

Trabajos de colaboración

Ann. Pharm., II, (n.º 3), 1961

«Los virus cristales» - XIX

FERNANDO CHACON MEJIAS

FARMACEUTICO Y VETERINARIO

«Su origen y su vinculación con el cáncer»

PREAMBULO

En publicaciones anteriores hemos explicado, el origen, la estructura y el mecanismo de multiplicación de los virus esféricos, no cristalizados, o desoxirribonucleoproteicos (1) (2), así como el origen y procedencia de los bacteriofagos (3).

La casualidad nos ha deparado ahora, la oportunidad de poder explicar el origen de los virus cristales, virus de vegetales, o virus ribonucleoproteicos, despejándose con ello una incógnita, que ya quizás permaneciera un poco arrinconada, debido a la enorme dificultad que para el biólogo significaba llegar a una interpretación satisfactoria y correcta, acerca de su naturaleza, en parte de ser vivo, y en parte de sustancia química inerte.

De todos los enigmas con que el hombre se ha enfrentado, y que han constituido una angustiada pesadilla durante mucho tiempo, quizás hayan sido el del cancer y el de los virus cristales; uno en el terreno de la clínica humana y otro en el terreno de la biología pura, los que han agotado el tiempo, la técnica, el esfuerzo, el presupuesto, las ilusiones y el deseo, tanto de investigadores aislados y en equipo, como la esperanza de una sociedad dispuesta sin fortuna a despejarlos.

Vinculadas ambas incógnitas por una relación muy estrecha de circunstancias concomitantes, era de preveer, que al ser humano que le fuese concedido acercarse hasta el fondo de uno de los problemas, automáticamente habría de resolver, por proximidad, el otro.

Un presentimiento, nos concedió la seguridad de que habíamos sido escogidos por el destino para prestar este inestimable servicio a los demás, y esa seguridad, vinculó nuestra vida hace más de veinte años a la sola meta de conseguirlo.

Si el presentimiento se ha cumplido o no, todos tendrán ocasión de comprobarlo al terminar de leer este trabajo, y se ha cumplido por la to-

zudez, por la constancia, por la testarudez, de perseguir sin tregua ni desmayo durante más de veinte años, privadamente, a un fantasma inaprensible en un ámbito rural.

Breve reseña histórica

Las enfermedades de las plantas producidas por virus, aunque no fueron reconocidas como tales, se conocían mucho antes del descubrimiento de las bacterias, pero parece haber sido Allard (4) el que primeramente, en 1916, consiguió visualizar un virus de planta como entidad independiente y, en un intento de aislamiento del virus del mosaico del tabaco absorbió una fracción activa de jugos de plantas enfermas, por medio de talco, e hidróxido de aluminio.

Pocos años más tarde, McKinney (5) trató de purificar el mismo virus centrifugando a cierta velocidad, durante un tiempo reducido, savia bruta, para librar al material de sustancias extrañas: calentó a 65°C la parte sobrenadante, y la volvió a centrifugar durante 5 a 10 minutos.

Pero el primer intento serio de precipitar y aislar el virus del mosaico del tabaco por medios químicos, lo efectuó Vinson (6) utilizando acetona, sulfato amónico y safranina.

Más tarde Vinson y Petre (7) llegaron a la demostración de que el precipitado de virus safranina era inactivo, pero que si se eliminaba la safranina con alcohol amílico, se restablecía la actividad. De estas circunstancias pudieron deducir, que en muchos aspectos los virus se comportaban de manera semejante a una sustancia química.

En 1933 Barton-Wright y McBain (8) intentaron precipitar el virus utilizando sulfato amónico, pero los cristales que obtuvieron no resultaron ser cristales de virus.

En 1935, Stanley (9) del Instituto Rockefeller de Princeton, EE.UU., consiguió describir por primera vez la cristalización del virus. Fue por lo tanto el primer investigador, que consiguió el virus como un agente tangible, demostrando que estaba compuesto de proteína.

En 1936, Best (10) trabajando independientemente en Australia, precipitó el virus del mosaico del tabaco en su punto isoeléctrico, demostrando que el precipitado daba las reacciones de las proteínas.

Ese mismo año, Bawden, Pirie, Bernal y Fankuchen (11) demostraron que la proteína del virus del mosaico del tabaco podía existir al estado mesomórfico, o de cristal líquido.

Posteriormente Bawden y Pirie (12) demostraron que el virus era una nucleoproteína.

Todas estas primeras experiencias se efectuaron con virus del mosaico del tabaco, pues por su estabilidad y elevada concentración en la planta huésped, se presta a esta clase de investigaciones.

Takahashi y Rawlins (13) demostraron que el virus del mosaico del tabaco, extraído de la planta era un bastoncito y no una esfera, haciendo notar que si se observa savia de plantas afectas de mosaico, a la luz polarizada entre nicols cruzados, ésta presenta el fenómeno de "anisotropía al

flujo", pues estas partículas contenidas en un líquido fluyente, tienden a orientarse con sus ejes mayores paralelos a la dirección de la corriente, como leños en un río.

En estas circunstancias un líquido que contenga bastoncitos que posean un índice de refracción distinto al del líquido, es doblemente refractivo cuando la dirección de transmisión de la luz incidente es perpendicular a la dirección del flujo, y ésto es lo que se conoce como "anisotropía al flujo".

Bawden y Pirie (14) demostraron después, que si se reposan soluciones concentradas de virus del mosaico del tabaco, el líquido se separa en dos capas. La de arriba es más opalescente, aunque está menos diluída que la inferior. Si se observan estas dos capas, con luz polarizada, se advierte que la capa inferior es espontáneamente birrefringente, es decir, es un cuerpo cristalino líquido: en cambio, la capa superior no es birrefringente mientras permanece en reposo, pero lo es después de ser agitada suavemente.

Posteriormente, los físicos, químicos, e inmunólogos consiguieron grandes avances, por medio del microscopio electrónico y la técnica de la microfotografía de sombras, por estudios de la difracción de los rayos X, y con la ayuda de la ultracentrífuga y los estudios inmunológicos, nos dieron imágenes, e ideas, que completan los conocimientos que se tenían hasta ahora de estos virus, pero sobre los que aún quedaban muchas incógnitas por despejar.

