

Departamento de
Bioquímica del Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Madrid

Aplicaciones de la polarografía al diagnóstico

IV.—Modificaciones a la técnica

por A. Rodríguez Ortea, A. Santos Ruíz y J. Lucas Gallego.

(Recibido para publicar el 25 de octubre de 1950)

En trabajos anteriores (4, 1 y 2) estudiábamos la aplicación de la polarografía al diagnóstico de los tumores malignos, así como el mecanismo bioquímico de la producción de la onda polarográfica en sueros fisiológicos y sanguíneos.

En esta nota nos referimos a las experiencias realizadas con sueros de enfermos afectos de tumores malignos y otros procesos patológicos empleando, como consecuencia de nuestras investigaciones previas, modificaciones a la técnica primitiva.

Métodos

Para la obtención de los polarogramas hemos seguido la técnica reseñada en nuestra primera nota y en un cierto número de casos se ha modificado procediendo a la incubación con glutathion de los sueros antes de polarografiar según describimos en nuestra tercera nota.

Resultados

Todos los polarogramas obtenidos, así como los correspondientes a la incubación con glutathion, pueden verse en el trabajo de A. Rodríguez Ortea (3). Nosotros no incluimos aquí nada más que algunos ejemplos.

Los 289 sueros que han sido polarografiados se clasifican como sigue :

1. — Normales: los procedentes de personas que no presentaban ningún síntoma sospechoso de enfermedad.

2. — Tumoraes : los pertenecientes a las personas que padecían procesos patológicos de este tipo nosológico ; todos estos procesos tumorales eran malignos.

3. — Inflamatorios : en los que se comprenden todos los que estaban afectos de tuberculosis y sífilis, que desde el punto de vista del diagnóstico diferencial tienen más interés.

Las experiencias por incubación de los sueros con glutatión ascienden al número de 54 ; 9 normales, 28 de enfermos con tumores, 9 de procesos tuberculosos y 8 de luéticos.

Las experiencias las clasificamos en la forma siguiente :

- a) Sueros normales sin y con glutatión.
- b) Sueros de cancerosos sin y con glutatión.
- c) Sueros de luéticos sin y con glutatión.
- d) Sueros de tuberculosos sin y con glutatión.

a) *Sueros normales sin y con glutatión*

Las curvas de suero normales obtenidas en análogas condiciones tienen alturas aproximadamente iguales.

Los sueros incubados con glutatión se han polarografiado juntamente con sus correspondientes sin glutatión, para que las diferencias sean mejor apreciadas.

El polarograma A de la serie 1.^a corresponde a un suero normal que sirve de comparación con el B de la misma serie. Este último está incubado con glutatión y en él se ve que la doble onda tiene un cuarenta por ciento más de altura que su testigo.

