

REACCION DE GALLI MAININI PARA EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL EMBARAZO

Por el doctor Gilberto Angel Mejía

La reacción de Galli Mainini efectuada en batracios machos para el diagnóstico precoz del embarazo, se deriva del conjunto de trabajos realizados por Houssay y su escuela, quienes desde el año de 1922 venían trabajando en forma intensa e ininterrumpida, sobre anatomía histológica y fisiología gonadales, observando las relaciones entre éstas y las gonadotrofinas en diversos batracios. En el año de 1929 hallaron la liberación de los espermatozoides en el testículo del Bufo arenarum Hensel, por la estimulación de las gonadotrofinas hipofisarias y aunque numerosos trabajos se publicaron al respecto en los años posteriores, sólo en marzo de 1947 Carlos Galli Mainini publicó su primer trabajo, realizado sobre 19 casos, marcando el primer eslabón en esta reacción que ha sustituido a cuantas se han aplicado para el diagnóstico precoz del embarazo, por su exactitud y rapidez.

El fundamento de la reacción reposa en la especificidad que tiene la gonadotrofina coriónica, presente en la orina de mujer embarazada, sobre el testículo del sapo, haciendo liberar las células de Sertoli; éstas sufren una serie de transformaciones, cuyo resultado es el desprendimiento de los espermatozoides quedando libres en la luz de las ampoillas seminíferas, desde donde inician su migración al exterior.

El procedimiento para efectuar la reacción consiste, en inyectar 10 cm³. de orina en el saco linfático lateral, dejar el animal en reposo 2 a 3 horas y luego tomar de la cloaca unas gotas de orina que se examinan al microscopio. En caso de positividad, se ven los espermatozoides del sapo en medio de su orina y en caso negativo no están estos elementos presentes.

Muestras de orina.

La mujer con cuya orina se efectuará la reacción, no necesita someterse a ningún régimen especial ni tampoco se requiere que suspenda ningún tipo de medicación a la cual esté sometida, aun en casos de terapéutica hormonal con estrógenos, progesterona o gonadotrofinas. Referente a éstas últimas si se consideran las dosis comunmente empleadas y aun suponiendo que toda la cantidad inyectada se elimine en las 24 horas por vía urinaria, el contenido de 10 cm³. será siempre insuficiente para provocar respuesta positiva en el animal. La recolección de la orina puede hacerse en cualquier momento, aunque es preferida la orina de la primera micción matinal. No es necesario filtrarla, no necesita precauciones de esterilidad el recipiente, su pH no tiene influencia sobre la reacción y sobre la duración de la actividad gonadotrófica de la orina de mujer embarazada, se ha comprobado que guardan la actividad suficiente para provocar reacciones positivas aún 10 días después de emitirlas conservadas a temperatura ambiente sin preservativos de ninguna especie. Este punto fue estudiado por Galli Mainini quien aplicó el método cuantitativo para determinar diariamente la potencia gonadotrófica en orinas estacionadas a temperatura ambiente entre 14° y 18° como también a 4°. En ninguno de los casos se empleó precaución alguna para impedir la proliferación microbiana o inhibe los procesos de fermentación. Los resultados demostraron, que aún 10 días después de emitida la orina, conserva una actividad gonadotrófica igual, tanto en las que se conservan a bajas temperaturas como en las que se conservan a temperatura media. Mayer, Govi y Flórez han trabajado con orinas conservadas a una temperatura entre 22° y 26° durante 7 días y también encuentran resultados positivos después de este lapso, sacando la siguiente conclusión: "Debemos destacar que los procesos de fermentación en la orina no afectaron la vida del batracio, quedando demostrado que la actividad biológica de la gonadotrofina coriónica en orinas envejecidas, mantenidas a la temperatura ambiente expresada, persiste por un largo tiempo (7 días determinado) siendo factible se prolongue por varios días más, pero que nosotros no hemos determinado". Por otra parte Gandolfo Herrera y Sauri comprobaron, que el calentamiento a 35° no afecta su actividad, pero sí cuando se sobrepasen los 70°.

Tiempos mínimo y máximo en las reacciones.