Hemos relatado la historia reciente de los descubrimientos sobre los virus cristales, pero aún quedan datos más antiguos, algunos de los cuales por considerarlos de interés los traemos a colación.

En 1892, se demostró por primera vez científicamente la existencia de un virus.

Iwanowsky (15) trabajando sobre el mosaico del tabaco descrito por Maver, comprobó que la savia de la planta enferma, podía contagiar el mosaico a plantas sanas de la misma especie después de haber atravesado un filtro de buña a prueba de bacterias, que había sido perfectamente esterilizado antes de la filtración.

Pero el mismo Iwanowsky no pareció interpretar exactamente el significado de su experiencia y su descubrimiento pasó inadvertido.

A pesar de su propia demostración de la capacidad del virus del mosaico del tabaco para atravesar los filtros, Iwanowsky parecía estar convencido de que la enfermedad era producida por una bacteria, idea que fue expuesta por primera vez por Bayer en 1886.

Siete años más tarde, la prueba de filtración efectuada por Iwanowsky, fue repetida por Beijerinck (16), quien propuso entonces su teoría de un "contagium vivum fluidum".

Todas estas ideas fueron harridas, al aislar Stanley la proteína del virus del tabaco, pero las recogemos, porque después de leído este trabajo, recuperarán las ideas de Mayer, e Iwanowsky, una parte de su valor.

El descubrimiento de los virus cristales, produjo estupor entre los biólogos, quienes creían que existía una línea divisoria precisa, entre las

cosas vivientes y las que no lo son. Sin embargo en esas nucleoproteínas que constituyen los virus de las plantas había algo que cristalizaba, y además se multiplicaban a medida que la enfermedad progresaba en la planta.

A favor de su naturaleza de seres vivos, hablan el poder de multiplicarse, así como el que tanto los virus de las plantas, como los de los animales, mutan e invariablemente originan líneas, variedades, o tipos, estrechamente relacionados con la línea madre.

Estas dos propiedades son características de los organismos vivientes, pero por otro lado tenemos el indiscutible comportamiento de muchos virus como sustancias químicas y su aislamiento en forma cristalina.

Nosotros que en un trabajo publicado anteriormente (17) dimos una idea de la estructura íntima de los virus esféricos normales, admitiendo que son una agrupación en equipo de "enzimas vitalizados", sobre los que ya en el año 1952 (18) habíamos dicho que se podían originar por agrupación espontánea en equipo, de enzimas procedentes de bacterias, no nos habíamos atrevidos, hasta ahora, a enfrentarnos con la incógnita que suponían los virus cristales.

En ninguno de nuestros trabajos publicados últimamente, por diferentes revistas, hemos hecho mención de ellos, porque nos resultaba un desconcertante misterio.

Pero he aquí que la "suerte" nos ha deparado la ocasión de poder desentrañar también este problema, y al resolverlo se ha encontrado una clara explicación, y visible, a numerosos enigmas, y entre ellos la explicación perfecta de la manera cómo se efectúa la transmisión de material génico, desde los agentes microbianos "cancerígenos" a la célula donde se inicia la cancerización.

Imbuídos la totalidad de los investigadores y estudiosos, por la creencia de que los virus están vinculados necesariamente a un tamaño submicroscópico, lo que sólo es cierto para los virus que se encuentran en situación de emergencia en el seno de células vivas que se defienden, y que por acción recíproca los convierte en submicroscópicos y agresivos, en cuya forma son estudiados en la actualidad, tendremos que sufrir durante un cierto tiempo una actitud de escepticismo general — mayor por parte de los menos perspicaces con la que ya hemos contado de antemano—.

En un trabajo anterior (19) demostramos que los virus normales de soxirribonucleoproteicos, por lo menos algunos de ellos que hemos tenido ocasión de examinar, se podían visualizar en forma de anteridios fijos a glóbulos rojos, o raramente sueltos, y dotados de movilidad semejante a la de los espermatozoides, en microscopio ordinario, con sólo unos 1.500 diámetros de aumento y aun menos, cuyo trabajo contenía unos dibujos que daban una idea de su morfología y de su evolución sexual.

Hoy veremos cómo los virus cristales se pueden visualizar incluso a simple vista.

Vida precaria la de estos seres en medios artificiales, incluso en los medios que utilizamos que podrían llamarse "flúidos protoplasmáticos artificiales", pero de vida real, de seres no agredidos por el medio y donde se

multiplican durante varias generaciones de formas infinitamente mayores a las conoídas.

Y en definitiva, hay que tener "fe" en que decimos la verdad, pues no crean que nos exponemos al ridículo después de veinte años de vinculación a la investigación pura y desinteresada. Y si alguien cree lo contrario "que se tire al ruedo" como decimos por estas tierras.

A pesar del silencio que nos rodea, notamos ya en el ambiente que se nos va concediendo un mayor margen de crédito, y nuestro interés en conseguirlo no es personal, sino que con ello resultarán grandes beneficios para la comunidad humana y para las ciencias biológicas, compensando constructivamente, la alarma destructiva que significa el progreso de otras ciencias.

Con esto hemos querido situar los acontecimientos lejanos y próximos, a fin de que las demostraciones puedan ser mejor comprendidas.

Antecedentes inmediatos y descripción de la marcha de la investigación experimental

En nuestra ya larga vida de microbiólogos autónomos, nos ha sucedido varias veces —cuatro o cinco— que al efectuar siembras de vísceras de animales, bien con el fin de apoyar un diagnóstico clínico, bien para que sirvieran de base para la preparación de autovacunas, nos han aparecido en lugar de una serie de colonias bacterianas, un cultivo de cristales, en la superficie de los tubos de agar inclinado.

La penúltima vez fue hace unos seis años, y recordamos perfectamente que conseguimos mantener en estado de multiplicación, reproduciéndose los cultivos, durante tres pases sucesivos.

Reconocemos que aún carecíamos de la base necesaria, para poder interpretar el fenómeno como lo hemos podido hacer ahora, pues nuestras ideas no habían evolucionado lo suficiente, al faltarles el apoyo que después les han concedido numerosas demostraciones experimentales.

