

HOSPITAL PROVINCIAL DOCENTE DE SANCTI SPIRITUS

Rechazo de células con gran capacidad blástica

Por los Dres.:

JOSE VARELA, HIRAM ALVAREZ, PEDRO LLANO, MARIO PEREZ y JEHOVA ORAMAS

Varela, J. y otros. *Rechazo de células con gran capacidad blástica*. Rev Cub Med 22: 6, 1983.

Se relatan los hechos observados en relación con un trabajo experimental realizado en conejas y los fundamentos teóricos que lo motivaron, basado en el rechazo de células gran capacidad blástica a las cuales, sensibilizamos previamente aparte de su material genético. Los resultados obtenidos nos hacen presumir que en un futuro, el tratamiento de los histoblastomas malignos y el control de la natalidad serán posibles por medios inmunológicos.

INTRODUCCION

La simiente del presente artículo la constituye el estudio de la inmunología o inmunoterapia de los histoblastomas malignos¹ y los trabajos experimentales (inéditos) realizados en relación con su rechazo por el organismo. Se comprueba que tanto en los animales como en el hombre, las neoplasias epiteliales, al ser transplantadas, se comportaban en igual forma que los tejidos normales en cuanto a su rechazo y que el huésped desarrollaba medios defensivos, con memoria inmunológica y capaces de ser transferidos pasivamente, contra estos tejidos histocompatibles.

Con estos datos en nuestro poder elaboramos la teoría de lo que le pasaría a una célula benigna con gran capacidad blástica que se desarrolla en un organismo, al cual previamente hemos sensibilizado con la mitad del material genético de dicha célula,

para poder después continuar los estudios relacionados con el rechazo de células malignas. En nuestra hipótesis, el organismo por medio de su sistema inmune, sería capaz de destruir a estas células o evitar su desarrollo. Tomamos como tejido de *shock* al óvulo fecundado y como material sensibilizante al espermatozoide.

Sabemos que en el proceso de la fecundación, el espermatozoide se comporta en forma parecida a los virus al introducirse en una célula: deja fuera de la célula que invade su caparazón proteico y vierte dentro de la misma el DNA de su código genético, el cual se combina con el DNA del óvulo; comienza en esta forma la génesis de una nueva línea de células con enorme capacidad blástica, las cuales por divisiones sucesivas y programadas darán origen a un complejo biológico multicelular que responde a las características anatómicas y funcionales de sus progenitores.⁴

Los espermatozoides son antigénicos para el mismo individuo y para la hembra, ya que la espermatogénesis se inicia mucho después que el sistema inmunológico ha completado su desarrollo y la diferenciación entre "lo propio y lo no propio".⁵

Después de producida la fecundación se comienza a desarrollar el embrión y la implantación del mismo en el endometrio, por intermedio del trofoblasto que le garantiza su desarrollo y a la vez le sirve de barrera defensiva contra el sistema inmune de la madre.

Se ha comprobado que extractos de trofoblasto inhiben la transformación blástica de los linfocitos T frente a mitógenos como la fitohemoaglutinina.⁶ Esto hace posible que se desarrollen tejidos en un organismo para el cual sus componentes de histocompatibilidad son inmunógenos, lo cual se comprueba después del nacimiento con el trasplante de tejido homólogo del hijo a sus progenitores y viceversa.

Si a una hembra la sensibilizamos con los espermatozoides del macho, en su suero se comprueban anticuerpos que provocan inmovilización y aglutinación de dichas células, así como también, sus linfocitos T desarrollan cambios mitógenos ante la presencia del antígeno espermático.^{7,8}

Con estas premisas elaboramos un trabajo experimental en cooperación con los compañeros de medicina veterinaria, para lo cual seleccionamos como animal de experimentación al conejo, ya que la hembra posee una placenta hemoendotelial parecida a la de la mujer, que permite el traspaso de inmunoglobulinas plasmáticas y de linfoquinas elaboradas por los linfocitos T;⁹ la misma puede sensibilizarse a los componentes proteicos de los espermatozoides del macho.

MATERIAL Y METODO

Se seleccionaron seis conejas de la raza chinchilla y un conejo semental chinchilla. Describiremos las características de los animales y en lo adelante nos referiremos a los mismos de acuerdo con el número que los identifica.

Coneja I (coneja gris): coneja infecunda, de ocho meses de edad y seis libras de peso; nunca antes había tenido cópula.

Coneja II (coneja negra): coneja infecunda, de ocho meses de edad y seis libras de peso; nunca antes había tenido cópula.

Conejas III y IV: conejas de diez meses de edad y seis libras y media de peso, que previamente habían sido fecundadas por el semental utilizado.