La observación microscópica de la orina del sapo, puede hacerse en cualquier momento a partir de los 30 minutos de inyectados, que es

el tiempo mínimo en el que se han obtenido resultados positivos. Se acepta que en buenas condiciones el 100 por 100 de respuestas positivas ocurren dentro de las tres primeras horas de la inyección, positividad que persiste en forma continua durante más de 24 horas.

Especificidad de la reacción.

De acuerdo a la numerosa estadística presentada por el autor, la respuesta del sapo macho es específica solamente para las gonadotrofinas de origen corial, aunque experimentalmente se ha logrado obtener respuestas positivas con gonadotrofina sérica, hipofisiaria, equina, hipofisiaria de vacuno, pero usando productos muy purificados y en dosis elevadas. Se ha experimentado con hormona foliculo estimulante hipofisiaria de mujer ovariectomizada o en menopausia, estrógenos, benzoato de estradiol, etilbestrol, progesterona, propionato de testosterona, desoxicorticosterona, pitressina, tiroxina, prolactina, adrenocorticotrofina, adrenalina, suspensiones crudas de hígado, riñón, suprarrenales, bazo, corazón, músculo y estómago de sapo, ácido ascórbico, acetil-colina, acetato de cobre, yohimbina, azul de metileno, sulfato de zinc, sin ninguna respuesta positiva. Hasta el presente, no se ha observado ninguna reacción falsamente positiva. Sobre un total de 2.064 reacciones verificadas en personas que con certeza se podía afirmar la ausencia de embarazo, la exactitud fue del 100 por 100 y la estadística acumulada en los casos de embarazos de poco tiempo suman 3.079 reacciones. El número de positivos confirmados es de 2.027 y el porcentaje de resultados correctos varía entre el 98,16 por 100 al 100 por 100.

Precocidad de la reacción.

La reacción diagnóstica en el sapo parece ser sumamente precoz en relación al tiempo de amenorrea. Sobre 106 casos estudiados todos con amenorrea menor a 20 días y entre los que en 80 la amenorrea era inferior a 15 días, se obtuvieron resultados positivos en los que posteriormente se comprobó el embarazo por el estudio clínico. El tiempo mínimo de amenorrea era de 4 días y en 21 casos la amenorrea era de 9 días.

Resultados comparativos con la reacción de Friedman.

Sobre 1.674 reacciones efectuadas simultáneamente en la coneja y el sapo, se ha podido comprobar que la reacción en el batracio macho

es de una mayor exactitud; en la mayoría de los casos reacciones correctas en el sapo, lo eran también en la coneja, pero las discordancias observadas están a favor de la reacción de Galli, posiblemente debido a las condiciones previas de la coneja, como peso, edad, aislamiento individual, etc., requisitos que pueden falsearla inadvertidamente. En la serie de Galli-Mainini figuran 368 reacciones practicadas simultáneamente en el sapo y en la coneja con 14 defunciones. Del resto, es decir en 354 reacciones hay 27 no coincidentes, con 23 casos en que la respuesta del sapo fue correcta, en 2 lo fue la Friedman y en 2 no pudo establecerse cual de las reacciones era exacta. Pinto y Suer Boero hallaron 9 resultados no concordantes. En 7 casos el resultado de la Friedman fue equivocadamente negativo y el sapo correctamente positiva. Sala, Jachesky y Colotta encontraron 3 reacciones no coincidentes en las cuales 2 eran respuestas correctas positivas en el sapo. Merchante, encontró coincidencia de resultados en 42 sobre 45 reacciones simultáneas, analizando así la discordancia. Un resultado negativo incorrecto en el sapo en el que la observación no se prolongó más de tres horas. Un resultado positivo correcto en el sapo y un resultado negativo incorrecto en el sapo, que posteriormente repetido dió respuesta positiva, comprobándose más tarde la presencia de un embarazo ectópico. "En 50 reacciones simultáneas afectuadas por Hutz, hubo un caso discordante en que la Friedman era erróneamente negativa. Repetida la reacción de Friedman fue nuevamente negativa y el sapo positivo. Sólo 15 días más tarde, la tercera reacción de Friedman dió resultado positivo cuando la de Galli lo había sido más precozmente.

