

1002 cl3H
UNIVERSITATEA „REGELE FERDINAND I.“ DIN CLUJ
FACULTATEA DE MEDICINĂ
INSTITUTUL PENTRU STUDIUL ȘI PROFILAXIA CANCERULUI
„IULIU MANIU“

Nr. 1324

DIAGNOSTICUL CANCERULUI

(SERO-REAȚIA LUI M. ARON)

TEZĂ

PENTRU

DOCTORAT ÎN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE

PREZENTATĂ ȘI SUSȚINUTĂ ÎN ZIUA DE 27 Octombrie 1938.

DE

WINTER SAMUIL

CLUJ

„PALLAS“ INSTITUT DE ARTE GRAFICE COOP. IND.

Strada A. Vlăhuță No. 3.

1938.

UNIVERSITATEA „REGELE FERDINAND I.“ DIN CLUJ
FACULTATEA DE MEDICINĂ
INSTITUTUL PENTRU STUDIUL ȘI PROFILAXIA CANCERULUI
„IULIU MANIU“

Nr. 1324

DIAGNOSTICUL CANCERULUI

(SERO-REAȚIA LUI M. ARON)



TEZĂ

PENTRU

DOCTORAT ÎN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE

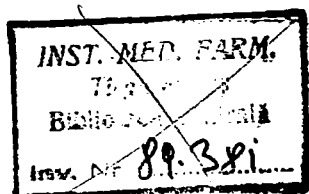
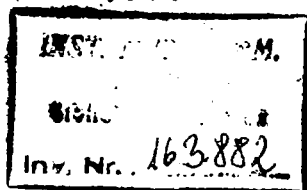
PREZENTATĂ ȘI SUSȚINUTĂ ÎN ZIUA DE 27 Octombrie 1938.

DE

WINTER SAMUIL

25 MAY 2005

12707



CLUJ

„PALLAS“ INSTITUT DE ARTE GRAFICE COOP. IND.

Strada A. Vlăduțu No. 3.

1938.

UNIVERSITATEA „REGELE FERDINAND I.” DIN CLUJ
FACULTATEA DE MEDICINĂ

Decan: Prof. Dr. M. STURZA

Profesori:

Clinica stomatologică	D-I. Prof. Dr.	<i>Aleman I.</i>
Bacteriologie	” ”	<i>Baroni V.</i>
Fiziologia umană	” ”	<i>Benetato G.</i>
Istoria medicinei	” ”	<i>Bologa V.</i>
Patologia generală și experimentală	” ”	<i>Botez A. M.</i>
Clinica oto-rino-laringologică	” ”	<i>Buzoianu Gh.</i>
Istologia și embriologia umană	” ”	<i>Drăgoiu I.</i>
Semiologie medicală	” ”	<i>Goia I.</i>
Clinica ginecologică și obstetricală	” ”	<i>Grigoriu Gr.</i>
Clinica medicală	” ”	<i>Hațieganu I.</i>
Medicina legală	” ”	<i>Kernbach M.</i>
Chimia biologică	” ”	<i>Manta I.</i>
Clinica oftalmologică	” ”	<i>Michail D.</i>
Clinica neurologică	” ”	<i>Minea I.</i>
Igiena și igiena socială	” ”	<i>Moldovan I.</i>
Radiologia medicală	” ”	<i>Negru D.</i>
Anatomia descriptivă și topografică	” ”	<i>Papilian V.</i>
Clinica chirurgicală } Medicina operatoare }	” ”	<i>Pop A.</i>
Clinica infantilă	” ”	<i>Popoviciu Gh.</i>
Farmacologia și farmacognozia (supl)	” ”	<i>Popoviciu Gh.</i>
Balneologia	” ”	<i>Sturza M.</i>
Clinica dermato-venerică	” ”	<i>Tătaru C.</i>
Clinica urologică	” ”	<i>Țeposu E.</i>
Clinica psihiatrică	” ”	<i>Urechia C.</i>
Anatomia patologică	” ”	<i>Vasiliiu T.</i>
Biologia generală	” ”	<i>Racoviță E.</i>
Chimia medicală	” ”	<i>Secăreanu Șt.</i>
Igiena generală	” ”	<i>M. Zolog</i>
Fizica medicală	Conf. ”	<i>Bărbulescu N.</i>

JURIUL DE PROMOTIE

Președinte: D-nul Prof. Dr. *I. Moldovan*

Membrii: {
 ” ” ” *I. Hațieganu*
 ” ” ” *A. Pop*
 ” ” ” *C. Tătaru*
 ” ” ” *M. Zolog*

Supleant: *Di. Doc. Dr. Tr. Popoviciu,*

INTRODUCERE.

Celor mulți, jertfe ale acestui flagel
Și celorlalți care se jertfesc ca să-l stârpească.

Cancerul, devenind din ce în ce mai frecvent în secolul nostru — constatare care se datorește poate și noilor metode de diagnostic — se prezintă alături de tuberculoză ca cea mai teribilă plagă socială. Deaceia, el a fost în ultimele decenii obiectul unor studii amănunțite, așa că etiologia, patogenia, diagnosticul și terapia lui au căpătat în lumina acestor lucrări o înfățișare nouă.

Cercetările experimentale de ordin biologic și biochimic pe care diferitele școli le-au întreprins, au arătat că de la început cancerul este o boală a întregului organism, o boală constituțională, care înainte încă de a izbucni, a produs în organism profunde schimbări metabolice.

Sângele și urina, prin diferitele tulburări de compoziție, prin principiile și reacțiunile ce le prezintă, sunt maratorii fideli ai acestor schimbări.

Cu toate cercetările imense și foarte fecunde ce s-au făcut până acum, desigur, că nu s-au putut determina toate aceste tulburări bio-fizico-chimice, cele specifice acestei boli și începutul lor, care precedează cu ani debutul clinic al bolii.

