

ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE IMPLANTACION OVARICA DE ALGUNOS TUMORES TRANSPLANTABLES DE RATAS (*)

DR. PABLO MORI CHAVEZ (**)

EN una publicación anterior (1) fué descrito un tumor ovárico de una rata Osborne-Mendel, que histológicamente era un adenocarcinoma papilar que producía una peculiar substancia hialina. En los trasplantes intraperitoneales de este tumor se observó frecuentemente su implantación en los ovarios, semejando en este respecto a ciertos tumores de la mujer, en los que el ovario es un sitio de elección para el crecimiento metastásico (2-9). Los tumores experimentales en animales, por el contrario, rara vez hacen metástasis al ovario (10).

Este trabajo trata de algunos experimentos para precisar la patogenesis de tales implantes tumorales intraováricos, y discutir la naturaleza de la afinidad que varios tumores transplantables muestran para crecer en el ovario.

MATERIAL Y METODOS

Los cuatro siguientes tumores transplantables de ratas fueron empleados con el objeto de hacer estudios comparativos sobre su implantación ovárica:

- a) el tumor ovárico previamente descrito en ratas Osborne-Mendel,
- b) un carcinoma de la glándula Harderiana en ratas Búffalo,
- c) un fibrosarcoma en ratas Irlandesas AXC,
- d) un adenocarcinoma del estómago en ratas Marshall-520.

TECNICA DE LOS TRANSPLANTES

Los trasplantes intraperitoneales fueron hechos por uno de estos tres métodos: 1) Inyección de 1 cc. de fluido ascítico obtenido de las ratas con el tumor; 2) Con fragmentos del tumor inoculados mediante el método del trocar; 3) Inyección de una suspensión de célula tumorales preparada por trituración del tejido tumoral en solución salina fisiológica.

Un pequeño grupo de 6 ratas Osborne-Mendel fueron inyectadas intraperitonealmente con fluido ascítico del tumor ovárico, y los animales sacrificados, respectivamente, a intervalos de 2 horas, 4 horas, 1 día, 2 días, 4 días, y 8 días con el objeto de determinar los diferentes estadios del desarrollo de los implantes peritoneales y ováricos.

En todos los animales, espontáneamente muertos, o sacrificados cuando se había desarrollado una ascitis considerable, se practicó una autopsia completa. Al momento de la autopsia de cada animal, se tomaron varias seccio-

(*) Este trabajo fué realizado en el National Cancer Institute, Public Health Service, Bethesda, Md., cuando el autor permaneció allí como Investigador Becado.

(**) Catedrático Titular de Patología eGneral y Buco-Dentaria de la Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Marcos de Lima. Patólogo consultante y Jefe de Investigaciones de Patología del Hospital Militar de San Bartolomé.

nes del tumor y de sus metástasis, las cuales se fijaron en solución Zenker-acética e incluyeron después en parafina. Los ovarios, cuando a simple vista no mostraron crecimiento tumoral, eran cuidadosamente examinados bajo el microscopio de disección y rutinariamente conservados para el examen microscópico. Las secciones fueron teñidas por rutina con hematoxilina y eosina, empleándose otras técnicas de coloración cuando se requerían.

Inyección de tinta china. Se investigó también el comportamiento de partículas inertes, empleando la tinta china. Grupos de ratas hembras (Osborne-Mendel, Buffalo, AXC), fueron inyectadas intraperitonealmente con 1 cc. de tinta china diluída, y luego sacrificadas sucesivamente a los 30 minutos, una hora, 3 horas, 6 horas, y 24 horas.

RESULTADOS

Transplantes intraperitoneales

Carcinoma ovárico en ratas Osborne-Mendel. Este es el tumor ovárico mencionado al principio de este trabajo, muy maligno y de rápido cre-

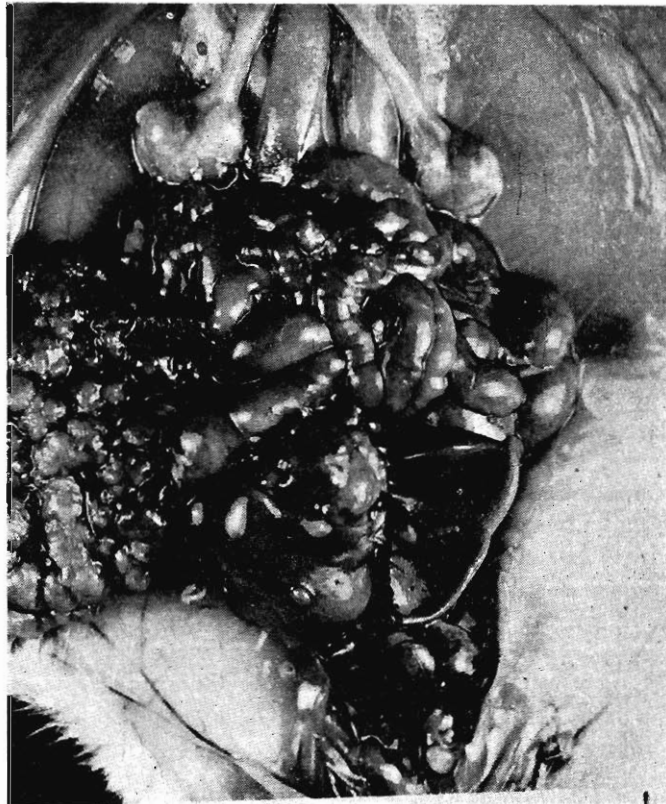


Fig. 1.—Carcinoma del ovario transplantado intraperitonealmente: Obsérvese el crecimiento polipoide del tumor, principalmente en el omento, a la derecha, y hacia abajo ambos ovarios con implantes tumorales. 1:1 x

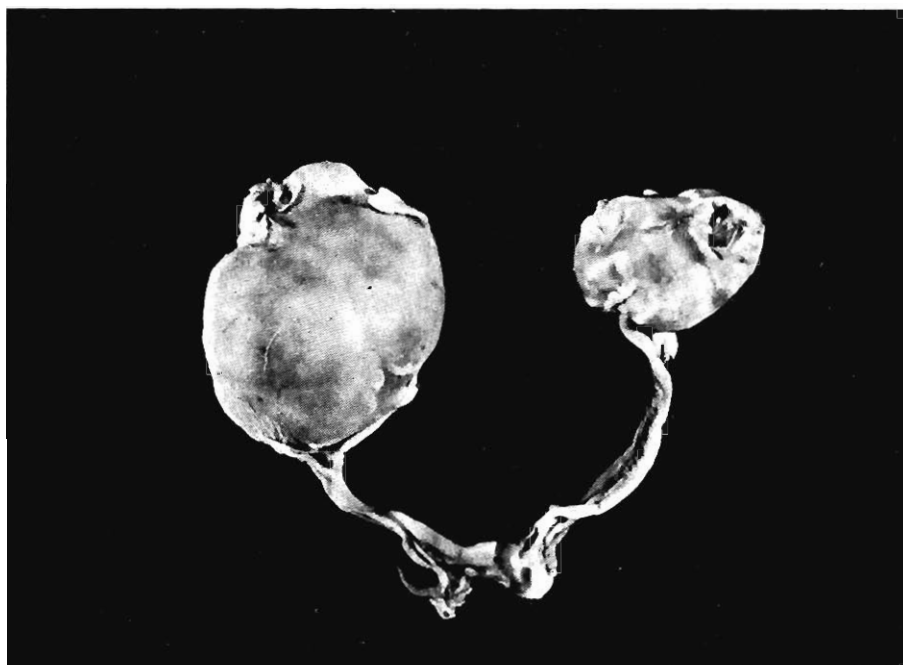


Fig. 2.—Voluminosos tumores desarrollados en ambos ovarios después de transplante intraperitoneal del carcinoma ovárico. 1:1 x