Conejas V y VI: conejas infecundas, de ocho meses de edad y seis libras de peso; nunca antes habían tenido cópula; sirvieron como testigos del experimento.

Conejo semental: de un año de edad y ocho libras de peso, con fecundidad probada.

Extracción del semen: se realizó por vía vaginal, y se utilizó la coneja I; se elaboró una dilución del mismo al 1:10 en suero fisiológico.

1. La coneja I se fecundó por vía vaginal y se le inoculó, por vía subcutánea, en la cara interna del muslo derecho 1 ml de la dilución al 1:10 del semen.
2. La coneja II no fue fecundada; se le administró, por vía subcutánea, en la cara interna del muslo derecho 1 ml de la dilución al 1:10 del semen.
3. Se realizó observación clínica durante 28 días a ambos animales, y no se detectó alteraciones locales ni sistémicas en los mismos.
4. A los 28 días, se repitió la administración subcutánea de 1 ml de la dilución al 1:10 del semen. Se utilizó la misma técnica, pero esta vez a nivel de la cara interna de los muslos izquierdos de los referidos animales; la coneja I fue nuevamente inseminada por el macho.
5. Se repitió el ciclo de observación clínica de los animales por un período de 28 días; no se detectaron alteraciones locales ni sistémicas.
6. A los 28 y 56 días después de la segunda inoculación subcutánea del semen, se procedió a la extracción de sangre intracardiaca a todas las conejas (del I al VI), con el objeto de obtener suero sanguíneo de las mismas que nos sirvieran para la prueba de aglutinación en placa bajo microscopio y para la reacción de fijación del complemento, con antígeno espermático del conejo semental.
7. La reacción de aglutinación en placa se realizó utilizando una gota del suero de las conejas, previamente inactivado a 56°C durante 30 minutos, y una gota de la dilución del semen al 1:10 en suero fisiológico; se realizó la observación con microscopio de luz, a menor aumento, diafragmándose la iluminación por un período de una hora.
8. La reacción de fijación del complemento se realizó según la técnica convencional, utilizando como antígeno la dilución al 1:10 en suero

fisiológico del semen del conejo semental y como sueros problemas el de las conejas motivo de la experimentación (del I al VI).

9. Finalmente, las conejas I y II fueron apareadas durante tres meses con el conejo semental y sacrificadas a los seis meses para observar, por medio de la necropsia, cualquiera posible alteración ginecológica en las mismas.



Figura 1

Conejas I y II del experimento, a las cuales se les administró el antígeno espermático.



Figura 2

Conejo semental chinchilla, del cual se obtuvo el antígeno espermático.



Figura 3
Extracción del semen depositado en cavidad vaginal de la coneja i.



Figura 4
Dilución del semen en suero biológico hasta obtener una concentración del mismo al i - i u



Figura 5
Extracción de sangre intracardiaca, para obtener suero sanguíneo de las conejas motivo del experimento.



Figura 6
Antígeno espermático diluido al 1:10.



Figura 7
Reacción de fijación del complemento (RFC). No se observa hemólisis en el suero de las conejas I, II, III y IV.

RESULTADOS

Los señalaremos en el siguiente orden:

1. *Coneja I*: no fue fecundada en el primer apareamiento con el macho, sino en el segundo, realizado 28 días después.
A los 30 días parió dos fetos muertos distróficos.
Al tercer apareamiento con el macho, realizado a los 60 días del último parto, parió seis gazapos normales.
2. *Conejo II*: a los 60 días de comenzado el experimento se apareó con el macho, pero no se logró su fecundación en el transcurso de la experimentación (seis meses); mostró, finalmente, cierto grado de rechazo al macho.
3. *Prueba de aglutinación en placa*
 - 3.1 *Conejas I y II*: durante 60 minutos de observación microscópica, se comprobó abundante aglutinación de los espermatozoides por la cola y, en menor número, por la cabeza.
 - 3.2 *Coneja III*: no presentó aglutinación.
 - 3.3 *Coneja IV*: escasa aglutinación de los espermatozoides por la cabeza.
 - 3.4 *Conejas V y VI*: no se observó aglutinación.

4. *Reacción de fijación del complemento*

4.1 *Conejas I y II: positiva.*

4.2 *Conejas III y IV: positiva.*

4.3 *Conejas V y VI: negativa.*

5. La necropsia de las conejas I y II, realizada a los seis meses de comenzada la experimentación, no reveló alteraciones macroscópicas a nivel de sus órganos genitales internos.