Importanța acestor schimbări intime este cu atât mai mare, cu cât ele ne arată că boala nu-și are începuturile ei — cum se crede de obicei — între 50—60 ani, ci odată declarată, ea a fost precedată de o perioadă de incubație, de ani de zile. Cancerul devine astfel boala vârstei mature, a acelei vârste, când omul este în posesiunea capacității lui maxime de muncă.

Depistarea precoce a acestor stări patologice, pur bio-

chimice la început și neevidențiabile încă prin metodele clinice obișnuite, e scopul diagnosticului serologic al cancerului.

Toate cercetările și rezultatele obținute pe acest teren, frumoase prin ele înșile, au fost puse în serviciul acestui diagnostic. Astfel, diferiții autori, căutând să aplice rezultatul experiențelor lor, au publicat numeroase reacțiuni serologice, destinate depistării cancerului.

Majoritatea reacțiunilor apărute până acum, prezintă însă un mare neajuns: nu sunt absolut specifice. Cu alte cuvinte: nu sunt pozitive în toate cazurile de cancer, dar nici nu sunt întotdeauna negative, când e vorba de alte stări patologice.

Iată o constatare, care scade mult din valoarea practică a acestor reacțiuni și care explică și în oarecare măsură marele lor număr.

Se va înțelege ușor că clinicianul nu se poate baza pe diagnosticul unei reacțiuni a priori nesigură, pentru că un astfel de diagnostic implică urmări din cele mai grave, atât pentru bolnav și familia lui, cât și pentru medic.

În materie de cancer, este nevoie de o reacțiune de laborator sută la sută sigură, a cărei rezultat pozitiv să precedeze diagnosticul clinic, radiologic și histopatologic acolo unde semnele clinice ale bolii încă nu au putut fi puse în evidență și să confirme sau să infirme diagnosticul pus cu ajutorul altor metode.

Cauza nespecificității reacțiunilor serologice rezidă în faptul, că multe din tulburările de metabolism, observate în cancer sunt prezente și în alte stări patologice și chiar fiziologice consumptive, pe când acele schimbări care sunt specifice bolii și care ar putea să servească ca bază unei reacțiuni specifice încă nu au putut fi determinate.

Trebue deci, și, desigur se va ajunge într-o zi — să se descopere acele tulburări, pe care numai cancerul le dă și atunci vom avea o „reacție Wassermann“ a cancerului. Iar în ziua aceea vom putea sfătui pe toți indivizii de la 40 ani în sus, să-și facă odată sau de mai multe ori pe an această reacțiune.

Să sperăm că această zi nu este departe!

* * *

În continuare, voi face un scurt istoric al reacțiunilor serologice apărute până azi, schițând în câteva rânduri pe cele mai însemnate dintre ele. Apoi voi trece la descrierea

amănunțită a reacțiunii „antigenului“ și anticorpilor, descrisă de Profesorul Max Aron dela Facultatea de Medicină din Strasbourg. Voi încheia lucrarea, menționând rezultatele obținute de mine și prezentându-le sub forma unui mic tablou.

Reacțiunea Profesorului Aron are o primă mare calitate: este foarte simplă și poate fi executată în orice laborator, cerând în schimb o curățenie chimică și o asepsie bacteriologică riguroase.

A două și cea mai importantă calitate este specificitatea ei. Rezultatele, pe care reacțiunea le-a dat autorului, au fost în ultimul timp 100% sigure. Aceasta se datorește faptului, că autorul a reușit să o pună la punct în așa măsură, încât nici un caz de cancer (epiteliom) nu i-a dat vre-un rezultat negativ, iar în caz de alte boli, rezultatele au fost toate negative.

Profesorul Aron, care până acum câteva luni a susținut, că reacțiunea sa trebuie să rămână în cadrul cercetărilor pur științifice, crede că a venit timpul, când ea trebuie să treacă prin stadiul de verificare, pentru ca să poată ajunge pe urmă în acel al aplicării practice.

Problema cancerului, pasionându-mă de mai demult, m-am gândit, că n-aș putea găsi un subiect mai frumos pentru lucrarea mea inaugurală, decât acel al executării — în limita posibilităților mele — a unei reacțiuni atât de promițătoare.

M-am adresat atunci Domnului Profesor *Max Aron* și Domnia Sa a fost atât de amabil, ca să-mi trimită toată literatura necesară, cuprinzând descrierea amănunțită a principiilor și a tehnicei reacțiunii.

Adresez Domniei Sale și pe această cale mulțumirile mele cele mai sincere.

Realizarea practică a acestei lucrări, a fost posibilă numai prin bunăvoința Domnului Profesor *Dr. Iuliu Moldovan*, Director al Institutului de Igienă și Igienă Socială. Domnia Sa mi-a permis să lucrez partea practică a tezii mele în Laboratorul „Institutului Pentru Studiul și Profilaxia Cancerului“ și a binevoit să mă onoreze acceptând Președinția acestei lucrări.

Rog pe Domnia Sa să vadă și în aceste rânduri expresiunea profundei mele recunoștințe și să primească respectuoasele mele mulțumiri.

Domnul Docent *Dr. C. Stanca*, Directorul Institutului și Dl. *Dr. Popa Rubin*, Șeful de Laborator al acestui Institut, au binevoit întotdeauna să se intereseze de aproape

de mersul lucrării, cece m-a încurajat. Le adresez și cu această ocazie mulțumirile mele.

Mulțumesc și Dlui. *Dr. Ovidiu Comșia* Asistent al Institutului, pentru faptul de a mă fi introdus în Laborator într-un mod cât se poate de amabil.

Însfârșit, n-aș putea să termin acest capitol, fără a-mi exprima regretul, că această lucrare are multe lacune inerente oricărui început. Ii lipsește mai ales o statistică mai bogată și deci mai convingătoare. Am însă scuza de a fi lucrat singur și începător fiind, abea lucrând, am învățat cum să lucrez.



Scurt istoric al sero-reacțiunilor în cancer.