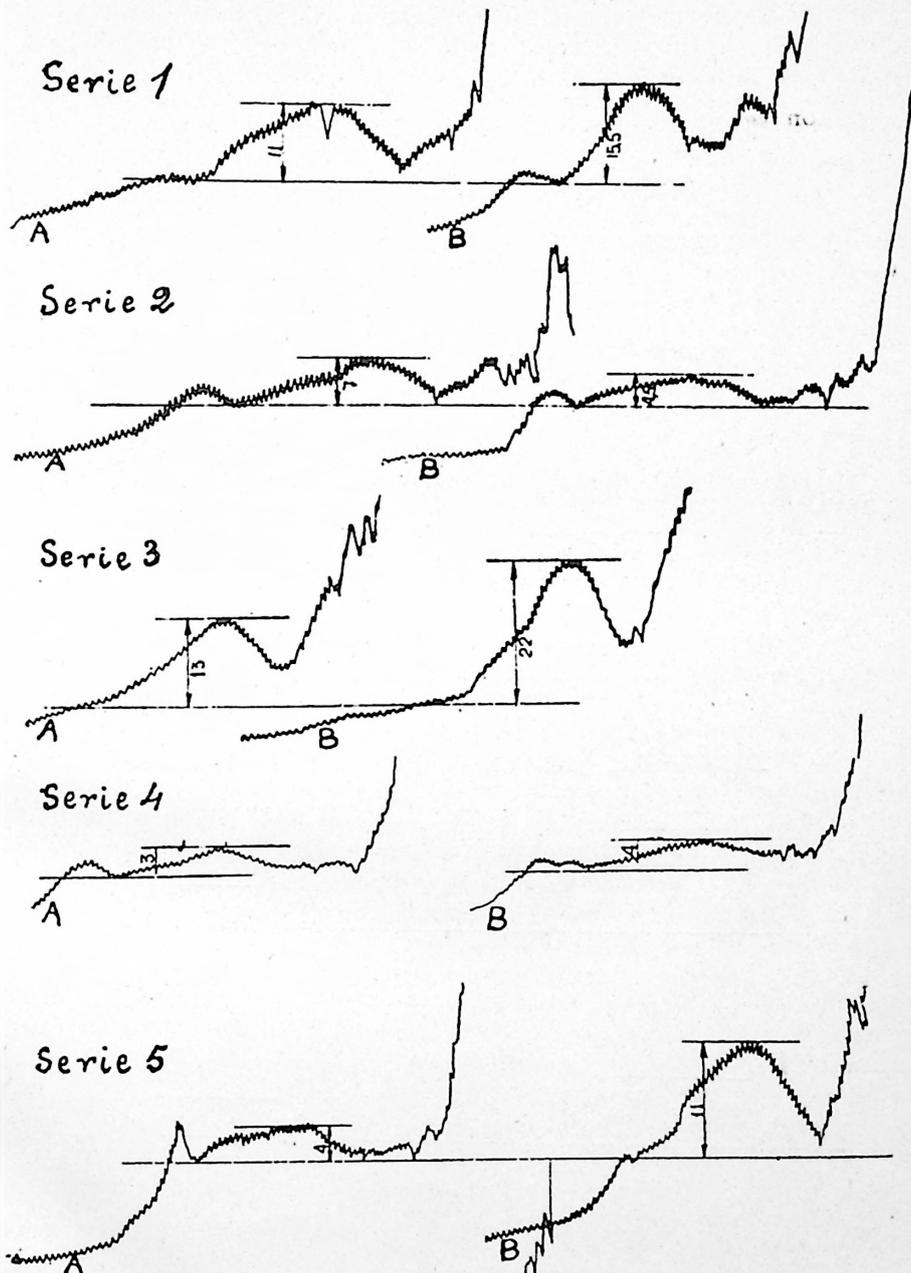
También se aprecia mayor altura en el polarograma A, sobre su testigo B, de la serie 2. Lo mismo observamos en los polarogramas de la serie 3, A y B y en los de la serie 4 A y B.

Los A y B de la serie 5 acusan un cien por ciento de mayor altura en la doble onda del suero incubado sobre su blanco o normal.

En todas estas experiencias se observa claramente que los sueros normales incubados con glutatión tienen mayor altura que los sin glutatión.

b) *Sueros de cancerosos sin glutatión*

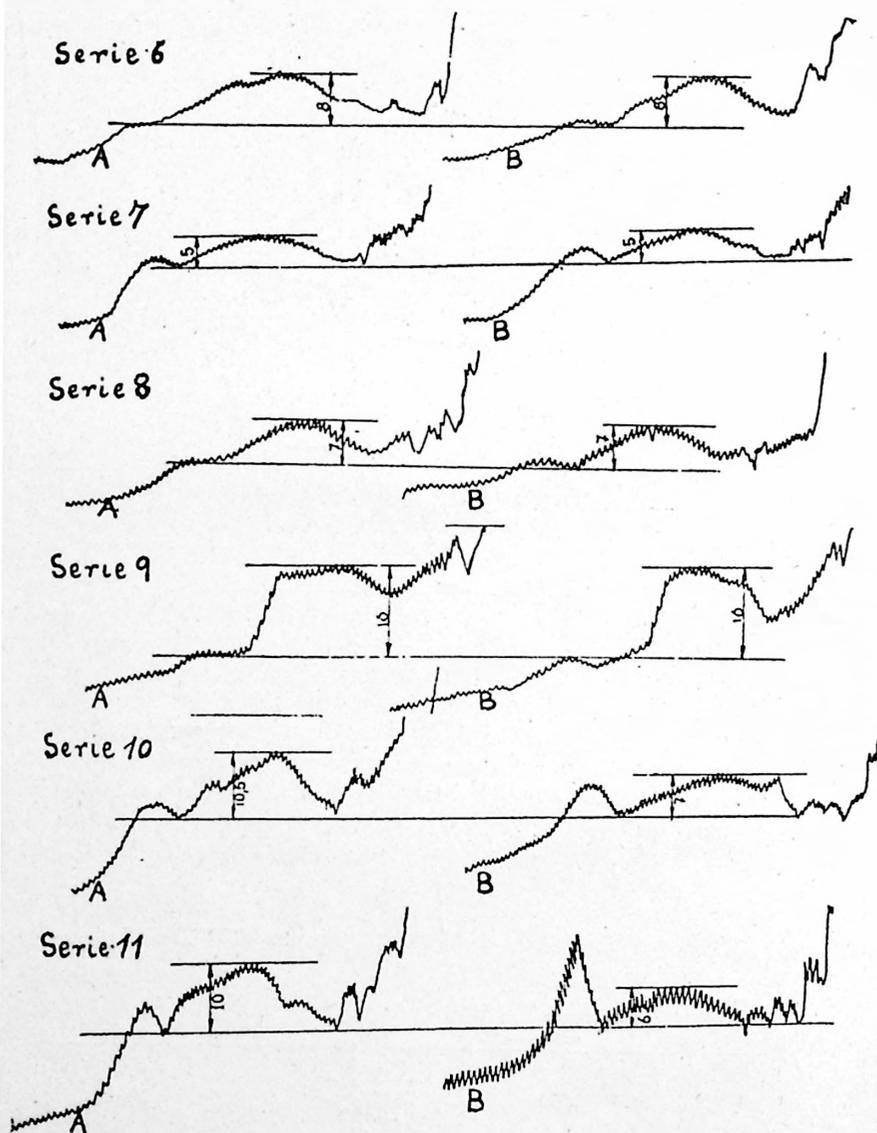
En la mayor parte de las series de curvas se han polarografiado las patológicas al lado de una normal, la cual sirve de comparación para juzgar las diferencias que existen en las alturas de la doble onda. Hemos de señalar que el diagnóstico clínico de



