

## *Estudio comparativo entre los niveles plasmáticos de gammaglobulina determinados por la electroforesis en papel y la reacción de Sellek-Frade*

Por los Dres.:

Luis H. DE PRADO, MARTÍN RAFAEL SEOANE, TITO CELSI

*Se utilizó un estudio comparativo entre la reacción de labilidad sérica de Sellek-Frade y los niveles de gammaglobulina determinados por la electroforesis en papel. Se evaluaron 69 sujetos normales y 330 enfermos provenientes de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Universidad Nacional de Buenos Aires. Se exponen los resultados y las conclusiones a que llegan los autores.*

Un número importante (le procesos en patología humana ocasionan un aumento de las gamma globulinas plasmáticas (GG) y su apreciación constituye un elemento útil para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades.

Se debe tener en cuenta siempre, que el establecer un aumento global debe ser el primer paso hacia una diferenciación más exacta de los distintos componentes de las GG, que la electroforesis en papel o las reacciones de labilidad sérica no discriminan, pero que en cambio si se puede realizar por la migración eléctrica en celogel, en acrilamida, bajo la acción de inmunosueros totales y parciales, por ultracentrifugación, etc.

El presente trabajo tiene como propósito evaluar la utilidad de una técnica muy sencilla de labilidad serocoloidal con acetato de cobre en la determinación de los niveles de GG en diversos estados patológicos y comparar, además, esos resultados con los obtenidos por la electroforesis en papel, mucho más precisa pero también más lenta y costosa.

En 1955 los cubanos Antonio Sellek y Alejandro del Frade, describieron la reacción de turbidez y floculación que hoy lleva su nombre,<sup>1</sup> usando como reactivo exclusivo una solución apropiada de acetato de cobre.

En sucesivas comunicaciones 2, 3, 4, 16, explicaron la ejecución de la reacción en forma estandard, en forma de procedimiento cuantitativo y luego un ultramicrométodo. En el período 1955- 1968 más de 40 publicaciones sobre la reacción, provenientes de 16 países de América, Europa y Asia, certifican el interés demostrado por el procedimiento 5 a 14, 18 a 23, 28 a 30, 32, 33, 37 a 40, 42 a 47, 49.

### *Técnica.*

Preparar:

1) Solución madre de acetato de cobre (200 mg de acetato de cobre en 500 cm<sup>3</sup> tle agua destilada). Se puede conservar varios meses.

2) Solución hija de acetato de cobre (2,5 cm<sup>3</sup> de la solución madre en 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada). Preparar en el momento de usar.

Luego:

3) Colocar en una probeta 6 cm<sup>3</sup> de solución hija y agregarle 0,1 cm<sup>3</sup> de suero recién extraído.

4) La lectura se puede hacer comparativamente, utilizando la solución de timol de Mac Lagan y observando a simple vista la floculación. Nosotros la hacemos por fotocolorimetría para cuantificar exactamente los resultados, con el filtro rojo 67, a los 5 minutos.

5) Se considera:

Negativo hasta

4,7 U de Turbidez

Positivo +

7 U „

„ ++

10 u „

+++

12 U „

„ H—I—I—b más de

12 U „

Siguiendo a Sellek y Frade<sup>30</sup> la positividad se debe al aumento de las GG y a una disminución de la albúmina aunque esto último fue confirmado por otros autos ni por nosotros.<sup>23/35</sup>

En cuanto a los resultados de la reacción, tomamos como base los trabajos de Sellek y Frade, Padolecclia y colaboradores, Yietorisz, etcétera.<sup>3/4,24/36/48/50</sup>

De acuerdo con ellos la reacción sería:

- 1) Siempre negativa en sujetos normales.
- 2) En las hepatitis virales, positiva en el 100 por ciento de los casos.

3 En las cirrosis hepática portales o posneocróticas es siempre positiva mientras que lo es en sólo 2/3 de los casos de hemoeromatosis.

4) En las cirrosis biliares sería negativa al principio para luego positivizarse.

5) Es negativa en las colecistitis y colangitis sin daño hepático.

6) En las ictericias hemolíticas es siempre negativa.

7) En las colagenosis es a menudo positiva.

8) En las infecciones severas sin compromiso hepático es negativa.