Reacția lui Freund-Kaminer.

Această reacțiune se bazează pe constatarea, ce au făcut-o autorii, că serul unui om normal sau suferind de altă boală decât cancerul, este în stare să lizeze în vitro celulele canceroase, pe când serul unui canceros nu produce acest fenomen, ci din contra, apără aceste celule de acțiunea distrugătoare a serului normal.

Pentru a realiza practic reacția, se prepară o emulsie de celule canceroase sau, mai nou, după K. Bauer-Linz, o emulsie de celule hepatice intacte, dintr-un ficat lipsit de metastaze, provenit de la un cadavru canceros sau sarcomatos. Se adaugă, într-o eprubetă, serului de studiat câteva picături din această emulsie și se pune tubul pentru 12 ore ore la termostat. Înainte și după așezarea la termostat, se numără celulele cu ajutorul unei camere de numerotat. Dacă mai mult de 75% a celulelor nu sunt disolvate, atunci rezultatul pledează pentru cancer.

Această reacțiune de carcinoliză este o parte numai a „metodei lui Freund pentru diagnosticul cancerului“.

A doua determinare a acestei metode constă în așa zisa „cultură indirectă“ a unui bacil pe care Freund l-a găsit în scaunul bolnavilor de cancer, și care se deosebește morfologic, tinctorial și cultural de varietățile de coli care se găsesc în scaunele necanceroșilor. Freund nu susține că acest bacil ar fi în legătură cu etiologia cancerului.

A treia determinare, constă într-o reacție de flocluație a serului, ea se bazează pe constatarea, că la bolnavii de cancer, albuminele serului formează cu substanța numită de Freund „acid carcinomatos“ o compoziție, care se poate

pune în evidență prin precipitare cu ajutorul acidului acetic. „Acidul carcinomatos“ se obține prin inocularea laptelui cu scaunul unui canceros, extrăgându-l apoi cu eter.

Acest „acid canceros“ cristalizat servește și pentru realizarea unei intra-dermo-reacții.

Gravitatea tulburărilor de metabolism o determină Freund prin dozarea acizilor organici, a indicanului și a scatoxilului din urină.

Toate aceste patru reacțiuni parțiale și mai ales primele trei, *împreună* pot permite rezultate concludente.

Kretz a obținut din 440 bolnavi 137 reacțiuni pozitive la cancerosi, 237 negative la bolnavi fără cancer, 4 reacțiuni negative la cancerosi, 23 reacțiuni pozitive la necancerosi și 14 cazuri unde diferitele probe parțiale nu au fost în concordanță.

Ovidiu Comșia a obținut, întrebuintând numai reacțiunea de carcinoliză, o procentuație de 62,3% de rezultate pozitive și 37,7% de rezultate negative în caz de cancer, iar la indizii necancerosi a obținut la 105 seruri 3,9% reacțiuni pozitive și 96,1% reacțiuni negative.

R. Kraus, von Graff și Ranzi obțin o reacție pozitivă în 7%, negativă în 35%, dubioase în 4% a cazurilor de cancer sigur.

Metoda lui Freund-Kaminer este fructul unor studii de zeci de ani și evidențiază multe tulburări fizice-chimice în serul bolnavului. Ca reacțiune de diagnostic însă, ea prezintă serioase dificultăți practice, fiind foarte delicată și supusă la erori de interpretare, chiar în mâinile omului versat în mănuirea tehnicei ei.

Deaceia ea nu s-a putut impune ca metodă practică în diagnosticul serologic al cancerului.

Reacția lui Abderhalden.

Această reacțiune se bazează pe constatarea autorului, că albuminele străine sângelui unui individ dau naștere în serul acestuia la anumiți anticorpi de apărare, așa zisii „Abwehrfermente“ și „Schutzfermente“. Acești fermenți iau naștere nu numai când e vorba de albumine străine speciei, sau individului dar chiar când, pătrund în sângele acestuia albumine, provenite din diferite organe.

Wieland constatare încă în 1907 fermenți asemănători

produși de hidrați de Cărbon. El injectează, unui câine zaharoză în sânge și constată apoi puterea reductoare a serului, în urma prezenței dextrozei, provenită din dedublarea zaharozei.

Fiziologul din Halle a căutat să aplice fenomenul descoperit de el în diagnosticul sarcinei și a tumorilor, servindu-se de metoda dializei și a polarimetrului. În prima metodă, punând în prezență serul de studiat și elbuminele respective, se poate constata în dializat polipeptide și acizi aminați, rezultați din distrugerea progresivă a albuminelor de către fermenți.

În a doua metodă, planul luminii polarizate este deviat progresiv pe măsură ce anticorpii din serul distrug albuminele, puse în prezența lui.

Când serul nu conține fermenți, planul luminii polarizate este deviat numai la început, fixându-se sub un anumit unghi.

Acesta este principiul, tehnica realizării acestei reacțiuni este însă destul de complicată și nu s'a putut impune în practică.

Fränkel obține cu 40 seruri de canceroși numai 13 reacțiuni pozitive și cu 77 seruri de bolnavi necanceroși, el obține 21 rezultate pozitive.

Stephan după un examen de 380 seruri canceroase, concludă că metoda lui Abderhalden nu permite să stabilim în mod precis diagnosticul de cancer.

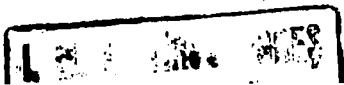
N. Fiessinger, W. O. Ettinger și P. L. Marie obțin în caz de cancer manifest o proporție de 61% reacțiuni pozitive și de 39% reacțiuni negative.

În afecțiuni necanceroase ei obțin 32% reacțiuni pozitive.

Reacțiunea lui A. H. Roffo.