cimiento. Los trasplantes intraperitoneales de este tumor dieron lugar al desarrollo de masas polipoides diseminadas en la cavidad peritoneal, principalmente en el omento. Estas masas, blandas y rojizas, mostraban a menudo una superficie despulida, en descamación, de color bruno-grisáceo. Abundante fluido hemorrágico distendía la cavidad peritoneal, y mostraba un aspecto turbio. El examen microscópico de las extensiones de dicho fluido revelaba gran número de células aisladas o en grupos que, en ocasiones, formaban acinis; muchos eritrocitos y restos celulares necróticos también estaban presentes. Los ovarios mostraron crecimiento tumoral en gran número de casos.

RESULTADOS DE LOS TRASPLANTES INTRAPERITONEALES

Tumores	Ratas	Nº	Impl. Perit.	IMPLANTES OVARICOS					Promedio Evolución Días
				Total	Unilat.	Bilt.	Macr.	Micr.	
Ca-Ovario	O-M	40	30-75%	22-75.8%	5	17	12	10	33
Ca-Harderiano	Buff.	27	24-88%	8-33.3%	3	5	1	7	47
Fibrosarcoma	AXC	15	12-80%	4-33.3%	4	0	2	2	34
Ca-Gástrico	M-520	12	8-75%	1-12.5%	1	0	0	1	103

De 40 trasplantes intraperitoneales, 30 desarrollaron el tumor (75%), con un promedio de vida del animal, después del transplante, de 33 días. De

estos, 22 mostraron implantación ovárica (75.8%), siendo 17 bilaterales y 4 unilaterales.

Estos implantes ováricos se observaron macroscópicamente en 12 animales, con tamaños que variaban desde pocos milímetros hasta 4 cc. en sus diámetros mayores. (Fig. 1 y 2.) En los 10 casos restantes los ovarios aparentemente normales revelaron al examen microscópico formaciones adenopapilomatosas incipientes en el espacio sacular de uno o de ambos ovarios, creciendo libremente, o adheridos a la pared del saco ovárico. (Fig. 3.) A menudo, uno o más cuerpos amarillos mostraban también áreas más o menos extensas del mismo tipo de crecimiento papilar. (Fig. 4.)

De las 6 ratas Osborne-Mendel que habían recibido transplantes intraperitoneales y sacrificadas, como se dijo, en horas y días sucesivos, los ovarios y fragmentos del omento fueron estudiados en secciones seriadas. Células tumorales libres, aisladas o en pequeños grupos, se encontraron en el fluido albuminoso del espacio sacular del ovario. En un caso se encontraron signos de proliferación activa de células tumorales dos días después del trasplante; las células tumorales habían atravesado el epitelio de superficie, desprendiéndolo en parte y penetrando por debajo. (Fig. 5.)

Con ayuda del microscopio de disección se descubrieron, 2 días después del trasplante, eminencias puntiformes en el omento que parecían albergar

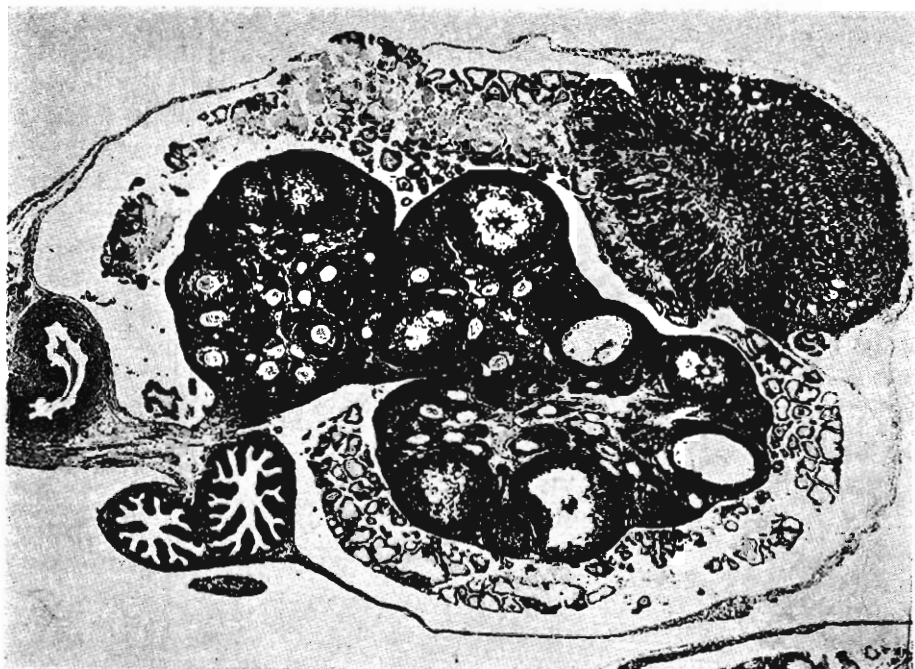


Fig. 3.—Sección total del ovario que muestra claramente el crecimiento papilar del tumor en el espacio periovárico después de trasplante intraperitoneal. 40 x

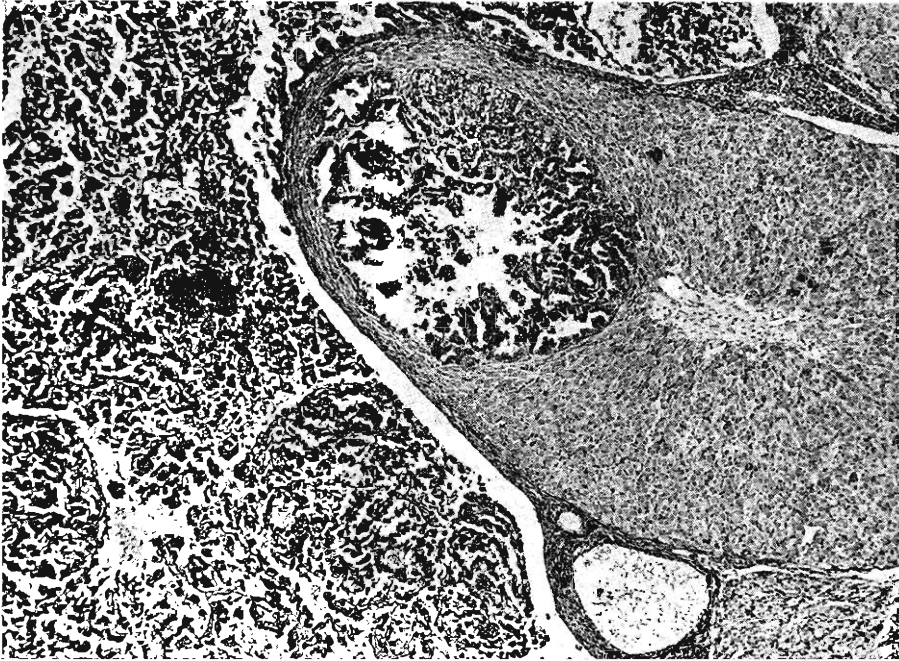


Fig. 4.—En esta sección se muestra un cuerpo amarillo con desarrollo papilar del tumor, y a la derecha extenso crecimiento del mismo en el espacio sacular del ovario después de trasplante intraperitoneal. 108 x