9) La positividad de la reacción está ligada indudablemente al escenso de las GG y en parte a un daño Hepatocelular, pero de ninguna manera guarda relación con la tarea re transaminasa piruvicosérica.<sup>15/27/41</sup> Aceptando como valederos los principios arriba expuestos y habiéndolo confirmado así nosotros<sup>23</sup> pasamos a describir la evaluación cuantitativa que hicimos de la reacción y su comparación con la electroforesis en papel.

#### *Material y método.*

Efectuamos la reacción de Sellek-Frade en la forma que se expuso precedentemente a 69 sujetos normales y 330 enfermos (193 hombres y 137 mujeres). Internados en la Cátedra de Medicina del Hospital de Clínica de Buenos Aires.

Los valores encontrados como normales fueron de 0 a 4,7, U. con un promedio de 2,9 U y una desviación estandar de  $\pm 1,7$ .

Es una reacción ventajosa por su sencillez y rapidez y por el bajo costo de las drogas empleadas.

Además efectuamos a todos los casos (399) el fraccionamiento electroforético del suero siguiendo la técnica de Hanning. Las corridas se colorearon con amido Schartz 10

y b y la cuantificación se realizó por densitometría semiautomática.<sup>17</sup> Los valores normales se expresan en cifras relativas y absolutas.

CUADRO I VALORES HALLADOS

Grupo	No.	( $\frac{g}{100\text{ ml}}$ ) relativo	f	GG relativo %	Ac %	B relativo %	br relativo %
Normales	69	3.40	H-	16%	2	10.3	4.9
Cirrosis hepática	73	2.42	$\pm$	0.52	33.8	3.2	$\pm$ 0.9
Cirrosis biliares	4	1.95	H-	0.10	27.1	6.4	4.3
Hepatitis virales	20	1.70		0.35	27.2	4.2	- 2.3
Colecistitis y colangitis	19	1.61	$\pm$	0.36	22.6	3.2	$\pm$ 2.5
Neoplasias hepáticas primitivas y secundarias	20	1.61	H-	0.32	23.2	2.8	1.7
Carcinomas no hepáticos	40	1.62		0.54	22.2	4.3	3.1
Tumores mesenquimáticos	16	1.91		0.89	21.8	7.4	4.1
Colagenosis	49	2.14		0.48	28.8	3.4	$\pm$ 2.2
Infecciones no hepatobiliares	89	1.68		0.39	31.4		
Total;	599						

Las proteínas totales se dosaron siguiendo la técnica de Frattini y colaboradores.<sup>21</sup>

Las cifras de la GG por electroforesis en los sujetos normales fueron de  $1.40 \pm 0.22$  g GG/100 cm<sup>3</sup> de suero y 16  $\pm$  2 por ciento de las proteínas totales.

#### Resultados.

Hemos agrupado los enfermos en 9 grupos de la siguiente forma:

- Cirrosis hepática. Incluimos en este grupo 73 enfermos con cirrosis portales, posnecróticas y dos hemocromatosis.
- Cirrosis biliares, se incluyen 4 casos, 2 de ellos primarias y 2 secundarias.

c) Hepatitis, veinte enfermos con hepatitis víricas.

d) Colecistitis y colangitis, son 19 enfermos, 12 con colecistitis agudas y crónicas y siete con colangitis agudas sin necrosis hepatocelular.