În 1925 Profesorul *Roffo*, Directorul Institutului de Cancer din Buenos Ayres, publică o reacție extrem de simplă cu care savantul argentinian a obținut rezultate excelente. E vorba de reacția roșului neutru, care adăugat serului de canceros ar da o culoare roșie, pe când serul normal sau al unui bolnav de altă boală și-ar păstra în astfel de condiții culoarea obișnuită.

Tehnica este simplă: se adaugă la 1 cc. de ser 5 picături de roșu neutru marca Grüber, 0,5% și reacția



trebuie să aibă loc imediat. Roffo și Correa admit, că reacțiunea nu ar sta în legătură cu PH-ul serului ci atât cu modificarea fizico-chimică a acestuia și puterea de adsorbție a bioxidului de Carbon din ser, cât și cu calitatea roșului neutru de a fi un colorant vital.

Reacțiunea lui Roffo, pe cât este de simplă, are totuș neajunsurile ei. Nu este specifică, deși autorii argentinieni o susțin și nu este pozitivă în toate cazurile de cancer. Mai ales, în cazurile de cancer al pielii ea este aproape totdeauna negativă. Asta confirmă și Roffo și Correa.

De altfel, și eu am putut constata acest lucru în câteva cazuri de cancer al pielii întrebându-l roșul neutru marca Schering—Kahlbaum.

Correa obține 63,85% reacțiuni pozitive la canceroși și 100% reacțiuni negative la necanceroși. El ajunge la concluzia că reacția Roffo, deși nu este specifică, este un adjuvant prețios, care se alătură celorlalte metode de diagnostic (clinic, radiologic și anatomo-patologic).

Reacția lui Botelho.

Redau această reacție după modificarea lui Todesco—Pollak, procedeu pe care l-a întrebuițat și Dl. O. Comșia cu rezultatele expuse în teza D-Sale.

Todesco—Pollak crede foarte importantă acomodarea cantității serului întrebuițat de indicele refractometric a acestuia. Valoarea indicelui depinde de conținutul serului în albumină.

Tehnica acestei reacțiuni este următoarea: se pune într'o eprubetă 3 cc. dintr'o soluție acidă (acid nitric chimic pur de 360° Beaume 1 cc., ser fiziologic 100 cc.) și serul de studiat, pe care l-am corectat refractometric. Acestui amestec i se adaugă 0,5 cc. un soluția iodo-ioduată (iod metallic bisublimat 1 gr., iodură de K. 2 gr., apă distilată 200 gr.), se formează un precipitat care dispare la scuturare. Acest fenomen se repetă și la o a doua adăugare de 0,5 cc. de soluție iodo-iodurată; abea când precipitatul dispare, după ce am adăugat reactivul a treia oară, s-ar putea afirma că e vorba de un ser necanceros, iar în caz contrar reacțiunea va pleda pentru cancer.

Tedesco—Pollak obține cu această reacție 90,40% rezultate pozitive în caz de cancer, Marja Solecka numai 70%,

Correa 57,09%, iar O. Comșia 84% de rezultate pozitive. La necanceroși, ultimul autor obține 29,7% reacțiuni pozitive, iar Correa obține în acest caz 52% reacțiuni negative.

Reacția lui Kahn.

Acest autor publică în 1923 o reacțiune pentru evidențierea așa zisei „albumine A.” în serul bolnavului. Această albumină este hidrofilă și deci foarte solubilă în solvanții obișnuiți ai albuminelor. Ea este cea mai săracă albumină în triptofan și greu precipitabilă în soluțiuni. Se găsește în sânge, în organe și în toate secrețiunile, iar în caz de cancer ea se acumulează în tumoră.

Acest fapt are ca urmare o scădere importantă a acestei albumine în ser. Constatarea acestei scăderi plează deci pentru cancer.

Tehnica acestei reacțiuni este simplă: se lasă 3 picături de sânge să picure pe o hârtie de filtru, se taie aceasta hârtie în așa fel ca între sânge și periferie să rămână o zonă liberă $\frac{1}{2}$ cm. Se suspendă hârtia în aer spre uscare până ce hemoglobina din roșu trece în ușor gălbui.

Pentru a dizolva albumina A., ne servim de o soluție de sulfat de amoniu 37,2% din care punem 6,5 cc. într'o eprubetă, în care am pus hârtia îmbibată cu sânge. Punem eprubetele — pentru fiecare ser avem două probe — la 26° timp de 10 minute, apoi le încălzim în baie marină până la fierbere. După răcire, citim rezultatele, pe care autorul le clasifică în 4 grade după intensitate. Rezultatul e negativ, când lichidele sunt intens tulbure sau tulbure, slab pozitiv, când ele prezintă o tulburare mijlocie, pozitiv, când tulburarea este mică și intens pozitiv, când ele sunt opalescente sau clare. Examinarea se face în plină lumină, proiectând tubul pe un fond întunecat.

Tinozzi ajunge la o procentuație de 68% reacțiuni pozitive în cancer și 33% în alte boli.

Reacția lui Kopaczewski.

Această seroreacție se bazează pe constatarea autorului, că serul sanguin are proprietatea de a se gelifica prin adă-

ugarea unor acizi organici, în special a acidului lactic racemic. El atribuie acest fenomen prezenței în ser a unei cantități mai mari de globuline și stării lor fizice particulare.

Lactogelificarea depinde de calitatea și concentrația acidului lactic, de temperatura la care se lucrează și de calitatea serului, care trebuie să fie absolut clar și recoltat pe nemâncate.

Gelificarea serului normal este foarte variabilă, în medie ea durează 240 minute la 15° și 40 minute la 30°.

La canceroși, ea se face într'un timp foarte scurt, câteodată chiar și instantaneu. Autorul stabilește un „indice de neoformație“ (raportul dintre timpul de gelificare a serului normal și timpul de gelificare a serului canceroșilor) și obține 90% reacțiuni pozitive.

Guy nu obține aceleași rezultate la canceroși și împreună cu Gil'ier constată că reacțiunea este nespecifică fiind pozitivă și în lepră, sifilis, tuberculoză.

