

TRABAJOS ORIGINALES

ACCION TERATOGENA DE LA FRACCION GAMA GLOBULINA DEL SUERO SANGUINEO DE CANCEROSOS SOBRE EL EMBRION DE POLLO

por E. SACERDOTE DE LUSTIG Y B. FISZER

El afán de los investigadores por descubrir una prueba diagnóstica simple y efectiva para el cáncer —tal como se ha logrado en otras enfermedades— ha promovido el examen detallado de las modificaciones del organismo que padece el tumor. Los "tests" usados para la certificación precoz de la existencia de neoplasias, están basados por un parte en el estudio funcional de los órganos de la economía o en el cambio de los componentes texturales y, por otra, en las modificaciones hormonales y enzimáticas de la orina y especialmente de la sangre.

Las proteínas plasmáticas integran el grupo más amplio de las proteínas lábiles del organismo y sus cambios de concentración o de composición reflejan, probablemente, alteraciones debidas a la demanda de los tejidos que sufren "stress" patológicos, dado que el transporte de las proteínas se hace por el torrente sanguíneo. Estas proteínas plasmáticas, como es sabido, han sido unificadas en su terminología por Tiselius (1937), quien las clasificó en cuatro fracciones principales de movilidad anódica creciente en un pH. mayor de 7,5 y a las que denominó globulinas (alfa, beta, gama) y albúmina.

La composición de las proteínas de un suero sanguíneo normal varía muy poco para una misma especie; pero, en el curso de una enfermedad o por efecto de un "shock" o de una depresión, puede alterarse considerablemente. A su vez, diversos son los autores (Seibert *et al.*, 1947; Petermann *et al.*, 1948; Winzler *et al.*, 1948; Mider *et al.*, 1950, etc.) que, en el período de la cancerogénesis han observado una disminución de las proteínas plasmáticas, en especial a expensas de la albúmina y con notable aumento de los niveles del fibrinógeno, de las globulinas alfa sub uno y alfa sub dos y, en algunos tipos de tumores, sobre todo de la gama globulina.

Tales hechos, junto a las observaciones de una de nosotras (Lustig *et al.*, 1947-1950) acerca de la mayor actividad mitótica de los fibroblastos normales cuando se cultivan en presencia de la fracción gama globulina de sueros sanguíneos de cancerosos, nos han llevado a estudiar la posible actividad de esta misma fracción sobre el desarrollo de los embriones de pollo en proceso de crecimiento.

Material y métodos.

Se emplearon tres mil quinientos huevos de raza Leghorn. La edad de los embriones variaba entre 9 y 11 días.

Los sueros sanguíneos utilizados procedían de individuos portadores de tumores malignos, histológicamente diagnosticados y no sometidos a tratamiento alguno. Así se estudiaron los sueros sanguíneos correspondientes a las neoplasias enumeradas a continuación: once de pulmón, diez de mama, seis de lengua y laringe, cinco de cuello uterino y cinco de aparato digestivo. Además se probaron dos sueros de pacientes del mal de Hogdkin.

Los sueros sanguíneos normales pertenecían a dadores clínicamente sanos y con distintos grupos sanguíneos.

La sangre se extrajo en condiciones asépticas.

El método usado para el fraccionamiento de las proteínas fué el N^o 10 de Cohn *et al.* (1950).

Se utilizó la vía intravenosa (vena corioalantoidea) para la inoculación de los embriones de pollo.

La cantidad óptima de suero para su inoculación fué 0,01 ml diluída hasta 0,01 ml con solución de cloruro de sodio 0,85 gs por ciento, para conseguir una mayor comodidad de inyección. El volumen de la fracción gama globulina inyectada fué 0,1 ml de la solución obtenida a partir del fraccionamiento y posteriormente dializada y esterilizada.

Para servir de contralor a los sueros cancerosos o de mal de Hogdkin, se hicieron testigos con huevos sin abrir, con otros abiertos y vueltos a cerrar; con huevos inyectados con solución fisiológica, con suero normal —total o fraccionado— y con sueros de tumores malignos, irradiados u operados, así como también con sueros de personas con tumores benignos y de pacientes con afecciones hepáticas (ver Tabla I).

