

Las principales reacciones serológicas en cancerología

por el doctor

Basilio A. Cuevas

del Laboratorio de Cancerología de la Facultad de Medicina de Barcelona

Actualmente, el problema del serodiagnóstico o diagnóstico biológico del cáncer va unido íntimamente al etiológico; y fácilmente se comprende, que si la etiología es tan diversa, ha tenido que dar lugar a una gran variedad de reacciones; que están tanto más lejos de la especificidad, en cuanto su número crece en proporciones desalentadoras, sin ajustarse muchas de ellas a verdaderas razones científicas. No obstante, por lo que representan de esfuerzo e inquietud y para dar una idea de la atención y contribución prestada a este magno problema, por un gran plantel de investigadores y sin perder de vista el espíritu vulgarizador de este cursillo, me limitaré a copiar la técnica de las reacciones ensayadas en el laboratorio de Cancerología Experimental y a dar una sucinta idea de las no ensayadas, con un pequeño

comentario sobre el valor que a mi juicio se ha de dar a cada una de estas reacciones.

Debo decir por adelantado, que, desgraciadamente, este problema no está resuelto. Y diré más. Creo que aún no tenemos la orientación, ni estamos en el camino que nos ha de guiar al éxito final.

Vaya por delante una de las tantas clasificaciones, para que, más que nada, nos dé idea del esfuerzo tan grande como inútil, desde el punto de vista práctico, pero de innegable valor científico. Pues si cada una de estas reacciones, por sí, no nos aclara nada nuestro problema, entre todas nos dan a conocer las profundas modificaciones tanto cualitativas como cuantitativas y biológicas que sufre el suero sanguíneo de los cancerosos y el de los que padecen otras afecciones.

No haré aquí mención de las reacciones

1.º - Alteraciones físicas y físico-químicas de la sangre

- | | | | |
|---|---|---|--|
| } | a) Modificaciones de la tensión superficial del suero | } | Reacción de la miostagmina de Ascol e Izar |
| | b) Modificación de la velocidad de sedimentación de los hemafíes | | Reacción de Fahraeus |
| | c) Modificaciones del poder óxido reductor del suero sanguíneo | | Reacción de Roffo
Reacción de Thomas |
| | d) Modificaciones del equilibrio físico-químico de los coloides proteicos | | Reacción de la protaxa de Fischer
Reacción de Kotiman |

2.º - Alteraciones químicas y bioquímicas de la sangre	Modificación en la cantidad o proporción de albúminas o globulinas en el suero Formación de fermentos y antifermentos	Reacción de Botefho Reacción de Wigand Reacción de Kahn Reacción de Vercelotti y Pavesi Reacción de Kotzareff y Chodat Reacción de Lange y Heuer Reacción antitriptica de Marcus Reacción antipéptica de Rubenstein y Girault Reacción de los fermentos de la defena de Abderhalden
3.º - Modificaciones fisiológicas del suero	a) Presencia de cuerpos líxicos Reacción de fijación de complemento en sus múltiples modalidades	Isolisinas Heterolisinas y reacción citolítica de Freund Kaminer
4.º - Alteraciones químicas cuantitativas del	Glutathión Sodio Potasio Cloro Colesterina etc.	

de Botelho Wigand y Lange y Hener, porque son objeto de estudio en un artículo de esta misma revista en colaboración con mi querido maestro el Dr. V. CARULLA.

Reacción de Ascoli e Izar, llamada también de la gota pequeña. Está basada en la propiedad que tienen los lipoides de rebajar la tensión superficial de los líquidos. El suero normal parece compensar este descenso y el canceroso carece de tal poder.

La reacción primitiva, estaba hecha a base de una solución madre de ácido linólico y ricinólico; pero ante las dificultades de su conservación, GREVE modificó la reacción reemplazando estos ácidos por el ácido caprónico normal.

Técnica: Se necesita; 1.º solución madre de ácido caprónico normal, que se prepara diluyendo 0'1 c. c. de ácido en 220 c. c. de suero fisiológico al 0'85 por

ciento. 2.º Suero a examinar que ha de estar exento de hemoglobina.

Es conveniente también hacer la reacción al mismo tiempo con sueros seguramente cancerosos y no cancerosos.

En un tubo de ensayo se ponen 9 c. c. de la solución madre de ácido caprónico y se agrega 1 c. c. de suero a investigar. Se mezclan bien, agitando suavemente para no hacer espuma. Se llevan al baño maría a 50º durante una hora. Se deja enfriar a la temperatura del laboratorio y se procede luego a contar las gotas con el estalagmómetro de Traube.