células tumorales. Las secciones seriadas verificaron la presencia de nódulos iniciales de aspecto granuiomatoso, con células tumorales, muchas en mitosis, diseminadas entre granulocitos y linfocitos. Los leucocitos eran más abundantes en la periferia, en la cual se veían también vasos sanguíneos dilatados. Tal hiperemia podría estar en relación con la activa proliferación de células tumorales (11). En la parte central de los nódulos se encontraba constantemente un material eosinofílico con restos celulares (Fig. 6), lo que sugiere el proceso descrito por BURROWS que califica de "autodigestión", más que de necrosis, y que parecen presentarlo los tumores en gran actividad proliferativa (12). En otros sitios la superficie del omento se veía recubierta por un material albuminoso que engolfaba células tumorales en proliferación. Los diversos estadios del crecimiento tumoral observados en el omento y en la superficie del ovario son similares a los de la carcinosis peritoneal humana descrita por SAMPSON (13, 14).

Carcinoma de la glándula Harderiana en ratas Búffalo. Este tumor es también de rápido crecimiento y con alto porcentaje de transplantabilidad en la cepa Búffalo original. Es importante mencionar que de 11 *transplantes subcutáneos* con 9 desarrollos positivos, se encontraron 2 casos aparentes de metastasis ováricas al estudio microscópico, con crecimiento incipiente del tumor en los cuerpos amarillos (Fig. 7); sin embargo, en ambos casos se encon-

traron nódulos metastásicos de algunos milímetros en el borde del hígado, lo que hace suponer que las células tumorales desprendidas de dichos nódulos migraron libremente en la cavidad peritoneal e implantaron el ovario.

Los trasplantes intraperitoneales de este tumor, también dieron origen a gran cantidad de ascitis hemorrágica. El fluido reveló al examen microscópico células tumorales libres, aisladas o en pequeños grupos, junto con gran número de eritrocitos. Al abrir el abdomen se encontraban masas tumorales nodulares, polipoides, muy blandas y de color rosáceo, principalmente en el omento, alrededor de los riñones, por debajo del diafragma e invadiendo el hígado, el páncreas y los ganglios linfáticos. El promedio de evolución de estos trasplantes intraperitoneales fué de 47 días.

De 27 trasplantes intraperitoneales en ratas Búffalo, 24 desarrollaron tumores (88.8%); de estos, 8 mostraron implantes ováricos (33.3%); 3 de los cuales fueron bilaterales y 5 unilaterales. Solamente en un caso se observó macroscópicamente un ligero engrosamiento de ambos ovarios y los 7 restantes fueron descubiertos por el examen microscópico, siendo de notar que los cuerpos amarillos eran a menudo el sitio inicial del crecimiento (Fig. 8), y más raramente el espacio sacular del ovario (Fig. 9). En muchos casos, varios cuerpos amarillos estaban infiltrados con metastasis iniciales.

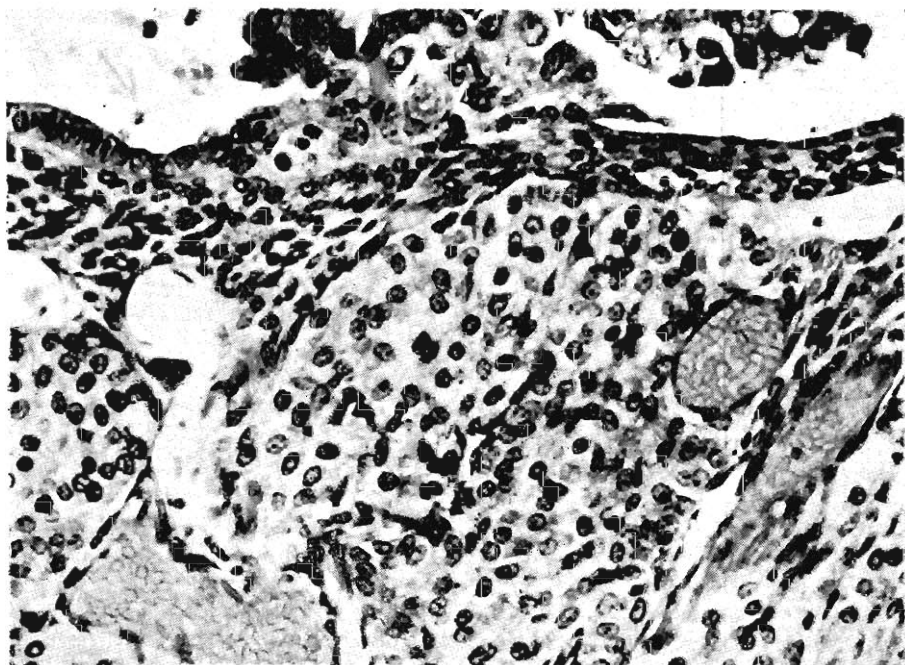


Fig. 5.—Sección del ovario 48 horas después del trasplante intraperitoneal del carcinoma ovárico: El epitelio superficial del ovario, tumefacto por reacción en el lado izquierdo, ha sido parcialmente desprendido por las células tumorales en proliferación que inician su implantación. 375 x

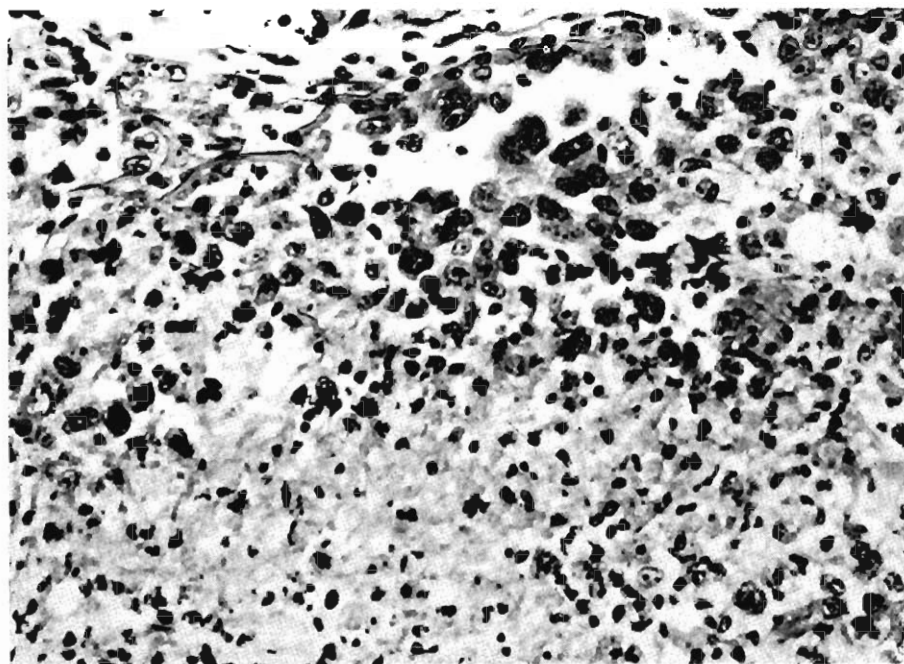


Fig. 6.—La superficie del omento 48 horas después del trasplante intraperitoneal del carcinoma ovárico: Inicio del implante tumoral con células tumorales en la parte superficial, y por debajo zona de aspecto necrótico con reacción leucocitaria. 340 x

Fibrosarcoma APMC-A en ratas AXC. Este es un tumor muy maligno que en los trasplantes subcutáneos en la misma cepa de origen desarrolla en casi el 100%, alcanzando tamaños de 6 a 8 cms. en sus mayores diámetros. El tumor es un tanto firme en consistencia, ligeramente lobulado, muy propenso a la ulceración, presenta un color blanco-rosáceo con áreas hemorrágicas, y una superficie de corte lisa y brillante.