Observaciones del mismo estilo tenemos la seguridad, que han tenido ocasión de constatar, algunos otros microbiólogos que se dedican a la microbiología animal, pero no ha pasado de una observación y curiosa circunstancia, sin explicación posible.

Así pues, es posible que no hayamos hecho más que interpretar algo que ha debido ser observado antes por muchos microbiólogos, que obsesionados por el prejuicio de época, de creer que los virus han de vivir vinculados a tamaños ultramicroscópicos, no han relacionado estos cristales con los virus cristales.

Pero la última vez que nos ocurrió, habíamos partido y procedido a una meticulosa observación desde el principio —antes de efectuar las siembras— por observar circunstancias que habíamos predicho en trabajos anteriores, durante la observación de las preparaciones microscópicas, de las vísceras del animal muerto.

Los hechos ocurrieron así:

Sobre mediados de abril del presente año, autopsiamos un cerdo, al que apreciamos fuertes lesiones inflamatorias circunscritas de bazo y un estado hemorrágico generalizado en serosas y mucosas.

Ante la sospecha de que se tratase de un caso de peste porcina africana, enfermedad que aún no se ha presentado por los contornos de nuestra comarca, y por la posterior observación de algo de nuestro personal interés en el examen microscópico de las vísceras, procedimos, no con el interés profesional que trata de resolver un caso más, sino con la evidencia de encontrarnos ante una bacteria que típicamente respondía al tipo de las bacterias denunciadas por nosotros, como "cancerígenas" y de las que en un trabajo anterior dimos amplia referencia (20).

Y la cuestión no perdía para nosotros interés porque el caso en examen no tuviese relación ni remota con una proliferación neoplásica, sino que lo acrecentaba, por el hecho de que estos gérmenes son saprofitos, y porque en el canceroso son muy difíciles de observar porque cuando la neoplasia aparece, ya hace tiempo que se efectuó la transferencia y la bacteria y los "esporos intraorgánicos" a que da lugar han desaparecido.

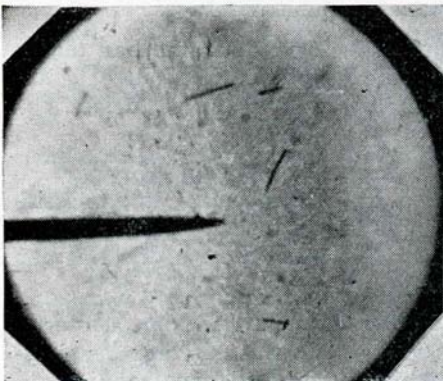
El examen microscópico detenido de frotis de distintas vísceras, nos demostró que solo existía como causa microscópica visible y responsable de la muerte del animal—que había muerto sólo unas horas antes—un largo bacilo Gram positivo, la mayor parte de las veces en diplobacilo, que desde luego morfológicamente no era el bacillus anthracis.

Pero desde el examen microscópico empiezan a dar fruto nuestras observaciones y demostraciones experimentales anteriores, ya publicadas, pues un examen detenido nos demostró que junto con la forma bacilar había "esporos intraorgánicos" de los que ya dijimos anteriormente (20) que tenían significación y bioquímica distinta a los esporos conocidos corrientemente como formas de resistencia en el medio ambiente.

Decidimos aislar dicho bacilo, sembrando en caldo ordinario, caldo glucosado, caldo hígado anaerobio, agar inclinado ordinario, agar para siembra anaerobia y en nuestro "fluido protoplasmático artificial".

Pero con gran sorpresa por nuestra parte, a los tres días no había crecimiento positivo en ninguno de los medios sembrados.

Era evidente que el bacilo que habíamos observado con profusión en el examen de vísceras, tenía que crecer en alguno de aquellos medios de cultivo, que fueron preparados con toda meticulosidad, y que nos han servido posteriormente para la resiembra de todos los gérmenes de nuestra colección de bacterias.



Microfotografía núm. 1.—Bacilos del grupo cancerígeno y «esporos intraorgánicos»

Estábamos ya más que intrigados, cuando en los tubos de agar inclinado —desde dos cms. por encima del agua de condensación hasta ella— observamos una especie de crecimiento sospechoso, que examinado con la lupa resultaron ser cristales.

Como no era la primera vez que lo observamos, y sabiendo ahora positivamente cuál era el origen de ellos, que no podía ser otro que una transformación de la bacteria observada en cristal, tomamos con el asa de siembra, agua de condensación de uno de los tubos donde habían crecido los cristales y sembramos tres tubos nuevos.

Inmediatamente observamos la superficie sembrada con el microscopio a unos 50 aumentos y sólo eran visibles cinco o seis cristales en cada tubo por haber sido arrastrados por el asa.

A las 48 horas, apareció un cultivo perfectamente visible a simple vista, por su abundancia, siguiendo las estrías dejadas por la aguja de platino sobre la superficie del agar, y que examinadas con pocos aumentos resultaron ser cristales idénticos a los que se habían resembrado.

Repetidas las resiembras, hemos conseguido siete pases hasta el momento presente, aunque decreciendo la exuberancia en los últimos pases.

Es de toda evidencia que los macrocristales, se multiplican como otro ser vivo cualquiera, y que son de la misma naturaleza de los virus cristales.

La fortuna de haber podido examinar detenidamente las vísceras, la de haber podido identificar el germen cuya existencia habíamos pronosticado junto con sus “esporos intraorgánicos”, y haber podido, por lo tanto, llegar a la obligada conclusión, de que necesariamente, los cristales procedían de ellos, ya que ellos no aparecen en forma de bacilos por ningún sitio, tiene una enorme importancia, porque demuestra que el enigma ilógico de los cristales vivos, de naturaleza química, resulta ahora más lógico.

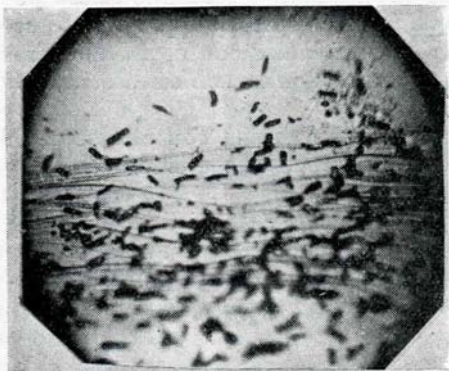
Nuestra interpretación —y por algo hemos adelantado ya mucho terreno en los 18 trabajos publicados con anterioridad —es, que la bacteria elimina la parte somática y se convierte en “esporo intraorgánico”, el cual conserva exclusivamente el material germinal.