Los sueros cancerosos con el ácido graso han de dar, por lo menos, cuatro gotas más que los mismos sueros sin ácido graso.

Los autores empezaron dando un porcentaje de 93 % de resultados positivos en tumores malignos. Pero últimamente, ASCOLI reconoce que su reacción no tiene un valor absoluto. Aunque está muy lejos

de la especificidad, no se le puede negar un valor relativo como medio auxiliar del diagnóstico.

Reacción de Faraheus o eritrosedimentación: Empleada como auxiliar del diagnóstico, en tantos y tan diversos procesos, que, especialmente, en el cáncer se ha de considerar como nulo su valor.

Reacción de Roffo o del Rojo neutro: El autor basa su reacción en el cambio de color que sufren los sueros en presencia de una solución de rojo neutro, debido a un proceso de óxido-reducción. Los sueros normales no cambian o cambian muy poco de color. Los sueros cancerosos adquieren un color rosa o rojo, según la intensidad de la reacción.

La técnica primitiva es sumamente sencilla. A 2 c. c. de suero desprovisto de hemoglobina, se le agregan cinco gotas de una solución de rojo neutro al 0'5 por mil. El grado de positividad está en relación directa con la intensidad de la coloración. Como no había tipo de comparación y la intensidad de coloración era tan diversa, dificultando la lectura, el autor llegó a compararlos con unas soluciones de P H distintas y conocidas.

Posteriormente, aún se ha complicado más, empleando la determinación fotométrica para graduar la intensidad del color.

Esta reacción, quizá por su sencillez, ha dado lugar a que se empleara en muchos laboratorios. Abundando los comentarios favorables y desfavorables, sobre su valor diagnóstico.

En mis manos ha dado resultados que inclinan francamente el ánimo al pesimismo, pues, si bien es verdad, que en sueros cancerosos da un porcentaje alto de posi-

tividad, también lo dan otros distintos procesos e incluso sueros normales.

Reacción de Thomas: Basada igualmente que la de Roffo en un proceso óxido-reductor. Consiste en la decoloración del azul de metileno, por una mezcla de suero de enfermos y extracto de tejido canceroso. No tiene ningún valor diagnóstico.

Reacción de Kotmann método fotoserológico: Agrega al suero una solución de plata y la expone a la luz. Luego se le agrega hidroquinoma y aparece, en escala variable, una coloración oscura. En los sueros cancerosos aparece más rápidamente que en los no cancerosos. Hay tantas diferencias en los distintos sueros, que no tiene ninguna utilidad práctica.

Reacción de Kahn: Este autor ha encontrado en la sangre tres tipos de albúmina, que las designa con los números romanos I, II y III. A esta última también la llama albúmina A. Estas albúminas son reconocibles por el sulfato amónico a distintas concentraciones. La albúmina I es precipitada por una concentración de 29 a 33. La II por una concentración de 33 a 36 y la albúmina A o III por una concentración de 37 a 41. Esta última albúmina representa el 4 % de la totalidad de albúmina, y Kahn ha demostrado que está disminuída en algunos estados patológicos que hay que tener en cuenta para su interpretación. Embarazo, alimentación hipoalbuminosa, insuficiencia hepática y sobre todo en los tumores.

Como reactivo se emplea únicamente el sulfato amónico purísimo al 37'15 por ciento.

Se cogen 0'07 c. c. de suero y se ponen sobre un papel chupón de los empleados para el método de Bang, y se dejan secar

en un desecador, hasta que adquiriera un ligero color amarillo y desaparecieran los puntos relucientes indicadores de humedad.

En un tubo de los empleados en el método de Bang, se ponen 6'5 c. c. de sulfato amónico al 37-15 % y lo llevamos al baño maría hasta que el líquido adquiriera una temperatura de 26°. A continuación, ponemos dentro del tubo la hoja de papel chupón con el suero ya seco, y los dejaremos 10 minutos a 26°. Se sacan las hojitas de papel, y el líquido debe quedar completamente claro. En él irá disuelta toda la albúmina A de la sangre. A continuación llevamos los tubos al baño maría hirviente durante 2 minutos, haciendo después la lectura de los resultados. Muy turbio, negativo; turbio, débilmente positivo; ligeramente turbio, positivo; opalescente o claro, fuertemente positivo. Pueden hacerse mejor las lecturas con el opalómetro de Kahn. También puede hacerse empleando sueros de seguros cancerosos y no cancerosos.