En los trasplantes intraperitoneales la tumefacción del abdomen se hacía aparente a las 2 semanas, y alcanzaba un buen desarrollo en un promedio de 34 días, en que el animal moría espontáneamente o era sacrificado. En la autopsia la presencia de ascitis hemorrágica era constante y la cavidad peritoneal estaba sembrada de nódulos y masas redondeadas de superficie brillante y de color blanco-rosáceo, a veces con manchas hemorrágicas.

Se hicieron trasplantes intraperitoneales con este tumor por el método del trocar de 15 ratas, con desarrollo positivo en 12 ratas (80%). De éstas, cuatro mostraron implantes cúbicos unilaterales (33.3%), dos de ellos con tumores grandes que crecieron en el ovario derecho (Fig. 10); en un tercer caso el saco ovárico aparecía turbio y se encontró al examen microscópico, tejido tumoral invadiendo el parénquima (Fig. 11). La cuarta rata mostró una infiltración tumoral incipiente en el espacio sacular del ovario.

Adenocarcinoma gástrico en ratas Marshall-520. Este es un tumor de

crecimiento muy lento; alcanza el tamaño de 2 cms. de diámetro en el término de dos meses y medio en los trasplantes subcutáneos. Su consistencia es firme, de color blanco rosado, con una superficie de corte homogénea y brillante que se recubre de un fluido ligeramente viscoso; presenta pequeñas cavidades en su parte central, llenas de líquido seroso o viscoso, en ocasiones teñido en sangre.

En los trasplantes intraperitoneales la tumefacción del abdomen se hacía aparente solamente después de dos meses, y los animales morían o eran sacrificados promediando los 103 días del trasplante. En la autopsia se encontró también ascitis hemorrágica y masas nodulares pequeñas, sembradas en el omento y paredes peritoneales, en especial en la región pélvica. El fluido ascítico contenía raras células tumorales.

De las 12 ratas Marshall que recibieron trasplantes intraperitoneales, 8 desarrollaron tumores, y solamente hubo un caso en que el examen microscópico de los ovarios evidenció trombosis tumoral de algunos vasos en el estroma del ovario, y las células tumorales mostraban activa proliferación. (Fig. 12.)

Inyección intraperitoneal de tinta china. Las ratas hembras que fueron inyectadas intraperitonealmente con una solución diluída de tinta china

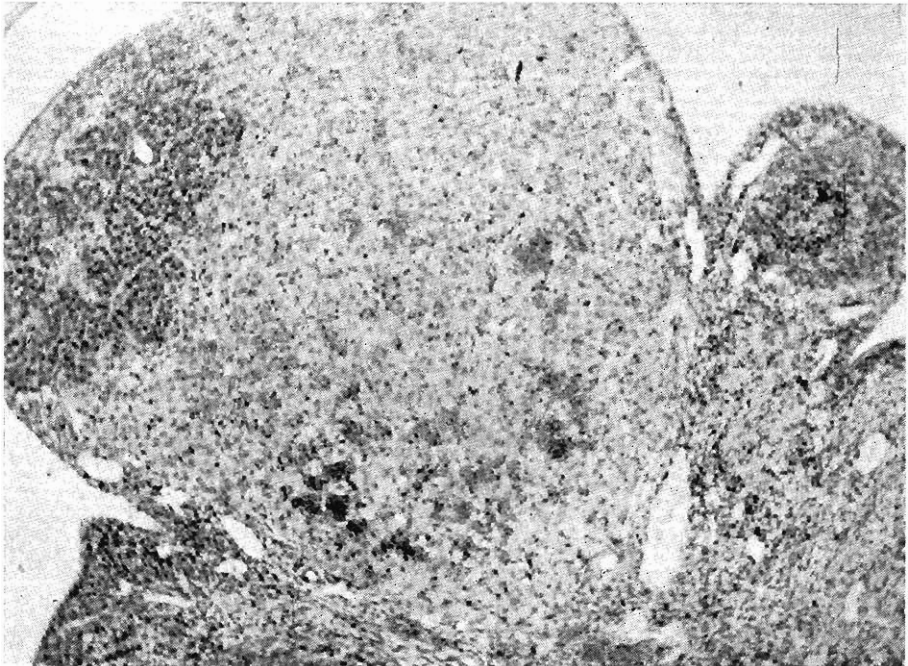


Fig. 7.—Carcinoma de la Glándula Harderiana transplantado subcutáneamente que presentó un nódulo metastásico en el borde del hígado, con implantación subsecuente en el ovario; Nótese el inicio del crecimiento tumoral en un cuerpo amarillo. 120 x

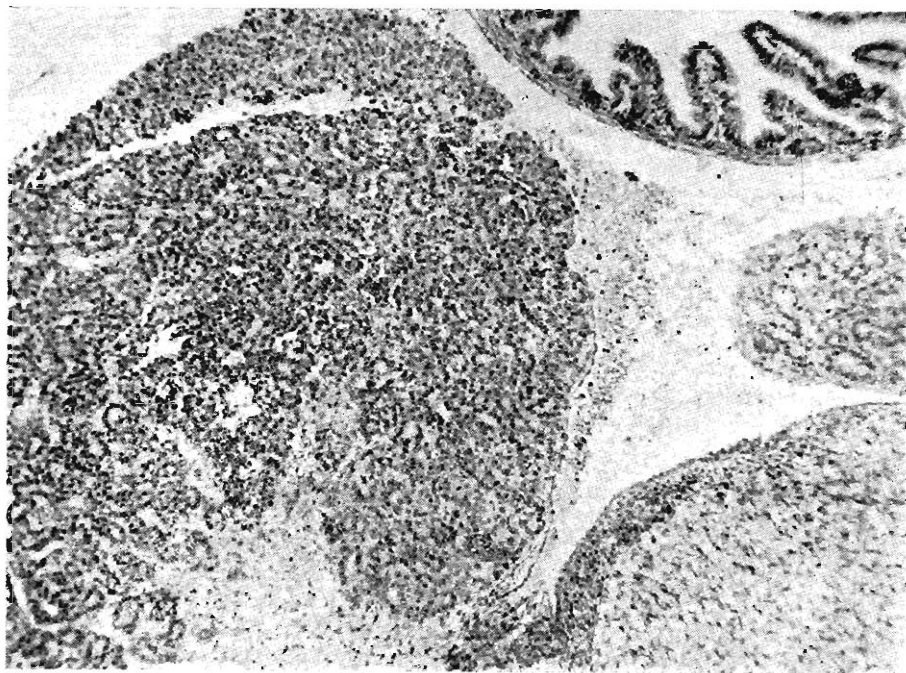


Fig. 8.—Carcinoma de la Glándula Harderiana transplantado intraperitonealmente: Extenso crecimiento tumoral que ha tomado todo un cuerpo amarillo. 120 x