En el embarazo ectópico.

De gran utilidad porque además de la rapidez en la respuesta que puede acelerarse manteniendo al animal en condiciones óptimas y a una temperatura constante de 30°, con la inyección de orina obtenida en cualquier momento del día y en concentraciones variables, se han obtenido resultados muy halagadores, pues de 55 casos observados, 50 dieron resultados correctos.

En la mola hidatiforme.

Los resultados obtenidos hasta el presente son dispares, el número de reacciones es escaso por lo que merece más estudio a fin de llegar a conclusiones definitivas. Galli encuentra dos casos correctos y Pou de Santiago 8, Pinto y Suer Boero estudian la precocidad de la nega-

tivización después de la expulsión en dos casos, haciendo sospechar a los autores que en esta afección la reacción de Galli se negativiza más precozmente que las de Friedman y Ascheim Zondek. Personalmente comprobamos un caso en que se sospechaba clínicamente una mola hidatiforme. La reacción cuantitativa presentaba una concentración superior a 320.000 unidades internacionales por litro, llamándonos la atención, la rápida respuesta del sapo y su excesiva positividad. Más tarde comprobamos tanto al examen macroscópico como histológico el diagnóstico sospechado de Mola Hidatiforme. En este caso particular obtuvimos una reacción cualitativamente positiva, con la inyección al sapo de 7 cc. de líquido cefalo-raquídeo extraídos a la paciente antes de la intervención.

En el corio-epitelioma.

Hasta el presente pocas estadísticas encontramos. Blanchard y Bretto observaron en 1947 un caso concordante con la reacción de Friedman y hasta el momento la estadística de Galli está en estudio. Al presentar la reacción cuantitativa paralelismo con la de Friedman en los pocos casos que hemos tenido la oportunidad de apreciar, creemos que en el futuro sea de gran utilidad, esperando mayor oportunidad de su estudio para lograr alguna conclusión.

En la amenaza de aborto.

Galli obtuvo casos positivos de los que en 5 se comprobó el embarazo por el estudio histológico del material expulsado y en dos por la evolución posterior del embarazo.

En el aborto incompleto.

Figueroa Casas, Pinto y Pou de Santiago, citan 7 casos con la totalidad de resultados correctos.

En el aborto completo.

Galli Mainini obtuvo 4 respuestas positivas en 4 observaciones una de ellas a las 24 horas de producirse y 3 a las 48 horas. Hutz en dos casos de aborto provocado obtuvo resultados negativos a las 5 y 6 horas después de la expulsión y en un tercer caso la respuesta era positiva a las 8 horas pero negativa a las 10 horas de producirse el aborto. Hasta el momento a pesar de la corta estadística publicada por

los diversos autores, parece que la reacción de Galli es de valor como diagnóstico y pronóstico en las diversas fases del aborto, como lo demuestran los resultados obtenidos.

En embarazo con feto muerto y retenido.

En un caso relatado por Hutz la paciente con 7 meses de embarazo dejó de percibir movimientos fetales durante 10 días y la auscultación era negativa. La reacción de Galli dió resultado negativo y 5 días más tarde la gestante comunicó su seguridad de sentir nuevamente movimientos fetales. La reacción repetida en este momento dió resultado negativo, comprobándose posteriormente la exactitud de la reacción por la expulsión de un feto muerto con signos de su muerte tiempo atrás.

En la eclampsia.

En 6 casos los resultados han sido positivos. En esta entidad a veces se observa la precocidad e intensidad de la reacción. Pou de Santiago relata un caso en que la positividad era de gran intensidad sólo a los 30 minutos y con 1 cm³. de orina inyectada.

En el período de lactancia.

Los casos recopilados por Galli, Pou de Santiago y Figueroa. Casos en mujeres amenorreicas y en lactancia han sido coincidentemente negativos con ausencia de embarazo e igualmente han sido concordantemente positivos, en amenorreas y lactancia en los que posteriormente la evolución del embarazo fue confirmada.

Reacción cuantitativa.