COMENTARIOS

El presente trabajo investigativo-experimental, se desarrolló con el mayor rigor científico a nuestro alcance; se exigió escrupulosidad y exactitud a los compañeros que intervinieron en el mismo, por lo que consideramos que los hechos objetivos observados puedan tener algún valor relacionado con el planteamiento teórico que lo originó, a la vez que permitió hacer especulaciones sobre el futuro control inmunológico del embarazo.

Los resultados obtenidos en la coneja I, nos hacen pensar que el planteamiento teórico propuesto tiene traducción objetiva, puesto que los dos fetos muertos y distróficos tienen que estar relacionados con fenómenos inmunológicos desarrollados en la madre,¹¹ en los cuales intervinieron tanto la inmunidad humoral como la mediada por células, y ello tanto más cuanto que la observación clínica del animal no pudo determinar ninguna otra causa patológica que influyera en este sentido. Es sabido que las conejas paren de seis a ocho gazapos en cada parto; en este caso se obtiene solamente dos fetos a término con las características descritas, lo que nos hace pensar que la sensibilización previa del sistema inmune con parte de los componentes proteicos de un tejido, puede influir en su desarrollo futuro, como sucede en los procesos autoinmunes y de hipersensibilidad retardada.

Los resultados objetivos obtenidos con la coneja II, nos hacen pensar en el probable control inmunológico de la fecundidad, puesto que parece factible en este caso que los antígenos espermáticos administrados a la coneja en forma de vacunación, la sensibilizaron correctamente, determinando la incompetencia de los espermatozoides, por desvitalización o destrucción, para lograr el embarazo de la misma.

En relación con lo observado en la coneja I, podemos teorizar que el hecho de haber salido embarazada en su segundo apareamiento, cuando estaba sensibilizada en forma parcial, determinó la muerte de los tejidos formados por parte del sistema inmune activado; pero que esta misma masividad antigénica, una vez desarrollada, determinó cierto grado de tolerancia inmunológica que hizo posible el embarazo subsiguiente. O también, el hecho de que al no persistir el estímulo antigénico fuera decreciendo la inmunocompetencia de su sistema inmunitario a los antígenos que determinaron su activación.

En los resultados obtenidos con las conejas III y IV, podemos deducir que la hembra, al realizar la cópula con el macho en forma repetida, puede de alguna manera sensibilizarse a sus espermatozoides, y si estos provocan una respuesta inmune de importancia, ser motivo de infertilidad por parte de la hembra.^{13,14} Normalmente no ocurre esto, porque el tracto reproductivo de la hembra está aparentemente capacitado para producir antiaglutinantes que pueden inhibir la aglutinación de los espermatozoides.¹⁵

Las conejas V y VI sirvieron de testigos para demostrar que normalmente en el suero sanguíneo de las hembras, no existen factores inmunológicos específicos contra los componentes antigénicos de los espermatozoides del macho de la misma especie, y que éstos necesariamente tienen que ser inducidos por una sensibilización previa.

De lo analizado hasta aquí, podemos especular que en un futuro no lejano será factible la inmunoterapia de los histoblastomas malignos, utilizando vacunas contra los componentes antigénicos de los mismos o contra sus agentes biológicos. En forma similar, podemos esperar que pronto será realizable el control inmunológico de la natalidad.^{15,16}

De todo lo expresado podemos arribar a los siguientes razonamientos:

CONCLUSIONES

1. La sensibilización provocada del sistema inmunitario contra parte de los componentes proteicos de un tejido con gran capacidad blástica, puede determinar una respuesta inmune que impida su desarrollo o que provoque su destrucción; en esta respuesta está involucrada tanto la inmunidad humoral como la mediada por células, sobre la base de los hechos objetivos observados en la coneja I de nuestro trabajo.
2. La sensibilización provocada, correcta y total de la hembra contra los componentes antigénicos del material espermático del macho, puede determinar la infecundidad de la misma sobre la base de mecanismos inmunológicos, principalmente de tipo humoral, y esto constituir un medio de prevenir el embarazo, como fue comprobado en la coneja II.
3. La sensibilización natural parcial de la hembra contra el material espermático del macho, durante la cópula, es posible que determine la presencia de anticuerpos en el suero de las mismas contra los espermatozoides del macho de la misma especie, como se observó en las conejas III y IV del experimento. Esto puede ser causa de esterilidad con base inmunológica en algunas hembras.
4. No se observaron factores inmunológicos específicos en el suero de las hembras vírgenes, contra los componentes antigénicos de los espermatozoides del macho de la misma especie, como fue comprobado en las conejas V y VI, lo que demuestra que normalmente no deben existir estos factores, los cuales sólo se adquieren después de la sensibilización adecuada.