mostraron gran cantidad del colorante en el peritoneo durante las tres primeras horas después de la inyección, libre al comienzo y luego fijada principalmente en el omento. El espacio sacular del ovario contenía partículas libres de tinta china en la primera hora, y al final de la tercera hora dichas partículas se encontraron localizadas principalmente en fagocitos (Fig. 13). Seis horas después de la inyección, como regla, ya no se descubría tinta en el saco ovárico al examen con el microscopio de disección, y nunca se la encontró después de las 24 horas. El examen microscópico de las secciones reveló partículas del colorante dentro de las células endoteliales que revisten el saco ovárico (Fig. 14). El pasaje de las partículas se hacía a través de una pequeña abertura u ostium que existe en el saco ovárico de los ratones y ratas, que comunica la cavidad peritoneal con el espacio peri-ovárico (Fig. 15).

DISCUSIÓN

Los resultados de estos experimentos mostraron que cuatro diferentes tipos de tumores, *transplantados intraperitonealmente*, hicieron metastasis por implantación en el ovario. Sin embargo, la incidencia de estos implantes varió grandemente según el tipo de tumor transplantado, siendo más alta (75%) en el caso del carcinoma ovárico de las ratas Osborne-Mendel. Tanto el carcinoma de la glándula Harderiana como el fibrosarcoma, produjeron implan-

tes ováricos en le 33.3% de las ratas portadoras de los respectivos tumores peritonealmente transplantados, mientras que el adenocarcinoma del estómago, el menos maligno de los 4 tumores, produjo solamente una metastasis entre ocho transplantes positivos (12%).

El experimento con la tinta china evidenció que las partículas del colorante inyectadas en la cavidad peritoneal alcanzaban el ovario a través de la abertura u ostium que existe en el saco o bursae ovarii. Es importante mencionar que dicha abertura puede estar cerrada en ciertas fases del ciclo estral, probablemente en virtud de su proximidad a la extremidad fimbriada del oviducto y que jugaría un papel funcional en la actividad reproductiva del tracto genital de estos roedores (15-18). Igualmente, la inyección de células tumorales del fluido ascítico en las ratas Osborne-Mendel, y sacrificadas en horas y días sucesivos, comprobó dicho mecanismo de implantación ovárica. Estos experimentos mostraron que dicha comunicación jugaba también un papel importante en las metastasis ováricas por implantación de crecimientos malignos dentro del peritoneo o de tumores localizados en la superficie de los órganos abdominales. Tal fué el caso en 2 ratas de estos experimentos que poseían metastasis superficiales en el hígado del carcinoma de la glándula Harderiana transplantado subcutáneamente, y que hicieron también implantes en los ovarios.

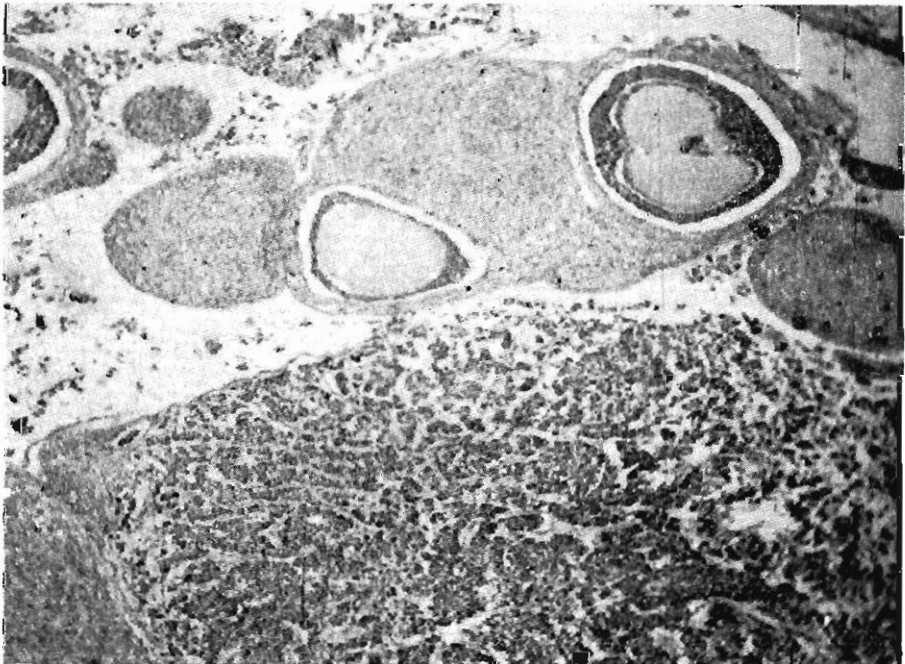


Fig. 9.—Carcinoma de la Glándula Harderiana transplantado intraperitonealmente: Extenso crecimiento tumoral en el espacio sacular. 80 x

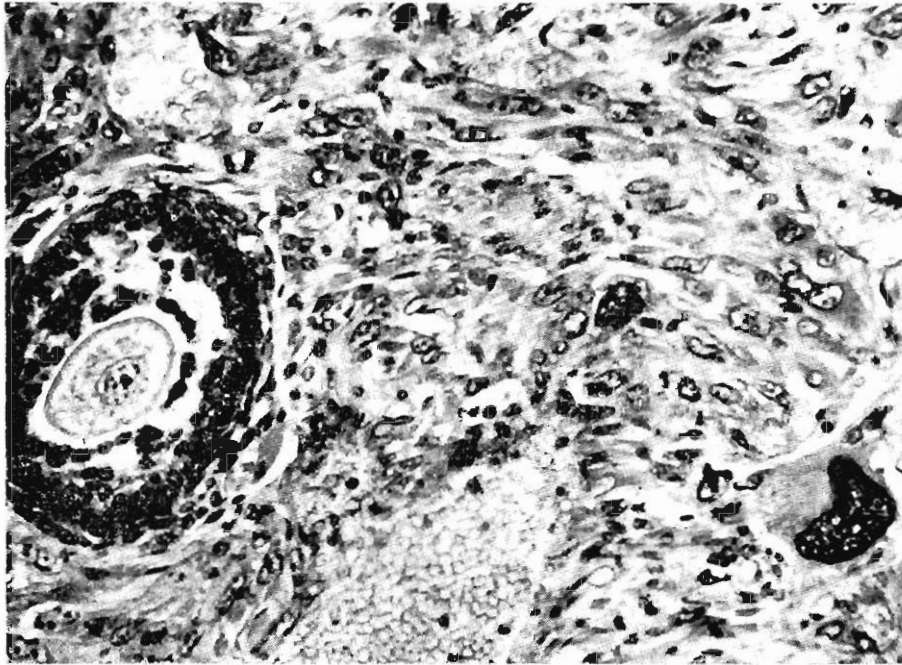


Fig. 10.—El fibrosarcoma ACMCA-2 transplantado intraperitonealmente: Sección del ovario con extenso crecimiento tumoral de células fusiformes y células gigantes, alrededor de un folículo de De Graff todavía respetado. 300 x

El hecho de que ciertos tumores hacen metastasis frecuentes a ciertos órganos o tejidos y rara vez o nunca a otros, ha sido interpretado por algunos autores como prueba de la existencia de una afinidad tisular u organotropismo tumoral (19, 20). La incidencia más alta de tumores desarrollados en los ovarios después de trasplantes intraperitoneales del carcinoma ovárico en ratas Osborne-Mendel, aparentemente abona esta idea. Sin embargo, hay otros factores en causa que importa discutirlos brevemente.

