos.

Por repetición de estos ensayos, con reproducción de sus resultados, quedó comprobada la actividad cancerígena de aquella fracción insaponificable.

También se ensayó el efecto del anterior extracto de hígado sobre células en cultivo, con el fin de comprobar los resultados del autor americano EARLE, del Instituto Nacional del Cáncer, que parecía haber conseguido de esta manera la cancerización de células. En esta ocasión, sin embargo, sólo se pudieron observar algunas anomalías nucleares (149). Además, se determinó el espectro de fluorescencia de dicho extracto, que no presentó ninguna semejanza con los espectros típicos de los hidrocarburos policíclicos condensados, como son el *3-4-benzopireno* o el *metilcolantreno*. Por otra parte, TRUHAUT (150), señala, que no se observa diferencia alguna apreciable entre el espectro obtenido y el que da, en las mismas condiciones, la fracción insaponificable de hígados pertenecientes a individuos no cancerosos.

Sin embargo, PENN (1942) (151) asegura, que, los lípidos extraídos del hígado de individuos cancerosos, presentan, bajo la acción de los rayos ultravioleta, una fluorescencia bastante más intensa que la de los lípidos del hígado de individuos normales, y que el espectro de fluorescencia de los primeros está muy próximo al del *metilcolantreno*.

HIEGER (1942) (152) revisó las conclusiones de PENN, obteniendo él re-

---

(146) TRUHAUT, R., *Chim. et Ind.*, 39, 419 (1938).

(147) SANNIE, C., TRUHAUT, R., GUERIN, P. y GUERIN, M., *Compt. rend.*, 21, 365 (1940).

(148) SANNIE, C., TRUHAUT, R. y GUERIN, M., *Bull. Assoc. franç. Cancer*, 32, 44 (1944-1945).

(149) TRUHAUT, R. y DELSOL, M., *Compt. rend. Soc. Biol.*, 141, 136 (1947).

(150) TRUHAUT, R., *Biol. Méd.*, 38, 104, (1949).

(151) PENN, H. S., *Nature*, 149, 193 (1942).

(152) HIEGER, I., *Nature*, 149, 300 (1942).

sultados concordantes con los de TRUHAUT, igual que otros autores, como JONES y JAMIESON (153).

Parece, pues, quedar demostrada la actividad cancerígena de la fracción insaponificable de hígados cancerosos (STEINER también obtuvo resultados positivos con la misma fracción insaponificable de sujetos normales, aunque no sabemos si luego aparecería el cáncer en ellos); falta entonces, identificar y aislar las sustancias químicas definidas, responsables de dicha actividad cancerígena. TRUHAUT (154) utilizó procedimientos en los que se combinaba la acción de disolventes orgánicos y la adsorción cromatográfica, o también los de fraccionamiento de tipo químico. Los resultados obtenidos parecen indicar, que se trata de más de una sustancia activa.

Numerosos investigadores emprendieron, posteriormente, el examen experimental de las posibles propiedades cancerígenas de distintos extractos o fracciones de diversos órganos (estómago, pulmón, riñón) y líquidos fisiológicos (orina, bilis), en individuos cancerosos, buscando el compuesto responsable de dicha actividad cancerígena. Los resultados conseguidos son de gran interés, aunque parece ser, que, estos autores, no lograron identificar, todavía, una sustancia definida que respondiera a las características exigidas.

---

(153) JONES, R. N. y JAMIESON, J. R., *Nature*, 60, 667 (1947).

(154) TRUHAUT, R., *Biol. Méd.*, 38, 105 (1949).

## X

## ASPECTOS BIOQUÍMICOS DEL PROCESO CANCEROSO

## CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICO-FUNCIONALES

Los tumores malignos presentan una importante característica común: la continua formación, aunque puede no ser muy rápida, de nuevas células, con una velocidad prácticamente constante (155).

Reuniendo ideas que, en realidad, se encuentran ya esparcidas a lo largo de este trabajo, vemos, que, en el aspecto del tema que tratamos ahora, se ha de tener presente la gran semejanza que existe entre las características de las células cancerosa y embrionaria, y también es interesante señalar el cambio, esencialmente regresivo, hacia una menor especialización funcional, que lleva consigo la transformación cancerosa (156).

Comprendiendo estas dos características esenciales del cáncer, podemos ver la definición que del mismo da el Prof. ENRÍQUEZ DE SALAMANCA (157), según la cual, se entiende por cáncer *una proliferación desordenada distáxica de ciertas células, que pierden, en su diferenciación morfológica y funcional específica, cuanto ganan en pujanza proliferativa*, de donde se deduce claramente, que proliferación y diferenciación aparecen como dos conceptos inversos. Volviendo a la noción concreta de cáncer, podemos decir que se trata de una proliferación desordenada y anárquica, que no cumple las leyes de la organización histológica o de tejido, sino que, por el contrario, es un fenómeno de *crecimiento autónomo*.

(155) BRUES, A. M. y GUZMÁN BARRÓN, E. P., *Ann. Rev. Biochem.*, 20, 343 (1951).

(156) HADDOW, A., *Ann. Rev. Biochem.*, 24, 689 (1955).

(157) ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, *Bol. Cult. e Inf. Cons. Gen. Col. Méd. España*, 16, 21 (1954).

Sin embargo, a pesar de las semejanzas que, según hemos dicho, se encuentran entre la capacidad proliferativa de la célula embrionaria y la de la cancerosa, existe también una diferencia esencial, y es, que en el caso del desarrollo embrionario, así como en el de reparación de heridas y lesiones patológicas, se observa la proliferación, y aun diferenciación de células, hasta un cierto límite, más allá del cual, y en el momento oportuno, cesa la proliferación o la diferenciación. En el caso del desarrollo de la célula cancerosa, se trata de un fenómeno completamente anárquico, en todos sentidos.

Esta proliferación, que es lo que da lugar al crecimiento del tumor, se efectúa por mitosis, predominando de ordinario la división bipolar y simétrica, aunque ciertos tumores presentan mitosis irregulares además de la común.

No existen, al parecer, preferencias histológicas para este fenómeno, sino que, como dice LAENNEC: *Todos los tejidos pueden dar origen a cánceres, cuya estructura, en general, lleva el sello de su procedencia.*

Existen cánceres en los cuales la semejanza con el tejido primitivo es tal, que el histólogo puede indicar con toda seguridad y precisión su origen: son los cánceres *típicos*.

Esta semejanza no es solamente de tipo estructural, sino que puede ser también de tipo funcional. Así, algunos cánceres hepáticos segregan bilis, aún en sus localizaciones secundarias, o metástasis, a nivel del pulmón y de los huesos, y, en algunos casos, semejando a glándulas, no sólo suplen la función del órgano invadido y destruido, sino que incluso pueden dar lugar a verdaderos síndromes de hiperfuncionamiento glandular, al volcar en el torrente circulatorio, sus productos de secreción.

Junto a estos cánceres típicos existen los *atípicos*, cuya estructura difiere de la del tejido primitivo, hasta el punto de hacer irreconocible su origen. En realidad, entre estos dos extremos, existen todas las transiciones con gran riqueza de formas.

#### CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

El problema del cáncer (158) parece centrarse en los dos mecanismos bioquímicos siguientes, los cuales, a su vez, habrían sido provocados por los agentes cancerígenos, según el mecanismo de acción de los mismos, ya estudiado:

1.º *Pérdida del equipo enzimático diferenciador ó meta-estructura de FISCHER-BASELS (Kataplasia).*

2.º *Actuación de estímulos proliferantes (hormonas de crecimiento).*

(158) ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, loc. cit.

Lo más probable es, que estos dos mecanismos estén relacionados entre sí de manera que puede ser que la síntesis del *equipo enzimático diferenciador* exija la colaboración de las *hormonas de crecimiento*, e igualmente, es posible que la primera actuación de los agentes proliferantes sea, precisamente, la de inhibir la síntesis de los *diferenciadores*.

Respecto al mecanismo bioquímico de la cancerización, parece deducirse de los estudios de RONDONI (1938), BROCK, y otros, que las sustancias cancerígenas poseen dos maneras de actuar: una *inmediata* e inespecífica, que, produciendo la necrosis del tejido, da lugar a la formación de grasas, en las que se disuelven y acumulan los hidrocarburos aromáticos policíclicos, que son solubles en ellas; el otro modo de actuar, por el contrario, es *tardío*, debido a la difusión lenta de la sustancia cancerígena, desde las grasas en que se ha acumulado hasta la zona regenerativa periférica, zona en la que se encuentran células en vías de reproducción. De manera, que esta acción lenta, sobre las células en formación, determina primero alteraciones de la cromatina, compatibles con la vida normal, y da lugar, con el tiempo, a una mutación repentina, con la aparición de las células cancerosas.

Todos los agentes cancerígenos estudiados, en los primeros días después de su aplicación (cuando todavía se manifiesta su presencia intracelular), dan lugar *in vivo* a un aumento en el tamaño del núcleo y a un incremento de las mitosis (proliferación) con el consiguiente aumento del espesor del tejido.

Por otra parte, el microscopio de fluorescencia (técnica descubierta en 1911, por HEIMSTADT y NEHMANN, y aplicada extensamente en bacteriología, después de los trabajos de HAGEMANN, en 1937, sobre el bacilo de Koch) ha hecho posible, a GRAFFI observar, que los cancerígenos se acumulan en las mitocondrias y microsomas y sólo un poco en la membrana nuclear y en el nucleolo, de las células, quedando sin afectar los cromosomas, lo que nos indica que la lesión es, al parecer, preferentemente citoplásmica. Sin embargo, el hecho de la transmisión por herencia, de ciertos cánceres inducidos por sustancias cancerígenas, parece indicar que el núcleo juega su papel, y que la relación, entre agente químico cancerígeno y *gen*, es de importancia en el proceso de la cancerización. En este sentido, podemos recordar las experiencias de STRONG, que inyectando hipodérmicamente *metilcolantreno*, en ratones, comprobó los resultados, ya referidas por MAISON, MASSE y por otros, sobre las modificaciones a que daban lugar las sustancias cancerígenas en el estado general de los animales. Pero el resultado más importante, obtenido por STRONG, fué la observación de que los diversos tipos de tumores que habían sido provocados por el metilcolantreno, se transmitían, por herencia, a una se-

rie de generaciones, sin necesidad de administrar ya cancerígeno alguno. Estos resultados hacen suponer, que, el metilcolantreno (quizás el cancerígeno más activo conocido actualmente) determina una *modificación germinal* o *genética* esencial, cuyas manifestaciones son transmisibles. Pero, actualmente, se piensa, que, los cromosomas y sus genes, por sí solos, no pueden explicar la génesis del cáncer. Es preciso tener en cuenta factores intracelulares, tales como las formaciones protoplásmicas, todas a base de R N A (*ácido ribonucleico*), y *extracelulares*, como el *factor lácteo* de BITTNER (considerado por GREEN como un virus). Parece más lógico pensar, que se trata de un fenómeno perteneciente a la llamada *herencia citoplásmica*, en la que intervienen los *plasmagenes citoblásmicos*, que tienen su asiento en los microsomas y que determinan, según el Prof. LOUSTAU (159), la actividad anómala característica de la célula cancerosa, como consecuencia de una mutación semejante a la de los genes cromosómicos. Puede resultar, asimismo, interesante considerar a los *microsomas* (los menores orgánulos celulares existentes en el citoplasma) como productores y portadores de enzimas, que toman parte en el quimismo celular e intervienen en la elaboración de las cadenas de proteínas (160).

Por otra parte, sabemos que casi la totalidad de las proteínas del organismo son levogiras, estando constituidas por aminoácidos levogiros, mientras que los aminoácidos que constituyen las de la célula cancerosa son dextrogiras, según se demuestra, en la hidrólisis de las respectivas proteínas.

Según ésto, serían posibles dos interpretaciones explicativas: una, aquella que confirmaría la alteración, antes dicha, del equipo enzimático de la célula, como característico del cáncer; otra, que pondría como determinante del cáncer, según afirma el Prof. LOUSTAU (161), la mutación, de microsomas, responsable del cambio de sentido del poder rotatorio, de las proteínas que elaboran aquellos, puesto que la armonía de la actividad celular, quedaría francamente alterada, desde el momento en que las enzimas que intervienen en la actividad protoplásmica, no actúan de la misma manera sobre una proteína levogira que sobre una eminentemente dextrogira.

No obstante, el estudio citológico parece indicar, que, los cancerígenos, al menos muchos, actúan primeramente sobre el núcleo, produciendo repercusiones funcionales sobre el citoplasma, habiéndose observado también, que la célula presenta la máxima sensibilidad, para la acción

(159) LOUSTAU, J., *Biología General y Genética*. Ed. Univ. Murcia, 1953, pág. 721.

(160) LOUSTAU, J., loc. cit., pág. 43.

(161) LOUSTAU, J., loc. cit., pág. 68.

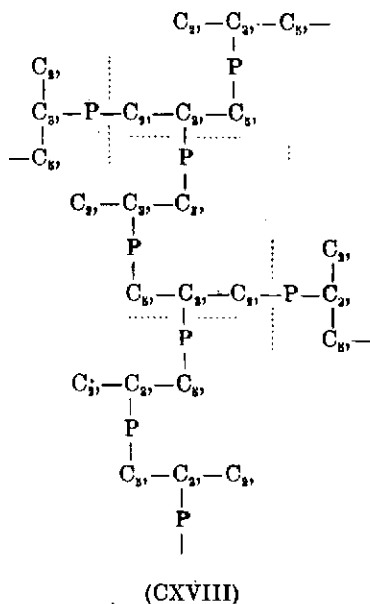


cancerígena, durante la interfase, o sea, durante el período en que la síntesis del ácido desoxirribonucleico (D N A) alcanza su mayor intensidad (162) (163) (164).

La molécula de D N A está altamente polimerizada, teniendo un peso molecular del orden de 500.000 a 1.000.000. Aunque en su degradación se obtienen algunos tetranucleótidos, no está aceptada, generalmente, la idea de que los ácidos nucleicos sean politetranucleótidos. La semejanza de los roentgenogramas, de estos ácidos y los de las cadenas polipéptidas es significativa, para las relaciones existentes entre ácidos nucleicos y polipéptidos, en la célula viva.

El R N A (CXVIII) está menos polimerizado, aunque, más bien parece, que el menor grado de polimerización, aparente, sea debido a una mayor facilidad para degradarse, en el aislamiento (por ejemplo, el R N A separado del virus del mosaico del tabaco, desnaturalizado por calor, presenta un peso molecular de unos 300.000, y todavía se degrada, espontáneamente, hasta partículas de peso molecular 61.000). Es posible que también difieran en el grado de ramificación de la cadena, que parece ser mucho mayor en los ribonucleicos que en los desoxirribonucleicos.

La estructura general, esquemática, propuesta por BROWN y TODD [Brown, D. M. y Todd, A. R., *J. Chem. Soc.*, 52 (1952)], para los ácidos ribonucleicos es la que sigue:



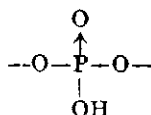
(162) WALKER, P. M. B., *Heredity*, 6, 275 (1953).

(163) FAUTREZ, J. y FAUTREZ-FIRLEFYN, *Nature*, 172, 119 (1953).

