

## COBRE SERICO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

**Jesús Estévez\*, Heberto Suárez\*, José Omar Dávila\*\*, Ernesto Bonilla\*\*, Luz Marina Morales\*\*, Leonor Chacín de Bonilla\*\*, Rudy Villalobos\*\*\*.**

\* INBIOMED, FUNDACITE-ZULIA, Apartado Postal 376, Maracaibo 4010, Venezuela.\*\* INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CLINICAS, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo.\*\*\* FACULTAD DE AGRONOMIA, Universidad del Zulia.

### RESUMEN

Se determinó la concentración sérica del cobre, mediante espectrofotometría de absorción atómica, en 3 grupos de individuos: Pacientes con la Enfermedad de Huntington (N= 18); hijos de enfermos (N= 39) y controles sanos (N= 88). En el presente trabajo no se detectó ninguna diferencia significativa entre los grupos estudiados (Controles:  $118.11 \pm 4.49$  ug/dl; Coreicos:  $110.09 \pm 2.99$  ug/dl; Hijos:  $105.22 \pm 6.61$  ug/dl), pero sí entre los individuos del sexo femenino de todos los grupos ( $117.66 \pm 3.27$  ug/dl) con respecto a los del sexo masculino ( $99.45 \pm 2.98$  ug/dl) ( $p < 0.0001$ ). Estos resultados no apoyan la hipótesis de una alteración general del metabolismo del cobre en la Enfermedad de Huntington. La diferencia observada entre los sexos ha sido reportada previamente, y se ha considerado como debida a un efecto estrogénico.

## INTRODUCCION

El cobre es un elemento ampliamente distribuído en los tejidos y órganos; siendo el hígado y el cerebro los órganos con mayores concentraciones del mismo (26, 27) y los de mayor vulnerabilidad a las alteraciones producidas en el metabolismo de este metal; lo que se demuestra en las enfermedades de Wilson y de Menkes, en las cuales se observa un aumento y una disminución, respectivamente, del cobre intracelular; en ambos casos, las mayores alteraciones se presentan en los órganos ya mencionados (7, 29, 31). Estos cambios, que generalmente conducen a degeneración y muerte celular, son debidos aparentemente a un desequilibrio en el papel que juega el cobre como parte esencial estructural y/o cofactor de algunas enzimas, entre las que se pudiera nombrar: a) citocromo oxidasa, componente de la cadena respiratoria, donde se produce la síntesis oxidativa del ATP necesario en diferentes reacciones biológicas y la cual es de suma importancia en la síntesis de fosfolípidos (27, 29); b) la ceruloplasmina (proteína transportadora de cobre), enzima importante en la homeostasis del hierro a nivel intra y extracelular (8, 10, 22); c) la superóxido dismutasa citosólica (11, 14, 15); ch) la glutatión oxidasa (12); d) la cerebropreína (12) y e) la eritrocupreína (2, 18), enzimas que, junto con las dos anteriores, tienen como característica común la de intervenir en los procesos de utilización y degradación del anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo (OH.), los cuales son liberados en múltiples caminos metabólicos. Estas últimas cuatro enzimas actúan impidiendo que los radicales libres produzcan la peroxidación lipídica de los fosfolípidos de las membranas celulares (1, 12, 15, 25). Por contraste, el  $Cu^+$  libre, reacciona con el peróxido de hidrógeno, y cataliza la reacción del  $O_2$  con el  $H_2O_2$ . Ambas reacciones producen radicales hidroxilos; al aumentar el nivel de los mismos, estimulan la peroxidación lipídica. Esta propiedad es solo compartida por el  $Fe^{+2}$  (3, 15).

En ciertas enfermedades neurológicas hereditarias y degenerativas, se ha reportado un aumento de la peroxidación lipídica. Tal es el caso del Síndrome de Hallervorden-Spatz y de la lipofuscinosis ceroida neuronal (13, 24). En la Enfermedad de Huntington, aunque no se ha descrito este fenómeno, si se ha reportado una posible alteración del metabolismo de los fosfolípidos (17, 21).

Courville y col (5) han reportado una disminución del cobre intracerebral en pacientes con Corea de Huntington. Posteriormente, se determinó histológicamente la presencia de depósitos anormales de hierro a nivel de los núcleos estriales (16). Ambos hallazgos se refieren a dos oligoelementos esenciales dentro de los procesos de peroxidación.

El presente trabajo se realizó con el objeto de estudiar los niveles séricos de cobre en los pacientes con Enfermedad de Huntington. De esta manera, intentábamos conocer la significación del hallazgo de Courville y col. (5), sobre los niveles periféricos de este elemento.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 18 pacientes coreicos, 7 mujeres y 11 hombres, con edades comprendidas entre 15 y 57 años. En todos los individuos se constató una historia familiar y un diagnóstico neurológico positivo para la Enfermedad de Huntington. A su vez se estudiaron 39 hijos de enfermos, 32 mujeres y 7 hombres, cuyas edades oscilaban entre los 15 y 69 años.

