

NIVELES SÉRICOS DE COBRE EN PACIENTES CON ENFERMEDAD BENIGNA Y CÁNCER DE MAMA

PAOLA CELEDÓN¹, LEONARDO GONZÁLEZ², RITA CECILIA BELLAGAMBA¹, MARÍA ELENA VILORIA¹, JOSÉ GONZÁLEZ¹, MARÍA NELLY RAMOS¹, ALFONSO BRAVO³, JOAN MESA³

¹LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL CÁNCER, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS, LUZ, ²HOSPITAL CLÍNICO DE MARACAIBO, ³LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN NUTRICIÓN, ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA, FACULTAD DE MEDICINA, LUZ, MARACAIBO, VENEZUELA.

MENCION HONORÍFICA PREMIO DR. ALEJANDRO CALVO LAIRET. 2004

RESUMEN

OBJETIVOS: El propósito de este estudio fue determinar los niveles séricos de cobre en pacientes con lesiones benignas y malignas de mama y controles sanos. **MÉTODOS:** Se realizó un estudio prospectivo donde se compararon los niveles séricos de cobre entre 30 pacientes con cáncer de mama, 15 con enfermedad benigna y 15 controles. Los niveles séricos de cobre fueron determinados por espectrofotometría de absorción atómica con flama. Se aplicaron evaluaciones estadísticas para correlacionar los resultados obtenidos. **RESULTADOS:** Los niveles de cobre fueron elevados en pacientes con cáncer de mama ($P < 0,05$) en contraste con las pacientes con enfermedad benigna y controles. No hubo diferencias entre el grupo con enfermedad benigna y los controles. **CONCLUSIONES:** El cobre puede ser usado como un indicador de enfermedad maligna en la evaluación y seguimiento de pacientes con cáncer de mama.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, mama, cobre.

SUMMARY

OBJECTIVES: The aim of the present study was to determine the serum copper levels in patients with benign and malignant breast lesions and in healthy controls. **METHODS:** We realized a prospective study where we compared the serum copper levels between 30 patients with breast cancer, 15 with benign breast diseases and 15 controls were evaluated. The serum copper levels were measured by a flame atomic absorption spectrometry. Statistical test were performed to correlate the results and the data. **RESULTS:** The copper levels were higher in patients with breast cancer ($P < 0.05$) in contrast to patients with benign lesions and the controls. There were no differences between the group with benign disease and the controls. **CONCLUSIONS:** The copper could be use as an index of a malignant disease in the evaluation and follow up of breast cancer patients.

KEY WORDS: Cancer, breast, copper.

INTRODUCCIÓN

El rol biológico del cobre como metal trazador en diferentes condiciones fisiológicas y patológicas ha sido ampliamente investigado en los últimos años. En el suero sanguíneo, el cobre se encuentra principalmente unido a sus proteínas transportadoras: albúmina y ceruloplasmina⁽¹⁾, siendo esta última, una de las dos enzimas antioxidantes más importantes en

Recibido: 10/07/2004 Revisado: 25/07/2004

Aceptado para Publicación: 15/09/2004

Correspondencia: Dra. Paola Celedón

Laboratorio de Biología del Cáncer, Instituto de Investigaciones Biológicas, Hospital Clínico de Maracaibo, Maracaibo, Edo. Zulia, Venezuela.

E-mail: paomela@yahoo.com

el humano, precedida por la superóxido dismutasa (SOD) dependiente de cobre y zinc ⁽²⁾. El cobre es fundamental para el apropiado funcionamiento de estas enzimas, las cuales protegen los componentes celulares del daño inducido por radicales libres, considerado de relevancia particular en la carcinogénesis ⁽³⁾. Se ha documentado también, que se requiere un nivel adecuado de cobre para el funcionamiento óptimo del sistema inmunitario ⁽⁴⁾, cuyo papel de defensa contra el desarrollo de enfermedades neoplásicas es bien conocido. Niveles séricos elevados de cobre han sido encontrados en diversas formas de cáncer, incluyendo de pulmón, cavidad oral, colon y mama ⁽⁵⁻⁸⁾. Dicha elevación pareciera parte de una respuesta biológica al cáncer ⁽⁹⁾, ya que numerosos estudios han demostrado que con la remisión, los niveles de cobre disminuyen inclusive hasta su nivel normal, mientras que en pacientes sin respuesta a tratamiento o avance de la enfermedad, los niveles séricos se mantienen elevados ^(10,11). Ha sido planteado que esta respuesta fisiológica está dirigida a la activación de la SOD y otras enzimas dependientes de cobre para inhibir el crecimiento de la célula cancerosa ⁽⁹⁾. Además, el cobre es capaz de inducir apoptosis a través de la disminución del glutatión intracelular y liberación de óxido nítrico que promueve la modulación de las proteínas bax, bad y bcl-2 ⁽¹²⁾. Sin embargo, trabajos recientes han soportado el papel fundamental del cobre en la iniciación de la angiogénesis, a través de la estimulación de la proliferación y migración direccional de las células endoteliales ⁽¹³⁻¹⁵⁾. Estas observaciones han estimulado la investigación de terapias antiangiogénicas, a través de elementos queladores de cobre, como la penicilamina y captopril ^(16,17). A pesar que la elevación del cobre sérico ha sido reportada previamente en cáncer de mama, existen pocos reportes que incluyan pacientes con enfermedad benigna. El propósito de este estudio fue comparar niveles séricos de cobre en pacientes sanas y con enfermedad benigna y maligna de mama.