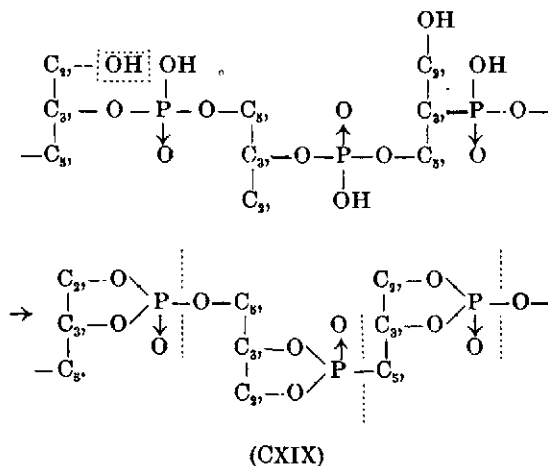
(164) TAYLOR, J. H., *Exptl. Cell. Research*, 4, 164 (1953).



en la que C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, representan nucleótidos individuales y P representa al grupo



Existe, *in vitro*, una clara diferencia de comportamiento, en la degradación alcalina de ácidos ribo- y desoxirribonucleicos, y así pues, mientras los primeros se degradan fácilmente, ante una variedad de condiciones, en cambio los D N A no son degradados en condiciones suaves, lo que se aprovecha, para la separación analítica de ambos. La tal inercia de los desoxi- se explica, por la ausencia del OH (en el C<sub>2</sub>, de la desoxirribosa), que impide la formación de ciclos con el OH del fosfórico, según el mecanismo admitido para la degradación de los R N A (CXIX) (que sí poseen OH debido a la ribosa), en los que, al for-

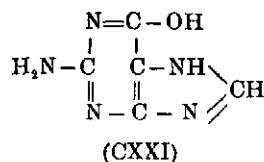
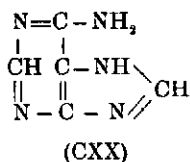


marse el ciclo, quedan como zonas vulnerables los enlaces P-O-C<sub>5</sub>.

La degradación ácida constituye la base de las reacciones de FEULGEN [Feulgen y Rossenbeck, *Z. physiol. Chem.*, 135, 203 (1924); Widstrom, *Biochem. Z.* 199, 298 (1928)] y de DISCHE [Dische, *Microchemie*, 8, 4 (1930); Sevag, Smollens y Lackmann, *J. Biol. Chem.*, 134, 523 (1940)] usadas en general, para la detección de material nucleico y en particular en el diagnóstico citológico del cáncer. La de FEULGEN, consiste en la restauración del color del Reactivo de Schiff (anilina decolorada por sulfuroso) y la de DISCHE, en la aparición de un color azul, al calentar el material nucleico con difenilamina, en presencia de ácido, en condiciones controladas de concentración, tiempo y temperatura. De la discusión sobre el verdadero mecanismo de ambas reacciones, realizadas por STACEY y colaboradores [Stacey, M., Deriaz, R. E., Teece, G., y Wiggins, L. F., *Nature*, 157, 740 (1946)], se deduce que el aldehído causante de estas reacciones es el  $\omega$ -hidroxi-levulínico, originado en la suave hidrólisis, de la desoxirribosa, del D N A, si bien dicho aldehído, si las condicio-

nes no están bien controladas, puede ser originado de otros manantiales; por ello. STACEY y colegas, recomiendan, que junto a las reacciones de FEULGEN y de DISCHE, deben hacerse otras con el mismo fin, como por ejemplo, la determinación de la relación *N purínico / fosfato*, o bien el análisis espectrográfico, antes de dar por seguro la existencia de D N A, cuya abundante presencia sería síntoma de alta actividad celular (neoplasia).

El D N A se considera como un sustrato potencial de importancia única, y la acción sobre él, tanto de los agentes químicos cancerígenos como de las radiaciones ionizantes, termina en una rotura de su estructura original con puente de hidrógeno, que ha sido estudiada especialmente, por DAVISON y otros (165) y por SCHOLLS y WEISS (166) (167). Estos últimos han descrito también cambios químicos degradativos y bien definidos, que tienen lugar cuando soluciones acuosas de R N A y D N A son irradiadas con rayos X. La fragmentación de los polinucleótidos va acompañada de un aumento en el número de grupos ácidos valorables y de una liberación de fosfato inorgánico y pequeñas cantidades de bases purínicas libres. También se ha observado la liberación de amoníaco y alguna fisión del anillo de las bases constituyentes (purina y pirimidina). Así pues, son rotos los enlaces glucosídicos, monoéster e internucleótido. El mecanismo de acción se supone que es por medio de radicales libres. Asimismo, se han estudiado las soluciones acuosas de *purinas* y *pirimidinas* y de algunos de sus *ribonucleósidos* (ribonucleósido = d-ribosa + base pirimidínica o purínica) y *ribonucleótidos* (ribonucleótido = ácido fosfórico + d-ribosa + base pirimidínica o purínica, es decir, ribonucleótido = ácido fosfórico + ribonucleósido) correspondientes. La presencia de un grupo amino en la base, que puede ser *adenina* (CXX) o *guanina* (CXXI), por ejemplo, aumenta la producción de amoníaco en la irradiación.



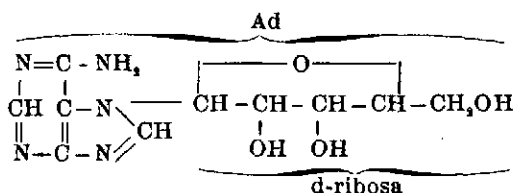
En los dos sistemas cíclicos *purina* y *pirimidina*, de las mismas, sin embargo, los átomos de N del anillo, deben contribuir, también, a la producción de amoníaco. Los cambios químicos que tienen lugar en la irra-

(165) DAVISON, P. F., CONWAY, B. E. y BUTLER, J. A. V., *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry*, Ed. Pergamon Press, Londres, 1954, pág. 148.

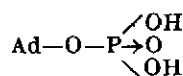
(166) SCHOLLS, G. y WEISS, J., *Nature*, 171, 920 (1953).

(167) SCHOLLS, G. y WEISS, J., *Biochem. J.*, 53, 567 (1953).

diación de *adenosina* (CXXII) (ribonucleósido) y del *ácido adenílico* (CXXIII) de la levadura (ribonucleótido correspondiente) llevan consigo liberación de amoníaco, descarboxilación, aumento en los grupos ácidos valorables y liberación de pequeñas cantidades de purina libre; del *nucleósido* queda alguna *ribosa* libre, y también el *nucleótido* sufre alguna desfosforilación.

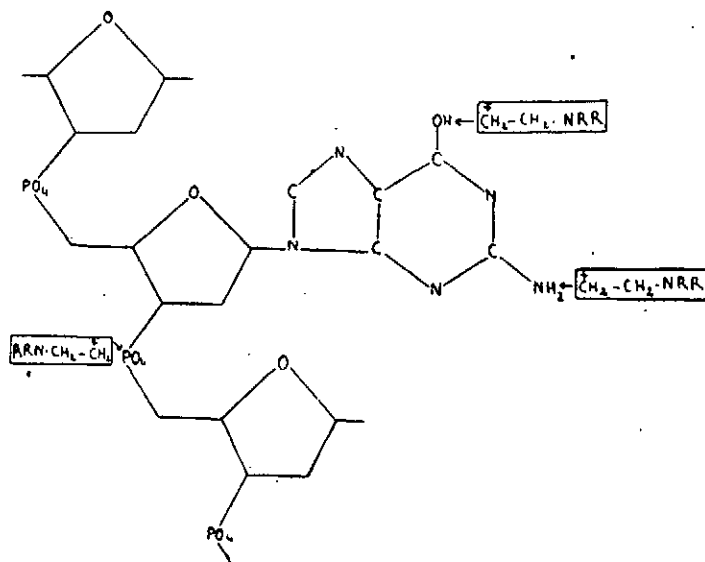


(CXXII)



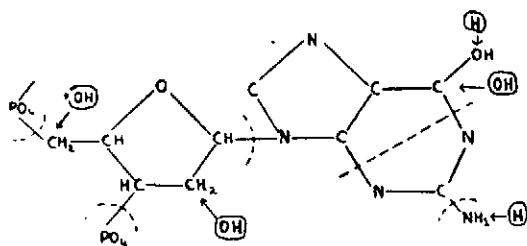
(CXXIII)

A continuación describimos un esquema de la acción de las mostazas nitrogenadas (CXXIV) a base de la estructura sugerida por WATSON y CRICK:



(CXXIV)

La actuación de los rayos X, sobre los ácidos nucleicos, y de una manera más genérica, la acción de otras radiaciones, en su actividad mutagénica, a causa de la absorción de un *cuanto* de energía, por un *gen*, puede representarse esquemáticamente por el mecanismo (CXXV), utilizando como antes la estructura propuesta por WATSON y CRICK:



(CXXV)

Siendo la acción de los cancerígenos de índole letal, podemos suponer, que, en cada multiplicación celular, las partes de la célula afectadas por dicha acción, se reproducirán menos que las demás, por lo cual, al aumentar el número de divisiones de una célula, afectada de esta manera, aumentará, también, el desequilibrio entre las partes no lesionadas, que se reproducen normalmente, y las lesionadas, que no se regeneran. Este es el mecanismo, según el cual, se va alterando cada vez más, a cada nueva división, la *meta-estructura* o *estructura enzimática* de la célula, alteración material, que es la que, a su vez, origina la reactividad anormal, de la célula que ya es cancerosa o que está destinada a serlo. Como consecuencia de la sucesión de este mecanismo, la célula adquiere, al final, la *autonomía* y *desdiferenciación* características de la célula cancerosa.

La citada alteración enzimática, o lesión material de la célula, es lo que podríamos considerar como respuesta común a las distintas causas de cancerización, y que, aunque no se haga manifiesta al microscopio, sí se hace observable en el metabolismo de la célula cancerosa, del que vamos a ocuparnos después, así como también trataremos, implícitamente, del metabolismo general del organismo cancerizado.

MACKENZIE (1946), BORREL, CLAUDE y otros, han demostrado la producción, en el cáncer, de *ribonucleínas* y *nucleoproteínas* específicas, derivadas del *DNA* y *RNA*, resultados que nos permiten suponer, según el Prof. MARTÍNEZ PÉREZ (168), que, en toda neoplasia, hay producción de una proteína, o nucleoproteínas específicas, de origen endógeno, resultantes de un metabolismo alterado por causas o agentes diversos, como pueden ser las sustancias químicas cancerígenas. El cáncer sería, pues, la consecuencia de una mutación en las ribonucleínas granulares del citoplasma, produciéndose, en las células, microsomas (ribonucleínas) patológicos o anormales, que son, precisamente, complejos nucleoproteidos, es

(168) MARTÍNEZ PÉREZ, R., Arch. Fac. Medic. Zaragoza, IV, 25 (1956).

decir, el material más activo en el proceso de división celular, del cual están formadas las estructuras celulares que se reproducen más fácilmente. En consecuencia, tiene lugar un aumento de concentración de dichos materiales, y, si admitimos que pueden reproducirse por autosíntesis y autodivisión, también tendremos que admitir un momento en el que se sature el citoplasma y ponga en marcha, en frase del Prof. MARTÍNEZ PÉREZ (*loc. cit.*), «la división anárquica y la injuria proliferativa característica de las células cancerosas».

Para otros investigadores, como TYNER (1952) (169), en el cáncer, se encuentra alterada la influencia del núcleo sobre el citoplasma. En una célula normal, se admite, que, la síntesis proteínica comienza en el núcleo, pasando algunas micelas polipeptídicas al citoplasma, a través de la tenue membrana nuclear, para incrementar y activar los microsomas, los cuales sintetizan entonces las proteínas complejas, mediante la colaboración de enzimas adecuadas. En el caso del cáncer ocurre, según el Profesor ENRÍQUEZ DE SALAMANCA (170), como si al fallar la función del departamento citoplásmico, los materiales de construcción se acumulasen en el departamento nuclear, dando lugar, en el mismo, a una plétora, que sería la que provocaría la mitosis de la célula.

Es decir, en todo caso, aparece el cáncer como resultado de una lesión química del citoplasma celular.

Según las anteriores concepciones, tendríamos explicada la causa, o más bien, el mecanismo íntimo de la cancerización, común para todos los cánceres, y, también, para todos los factores considerados como cancerígenos (sustancias químicas, virus, radiaciones, etc.), ya que no creemos, que, por el momento, se pueda negar rotundamente, a ninguno de estos agentes, la posibilidad de actuar como factores desencadenantes, a la manera que hemos visto.

#### METABOLISMO DE LA CÉLULA CANCEROSA

Aunque, según BOULANGER, no se encuentran, en el cáncer, componentes anormales y propios (no obstante haber autores, como ya hemos visto, que hablan de nucleoproteínas específicas), el metabolismo de la célula cancerosa da lugar, sin embargo, a que la proporción de algunos substratos y enzimas (el equipo enzimático de la célula cancerosa) esté claramente alterada, pero siempre en el mismo sentido, siendo ésto lo que origina características comunes a todos los cánceres, por lo cual todos se parecen entre sí.

(169) TYNER, E. P., HEIDELBERGER, C. y LE PAGE, G. A., *Cancer Research*, 12, 158 (1952).

(170) ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, *Bol. Cult. e Inf. Cons. Gen. Col. Méd. España*, 16, 26 (1954).

La alteración que se produce en el metabolismo de la célula cancerosa se manifiesta, pues, por la desaparición, en la misma, de las enzimas específicas, quedando, todos los cánceres, igualados entre sí, de manera que todas las células cancerosas se parecen en cuanto a carencia o abundancia de enzimas particulares. Además, se encuentra una disminución en ácido *nicotínico*, *riboflavina*, grupos *hemo* (lo que afecta a citocromos, catalasas, peroxidasas), *glutación* (sobre todo en su forma oxidada), ..., todo lo cual revela, en frase de ENRÍQUEZ DE SALAMANCA (171) «una quiebra de los fenómenos oxidativos», según explicaremos más adelante.

Por el contrario, el contenido en *biotina* (que sirve para las carboxilaciones), *ácido fólico* (que aumenta el anabolismo de las purinas y pirimidinas) e *inosita*, es mayor.

MUELLER, en 1889, demostró, que, los tumores malignos producían un aumento en el consumo de energía y de sustancias, lo cual revelaba que el metabolismo de los tumores era autónomo y constituía una causa de la caquexia de los enfermos cancerosos.

Al estudiar el metabolismo de la célula cancerosa, consideramos, que el conocimiento exacto de la proporción de los distintos metabolitos, y, en algún caso, de su calidad, puede tener un doble fin. Por un lado, este conocimiento permitirá deducir cuál es la marcha química que siguen las sustancias, en los procesos de integración y desintegración, en la célula cancerosa, contribuyendo, ésto, a encontrar el origen primario de las alteraciones que tienen lugar en el proceso morboso. Por otro lado, a partir de este conocimiento de los metabolitos, pueden pensarse multitud de métodos de diagnóstico químico o citoquímico. Algunas de estas últimas posibilidades, ya están en uso, si bien no se ha llegado, en general, al grado de perfección deseado, pero creemos que, la mayoría de sus limitaciones son exclusivamente de técnica, y no de fundamento. En otros casos sin embargo, la limitación viene dada por la falta de comprobación de una definitiva especificidad, cuali o cuantitativa, de un metabolito determinado. Para facilitar la exposición y para relacionar más cómodamente, con su fundamento, dichas posibilidades de diagnóstico, se irán considerando a la vez que se haga el estudio de los diferentes metabolismos.

### *Metabolismo de los hidratos de carbono*

Los hidratos de carbono pueden consumirse por *respiración*, o sea, por combustión, con consumo de oxígeno y liberación de energía, o por

(171) ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, loc. cit., pág. 25.

*glucólisis*, es decir, por ruptura o escisión de la molécula de hidrato de carbono, con liberación de mucha menos energía.

Respecto a los hidratos de carbono, WARBURG descubrió la posibilidad de un metabolismo de tipo anaerobio. En 1926, dicho autor, descubrió un aumento en la formación de *ácido láctico* y una disminución en la respiración del tejido canceroso. La sangre que sale de un sarcoma lleva más ácido láctico que la que entra, lo que indica que ha sido la célula cancerosa quien lo ha producido.

Como dato curioso diremos que la velocidad de transformación de la glucosa en ácido láctico es tal, que un sarcoma transforma, en 24 horas, una cantidad de glucosa igual a su peso, convirtiéndola íntegramente en el citado ácido.

WARBURG, WIN y NEGELEIN, han demostrado, que los tumores malignos toman de la sangre un 57 % de glucosa frente a los tejidos normales. que sólo toman de un 2 a un 18 %.