Se acepta generalmente que las metástasis son el resultado de la interacción entre el tumor y su huésped (21, 22). Se ha establecido que, *en primer lugar* el carácter y malignidad de las células tumorales o su grado de anaplasia es un factor principal para determinar la localización y frecuencia de las metastasis (23, 26). También se ha dicho que el número de células juega alguna parte en el éxito de los trasplantes o de las metastasis (27, 28). *En segundo lugar*, se ha atribuido una parte importante en la localización a condiciones locales y generales o a la susceptibilidad del organismo del huésped, determinado por factores constitucionales de resistencias animal (21, 22). En algunos casos, el desarrollo de metastasis puede ser cuestión de tiempo y de nutrición (29, 30), lo que en parte estaría de acuerdo con los resultados de estos experimentos. El ovario ofrece seguramente un buen "terreno" para

el crecimiento de tumores, y particularmente los cuerpos amarillos mostraron ser un medio fértil especial para su crecimiento, lo que se explicaría por la gran actividad funcional y los cambios cíclicos circulatorios de estos tejidos (9, 31).

Según BURROWS (12), las metástasis son primariamente el resultado de la difusión, desde la masa tumoral principal, de una substancia hipotética, estimulante del crecimiento, a la que denomina la "archusia", la cual sería liberada por un proceso de "autodigestión" de las células en la parte central del tumor.

HADDOW (32) también pensó que una "substancia promotora del crecimiento" estaría en juego. Recordamos que el carcinoma ovárico mostró gran tendencia desde su implantación inicial a formar áreas necróticas ("autodigestión"?). Si la teoría de Burrows es correcta, se inferiría que la capacidad del carcinoma ovárico para implantar los ovarios más pronto que otros tumores depende de la liberación de una mayor cantidad de "substancia promotora del crecimiento".

La mayor aptitud para difundirse los tumores estaría en relación con algún factor enzimático, como la hialorunidasa, que se cree que aumenta la invasividad de los tumores (32, 34), o que ésta dependa simplemente de cambios físico-químicos. Se ha demostrado que la tensión superficial y la concentración hidrogeniónica están alteradas en la sangre de pacientes cancerosos y

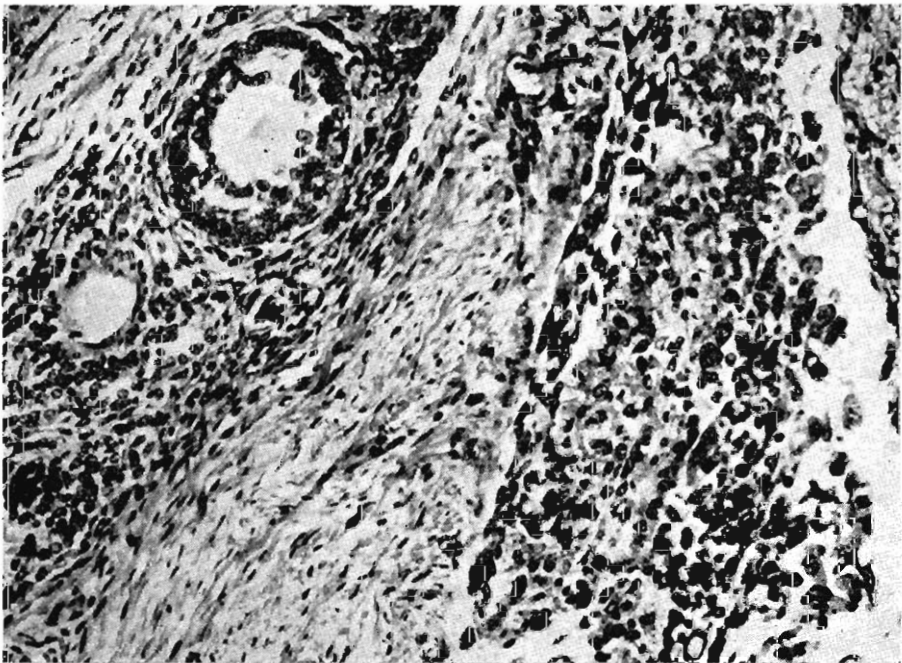


Fig. 11.—Fibrosarcoma ACMCA-2 transplantado intraperitonealmente: Sección del ovario que muestra la implantación tumoral en el espacio sacular y superficie del ovario. 270 x



Fig. 12.—El carcinoma del estómago transplantado intraperitonealmente: Sección del ovario que muestra algunos vasos del estroma con trombosis tumoral, con activa proliferación y formación de estructuras de aspecto glandular. 108 x

en los animales portadores de cáncer, y que los extractos tisulares de tumores también mostraban esta alteración (35, 37).

Más recientemente, COMAN (38), y McCUTCHEON y sus colaboradores (39, 40), han mostrado que un factor importante en la invasividad local es la fácil descamación de las células malignas debido a la pérdida de su mutua adhesividad, que se ha relacionado con la deficiencia local de calcio (38, 41-44). Las células vivas desprendidas son capaces luego de progresar por movimientos ameboides e implantarse en cualquier parte (45-49). El carcinoma ovárico, en realidad, mostró mayor malignidad y mayor tendencia a liberar células vivas que aparecían aisladas o en acúmulos, al examen microscópico del fluido ascítico. Es probable que la afinidad tisular u organotropismo no sea otra cosa que el resultado de estos diversos factores que acabamos de enumerar.

SUMARIO

En una publicación anterior sobre un carcinoma ovárico de rata se mostró su predilección para implantar el ovario cuando era transplantado intraperitonealmente. Los experimentos referidos aquí amplían el trabajo y muestran que otros tres tumores, además del carcinoma ovárico, eran capaces de implantarse y crecer en los ovarios. Se ha considerado y discutido la mayor incidencia de implantes ováricos del carcinoma ovárico en los trans-

plantas intraperitoneales, llegando a la conclusión de que esta habilidad provenía de su mayor malignidad y de la mayor liberación de células vivas capaces de atravesar el ostium del saco periovárico. Se evidenció también que las células tumorales encontraban un medio especialmente favorable para su crecimiento en los tejidos ováricos, principalmente en los cuerpos amarillos.

SUMMARY

Previous work suggested that an ovarian carcinoma showed ovarian organotropism when intraperitoneally transplanted. The experiments reported here extended this work and showed that three other tumors besides the ovarian carcinoma were able to implant and to grow in the ovaries. The higher incidence of ovarian implantation of the ovarian tumor when intraperitoneally transplanted has been considered, and the conclusion reached that this ability resulted from its greater malignancy and the greater detachment of free-living cells capable of passing through the opening of the periovarial sac. It was also evident that the tumor cells found an especially favorable soil for their growth in the ovarian tissues, mainly the corpora lutea.