MÉTODOS

Se diseñó un estudio de tipo observacional, prospectivo, comparativo, de corte transversal, aprobado previamente por el consejo técnico del Instituto de Investigaciones Biológicas de la Facultad de Medicina de La Universidad del Zulia. Las pacientes fueron informadas sobre su participación en dicho estudio, la cual aprobaron de forma verbal o escrita, según lo establecido en la Declaración de Helsinki. Se conformaron tres grupos de estudio: Pacientes sanas o controles (Grupo 1), pacientes con enfermedad benigna de mama (Grupo 2) y pacientes con cáncer de mama (Grupo 3). Criterios de inclusión para el Grupo 1: mujeres sanas entre los 18 y 70 años con ambas mamas presentes. Criterios de exclusión para el grupo 1: antecedentes personales o familiares de patología mamaria, padecimiento de enfermedades crónicas y/o agudas para el momento del estudio, tratamiento actual con algún tipo de medicamento. Criterios de inclusión para el Grupo 2: mujeres entre los 18 y 70 años con diagnóstico radiológico o histológico de enfermedad benigna de mama. Criterios de exclusión para el Grupo 2: Los mismos que para el grupo 1, excepto los antecedentes personales o familiares de patología mamaria maligna. Criterios de inclusión para el Grupo 3: mujeres entre los 18 y 70 años con ambas glándulas mamarias presentes, diagnóstico citológico y/o histológico de neoplasia primaria de mama con lesiones metastásicas o sin ellas. Criterios de exclusión para el grupo 3: padecimiento de otras enfermedades crónicas, tratamiento previo con quimioterapia o radioterapia, tratamiento actual con algún tipo de medicamento. Las pacientes se seleccionaron entre aquellas que acudieron a la Unidad de Enfermedades Mamarias del Hospital Nuestra Señora de Chiquinquirá de Maracaibo y el Servicio de Ginecología y Oncología del Hospital Clínico de Maracaibo. Los grupos 1 y 2 estuvieron

conformados por 15 pacientes cada uno, y el grupo 3 por 30 pacientes, para un total de 60 pacientes en estudio. Se recolectaron 10 mL de sangre periférica por veno-punción sin anticoagulante en envases de vidrio tratados previamente con un lavado de detergente no iónico y agua desionizada, previo ayuno de la paciente no mayor de doce horas, los cuales se centrifugaron a 2000 rpm por diez minutos. Las alícuotas de suero se recuperaron del sobrenadante y se congelaron a -70°C hasta el momento de su procesamiento. Los sueros fueron digeridos con HNO_3 concentrado en bombas de digestión Parr según técnica descrita previamente ⁽¹⁸⁾. Las muestras procesadas se analizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer Modelo 3100, bajo la modalidad de llama, provisto con lámpara de cátodo hueco sin electrodo. Las lecturas fueron realizadas a 324,8 NM bajo parámetros operacionales y estándares de calibración ⁽¹⁹⁾.

Los datos clínicos de las pacientes se organizaron mediante distribución de frecuencia en valores absolutos y relativos. Los valores de las concentraciones séricas de cobre se analizaron en el programa SPSS® para Windows versión 9.0 en inglés, determinándose valores promedios por grupo, desviaciones estándar y rangos. A dichos valores promedios se aplicó un análisis de varianza ANOVA de una vía para determinar la diferencia entre los tres grupos en estudio de forma general, considerándose significativa con un valor de $P < 0,05$. Posteriormente se aplicó la prueba de Duncan para determinar las diferencias entre los grupos confrontándolos de forma individual, considerándose significativo con un valor de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Las edades promedios y sus desviaciones estándar para cada grupo se observan en el

Cuadro 1. En el grupo de pacientes con enfermedad benigna de mamas el 46,6 % ($n = 7$) fueron diagnosticadas a través de estudios citológicos o histopatológicos, mientras que en el resto (53,3 %) el diagnóstico fue radiológico.