Dada la importancia clínica de determinar cuantitativamente la cantidad de gonadotrofinas coriónicas eliminadas, en unidades internacionales, Galli Mainini ha tratado de establecer este método en su reacción el que teóricamente podría hacerse apreciando el tiempo que transcurre entre la inyección de una determinada cantidad de orina y su respuesta en el sapo, apreciando numéricamente, la cantidad de espermatozoides que se encuentran en el campo microscópico un tiempo fijo después de inyectar determinada cantidad de orina o finalmente valorar la cantidad mínima de orina necesaria para producir respuesta positiva en una serie de sapos, con cantidades decrecientes de material, método que sin ser perfecto, como afirma Galli, ofrece mayores

garantías que los anteriores. Valorando la dosis mínima de gonadotrofina coriónica en unidades internacionales capaz de producir respuesta positiva, encontró que esta dosis en su serie es de 40 U. I. aproximadamente por cm³. En 72 determinaciones cuantitativas, los resultados demuestran que la mayor concentración gonadotrófica se encuentra en orinas donde el embarazo está entre el 1 y 3¼ meses encontrando en 4 casos una concentración hasta de 320.000 U.I. por litro con embarazos clínicamente normales.

La determinación cuantitativa continúa en estudio ya que dada la gran sensibilidad del sapo a la gonadotrofina coriónica, no se han podido sacar conclusiones definitivas. Personalmente y en los casos que hemos tenido la oportunidad de observar, creemos que es de gran valor, en el control de embarazos donde hay antecedentes de mola hidatiforme y en la sospecha clínica del corioepitelioma donde el aumento progresivo en unidades gonadotróficas es de un valor indiscutible.

Conclusiones.

Según los datos recopilados por el autor de la reacción, Carlos Galli Mainini y los que se han ocupado de su estudio, se demuestra que sus características la hacen superior por su especificidad y demás características, a las reacciones hasta hoy conocidas.

El animal usado en el Valle del Cauca es el sapo macho científicamente denominado BUFO MARINUS según la clasificación hecha por Emmett R. Dunn Haverford College-Pensilvania, U.S.A.

La reacción de Galli es de gran precocidad diagnóstica, observándose resultados correctamente positivos que han tenido su confirmación ulterior, en amenorreas de sólo 4 días.

La especificidad es completa, ya que orinas de mujeres no embarazadas, normales, ovariectomizadas, en menopausia, prepúberes o con las más diferentes afecciones, nunca han dado respuestas positivas como tampoco en orinas de niños y hombres adultos.

La exactitud de los resultados está comprobada por numerosas estadísticas, que según los autores muestra de un 98,16 por 100 a 100 por 100 de resultados correctamente negativos y 100 por 100 de positivos correctos.

Esta reacción es la más rápida en su respuesta de las existentes hasta hoy día. Algunas respuestas positivas se obtienen dentro de la primera hora de la inyección, el 80 por 100 a la segunda hora y casi la totalidad dentro de las tres horas, aunque es factible ver, reacciones positivas hasta las 24 horas caso sumamente raro, cuando se tienen

los animales a temperatura conveniente. A los 8 días de inyectado el animal se ha negativizado totalmente.

Al ser elemento de juicio para su positividad la presencia de espermatozoides del sapo, no hay posibilidad de error por falsa apreciación subjetiva.

La reacción cuantitativa aplicada en la mola hidatiforme y corioepitelioma, continúa en estudio pero los casos observados, hasta el presente prometen ser tan halagadores como los estudiados hasta el presente en el embarazo normal y donde se aplica la reacción cualitativa.

Cali, agosto 19 de 1949.

BIBLIOGRAFIA:

Galli Mainini Carlos: Comunicaciones personales dadas en Buenos Aires años 1948-49.

Galli Mainini Carlos: Reacción diagnóstica del embarazo en la que se usa el sapo macho como animal reactivo. *Semana Médica*.

Galli Mainini Carlos: Ovulación del Bufo Arenarum. 1947. 54-337. con gonadotrofina coriónica. *Rev. Sec. Argent. Biol.* 1947-23.

Galli Mainini Carlos: Reacción diagnóstica de embarazo y acción de las gonadotrofinas en el sapo macho. *Sem. Médica*. 1947. 54-447.