Más tarde, el mismo WARBURG, descubre los *fermentos respiratorios, amarillo y rojo* (=cofermento *fosforriboflavina* + apofermento proteico), y VON EULER, la *diaforasa*, comprobándose que existía un déficit en los sistemas fermentativos respiratorios de la célula cancerosa.

La célula normal respira en presencia de oxígeno y extrae energía por glucólisis cuando dispone de él. Podríamos decir, por lo tanto, que se trata de un proceso de *anaerobiosis facultativa*. La célula cancerosa, sin embargo, aun en presencia de oxígeno, produce glucólisis con formación de mucho ácido láctico (*anaerobiosis necesaria*). He aquí expuesta una diferencia fundamental entre el metabolismo de los hidratos de carbono en la célula normal y en la cancerosa.

Si un tumor se extrae del organismo y se pone, en forma de cortes delgados, en una solución de glucosa al 2 %, sigue viviendo y, aunque el líquido tenga oxígeno, ocurre la transformación de glucosa en ácido láctico. Un tejido normal, colocado en las mismas condiciones, no produce ácido láctico; pero si se le asfixia, bien por falta de oxígeno, o bien por adición de ciertos venenos químicos, que impidan al oxígeno reaccionar, la transformación láctica se inicia, aunque en menor escala.

Examinando al microscopio, durante la fermentación láctica, un *tejido normal* asfixiado, se observan ciertas células (las células en crecimiento) que transforman hasta el 10 % de su peso en ácido láctico, mientras que las otras apenas tienen acción fermentativa. Haciendo lo mismo con un *tejido embrionario*, se observa, que la transformación llega al 13 % del peso de dicho tejido.

Si se inoculara a una rata un corte de un *tumor* de JENNSEN, que haya estado varios días en suero glucosado, se forma un sarcoma igual al que



produce la inserción de un tejido fresco, lo que nos demuestra que el tejido canceroso puede vivir bastante tiempo en suero glucosado: para él, la fermentación láctica tiene el mismo valor que la respiración para un tejido normal.

Por el contrario, si un tejido normal se introduce en suero glucosado, muere a las pocas horas. Algunas células, en crecimiento, viven un poco más tiempo, y si inoculamos, a una rata, algunas de las células supervivientes, se produce un *teratoma*, tumor benigno que se reabsorbe pronto.

De todos estos resultados, deducimos, que, la fermentación láctica, como también se llama a la glucólisis, existe en el tejido normal, pero son tan pocas las células que metabolizan la glucosa según este mecanismo, que el efecto pasa desapercibido en el conjunto. Al desaparecer la respiración propiamente dicha, por asfixia del tejido, subsiste por un poco tiempo la fermentación láctica, y, puesto que no existe la respiración, que impediría la manifestación del otro efecto, es por lo que parece que los tejidos asfixiados dan más ácido láctico que los normales.

CARREL ha asfixiado un embrión de pollo con *ácido arseñoso* (recuérdese su acción cancerígena) y, una vez establecido así el metabolismo propio de la célula cancerosa, ha inyectado el embrión en el músculo pectoral de un pollo, lo que ha originado un sarcoma típico, que mata al animal en cuatro semanas, y que es trasplantable a otros pollos.

También WIND ha cultivado, en suero glucosado, un embrión de pollo manteniéndolo en atmósfera inerte de nitrógeno y anhídrido carbónico, observando que las células embrionarias no sólo han vivido, sino que, además han crecido en el suero glucosado durante más de 40 horas. Estas consideraciones nos llevan a señalar una nueva semejanza entre las células cancerosas y las embrionarias: la respiración la efectúan ambas de la misma manera, si bien las embrionarias, en crecimiento, al hallarse en aerobiosis, no efectúan glucólisis.

A la vista de todo esto, WARBURG (172) concluye que la causa común, que existe en el origen de todos los cánceres, es el *deterioro irreversible de la respiración*, el cual pudo ser originado por los diversos agentes cancerígenos, según los mecanismos ya estudiados. A este deterioro irreversible de la respiración sigue, para las células afectadas, la lucha por su existencia, que termina, para unas, en la sustitución de la pérdida irreversible de *energía respiratoria* por *energía fermentativa* (glucólisis) transformándose en células cancerosas, es decir, en células no diferenciadas y de proliferación desordenada, debido a la calidad morfológica inferior, de este segundo tipo de energía. Así, encontramos, que GOLDBLATT y CAME-

(172) WARBURG, O., *Triángulo*, II, 207 (1956).

RON (173) consiguieron, por falta de oxígeno, transformar células normales en células cancerosas inoculables.

Respecto a estos fenómenos de la respiración celular, podemos considerar, además de lo dicho, que, si la disminución de la respiración pasa de un cierto valor, la célula muere y no llega, por lo tanto, ni a ser cancerosa.

El tiempo que transcurre, desde que se modifica la respiración celular hasta que tiene lugar el aumento de la glucólisis, aumento que compensa el déficit respiratorio, según indicamos antes, es lo que constituye el *período de latencia*, característica de la cancerización, pero que puede ser distinto según la especie.

EULER proporciona una justificación de los hechos anteriores, demostrando, que, en el *sarcoma* de JENNSEN, el *citocromo* (cromoproteido ferroporfirínico), activador del oxígeno, está muy aminorado.

POTTER y colaboradores (174) (175) señalaron la posibilidad de la ausencia, en los tejidos cancerosos, de alguna enzima clave, para el ciclo de KREBS. Dicha enzima pudiera ser, quizás, la oxidasa del ácido oxalacético.

Según HEIDELBERGER (176), se ha demostrado, que, no existe diferencia cualitativa entre la célula cancerosa y la normal, en cuanto a la oxidación de substratos, que se realiza mediante el ciclo de KREBS. Sin embargo, debe haber diferencia cuantitativa, puesto que se observa una capacidad de oxidación menor, que se manifiesta por la acumulación, en la célula cancerosa, de algunos substratos, favoreciéndose con ésto la síntesis y el crecimiento.

Según WERINHOUSE (1952) y KIELEY (1952), las enzimas para el ciclo de KREBS residen en las mitocondrias. Pero, como se ha demostrado con los microscopios electrónico (177) y ultravioleta (178), las mitocondrias de muchos tipos de células cancerosas, son más pequeñas, tenues y frágiles que las normales y también aparecen de esta forma al centrifugar un homogeneizado tisular, con objeto de extraer tales corpúsculos.

ALLARD y colaboradores, han aislado, por centrifugación, las mitocondrias del hígado de ratas, habiendo contado, en el hígado normal, 2480 por cada célula, mientras que, en el hígado «en regeneración», se pudieron contar 2089 y, en un hepatoma, sólo 711 mitocondrias.

(173) GOLDBLATT, H. y CAMERON, G., *J. Exper. Med.*, 97, 525 (1935).

(174) POTTER, V. R., LE PAGE, G. A. y KLUG, H. L., *J. Biol. Chem.*, 175, 619 (1948).

(175) PARDEE, A. B., HEIDELBERGER, C. y POTTER, V. R., *J. Biol. Chem.*, 186, 625 (1950)

(176) HEIDELBERGER, C., *Adv. Cancer Research*, 1, 214 (1953).

(177) DALTON, A. J., KAHLER, H., KELLY, M. G., LLOYD, B. J. y STRIEBIG, M. J., *J. Natl. Cancer Inst.*, 9, 439 (1949).

(178) ANNAU, E., MANGINELLI, A. y ROTB, A., *Cancer Research*, 11, 404 (1951).



STRIEBICH y otros (179) observaron un aumento de un 150 % en el número de mitocondrias del hígado de ratas alimentadas con el colorante, no cancerígeno, *2-metil 4-dimetilamino azobenceno*, mientras que, en ratas alimentadas con *3-metil 4-dimetilamino azobenceno* se observa una disminución de un 41 %.

Las mitocondrias y los microsomas son los instrumentos del catabolismo oxidativo que es propio del citoplasma; de ahí, que, al existir, según dijimos, menos mitocondrias en las células cancerosas, exista este déficit oxidativo de que venimos hablando. El hialoplasma restante, de la célula, interviene en la glucolisis.

Resumiendo: todas estas ideas y experiencias, permiten hacer resaltar, como característica de la célula cancerosa, una considerable inhibición de su metabolismo oxidativo, paralela al incremento de su glucolisis característica que recuerda a las células embrionarias o proliferantes, hasta el punto, como dice el Prof. ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, de justificar la frase de WARBURG «*sin glucolisis no hay crecimiento*». Sin embargo, entre célula embrionaria y cancerosa, existe la diferencia fundamental de que la primera, en aerobiosis, da un elevado índice de respiración y nula glucolisis. no resistiendo la privación de oxígeno o anaerobiosis, mientras que la cancerosa, produce, en las mismas condiciones, una fuerte glucolisis y débil respiración, pudiendo vivir, en anaerobiosis, sólo a expensas de glucosa, siempre que disponga de ella en cantidad suficiente. Es decir, que, en ésto, como han comparado algunos autores, la célula cancerosa, se parece a los microbios aerobios facultativos, que lo mismo viven con oxígeno que sin él, ya que tienen la facultad de elegir entre dos medios de vida: fermentación o respiración.

La célula cancerosa metaboliza el 66 % de glucosa por fermentación y sólo un 33% por respiración; en ausencia de glucosa, puede seguir viviendo a expensas de la respiración, y sólo cuando no disponga ni de oxígeno ni de glucosa, cesará la vida para ella. Una nota, característica del período de crecimiento de un cáncer, es que el contenido en glucógeno de la sangre está disminuído, lo que quizás pudiera servir, en principio, para un intento diagnóstico de la enfermedad.

### *Metabolismo proteico*

El metabolismo normal de los aminoácidos y la síntesis y degradación de las proteínas de los tejidos, se ha estudiado, modernamente, empleando aminoácidos marcados, con deuterio en la cadena carbonada y con

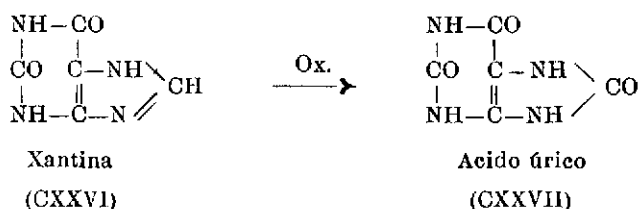
(179) STRIEBICH, M. J., SHELTON, E. y SCHNEIDER, W. C., *Cancer Research*, 13, 279 (1953).



nitrógeno pesado en el grupo amino (SHOENHEIMER y colaboradores).

El proceso de degradación de las nucleoproteínas es, a su vez, de gran interés. Toda *nucleoproteína* se hidroliza en *proteína + nucleína*, desdoblándose a su vez esta última en *proteína + ácido nucleico*. El *ácido nucleico* más simple, es un tetranucleótido, que se hidroliza en sus cuatro *nucleótidos*, los cuales, por pérdida de ácido fosfórico, se convierten en *nucleósidos*, que se desdoblan en la *d-ribosa* y en la base *purínica* o *pirimidínica*.

Por otra parte, las proteínas se hidrolizan hasta aminoácidos. El azúcar sufre su metabolismo característico. El ácido fosfórico puede utilizarse para sintetizar otros compuestos orgánicos fosforados. La *base pirimidínica* es probable que se degrade a *urea*, y la *purínica* [adenina (CXX) o guanina (CXXI) ya indicadas], se transforma en *xantina* (CXXVI), que por oxidación posterior da *ácido úrico* (CXXVII). Se supone que el organismo puede sintetizar las pirimidinas y purinas necesarias.



Conocido todo ésto y los resultados obtenidos en el estudio del metabolismo proteico de la célula cancerosa, se puede afirmar, que, en este último caso, existe una manifiesta alteración e incluso cambios bien definidos, en las proteínas del hígado y suero, en casos de carcinomas de ratas, inducidos por azocolorantes; entre dichos cambios es conocida la formación de un enlace entre la molécula del azocolorante y la de las proteínas del hígado, cambio o anomalía que se puede considerar como etapa precancerosa (180), habiéndose observado, también, un incremento en la concentración de ácido desoxirribonucleico correlativo con una disminución de ribonucleico (181). Recuérdese lo indicado respecto a las reacciones de FEUGEN y DISCHE, usadas en el diagnóstico del cáncer, y que se basan en la detección de este incremento de D N A.

Los variados aspectos del metabolismo nitrogenado de los tumores (que, para el caso, es igual que hablar de metabolismo proteico de los mismos) han sido examinados, no hace mucho, por MIDER (182); en di-

(180) MILLER, F. C. y MILLER, J. A., *Cancer Research*, 7, 460 (1947).

(181) MASAYAMA, T. y YOKOYAMA, T., *Cann*, 34, 174 (1940).

(182) MIDER, G. B., *Cancer Research*, 11, 821 (1951).

cho examen se observa, que los tumores malignos parecen tener una gran actividad constructiva o plástica, la cual se manifiesta en el crecimiento continuo del tumor, y si no hay un suministro adecuado de nitrógeno para ello, desarrollan la facultad de crecer, a expensas de los tejidos normales del individuo, lo que ocasiona, como ya indicamos, la caquexia de dicho individuo. Esta conclusión ha sido avalada por el balance de nitrógeno, efectuado en las ratas (183) (184) y en el hombre (185) (186).

Ya que estamos tratando del metabolismo nitrogenado o proteico, se impone recordar aquí, lo referente al metabolismo o alteraciones de las nucleoproteínas, o nucleoproteidos, etc. discutido ya en la parte general de este capítulo; siendo también digno de destacar, en cuanto al aspecto cualitativo del metabolismo nitrogenado, la inversión del sentido del poder rotatorio de los aminoácidos de la célula cancerosa (en su mayoría dextrogiros) con respecto al de los que constituyen las proteínas de la célula normal (casi todos levógiros). Así, por ejemplo, KOGI y ERXIEBEN han encontrado aminoácidos dextrogiros en células cancerosas, y, concretamente, en miomas, carcinomas, sarcomas, han comprobado la existencia de mezclas de *ácido glutámico*, dextro y levogiro, en un 50%, aproximadamente, cada uno, mientras que en tejido normal, si es que existe el dextrogiro, se encuentra en una proporción no mayor del 2%. Además se ha encontrado *arginina*, *lisina*, *leucina*, *valina*, *oxitrolina*, *ácido oxiglutámico*, *ácido aspártico*, etc., dextrogiros.

Según JIRGENSONS y SIROTZKY (187) las sero-proteínas de cancerosos tienen un poder rotatorio más débil que las normales, existiendo, por otra parte, claras diferencias entre la albúmina de los cancerosos y de individuos normales, siendo las primeras menos reactivas en soluciones de clorhidrato de guanidina. Estas diferencias podrían ser el fundamento de un ensayo con carácter diagnóstico.

También se encuentran claras diferencias, en el aspecto cuantitativo, entre los aminoácidos de los tejidos normales y cancerosos, y así, en un estudio de la distribución de los mismos, en las proteínas de los tejidos, se ha observado una mayor cantidad de algunos aminoácidos, especialmente *ácido glutámico*, *treonina* y *tirosina*, en los productos de hidrólisis del tejido neoplásico.

Las proteínas de líquidos ascíticos, que en la electrodiálisis no preci-

(183) MIDER, G. B., FENNINGER, L. D., HAVEN, F. L. y MORTON, J. J., *Cancer Research*, 11, 731 (1951).

(184) YEAKEL, E. H. y TOBIAS, G. L., *Cancer Research*, 11, 890 (1951).

(185) FENNINGER y WATERHOUSE, *Cancer Research*, 11, 247 (1951).

(186) WATERHOUSE, FENNINGER y KRUTMANN, *Cancer*, 4, 500 (1951).

(187) JIRGENSONS y SIROTZKY, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1367 (1954).

pitan, no difieren mucho entre sí, ya sea la *ascitis* de origen canceroso o no. Ambas fracciones proteicas se muestran homogéneas electroforéticamente, teniendo idénticas propiedades físicas y químicas, y los componentes hidrocarbonados de las mismas, se parecen, igualmente, desde los puntos de vista cualitativo, cuantitativo y electroforético. Sin embargo, en reacciones de precipitación, la porción hidrocarbonada, de las proteínas de líquidos ascíticos de origen canceroso, se comporta como grupo específico. Estos hechos parecen demostrar que los líquidos ascíticos no son consecuencia de una simple filtración de suero (188).