V. Dahnovici de la Institutul de Anatomie Patologică din Cluj, obține 18% reacțiuni negative în caz de cancer manifest și 25% reacțiuni pozitive la indivizi sănătoși.

Technica reacției este migăloasă și supusă la interpretări gresite din cauza variabilității mare în timpul de gelificare a serului normal.

Reacțiuni mai puțin importante, care au dat rezultate contradictorii și care au fost abandonate sunt :

Reacția de fixare a complementului.

Intradermoreacția.

Reacția de precipitare.

Reacția puterii antitriptice.

Reacția corpurilor anafilactice.

Reacția epifanică.

Reacția lui Thomas-Binetti.

În fine, mai este Reacția lui Ascoli și Izar și mai nou :

Klein și

Fuchs.

Reacția lui Max Aron.

I. Reacția cortico-suprarenală a cancerului.

Profesorul Aron a constatat în urina canceroșilor prin precipitare cu alcool un principiu X pe care l-a denumit „antigen“. Soluția acestui „antigen“, administrată la epuri, produce o reacție caracteristică a cortexului suprarenal prin aceea că diminuează conținutul în inclavări lipoidice a zonei fasciculate dând naștere astfel unei turtiri a celulelor și unei dezorganizări a trabeculelor acestor celule.

Din contra, administrarea de extract urinar a unui individ normal sau bolnav necanceros nu schimbă aspectul glandei în comparație cu fragmentul-martor al glandei, care a fost scos în mod operator înainte de tratament. Acest principiu specific, eliminat de rinichi, se comportă ca un antigen capabil să provoace în sânge formațiunea de anticorpi. Într-adevăr, serul unei oi sau al unui iepure tratat cu extractul urinar de canceros și administrat unui iepure nou, imunizează pe acesta în contra acțiunii aceluiaș extract urinar, cel puțin în măsura că împiedecă manifestarea reacțiunii cortico-suprarenale.

O statistică publicată de autorul reacțiunii împreună cu Stolz, Weiss și Kuntzmann au dat 90% rezulta'te concludente în afecțiuni canceroase și necancerose fără ca autorii să fi știut în prealabil diagnosticul. Cele 10% erori sunt în legătură cu greutățile tehnice, foarte delicată, în special cu citirea preparatelor.

Faptul acesta nu a îngăduit autorului să acorde o valoare practică absolută acestei reacțiuni, îndemnându-l să o traspună pe terenul serologic.

II. Reacția serologică a cancerului.

A. Baza teoretică.

Se știe că punerea în prezență a unui antigen și a anticorpilor specifici, care îi corespund, este capabilă să

determine o reacțiune de opacifiere sau de floclare. Principiul X constatat de autor pare a fi inezestrat cu calități de antgen.

Presupunând că sângele canceroșilor ar putea conține anticorpi și că amestecul de soluție de „antigen” și ser de canceros ar da naștere unei floclări, Profesorul Aron a făcut cercetări în acest senz. Experiențele au reușit pe deplin, confirmând ipoteza. D-Sa ține însă să precizeze, că nu consideră de loc ca definitiv demonstrate calitățile antigenice ale principiului X și prezența de anticorpi în sângele canceroșilor.

Totul se petrece însă, ca și cum am avea de aface într'adevăr cu o reacție între principiile de acest fel.

Dacă însă, reacțiunea apare evidentă, mecanismul ei intim rămâne încă să fie clarificat. Deci numai din motive de comoditate a terminologiei și în mod provizoriu autorul numește „antigen” principiul extras din urina canceroșilor.

B. Bazele tehnice ale reacțiunii.

Tehnica acestei reacțiuni comportă următoare'e puncte :

1. Prepararea antigenului.
2. Amestecul soluției de antigen și a serului de studiat.
3. Condițiile reacțiunii.
4. Modalitățile de citire ale reacțiunii.

1. Prepararea „antigenului”.

„Antigenul” se prepară din urina canceroșilor, oricare ar fi natura și localizarea cancerului. Unui volum de urină proaspătă, prezervată de orice putrefacție, i se adaugă 3 volume de alcool 95°. Precipitatul cules prin centrifugare, este uscat cu grijă la vid. Pentru un litru de urină, se obține o cantitate de extract uscat, care variază între 1—4 gr.

În momentul întrebuițării, se disolvă o cantitate anumită de extract urinar în ser fiziologic călduț (o soluție de clorură de Na. de 8‰ în apă bidistilată). Procentul mijlociu optim este de 3 gr. extract sec pentru 100 cc. ser fiziologic, însă acest procent este susceptibil să varieze de la un-extract la altul. Procentul de 2‰ este câteodată suficient, alteori este necesar de a-l ridica la 4‰. Se agită timp mai

îndelungat (cel puțin 2 ore). Soluția, care lasă un important reziduu insolubil, este filtrată. Prezența fosfaților alterează reacția. Pentru a-i elimina se adaugă filtratului câteva picături de amoniac (aproximativ 10 picături la 100 cc.). Fosfații precipitați, sunt filtrați. Filtratul este readus la PH-ul 6,6 prin adăugare de acid acetic. Soluția este astfel aptă de a fi utilizată. Ea trebuie să fie perfect clară și să nu se tulbure prin căldură. Prezența albuminei constituie un obstacol în întrebuințarea ei, este însă rar ca un extract, preparat dintr'un amestec de cantități importante de urină de diverși bolnavi, să conțină albumină în așa măsură, încât căldura să provoace o opalescență sau o precipitare. Pe de altă parte, este indispensabil pentru ca să stabilim o tehnică „standard“, ca să dispunem de o cantitate importantă de extract, pregătit din urina mai mult bolnavi de cancer evoluat și manifest.

2. Amestecul soluției de „antigen“ cu serul.

Serul este cules prin centrifugarea sângelui coagulat, care a fost obținut în mod aseptice. Serul trebuie să fie absolut limpede și este conservat în mod steril la gheață. În momentul întrebuințării este inactivat la baie marină la 57° timp de 20 minute.