Los controles sanos estaban representados por 88 individuos, 58 mujeres y 30 hombres, con edades entre los 14 y 74 años. Todos los casos (coreicos, hijos de enfermos y controles) provenían de un mismo habitat y presentaban semejante condición socio-económica. A los individuos de todos los grupos se les realizó un estudio del estado nutricional mediante el método recordatorio de 24 horas para determinar las características de sus dietas. Los resultados de este análisis se detallan en un trabajo aparte (Morales, L.M. en vías de publicación). Las personas estudiadas no recibieron ningún tipo de medicación ni suplementación vitamínica o de minerales 2 semanas previas a la toma de muestras. Los pacientes coreicos nunca habían recibido fármacos para tratar los síntomas de su enfermedad.

Las muestras de sangre fueron extraídas por punción venosa entre las 8 y 10 a.m., después de 16 horas de ayuno. Las muestras en los pacientes del sexo femenino fueron extraídas en tiempos equiparables del ciclo menstrual. El suero se separó al retraerse el coágulo y se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Las especificaciones para el lavado del material utilizado y la preparación del suero han sido previamente descritas (4, 19). La concentración del cobre sérico se determinó por Espectrofotometría de Absorción Atómica en un Espectrofotómetro Perkin-Elmer 2380 con un horno de grafito HGA-2100, según el método de adición de estándares (19).

Se realizó un Análisis de Variancia para determinar la existencia de diferencias significativas entre los factores (sexo, edad, grupo) enunciados con anterioridad (23). La prueba "t" de Student se utilizó para determinar los promedios que fueron significativamente diferentes entre sí.

## RESULTADOS

La Tabla I muestra las medias y los errores estándares de los 3 grupos estudiados. No se detectó ninguna diferencia significativa entre los individuos de los diferentes grupos (coreicos, hijos de enfermos y controles).

La tabla II presenta los diferentes valores de F para los estudios de las interrelaciones de los factores sexo, edad y grupo. Como puede observarse la única variable significativa fué el sexo. En efecto, el promedio de la concentración del cobre sérico en todos los individuos del sexo femenino fué significativamente mayor ( $P < 0.0001$ ) que las concentraciones observadas en el sexo masculino (Tabla III).

**TABLA I**  
COBRE SERICO EN COREA DE HUNTINGTON

Grupo	N	Cu Sérico (ug/dl)
Controles	88	118,11 ± 4,49*
Coreicos	18	110,09 ± 2,99
Hijos de Coreicos	39	105,22 ± 6,61

\* Los datos representan el promedio ± error estándar.

**TABLA II**  
ANALISIS DE VARIANCIA PARA LA VARIABLE COBRE

Factor analizado	F	P
Grupo	1.64*	NS**
Edad	1.32	NS
Sexo	11.40	0.0001***
Grupo x sexo	0.18	NS
Grupo x edad	2.52	NS
Edad x sexo	0.49	NS

\* Valor de la prueba F según el factor analizado

\*\* NS diferencia no significativa

\*\*\*  $P < 0.0001$  (prueba t de Student)

**TABLA III**

**ANALISIS DE LA VARIABLE COBRE CON RESPECTO AL SEXO**

Sexo	N	Cu Sérico (ug/dl)
F	97	117,66 ± 3,27*
M	48	99,45 ± 2,98**

\* Los datos representan el promedio ± el error estándar de todos los individuos de cada sexo.

\*\* La diferencia estadística es significativa con un valor de  $P < 0.0001$

**DISCUSION**

Basados en el conocimiento de que los trastornos en el metabolismo del cobre producen una sintomatología neuropsiquiátrica similar a la de ciertas enfermedades degenerativas (27), Nielsen y Butt, en 1955, trataron a una serie de pacientes con Corea de Huntington, con un agente quelante utilizado en la enfermedad de Wilson, el 2-3dimercapto-1propanol (BAL), el cual aparentemente resultó de cierto valor terapéutico (6). Este hecho condujo a la consideración de que una anomalía en el metabolismo de los oligoelementos (y del cobre en particular) era responsable de la patogénesis de la Enfermedad de Huntington.

Los estudios dirigidos a determinar dicha anomalía han sido de carácter contradictorio. Mientras Courville y col (5) reportan una disminución del cobre en diversas regiones cerebrales de 3 pacientes con la enfermedad, otras investigaciones describen niveles normales del metal en cerebro, hígado y orina en los pacientes de Corea de Huntington estudiados (6,20).