BIBLIOGRAFIA

1. Symeonidis, A. and Mori-Chávez, P.: A. Transplantable Ovarian Papillary Adenocarcinoma of the Rat with Ascites Implants in the Ovary. *J. Nat. Cancer Inst.*, 13:409-29, 1952.
2. Ley, Gordon: Primary and Secondary Carcinoma of the Ovary. A Statistical Record from the Pathological Institute of the London Hospital. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 13: 95, 1919.

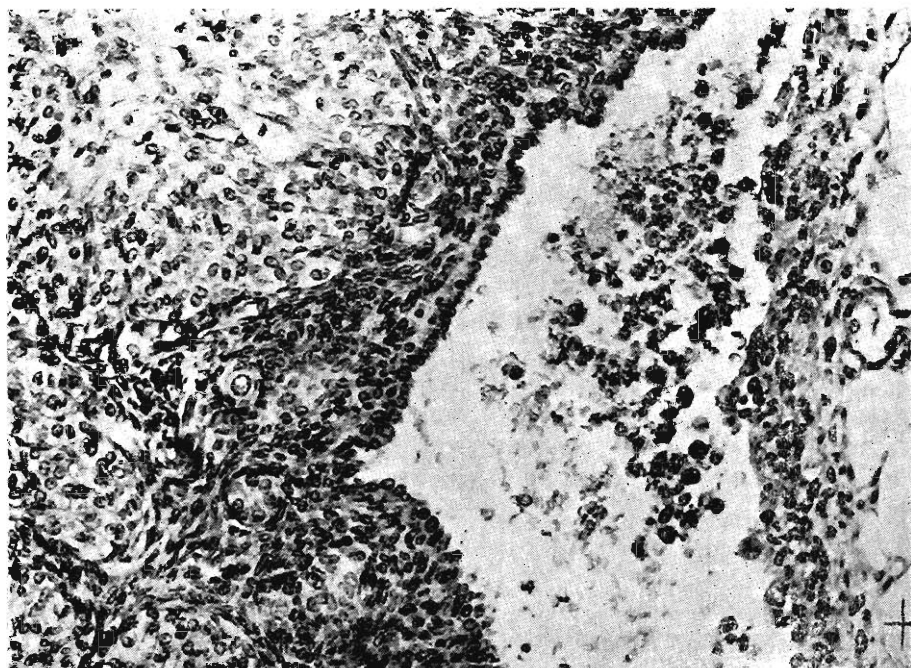


Fig. 13.—El experimento de la tinta china: Sección del ovario tres horas después de la inyección intraperitoneal del colorante que muestra numerosos fagocitos cargados de de partículas del mismo en el espacio sacular del ovario. 260 x

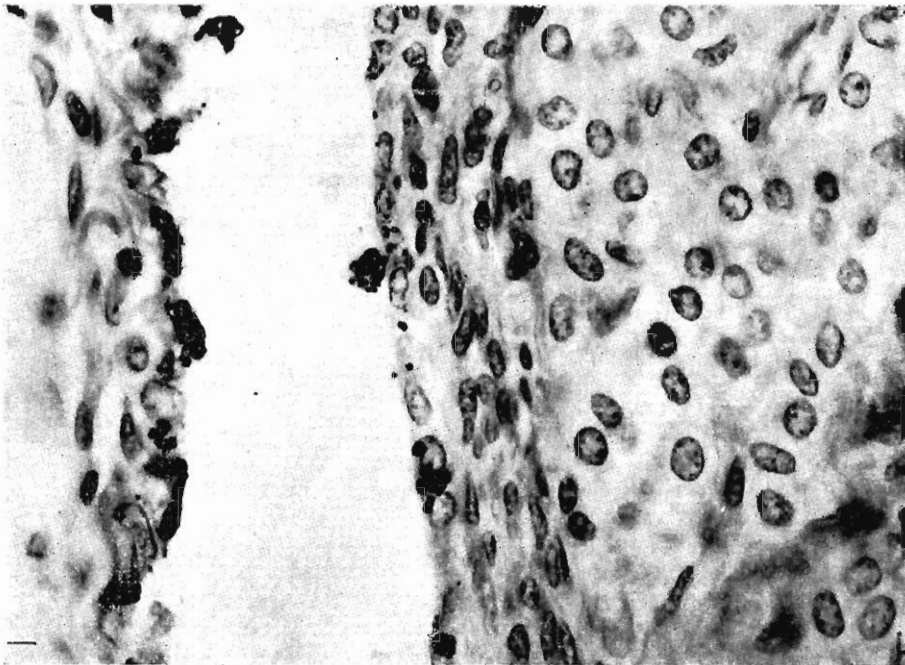


Fig. 14.—Experimento de la tinta china: Después de 24 horas de la inyección intraperitoneal ya no se veían más partículas del colorante ni fagocitos libres en el espacio secular, pero todavía se ven las células endoteliales con partículas de tinta ingeridas. 600 x

3. Geist, S. H.: Ovarian Tumors. Metastatic Ovarian Carcinoma, p. 220-233, Paul B. Hoeber, Inc. N. Y., 1942.
4. Werren, S. and Macomber, W. B.: Ovarian Metastasis of Carcinoma. Arch. of Path. 19:75-82, 1935.
5. Paget, S.: The Distribution of Secondary Growths in Cancer of the Breast. Lancet, 1:571-73, 1889.
6. Bland-Sutton, Jr.: Ovarian Tumour Secondary to Cancer of the Breast. Brit. Med. J.: ii:1249, 1902.
7. Bland-Sutton, Jr.: Secondary Carcinoma of the Ovaries. Brit. Med. J. i:1216. 1906.
8. Willis, R. A.: The Spread of Tumours in the Human Body. Butterworth & Co., Pub. Ltd., 1952.
9. Stone, W. S.: Metastatic Carcinoma of the Ovaries. Surg. Gyn. Obst. 22:407-23, 1916.
10. Shaw, W. and Johnston, J. H.: An Investigation into the Mode of Production of Metastatic Ovarian Tumours. St. Bartholomew Hosp. Rep. 64:21-29, 1931.
11. Coman, D. R. and Sheldon, W. F.: The Significance of Hyperemia around Tumour Implant. Am. J. Path., 22:820-31, 1946.
12. Burrows, M. T.: The Mechanism of Cancer Metastasis. Arch. Int. Med., 37:453-72, 1926.
13. Sampson, J. A.: Implantation Peritoneal Carcinomatosis of Peritoneal Origin. Am. J. Path., 7:423-44, 1931.
14. Sampson, J. A.: The Origin and Significance of Newly formed Lymph Vessels in Carcino-matous Peritoneal Implants. Am. J. Path., 12:437-68, 1936.
15. Neugebauer, C.: L'Influence de la Capsule Ovariennne sur la Fécondité de la Rate Blanche. C. R. Assn. Anat., 30th Reunion: 400-407, 1935.
16. Kelly, G. L.: Effect of Opening the Ovarian Bursa on Fecundity in the Albino Rat. Anat. Record, 73:401, 1939.
17. Alden, R. H.: The Periovarial Sac. in the Albino Rat. Anat. Record, 83:421-33, 1942.
18. Wimsatt, W. A. and Waldo, C. M.: The Normal Occurrence of a Peritoneal Opening in the Bursa Ovarii of the Mouse. Anat. Record, 93:47-57, 1945.