Para cada caso estudiado se emplearon 60 embriones de pollo de raza Leghorn —incubadora de 37°C y 75 por ciento de humedad— repartidos: 20 para suero total, 20 para la fracción gama globulina y 20 para las fracciones restantes.

Ya inoculados —con suero o sus fracciones— los embriones se observaron a los 2, 3, 4 y 6 días siguientes.

Resultados.

Las monstruosidades espontáneas observadas en el embrión de pollo o las que éste presenta después de ser inyectado con suero humano normal, no pasan del 1,2 por ciento. En cambio, los embriones inoculados con sueros cancerosos muestran monstruosidades en un 60 por ciento de los huevos inoculados y con los sueros de mal de Hogdkin se obtiene un 90 por ciento.

TABLA I

INCIDENCIA DE MONSTRUOSIDADES SEGUN EL LIQUIDO INYECTADO

CARACTERISTICAS	Huevos Inyectados	Sobrevivientes	Porcentaje de monstruos sobre sobrevivientes
	Cantidad	%	%
Huevos íntactos	173	96	1
Huevos abiertos, vueltos a cerrar	94	92	1
Huevos inyectados con solución fisiológica	110	83	1
Huevos inyectados con suero normal	690	74	1
Huevos inyectados con γ -globulina normal	120	70	1,3
Huevos inyectados con fracción IV, V, VI, método 10 Cohn normal	120	85	1
Huevos inyectados con suero canceroso	756	61	52
Huevos inyectados con fracción de γ -globulina cancerosa	607	65	65
Huevos inyectados con fracción IV, V, VI, método 10 Cohn canceroso	99	72	1,4
Huevos inyectados con suero de enfermos con linfogranuloma maligno	20	50	90
Huevos inyectados con suero de enfermo canceroso irradiado	60	77	1
Huevos inyectados con suero de enfermo canceroso con radium	19	—	—
Huevos inyectados con suero de enfermo con tumor benigno	40	80	1
Huevos inyectados con suero de enfermo hepático ...	40	90	1

El suero de cancerosos puede determinar modificaciones de carácter general, tales como edema, anemia, ausencia de plumas. Empero, lo común es que produzca malformaciones del sistema óseo, a saber:

- 1) En el *cráneo* hemos notado frecuentemente la falta de los parietales que, por consecuencia, da lugar a la excerebración espontánea parcial o total, acompañada de microcefalia y también anencefalia, hasta un punto tal de sólo quedar un residuo de bulbo saliendo de la pequeña cavidad craneana. Otras veces falta el maxilar, cuya ausencia se acompaña de la falta de parietales —en algunos casos— y siempre de la inexistencia del hemipico superior con malformación del paladar. Más rara es la ausencia de la mandíbula.
- 2) Malformaciones de los *huesos largos*, consistentes en el acortamiento de los huesos largos —por micromelia o acondroplasia— claro es en relación a la longitud del cuerpo, acortamiento a menudo coexistente con una curvatura tibiotarsal debida a una osificación incompleta.
- 3) *Hemimelia*, esto es, reducción de la longitud de los miembros con total ausencia del segmento periférico. Así, el fémur termina en un muñón afilado o hay encorvamiento completo de las extremidades de los dedos. Articulación tibiofemoral engrosada.
- 4) *Ectrodactilia* —ausencia de algún dedo— muy rara como malformación espontánea, a diferencia de la sindactilia —fusión de dos dedos— que sí suele aparecer espontáneamente.