Măsurăm cu pipeta în tuburi de sticlă cu 1 cm. diametru câte 1 cc. de sol. de antigen.

Pentru fiecare caz de studiat se adaugă într'unul din tuburi 0,35 cc. și în altul 0,40 cc. de ser. Ar putea să fie util să se adauge alte tuburi cu cantitățile respective de 0,30 cc. și 0,40 cc.

Amestecurile se omogenizează.

3. Condițiunile reacțiunii.

Reacția cancerului se face încet. Tuburile sunt puse la termostat la 38° sau mai bine la 45° și lăsate la această temperatură 15—16 ore, ca reacția să se „prindă“, iar apoi scoase ca reacția să se matureze la temperatura ordinară.

Citirea se face după 24 ore dela începutul experienței. Se întâmplă că după acest termen reacția să se accentueze încă.

4. Modalitățile de citire ale reacției.

În caz de cancer se produce în toate amestecurile antigen-ser, sau în unele din ele cu predominanță, o reacție de floculare.

Floculatul tinde să se sedimenteze. Deaceia trebuie să agităm puternic tuburile înainte de citire, care se face la o lampă electrică, al cărei abat-jour se interpune între sursa luminoasă și ochi.

Serurile necanceroșilor pot să se comporte în două feluri: sau amestecul lor cu soluția de antigen rămâne limpede, sau el este sediul unei floculații care este în general mai slabă și mai tardivă decât reacțiunile specifice ale cancerului, însă care totuși ar putea da naștere la interpretări greșite, dacă nu am putea să le deosebim de acestea din urmă.

Pentru a atinge acest scop, se practică citirea reacțiilor prin comparare cu amestecuri-martore unde toate condițiunile sunt identice celor expuse mai sus, afară de faptul că soluția de antigen a fost încălzită în prealabil la 95° timp de o jumătate de oră. Se împarte deci soluția de antigen în două jumătăți egale, din care una servește pentru tuburile de reacție, iar cealaltă pentru tuburile-martore.

În caz de cancer, conținutul tuburilor-martore trebuie să rămână absolut limpede. În caz de afecțiune necanceroasă, el încă rămâne limpede, dacă acel al tuburile de reacțiune este și el limpede. Dacă însă, în acestea din urmă se produce o floculare, ea se produce și în tuburile martore, ceea ce arată că ea nu prezintă nici o specificitate.

Diagnosticul se bazează deci în mod esențial pe confruntarea tuburilor de reacțiune și a tuburilor martore.

C. Cauze de erori în tehnica de bază a reacțiunii.

Două grupe de cauze de erori sunt susceptibile să intervie în aplicarea metodei, care a fost expusă. Primele sunt în legătură cu materialul utilizat, celelalte cu citirea rezultatelor.

În cece privește materialul utilizat, curățenia chimică și asepsia lui trebuie să fie absolute.

Curățenia chimică este asigurată în modul următor. Sticlăria (flaçoane, pânii, eprubete gradate, etc.) este cură-

fiță cu acid sulfo-cromic, apoi cu apă distilată. Pipetele, după o ședere în apă ordinară, pe urmă în acid sulfo-cromic, sunt spălate la un curent de apă distilată. Tuburile destinate amestecului antigen-ser, a căror curățenie importă în special, sunt, după curățire cu acid sulfo-cromic și spălare, supuse, timp de vre-o 5 minute fiecare, acțiunii vaporilor de apă fierbinte, mulțumită unui dispozitiv de tuburi în formă de U dublu, din care o ramură trece prin dopul unui balon, unde apa fierbe, pe când ramura liberă-verticală este acoperită de tub.

Aceasă precauție se aplică tuburilor destinate eventual să conțină serul sanguin pentru inactivare.

Asepsia bacteriologică este asigurată printr'o ședere de o jumătate oră a materialului la etuva la 160°. Tuburile sunt astupate cu vată sterilă.

Lipsa acestor precauțiuni, cât și întrebuițarea de seruri tulbure, murdărite sau intens hemolizate, este în stare să producă reacțiuni greșite.

În ceea ce privește citirea rezultatelor, cauza de eroare mai gravă rezidă în interpretarea reacțiilor respective în tuburile de reacție și în tuburile-martore.

În caz că în primele se produce o reacțiune netă, iar ultimele rămân lipsite de orice reacție, diagnosticul de cancer nu întâmpină nici o greutate. Se impune de altă parte diagnosticul contrar, în caz că conținutul tuburilor de reacțiune rămâne limpede. Însă se întâmplă că o afecțiune necanceroasă producând în tuburile de reacțiune o reacțiune, aceasta să nu aibă drept urmare o reacțiune absolut identică în tuburile martore. Aceasta poate să fie mai discretă și să nu se producă pentru exact aceleaș proporții de ser. În acest scop s'ar putea reincepe experiența, exagerarea însă a acestei cauze de erori, adică reacțiune intensă în tuburile de reacție și una slabă în tuburile martore, ar putea să ducă în mod greșit la diagnosticul de cancer.

Deacea autorul a căutat să atenueze această dificultate, încălzind soluția de antigen destinate tuburilor de reacție la 70° timp de 5 minute, tinzând astfel să egaleze mai mult condițiile realizate în tuburile de reacție și în cele martore, din punct de vedere al reacțiilor date de anumite seruri necanceroase.

Această, încălzire face mai rare reacțiunile nespecifice.

Deși totalitatea rezultatelor obținute în condițiile de mai sus s'a arătat încurajătoare și că la mai multe sute de experiențe autorul a avut mai mult de 90% rezultate exacte,

totuș el a considerat că aplicarea practică a acestei metode cere mai multă precizie încă și că sub rezerva distrugerii antigenului în soluția martoră, ambele soluții trebuie să fie absolut identice.