estos enfermos fué comprobado anatomopatológicamente en la mayor parte de los casos.

En la serie 6 en los polarogramas A y B, obtenidos sin y con

glutation respectivamente, no se aprecia cambio de altura en la doble onda, lo mismo sucede en la serie 7 A y B, en la serie 8 A y B, y en la serie 9 A y B.



De los veintinueve casos de sueros de cancerosos o tumorales incubados con glutacion, en nueve de ellos la doble onda correspondiente al suero incubado con glutacion, se eleva sobre la onda

de su testigo más o menos, según los casos. De estos nueve casos, en cuatro se eleva en un tanto por ciento que oscila entre el 25 y el 50 por ciento; en un caso oscila entre el 50 y el 75 por ciento; en dos, entre el 75 y el 100 por ciento; en uno es mayor del 150 por ciento y en otro está comprendida entre el 10 y el 25 por ciento.

En los veinte casos restantes que comprende nuestra estadística, no hemos apreciado variación alguna entre la doble onda del suero incubado con glutatión y del que utilizamos como testigo.

De donde resulta que el 26,10 por ciento de las curvas pertenecientes a sueros patológicos incubados con glutatión se modifican en el sentido de que su onda sufre un aumento en la altura, debido a que el glutatión aumenta la actividad proteolítica en el suero incubado, y que este aumento de la onda está comprendida, en la mayor parte de los casos presentados por nosotros, en un tanto por ciento que oscila entre el 25 y 50. En el 73,90 por ciento restante de casos no se aprecia ninguna variación entre los sueros con glutatión y sus testigos.

c) Sueros de luéticos sin y con glutatión

Todos estos casos tenían una reacción de Wassermann fuertemente positiva así como también eran positivas las reacciones complementarias.

Con la excepción de un polarograma las curvas no presentan ninguna modificación, tanto las incubadas con glutatión como las que no lo están, según puede verse en la tesis de uno de nosotros (A. R. O.).

Es digno de apreciar también que la generalidad de las curvas polarográficas procedentes de sueros de enfermos con sífilis, presentan un gran descenso de alturas; muchas veces más bajas que las correspondientes a sueros de personas consideradas normales.

d) Sueros de tuberculosos sin y con glutatión

Los casos estudiados de tuberculosis laríngea y pulmonar, más o menos activa, arrojan un resultado del 100 por ciento de polarogramas positivos, en el sentido de que los sueros incubados con glutatión dan un diagrama con una altura menor de la doble onda que el testigo.

En la serie 10 polarogramas A y B se observa una disminución de la altura después de incubado con glutatión y lo mismo sucede en la serie 11.

Discusión

Los polarogramas correspondientes a resultados positivos, son de neoplasias de tipo maligno y de tuberculosis activas, y tienen una altura en la doble onda superior a la de los normales. De aquí resulta que la aparición de curvas polarográficas altas demuestra la existencia de un proceso activo que afecta a las proteínas del suero, pero que no permiten determinar la naturaleza del proceso, que ha de ser, en todo caso, diferenciado por los métodos conocidos de laboratorio.

En los sueros procedentes de luéticos los diagramas son, en general, más bajos que los que se obtienen con los sueros sanguíneos de las personas normales, por lo que consideramos que esta afección es diagnosticable por Polarografía, ya que en todos los casos en los que se ha presentado disminución de la curva, tienen las reacciones de Wassermann y complementarias, positivas.

Con el empleo del glutatión y la incubación de los sueros a 37°, durante veinticuatro horas, hemos visto en nuestras experiencias que se producen modificaciones interesantes en el comportamiento de las curvas, por lo que el método polarográfico ha de ser objeto de una revisión en cuanto a su especificidad en el diagnóstico.