At semidif

A en tod dado u

El de teji más te mayor

Po días si horas ; durante

Tr

Conside

En rosos er muy in hígado suero (aquel de hidr días tra de ede inclinar inhibid zados d

Con dades f mínima que inc que no

- 5) *Malformaciones del pico*: a) *Braquignatia*, acortamiento de la mitad superior del pico, cuya extremidad libre es sobrepasada por la otra mitad que posee longitud normal; b) *Pico cruzado*, vale decir, entrecruzamiento de ambas mitades del pico por otra parte normalmente desarrollados; c) *Pico de loro o de rapaña*, que se distingue porque en él su pico superior, en lugar de ser rectilíneo, describe una curva de concavidad superior que rodea la extremidad libre del hemipico inferior y termina debajo de esta última; d) *Falta total del hemipico superior*. Ausencia de los elementos laterales del maxilar asociada generalmente a una mandíbula y paladar hundidos.
- 6) *Malformaciones de los ojos*. Las alteraciones del pico se acompañan casi siempre de modificaciones de los ojos, que tanto pueden interesar al globo ocular como a sus anexos. El pico cruzado se acompaña a menudo de microftalmia, reabsorción de los ojos, anoftalmia unilateral, bilateral, ciclopismo con falta de comisura oral, cristalino sobresaliente, exoftalmia, hidroftalmia, deformación de los párpados incompletamente desarrollados.

Ahora bien, cabe destacar que los sueros de portadores de carcinomas semidiferenciados han demostrado ser los más teratógenos.

A pesar de no tener aún los resultados de la acción de los fraccionamientos en todos los casos estudiados, puede concluirse que la gama globulina ha dado un por ciento de monstruosidades siempre superior al suero total.

El estudio comparativo de la acción de un mismo suero sobre el cultivo de tejido y sobre el embrión de pollo, ha permitido observar que los sueros más teratógenos para el embrión son, a la vez, aquellos que han producido mayor número de mitosis atípicas en un cultivo de fibroblastos normales.

Por último la actividad del factor teratógeno no disminuye durante 15 días si es conservado a 40°C. Persiste a 20°C. bajo cero y se destruye en pocas horas a 30°C. perdiendo en absoluto toda su actividad si se lo mantiene durante una hora a 60°C.

Trátase de una sustancia no dializable.

Consideraciones generales.

En síntesis, el hecho de que nosotros hacemos actuar los sueros cancerosos entre los 9 y 12 días de edad del embrión de pollo, esto es, en un momento muy importante del metabolismo de los hidratos de carbono (cuando en el hígado comienza el almacenamiento del glucógeno), nos hace pensar que el suero de cancerosos conduce a la teratogénesis por un camino distinto de aquel corriente para los agentes físicos y químicos. La mayor concentración de hidratos de carbono, observada por Gelarie (1940) en los huevos de doce días tratados con sueros de cancerosos, así como la formación tan frecuente de edema con producción de fibroblastos muy ricos en polisacáridos, nos inclinan a pensar más en una perturbación del sistema mesenquimal el que, inhibido a estimulado según los casos, desplazaría órganos o tejidos organizados dando lugar a monstruosidades.

Con respecto al mecanismo íntimo de acción —sobre la base de propiedades físicoquímicas, termolabilidad, persistencia de su actividad aun en dosis mínimas— opinamos que posiblemente se trata de la actuación de una enzima que incidiría sobre el metabolismo de los hidratos de carbono o de un virus, que no siempre se presenta en todos los sueros con la misma concentración.

En cuanto a la fracción proteica del suero que principalmente interviene en la producción de monstruosidades, confirmamos la suposición enunciada anteriormente (1954), en el sentido que la gama globulina es la principal fracción sérica responsable de las anomalías morfológicas (Tabla II).

TABLA II
PORCENTAJE DE MONSTRUOSIDADES ENCONTRADAS EN EMBRIONES DE POLLO EN CADA CASO INOCULADAS CON SUERO Y FRACCIONES DE GAMMA GLOBULINA