5. Entendemos que el material utilizado no puede constituir una muestra representativa con valor estadístico, y que los medios a nuestro alcance, no reúnen todas las condiciones de rigor científico que actualmente están a disposición de centros más desarrollados.
6. El presente artículo debe constituir una motivación para aquellos compañeros que con más recursos puedan llegar a conclusiones más exactas, ya que como expresara *José Martí*: "Para verdades trabajamos y no para sueños."

Agradecimiento

Deseamos expresar nuestro más sincero reconocimiento a todos los compañeros que directa o indirectamente contribuyeron a la realización del presente artículo, especialmente a los compañeros del Laboratorio Provincial de Medicina Veterinaria por su cooperación, sin la cual no hubiera sido posible su ejecución.

SUMMARY

Varela, J. et al. *Rejection of cells with great blastic capacity*. Rev Cub Med 22: 6, 1983.

The facts observed in relation to an experimental work performed with female rabbits and the theoretical basis that gave reason to it, based on rejection to cells with great blastic capacity, which were previously sensitized besides of their genetical material, are related. Results obtained make us presume that hereafter, treatment of malignant histoblastomas and birth rate control should be possible by immunologic means.

RÉSUMÉ

Varela, J. et al. *Rejet de cellules à haute capacité blastique*. Rev Cub Med 22: 6, 1983.

Les auteurs signalent les faits observés à propos d'un travail expérimental réalisé sur des lapins femelles, ainsi que les fondements théoriques qui l'ont motivé, sur la base du rejet de cellules à haute capacité blastique, lesquelles ont été sensibilisées au préalable en dehors de leur matériel génétique. Les résultats obtenus font présumer que dans l'avenir le traitement des histoblastomes malins et le contrôle de la natalité seront possibles par des moyens immunologiques.

BIBLIOGRAFIA

1. *Mathe, G.; R. B. Thompson*: Inmunoterapia del cáncer. Revista oficial de la Sociedad Americana de Proctología. 16 (5) 541, USA 1973.
2. Aspectos inmunológicos del cáncer. Br Med J 4: 443, London, 1970.
3. *Alexander, P.*: Perspectiva de la inmunoterapia del cáncer. Experiencias en sistemas experimentales. Br Med J. 4: 484-486, London, 1970.
4. *Stent, G. S.*: La reproducción de los virus. Física y Química de la vida. Sci Am pp. 151-160, Madrid, 1969.
5. *Gillett, P. G.*: Control inmunológico de la fecundidad. Clin Med Nor Am Obstct Ginecol, pp: 724-726, sept. 1977.
6. *Kage, M. O.; IV. R. Jones*: Efectos de la gonadotropina coriónica humana sobre la transformación linfocítica in vitro. Am J Obstet Gynecol 109: 1029-1031, abril, 1971.

7. *Baskin, M. J.*: Temporary sterilization by injection of human spermatozoa: A preliminary report. Am J Obstet Gynecol 24: 892, 1932.
8. *Katsh, S.*: Infertility in female guinea pigs induced by injection of homologous sperm. Am J Obstet Gynecol 78 : 276, 1959.
9. *Menge, A. C.*: Fertilization, embryo and fetal survival rates in rabbits, isoimmunized with semen, testis and conceptus. Proc Sec Exp Biol Med 127: 1271, 1968.
10. *Dukes, H. H.*: Organos femeninos de la reproducción. Fisiología de los animales domésticos. 2da. ed. La Habana, Edición Revolucionaria, 1968. Pp. 840.
11. Med World News 11 (8): 15, 1970.
12. *Isojima, S.; K. Tsuchiya; Koyamak; C. Tanaka; O. Naka; H. Adachi*: Further studies on sperm immobilizing antibodies found in sera of unexplained cases of sterility in women. Am J Obstet Gynecol 112: 199, 1972.
13. *Shulman, S.*: Immunological barriers to fertility. Obstet Gynecol Surv 27: 553, 1972.
14. *Velázquez, L. B.*: *Opoterapia genital*. Terapéutica con sus fundamentos de farmacología experimental. 11a. et. Vol. II. Barcelona, Editorial Científico-Médica, 1970. Pp. 1021-1022.
15. *Short, R. V.*: Desarrollo de nuevos enfoques para el control inmunológico de la fertilidad en el hombre y animales. Simposio Cuba-OMS sobre reproducción humana y regulación de la fertilidad. Barcelona, ESPAXS 1978. P. 309.
16. *Freedman, S. O.; P. Gold*: Inmunología en relación con la biología de la reproducción. Clin Med Nor Am Obstet Gynecol, P: 677-791, sept. 1977.

Recibido: 15 de febrero de 1982.
Aprobado: 10 de enero de 1983.

Dr. *José Varela*
Ave. de los Mártires 163
Sancti Spiritus.