Otra característica de las proteínas del cáncer es que son particularmente resistentes a la digestión péptica.

En el suero de los enfermos cancerosos, se observa una alteración de sus constituyentes proteicos, encontrándose modificado el cociente *albúmina / globulinas*, alteración de sentido negativo, y, al parecer característica, que se ha tomado por algunos (ROFFO y KAHN, por ejemplo) como posible criterio de diagnóstico químico del cáncer. Otros autores (SANTOS RUIZ, LUCAS GALLEGO y DOMÍNGUEZ ESTEVEZ) han encontrado, en sus determinaciones, que, en realidad, están disminuidos los proteidos totales del suero, siendo las cifras de las globulinas y fibrinógeno las más afectadas, por lo cual, el índice diagnóstico empleado por estos autores es AF/G.

Hasta hace poco la identificación de fracciones proteicas se lograba por fraccionamiento salino (precipitación fraccionada). Actualmente, con el concurso de las técnicas de electroforesis sobre papel, se ha extendido el intento diagnóstico, de enfermedades, por estudio de las fracciones proteicas. En efecto, existen diferencias en cuanto a los electroforegramas de los distintos casos clínicos. Por ejemplo, en una cirrosis biliar, se observa en general una hiperproteinemia, caracterizada por una hipergamma- e hiperbetaglobulinemia, en tanto que en una cirrosis posthepática hay tendencia a una hipoproteinemia, aunque con hipergammaglobulinemia. Otras veces es interesante el cociente de dos fracciones determinadas, como antes hemos indicado, y así en la cirrosis hepática, la relación A/G, es menor que 0,7, y en un caso particular fué de 0,27. En el caso de infecciones, el valor de A/G es parecido, pero se diferencia de las cirrosis en que en éstas la proporción de fibrinógeno se mantiene normal o disminuye. También el estudio de las mucoproteínas, podrá servir, en un futuro, para un diagnóstico cierto, de la naturaleza de algunas enfermedades, en términos generales, el contenido absoluto, en globulina, aumenta en los procesos inflamatorios y degenerativos, pero cada enfer-

(188) HAJIME MASAMUNE, HIROSHI CHIBA, ISAO TAKAKU, GENJI KIKUCHI y YOICHI SATOH, *Tohoku J. Exp. Med.*, 59, 87 (1953). [C. A., 48, 7076 (1954)].

medad particular se caracteriza por una determinada proporción de polisacáridos conjugados, tanto en la globulina  $\alpha$  como en la  $\beta$  (las dos mucoproteínas más características), proporción que juega más importancia en el diagnóstico clínico que incluso el propio contenido proteico. Según las ideas de POLI, las globulinas  $\alpha$  y  $\beta$ , son proteínas que se encuentran en el plasma, procedentes en su mayoría de otros tejidos, y reflejan mejor que las propiamente plasmáticas la presencia de alteraciones tisulares (\*).

También es característica de las seroproteínas cancerosas su menor facilidad de coagulación, por acción del calor (189) (190), característica en la que se base la prueba de HUGGINS (1949) para el diagnóstico del cáncer.

Respecto al metabolismo de las nucleoproteínas, ya hemos considerado, aunque ligeramente, su fase catabólica; podemos considerar, ahora, su fase anabólica, más interesante aún a nuestro parecer, puesto que, hemos de tener en cuenta que las síntesis celulares (las cuales, según CASPERSON, parecen tener su origen en el núcleo de las células) están íntimamente relacionadas, por no decir identificadas, con las síntesis de nucleoproteínas. En este aspecto, utilizando aminoácidos, como la glicocola, marcados isotópicamente, se ha podido demostrar, que éstos se incorporan a los cromosomas para sintetizar, con desoxirribosa y fosfórico, los D N A completos, que posteriormente se transforman en R N A y se acumulan en los nucleolos, de los que pasan al citoplasma, para incrementar los microsomas o plasmagenes, preexistentes (SONNEBORN, 1950), con aumento de la actividad sintética, produciéndose proteínas más complejas al incorporarse nuevos aminoácidos y otros constituyentes.

Según los resultados obtenidos por TYNER y colaboradores, en el estudio comparativo del tiempo de incorporación de la glicocola marcada, en las células normales y en las cancerosas, se deduce que la asimilación constructiva es mayor en el núcleo de las últimas, pero menor en su protoplasma en relación con lo que ocurre en el núcleo y protoplasma de las no cancerosas

A pesar de todo ésto, la fase anabólica del metabolismo proteico no está muy clara, en general.

El estudio del animal en conjunto ha dado como resultado, al trabajar con aminoácidos marcados, que la velocidad de incorporación de los mismos a las proteínas del tumor, es algo mayor que la de incorporación a las proteínas del tejido normal; también, se ha encontrado, que, al menos en algunos carcinomas, la pérdida de los aminoácidos marcados

---

(\*) Un interesante estudio sobre el particular puede verse en J. GRAS, *Proteínas plasmáticas*. Ed. Jims. Barcelona, 1956.

(189) HUGGINS, C., *Cancer Research*, 9, 321 (1949).

(190) HUGGINS, C., MILLER, G. M. y JENSEN, E. V., *Cancer Research*, 9, 177 (1949).

de las proteínas correspondientes es más lenta (191). Resultados contrarios han obtenido GRIFFIN y otros (192), en experimentos con hepatomas; encuentran que la fracción no cancerosa del hígado incorpora los aminoácidos, a las proteínas, más rápidamente que la cancerosa.

Según algunos autores (193), es característico, al menos de ciertos tejidos sarcomatosos, el poseer una alta concentración de *ácido ribonucleico* en el nucléolo y citoplasma de sus células. El desoxirribonucleico, se encuentra más concentrado en los cromocentros, de los núcleos pertenecientes a células sarcomatosas. Se cree, asimismo, que la perturbación del metabolismo de las nucleoproteínas en el sarcoma de CROCKER es debida a una inhibición parcial de ciertas enzimas, inhibición producida, a su vez, por la baja concentración de la forma reducida de *glutatión* y de *grupos sulfhidrilo*. Parece ser también, que perturbaciones análogas a éstas, pueden dar lugar al desarrollo de una especial organización nuclear, que originaría la división de las células sarcomatosas.

### *Metabolismo de los lípidos*

Los lípidos están también muy relacionados con los cambios metabólicos que acompañan a la carcinogénesis.

Estudiando los efectos de un tumor (carcinoma WALKER 256 de la rata) sobre el animal substrato, HAVEN, BLOOR y RANDALL (194) observaron que dicho tumor parecía causar: a) *lipemia*; b) *disminución en el contenido de ácidos grasos del animal*; c) *modificación de la relación de ácidos grasos sólidos a líquidos*; d) *aumento del grado de no saturación de los ácidos grasos líquidos en el animal canceroso*. Esto último tiene grandes repercusiones en el metabolismo de los lípidos, por lo que sería interesante comprobar su marcha durante el curso de la enfermedad, en el hombre.

También se ha observado, durante el proceso canceroso, un incremento de colessterina (esteroide del insaponificable de las grasas). Respecto a ésto ya hemos visto algo en la discusión de los agentes cancerígenos endógenos.

FOLCH y colaboradores (195) (196) describieron la presencia, en los tumores cerebrales, de proteolípidos y otros nuevos componentes, que posteriormente fueron encontrados también en algunos tejidos normales.

(191) SHEMIN y RITTENBERG, *J. Biol. Chem.*, **153**, 401 (1944).

(192) GRIFFIN, A. C., BLOOM, S., CUNNINGHAM, E. TEREST, J. D y LUCK, J. M., *Cancer*, **3**, 316 (1950).

(193) ANDRZEJ VOHRBRODT, *Polska Akad. Umiejtnosci. Rozprawy Wydziału Lekarsk.*, **13**, 1-21 (1952). [*C. A.*, **48**, 4101 (1954)].

(194) HAVEN, F. L., BLOOR, W. R. y RANDALL, C., *Cancer Research*, **11**, 619 (1951).

(195) FOLCH, J. y LEES, M., *J. Biol. Chem.*, **191**, 807 (1951).

(196) FOLCH, J., ARSOVE, S. y MEATH, J. A., *J. Biol. Chem.*, **191**, 819 (1951).

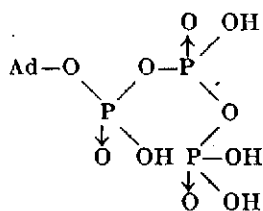




### Metabolismo del fósforo y su intervención en los metabolismos estudiados

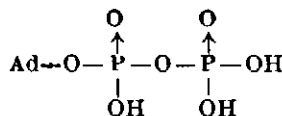
Estudiando los tejidos normales y cancerosos, ambos en condiciones aerobias y anaerobias, se observa, según MANN y GRUSCHOW (1949) (197), que los primeros toman menos  $P^{32}$  en condiciones anaerobias, que en aerobias, mientras que los tejidos cancerosos toman prácticamente igual en ambas condiciones.

Este hecho podemos relacionarlo con el fenómeno oxidativo (del que ya hemos hablado al tratar del metabolismo de los hidratos de carbono), puesto que se ha observado que, en la glicolisis, por cada molécula de glucosa toman parte dos de fosfórico en combinación orgánica, concretamente, como *trifosfato de adenosina* (A T P) (CXXVIII), mientras que, en la respiración normal, intervienen de 12 a 24 moléculas orgánicas fosforadas. Las moléculas de A T P o de A D P (difosfato de adenosina) (CXXXIX) han de ser sintetizadas de nuevo, valiéndose de la energía química, para que continúe el proceso.



(CXXVIII)

Ad=Adenosina



(CXXXIX)

Cuando la producción de trifosfato de adenosina (fijador de la energía de respiración o de fermentación glucolítica) es insuficiente, sea por disminución del consumo de oxígeno o porque no existe acoplamiento entre la función respiratoria y la formación de dicho compuesto, entonces, aun consumiendo la cantidad normal de oxígeno, la respiración celular resulta alterada, y de aquí, que, según las teorías expuestas anteriormente sobre los fenómenos de la respiración celular, esté relacionada la elaboración de *trifosfato de adenosina* con el proceso de cancerización (198).

En las células cancerosas, al fallar la fosforilación oxidativa, se encuentra también alterada la fijación de fósforo inorgánico, lo cual se ha podido comprobar en los homogeneizados de tumor (POTTER). En conse-

(197) MANN, W. y GRUSCHOW, J., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 71, 658 (1949). [C. A., 44, 735 (1950)]

(198) WARBURG, O., *Triángulo*, II, 203 (1956).

cuencia, la relación  $P$  orgánico /  $P$  inorgánico puede ser equivalente, como ha sugerido LINEN, a la relación *respiración* / *glucolisis*.

También GRIFFIN y otros (199), valiéndose de  $P$  radioactivo, han encontrado, que, en las ratas alimentadas con el compuesto cancerígeno *3'-metil 4-dimetilamino azobenceno*, la fracción lipóidea de los tumores de hígado, contiene menos fósforo, y menor actividad de  $P^{32}$ , que la fracción correspondiente de hígados normales y aún precancerosos.

Sin embargo, EULER y HEVESY, utilizando también  $P^{32}$ , observaron, que la incorporación, del mismo, a los D N A de los núcleos de las células del sarcoma de JENSEN, era mayor que en el caso de células hepáticas normales. También GRIFFIN y colaboradores, en 1951 (*loc. cit.*), encontraron una mayor incorporación de  $P^{32}$  a los D N A y a los lípidos nucleares, de las células cancerosas e incluso precancerosas, del hígado de ratas a las que se había administrado amarillo de manteca.

Según todo ésto, resulta, que la fosforilización estaría disminuída en el total de los homogeneizados cancerosos, debido, seguramente, al fallo, que ya indicamos, de las mitocondrias, que son los órganos encargados de armonizar los fenómenos de oxidación y de fosforilación catalizada por el núcleo (BRACHET), explicación que está conforme con el hecho de que, en el núcleo, no se observe disminución alguna de la fosforilación, sino todo lo contrario.

En el metabolismo de la célula cancerosa, se ha observado la producción de un metabolito fosforado: un *fosfato de etanolamina*, que es un compuesto típicamente canceroso, por lo que, su reconocimiento, quizás fuera un dato interesante para el diagnóstico químico del cáncer.

### *Metabolismo de las enzimas o fermentos*

El estudio del metabolismo enzimático, en los procesos cancerosos, presenta interés, desde el momento en que se conocen las modificaciones enzimáticas típicas que tienen lugar en dichos procesos y de las que ya hemos hablado, en términos generales.

En la bibliografía, encontramos autores que indican, que se podría distinguir, entre *enzimas necesarias para la iniciación del tumor* (en principio cabría asignarles cierto carácter cancerígeno, o al menos coadyuvante) y *enzimas que actúan sobre el tumor ya formado*.

El papel de las enzimas en la aparición del cáncer ha de estudiarse en el período preliminar y así lo ha hecho ADAMS (200) con la *catalasa* (=cofermento *hemincatalasa* + apofermento proteico), enzima que cataliza

(199) GRIFFIN, A. C., CUNNINGHAM, L., BRANDT, E. L. y KUPFER, D. W., *Cancer*, 4, 410 (1951).  
 (200) ADAMS, D. H., *Brit. J. Cancer*, 4, 183 (1950).



la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular. YOUNG, midiendo la actividad de la catalasa del hígado de ratones adultos con *sarcoma 37*, a intervalos pequeños, observó que la enzima disminuía, significativamente, a las 24 y 48 horas de la inoculación, antes de observarse cualquier crecimiento activo; la actividad ascendía aproximadamente hasta el valor normal 4 días después, siendo, a los 14 días, cuando se alcanza el valor mínimo (la aparición de tumores palpables no tiene lugar hasta 4 ó 6 días después de la inoculación). No hay duda de que la primera depresión de enzimas se debe a alguna sustancia producida por el tumor ya desarrollado. Se conocen casos concretos de disminución de actividad de catalasa, por ejemplo, en las células del hígado de ratones, al inocularles fracciones obtenidas de tumores por precipitación con alcohol.

La *actividad catalasa* está localizada en los citoplasmas correspondientes a tejidos de hígados normales, siendo igual en las mitocondrias que en el fluido extramitocóndrico, en donde están los microsomas; cuando los tumores alcanzan un cierto tamaño, la depresión en actividad catalasa se observa igualmente en las mitocondrias.

En casos de alimentación con dietas exentas de proteínas, lo mismo que en casos de inanición, se manifiesta una depresión en actividad catalasa análoga a la provocada por un tumor; la recuperación lograda en estos casos, al sobrepasar las causas, ofrece también el mismo aspecto que la recuperación por extirpación del tumor.

La *actividad glicolítica* se muestra diferente para los tejidos normales y para los cancerosos. En cambio, la *actividad láctico-deshidrogenasa* (*desmolasa* que actúa sobre el substrato ácido láctico, pasándolo a pirúvico) se encuentra claramente afectada por la tumorización, conociéndose casos en que la actividad se hace siete veces superior a la correspondiente a un tejido normal. Esta actividad deshidrogenasa puede medirse determinando la velocidad de oxidación del *difosfopiridin-nucleótido*, por el piruvato formado.

Otra manifestación enzimática, típica de los tejidos cancerosos, es la disminución de su *capacidad oxidativa* para ácidos grasos, según han podido comprobar BAKER y MEISTER (201) en hepatomas obtenidos por trasplante o por inducción con amarillo de manteca; en efecto, extractos de tales tejidos cancerosos mostraban muy disminuída la capacidad para oxidar los ácidos hexanoico y octanoico, en relación con la actividad de células hepáticas normales. Casos análogos se observan en hígados infiltrados de leucemia, existiendo cierta proporcionalidad entre el grado de infiltración leucémica y el de disminución de actividad oxidativa.