În ultimele luni, autorul a reușit să introducă o modificare de tehnică foarte promițătoare și care îi permite să atingă scopul urmărit.

D. Acțiunea anumitor săruri metalice asupra „Antigenului“ urinei canceroșilor. Aplicarea serologică.

Profesorul Aron încercând efectul anumitor săruri metalice asupra reacției serologice a cancerului, a făcut constatarea că adăugarea de sulfat de cupru în cantități foarte slabe soluției de antigen, stabilizează pe acesta din urmă și-l face rezistent față de acțiunea căldurii. Încălzirea la 95° timp de 45 minute a unei soluții astfel tratate, lasă să subziste acțiunea ei specifică.

Autorul a obținut rezultate asemănătoare cu sulfatul de fer, cu cianura de mercur și interpretează acest fenomen prin formarea unui complex sau a unei combinații termostabile antigen-metal. Iată modul cum înțelege autorul să se servească de aceste proprietăți ale sărurilor metalice ca să obțină cu noua modificare în tehnica reacțiunii serologice rezultate de „o constanță remarcabilă“.

Soluția extractului urinar, preparată după modalitățile care au fost indicate mai sus, este împărțită în două jumătăți. În una din aceste jumătăți, se adaugă cu pipeta numărul picăturilor unei soluții de sulfat de Cu. de 0,5%, necesare pentru ca 1 cc. a soluției de antigen să conțină cel puțin 35—40 gamma din soluția de cupru. De ex: dacă 1 cc. din soluția de sulfat de Cu. corespunde la 20 picături, se va adăuga în 25 cc. de soluție de antigen 4—5 picături din soluția de sulfat de Cu. 0,5%.

Cuprul sensibilizează foarte mult reacția și deaceia se poate micșora deseori la 2,5% sau 2% procentul de extract urinar dizolvat în ser fiziologic. PH-ul optim pentru acțiunea cuprului este între 6,4—6,6. În mediu mai acid, acțiunea lui se atenuază până la dispariție.

Cele două părți de antigen sunt încălzite apoi la baia marină la 95 grade timp de 30—40 minute. Partea fără cupru este destinată tuburilor martore, iar cea cu cupru, tuburilor de reacțiune. Unele eșantioane de antigen dau la în-

călzire cu cupru, când cantitatea acestuia este exces, o opalescență (cum era și în cazul meu), care diminuează după șederea în etuvă și nu constituie o cauză de eroare. Mai departe, tehnica este aceeași care a fost descrisă mai înainte.

E bine pentru a fixa de la început condițiile experimentale și mai ales procentul optim al soluției de antigen, de a întrebuița seruri sanguine „etaloane“, provenite de la bolnavi atinși de cancer înaintat și de la indivizi care în mod sigur sunt indemni de cancer.

„Rezultatele sunt extrem de specifice“ spune autorul. Serurile de canceroși dau o floculație cu grăunțe foarte fine care se maturează progresiv până ce devine perfect vizibilă la lumina electrică indirectă, fără ajutorul vre-unui procedeu artificial. E important să agităm intens tuburile pentru a pune în evidență floculatul în suspensie.

Serurile bolnavilor necanceroși lasă amestecul perfect limpede. Numai serurile învechite, hemolizate sau conținând impurități sunt susceptibile de a da reacțiuni nespecifice. Iată de ce întrebuițarea de amestecuri martore — unde aceste reacțiuni apar în același fel, pe când reacțiunile specifice ale cancerului nu se produc niciodată în ele — rămână indispensabilă.

Această tehnică posedă față de tehnica de bază expusă la început avantajii evidente: specificitate strictă a reacțiilor, identitate perfectă a condițiilor realizate în tuburile de experiență și în tuburile martore, în afară de prezența antigenului în primele și absența sa în ultimele.

Un alt avantaj este constanța rezultatelor.

Proprietatea anumitor metale, a cuprului în special, de a stabili antigenul la cald și de a sensibiliza reacția cancerului, permite de a înțelege oportunitatea de a întrebuița întotdeauna pentru a fabrica serul fiziologic, apă strict bidistilată în aparate de sticlă. Proprietatea acestor metale explică de ce în caz de cancer soluțiile martore, cu antigenul încălzit la 95 grade au fost sediul unor reacțiuni însemnate deseori, pe când baza metodei implică absența totală a acestor reacțiuni. Autorul și-a dat seama de atunci că utilizarea apei distilate în aparate comportând țevărie metalică era vinovată de această nestatornicie a rezultatelor, din cauza prezenței în apă a urmelor neneglijabile de impurități metalice și în special de cupru.

Autorul neaplicând noua metodă, bazată pe întrebuițarea antigenului stabilizat cu cupru, decât de prea puțin timp, nu poate prezenta încă o statistică completă a cazurilor examinate.

El semnaleză numai că la vre-o 40 cazuri de cancer, reacția nu a fost negativă decât odată. În acest caz, era vorba de un sarcom limfoblastic constatat ulterior la examenul histologic.

La vre-o 60 de cazuri de bolnavi necanceroși, ea nu a fost niciodată pozitivă. Autorul a mai obținut o reacție negativă și la un sarcom uterin și se întreabă dacă nu ar fi indicat ca, în vederea diagnosticului de sarcom, să se prepare un „antigen“ preparat eventual din urina de bolnavi atinși de această formă de tumoră.

Rezultatele pe care le-am obținut eu cu această reacție, întrebunțând ultima modificare a tehnicii ei, sunt expuse în micul tablou de mai jos. Am urmat exact tehnica prescrisă, folosindu-mă de un material riguros aseptice și lipsit de impurități chimice.

Serurile ținute sterile la gheață, pot prezenta un ușor grad de hemoliză fără ca citirea ulterioară a rezultatelor să fie îngreunată. Cu atât mai mult cu cât serul acesta adăugat fiind soluției de antigen, amestecul se prezintă perfect transparent!