Como hemos observado, el glutatión no produce ninguna modificación en la onda — altura, colocación y forma — cuando los sueros se polarografían inmediatamente después de que el glutatión es añadido, pero, en cambio, cuando están incubados en estufa a 37°, durante veinticuatro horas, la altura — punto capital para la medida de las curvas — sufre modificaciones.

Así, pues, los sueros normales, cuando son incubados con glutatión, en una estufa a 37° y durante veinticuatro horas, sufren unas modificaciones que les hacen perfectamente diferenciables de los patológicos, ya que éstos se comportan de una manera completamente distinta.

La modificación fundamental que presenta la onda polarográfica de los sueros normales incubados, es el cambio de altura, que aparece aumentada notablemente, debido a que en estos sueros el glutatión se comporta como acelerador de la proteólisis, la que produce sustancias activas polarográficamente en mayor cantidad.

En los sueros correspondientes a las tres distintas enfermedades con las que hemos realizado estas experiencias, se ha observado que los incubados con glutatión se comportan de la misma manera en la sífilis y en el cáncer. Ahora bien, cuando el polarograma del suero de un canceroso, sin adición de glutatión, se compara con uno normal, resulta que aquél es siempre positivo,

en un grado mayor o menor, según las características de malignidad de los tumores; en tanto que el polarograma del suero sanguíneo de un sifilítico es, en general, más bajo que el que le sirve de blanco. De donde se deduce que por el método polarográfico puede diferenciarse un suero procedente de enfermo con neoplasias de un suero de luético, cuando se emplea la técnica de Brdicka y la expuesta por nosotros, o sea, la incubación con glutathion. En los sueros de tuberculosos no hay lugar a confusión, ya que cuando son incubados con glutathion, la fracción que les sirve de testigo ofrece una elevación en la doble onda, siempre que la tuberculosis sea activa, en tanto que la fracción con glutathion presenta una disminución en la altura de la misma, por lo que se comportan estos sueros en forma distinta a la de los cancerosos y luéticos.

De los resultados obtenidos en estas experiencias, con sueros de enfermos de cáncer, lúes y tuberculosis, se deducen las conclusiones que a continuación se exponen.

Conclusiones

1. — Con el método simple, hemos comprobado que la doble onda es más alta que la normal del testigo, en los sueros de enfermos de cáncer, en tanto que es más baja en los de enfermos luéticos.

2. — Cuando se realiza la técnica previa de incubación con glutathion durante veinticuatro horas, se observa en los sueros procedentes de sujetos normales que la curva polarográfica se eleva, en su doble onda, con relación a la del mismo suero sin adición de glutathion, en tanto que la de los sueros de cancerosos permanece igual en un 78% de los casos a la del correspondiente suero sin adición de glutathion.

3. — En los sueros de tuberculosos activos, con la adición de glutathion, se observa disminución de la altura de la curva en un 100 % con relación a la curva testigo del mismo suero.

4. — En los luéticos con reacciones de Wassermann y complementarias positivas o negativas, y con igual técnica, las curvas de ambas pruebas, con y sin adición de glutathion, no experimentan modificación en el 100% de los casos, a la vez que son inferiores en altura a la de los sueros normales testigos.

5. — De los resultados se deduce que la técnica polarográfica para los sueros sanguíneos, con la modificación de la incubación

con glutation, permite diferenciar las curvas polarográficas de los sueros procedentes de sujetos normales de aquellas otras de enfermos de cáncer, de tuberculosis y de sífilis.

Summary

The polarographic method is applied to blood serums of patients suffering from cancer, tuberculosis and syphilis, directly and after 24 hours incubation with glutathione. This later modification permits and facilitates observation of differences between these serums and those of normal individuals.

By addition of glutathione the polarographic curve of normal serums rises, while in syphilitic and most cancer patients it remains the same, diminishing in patients with active tuberculosis. The polarographic wave without previous addition of glutathione is lower in syphilitic patients than in normal ones, being higher in those suffering from cancer.

Bibliografía

- (1) N. JACOB ERNST, J. LUCAS GALLEGO y A. SANTOS RUIZ: *R. esp. Fisiol.* 6, 207. 1950.
- (2) J. LUCAS GALLEGO, A. SANTOS RUIZ y N. JACOB ERNST: *R. esp. Fisiol.* 7, 1. 1951.
- (3) A. RODRÍGUEZ ORTEA: *Aplicaciones de la técnica polarográfica en otorrinolaringología*. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Madrid, 1949.
- (4) A. SANTOS RUIZ y J. LUCAS GALLEGO: *R. esp. Fisiol.* 1, 203. 1945.