

La prueba de Sellek-Frade (al acetato de cobre) en la hepatitis viral y su evaluación clínica

Por el Dr. O. PAPADIMITRI(*)

Premisa y breves datos de la literatura

Para el diagnóstico, así como para la evaluación de la eficacia del tratamiento y del pronóstico de las hepatopatías, incluyendo la hepatitis viral, goza de particular importancia, indudablemente, la exploración funcional del hígado, en la cual ocupan un lugar prominente los tests eucoloidales (tests para determinar la estabilidad coloidal del suero sanguíneo). Independientemente de la ausencia de especificidad de los mismos con respecto al estado funcional del hígado, ellos se distinguen por su simplicidad, lo cual explica su extenso empleo en la práctica. Por consiguiente, se han propuesto numerosos tests de labilidad coloidal, tales como los de Mc. Lagan, Kunkel, Hanger, Takata-Ara, Wuhmann-Wunderly, Gross, La Huega-Popper, etc. Todos ellos se fundan en alteraciones de la estabilidad coloidal del suero sanguíneo, principalmente como consecuencia de las modificaciones que experimentan las proteínas del suero, tanto desde el punto de vista cuantitativo como, en especial, del cualitativo. El suero de la sangre humana constituye, como se sabe, una solución coloidal de tipo liófilo (estable)

basada en las considerables propiedades de hidratación de las proteínas del suero.

La presencia de las fuerzas de tensión superficial en el suero determina su tendencia a disminuir la superficie interfacial entre las partículas proteicas y las del solvente, produciéndose así la agregación de las últimas.

A la acción de las fuerzas de la tensión superficial se oponen dos factores: la carga eléctrica de las proteínas y su hidratación. Por intermedio del fenómeno de la disociación iónica entre las moléculas de las albúminas y las de las globulinas por una parte y el medio de dispersión por la otra se establece un diferencial. Y como la disociación iónica de las proteínas depende del pH del medio, si este último es más alto que su punto isoeléctrico, tendrá lugar la disociación principalmente como ácido, cargándose la proteína positivamente. Sin embargo, las proteínas del suero, que se presentan usualmente como ácidos, tienen una carga negativa, permitiendo su estabilidad en el mantenimiento de la solución. En tanto que la carga eléctrica de las partículas se mantenga, las últimas no pueden ejercer contacto unas con otras, hecho bien conocido, que las partículas con una misma carga se repelen entre sí.

El segundo factor, contrarrestando la fuerza cohesiva de las moléculas de pro-

(*) De la Clínica de Enfermedades Infecciosas (Jefe), asistido por el Candidato de las Ciencias Médicas N. Dushniku.

Reproducido por cortesía del Boletín de la Universidad de Tirana (Albania). Versión en español del Dr. E. Alemán.

teína, es su hidratación como resultado de los grupos hidrófilos polares de su superficie y de la formación de la periesfera hídrica; así, la tensión interfacial que existe entre las partes externas de esta periesfera hídrica y el agua libre, muy débil, no condiciona más afinidad hacia las partículas entre sí que hacia el solvente.

Un test de labilidad coloidal es el test de Sellek-Frade, propuesto por estos autores en 1956. Independientemente de su falta de especificidad, el aumento paralelo de la positividad del mismo con la gravedad del cuadro clínico en los casos de hepatopatías ha demostrado utilidad, comprobada por los trabajos de Nguen The Minh¹ (Francia), N. Padolecchia² y cols. (Italia), etc. Su indudable ventaja consiste no sólo en su relativamente alta sensibilidad, sino también en la simplicidad de su técnica de aplicación. Ambas cualidades nos incitaron a usar sistemáticamente este test en clínica, comenzando en marzo de 1962.

Por el presente trabajo intentamos familiarizar a los lectores con la técnica de dicho test y los resultados de su experimentación clínica efectuada por nosotros en pacientes con hepatitis viral.

TECNICA Y MECANISMO DE ACCION

Reactivos: 1) "Solución madre" de acetato de cobre (200 gr. en 500 ml. de agua destilada).

2) "Solución reactivo", que se prepara del modo siguiente: En un frasco de 100 ml. de capacidad se colocan 2,5 ml. de la "solución madre" de acetato de cobre y se le añade cantidad de agua destilada suficiente para hacer 100 ml.

Ambos reactivos se conservan en refrigeración por largo tiempo (más de 8 meses).

Método: Se vierte 0,1 ml. de suero fresco y se añaden 6 ml. de la solución reactivo.² Después de 5 minutos se lee el resultado en diferentes grados de positividad.

(N. de la R.) Los mejores resultados se obtienen empleando agua bidestilada, y preparando la solución reactivo en el momento de usarse.

Si no hay turbidez, se señala el resultado con el signo negativo (—); si se observa una opalescencia apenas visible, se evalúa como ligeramente positiva (+); si la turbidez de la solución es claramente visible pero no se observa precipitado, el resultado se evalúa como positivo por (+). Cuando en presencia de turbidez relativamente menor se observa también un precipitado, el resultado de la reacción se considera como altamente positivo y se anota (++) o (+++), según la cantidad del precipitado.