No es un virus todavía, porque sus proenzimas germinales están envueltos por una membrana selectiva al paso de coenzimas y por lo tanto no con activados “in situ”, pero solamente hace falta que se desproveen de ella, para que la transformación en virus sea automática, y esto fue explicado en otro trabajo (21).



Microfotografía núm. 2.—Cristales a 400 aumentos

Es decir que la ribonucleoproteína génica, al quedar libre de la membrana esporular crea el primer núcleo de condensación cristalina, que se multiplica a tamaño ultramicroscópico mientras permanece en contacto con células vivas, pero que forma un macrocristal por acumulación seriada del mismo tipo de material, en los medios de cultivo.



Microfotografía núm. 3.—Cristales a unos 50 aumentos. Observen las estrías dejadas por el asa de platino

Se tratan de macrocristales formados por innúmeras unidades vitales, y visibles, por la misma razón que una colonia bacteriana se visualiza, por acumulación de bacterias de la misma clase.

No sólo radica el interés de estas investigaciones en haber llegado a encontrar el origen, y en haber podido explicar la naturaleza de los virus cristales —origen que como ya hemos visto presumía Iwanoswky, a pesar de haber sido él, el primero en haber conseguido demostrar la filtrabilidad del material contagioso— sino en múltiples fenómenos

observados después de un extenuante período de observaciones experimentales, que hemos podido recoger de forma gráfica parcialmente, dentro de las posibilidades de una cámara microfotográfica improvisada por nosotros, para que el lector pueda participar un poco de ellas.

De las pruebas experimentales efectuadas hasta ahora, —y estamos en los comienzos— se destacan dos por su importancia :

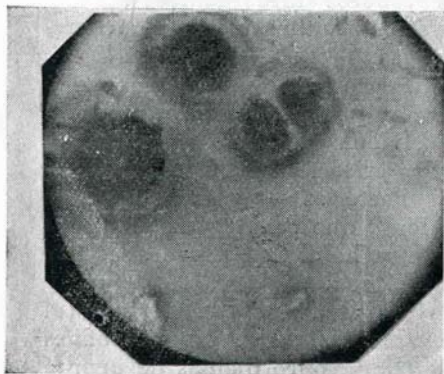
1.º—Si sobre un cultivo en agar inclinado, o en placa de petri, de estos cristales vivos sembramos un cultivo de *Bacilus caprisépticos*, o *Pasteurella caprina*, éste crece al principio normal y uniformemente, pero rápidamente aparecen colonias mutantes, que se destacan fácilmente, por su mucha mayor opacidad, del resto de las colonias translúcidas del bacilo no mutado.

Son indiscutiblemente colonias mutadas de dicho bacilo, que al examen microscópico se muestran más pequeñas que los normales, pero es aún más curioso, el que por debajo de esas colonias mutadas, aparezcan asimismo cristales mutados, por lo menos en tamaño y morfología.

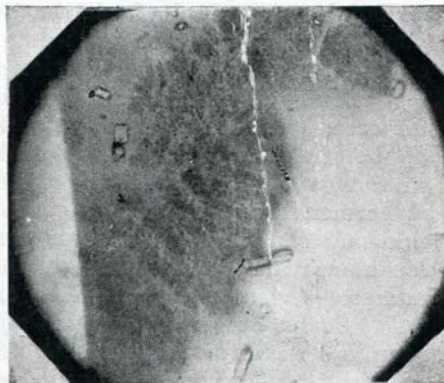
Obsérvese cómo inmediatamente debajo de una serie de colonias mutadas de *Bacilus caprisépticus* un poco desenfocadas para enfocar los cristales que aparecen debajo de ellas, aparecen cristales no alargados, y mucho más pequeño al parecer de una estirpe distinta a los originalmente sembrados, algunos de los cuales restan sin mutar. (Obsérvese con lupa).

2.º—Si sobre otro tubo con agar inclinado, conteniendo un abundante cultivo superficial de cristales vivos, sembramos un germen del grupo *Subtilis*, éste crece, pero en las zonas donde se establece contacto entre las colonias bacterianas y los cristales, ocurre el siguiente fenómeno :

Los cristales se difuminan y disuelven, pero las colonias del bacilo del grupo Subtilis a su contacto, pierden opacidad y se vuelven transparen-



Microfotografía núm. 4



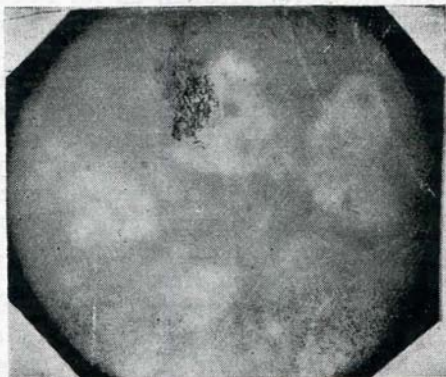
Microfotografía núm. 5

tes, vitrificándose, en un fenómeno parecido a la vitrificación de colonias bacterianas, por contacto con algunas estirpes de bacteriófagos.

No se advierten detalles porque al estar sembrado el cultivo en agar inclinado, ha existido la necesidad de microfotografiar a través de una gruesa capa de agar, pero se observan las zonas más claras vitrificadas.

Estas dos pruebas experimentales tienen gran importancia porque demuestran visiblemente, que existe una transferencia de material génico de cristal a bacteria y posiblemente de bacteria a cristal que conduce a una mutación doble.

Pero la importancia para la colectividad humana, radica, aparte de otras consideraciones de patología vegetal, animal y genética, etc., en que con este queda demostrado visualmente que la transmisión de material génico de una bacteria "cancerígena", transformada en virus cristal a una célula somática humana, es posible, ya que las bacterias que en nuestro caso reciben el material génico del virus cristal, mutando, son al fin y al cabo, células bacterianas.