Tabloul de mai jos arată, deși statistica mea e foarte modestă, că rezultatele mele concordă perfect cu cele ale autorului reacțiunii.

Se impune însă o verificare mai largă, pe care împrejurările din ultima clipă m-au împiedecat să realizez, așa cum îmi propusesem.

Nr.	Diagnostic clinic	Reacția Aron
Seruri de canceroși		
1.	E. S. 52 ani, metastază gangl. de la buză.	pozitivă
2.	C. I. 47 ani, cc. al. feji	pozitivă
3.	D. I. 63 ani, cc. al reg. sprîncenoase	pozitivă
4.	F. I. 62 ani, cc. uterin	pozitivă
5.	A. R. 53 ani, cc. al mamelei	pozitivă
6.	F. M. 50 ani, cc. 11. reg. orbitare	pozitivă
7.	N. R. 70 ani, cc. al reg. malare	pozitivă
8.	B. I. 67 ani, metastază gg.	pozitivă
9.	S. G. 48 ani, cc. al buzei	pozitivă
10.	M. M. 38 ani, cc. al mamelei	pozitivă
Seruri de necanceroși		
1.	D. I. 65 ani, insuf. mitrală, hipertensiune	negativă
2.	S. A. 23, ani, nihil	negativă
3.	W. S. 23 ani, nihil	negativă



CONCLUZIUNI

1. Există numeroase reacțiuni serologice destinate diagnosticului precoce al cancerului.

2. Ele constituie rezultatul unor îndelungate studii ale tulburărilor bio-fizico-chimice, ce se produc în organismul unui bolnav de cancer.

3. Aceste tulburări sunt precoce și precedează cu ani de zile debutul clinic al bolii.

4. Totuși, diferitele reacțiuni serologice ale diversilor autori, având tehnici mai mult sau mai puțin delicate, nu au reușit să evidențieze schimbările specifice ce se petrec în serul cancerosului.

5. Ele nu sunt deci absolut specifice.

6. Reacția lui *Max Aron* se bazează pe constatarea de către autor a unui „antigen“ în urina bolnavilor de cancer. Extractul uscat al acestei urine, disolvat și pus în prezența serului de canceros, produce o reacție de floculare.

7. Această reacție permite ipoteza unor anticorpi în serul bolnavului de cancer epitelial, oricare ar fi natura și sediul acestuia.

8. Acest fapt, permite de a concepe o anumită unicitate a maladiei canceroase și existența unor caractere comune tuturor formelor de cancer, cu toată diversitatea localizărilor și a formelor istologice, pe care această maladie și le poate însuși.

9. Sărurile de metal și în special sulfatul de cupru, stabilizează „antigenul“ și sensibilizează reacția, așa că rezultatele sunt extrem de constante și de specifice în mâinile autorului ei.

10. Lucrarea de față confirmă, în măsura puținelor căzuri examinate, rezultatele autorului.

11. Seroreacția Aron, prin simplitatea executării și specificitatea ei, pare a fi susceptibilă să intre în practica diagnosticului de laborator al cancerului.

Cluj, 20 Octombrie 1938.

Văzută și bună de imprimat:

Decan:

Prof. Dr. M. Sturza.

Președintele Tezei:

Prof. Dr. I. MOLDOVAN.



BIBLIOGRAFIE

- E. Abderhalden*: Die Abwehrfermente. Berlin. Iulius Springer 1914.
- M. Aron*: Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences.
t. 203, p. 1550, sedința din 20 Dec. 1936.
- M. Aron*: Comptes rendus des séances de la Société de Biologie. Société de Biologie de Strasbourg, ședința din 15 I. 1937 — t. CXXIV anul 1937 pag. 373 — Ședința din 9 Iulie 1937. — t. CXXVI anul 1937 p. 470.
- M. Aron*: Méthode sérologique pour la mise en évidence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang des cancéreux. „La Press Médicale“ 1934 Nr. 41; 1935 Nr. 28; 1935 Nr 52; 1937 No. 80.
- M. Aron*: Recherches sur l'existence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang des cancéreux: „Bulletin des Biologistes Pharmaciens“ an 1938 Nr. 40.
- F. Blumenthal*: Ergebnisse der Experimentellen Krebsforschung und Krebstherapie. — Leyden 1934.
- Ios. Choleva*: A. H Roffo's N. R. R. und E. Freund'sche Kutanreaction bei der Krebskrankheit. LIBRO d'ORO-ROFFO.
- O. Comșia*: Contribuțiuni la Studiul Cancerului. Teză de Doctorat Cluj 1928.
- I. Correa*: Roffo's N. R. R. Zeitschr. f. Krebsforschung. 1929 Bd. 29.
- L. Correa*: Roffo's N. R. R. Zeitschr. f. Krebsforschung. 1929 Bd. 29.
- V. Dahnovici*: Seroreacție de Lactogelificare Kopaczewski la bolnavi cancerosi și la indivizi normali. „Clujul Medical“ Nr. 5 — 1938 p. 292.

- L. E. Delaporte*: Contributions a l'Étude du Sérodiagnostic du Cancer. Thèse de doctorat — Paris 1923.
- E. Freund*: Neuere Karzinomprobleme W. Med. Wochenschr. 1934. Nr. 12; W. Kl. Wochenschr. 26/935; Nr. 35°937.
- H. Kahn*: Kl. Wochenschr. 1923 pag. 1364; 1924 Nr. 21 și 34.
- J. Kretz*: Reacția lui Freund—Kaminer — „Cancerul“ Nr. 4/934. W. Kl. Wochenschr. Nr. 29/937.
- P. Oppenot*: Contribution a l'étude de la réaction d'Abderhalden. Thèse de Doctorat Paris 1930.
- O. Stanca*: Diagnosticul serologic al cancerului „Cancerul“ An. V. Nr. 3/937.
- Tinozzi*: Zeitschr. f. Krebsforschung Bd. 28 s 128.