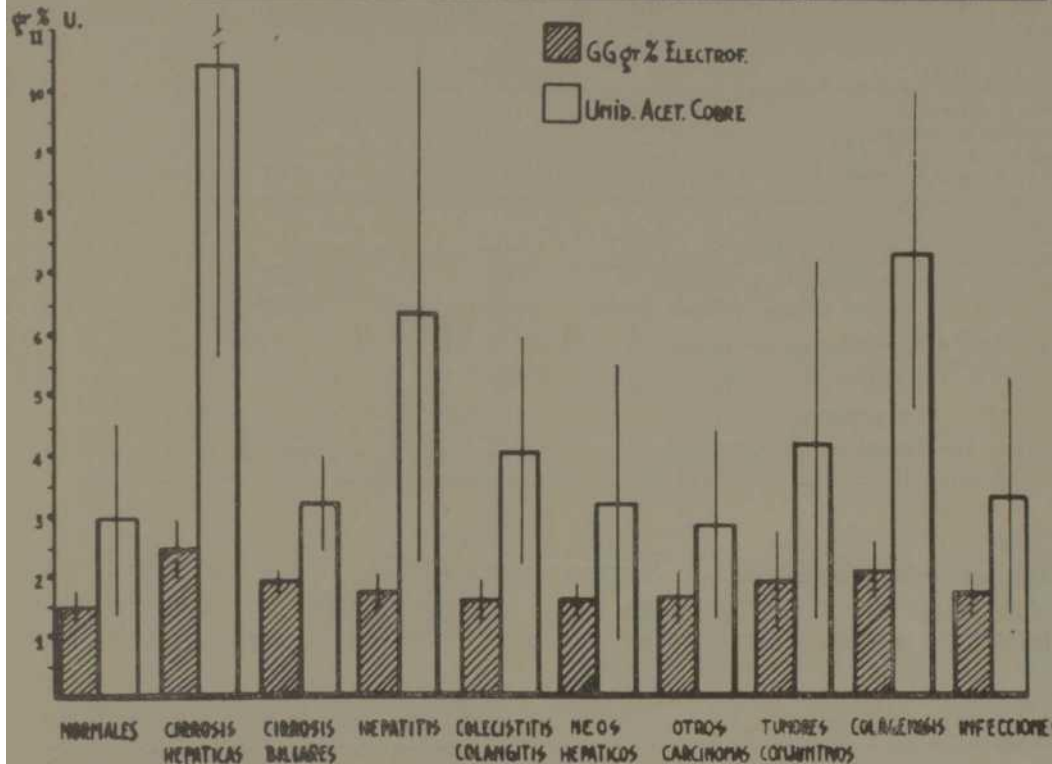
e) Neoplasias hepáticas primitivas o metastásicas, es un grupo de enfermos, dos de ellos con hepatomas y el resto con metástasis comprobadas en hígado de neoplasias a distancia.

f) Carcinomas no hepáticos, son 40 enfermos con neoplasias de pulmón, mama, riñón, páncreas, colon, próstata. Sin metástasis hepáticas diagnosticadas.

g) Tumores mesenquimáticos. Se incluyen 16 casos de linfomas (Hodgkin, linfosarcomas), leucemias mieloides y

NIVELES DE GAMMAGLOBULINAS Y REACCION DE SELLEK-FRADE

CUADRO 2: REPRESENTACIÓN DE LAS VARIACIONES EN LA ELECTROFESIS Y EN LA REAC. DEL ACET. COBRE



linfoides, sarcomas osteogénicos, etc., en los que no se comprobó afectación hepática.

h) Colagenosis. En este grupo se incluyen 40 enfermos con lupus eritematoso, artritis reumatoidea, dermatomiositis, esclerodermia sistémica, panarteritis nodosa, fiebre reumática en actividad.

i) Infecciones no hepatobiliares, son 89 enfermos con procesos inflamatorios o infecciosos graves y en actividad en los que no se diagnosticó participación del árbol biliar. En este grupo figuran septicemia, endocarditis bacteriana, tuberculosis, osteomielitis, pielonefritis, paludismo, gangrenas en diabéticos, bronquiectasias,

abscesos de pulmón, etc. Los resultados se exponen en el Cuadro I.

**Interpretación.**

Los resultados obtenidos fueron llevados a gráficos en el cuadro 2. En él se exponen, asimismo, para cada columna, el desvío estandar.

Además considerando como valor 100 a las cifras normales de GG en g por ciento y valor 100 a 4.6 U de acetato de cobre, en el cuadro 3 se tienen los cálculos porcentuales que indican el predominio del ascenso de la GG en la electrofesis en las cirrosis, en los tumores de origen mesenquimático y en las colagenosis.

**CUADRO III**  
**AUMENTOS PORCENTUALES**

Afecciones	Porcentuales de aumento	
	GG g/% electrof	reac. acetato de cobre
Normales	100%	100%
Cirrosis hepáticas	172%	224%
Cirrosis biliares	139%	100%
Hepatitis virales	114%	139%
Colecistitis y colangitis	112%	100%
Neopl. Hepat. primit. y sec.	112%	100%
Carcinomas no hepáticos	113%	100%
Tumores mesenquimáticos	136%	100%
Colagenosis	152%	162%
Infec. no hepat. biliar	120%	100%

En cambio, la positividad de la reacción del acetato de cobre es franca en las cirrosis portales y posnecróticas, en las hepatitis agudas y en las colagenopatías.