Para una evaluación más objetiva de los resultados de esta reacción se deberá usar el método turbidométrico con un comparador, o, lo que es mucho mejor, en un fotocolorímetro eléctrico del mismo modo que se hace para el test de Mc. Lagan, expresando el resultado en unidades Kinsbury. Hemos considerado el test como negativo (—) cuando corresponde a 0-0,8 U., como ligeramente positivo (±) con 0,8-2 U., positivo (+) cuando corresponda entre 2 y 3 U., positivo con (++) cuando corresponde a 3-4,5 U., y altamente positivo (+++) cuando corresponde a más de 4,5 U. El filtro y el espesor del stratum líquido son los mismos que para el test de Mc. Lagan.

El mecanismo de la reacción de Sellek-Frade se interpreta como la capacidad del acetato de cobre para desnaturalizar las proteínas en condiciones particulares (disminución del sistema pro-

teico de las albúminas) y por la floculación del producto desnaturalizado como resultado de su baja solubilidad en comparación con la proteína.

Cuando el pH de la reacción es cerca de 7.7, las moléculas proteicas están cargadas negativamente (aniones) lo que favorece la floculación.

Además, la hidrofilia del electrólito (cobre) tiene una gran importancia en la destrucción de las partículas de proteína, lo que conduce a su estabilidad.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se funda en 303 determinaciones con el test del acetato de cobre efectuadas en 100 pacientes con hepatitis viral. De estos 100 pacientes, 29 correspondían a la forma benigna, 52 a la forma de mediana gravedad, 12 a la grave y 7 a la forma prolongada; 48 eran hembras y 52 varones; 11 pacientes se hallaban entre los 15-19 años de edad, 65 entre los 20-40 años, 12 entre los 40-50 y otros 12 eran de más de 50 años. La determinación del test de Sellek-Frade se realizó en el comienzo, en el acmé y en el período final de la enfermedad. De modo paralelo se determinaron los tests de Mc. Lagan, Kunkel, Wuhrmann-Wunderly y Takata, así como de las proteínas totales del suero, el coeficiente A/G, las fracciones proteicas del suero (por el método de Aull-Mc. Cord modificado), el colesterol total del suero, la beta-lipoproteínas del suero y la bilirrubinemia total.

Durante la elaboración del material de estudio, se confrontaron los datos del test al Acetato de Cobre con los otros tests de floculación y también con los diferentes valores de los componentes particulares de la protidemia, lipidemia y la bilirrubinemia total, independientemente de la fase o de la forma de la enfermedad a fin de formarnos una

idea sobre la evaluación del test. Por otra parte, la comparación del test en estudio durante las diferentes fases y formas de esta entidad nosológica fue igualmente efectuada.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Los datos que presentamos en el cuadro No. 1 demuestran que el test de Sellek-Frade actúa paralelo en cuanto a sensibilidad con los tests de Mc Lagan y Wuhrmann-Wunderly, mientras resulta imposible determinar ninguna correlación entre el test de S-F por una parte y los de Kunkel y Takata-Ara por la otra. Estos resultados corresponden con los de N. Padolecchia et al. y, en consecuencia, parece, que no se refiere a la hemotipia del reactivo, sino más probablemente depende de las diferencias en cantidad y cualidad de los componentes proteicos en particular.

El número absoluto de resultados positivos de distintos tests de labilidad coloidal coincidieron con los resultados positivos del test de Sellek-Frade.

Según el cuadro No. 2, resulta claro que en presencia de variaciones equivalentes de las proteínas totales del suero, el % de resultados positivos y negativos del TS-F es igual. Es decir, que el valor de las proteínas totales del suero ejerce influencia sobre el resultado de la reacción de Sellek-Frade.

Analizando los datos ofrecidos en el cuadro No. 3 se puede deducir que la hipoalbuminemia y el valor subnormal del coeficiente A/G tienen una tendencia paralela con la frecuencia de la positividad de la reacción de Sellek-Frade. Un intenso paralelismo se encuentra entre la positividad del T S-F y la hipergammaglobulinemia: sin embargo una correlación relativamente más moderada se obtiene en el caso de hiperbetaglobulinemia, mientras no es posible determi-

CUADRO No. 1

Test Mc. Lagan	Test Kunkel	Test Wuhrmann-Wunderly	Test Takata-Ara
232	145	225	154

CUADRO No. 2

Las Proteínas totales del suero y la reacción al acetato de cobre

	Porcentaje en relación al número de resultados positivos con la reacción de S-F (246)	Porcentaje de resultados negativos de la reacción de S-F(57)
Normoproteinemia	27,90%	24,48%
Hipoproteinemia	51,64%	54,58%
Hiperproteinemia	20,46%	20,94%

CUADRO No. 3

Las fracciones proteicas del suero (Aull-Mc. Cord y la reacción de S.F)