Las enfermedades del hígado son las que más influencia ejercen sobre la positividad de esta reacción. También influyen la sífilis y la tuberculosis. No obstante, puede considerarse como un gran auxiliar del diagnóstico.

Reacción de Pignoti y Verellotti: Preparan un reactivo (nitrocloro-aldehídrico) que, agregado en ciertas condiciones a la sangre, da lugar a una coloración blanca los positivos y roja granate los negativos.

Reacción de Kotzareff y Chodat: Basan su reacción en el aumento de los ácidos amínicos de los sueros cancerosos. Se trata el suero fresco con paracresol y tirosinasa, dando los sueros cancerosos un co-

lor rosa, luego rojo ladrillo y obscuro entre las 3 y las 16 horas. Los sueros normales dan menos coloración y más tardíamente (10 horas más retrasada).

Reacción antitripsina de Marcus: El suero sanguíneo se opone con mayor o menor intensidad a la acción de la tripsina. Este poder está aumentado en los cancerosos, pero también lo está en la pulmonía, tuberculosis, anemia, hipertiroidismo, sífilis, embarazo y en muchas enfermedades crónicas, quitándole, por lo tanto, todo valor diagnóstico.

Reacción antipeptica de Rubinstein y Giralt: También encuentran elevado el índice antipeptico en los sueros cancerosos y en otras enfermedades. Nos merece idéntico juicio que la anterior.

Reacción de Abderhalden o fermentos de defensa: Al inyectar una materia hidrocarbonada a un sujeto cualquiera, el suero del mismo adquiere la propiedad de hacer fermentar la sustancia inyectada destruyéndola o convirtiéndola en molécula de menor peso molecular. Este resultado lo obtuvo también con sustancias proteicas y lo aplicó al diagnóstico del cáncer, investigando si los afectados por esta enfermedad tenían la propiedad de hacer fermentar las materias proteicas propias de los tumores malignos. A estos fermentos les llama fermentos de defensa.

Esta reacción tiene indudablemente un positivo valor; pero dadas las dificultades y lo delicado de su técnica, carece de utilidad práctica para aplicarla a la clínica.

Isolisinas y Heterolisinas: Existentes en los sueros cancerosos en cantidades elevadas, así como en otras afecciones. En relación con este grupo, hay varios procedi-

mientos de cutirreacción. Sin valor práctico alguno.

Reacción citolítica de Freund y Kammerer: Se basa esta reacción en el poder lítico que sobre la célula cancerosa posee el suero normal, al mismo tiempo que este poder lo tiene disminuído el suero canceroso.

Esta reacción tiene tres modalidades: 1.^a, reacción citolítica; 2.^a, reacción de protección, y 3.^a, reacción de enturbiamiento.

Para la primera modalidad se pone en contacto de una suspensión de células cancerosas (contadas de antemano), suero normal y suero a investigar. Como en el suero canceroso está disminuído el poder lítico, destruirá menos células que el normal; y para ser considerado como positivo, es necesario que su poder de lisis sea menos del 20 %.

Para la segunda modalidad o de protección, se diluye suero normal con el suero a investigar y se ve si disminuye su poder lítico. Si lo disminuye, se considerará como positivo; pues el suero normal, aunque se diluya en suero fisiológico no altera su poder lítico.

La tercera modalidad o de enturbiamiento: Se mezclan unas gotas de suero a investigar con extracto tumoral. Si hay enturbiamiento será positivo y si queda claro negativo.

Por sus resultados esta reacción es digna de tenerse en cuenta; pero es tan delicada su técnica, que hay que tener un gran hábito de laboratorio para poderla ejecutar bien y para concederle una confianza, que en buenas manos es indiscutiblemente digna de ella.

Reacción de fijación del complemento:

Se empezó a emplear como antígeno extracto de tejido canceroso, o sea, antígeno

específico; pero la gran facilidad con que se estropean estos antígenos, ha hecho pensar a DUNGERN en emplear un extracto acético de sangre de paralíticos.

Si al principio hizo concebir tantas esperanzas esta reacción, hoy, completamente abandonada, se le niega todo valor práctico o específico.

Glutathion: En 1921, F. G. Hopkins descubre en la levadura y después en los tejidos de los mamíferos, un cuerpo al que da el nombre de *Glutathion*, formado por la unión del ácido glutámico y de la cisteína.