Microfotografía núm. 6.--En el centro de las zonas vitrificadas aún quedan restos amorfos de los cristales, en vías de desaparición total

Y esto es así, ya que la bacteria que en nuestro caso se transformó en virus cristal era un tipo perfectamente definido del grupo de microorganismos que ya hemos denunciado en trabajos anteriores, como agentes "cancerizantes" por transmisión de material germinal, ya que en este caso no fallaba ni la tipología del bacilo, ni sus "esporos intraorgánicos".

Pero examinemos antes de terminar varios aspectos y consideraciones que se derivan de las observaciones conseguidas.

Entre los virus cristales, los hay que producen proliferaciones y tumores, pero más que por actuación directa, por probable transmisión de material germinal de virus o célula —no olviden que en lo sucesivo consideramos a los virus cristales como bacterias cristalizadas, es decir como el germen cristalizado de algunos tipos de bacterias— y entre ellos el tipo más común es el conocido como "neación", que consiste en una hoja secundaria que crece en la cara inferior de otra hoja. Son provocados por numerosos virus, pero solamente en ciertos huéspedes.

Se ha observado que los siguientes virus producen "enaciones": el complejo de virus de la roseta del tabaco, sobre tabaco y especies afines de *Nicotiana*, el virus del anillo negro del tomate, sobre plantas de pepino de invernáculo, varias líneas del mosaico del tabaco, algunas sobre tomate y otras sobre tabaco, y el virus del enrulamiento de la hoja del tabaco sobre tabaco.

Se han descritos además recientemente en América, cánceres de plantas determinados por este tipo de virus, y al que se ha denominado "virus del tumor de herida".

Grandes protuberancias que aparentemente pueden crecer ilimitadamente, se desarrollan en las raíces y tallos de las plantas afectadas, de trébol blanco de olor: *Melilotus alba*.

Estando ya demostrado que existe un juego de transmuciones de ciertas bacterias a virus cristal, la mecánica que se desprende de la cancerización es exactamente la apuntada por nosotros a través de numerosas publicaciones —que han ido por demostraciones parciales elevando el problema al claro estado en que hoy se encuentra— con la única variante de que no habíamos prejuzgado que la transmisión se llevara a efecto por intermedio de un virus cristal, aunque ya apuntábamos que el material génico de la bacteria al dispersarse, y antes de efectuarse la transmisión se transformaba en virus (22).

Ahora bien, como la ribonucleoproteína cedida por el virus cristal a la célula somática humana, es de la misma naturaleza que la del material génico de la bacteria de la cual proceden, y éstas tienen proteínas dextrógiras en su fracción enzimática germinal el mecanismo de interferencia fosforilativa que provocan y que conduce al canceroso a la caquexia y a la muerte, es el mismo que ya explicábamos en otro trabajo anterior (23).

Otra de las observaciones recogidas durante el curso de nuestras investigaciones, es confirmativa de las observaciones de Bawden, Pirie, Bernal y Fankuchen referida con anterioridad, pues depositando una gota de agua de condensación de un tubo con un cultivo positivo de cristales en la superficie de una placa de agar, y enfocándola en el microscopio, no vemos al principio ningún cristal, pero conforme la gota va siendo absorbida

por el agar hay una activa condensación de los cristales líquidos, al estado de cristal sólido.

Esto demuestra que la observación de dichos investigadores de que los cristales pueden existir en un estado mesomórfico, o líquido, es exacta.

Pero aún existen más circunstancias, pues hemos conseguido la reversibilidad del fenómeno, o sea, la transformación de los cristales nuevamente en bacteria, de la siguiente forma.

Hemos machacado en mortero hojas verdes de alhelíes y geranios hiedra, el jugo lo hemos filtrado por placa esterilizante, mezclado con caldo de carne ordinario, lo hemos mantenido una semana a la estufa y a la temperatura ambiente, sin que perdiera un ápice la transparencia.

Después lo hemos sembrado con un cultivo puro de cristales, y lo hemos dejado a la temperatura ambiente.

A los tres días ha aparecido la misma bacteria que había en las vísceras del cerdo y que originó los virus cristales.

Esta bacteria ha puesto viscoso el caldo filtrado en que fue cultivada y en el cultivo no se aprecian esporos del tipo de los intraorgánicos, ni de ningún otro tipo, lo que demuestra que el "esporo intraorgánico" sólo se produce en el organismo de los seres parasitados, como una fase previa a la aparición del virus cristal.

De todas estas circunstancias nos nace una sospecha que pudiera adaptarse a la realidad y es la siguiente:

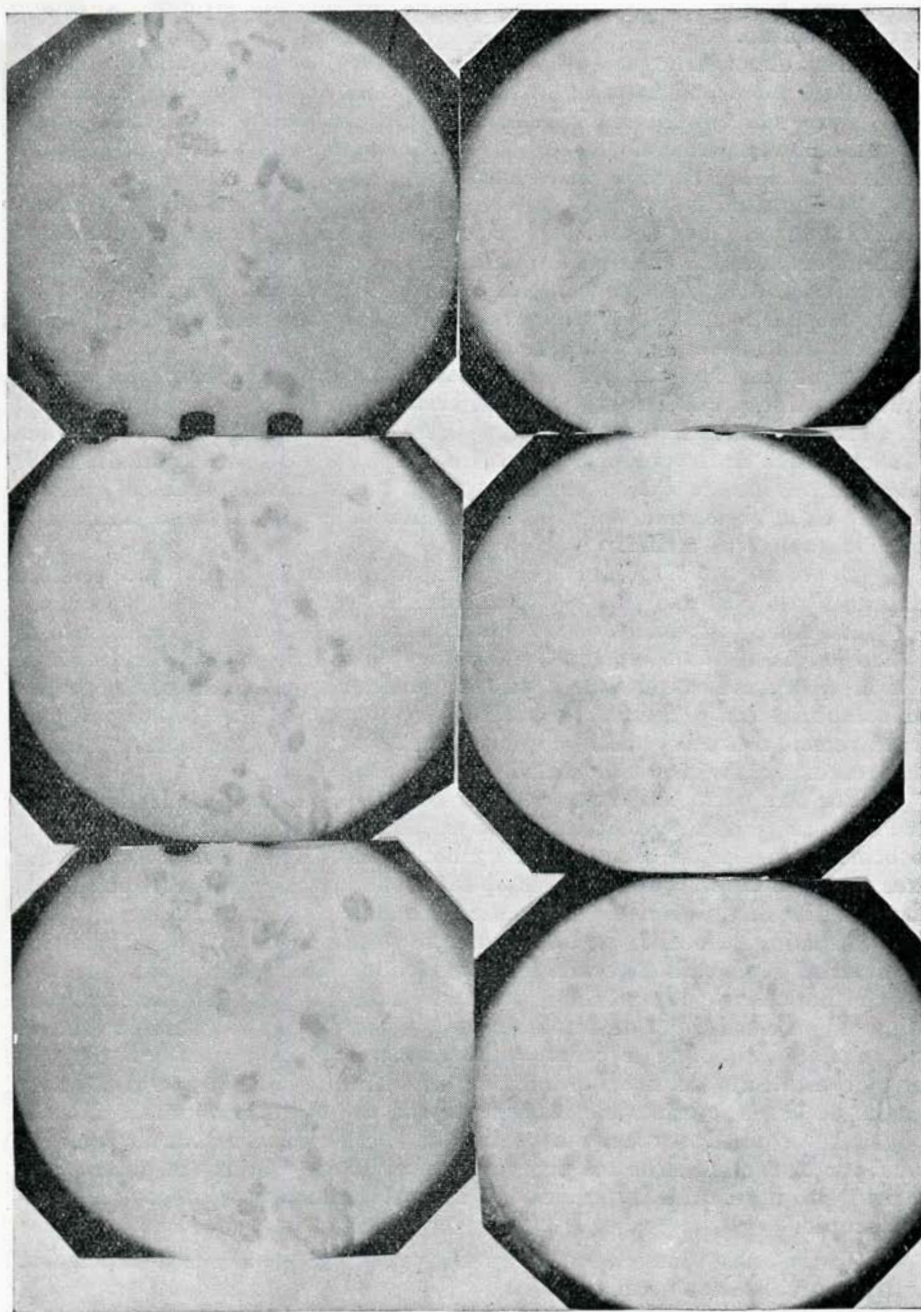
Así como los núcleos de las células animales —seres de crecimiento limitado por un formato específico— son incapaces de regenerar, en términos generales, órganos amputados y poseen solamente desoxirribonucleoproteínas como material germinal, las plantas que son capaces de elaborar a partir de yemas, o brotes, nuevos tejidos durante toda su vida, poseen ribonucleoproteínas como material génico.

Por otra parte, los virus cristales, sólo atacan de forma infectiva transmisible —en términos generales, pues ya hemos visto que en nuestro cerdo no ocurrió así— a las plantas y son ribonucleoproteínas, mientras que los virus no cristalinos, que están compuestos de desoxirribonucleoproteínas, atacan de forma epidémica y epizootica a hombres y animales.

Situados los hechos en este punto, se puede decir, que la transmisión de material génico de naturaleza ribonucleoproteica, al material germinal desoxirribonucleico de una célula somática humana, puede modificar a ésta última en su estabilidad de célula animal, y acercarla a la condición de célula vegetal, en lo que se refiere a no obedecer los patrones que rigen el obligado estatismo de la célula animal, sino erigiéndose en brote, o yema, que ha de originar una serie ininterrumpida de multiplicaciones celulares, apoyadas por una absorción o captación de energía extraordinaria, suministrada por la captación de los procesos fosforilativos, por las proteínas dextrogiras que inhiben al interdiario de las fosforilaciones orgánicas en beneficio propio.

Todas estas causas constituyen el "primus movens" de la iniciación multiplicativa de las neoplasias.

En definitiva, la diferencia genética entre virus normales y virus cristales radica en que mientras los virus cristales pueden proceder de la crista-



Serie 1.^a—Obsérvese el crecimiento de los cristales. La 8.^a fue tomada a las 12 horas de la 7.^a. La 9.^a a las 24 horas de la 8.^a

lización del material génico de una sola bacteria, sin que haya dispersión de "subunidades" o "enzimas vitalizados" (17), o bien del resultado del intercambio de material génico de un virus cristal con una bacteria, como se puede apreciar en la microfotografía núm. 5, los virus esféricos, no cristalinos, sólo aparecen tras una asociación en corona superficial (17) de enzimas acoplados en equipo, sobre un núcleo de ácido desoxirribonucleico, o ribonucleico de tipo no cristalino, cuyos enzimas son procedentes de varias bacterias, e iniciándose por la formación de un provirus elemental, que sólo cuenta con parte del equipo enzimático definitivo, y sólo se convierte en unidad vital autónoma al completarse, porque solo entonces es capaz de apropiarse para efectos multiplicativos de la energía dimanante de un ciclo bioquímico completo.

Sus estructuras íntimas y su forma de multiplicarse se desprenden fácilmente, pues mientras un virus esférico, con una corona periférica de enzimas, solo puede multiplicarse en la forma que apuntábamos en otro trabajo, (17) los virus cristales, poseen o deben poseer una disposición lineal, o plana, simétricamente seriada de su material ribonucleico y de sus enzimas, lo que les concede el poder reunir por agregación cristalográfica muchas unidades vitales en una estructura cristalina, de la misma forma que un enzima cristalizado posee numerosos enzimas por cada cristal y que un cristal de ferrocianuro acopla sus moléculas formadas por átomos diversos en una estructura cristalina, que se individualizan al efectuar una disolución de ellos.

Así lo demuestra el estado mesomórfico, o de cristales líquidos, donde las moléculas individualizadas del virus cristal se encuentran dispersas en una fase líquida.

Así la multiplicación íntima del virus cristal no ha de seguir el patrón dispersivo de la multiplicación de los virus normales, pues sólo ha de reproducir, una línea, o un plano preexistente, por acumulación sobre él de material de la misma naturaleza y reproduciéndolo en este caso como un negativo fotográfico a su positivo.