Fracción proteica del suero	Nivel de las fracciones seroproteicas	Porcentaje de resultados positivos con la reacción de S-F	Porcentaje de resultados negativos con la reacción de S-F
Albúminas y (Coef. A/G)	Más de 55%	1,22	0,93%
	40-55% (0,66-1,22)		88,87%
	Menos de 40% (Menos de 0,66)		10,2%
α -globulinas	Elevadas		9,30%
	Normales		22,32%
	Bajas		68,38%
β -globulinas	Elevadas		60,01%
	Normales		32,55%
	Bajas		7,44%
γ -globulinas	Elevadas		95,35%
	Normales		4,65%
	Bajas		0%

CUADRO No. 4

Las beta-lipoproteínas, el colesterol total del suero, y la reacción de Sellek-Frade

		Porcentaje de resultados positivos del TSF	Porcentaje de resultados negativos del TSF
β -Lipoproteínas del suero	Nivel supra-normal	79.54%	76.99%
	Nivel normal	18.60%	19.47%
	Nivel sub-normal	1.86%	3.54%
Colesterol total del suero	Nivel supra-normal	5.11%	3.59%
	Nivel normal	57.69%	52.11%
	Nivel sub-normal	37.2 %	44.35%

CUADRO No. 5

La bilirrubina total del suero y la reacción de Sellek-Frade

		Porcentaje de resultados positivos del TSF	Porcentaje de resultados negativos del TSF
Bilirrubina total del suero (Cleghorn Jendrassik)	Más de 10 mg.%	27.90%	1.77%
	1 - 10 mg.%	40.55%	10.62%
	Menos de 1 mg.%	32.55%	87.61%

nar cierta interdependencia para con las alfa globulinas.

Ese paralelismo entre la positividad del T S-F y la hipoalbuminemia refleja las diferencias coloidales cuantitativas secundarias sobre el nivel de las seroalbuminas como resultado de hipergamma y menos de hiperbetaglobulinemia. Por tanto se debe llegar a la conclusión de que el test del acetato de cobre refleja las variaciones de las gamma-globulinas

del suero y en un grado más moderado las de las betaglobulinas, y quizás se incluyan, entre otras, las β -globulinas de movilidad electroforética mínima.

Mediante el cuadro No. 4 no es posible determinar ninguna coincidencia y, consiguientemente, no puede existir ninguna interdependencia entre la positividad del T S-F, por un lado, y las beta-lipo-proteínas y el colesterol total del suero por la otra.

En el cuadro No. 5 se presentan las confrontaciones resultantes de los diferentes niveles de la bilirrubinemia total en relación con el T S-F, por las cuales se observa un considerable aumento del % de positividades de este último correspondiendo a los casos de niveles supranormales de bilirrubinemia total.

Parce que estos resultados son sólo reflejo de los datos presentados en el cuadro No. 6 y de las consideraciones que de los mismos pueden deducirse.

La frecuencia de la positividad del T S-F en las diferentes fases y formas clínicas de la hepatitis viral (cuadro No. 6) ofrece un paralelismo con el nivel de gravedad del proceso morboso, alcanzando el máximo en la forma grave.

Además, el mayor número de resultados positivos de la reacción se encuentra en el acmé del proceso en todas las formas y el menor durante el período de convalecencia, haciendo pensar que probablemente este fenómeno se halla condicionado por la tendencia a la disproteinemia durante la evolución del cuadro clínico.

Y como el test de Sellek-Frade sigue la tendencia ondulatoria de la enfermedad misma, se puede utilizar como criterio de juicio sobre el carácter de la evolución del cuadro clínico y el pronóstico de la hepatitis viral.

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados mencionados en el trabajo permite alcanzar las siguientes consideraciones conclusivas:

1. El test de Sellek-Frade es una reacción inespecífica de la labilidad coloidal del suero que refleja a menudo la hipergamma-globulinemia y, parcialmente, la hiperbeta-globulinemia.
2. Existe un paralelismo entre el T S-F, el de McLagan y el de Wührmann-Wunderly.
3. Se ha mencionado una correlación directa entre la frecuencia de la positividad de la reacción al acetato de cobre y el grado de intensidad de la hepatitis viral.
4. El máximo de frecuencia de la positividad ha sido constatado en el acmé de la afección.
5. Tanto por su ventajas, como por la particular simplicidad de su técnica y su valor clínico, es test de Sellek-Frade puede ser ampliamente aplicado en la práctica de nuestros hospitales, usándolo, entre otros, como criterio para determinar el grado de alteración o de la restitución funcional del hígado durante la evolución de la hepatitis viral así como las otras hepatopatías.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—*Nguen-The Minh*: Presse Medicale, No. 32, pag. 1256, 1960.
- 2.—*Padolecchia, N., et al.*: Minerva Médica; No. 79, pag. 2855, 1962.
- 3.—*Polonovski, M. et al.*: Biochimie Médicale; fasc. III, p. 747, 1961.