(201) BAKER, C. G. y MEISTER, A., *J. Natl. Cancer Inst.*, 10, 1191 (1950).

En lo que respecta a la actividad de *fosfatasa alcalina* (las *fosfatasas* actúan sobre la unión éster entre el ácido fosfórico y la glicerina, o entre el ácido fosfórico y un glúcido), se observa un significativo incremento de la misma, en el suero de pacientes cancerosos, independientemente de edad, sexo, sitio, tipo o grado de la enfermedad, habiéndose encontrado que la actividad máxima la ocasionaban los tumores de hígado y páncreas, cuyos enfermos solían presentar ictericia, y también era máxima en los casos de cánceres del sistema génito-urinario. En el control químico de esta actividad, se han utilizado, como sustratos, el ATP (trifosfato de adenosina, ya citado), el  $\beta$ -glicerofosfato sódico y el ácido adenílico de levaduras, apareciendo el último como el sustrato más adecuado. Probablemente existe una verdadera especificidad, por lo que, desde el punto de vista químico, es interesante el estudio de la naturaleza de la citada fosfatasa. Concretamente, sobre la constitución de la fosfatasa renal, son interesantes los trabajos del Prof. LORA TAMAYO y colaboradores (202), que se llevan a cabo en el Instituto de Química «Alonso Barba», en Madrid.

También se han encontrado, en casos de hepatomas y epitelomas experimentales, de ratas sometidas a dietas especiales, que la actividad *lecitinasasa* del hígado disminuye fuertemente.

Otros muchos casos de alteración, en el contenido enzimático de tejidos cancerosos, aparecen en la bibliografía, pero, muchas veces, hay que afinar en lo que a la localización de estas diferencias se refiere. Así, por ejemplo, en el caso de cáncer de hígado (hepatoma) de ratón, ha podido observarse disminución en el contenido de nitrógeno (se toma éste, como *índice del contenido enzimático*) en la región de las mitocondrias y partículas submicroscópicas, con respecto al tejido hepático normal; en cambio, no se aprecian diferencias de contenido en nitrógeno al comparar los núcleos normales con los cancerosos, en los mismos tejidos.

Las *actividades* de *succino-oxidasa* y *citocromo-oxidasa* (\*) aparecen, en las células de hepatoma, disminuídas hasta 1/5 de su actividad normal, y su localización está muy ligada a las mitocondrias. En la variación de esta actividad, se funda la *reacción de SHERT*, sobre el suero de cancerosos, con azul de metileno.

La presencia de *citocromo-oxidasa*, cuya misión primaria es oxidar al citocromo reducido, puede demostrarse por vía microscópica, en las células, por la aparición de color azul cuando se tratan con  $\alpha$ -Nafтол y *DI*metilparafenilendiamina (*reacción del NADI*), debido a la formación de azul de

(202) LORA TAMAYO, M., «La Química de la Fosfolasas» (Conferencia), *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 38, 983-1001 (1956).

(\*) Actualmente se considera a la *citocromo-oxidasa*, a la *indofenol-oxidasa* y al *fermento respiratorio* de WARBURG, como una misma enzima, de estructura ferroporfirínica.



indofenol, coloración que ya había sido observada, en 1907 por WINKLER en el teñido de leucocitos vivos, por aplicación sucesiva de los dos reactivos citados, con aparición de gránulos azules. Recientemente, SCHNEIDER ha demostrado, que, la actividad de citocromo-oxidasa, crece bruscamente en los tejidos precancerosos, al iniciar su actividad maligna (203).

El hecho de que la acción de los cancerígenos tenga efectos sobre las oxidasas específicas de los ácidos succínico y oxalacético (recuérdese que ya se habló de la posibilidad de ausencia de esta última oxidasa para explicar las alteraciones del ciclo de KREBS) es una prueba de la actuación de tales cancerígenos sobre la síntesis de las mitocondrias, que puede ser considerada como independiente en la multiplicación celular, según era previsible por la hipótesis de la supresión enzimática de POTTER, ya referida.

La investigación de *succino-oxidasa*, puede ser un criterio, también de interés, en el diagnóstico citoquímico del cáncer, según señalan STRAUS, ANTÓPOL y SELIGMAN. Cuando la observación microscópica se hace sobre células cancerosas, en presencia de cloruro de tetrazolio (C T T), y en las condiciones recomendadas por STRAUS y CHERONIS, puede apreciarse una reducción del C T T, manifestada por una tinción, en rojo oscuro, que afecta especialmente a ciertas vacuolas o inclusiones globulares, predominando, las tinciones, en puntos próximos al núcleo (204).

El sistema enzimático *difosfopiridín-nucleótido—citocromo-c-reduc-tasa*, que se encuentra concentrado en las partículas submicroscópicas, y, en menor proporción, en las mitocondrias, se altera por la presencia de un tumor, de modo, que, por ejemplo, en el hepatoma de rata, aparece la actividad enzimática correspondiente más concentrada en las mitocondrias; no obstante, se observa, en todas las fracciones de la célula cancerosa, un incremento de la actividad específica.

En otros casos, la variación en actividad enzimática no mantiene un sentido único a lo largo del proceso canceroso. Así, por ejemplo, la *actividad ribonucleopolimerasa*, en el hígado de rata, durante un estado precanceroso, de un cáncer provocado por amarillo de manteca, presenta un incremento inicial, hasta alcanzar el valor máximo entre los 90 y 120 días de crecimiento, comenzando entonces un descenso de dicha actividad hasta llegar al valor normal al proseguir el desarrollo. Esta variación seguirá, indudablemente, una marcha paralela a la del contenido de *ácido ribonucleico* del mismo tejido.

Finalmente, diremos, que, algunas actividades enzimáticas pueden in-

(203) GÓMEZ J. DE CISNEROS, J. M., «Valor práctico de los nuevos procedimientos para el estudio de la citología exfoliativa y del onco-cito-diagnóstico», II Reun. Méd. Levante, 655, Murcia, abril, 1954.

(204) GÓMEZ J. DE CISNEROS, J. M., loc. cit.

cluso variar de sentido según la naturaleza del tumor. Este es el caso de la  $\beta$ -glucuronidasa, cuya actividad, en los tejidos neoplásicos humanos, se encuentra incrementada, mientras que, cuando se trata de casos de leucemias linfáticas y mielogenosas crónicas, dicha actividad aparece muy por debajo de la normal, si bien en el caso de leucemias agudas o en la etapa terminal de las crónicas, el contenido enzimático permanece normal.

Creemos conveniente advertir, que no debe confundirse la noción de actividad enzimática con la de cantidad de enzima, ya que, según el Prof. SPINETTI-BERTI (205), ambas magnitudes no varían exactamente en proporción directa, estando, por otro lado, relacionada, la acción enzimática, con la concentración del substrato que ha de ser atacado.

En la discusión que precede, sobre el metabolismo enzimático canceroso, (así como sobre los otros metabolismos) hemos ido ya indicando algunas alteraciones que se pueden tomar como índices característicos para un diagnóstico químico de la enfermedad. De carácter parecido es la reacción de BRIEGER (BRIEGER, TREBUNG y MARCUS, 1908) que se basa en la acción paralizante de los fermentos trópsicos del páncreas, leucocitos y células de distintos tejidos, debida a un antifermento que, existiendo en el suero de cancerosos, comunica a éste un notable poder antitrópsico. Sin embargo, el valor diagnóstico de esta reacción es pequeño, por ocurrir lo mismo en casos extraños al cáncer, pero un resultado negativo, de la misma, indica la ausencia de tumor.

Recientemente KARISCH (206) ha publicado sus resultados personales sobre la utilidad del método de NITSCHÉ para el diagnóstico precoz del cáncer. Dicho método se basa en comprobar la excreción urinaria de un fermento específico, que, se encuentra, prácticamente, en la orina de todos los cancerosos en cantidades variables, ocurriendo su aparición en la fase inicial del proceso maligno. Como propiedad característica de este fermento se da el hecho de escindir la molécula de fibrina, de otra especie animal, hasta el estado de aminoácidos libres (detectables, por ejemplo, por su reacción con ninhidrina), al encontrarse en una disolución de ácido láctico y en presencia de iones calcio. Sin embargo, aunque la reacción negativa es una señal de la no existencia de enfermedad cancerosa (por ésto sirve también para testificar la curación, o como prueba de una extirpación bien lograda), el resultado positivo puede confundirse a veces con resultados semejantes, de destrucción de fibrina, pero que no ha sido ocasionada por el citado fermento de la orina de los cancerosos, sino por otras causas ligadas a otras afecciones.

(205) SPINETTI-BERTI, M., *Manual de Bioquímica*, Ed. Cient. Méd. Barcelona, 1949, pág. 128.

(206) KARISCH, *Arztliche Praxis*, 7, 2 (1955).

Después del estudio sobre las alteraciones que sufre el metabolismo, por causa de procesos cancerosos diversos, y de haber tomado tales alteraciones como motivo de diagnóstico, cabe empezar el capítulo dedicado al estado actual de la Quimioterapia del cáncer, que, como veremos, unas veces intenta remediar las causas primeras de estas alteraciones, pero no pocas veces se reduce a la eliminación o bloqueo de metabolitos anormales, para evitar la degeneración biológica de las células por influencia de tales metabolitos.

## X I

## QUIMIOTERAPIA DEL CANCER

El presente capítulo podría ser el más interesante de la química del cáncer, tanto por significar la culminación de una tarea científica de la mayor envergadura, como por las consecuencias que de su aplicación se derivan. Desgraciadamente, es un capítulo al que le falta bastante para quedar completo, si bien es verdad que contiene ya mucha materia, de la que, aunque no podamos hablar de su absoluta eficacia, se derivan consoladoras esperanzas, siendo un magnífico exponente de la labor realizada en este aspecto.

Conscientemente, hemos dejado esta parte para el final. Así, conocido todo lo que precede en el trabajo, podremos hacernos cargo de que, no existiendo una explicación satisfactoria, completa y unánime, del proceso de la carcinogénesis, no puede existir tampoco un criterio teórico, que permita dar a manera de una fórmula general para los agentes quimioterapéuticos del cáncer, teniendo que seguir, más bien, un método empírico, que, para unos investigadores, se orientará a inhibir un proceso metabólico quizás anormal y para otros tenderá a anular la posible acción cancerígena de un metabolito particular, o más directamente, la del agente cancerígeno externo.

En dicho sentido, con más razón que en otros campos, la Ciencia ha tenido que proceder con cautela, conocida la doble faceta, antagónica según las condiciones, de la actividad de ciertos compuestos ensayados como anticancerígenos y la proximidad de estructuras de otros muchos, declaradamente cancerígenos (teoría de los *inhibidores estructurales*) que ya justificamos, en parte, al tratar del mecanismo de acción de los agentes cancerígenos). Es por ésto también, por lo que, la *Quimioterapia* no





ha podido todavía salir, completamente, de la fase experimental de comprobación, ya *in vitro* o ya *in vivo*, sobre animales inferiores. De todas formas, su aplicación a la clínica humana tiene ya un marcadísimo interés.

Muchos son los investigadores que se han ocupado y se ocupan, la mayoría de las veces con éxitos, si no absolutos, al menos parciales y de gran interés, de la quimioterapia del cáncer. Entre ellos, podemos citar a SHEAR (207), STOCK (208), BOYLAND (209) AUB y NATHANSON (210), que tratan los aspectos endocrinos de la quimioterapia; TABERN (211), que se ha ocupado del empleo de isótopos radioactivos en la misma; DE ROPP (212). SKIPPER (213 a 216), y tantos otros, cuyos nombres omitimos en este lugar por no alargar más, mas no porque carezcan de interés sus investigaciones.

Existen muchos agentes terapéuticos, que actúan como *antimetabólitos*, es decir, su acción terapéutica consiste, según se cree, en una inhibición del crecimiento del tumor por competición de dichos agentes con un metabolito canceroso. Así, es generalmente conocida la acción de un compuesto antipurínico, la *8-azoguanina*, o *guanazol* (CXXX), que, inyectado intraperitonealmente, inhibe el crecimiento del *cáncer C-57* de ratón, aunque no destruye el adenocarcinoma mamario si el tratamiento empieza un día después del trasplante, y no tiene efecto alguno cuando el tratamiento se inicia 6 días después. Tampoco se mostró eficaz el compuesto en el carcinoma mamario espontáneo y en otros tumores. El mecanismo de acción de este compuesto no está muy claro.

El tumor original, contra el cual se ensayó el *guanazol*, respondió a este tratamiento, efectuado por distintos investigadores, habiéndose mostrado eficaz también, el compuesto en cuestión, frente a otros tumores de ratón, otro de conejo y contra ciertas leucemias linfáticas, careciendo, sin embargo, de efecto frente al *sarcoma 180* y otros tumores experimentales (217) (218).

(207) SHEAR, M. J., *J. Natl. Cancer Inst.*, **12**, 569 (1951).

(208) STOCK, C. C., *Am. J. Med.*, **8**, 658 (1950).

(209) BOYLAND, E., *Oncología*, **7**, 144 (1954).

(210) AUB, J. C. y NATHANSON, I. T., *Ann. Rev. Med.*, **2**, 343 (1951).

(211) TABERN, D. L., TAYLOR, J. D. y GLEASON, G. I., *Nuclconics*, **7**, 3 (1950).

(212) DE ROPP, R. S., *Cancer Research*, **11**, 663 (1951).

(213) SKIPPER, H. E., BRYAN, C. E., RISER, W. H., JR., WELTY y STELZENMULLER, A., *J. Natl. Cancer Inst.*, **9**, 77 (1948).

(214) SKIPPER, H. E., MITCHELL, J. H., JR. y BENNET, L. L., JR., *Cancer Research*, **10**, 510 (1950).

(215) SKIPPER, H. E., MITCHELL, J. H., JR., BENNET, L. L., JR., NEWTON, M. A., SIMPSON, L. y EIDSON, M., *Cancer Research*, **11**, 145 (1951).

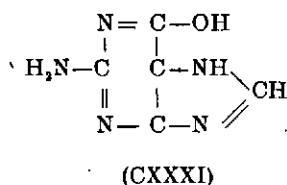
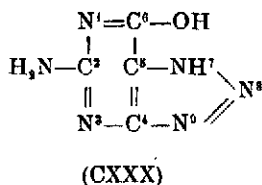
(216) SKIPPER, H. E., y BURGHENAL, J. H., *Cancer Research*, **11**, 229 (1951).

(217) GELHORN, A., ENGELMANN, M., SAPIRO, D., GRAFT, S. y GILLESPIE, H., *Cancer Research*, **10**, 170 (1950).

(218) SUGIURA, K., HITCHINGS, G. H., CAVALIERI, L. F. y STOCK, C. C., *Cancer Research*, **10**, 178 (1950).

Este compuesto, y otros como la *2-6-diamino purina*, por ejemplo, suelen ser considerados como inhibidores estructurales, habiéndose acrecentado su utilización, en la terapia del cáncer experimental, fundándose en los resultados favorables obtenidos, inicialmente, en la inhibición de reacciones enzimáticas, por uso de compuestos estructuralmente análogos.

El efecto inhibitor o carcinostático del *guanazol* queda anulado por la administración de su análogo estructural *guanina* (CXXXI), siendo



ineficaz contra ciertas infecciones por virus, y, en el caso del ratón, su uso acaba incluso en edema subcutáneo y ascitis (219). Si dicho compuesto está marcado con  $\text{C}^{14}$ , puede observarse que es excretado considerablemente en la orina, apareciendo también alguna concentración de  $\text{C}^{14}$  en los ácidos nucleicos; el  $\text{C}^{14}$  no se ha encontrado en mayor concentración en los tejidos cancerosos que en otros lugares (220).

También han manifestado actividad algunos compuestos de estructura análoga al guanazol.

Como otro ejemplo de inhibición estructural, podríamos citar el caso del *3-metil colantreno* (recuérdese la acción cancerígena de los colantrenos), inhibidor del cáncer hepático inducido por el *3'-metil 4-dimetilamino azobenceno* incorporado a la dieta de las ratas. Dicho hidrocarburo previene el carcinoma hepático si se añade a la dieta de la rata 6 semanas antes de la administración del cancerígeno citado, y lo inhibe parcialmente si la administración del hidrocarburo se anticipa 10 semanas a la del cancerígeno (221).