*Conclusiones.*

I) Se observó que muchas afecciones que cursan con marcada Hipergammaglobulinemia, la reacción del acetato de cobre muestra un importante aumento, paralelo en algunos casos a la importancia de la disproteinemia citada.

II) El aumento de la reacción muestra peculiaridades que hemos demostrado estadísticamente y que indican lo siguiente en base al estudio de las cifras obtenidas.

- a) El ascenso es franco (ver cuadro 3)
- b) en las cirrosis hepáticas, colagenopatías y hepatitis víricas.
- c) Es negativo en cambio en las cirrosis biliares, neoplasias hepáticas primitivas o metastásicas, infecciones del árbol biliar y

tampoco se altera la reacción de las infecciones agudas crónicas ni en las neoplasias del resto del organismo.

c) Las cifras de la reacción de Sellek-Frade, en los casos en que es positiva, no guarda una relación directa con el ascenso de las GG en la electroforesis, por lo tanto, no pueden ser equivalentes o reemplazar una a la otra.

d) A pesar de que el promedio de las cifras de la reacción del acetato de cobre es alto en los casos ya citados, hay una gran dispersión en los datos obtenidos lo que la hacen estadísticamente poco significativa.

III Dentro de las reacciones de labilidad serocoloidal que se aplican al estudio del funcionamiento hepático afirmamos que es una de las reacciones más sencillas y rápidas en su realización. Es fácilmente incorporable al laboratorio clínico y es una de las pocas reacciones que deben seguir realizándose en el moderno bepatograma.

## BIBLIOGRAFIA

1. —Sellek, A. y del Frade, A.: La nueva prueba turbidimétrica del Acetato de Cobre, como índice de disfunción hepática. Revista Cubana de Laboratorio Clínico, 10: 26, 1956.
2. —Sellek, A. y del Frade, A.: Serorreacción de turbidez y floculación del acetato de cobre para diagnóstico de las hepatopatías. Prueba estándar cuantitativa y ultramicrométodo. Significación Clínica. Revista Cubana de Laboratorio Clínicos 11: 58, 1957.
3. —Sellek, A. y del Frade, A.: Prueba de Sellek Frade para el diagnóstico de las hepatopatías. Electroforesis. Biopsia. Significación Clínica. Revista Cubana de Laboratorio Clínico 11: 102, 1957.
4. —Sellek, A. y del Frade, A.: Cooper Ace- iate Turbidity and flocculation test for the diagnosis of disease dity and flocculation test for the diagnosis of disease of the liver. Gradwohl Laboratory Digest. 21: 8, 1957.
5. —Sanford, A. II.: Liver function test. Post. graduate medicine. 22: 68, 1957.
6. —Wolentvober, H. L.: New liver function test: copper acetate turbidity. Current. Medical Digest. 24: 64, 1957.
7. —Castillo, P. A. y López Fernández, F.: Nuestra experiencia con la prueba de Sellek-Frade en el diagnóstico de las hepatopatías. Revista Cubana de Laboratorio Clínico. 11: 100, 1957.
8. —Ramírez, A.: Estudio comparativo entre la reacción del acetato de cobre y los test de cefalina colesterol, oro coloidal, timol y sulfato de zinc. Tesis profesional Universidad de San Marcos, Lima, Perú, 1957.
9. —Salgado, S.: Reacc. Sellek-Frade y su comparación cualitativa con otras pruebas. Tesis profesional. Univ. San Marcos. Lima, Perú, 1957.
10. —Fraga, S.: La reacción de Sellek-Frade en la investigación del funcionamiento hepático. El Médico 8: 82, 1957 y Noticias Clínicas, 16: 33, 1958.
11. —Silva, H.: La reacción de Sellek-Frade en el estudio de la insuficiencia hepática. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, 1958.
12. —Bolio, A.: Turbidez y floculación del acetato de cobre como prueba funcional hepática. Tesis profesional Universidad Autónoma de México. 1958.
13. —Faber, M. y Polini, L.: La reazione alF acetato di rame di Sellek-Frade confrontata con altre prove di siero labilita negli epatopazienti II lab. nella Diag. Med. 3: 136, 1958.
14. —Delgado, C. S.: Estudio paralelo entre las reacciones de turbidez y floculación del acetato de cobre de Sellek-Frade. Han- gervy timol en las hepatopatías .Revista del colegio Q-F de Chile, 1958.
15. —Sellek, A. y del Frade, A.: Prueba de Sellek-Frade del acetato de cobre y actividad de las transaminasas glutámico oxalacética y pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. Revista Cubana de laboratorio Clínico. 13: 30, 1959.
16. —Fraga, S.: Modificación a la lectura de la reacción de Sellek-Frade del acetato de cobre. Revista Mexicana de laboratorio clínico. 11: 11, 1959.
17. —Iovine, E., Coya, C. E. y Villa, J. C.: Fotocolorimetría clínica. Editorial Universitaria de Buenos Aires.
18. —Nguyen The Minh: La reacción al acetato de cuivre de Sellek-Frade. Son utilité dans les affections hepatiques. La Presse Médicale. 32: 1958, 1960.
19. —Granato, O. P. y Boavista, A.: Estudio comparativo de prova de Sellek-Frade. Rev. Brasileira de Medicina, 15 : 410, 1960.
20. —Reihold, J. C.: Flocculation test and their application on the study of liver disease. Advances in Clinical Chemistry. 5: 126. 1960.
21. —Lemaire A. et Nguyen The Minh: Les test de flocculation dans les maladies du foie. Rev. de Patologia Generalo et de Physiologie, 69: 1229, 1960.
22. —Marticarena, A.: Reacciones de Salazar Mallen y Sellek y Frade en hepatopatías. Rev. Lab. Granada, España. 30: 407, 1960.
23. —Castillo, F. G.: Evaluación do la prueba de laboratorio en las enfermedades del hígado. Rev. Cub. de Laboratorio Clínico. 14: 99, 1960.
24. —Celsi, H. T. y Trevisan: Valor diagnóstico de la reacción de Sellek-Frade en las afecciones hepatobiliares. Pren. Méd. Argent. 48: 19, 1961.
25. —Celsi, H. T.: Hepatograma; su interpretación actual. Prens. Méd. Argent. 48: 2627, 1961.
26. —Sellek, A. y del Frade, A.: Prueba Sellek-Frade del acetate de cobre y actividad de las transaminasas glutámico-oxalacética y pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. N. Fegato. 7: 1, 1961.
27. —Solar, E. y Botaro, F.: Ricerche su di una nuova reazione di labilita coloidale II Laboratorio Nella Diagnosis Medica, 6: 58, 1961.
28. —Nguyen The Minh: Ka reaction al acetate de cuivre de Sellek-Frade. Son utilité