Cuadro 1. Edades promedios y sus desviaciones estándar en los diferentes grupos en estudio

Grupo	Edad promedio	N°
Sanas o controles (Grupo 1)	$45,73 \pm 9,63$	15
Enfermedad benigna (Grupo 2)	$45,73 \pm 8,25$	15
Cáncer de mama (Grupo 3)	$48,50 \pm 8,19$	30
Total	$47,11 \pm 8,55$	60

Los diagnósticos de este grupo se detallan en el Cuadro 2. Con respecto al grupo de pacientes con cáncer de mama, el 40 % tenían citologías positivas para malignidad, mientras que el resto habían sido biopsiadas. De ellas, el 16,6 % ($n = 6$) presentaban enfermedad metastásica ósea y/o ganglionar.

Cuadro 2. Diagnósticos en el grupo de pacientes con enfermedad benigna de mama.

Diagnóstico	N°	(%)
Enfermedad fibroquística /		
Displasia mamaria	10	66,66
Fibroadenoma	3	20
Tumor Phyllodes	1	6,66
Papiloma intraductal	1	6,66
Total	15	100

Los diagnósticos histológicos de este grupo se detallan en el Cuadro 3. Los valores promedios de cobre sérico fueron $48,47 \mu\text{g/dL} \pm 18,05$ para el grupo sano o control; $55,09 \mu\text{g/dL} \pm 20,19$ para el grupo con enfermedad benigna y $76,30 \mu\text{g/dL} \pm 31,64$ en el grupo con cáncer de mama. El análisis de varianza arrojó diferencias significativas entre grupos ($P < 0,05$). La diferencia entre el grupo de pacientes con cáncer y el grupo con enfermedad benigna ($P = 0,013466$) y sano ($P = 0,008267$) fueron las relevantes, evidenciada a través de la prueba de Duncan. Por lo contrario, no hubo diferencias significativas entre el grupo con enfermedad benigna y el grupo sano.

Cuadro 3. Diagnósticos en el grupo de pacientes con cáncer de mama.

Diagnóstico	N°	(%)
Citología positiva para malignidad	12	40
CDI	9	30
Otros	5	16,66
CLI	3	10
Carcinoma mucinoso	1	3,33
Total	30	100

DISCUSIÓN

El grupo de pacientes con cáncer de mama mostró niveles séricos elevados de cobre en comparación con el grupo sano y con enfermedad benigna, en los cuales los niveles fueron similares y sin relevancia estadística entre ellos. Nuestros resultados se muestran similares a los de otras series ⁽²⁰⁾. El grupo de pacientes con cáncer incluyó pacientes con enfermedad

metastásica, lo que plantea que este tipo de pacientes también muestra niveles elevados de cobre sérico; mientras que en las pacientes con enfermedad benigna los valores no difirieron del grupo control. Se hace evidente, que la elevación del cobre se encuentra en relación a la malignidad de la enfermedad, y soporta el planteamiento de que esta elevación sea una respuesta fisiopatológica del organismo para incrementar enzimas implicadas en la antioxidación o para inducir apoptosis en la célula tumoral como se ha sugerido previamente ^(9,12). Por otra parte, es posible plantear que dicha elevación sea un mecanismo tumoral para la estimulación de la angiogénesis ⁽¹³⁻¹⁵⁾, lo que otorgaría la capacidad de seguir creciendo y metatizar a través de la vía hematogénica. Sin embargo, otros autores no han demostrado la utilidad del cobre y otros elementos trazadores como indicadores de actividad de la enfermedad en pacientes con lesiones malignas y benignas de mama ^(21,22). Se hace necesaria una experiencia en nuestra población en estudios de corte longitudinal, con un seguimiento de las pacientes a través de la progresión de la enfermedad y observar la variación del cobre en relación con la respuesta al tratamiento, como se han descrito en otras experiencias en Latinoamérica ⁽²³⁾. Nuestros hallazgos sugieren la posibilidad de monitorear pacientes con cáncer de mama, a través de sus niveles séricos de cobre, utilizándolo como un indicador de enfermedad maligna.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Instituto de Investigaciones Biológicas y el Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición. Muy especialmente a los bachilleres Maria Virginia Molero, Ana Partidas, Vanessa García y Rafael Puche por sus valiosos aportes. A los Drs. Gasam Makarem y Luis Felipe Colmener por su gentil y desinteresada colaboración.