Galli Mainini Carlos: Estudio sobre acción de la gonadotrofina en el sapo macho. *Rev. Soc. Argentina. Biolog.* 1947. 23-125.

Galli Mainini Carlos: Pregnancy test using the male toad. *J. Clin. Endocrinolo.* 1947. 7-653.

Galli Mainini Carlos: Reacción diagnóstica del embarazo. *Obst. y Ginecol. Latino, A.M.* 1947. 5-555.

Galli Mainini Carlos: Acción de las gonadotrofinas en el testículo del sapo hipofisopriva. *Rev. Soc. Argent. Biol.* 1947. 23-303.

Galli Mainini Carlos: El diagnóstico del embarazo con batracios machos. Editorial Impaglione. Buenos-Aires, 1948.

Houssay B. A. Expulsión de espermatozoides por acción hipofisiaria en el sapo. *Rev. Soc. Argent. Biolog.* 1947, 231114.

Houssay B. A. González: Relaciones entre la hipófisis y el testículo del sapo. *Rev. Soc. Argent. Biolog.* 1929. 5, 77.

Houssay B. A. Funciones de la hipófisis del sapo. *Bol. Acad. Med Bs. As.* 1936. 133.

Houssay B. A. Acción de la hipófisis xenopus leavis sobre el Bufo Arenarum. *Rev. Soc. Argent. Biolog.* 1943. 19, 183.

Houssay B. A.: Ovulación del Bufo Arenarum Hensel. Gonadotrofina hipofisiaria. *Rev. Soc. Argent. Biol.* 1947, 23, 176.

Houssay B. A.: Función sexual hipófisis e hipotálamo en el sapo. *Rev. Soc. Arg. Biol.* 1930. 6, 1, 1946.

Houssay B. A.: Hipófisis e hipertrofia compensadora del testículo en el sapo. *Rev. Soc. Argen. Biol.* 1935, 11.

Allende I. L. C.: Aparato sexual del Bufo Arenarum. Tesis. Doc. Medic. 1938.

Blanchard O.: Experiencia con la reacción de Galli Mainini. *Obst. y Ginecolg. Latín. A.M.* 1947, 5, 560.

Figueroa Casas-Belizan: La reacción de Galli Mainini en el diagnóstico precoz del embarazo. *Día Médico* 1947, 19, 1, 313.

Gandolfo Herrea, R. Sauri. Valor actual de las reacciones para el diagnóstico precoz del embarazo. *Obst. y Ginec.* 1947, 5, 568.

Genes L.: Un nouveau procédé de diagnostic biologique de grossesse.

La Reaction de Galli Mainini. *Presse Medical*, 1947, 55, 728.

Hutz A.: Estudio de recazo biológica de Galli Mainini. Tesis Fac. Medio. Porto Alegre, 1947.

Mancini R. E. Burgos M. H.: Histología del testículo de los sapos tratados con gonadotrofinas. *Rev. Soc. Argen. Biol.* 1947, 23, 264.

Pinto R. M. Suer Boero: Contribución al estudio de la reacción de Galli Mainini. *Obst. y Ginec. Latín. Amer.* 1948, 5, 556.

Pou de Santiago: Resultados obtenidos con la reacción de Galli Mainini. *Obst. y Ginec. Latín. Amer.* 1947, 5, 574.

Saez F. A., Rojas. De Robertis: La fórmula cromosómica del sapo. *Rev. Soc. Arg. Biolog.* 1934, 10, 340.

Sammartino R. Arrighi L.: Resultados comparativos de 1.000 reacciones de Galli Mainini y Friedman simultáneas. Marzo 1949.

Wilterberg P. B., Miller D. F.: Txa male frog rana pipiens as a new test animal for early pregnancy. *Science* 1948, 107, 198.

Pou de Santiago A.: Una nueva reacción biológica para el diagnóstico precoz del embarazo. R. de Galli. *Arch. Uruguayos. Med.* 1947.

Robbins S. L. Parker F. Bianco: The reaction of the male South African clawed frog (*Xenopus laevis*) to genadotropins. *Endocrinology.* 1947, 40, 227.