19. Levin, I. and Sittenfield, M. J.: The Formation of Metastases after an Intravascular Injection of Tumour Emulsion. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 8:114-17, 1911.
20. Franssen, R.: Un Pseudo-óophoroma de L'Ovarie. Metastase d'un Cancer Intestinal. *Ann. Anat. Path.*, 7:1053, 1930.
21. Pearse, L. and Brown, W. H.: Studies based on a Malignant Tumour of the Rabbit. Metastases, 3. Factors that Influence Occurrence and Distribution. *J. Exp. Med.*, 38: 347-66, 1923.
22. Levin, I.: The Mechanism of Metastases Formation in Experimental Cancer. *J. Exp. Med.*, 18:397-404, 1913.
23. Takahashi, M.: An Experimental Study of Metastases. *J. Path. and Bact.*, 20:1-13, 1915.
24. Tyzzer, E. E.: Factors in the Production and Growth of Tumour Metastases. *J. Med. Res.*, 23:309, 1913.
25. Cowdry, E. V.: Properties of Cancer Cells. *Arch. Path.*, 30:1245, 1940.
26. Willis, R. A.: *Pathology of Tumours*. Butterworth & Co., Ltd., London, 1948.
27. Nather, K. and Schmitzler, H.: Zum Problem der Krebsmetastasen. *Wien. Klin. Wochr.*, 39:1358-59, 1926.
28. Costa, A.: Untersuchungen über die zur Übertragung experimenteller Geschwulste notwendige Zellzahl, unter Bezugnahme auf die Filtrierungsversuche und auf die Pathogenese der Metastasen. *Ztschr. f. Krebsforsch.*, 36:339-408, 1932.
29. Ehrlich, P.: Referat über die Genese des Carcinomas. *Verh. Dtsch. Path. Ges.*, 12: 13, 1908.
30. Apolant, H.: The Question of Athrepsia. *J. Exp. Med.*, 14:316, 1911.
31. Goldman, E.: The Growth of Malignant Disease in Man and the Lower Animals, with special Reference to the Vascular System. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1: Surg. Section 1, 1907.
32. Haddow, A.: The Liver in Relation to Normal and Malignant Growth: a review. *Amer. J. Cancer*, 22:308, 1934.

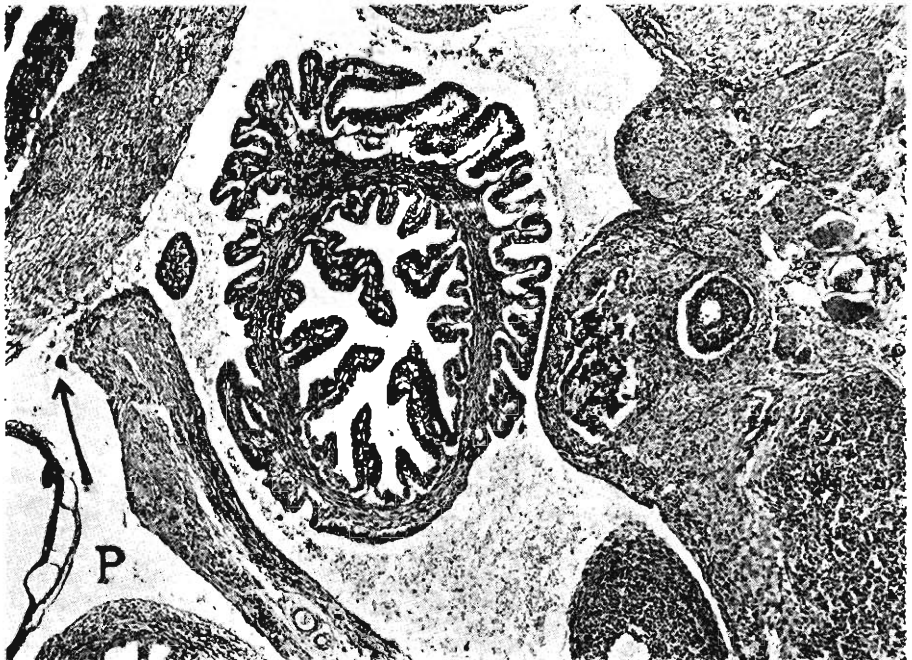


Fig. 15.—Sección del ovario que muestra claramente el ostium o abertura del saco periovárico, marcado con una flecha, que comunica el peritoneo (P) con el espacio periovárico en el que se destaca la porción fimbriada del oviducto.

33. Boyland, E. and McClean, D. A.: Factor in Malignant Tissues which Increases the Permeability of the Dermis. *J. Path. and Bact.*, 41:553-65, 1933.
34. Simpson, W. L.: Mucolytic Enzymes and Invasion by Carcinoma. *Am. N. Y. Acad. Sc.*, 52:1125-32, 1950.
35. Soloviev, B. M.: The Mechanism of Metastases. The Physico-chemical Factors and the Problem of the Distribution in the Organism of Metastases of Malignant Tumours. *Arch. Int. Med. Exp.*, 3:113-20, 1927.
36. Kutscherenko, P. and Schwedkova, T.: Zur Frage über die Metastastischen Krebsgeschwulste der Ovarien. *Frankfurt, Z. Path.*, 35:59, 1927.
37. Bauer, E. and Latnitzki, A.: Oberflächenspannung und Metastasenhäufigkeit. *Klin. Wochschr.*, 4:295, 1925.
38. Coman, D. R.: Mutual Adhesiveness, a Property of Cells from Squamous Cell Carcinomas Decreased. 4:625-29, 1944.
39. McCutcheon and Coman, D. R.: Spreading Factor in Human Carcinomas. *Cancer Research*, 7:379-82, 1947.
40. McCutcheon, M., Coman, D. R. and Moore, F. B.: Studies on Invasiveness of Cancer. Adhesiveness of Malignant Cells in Various Human Adenocarcinomas. *Cancer*, 1: 460-67, 1948.
41. Clowes, G. H. and Frisbie, W. S.: On the Relationship between the Rate of Growth, Age, and Potassium and Calcium Content of Mouse Tumours. *Am. J. Physiol.*, 14: 173-92, 1905.
42. Brunshwig, A., Dunham, L. I. and Nichols, S.: Potassium and Calcium Content of Gastric Carcinoma. *Cancer Research*, 6:230-32, 1946.
43. Dunham, L. I., Nichols, S. and Brunshwig, A.: A Potassium and Calcium Content of Carcinomas and Papillomas of the Colon. *Cancer Research*, 6:233-34, 1946.
44. De Long, R. P., Coman, D. R. and Zeidman, J.: The Significance of Low Calcium and High Potassium Content in Neoplastic Tissue. *Cancer*, 3:718-21, 1950.
45. Virchow, R.: Ueber bewegliche thierische Zellen. *Virchows Arch. j. Path. Anat.* 28: 237-40, 1863.
46. Carrel, A. and Burrows, M. T.: Cultivation in vitro of Malignant Tumours. *J. Exper. Med.*, 13:571-75, 1911.
47. Lambert, R. A.: Tissue Culture in the Investigation of Cancer. *J. Cancer Research*, L:169-82, 1916.
48. Coman, D. R.: Human Neoplasms in Tissue Culture. *Cancer Research*, 2:618-25, 1942.
49. Enterline, H. T. and Coman, D. R.: The Ameboid Motility of Human and Animal Neoplastic Cells. *Cancer*, 3:1033-38, 1950.