Terminamos por hoy, dejando para otros trabajos posteriores, el estudio bioquímico de los virus cristales; la acción patógena de las mutaciones producidas por contacto con distintas estirpes de bacterias, y en fin las circunstancias que resulten de la exploración de ese mundo misterioso, pero cada vez menos, donde podemos encontrar la explicación de la génesis de la vida.

Serie 2.^a—Microfotografía núm. 10. Hemos sembrado una gota del agua de condensación de un tubo de agar con cultivo de cristales, sobre una placa de agar y hemos enfocado inmediatamente.

Microfotografía núm. 11. A las dos horas de la 1.^a

Microfotografía núm. 12. A las 24 horas de la 1.^a

Obsérvese que se ha operado con los mismos aumentos, puesto que los cristales guardan sus distancias.—La 2.^a serie demuestra que los cristales se pueden encontrar en estado de líquido cristalino.

Ampliación a la 19 parte «Los virus cristales»

Cuando ya habíamos enviado el trabajo “Los virus cristales” a las revistas para su publicación, recibimos de Zaragoza, la sangre de una enferma remitida por dos Drs. —cuyos nombre silenciamos por no contar con su autorización para ello— con el siguiente diagnóstico: “Bultoma que sigue una progresión creciente a un ritmo rapidísimo, de manera que en dos meses ocupa todo el hemiabdomen derecho, con las mismas características de dureza, nódulos, dolor, etc., y con un estado general muy precario. Todo abunda en el sentido de una tumoración maligna de origen hepático (o ganglionar mesentérico) casi con entera seguridad de tipo sarcomatoso”.

La sangre según nuestras instrucciones se extrajo con jeringa esterilizada el autoclave, e introducida en frasco asimismo esterilizado al autoclave y agitada durante unos tres minutos. La sangre fue recibida en perfectas condiciones y se sembraron varios tubos de “fluido protoplasmático artificial”, depositando unas tres gotas, con pipeta Pasteur en el agua de condensación, mezclando y extendiendo por inclinación del tubo por toda la superficie del agar inclinado.

Se dejaron a temperatura ambiente, y a las 72 horas nos pareció observar algunos cristales en el agua de condensación, pero no se percibían bien por la sangre.

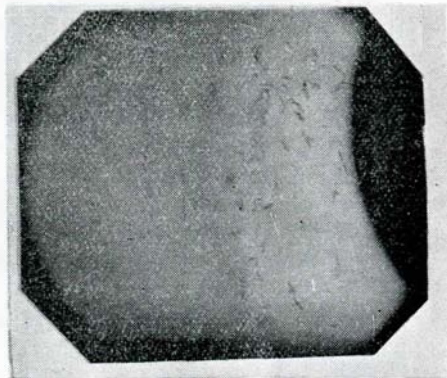
Sin agitar tomamos con el asa de platino de la parte transparente del agua de condensación, y sembramos nuevos tubos de “fluido protoplasmático artificial” solidificado por la adición de agar.

Dos días después aparecieron en todos los tubos resembrados, cristales abundantes en el agua de condensación. (Microfotografía núm. 13).

Sacamos con el asa de platino, algunos de ellos que se microfotografiaron a distintos aumentos. (Microfotografías núm. 14 y 15).

La prueba directa ha sido efectuado y ha respondido a todas nuestras previsiones.

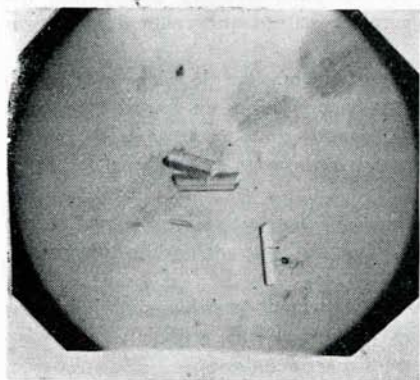
Dejamos la ampliación de numerosos detalles, que hemos conseguido observar para el siguiente trabajo, pero queremos hacer constar aquí, que así como los cristales aislados del cerdo, son eminentemente acorbios y crecen abundantemente en la superficie libre del “fluido protoplasmático artificial”, los del cáncer sólo crecen en el fondo del agua de condensación, en el fondo de los tubos de “fluido protoplasmático artificial” líquido y tam-



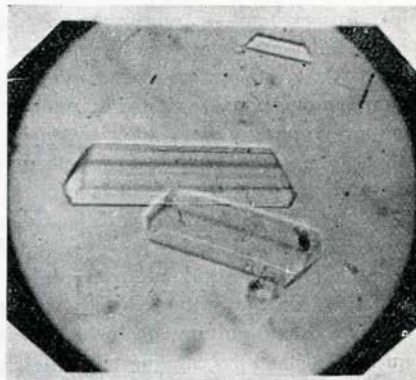
Microfotografía núm. 13

bién en el fondo de tubos del mismo medio líquido anaerobio por adición de parafina líquida.

Esta microaerofilia, estaba prevista, como se puede comprobar al examinar los trabajos anteriores.



Microfotografía núm. 14



Microfotografía núm. 15

C O N C L U S I O N E S

1) Hemos podido demostrar que los virus cristales, proceden de la cristalización del material génico ribonucleoproteico de varias estirpes de bacterias, tras una interfase parásita de «esporo intraorgánico».

2) Hemos podido demostrar la reversibilidad del fenómeno al demostrar, que los virus cristales se transforman en bacterias, de la misma naturaleza, que las originaron, en ciertas condiciones.

3) El virus cristal es el que efectúa la transferencia de material génico a la célula humana o animal, y a cuya transferencia es debida la cancerización, de acuerdo con todas nuestras previsiones publicadas con anterioridad, —excepto, que como ahora se demuestra, fuese llevada a cabo bajo la forma de material génico cristalizado procedente de las bacterias que ya habíamos denunciado.

4) En la ampliación hemos llegado a la demostración directa, de que así es en efecto, al aislar de sangre de una enferma de tumoración maligna un virus cristal microaerófilo.

5) Que el cultivo de estos virus cristales es perfectamente posible efectuarlo «in vitro» en nuestros medios de cultivo a los que llamamos «Flúidos protoplasmáticos artificiales», en los que al no ser agredidos llegan a formas de tamaño macroscópico.