- dans les affections hepaticques M. Fegato. 7, 149, 1961.
29. — *Viranuvati, V. y otros*: Further study on iodine of liver function test otlier liver function test. A. J. Gastroenterology. 36: 468, 1961.
  30. — *Anales de la Cátedra de Clínica Médica. Prof. Egidio S. Mazzei, 1961-1962.*
  31. — *Ronques, L.*: La reaction de Sellek-Frade dans les affections Hcpaticques. Presse Medicale. 70: 770, 1962.
  32. — *Galbarni, O. V.*: Evaluación de la reacción turbidimétrica del acetato de Cobre. Pren. Méd. Argent. 49; 739, 1962.
  33. — *Padolechia, A', Panard, A.*: Esperimen- tazione clínica e indagine fisiopatologiche sulla nuova test dilabiiiiii coloidale de Sellek-Frade. Minerva Médica. 5.?: 2855. 1962.
  34. — *Ionescu y otros*: Consideran i critice a supra testolor de disproteinemia eu refe- rire apeciata la reaction Sellek-Frade. Med. Int. 14: 359.
  35. — *Baldi, A. y Ferrara, K.*: Test all' acetato di rame nella diagnostica delle epatopatie. Igiene e San. Public. Iti: 146-153, 1962.
  36. — *Monloni, S.*: La reazione de Sellek-Frade nella diagnostica delle affezioni epatiche. Minerva Gastroenterologica, 8; 148, 1962.
  37. — *Fio, A.*: Diagnosi differenziale degli it- teri: La prova alF acetato si rame com\* parata al test di Jirgl. Revista di Gastro- enterologia (Parmal 14: 59, 1962.
  38. — *Minar ello, A.*: Reazione del acetato di rame di Sellek-Frade. Romagna Medica. 14: 621-624, 1962.
  39. — *Walunabe, H.*: Transaminasas séricas reacción con acetato de cobre y bilirrubine- mia en hepatitis. Tesis de grado. Medicina. México. 47: 426, 1962.
  40. — *Denewleneare, L.*: Savoir interpreter l'examen fonctioneel hepatobiliare. Edi- teur: Albert de Vissecher. Rruselas, 1962.
  41. — *La prueba de labilidad coloidal de Sellek y Frade. La Semana Médica, 122, 151. 1963.*
  42. — *Papadhimitri, O.*: The Sellek-Prade (Co- oper Acetate) Test in \iral hepatitis. Rull. Univ. Shtl. Tirane. (Mick), 3: 66-77, 1963.
  43. — *Schaposnik, F., Milman, F. y Cacciatore, J.*: La prueba del acetatj de cobre en la exploración funcional del hígado. Orientación Médica. 12: 437, 1963.
  44. — *Pefi.. V. y Puyol, J.*: Estudio químico clínico- de la reacción de Sellek-Frade. Rev. Clínica y Laboratorio. 49: 285, Zaragoza, España. 1964.
  45. — *Piuera, A. y otros*: Contributo casistico al valor clínico di una nuova prova di sierofloculazione: la prova all' acetato di rame. Medicina Clínica e Sperimentale. 14: 71, 1964.
  46. — *Mikol, :* La reaction de Sellek-Frade al' acetate de cuivre en hepatologie. La Pres- se Medicale, 72 : 2930, 1964.
  47. — *Peg, V. y Puyol, J.*: Estudio químico clínico de la reacción de Sellek-Frade. Rcv. Mexicana de Laboratorio Clínico. 17: 99. 1965.
  48. — *Sellek, A. y del Frade, A.*: Prueba de Sellek Frade del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías ocho años después. Revista Mexicana de Laboratorio Clínico. 17: 17, 1965.
  49. — *Mczzei, E. S., Celsi, T., Gotelli de Prado, L., Trevisan, A.*: Gammaglobulina: su estudio comparativo entre el método de la Huerga y la electroforesis en papel. Gaceta Sanitaria. 21: 23, 1966.
- Reproducido de la Prensa Argentina, Vol 56: 143-147. 4. 1969.