Caso	Pulmón		Mama		Lengua-Laringe		Gastrointestinal		Útero	
	Suero %	γ-Globulina %	Suero %	γ-Globulina %	Suero %	γ-Globulina %	Suero %	γ-Globulina %	Suero %	γ-Globulina %
1	100	—	—	70	50	—	11	1	100	—
2	80	—	85	—	60	—	100	—	100	15
3	100	100	33	—	75	—	33	100	100	100
4	40	—	20	—	10	100	—	100	100	100
5	100	—	50	—	100	—	—	—	—	—
6	23	100	—	30	100	—	—	—	—	—
7	5	100	9	100	—	—	—	—	—	—
8	100	100	100	—	—	—	—	—	—	—
9	—	23	—	16	—	—	—	—	—	—
10	—	9	—	70	—	—	—	—	—	—
11	—	5	—	70	—	—	—	—	—	—
12	100	—	—	100	—	—	—	—	—	—
13	100	100	—	—	—	—	—	—	—	—
14	—	100	—	—	—	—	—	—	—	—
15	100	100	—	—	—	—	—	—	—	—
16	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—
17	9	100	—	—	—	—	—	—	—	—
18	48	100	—	—	—	—	—	—	—	—

Será necesario proseguir con el estudio sistemático de las modificaciones del huésped (embrión de pollo) tratado con suero canceroso y, por otra parte, con la determinación del contenido enzimático de los sueros, a fin de poder establecer si hay una relación entre respuesta del embrión, concentración de gama globulina y concentración de polisacáridos proteicos.

Ahora estamos tratando de estudiar si un suero inmunizante anticanceroso puede actuar como antagonista de la acción teratógena del suero canceroso del hombre.

BIBLIOGRAFIA

- Ansel P.*, Paris Doint Edit., 1950. — *Ardy Robert*, Biol. Med., 44:662, 1955. — *Ardy R.*, *Storch J.*, Bull. Soc. Chim. Biol., 36:1077, 1954.
Bloch R. J., J. Biol. Chem., 104:343, 1934. — *Bloch, R. J.*, J. Biol. Chem., 105:663, 1934. — *Bloch R. J.*, *Danow D. C.*, *Cary M. K.*, J. Biol. Chem., 104:347, 1934.
Cann J. R., *Brown R. A.*, *Kirkwood J. G.*, J. Am. Chem. Soc., 71:1609, 1949.
Cann J. R., *Brown R. A.*, *Kirkwood J. G.*, J. Biol. Chem., 181:161, 1949.

Cann J.
Inves
Charlwo
Dass C.
y Ge
 1950.
Ferguson
 1954.
J. F.
Gelari A
Hamburg
Biocl
Jencks H
Karnofsky
Ridg
Arch
Lamirano
Zool.
Land
Sc.
 1953.
Loise
G., E
Rev.
Ant.
Ital.
Rev.
Soc.
Biol.
E. Sa
Fabio
Midor G.
Pauli W.
Petermen
Biol.
 158:2
Reid A.
Am.
 1949.
 1955.
Seibert F.
Sheth
Seren.
Journ
Taylor A
 31:14
Westwood
R. J.
Journ
Zwilling

terviene
unciada
rincipal
la II).

