

Técnicas inmunológicas para la detección del cáncer

LEOPOLDO HERRERA-TINAJERO *

CLAVES: Diagnóstico inmunológico del cáncer, lipoproteínas placentarias, extractos urinarios, anticuerpos retrogenéticos.

Mediante un extracto acetónico (lipoproteínas) obtenido de placenta humana, es posible reconocer anticuerpos retrogenéticos, debido a que la celdilla neoplásica revierte a su condición fetal y estando directamente expuesta a los mecanismos inmunológicos del organismo, estimula la producción de anticuerpos para todos los elementos que la constituyen. Para reconocer el tipo de cáncer, se utilizaron extractos urinarios obtenidos de pacientes que presentaron los diversos tipos de neoplasias. El diagnóstico correcto se logró en 94 por ciento de los casos.

Mediante un extracto acetónico de placenta humana ha sido posible reconocer la presencia de anticuerpos retrogenéticos en el cáncer. El tipo de cáncer puede determinarse mediante pruebas con extractos urinarios específicos para cada neoplasia. Estos trabajos fueron realizados empleando sueros sanguíneos de 182 pacientes con diversos tipos de

cáncer, empleando la prueba rápida de fijación en superficie y retención del colorante.

Existen varias técnicas descritas en la literatura para el diagnóstico serológico del cáncer, basadas en su mayoría en la identificación de los diversos antígenos que aparecen en la célula tumoral. Su ejecución requiere una tecnología bastante compleja y de la cual, en términos generales, carecemos en nuestro laboratorio. Tales métodos son el radioinmunoensayo, el empleo de anticuerpos monoclonales, el uso de marcadores radiactivos y otros.¹

De la bibliografía disponible, se juzgó que las que podían estar al alcance de nuestras posibilidades, eran las técnicas propuestas por Bjornklund y col.² y por Gold y col.³

Recibido: 9 de febrero de 1981.

Aceptado: 15 de octubre de 1981.

* Instituto Nacional de Higiene. Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Estos autores recomiendan investigar ciertos antígenos circulantes en el suero de cancerosos. Según Neville,⁴ tales productos pueden relacionarse con sustancias de composición química semejante a las elaboradas por celdillas fetales, dada la propiedad de las células cancerosas de revertir a características de multiplicación semejantes a las fetales.

De los procedimientos citados, se consideró que productos tales como el polipéptido de Bjornklund (que puede obtenerse a partir de tumores cancerosos y de placenta humana normal), el cual puede demostrarse en forma sencilla y rápida por el método de fijación y retención del colorante recomendado por Ruiz Castañeda,⁵ podrían servir para la identificación de antígenos fetales y de los correspondientes anticuerpos, en el suero sanguíneo de pacientes cancerosos. Este mismo autor pudo demostrar que por su naturaleza, el polipéptido de Bjornklund era sensible a la presencia de anticuerpos antifetales en el suero de mujeres gestantes.

Pruebas practicadas con diversos antígenos obtenidos de placenta humana demostraron que los extractos solubles producían reacciones semejantes a las provocadas por el antígeno de Bjornklund, pero que con extractos insolubles de lipoproteínas, las reacciones de fijación sólo se observaban con el suero sanguíneo de enfermos cancerosos.

Tal diferencia de reactividad inmunológica puede explicarse en términos de lo señalado por Beaconfield y Villee, quienes refieren que las moléculas de lípidos y fosfolípidos, por su tamaño no cruzan la placenta; por lo tanto, no habría que esperar reacción inmunológica hacia estos antígenos en el suero de mujeres gestantes.⁶ En cambio, la celdilla cancerosa, directamente expuesta a los fenómenos inmunológicos, daría origen a tantos anticuerpos como existiesen elementos antigénicos en aquella.

Por lo expuesto, para el presente trabajo se adoptó el uso de reactivo lipídico, con el fin de reconocer la presencia de anticuerpos de naturaleza retrogenética (carcinoembrionarios), en el suero sanguíneo de pacientes cancerosos.

Por lo que se refiere a pruebas de carácter específico, se pueden practicar reacciones con los diversos extractos urinarios preparados por Ruiz Castañeda. Gracias a la generosa colaboración del personal del Instituto Nacional de Cancerología ha sido posible disponer de poco más de 100 muestras de sueros de pacientes con diagnóstico y confirmación histopatológica; y además, de 20 sueros de cáncer prostático y algunos de cáncer cervicouterino, de los hospitales General de México (SSA) y de Oncología del Centro Médico Nacional (IMSS).

Material

El papel reactivo se preparó impregnando papel LKB con extracto acetónico de placenta humana, según técnica recomendada por Ruiz Castañeda.⁵ Por cortesía de él mismo, se obtuvieron cantidades

suficientes de extractos urinarios de pacientes de leucemia, carcinomas, linfoma de Hodgkin, sarcoma y melanoma, obtenidos de pacientes masculinos, con objeto de evitar reacciones cruzadas con material que puede encontrarse en la orina de mujeres de edad avanzada. Los extractos se obtienen precipitando la orina con suficiente cantidad de alcohol etílico, recuperando del precipitado las sustancias solubles en solución salina isotónica. Al parecer, tales productos, por las propiedades señaladas, pueden considerarse semejantes a ciertas glucoproteínas insolubles en alcohol y solubles en agua. Por lo que se refiere a las propiedades inmunológicas de tales extractos, su especificidad en reacciones antígeno-anticuerpo ha sido reconocida ante sueros sanguíneos de casos demostrados mediante recursos clínicos y patológicos.