## Normas de redacción de un artículo médico

La REVISTA CUBANA DE MEDICINA se complacerá en aceptar toda colaboración que se ajuste a las siguientes pautas generales.

1. Los trabajos versarán sobre temas eminentemente clínicos tanto desde el punto de vista asistencial como de la experimentación. Deben ser originales e inéditos, y una vez aceptados y publicados, pasarán a ser propiedad de esta revista, requiriéndose para su reproducción el permiso correspondiente.

2. El texto debe presentarse dactilografiado a dos espacios y sin correcciones. Su redacción debe cuadrarse según las directrices más conocidas en literatura médica, y que contemplan estas etapas: introducción, material y método, discusión, conclusiones, sumario y bibliografía.

3. Las fotografías serán en blanco y negro, con brillo. Las gráficas deben ser confeccionadas con tinta china.

Cada ilustración consignará por detrás: título del artículo, nombre del autor, numeración de su orden de ubicación en el texto y determinará el pie exacto de la misma.

4. La Bibliografía debe quedar acotada en el texto, y al relacionarla al final del artículo, se recomienda seguir estas guías:

a) Para revistas: nombre del autor, dos puntos, título del artículo, nombre de la revista en la abreviatura universal aceptada, número del volumen (subrayado), dos puntos, número de la primera y última páginas del artículo, separado por un guión. Finalmente la fecha de la edición.

Ejemplo: Lockwood, J. S.: Physiologic aspects of surgical infections, Surg. Gyn. and obs., 84, 733-38, 1947.

b) Para los libros, se confeccionará esta reseña: nombre del autor, título, número de volumen y edición (cuando corresponda), además de la página de referencia. A continuación se consigna el nombre de la editorial, ciudad y año.

Ejemplo: Markowitz, J.: Experimental Surgery, II ed., pp. 851. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1954.

c) Al relacionarse estas referencias, tanto revistas como libros, debe seguirse un orden numérico que se corresponda con el establecido en el texto.

Separatas: Cada autor recibirá diez ejemplares de la edición en- aparezca su trabajo. Los interesados en obtener separatas, debe marlo al mismo tiempo que remiten su trabajo, a los efectos cotizarles con antelación el costo de las mismas.

Precio de suscripción: \$5.00 al año, franqueo incluido bimensual.  
128 páginas cada ejemplar.