SKIPPER y colaboradores (222) han tratado de encontrar el lugar donde ejercen su acción estos compuestos químicos, que interfieren con el crecimiento de los tumores, habiendo observado, que, sustancias como el *uretano*, *mostazas nitrogenadas*, *colchicina*, *2-6-diamino purina*, *arsenito potásico* y la *8-azoguanina*, inhibían la síntesis de ácidos nucleicos en el ratón (223). Así, la acción de las mostazas nitrogenadas y compues-

(219) SUGIURA, K. y STOCK, C. C., *Cancer Research*, 10, 244 (1950).

(220) BENNET, L. L., JR., SKIPPER, H. F., MITCHELL, J. H., JR. y SUGIURA, K., *Cancer Research*, 10, 644 (1950).

(221) MEECHAM, R. J., DENNIS, E., MC. CAFFERTY y RUSSELL, S. J., *Cancer Research*, 13, 802 (1953).

(222) SKIPPER, H. E. y otros, loc. cit. (213) a (216).

(223) SKIPPER, H. E. y otros, *Cancer Research*, 11, 145 (1951).

tos relacionados se atribuye, generalmente, a interferencia con la síntesis del D N A, basándose en la observación morfológica del decrecimiento de la velocidad de división y anormalidad mitótica; sin embargo, los resultados de análisis químicos y el descubrimiento de la menor incorporación de los precursores de ácidos nucleicos marcados, no lo confirman del todo.

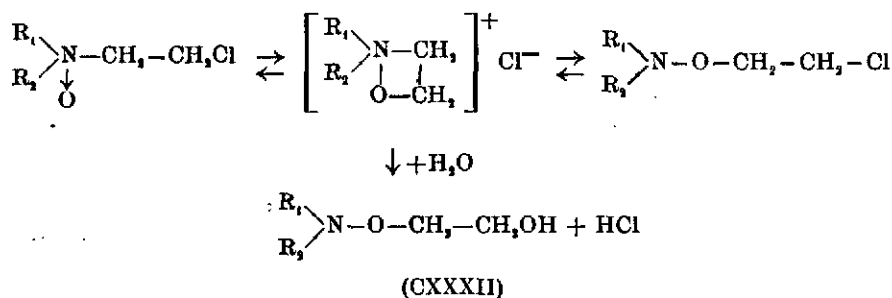
Es conocida, desde bastante tiempo, la actividad quimioterapéutica de las mostazas nitrogenadas contra tumores, pero dada su alta toxicidad, se han usado con muchos reparos previendo efectos secundarios perjudiciales. Para salvar tales obstáculos, presentados especialmente por las de los tipos *tris*  $N(CH_2-CH_2Cl)_3$  y *metil-bis*  $CH_3-N(CH_2-CH_2Cl)_2$ , se han estudiado, en los diversos países, una serie de derivados, que conservando la estructura original más o menos velada, pudieran substituir con ventaja a tales mostazas. En algunos es difícil reconocer, a primera vista, el parentesco, con las mostazas, de compuestos tales como la *trietilnomelamina*, y relacionados, que, como veremos, es un cancericida en uso en Estados Unidos. Por el contrario, los japoneses han tendido a provocar sobre las mostazas pequeños cambios, conservando la configuración típica.

ISHIDATE y SAKURAI (224) han preparado toda una serie de mostazas nitrogenadas mono y polifuncionales (21 en total), en las que las diferencias se deben al número de  $\beta$ -cloroetil, o de otros  $\beta$ -halogenoetil, o a los otros radicales unidos al nitrógeno amínico, e incluso han preparado la que podríamos llamar «polimostazas» en las que dos nitrógenos se hallan unidos por intermedio de uno o dos radicales etileno. Igualmente han preparado los N-óxidos correspondientes a dichos compuestos, y comparado la actividad anticáncer y toxicidad relativa, llegando a las siguientes conclusiones: a) En todos los casos se encuentra que la dosis letal de los N-óxidos es mucho mayor que la correspondiente a las mostazas respectivas, lo que llevará consigo un mayor límite de seguridad en su aplicación; b) los compuestos que poseen dos grupos  $\beta$ -cloroetilo reactivos, en la molécula, ya se encuentren sobre un mismo átomo de N, en las  $NR_3$  típicas, o sobre nitrógenos distintos, en el caso de las  $R_2N-R'N R_2$ , presentan un poder inhibitor sobre las células tumorales, tanto en las mostazas (que ya era un hecho conocido) como en sus óxidos; c) los compuestos del tipo cloruro de amonio, excepto las sales de N-óxido, a semejanza de lo que ocurre con las mostazas monofuncionales, no muestran actividad apreciable.

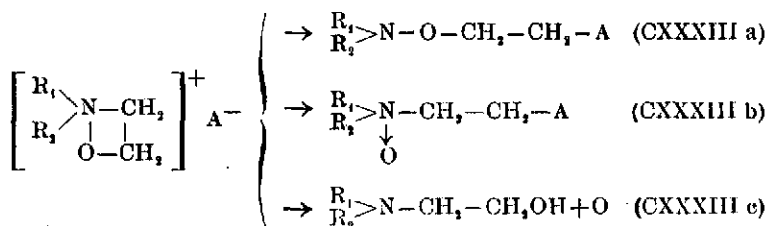
Además de estas diferencias, de toxicidad y actividad, existen otras que se refieren al exaltado carácter hidrofílico de los N-óxidos y a la menor facilidad de éstos, para dejar libres iones haluro, lo que se traduce

(224) ISHIDATE y SAKURAI, 15.<sup>a</sup> Asamb. Gen. Fed. Farm. Intern., París, septiembre, 1953.

en un menor carácter vesicante sobre la piel y mucosas. Otra diferencia está en la tendencia de los N-óxidos a experimentar en medios básicos o neutros una transformación intramolecular, pasando por una estructura intermedia, característica, en la que existe un anillo oxigenado (cloruro de *oxiamonio*), que en parte es hidrolizado, posteriormente, y, con carácter irreversible, al derivado  $\beta$ -hidroxietílico (CXXXII).



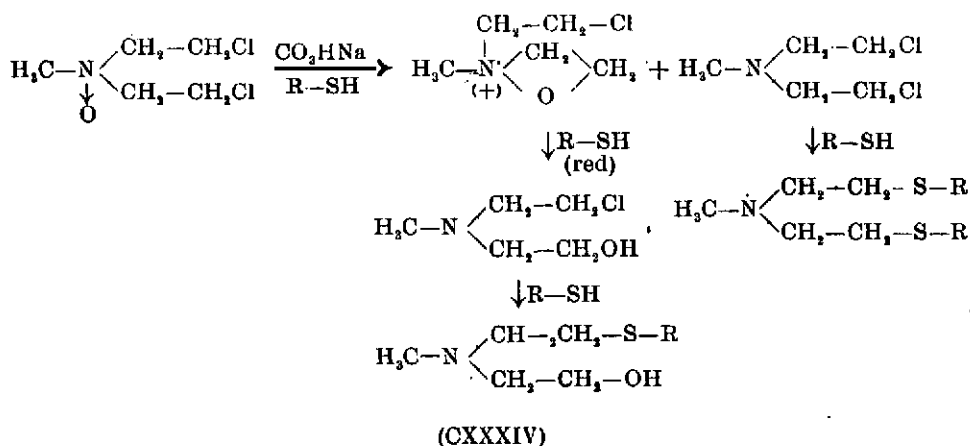
El catión oxiamonio a su vez, puede sufrir transformaciones distintas según se encuentre en medio neutro (CXXXIII a), ácido (CXXXIII b) o reductor (CXXXIII c):



En cuanto al mecanismo de reacción, se admite, que, el de las mostazas nitrogenadas se debe a su actividad alquilante sobre átomos de hidrógeno activo, tales como los de grupos sulfhidrilo, amino o carboxilo, existentes en el sustrato. En el caso de los N-óxidos el mecanismo de reacción se ha estudiado *in vitro* haciendo actuar tales compuestos sobre cisteína y otros aminoácidos, como leucina y alanina (225). Aunque la cisteína posee tres hidrógenos activos y es un fuerte agente reductor, la única reacción de importancia, en relación con el problema en estudio, es

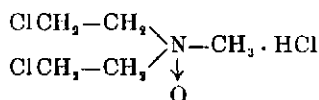
(225) TORIGOE, M., *Pharm. Bull.*, 1, 349 (1953).

la debida al H sulfhidrónico. La marcha *in vitro*, de la reacción, es como sigue (CXXXIV):



De tales etapas son utilizables, para la interpretación de lo que pasa *in vivo*, tanto la liberación de mostaza (que sucedería selectivamente sobre las células proliferantes, con lo que quedaría justificada la menor toxicidad de los N-óxidos), como el exaltado poder alquilante que sería debido a la clorhidrina formada a partir del compuesto cíclico intermedio. Ambos hechos justifican la menor toxicidad y mayor eficacia, de los N-óxidos de las mostazas nitrogenadas.

De los N-óxidos ha adquirido renombre comercial y alta aceptación clínica, en todo el mundo, el NITROMIN, que es el *clorhidrato del N-óxido de metil, di-β-cloroetil amina* (CXXXV):



(CXXXV)

que fué introducido en la terapia del cáncer, por ISHIDATE y YOSHIDA, en 1949.

Terapéuticamente, se ha mostrado mucho más eficaz que la mostaza nitrogenada, propiamente dicha, en los ensayos realizados frente al *sarcoma YOSHIDA* y frente al hepatoma ascítico de la rata, teniendo además una toxicidad mínima comparada con la de otras sustancias de esta serie, que, por lo general, tienen efectos secundarios poco favorables, como los que se derivan de su acción vesicante, entre otros. Igualmente, el índice

quimioterápico (se llama así, a la relación entre el máximo de dosis tolerada y el mínimo de dosis efectiva,  $MDT/MDE$ ) encontrado para el nitromín, en algunos casos, es de 40, frente a 10, que es el valor correspondiente de la mostaza nitrogenada original, es decir, que el nitromín presenta un límite de seguridad, en relación a la dosis mínima eficaz, 4 veces mayor que el de la mostaza. También para el mínimo de dosis letal se ha encontrado el valor de 130 para el nitromín frente al de 3 para la mostaza, y, como máximo de dosis tolerada, 40 para aquél y 1 para ésta.

La base hidrófila del nitromín penetra, con preferencia, en la célula proliferante y, gradualmente, se reduce a mostaza nitrogenada, por efecto de la cisteína y glutatión, atribuyéndose a ésto el efecto inmediato del compuesto sobre la célula cancerosa. En los ensayos con el mismo, en el tumor ascítico, se observó, que, después de la inyección intraperitoneal, tienen lugar dos reacciones de interés, una la continua disminución en el número de células tumorales y otra el efecto dañino contra los cromosomas, con repercusiones prolongadas sobre la mitosis de dichas células del tumor. Se observó además, que este compuesto no sólo era activo frente a los tumores de mesenquima, sino también frente a los de epitelio (226).

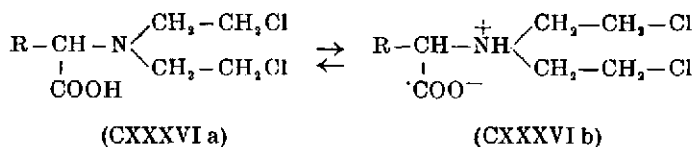
En cuanto al uso clínico, el nitromín se ha mostrado como paliativo en casi todos los casos de leucemia, aun en los de leucemia mielógena aguda, que hasta ahora aparecía como resistente al tratamiento de la mostaza nitrogenada; el tratamiento con nitromín, parece ser que produce una rápida disminución en el número de leucocitos, a la vez que un aumento de hemoglobina y una notable disminución en el tamaño del bazo y del hígado. La repetición del tratamiento no suele producir, una disminución en la eficiencia del mismo. Pero las mejores indicaciones del nitromín son en la enfermedad de HODCKIN y en la *policitemia vera*, habiendo vuelto, en algunos casos, los enfermos casi al estado normal. También se muestra eficaz en ciertos casos de carcinoma (hepático, gástrico, pulmonar, etc.), tumor cerebral, corioepitelioma maligno, seminoma, queloides, y otras enfermedades neoplásicas; en muchos de estos casos, se ha observado la regresión en el tamaño del tumor y el alivio de los síntomas desagradables debidos a obstrucción u opresión.

Después de comprobada la actividad anticáncer de los N-óxidos de las mostazas nitrogenadas, los investigadores japoneses ISHIDATE, SAKURAI, YOSHIDA, SATOH e IMAMURA (227) decidieron preparar una serie de

(226) Informe de los Dres. LOUFFY ABOUL NASR y HASSAN AWAB, de la Facultad de Medicina del Cairo.

(227) ISHIDATE, SAKURAI, YOSHIDA, SATOH e IMAMURA, *Reun. An. Asoc. Japón. Canc.* Nagoya, abril, 1954

N-bis- $\beta$ -cloroetil-aminoácidos, y derivados de los mismos, de fórmula general (CXXXVI a).



Los citados autores esperaban, para tales compuestos, un carácter básico inferior y propiedades hidrofílicas mayores, que los característicos de las mostazas, y además que la reactividad de los átomos de cloro, se viera suprimida por la formación del ión anfótero (CXXXVI b). En estos compuestos, la pareja de electrones libres del nitrógeno, quedaría controlada por el protón del carboxilo, que desempeña en este sentido, la función del O en los N-óxidos y la consecuencia es que la reactividad del cloro está prácticamente suprimida. La actividad de estos compuestos recuerda a la de los N-óxidos.

Como era de suponer, aquellos derivados con carboxilo libre, presentaban menor toxicidad y acción vesicante. Así, la N-bis- $\beta$ -cloroetil-glicocola se mostró diez veces menos tóxica que la metil-bis- $\beta$ -cloroetil amina, bastando esterificar o amidar el carboxilo para que la toxicidad se exaltara hasta igualar la de la mostaza correspondiente.

Las pruebas citológicas fueron alentadoras, siendo de todos estos compuestos la N-bis- $\beta$ -cloroetil alanina el más prometedor, sobrepasando incluso la actividad de los N-óxidos.

Parece ser que la actividad de estos compuestos, debida en gran parte a su forma anfótera, ha de depender consecuentemente de la variación del pH del medio, y no hay duda de que existe una diferencia entre la acidez de los tejidos normales y cancerosos, que explicaría la selectividad de acción de tales compuestos.

Los citados autores han preparado también los N-óxidos correspondientes a los derivados de aminoácidos a que nos estamos refiriendo, y, en general, han encontrado que la actividad aparece disminuída, pero que se abre un campo de estudio interesante.

También se ha tratado de localizar la acción de los estrógenos y de otros agentes quimioterapéuticos, por TWOMBLY y SCHOENEWALDT (228) y otros, utilizando indicadores radioactivos.

Debe quedar claro, antes de seguir adelante, que para que una sustancia sea eficaz desde el punto de vista quimioterapéutico del cáncer, no basta con que interfiera en cualquier proceso de crecimiento en general,

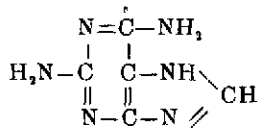
(228) TWOMBLY, G. H. y SCHOENEWALDT, E. F., *Cancer*, 4, 296 (1951).

sino que debe ejercer una acción negativa y selectiva sobre el crecimiento del tejido tumoral.

En cuanto al efecto de los antimetabolitos, podemos adelantar, que, puesto que casi todos los autores están de acuerdo en no haberse encontrado una diferencia cualitativa, clara y segura, entre el metabolismo de los tejidos canceroso y normal, se comprende, que, por el momento no sea posible hablar de un antimetabolito selectivo para el tumor. Todo lo conseguido se basa más bien en pruebas experimentales, como ya dijimos, tanto para los antimetabolitos como para otro tipo de inhibidores.