Métodos

Investigación de anticuerpos de origen retrogenético

Sobre tiras de papel LKB preparado con extractos de lípidos, se aplicaron diluciones apropiadas de sueros problema, comparando el efecto de la acción del azul de bromofenol sobre series paralelas; una con el suero problema y otra con un suero testigo, por ejemplo, de mujer gestante. Las diluciones de los sueros se practicaron sobre placas de plástico, sobre las que se efectuaron microdiluciones desde 1:2 hasta 1:250, transfiriendo esas diluciones mediante aplicadores de madera, procurando formar sobre el papel reactivo series paralelas de tales diluciones; o bien, se practicaron las diluciones, agregando sucesivamente pequeñas gotas de solución salina, a manera de obtener muestras de diluciones a partir de la de 1:4.

El papel preparado por uno u otro procedimiento se sometió a tratamiento con solución de 0.2 por ciento del azul de bromofenol, en la que se dejó permanecer durante tres a cinco minutos, para enseguida someterlo al fijador de alcohol/ácido y luego a enérgico lavado bajo un chorro de agua. Al desaparecer el colorante de la serie de sueros negativos, la presencia de anticuerpos antilípidos se manifiesta por retención del colorante en intensidad proporcional al contenido en anticuerpos de cada suero.

Por lo regular, la prueba puede revelar intensidades que van desde el negativo al positivo +, ++ y hasta +++ de intensidad. Las pruebas positivas se someten a pruebas específicas con los extractos urinarios a que se ha hecho referencia.

Prueba específica

Sobre tiras de papel LKB, libre de extracto acetónico, se preparan pruebas empleando cada suero mezclado con dos diferentes antígenos urinarios. Por ejemplo, primero se investigan reacciones con



Fig. 1. Del lado izquierdo, diluciones de un suero negativo a cáncer mezclado con un extracto urinario de paciente canceroso; no se fija el colorante sino que se borra. Del lado derecho, diluciones del suero de pacientes con cáncer (histopatológicamente comprobado), mezclado con un extracto urinario de paciente canceroso; se fija el colorante, lo que indica reacción positiva.

linfoma y carcinoma (que son los procesos malignos más comunes en nuestro medio). Uno de los dos puede borrarse, permaneciendo fijación del colorante en la otra serie (fig. 1). En caso de que ambas mezclas se borren bajo el impacto del chorro de agua, se procede a la comparación de otros tipos de cáncer, por ejemplo, sarcoma con linfoma de Hodgkin o bien sarcoma con melanoma. De esta manera es posible reconocer reacciones positivas o negativas para cada uno de los antígenos específicos disponibles. Tanto para la prueba preliminar (para detectar anticuerpos retrogenéticos) como para la prueba específica, se requiere experiencia y paciencia, para estar seguro de que la fijación del colorante no es solamente el resultado de excesiva proporción de material proteínico en cada mezcla. Para esto se repite cada prueba tantas veces como sea necesario, forzando en ocasiones la decoloración de muestras dudosas y repitien-

do sobre el mismo papel la recoloración y lavado. De esta manera puede evitarse obtener pruebas dudosas o falsas positivas o negativas.

Resultados y comentarios

Se estudiaron 178 sueros sanguíneos, de los cuales 149 eran carcinomas de diferente localización: mamario, 99; prostático, 20; pulmonar, 6; cervicouterino, 5; epidermoide, 4; pancreático, 4; gástrico, 4, y otras localizaciones, 7. Linfoma de Hodgkin, 7; linfoma no Hodgkin, 4; sarcomas, 5 y melanoma, 3.

La búsqueda de anticuerpos retrogenéticos dio resultado positivo franco en 94 por ciento de los casos y positivo de menor intensidad en 6 por ciento. Por lo que se refiere a la determinación del tipo de cáncer, en todos los casos se corroboró el resultado con el informe histopatológico.

La prueba preliminar para la búsqueda de anticuerpos retrogenéticos se hizo con papel LKB impregnado con antígeno obtenido de placentas desecadas, donado por los Laboratorios Merieux de Lyon, Francia. Esta prueba pudo confirmarse empleando extractos de la orina de pacientes afectados de diversos tipos de cáncer, de los que se obtuvo el antígeno para usarlo en las pruebas específicas.

REFERENCIAS

1. Maugh, T.: *Cancer test look for a passing grade*, Science 211:909, 1981.
2. Bjorklund, B. y Wiklund, B.: *A human tissue polypeptide related to cancer and placenta*. Proc. Folksam Symposium. Estocolmo, 1972, p. 133.
3. Gold, P. y Freedman, S. O.: *Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption technique*. J. Exper. Med. 121:439, 1965.
4. Neville, M.: *Human tumor antigens and their potential usefulness in modern medicine*. Immunological techniques for detection of cancer. Proc. Folksam Symposium. Estocolmo, 1972, p. 15.
5. Ruiz Castañeda, M.: *A simple test for detection of specific and unspecific immunological reactions in cancer*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 11:83, 1980.
6. Beauchfield, P. y Villee, C.: *Placenta, a neglected experimental animal*. Londres, Pergamon Press. 1979, p. 45.

AGRADECIMIENTO

El entrenamiento y las facilidades para la realización de este trabajo fueron posibles gracias a la recomendación del C. Secretario de Salubridad y Asistencia, doctor Mario Calles López Negrete, para poder disponer del material y equipo del doctor Maximiliano Ruiz Castañeda en el Laboratorio de Desarrollo del Hospital Infantil de México.