Las discrepancias observadas entre los estudios sobre el contenido cerebral de cobre pueden ser debidas a algunas de las siguientes causas: Los diversos medios de fijar el material podrían producir cambios estructurales desconocidos. El status alimenticio y el habitat de los individuos estudiados podrían ser altamente críticos. En efecto, las variaciones de la dieta producen un aumento (en el caso de dietas ricas en  $\text{CuCO}_3$  y  $\text{CuSO}_4$ ) ó una disminución, (en las alimentaciones pródigas en Zn, Cd y Fe, Fitatos y Acido Ascórbico) de la absorción intestinal del cobre (27). Finalmente, la farmacoterapia que hayan recibido los pacientes en el lapso de su enfermedad, resulta de extrema importancia, puesto que las drogas utilizadas pue-

den alterar el metabolismo normal de los oligoelementos. En efecto, diversos estudios han determinado que las fenotiazinas, fármacos ampliamente utilizados en Corea de Huntington, producen cambios en los niveles de cobre cerebral (6, 30).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo descartan una posible alteración de la absorción y distribución del cobre a los tejidos periféricos en la enfermedad de Huntington, y se requiere de futuros estudios a objeto de determinar la posibilidad de una alteración en la incorporación de cobre al tejido cerebral.

La diferencia significativa encontrada entre los sexos se corresponde con reportes anteriores (19) y parece deberse a un efecto estrogénico. En efecto, la administración de estradiol, en hombres, y de etilbestrol, en ratas, aumentan significativamente los niveles del cobre plasmático (27). Igual efecto se observa durante el embarazo y luego de la administración de anticonceptivos en mujeres (27).

Las concentraciones generales de cobre, determinadas en el total de los individuos estudiados, son semejantes a las reportadas en estudios realizados por otros autores (9, 28).

La necesidad de ahondar en el papel que juegan los metales y la peroxidación lipídica en el curso de las enfermedades neurológicas es obviamente de extrema importancia. La utilización de universos de individuos con status socio-económicos, dietéticos, farmacológicos y fisiológicos semejantes, así como estudios multidisciplinarios, son imprescindibles para llegar a dicho conocimiento.

#### Agradecimiento

Deseamos agradecer a la Sra. Iris de Quiroz por su inestimable ayuda en la recolección de las muestras e igualmente a la Srta. Elizabeth Prieto por su trabajo secretarial.

#### ABSTRACT

**Serum copper in patients with Huntington's Disease.** Estévez J. (INBIO-MED-FUNDACITE-ZULIA, Apartado Postal 376, Maracaibo 4010, Venezuela), Suárez H., Dávila J.O., Bonilla E., Morales L.M., Chacín de Bonilla L., Villalobos R. *Invest Clín* 27(3): 203-211, 1986. — The serum concentration of copper was determined by atomic absorption spectrophotometry in 3 groups of individuals: Huntington's disease patients (N = 18), offsprings of patients (N = 39) and healthy controls (N = 88). This study was carried out to determine the significance of a previous report concerning a decrease of brain contents of copper in Huntington's Disease. We could not demonstrate a significant difference between the groups (Control: 118.11

$\pm 4.49$  ug/dl; Huntington 's disease patients:  $110.09 \pm 2.99$  ug/dl; Offsprings:  $105.22 \pm 6.61$  ug/dl). However, the serum copper levels of females ( $117.66 \pm 3.27$  ug/dl), were higher than those of males ( $99.45 \pm 2.98$  ug/dl) ( $p < 0.0001$ ). Our results do not support the hypothesis of a general metabolic alteration of this metal in Huntington 's Disease. The difference existing between both sexes have been previously attributed to a strogenic effect.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AL-TIMIMI D., DORMANDY T. L.: The inhibition of lipid autoxidation by human caeruloplasmin. *Biochem J* 168: 283-288, 1977.
- 2- ARNESON R. M.: Substrate-inducen chemiluminescence of xanthine oxidase and aldehyde oxidase. *Arch Biochem Biophys* 136: 352-360, 1970.
- 3- BABA A., LEE E., OHTA A., TATSUMO T., IWATA H.: Activation of adenylate cyclase of rat brain by lipid peroxidation. *J Biol Chem* 256: 3679-3684, 1981.
- 4- BONILLA E.: Flameless atomic absorption spectrophotometric determination of manganese in rat brain and other tissues. *Clin Chem* 24: 471-474, 1978.
- 5- COURVILLE C. B., NUSBAUN R.E. BUTT E.M.: Changes in trace metals in brain in Huntington's Chorea. *Arch Neurol* 8: 481-489, 1963.
- 6- CURZON G.: The biochemistry of dyskinesias. *Int Rev Neurobiol* 10: 323-370, 1967.
- 7- DANKS D.M., STEVENS B.J., CAMPBELL P.E., GILLESPIE J. M., WALKER-SMITH J., BLOMFIELD J., TURNER B.: Menkes kinky-hair syndrome. *Lancet* 1: 1100-1102, 1972.
- 8- EVANS G.W., MAJORS, P.F., CORNATZER W.E.: Induction of ceruloplasmin synthesis by copper. *Biochem Biophys Res Com* 41(5): 1120-1125, 1970.
- 9- FISHER G.L., BYERS V.S., SHIFRINE M., LEVIN A.S.: Copper and zinc levels in serum from human patients with sarcomas. *Cancer* 37: 356-363, 1976.
- 10- FRIDEN E.: The copper conection. *Semin Hematol* 20 (2): 114-117, 1983.
- 11- FRIDORICH I.: Superoxide radical: and endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 23: 239-257, 1983.