CONCLUSIONS

1) Nous avons pu démontrer que les virus cristaux procèdent de la cristallisation de la matière ribonucléoprotéique des gènes de plusieurs sortes de bactéries, après une phase intermédiaire parasitaire de «spore intraorganique».

2) Nous avons pu démontrer la réversibilité du phénomène en démontrant que les virus cristaux se transforment en bactéries, de même nature que celles dont ils sont issus, cela sous de certaines conditions.

3) C'est le virus cristal qui effectue le transport de matière de gènes à la cellule humaine ou animale; c'est à ce transfert qu'est due la cancérisation, en accord avec toutes nos prévisions publiées antérieurement, —sauf que, comme nous le démontrons maintenant, il se réalise sous la forme de matière de gènes cristallisée en provenance des bactéries que nous avons déjà dénoncées.

4) En approfondissant nous sommes arrivés à la démonstration directe que cela se passe ainsi, en effet, car nous avons isolé à partir du sang d'une malade de tumeur maligne, un virus cristal microaérophile.

5) Que la culture de ces virus cristaux est parfaitement possible «in vitro» avec nos moyens de culture que nous appelons «Fluides protoplasamiques artificiels», dans lesquelles, n'étant pas attaqués, ils atteignent des formes macroscopiques.

CONCLUSIONS

1) We have been able to show that the crystal viruses proceed from the crystallisation of the ribonucleoproteic genic material of several kinds of bacteria, after an intermediate parasitic phase of «interorganic spore».

2) We have been able to show that this phenomenon is reversible, demonstrating that the virus crystals are transformed into bacteria of the same kind as those from which they came under certain conditions.

3) The virus crystal is the entity which effects the transference of genic material to the human or animal cell, cancerisation being the result of this transference in accordance with all the forecasts we have previously published, except —as we now show— in such cases as when the latter is developed in the form of crystallised genic material coming from bacteria that we have already revealed.

4) We have achieved direct proof that this is in fact the case when, from the blood of a patient suffering from a malignant tumour, a microaerophilic crystal is isolated.

5) That the cultivation of these virus crystals is perfectly possible «under glass» by our means of cultivation, which we have called «artificial protoplasmic fluids», in which, unless attacked, the crystals can reach macroscopic size.

BIBLIOGRAFIA

- (1) CHACON MEJIAS.—El monitor de la Farmacia. T. 65. 21-25, 1959; Revista Cons. Gen. Coleg. Vet. Esp. núm. 138, 71-7, 1959.
- (2) CHACON MEJIAS. El Monitor de la Farmacia. T. 66. 397-404, 1960.

- (3) CHACON MEJIAS. El Monitor de la Farmacia. T. 66, 73-8. 1960.
- (4) ALLARD. H. A. «Some Properties of the Virus of Mosaic Disease of Tobacco». Jour. Agric. Res. 6, 849-74, 1916.
- (5) Mc KINNEY, H. H. «Quantitative and Purification Methods in virus studies». Jour. Agric. Res. 35, 13-38, 1927.
- (6) VINSON C. G. «Precipitation of the virus of Tobacco Mosaic». Science (N. S.). 44, 350-58, 1927.
- (7) VINSON, C. G. y PETRE A. W. «Mosaic Disease of Tobacco V. Decomposition of the safranin Precipitate». Phytopath, 22, 965-75, 1932.
- (8) BARTON-WRIGHT, E. y MCBAIN, A. «Possible Chemical Nature of Tobacco Mosaic virus». Nature. Londres. 132, 1003-3, 1938.
- (9) STANLEY W. M. «Isolation of a Crystalline Protein Possessing the Properties of Tobacco Mosaic Virus». Science (N. S.). 81, 644-5, 1935.
- (10) BEST, R. J. «Precipitation of the Tobacco Virus Complex at its iso-electric Point». Aust. Jour. Exp. Biol. and Med. Sci. 14, 1-3, 1938.
- (11) BAWDEN, F. C., PIRIE, N. W., BERNAL, J. D. y FANKUCHEN, J. «Liquid Crystalline Substances from Virus-infected Plants». Nature. Londres. 138, 1,061-2, 1936.
- (12) BAWDEN, F. C. y PIRIE, N. W. «A Plant Virus Preparation in a Fully Crystalline State», Nature, Londres. 141, 513-14, 1938.
- (13) TAKAHASHI, W. N. y RAWLINS, T. E. «Rod-shaped particles in Tobacco, Mosaic Demonstrated by Stream Double Refraction». Science. (N. S.), 77, 26-7, 1933.
- (14) BAWDEN, F. C. y PIRIE, N. W. «The relationship between Liquid Crystalline Preparation of cucumber Viruses 3 and 4 and strains of Tobacco Mosaic Virus» Brit. Jour. Exp. Path. 18. 275-91, 1937.
- (15) IWANOWSKY, D. «Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze», St. Petersburg. Acad. Imp. Sci. Bull., 35, 67-70, 1892.
- (16) BEIJERINCK, M. W., Ueber ein contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter». Verhandl. K. Akad. Wetensch. Amsterdam.—Sec. 2. Deel. 6, 1-22, 1898.
- (17) CHACON MEJIAS, F.. Multiplicación, mutación y formación espontánea de las unidades vitales». El Monitor de la Farmacia.—Madrid. 66, 397-404. 1960.
- (18) CHACON MEJIAS, F., «Sobre la procedencia, formación y naturaleza de los virus filtrables». Medicamenta. Edic. Farmacia. 4, 187-9. 1952.
- (19) CHACON MEJIAS, F., «Los hongos-virus del cáncer». El Monitor de la Farmacia. 65, 311-15. 1959.
- (20) CHACON MEJIAS, F., «La mecánica de la cancerización». El Monitor de la Farmacia. 67, 1-9. 1961.
- (21) CHACON MEJIAS, F., «En las fuentes de la vida». El Monitor de la Farmacia. 66, 129-132. 1960.
- (22) CHACON MEJIAS, F., «El mecanismo de la inmunidad antienzimática artificial en el cáncer». El Monitor de la Farmacia. 67, 93-97. 1961.
- (23) CHACON MEJIAS, F., «Los nuevos rumbos en cancerología». El Monitor de la Farmacia. 67, 57-61. 1961.