En la investigación de inhibidores del cáncer, CABTREE (1940) ensayó una serie de compuestos clorados, encontrando que su eficacia frente a la acción del 3-4-benzopireno y del 1-2-5-6-dibenzantraceno era paralela a la reactividad de los átomos de cloro. Asimismo, señaló posteriormente (1946) como inhibidores a diversos *cloruros de ácidos, ácidos no saturados* y al *bromobenceno*, en el cual el átomo de halógeno es bastante poco reactivo, lo que nos demuestra, comparando con los resultados obtenidos con los derivados clorados, que, lo mismo aquí que en casi todos los casos de agentes anticáncer, no se puede dar, por ahora, una norma completamente general para predecir su poder inhibitorio.

Basándose en la teoría de la *inhibición por analogía estructural* (teoría de WOODS), se han ensayado, como antagonistas de la purina y pirimidina, una serie de derivados de las mismas, y, entre ellos, sólo la *2-6-diamino purina* (CXXXVII), mostró acción favorable, alargando la supervivencia de ratones con leucemia linfoide aguda trasplantable (229). Dicho compuesto era capaz de afectar a algunos tumores de ratón, pero más *in vitro* que *in vivo*, sucediendo lo contrario en el caso de la rata (230). Este efecto se invertía únicamente por la *adenina*, habiéndose ensayado otras sustancias que no lo invertían. La introducción de varios grupos, en la posición 8, inactivaba el compuesto.



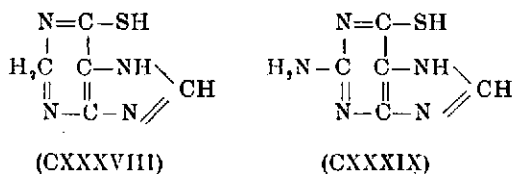
(CXXXVII)

El antagonista metabólico *6-mercaptipurina* (CXXXVIII), según SKIPPER y otros (231) es un inhibidor moderado del *sarcoma 180*, del *adenocarcinoma E 0771* y de la *leucemia L 1210*, y un poderoso inhibidor del *adenocarcinoma 755*. Su derivado *2-amino 6-mercaptipurina* ó *tioguanina*

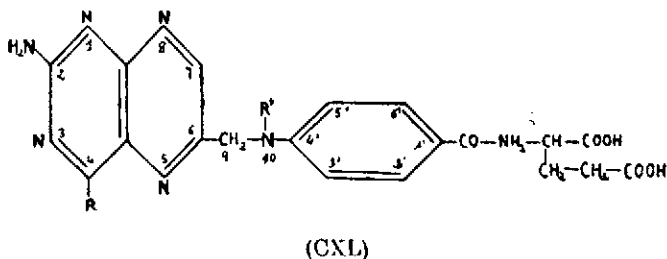
(229) SKIPPER, H. E. y otros, *Cancer Research*, 10, 166 (1950).(230) BIESELE, J. J., BERGER, R. E. e HITCHINGS, G. H., *Cancer Research*, 10, 204 (1950).(231) SKIPPER, H. E., THOMSON, J. R. y otros, *Cancer Research*, 14, 294 (1954).



na (CXXXIX), se considera también como un inhibidor del sarcoma 180, más poderoso que el anterior, pero también más tóxico.



Otro grupo de este tipo de sustancias quimioterapéuticas lo constituirían los antagonistas del ácido fólico (CXL; R=OH, R'=H) (que interferirían la formación del *factor citrovorum*), como, por ejemplo, el ácido 4-aminopteroil glutámico ó aminopterina (CXL; R=NH<sub>2</sub>, R'=H). BURCHENAL y otros (232) encontraron que este compuesto y algunos derivados del mismo, poseen la propiedad de inhibir preferentemente la formación de células leucémicas en la sangre. La acción antileucémica del ácido 4-amino N<sup>10</sup>-metil-pteroil glutámico ó methopterina A (CXL; R=NH<sub>2</sub>, R'=CH<sub>3</sub>), se anuló casi completamente, mediante la administración previa de una cantidad 10 á 20 veces superior de ácido fólico (233).



Por administración de un exceso de este último se aceleraba el proceso leucémico, hasta provocar la muerte de los animales ensayados, antes que los controles no tratados. La administración del antimetabolito *aminopterina* (inhibidor estructural del ácido fólico, según hemos indicado), aumentaba el plazo de vida de los ratones leucémicos, llegando a invertirse su actividad antileucémica, por administración de cantidades, relativamente grandes, de ácido fólico (234). Inversión semejante fué observada, por GOLDIN y colaboradores, en la inhibición del *sarcoma 180*, de ratones, producida también por aminopterina.

Otro antagonista del ácido fólico es el compuesto, 2-4-diamino 5

(232) BURCHENAL, J. H., BIEDLER, J. L., NUTTING, J. y STOBLE, G. D., *Blood*, 5, 167 (1950).

(233) BURCHENAL, J. H. JOHNSTON, S. F., BURCHENAL, J. R., KUSEIDA, M. N. y otros, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 71, 381 (1949).

(234) SKIPPER, H. E., CHAPMAN, J. B. y BELL, M., *Cancer*, 3, 871 (1950).

(3'-4'-diclorofenil) 6-metil pirimidina ó DDMP, empleado en el tratamiento de la leucemia.

La importancia del papel que desempeña el ácido fólico en la síntesis de purinas, y, en general, en las reacciones de condensación de ácido fórmico (235) contribuye a resaltar el enorme interés de estos estudios.

Del *uretano*, conocemos sus propiedades anestésicas, cuando se administra a ciertas dosis, propiedades debidas a la inhibición respiratoria que produce al sustituir a los elementos combustibles, en las estructuras celulares superficiales encargadas de la respiración, siendo él un compuesto químicamente indiferente; a dosis pequeñas, subnarcóticas, suministradas repetidamente, llega a actuar como cancerígeno, según vimos, provocando cáncer de pulmón en los ratones. A pesar de ello, parece ser que presenta también la propiedad de retardar el crecimiento del tumor en algunos casos.

En relación con ésto, resulta interesante la acción del uretano sobre los meristemos, tejido germinal de proliferación de los vegetales, estudiada por el Prof. LOUSTAU y A. ORTUÑO (236), en las células meristemáticas de *Faba vulgaris* (*Vicia Faba*) ó haba común. Los citados autores encuentran una zona, correspondiente a una concentración de uretano del 0,5 %, que es una verdadera zona de mutaciones, mientras que la concentración de inhibición funcional y de crecimiento corresponde al 1 % de uretano. Otros trabajos, de distintos autores, demuestran también la acción inhibidora de los uretanos en la germinación de semillas; es decir, que, dichos compuestos, se comportan como sustancias bloqueadoras de la mitosis celular.

ROSE y otros (237), examinando 30 homólogos simples del uretano, han encontrado que presentan propiedades inhibidoras del crecimiento, frente al *carcinoma* WALKER 256 en ratas, pero de esos compuestos, sólo el *di* y el *tri-carbetoxiamino*, se aproximan al *uretano* en cuanto a eficacia.

Como una consecuencia de la discusión sobre el modo de actuar del uretano, HENDRY, ROSE y WALPOLE (238) examinaron una serie de compuestos capaces, al menos teóricamente, de reaccionar, en el interior de la célula, con algún amino-derivado esencial en el proceso de división; entre dichos compuestos, habían algunos polifuncionales, teniendo dos o más grupos reactivos sobre una cadena alifática o un anillo heterocíclico.

(235) GORDON, M., RAVEL, J. M., EAKIN, R. E. y SHIVE, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 878 (1948).

(236) LOUSTAU, J. y ORTUÑO, A., *Anales Univ. Murcia*, **XIII**, 1161-1222 (1954-55).

(237) ROSE, F. L., HENDRY, J. A. y WALPOLE, A. L., *Nature*, **165**, 993 (1950).

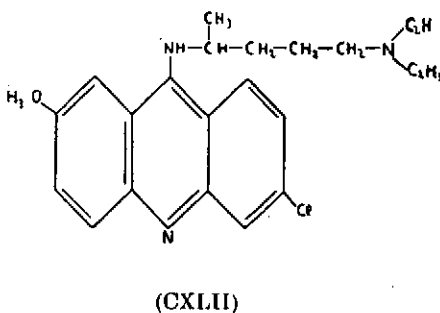
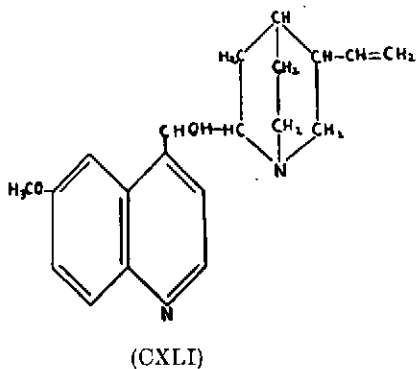
(238) HENDRY, J. A., ROSE, F. L. y WALPOLE, A. L., *Brit. J. Pharmacol.*, **6**, 201 (1951).



El compuesto *trimetilolmelamina* y las *polimetilolamidas* parecen tener también actividad inhibitora, frente al carcinoma WALKER 256 en las ratas.

Las combinaciones de agentes químicos, poseyendo cada uno de ellos alguna acción anticancerígena, han sido ensayadas también fundándose en los posibles efectos sinérgicos, pero los resultados no han sido, por lo general, muy concluyentes, aunque algunos hay interesantes.

En relación con ésto, podemos citar, entre los inhibidores de crecimiento de tumores o agentes antimetabólicos, la *quinina* (CXLI) y la *quinacrina* ó *atebrina* (CXLII), compuestos, que, utilizados solos, retardan el crecimiento del tejido, llegando a inhibir cuando se emplean juntos (*sinergismo*) (239).



El compuesto *methopterina A* (240), ya citado, presenta también un efecto sinérgico, empleado junto con el *W-50-197*, que es la *2-4-diamino 5 (3-4 diclorofenil) 6-metil pirimidina* (D D M P), al que también hicimos alusión anteriormente, retardando el crecimiento del tumor y alargando la vida de ratones, con leucemia transmisible, a dosis que son ineficaces cuando se emplea cada droga por separado.

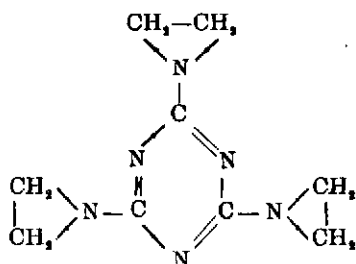
Otros ejemplos de sinergismo de acción tenemos en el caso de la *etionina* ó ácido *2-amino 4-etiltilio butírico* que, por sí solo, no presenta actividad antileucémica, pero que, sin embargo, refuerza la de la *methopterina A*. También se encontró que la actividad de este último compuesto, suplementado con *8-azoguanina*, es mayor que la de dicho compuesto solo, y que una combinación en bloque de *methopterina A*, *etionina* y *8-azoguanina*, es más eficaz, frente a la *leucemia L 1210*, que cualquier combinación binaria de estos compuestos.

(239) Evaluación de algunas sustancias antimetabólicas. Congr. Int. Biochim. Resúmenes comunes., 2.º Congr. París, 1952, pág. 481.

(240) NADRI, E. N. y GREENBERG, J. *Cancer Research*, 13, 865 (1953).

Igualmente, se ha encontrado, en el tratamiento de la mielomatosis múltiple, un grado diferente de actividad, al comparar la manera de actuar de una combinación de *uretano* y de una *mostaza nitrogenada aromática* con la de cada uno de estos compuestos por separado.

El *uretano*, la *2-4-6-trietilenoimina-s-triazina* ó *trietilenzomelamina* (T E M) (CXLIII) y la *aminopterina* (ya citada), por separado y en combinación, presentan actividad de deshidrogenasa, teniendo efectos terapéuticos, que se explican por el cambio en el metabolismo del tejido canceroso (241). No obstante, los resultados del tratamiento con el segundo compuesto no son considerados como concluyentes por algunos autores (242) y en realidad, ya vimos su acción favorable, en la aparición de algunos tumores, en el ratón.



(CXLIII)

Los *bis-epóxidos* (243) y derivados de la etilenoimina (244), muy usados en la tecnología textil, por su acción entrelazante, en el fortalecimiento de fibras textiles, se halló que interfería con la división celular, produciendo fragmentación y formación de puentes, en los cromosomas, durante la mitosis. La posibilidad de aplicación derivaba de que estos compuestos pueden formar enlaces entre eslabones peptídicos, por ejemplo, en las nucleoproteínas. Sin embargo, estos compuestos presentan la inadecuada propiedad desde el punto de vista terapéutico, de actuar contra las células en estado de división normal, más que contra las células tumorales. HENDRY, y otros, opinan que algunos de estos compuestos pueden ser tanto mutatógenos puros, como cancerígenos. Es curioso, además, que los mismos compuestos, han sido útiles para preparar *estearoiletilenoimina*, que resultó tener propiedades cancerígenas (245).

(241) BLACK, M. M., SPEER, F. D. y BRENOWITZ, P., *J. Natl. Cancer Inst.*, 14, 1147 (1954). [*C. A.*, 48, 7803 (1954)].

(242) ROMEO, J. M., *Rev. Clin. Española* (Madrid), 50, 382 (1953).

(243) HENDRY, J. A., HOMER, R. F., ROSE, F. L. y WALPOLE, A. L., *Brit. J. Pharmacol.*, 6, 235 (1951).

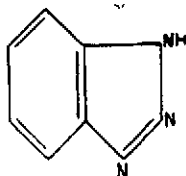
(244) HENDRY, J. A., HOMER, R. F., ROSE, F. L. y WALPOLE, A. L., *loc. cit.*, 357.

(245) HENDRY, J. A., HOMER, R. F., ROSE, F. L. y WALPOLE, A. L., *loc. cit.*, 240.

Otra sustancia a la que podemos referirnos es la *colchicina*, en la que se descubrió una actividad inhibidora sobre la mitosis (246) (247). Después de estudiar una serie de derivados de este alcaloide, GOLDBER y otros (248), dan cuenta de su toxicidad y de su acción antimitótica. No obstante lo dicho, su actividad anticancerosa se suele atribuir, en parte, a sus propiedades productoras de hemorragias más que a su efecto antimitótico en sí.

También podemos citar el alcaloide antimitótico «*Demecolcin*», aislado también del género *Colchicum*, empleado en el tratamiento de la leucemia mielógena crónica (249) (250).

El *benzimidazol* (CXLIV) es un antagonista de la adenina, y los *benzimidazoles* sustituidos inhiben el crecimiento del cáncer (251).



(CXLIV)

También aparece como agente inhibidor de tumores el *complejo Cd-ascórbico*, que aumenta la actividad citocromo-oxidasa, lo que puede ser determinado por la oxidación de la p-fenilendiamina o análogos (reacción del NADI, ya descrita al tratar de la citocromo-oxidasa y sus alteraciones en los tejidos cancerosos). Igualmente, son inhibidores de tumor los *complejos de Mn*.

Otros compuestos en los que se han encontrado propiedades carcinolíticas o retardadoras de crecimiento, son la *nitrofurazona* (*furazina*, *5-nitro-2-furaldehído*) (CXLV) (252), una serie de colorantes de la *fenoxazina* (CXLVI) y la *α-peltatina*. Esta última reduce también las actividades citocromo-oxidasa y aldolasa.

(246) DUSTIN, A. P., *Bull. acad. roy. méd. Belg.*, **14**, 487 (1934).

(247) BRUES, A. M., MARBLE, B. B. y JACKSON, E. B., *Am. J. Cancer*, **88**, 159 (1940).

(248) GOLDBERG, B., ORTEGA, L. G., GOLDIN, A., ULLIOT, G. E. y SCHOENBACH, E. B., *Cancer*, **3**, 124 (1950).

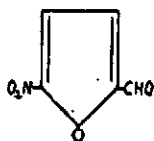
(249) SCHAR, B., LOUSTALOT, P. y GROSS, F., *Klin. Wochschr.*, **32**, 49 (1954).