- 12- FRIEDE R.L.: Inorganic Constituents. Part. 4. Copper. In Topographic Brain Chemistry. Chapter XIX pp 474-478, R.L. FRIEDE eds. Academic Press. New York-London, 1966.
- 13- GUTTERIDGE J.M.C., ROWLEY D.A., HALLIWELL B., WESTER-MARCK T.: Increased non-protein bound iron and decreased protection against superoxide radical damage in cerebrospinal fluid from patients with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Lancet* 2: 459-460, 1982.
- 14- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C.: Oxygen toxicity, oxigen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14, 1984.
- 15- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C.: Oxigen radicals and the nervous system. *TINS*. January 22-26, 1985.
- 16- KLINTWORTH L.K.: Huntington's chorea: morphologic contribution of a century. In: *Advances in Neurology* p. 353-368 Vol. 1 Raven Press. New York, 1973.
- 17- LLOYD K.G., DAVIDSON L.: <sup>3</sup>H-Gaba binding in brains from Huntington's chorea patients: Altered regulation by phospholipids? *Science* 205: 1147-1149, 1979.
- 18- MCCORD J.M., FRIDOVICH I.: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol Chem* 244: 6049-6055, 1969.
- 19- PAZ-MONCADA N., VILLASMIL J.J., BONILLA E.: Serum copper distribution in a suburban population of Maracaibo, Venezuela. *Invest Clin* 22 (2): 83-94, 1981.
- 20- PERRY T.L.: Urinary excretion of trace metals in Huntington's Chorea. *Neurology* 11: 1086-1090.
- 21- PHILLIPSON O.T., BIRD E.D.: Plasma glucose, non-esterified fatty acids and amino acids in Huntington's Chorea. *Clin Sci Mol Med* 52: 311-318, 1977.
- 22- ROESER H.P., LEE G.R., NACHT S., CARTWRIGHT E.: The role of ceruloplasmin in iron metabolism. *J Clin Invest* 49(12): 2408-2417, 1970.
- 23- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS: Users Guide. Raleigh, NC. U.S.A. S.A.S. Institute Inc. 1985.
- 24- SWAIMAN K.F., SMITH S.A., TROCK G.L. SIDDIQUI A.L.: Sea blue histiocytes, lymphocytic cytosomes, movement disorder and

<sup>59</sup>Fe-uptake in basal ganglia: Hallervorden-Spatz disease or ceroid storage disease with abnormal isotope scan?. *Neurology* 33: 301-305, 1983.

- 25- TAPPEL A.L.: Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.* 32: 1870-1874, 1973.
- 26- TIPTON I.H., COOK M.J.: Trace elements in human tissue. Part II. Adult subjects from United States. *Health Physics* 9: 103-145, 1963.
- 27- UNDERWOOD E.J.: 3. Copper. In *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. pp 56-108, 4th Edition. E.J. UNDERWOOD eds. Academic Press. INC. (London) LTD, 1977.
- 28- VERSIECK J., BARBIER F., SPEECKE A., HOSTE J.: Influence of myocardial infarction on serum manganese, copper and zinc concentrations. *Clin Chem* 21: 568-571, 1975.
- 29- WALSKE J.M.: The biochemistry of copper in man and its role in the pathogenesis of Wilson's Disease (hepatolenticular degeneration). In *Biochemical Aspects of Nervous Disease*. pp. 111-150. J.N. Cummings eds. Plenum Press. London and New York, 1972.
- 30- WEINER W.J., NAUSIEDA P.A., KLAWANS H.L.: Effect of chlorpromazine on central nervous system concentrations of manganese, iron and copper. *Life Science* 20: 1181-1186, 1977.
- 31- WILLIAMS D.M.: Copper deficiency in human. *Semin Hematol* 20(2): 118-128, 1983.