POLLO

Itero
γ -Glo- bulina %
—
15
100
100

- Cann J. R., Kirkwood, etc., J. Am. Chem. Soc., 71:1603, 1949. — Cohn E. J., colab., J. Clin. Invest., 23:417, 1944.
- Charlwood P. A., Biochem. Journal, 51:113, 1952.
- Dass C. P., Karnofsky D., J. Exp. Zool., 130:555, 1955. — Deutsch H. F., Aliberty R. A., y Costing L. J., J. Biol. Chem., 165:21, 1946. — Duraiswami M. S., Br. Med. J., 2:584, 1950. — Durrum E. L., J. Am. Chem. Soc., 71:1943, 1950.
- Ferguson T. M., Atkinson R. L., Couch J. R., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 86:868, 1954. — Fischer M. A., Steinman P. A., J. Lab. and Clin. Med., 35:141, 1950. — Fuders J. F., Clin. Invest., 23:510, 1944.
- Gelari A. J., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 45:351, 1940.
- Hamburger V., Habel K., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 66:608, 1947. — Harkness J., Bioch. and Bioph. Acta, 3:34, 1949. — Hewitt L. F., Bioch. Journal, 32:126, 1938.
- Jencks W. P., Jetton M. R., Durrum E. L., Bioch. Journal, 60:205, 1955.
- Karnofsky D., Parisette L. N., Patterson A., Acta un. Intern., 1949. — Karnofsky D. A., Ridgway L. P., Patterson P. A., Endocrinology, 48:596, 1951. — Koenig U. L., Pedersen O., Arch. Bioch., 25:97, 1950.
- Lamirande G., Cantero A., Cáncer Research, 12:330, 1952. — Landauer W., Journal, Exp. Zool. 122:469, 1953. — Landauer W., Journal Coll. Comp. Physiol., 43:261, 1954. — Landauer W., P.S.E.B.M., 82:633, 953. — Leve Montalcini R., Ann. N. York Acad. Sc., 55:330, 1952. — Leve Montalcini R., Hamburger V., Journal Exp. Zool., 123:23, 1953. — Lobo-Oneil C., Leyton G. K., Waldmann H., Sem. Hop. Paris, 29:84, 1952. — Loiseau G., Thillard M. J., Bull. Soc. Chim. Biol., 26:481, 1944. — Lustig E., Leiner G., Ernst T., Zisch. Ges. Exp. Med., 100:492, 1937. — Lustig E. Sacerdote de, Mancini E., Arch. Soc. Arg. Ant. Normal y Patol., 9:380, 947. — Lustig E. Sacerdote de, Mancini E., Monit. Zool. Ital., 57, 1948, Supl. — Lustig E. Sacerdote de, Gernica de Roux A., Correa Urquiza L., Rev. Soc. Arg. Biol., 25:4, 1949. — Lustig E. Sacerdote de, Gernica de Roux A., Rev. Soc. Arg. Biol., 25:10, 1949. — Lustig E. Sacerdote de, Mancini R. E., Rev. Soc. Arg. Biol., 26:1, 1950. — Lustig E. Sacerdote de, La Prensa Med. Arg., 39:724, 1952. — Lustig E. Sacerdote de, Rev. Soc. Arg. Biol., 30:256, 1954. — Lustig E. Sacerdote de, Sacerdote Fabio, Publ. del Clí. T., 18:241, 1954-55.
- Midor G. B., Alliru E. L., Mortor G. J., Cáncer, 3:56, 1950.
- Pauli W., Helv. Chim. Acta, 25:137, 1942.
- Petermen M. L., Hogness K. R., Cáncer, 1:100, 1948. — Peters T., Anfinson C., Journal Biol. Chem., 182:171, 1950. — Pillemer L., Hitchinson M. C., Journal Biol. Chem., 158:229, 1945.
- Reid A., Jores F., Ind. Engin. Chem., 43:1074, 1951. — Ridway L. P., Karnofsky D., Patterson, Am. N. York Acad. Sc., 55:203, 1952. — Roberts S., White A., Journal Biol. Chem., 180:505, 1949. — Robertson G. G., Williamson P. A., Blattner R. J., Journal Exp. Zool., 129:5, 1955.
- Seibert F. B., Seibert M. F., Atmo A. J., Journal Clin. Investig. 26:90, 1947. — Shettlar M. R., Shettlar C. L., Richmond V., Cáncer Research, 10:681, 1950. — Serensen S. P. L., Serensen M., Comp. Rend. Lab. Cariskery, 9:11, 1933. — Sugernon D. M., Noerther J. F., Journal Amer. Chem. Soc., 74:3449, 1952.
- Taylor A., Carmichael N., Cáncer Research, 1:498, 1949. — Tiselius Arne, Bioch. Journal, 31:1464, 1937.
- Westwood, J. C. N., Brit. Journal Exp. Pathol., 33:610, 1954. — Williamson A. P., Blattner R. J., Robertson G. G., Journal Immunol., 71:207, 1953. — Winzler R. J., Smith J. M., Journal Clin. Invest., 27:617, 1948.
- Zwilling E., J. de Bell, Journal Exp. Zool., 115:59, 1950.

Irady R.,

1934. —