(250) MOESCHLIN, S., MEYER, H. y LICHTMAN, A., en *Ciba Symposium on Leukaemia Research*, p. 216 (J. y A. Churchill, Ltd., Londres, 1954).

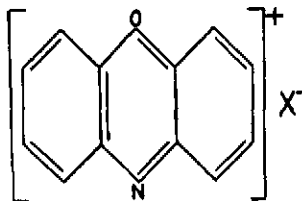
(251) BAENER, C. T., RUTTER, H. A. y RIVES, L. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3689 (1952).

(252) FRIEDGOOD, C. E. y GREEN, M. N., *Cancer Research*, **10**, 217 (1950).

También se ha encontrado, que una proteína, aislada del *Aspergillus fumigatus*, inhibe el *sarcoma 180*, pero es tóxica para los ratones (253).



(CXLV)



(CXLVI)

En la bibliografía, aparecen datos sobre la actividad carcinolítica de ciertos polisacáridos bacterianos, como por ejemplo, los de la *Pseudomonas aeruginosa* (254).

Por otra parte, parecen probadas (255) las propiedades citostáticas de algunos *antibióticos*, sobre determinados tumores malignos, especialmente sobre los que tienen su origen en el sistema linfático. WAKSMAN y LE CHAVELIER han descrito las sustancias que presentan esta acción y algunas de sus propiedades. Así, conocemos la *actinomicina*, producida por el *Streptomyces antibioticus*, *St. parvus* y algunas otras especies del mismo género. Se distinguen varias *actinomicinas*, por ejemplo, las A, B y X, que se pueden considerar como idénticas en la práctica, y las del grupo C, las de mayor interés actualmente, y, dentro de éstas, las C-1, C-2 y C-9, que, además de ser muy activas, sobre todo frente a las bacterias GRAM positivas, presentan una fuerte acción citostática, siendo mucho menos tóxicas que las demás actinomicinas. La *actinomicina C* se ha utilizado ya, para tratar la enfermedad de HODGKIN y algunos tipos de cáncer.

WAKSMAN y LE CHAVELIER (256) informan también, sobre la existencia de la *sustancia antitumoral 289*, otro antibiótico con propiedades citostáticas, que ha sido descubierto y estudiado por los japoneses. Se trata de una sustancia muy próxima a la *luteomicina* y que es producida por un *Streptomyces* muy próximo al *St. aureus* y al *St. antibioticus*. Su acción destructora, de núcleos en mitosis, se manifiesta cuando se inyecta por vía subcutánea o intraperitoneal, destruyendo así las células sarcomatosas, en las ratas inoculadas con el *sarcoma de YOSHIDA*.

También se ha aislado la *azaserina* de los filtrados del caldo de cultivos de un *Streptomyces*, habiéndose caracterizado, dicha sustancia, como

(253) REILLY, H. G. y STOCK, C. C., *Cancer Research*, 10, 236 (1950).(254) JACOBS, F. A., *Cancer Research*, 10, 227 (1950).(255) RAVINA, A., *La Presse Medicale*, 578 (1954).(256) RAVINA, A., *loc. cit.*,

la *o-diazoacetil-L-serina*, atribuyéndosele propiedades inhibitoras de tumor (257) (258), aunque su resultado en la terapéutica clínica no parece satisfactorio.

Otra sustancia de este tipo ensayada también por investigadores japoneses (UMEZAWA, H., YAMAMOTO, T., TAKEUCHI, T., OSATO, T., OKAMI, Y., YAMAOKO, S., y otros) (259), es la *sarcomicina*, extracto obtenido a partir de cepas de *Streptomyces*, el cual, además de sus propiedades antibacterianas, ha mostrado también una actividad inhibitora de crecimiento, en los ensayos frente a algunos tumores experimentales. Al inyectarla intravenosamente, ha producido regresiones temporales en casos de carcinoma de estómago, tiroides y esófago, pero, según los autores, se desarrollan resistencias a la *sarcomicina*, igual que a otros agentes terapéuticos. En realidad, a la vista de los resultados obtenidos, puede asegurarse, que el efecto beneficioso de esta sustancia es muy pasajero, presentando algunos pacientes, por el contrario, trastornos locales en el punto de la inyección.

Podría pensarse, pues, a la vista de los resultados expuestos sobre el tratamiento con antibióticos, que la acción anticáncer, de tales sustancias, se deba a sus propiedades antibacterianas o antibióticas, lo cual sería un hecho que abogaría en favor de las teorías bacterianas de la etiología del cáncer; sin embargo, ésto no ha podido ser probado por ahora, y, además, dichas teorías etiológicas cuentan con tan pocos defensores hoy día, que no es muy de esperar que se confirme la identificación de acción bactericida y acción anticáncer como una misma cosa. Precisamente, los antibióticos *aureomicina* y *terramicina*, y otras sustancias, como el *madon-nitrilo*, *acriflavina*, *adrenocorticotropina* (ACTH) y *cortisona*, ensayadas sobre el cáncer experimental por virus, de Rous, no mostraron influencia alguna sobre el desarrollo del tumor.

La cortisona regula la secreción excesiva de estrógenos y compuestos relacionados, que existe en ciertos cánceres, reduciéndola hasta el valor normal, en algunos casos (260), así, administrada a enfermos con tumor adrenal, produce una disminución temporal en la excreción de *17-cetosteroides*, particularmente *deshidroisoandrosterona*, en la orina.

También se ha empleado el ácido *p-amino benzoico* ó P A B A, en el tratamiento del linfoblastoma de cutis y micosis fungoides (261).

(257) STOCK, C. C., REILLY, H. C., BUCKLEY, S. M., CLARKE, D. M. y RHOADS, C. P., *Nature*, 173, 71 (1954).

(258) BARTZ, Q. R., ELDER, C. C., FROHARDT, R. P. y otros, *Nature*, 173, 72 (1954).

(259) UMEZAWA, H., YAMAMOTO, T., TAKEUCHI, T., OSATO, T., OKAMI, Y., YAMAOKO, S. y otros, *Antibiotics and Chemotherapy*, 4, 514 (1954).

(260) OLIVE WATKINS SMITH y KENDALL EMERSON, JR., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 85, 264 (1954). [C. A., 48, 7186 (1954)].

(261) ZARAFONETIS, C. J. D., CURTIS, A. C. y KIRKMAN, L. W., *Cancer*, 7, 190 (1954).

El E D T A ó ácido etileno diamino tetraacético detiene el avance del cáncer en individuos hipercalcémicos, produciendo una disminución de calcio en el suero, pero de corta duración.

También se han ensayado las *fosforamidas* en el tratamiento del cáncer. SHAY y colaboradores utilizan la *trietilen-fosforamida* o T E P A, y BATEMAN (262) y la *N-N'-N''-trietilen-tiofosforamida* (tio-T E P A) y la *N(3-oxipentametilen)N'-N''-dietilen fosforamida*, en inyecciones intramusculares o intravenosas, o también por aplicación directa sobre el tumor o sus cavidades. En realidad, no se muestra más que paliativo.

El uso de la *oxitetraclina* se ha indicado también como terapéutico (263).

De gran interés es el descubrimiento de la aparente capacidad, muy intensa, de la *vitamina B<sub>12</sub>*, para aumentar el número de regresiones espontáneas (normalmente alrededor de un 1 a un 2 por 100) en los casos de neuroblastoma en niños (264). Es curiosa la comunicación de BROWN y LESTER SMITH (265) en la que dan cuenta del hallazgo, en dos vitaminas B<sub>12</sub>, de las purinas 2-metil adenina y 2-metil hipoxantina, no encontradas, hasta entonces en la naturaleza, lo cual quizás esté relacionado con esta actividad particular de dicha vitamina.

No falta quien, considerando la tendencia a crecer, de las células, como una consecuencia del aumento de las fuerzas de coagulación de la sangre y protoplasma, sugiere, que, puesto que dichas fuerzas son controlables, existe la posibilidad de impedir el crecimiento de las células cancerosas, mediante la administración de *anticoagulantes*, naturales o sintéticos, y una dieta apta para reducir aquellas fuerzas de coagulación. Esto quizá dé un poco de luz sobre aquel paralelismo, que pudiera habernos sorprendido un tanto, entre la actividad hemorrágica de derivados de la colchicina y su actividad cancericida.

También resulta interesante; la teoría del efecto terapéutico, de *las infecciones* o de *los virus*, sobre los tumores. SHARPLESS y colaboradores informan, primeramente, sobre la acción necrotizante, producida en los tumores, por el virus de la encefalitis del lejano Oriente ruso, y comprobada en el sarcoma del ratón. Después, ensayan otros virus sobre tumores linfoides de pollos y gallinas, comportándose cinco de ellos como carcinolíticos. De los pollos tratados con virus encefalítico, sobrevivieron el 88 por 100, mientras que, de los no tratados por este virus murieron el 95 por 100. De acuerdo con estos resultados, está el caso referido por el

(262) BATEMAN, J. C., *Med Annals District Columbia*, 24, 55 (1955).

(263) SCHREK, R., *Antibiotics and Chemotherapy*, 3, 783 (1953). [C. A., 48, 7776 (1954)].

(264) *Ann. Rept. Brit. Empire Cancer Campaign*, 174 (1953).

(265) BROWN, F. B. y LESTER SMITH, E., *Biochem. J.*, 56, XXXIV (1954).



Prof. BAÑUELOS (266) de una paciente con un cáncer, gravísimo y avanzado, que curó de él al padecer una encefalitis. Es por ésto, por lo que se han inoculado virus de distintas enfermedades, no graves, aunque los resultados, al parecer, han sido poco concluyentes.

Este último fenómeno observado en los ensayos con virus, etc., debe estar relacionado, seguramente, con la función del *sistema retículoendotelial* (S R E) al que BOGOMOLTZ y colaboradores atribuyen propiedades carcinólicas (267) que dejan de manifestarse cuando aparece la enfermedad cancerosa, pero que se recuperan cuando se restablece la función paralizada de dicho sistema, estimulándola de manera adecuada. Los citados autores prepararon un suero con el que consiguieron aumentar la actividad del S R E, de manera que las inoculaciones positivas, en las ratas ensayadas, disminuyeron notablemente, llegando incluso a la desaparición de tumores muy desarrollados. Según ésto, BOGOMOLTZ piensa, que las toxinas de la enfermedad cancerosa paralizan el S R E, mientras que KAUL (268) prefiere suponer que, en el organismo, existen ya células cancerosas aisladas, las cuales, cuando el S R E funciona bien, son apresadas en estado naciente y disueltas, pero que cuando dicho sistema se encuentra paralizado y no puede verificar aquella destrucción celular, entonces, las células cancerosas en cuestión, se multiplican con más velocidad que las del organismo, originándose el tumor canceroso. Esta hipótesis parece confirmarse, en parte, por las observaciones hechas, sobre individuos cuyo S R E se encontraba atrofiado por inactividad, debido a no haber padecido enfermedades infecciosas y febriles desde hacía mucho tiempo. Es por ésto por lo que hay autores, que, considerando el cáncer como una enfermedad de la civilización, no creen sin embargo, que la causa principal sea la más comúnmente aceptada de la existencia de mayor número de sustancias cancerígenas (alquitrán, humo de fábricas, productos de combustiones incompletas en motores, etc.), sino la atrofia precoz, por inactividad, del S R E, ya que las vacunaciones, esterilización de aguas, etc., que corren paralelas al grado de civilización, disminuyen el riesgo de padecer enfermedades infecciosas, estimulantes de dicho sistema retículoendotelial. La función del mismo aparece, pues, como un mecanismo de defensa y protección contra el cáncer, y la mejor manera de mantenerlo activo es la *proteínoterapia*, existiendo otras muchas sustancias químicas que estimulan su función, tales como algunas vitaminas y hormonas de estructura esteroide y así parece ser, que el efecto inhibido, sobre el desarrollo del cáncer, que presentan las *hormonas* de las

(266) BAÑUELOS, M., *Gaceta Médica Española*, octubre, 1950, pág. 365.

(267) KAUL, S., *Ars Medici*, 10, 609 (1947).

(268) KAUL, S., *loc. cit.*

glándulas genitales del sexo contrario, se debe a esta activación del S R E. También tienen este efecto el oro, plata y cobre coloidales y la *tomada mercurial*, igual que diversos *estímulos cutáneos* (*hidroterapia*, *rayos ultravioleta*, etc.).

No pretendemos, con todo lo que precede, haber agotado las referencias sobre agentes anticáncer que figuran en la bibliografía; pero sí tal vez hayamos dado una idea de conjunto de los distintos tipos de cancerizadas y de la posible manera de actuar los mismos.

Sin embargo, no quisiéramos dejar de señalar el papel que desempeñan las *radiaciones* en la terapia del cáncer, ya que, aunque, en principio, se trate de la acción de un agente físico, su manera de actuar es tan parecida a la de los agentes químicos, que merece ser considerada en este lugar. La eficacia de la acción de las radiaciones, en este sentido, o radioterapia, se basa en la selectividad de dicha acción, o mejor, en la diferente sensibilidad de las células normales y cancerosas para recibir la radiación. Es curiosa la explicación que de este efecto da WARBURG (269); según él, cuando se irradia un tejido en el que existen células cancerosas y células normales, la respiración de las primeras, que es ya insuficiente, disminuye aún más, pudiendo descender del mínimo necesario, incluso para las células con una glucólisis exaltada, produciéndose, de esta manera, su destrucción. Sin embargo, las células normales, cuya respiración se ve disminuida, a causa de la radiación, en el mismo grado que la de las células cancerosas, pueden continuar viviendo a expensas de lo que les queda de respiración. A pesar de esto, las células descendientes de aquellas normales, que han sobrevivido a la irradiación, compensarán su déficit respiratorio con un aumento de su glucólisis, transformándose, después de un cierto tiempo de latencia, en células cancerosas. Es decir, que las radiaciones, destructoras de células cancerosas, pueden ser, a su vez, causa de cancerización, así como vimos, por ejemplo, que el uretano podía actuar, tanto destruyendo las células cancerosas como favoreciendo, al mismo tiempo, la cancerización de un tejido sano. En todos los casos, la destrucción, de células tumorales, tiene lugar, según WARBURG (270), por desaparición total de una respiración ya deteriorada, y la cancerización, por deterioro de una respiración hasta entonces normal.

Consideremos para terminar, que este capítulo, con el que cerramos el tema, justifica, en gran parte, los capítulos anteriores, en los que hemos estudiado, en forma sucesiva, los diversos tipos de agentes cancerígenos

(269) WARBURG, O., *Triángulo*, II, 207 (1956).

(270) WARBURG, O., *loc. cit.*

y el metabolismo de la célula cancerosa. De esta manera hemos visto, cómo muchos compuestos terapéuticos son inhibidores, que actúan por analogía estructural con los agentes cancerígenos, debiendo otros sus propiedades anticáncer a su actividad contra ciertos metabolitos cancerosos. Finalmente, nos ha sido posible hacer una llamada sobre las precauciones que se deben adoptar, en el empleo de la radioterapia, buscando las condiciones y dosis óptimas, terapéuticas y no cancerígenas.

*Monografía realizada en el Seminario de la  
Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de  
Ciencias. Universidad de Murcia.*

## ERRATAS ADVERTIDAS

<i>Pág.</i>	<i>Línea</i>	<i>Dice</i>	<i>Debe decir</i>
236	24	leucoplasia	leucoplasias
239	5	núcelo	núcleo
243	13	aminozotolueno	aminoazotolueno
248	7	<i>desoxílico</i>	<i>desoxicólico</i>
270	3	<i>4-5-metil</i>	<i>4-5-dimetil</i>
277	16	<i>o-amino azotolueno</i>	<i>o-aminotolueno azo .tolueno</i>
280	10	<i>N-benciliden</i>	<i>N'-benciliden</i>
344	26	FEUGEN	FEULGEN
348	7	núcleolo	nucleolo
363	30	TWOMBLY	TWOMBLEY
371	26	<i>don-nitrilo</i>	<i>lon-nitrilo</i>

La figura (VIII) de la pág. 258 es