El glutathion en su forma oxidada es un cuerpo sólido, pulverulento, de color blanco de nieve y no es higroscópico. Puede reconocerse por la reacción del nitroprusiato sódico (a uno o dos c. c.) de extracto a comprobar, se agrega un exceso de sulfato amónico finamente pulverizado y una o dos gotas de nitroprusiato sódico al 5 % y alcalanizado con amoníaco, se obtiene calor púrpura fuerte, si la reacción es positiva.

UYEI, THOMPSON, VOEGTLIN y otros estudian el glutathion en la sangre del hombre y de varios animales, encontrándolo siempre en los glóbulos rojos y ausente en el suero.

Feissinger valora el glutathion en la sangre humana de 25 a 40 miligramos por cien.

Se emplean diferentes métodos para la investigación del glutathion. Los más importantes son los de Tunichiffe, modificado por varios autores; el de Abderhalden y Vertheimer, el de Hunter y Eagles, el de Joyet-Lavergne, el de Flatow y el de Gabbe.

Yo he empleado el de Gabbe, por parecerme más cómodo y quizá más exacto. Consiste en reducir el glutathion por una

solución ácida de ferricianuro potásico y titular el exceso de ferricianuro por el tiosulfato sódico.

Reactivos necesarios

1. Wolframato sódico al 10 %.
2. Solución dos tercios normal de ácido sulfúrico.
3. Acido clorhídrico al 25 %.
4. Ferricianuro potásico en solución 0'005 normal adicionada de carbonato.

Se prepara poniendo 1'65 gr. de ferricianuro potásico y 10'60 gr. de carbonato sódico calcinado en 1.000 c. c. de agua.

5. Solución recientemente preparada de 40 partes de solución a) y 10 partes de solución b). La solución a) está formada por 10 gr. de sulfato de cinc y 50 gr. de cloruro sódico en 160 de agua; y la solución b) yoduro potásico al 12'5 %.

6. Solución de almidón al 1 %.

7. Solución de hiposulfito sódico al 0'005 normal.

Técnica

10 c. c. de sangre se vierten en un matraz de 200 c. c. A esta sangre se agregan 70 c. c. de agua destilada. Se agita, y la solución toma color laca; luego se agregan 10 c. c. de la solución núm. 2, agitando ligeramente al mismo tiempo de agregarlos. Al terminar, se tapa el matraz y se agita fuertemente dos o tres veces. Si es buena la coagulación de la albúmina, la sangre no hace espuma, cambia el color de la solución y se percibe un sonido metálico al agitar. Por último se filtra y el filtrado debe quedar completamente transparente.

Se toman 25 c. c. de este filtrado y se le añaden 2 c. c. de la solución núm. 3 y 2 c. c. de la solución núm. 4. Se dejan reposar unos minutos y se añaden 2 c. c.

de la solución núm. 5 y II gotas de la solución núm. 6. El yodo liberado por el ferricianuro, se titula con el reactivo núm. 7. Simultáneamente, se hace una determinación en blanco con iguales volúmenes y reactivos.

Para calcular la cantidad de glutathion, se resta de la cantidad de hiposulfito gastada en la determinación en blanco, la correspondiente a la sangre, y la diferencia, multiplicada por 50, nos da la cantidad de glutathion expresada en miligramos que hay en cien c. c. de sangre.

El cálculo se hace, sabiendo que 1 c. c. de ferricianuro equivale a 1'25 miligramos de glutathion.

A esta reacción, de técnica relativamente sencilla, no se le ha de conceder una gran confianza; pues, si bien es verdad que el glutathion está disminuído en los cancerosos, también lo está en los caquéticos, en los ancianos y en los anémicos, y sólo la consideraremos como un dato más que nos oriente en el diagnóstico.

Finalmente, y para no hacer demasiado pesado este recorrido, casi turístico, por el campo del serodiagnóstico del cáncer, aludiré de pasada a la dosificación en la sangre de los cancerosos, o presuntos cancerosos, del sodio, potasio, cloro, calcio, etc., y sobre todo, la colesterina; sustancia ésta que se encuentra muy aumentada, especialmente en el tejido neoplásico, y cuya investigación nos puede proporcionar datos muy dignos de tenerse en cuenta.

Ultimamente se ha hablado de la importancia de la investigación de las catalasas en la sangre de los cancerosos. En este número nos habla con su reconocida competencia el Dr. MASRIERA sobre este interesante tema.

Y termino con una amarga conclusión.

No tenemos todavía una reacción específica del cáncer.