REFERENCIAS

1. Solomons NW. Biochemical, metabolic, and clinical role of copper in human nutrition. *J Am Coll Nutr.* 1985;4(1):83-105.
2. Harris ED. Trace elements in health. Butterworth's (Londres); Editorial J. Rose; 1983.
3. Cerutti PA. Oxidant stress and carcinogenesis. *Eur J Clin Invest.* 1991;21(1):1-5.
4. Percival SS. Copper and immunity. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(5 Suppl):1064-1068.
5. Milde D, Novak O, Stuka V, Vyslouil K, Machacek J. Serum levels of selenium, manganese, copper, and iron in colorectal cancer patients. *Biol Trace Elem Res.* 2001;79(2):107-114.
6. Ferrigno D, Buccheri G, Camilla T. Serum copper and zinc content in non-small cell lung cancer: Abnormalities and clinical correlates. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1999;54(3):204-208.
7. Jayadeep A, Raveendran Pillai K, Kannan S, Nalinakumari KR, Mathew B, Krishnan Nair M, et al. Serum levels of copper, zinc, iron and ceruloplasmin in oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 1997;16(3):295-300.
8. Piccinini L, Borella P, Bargellini A, Medici CI, Zoboli A. A case-control study on selenium, zinc, and copper in plasma and hair of subjects affected by breast and lung cancer. *Biol Trace Elem Res.* 1996;51(1):23-30.
9. Linder M, Hazeg-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr.* 1996;63(5 Suppl):797-811.
10. Tessmer CF, Hrgovcic M, Thomas FB, Fuller LM, Castro JR. Serum copper as an index of tumor response to radiotherapy. *Radiology.* 1973;106(3):635-639.
11. Wollgens P, Kuhne-Velte H, Frenke-Lompa C. Serum iron and serum copper balance in the early diagnosis of metastases of breast cancer. *Onkologie.* 1980;3(1):32-35.
12. Ho YS, Liu HL, Duh JS, Chen RJ, Ho WL, Jeng JH, et al. Induction of apoptosis by S-nitrosoglutathione and Cu²⁺ or Ni²⁺ ion through modulation of bax, bad and bcl-2 proteins in human colon adenocarcinoma cells. *Mol Carcinog.* 1999;26(3):201-211.
13. Hu GF. Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture. *J Cell Biochem.* 1998;69(3):326-335.
14. McAuslan B, Reilly W. Endothelial cell phagocytosis in response to specific metal ions. *Exp Cell Res.* 1980;130(1):147-157.
15. Gullino PM. Considerations of the mechanisms of the angiogenic response. *Anticancer Res.* 1986;6(2):153-158.
16. Brem S, Wotoczek-Obadia MC. Regulation of angiogenesis by copper reduction and penicillamine: Antagonism of cytokine and growth factor activity. AACR Special Conference: Angiogenesis and cancer research. Orlando, Fla. January 24-28, 1998. Abstract A-16.
17. Volpert OV, Ward WF, Lingen MW, Chesler L, Solt DB, Johnson MD, et al. Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumors in rats. *J Clin Invest.* 1996;98(3):671-679.
18. Okamoto K, Fuwa K. Low contamination digestion bomb method using teflon double vessel for biological materials. *Anal Chem.* 1984;56:1758-1760.
19. Perkin Elmer Corporation. Analytical Methods for atomic absorption spectrophotometry. Perkin Elmer Corporation. Norwalk, CN; 1976.
20. Vaidya SM, Kamalakar PL. Copper and ceruloplasmin levels in serum of women with breast cancer. *Indian J Med Sci.* 1998;52(5):184-187.
21. Garofalo JA, Ashikari H, Lesser ML, Menendez-Botet C, Cunningham-Rundles S, Schwartz MK, et al. Serum zinc, copper and the Cu/Zn ratio in patients with benign and malignant breast lesions. *Cancer.* 1980;46(12):2682-2685.
22. Yucel I, Arpacı F, Ozet A, Doner B, Karayilanoglu T, Sayar A, et al. Serum copper and zinc levels and copper zinc/ratio in patients with breast cancer. *Biol Trace Elem Res.* 1994;40(1):31-38.
23. Céspedes M, Mulet D, Suárez M, García R. Determination of some biochemical and hematological elements in the blood of breast cancer patients. *Rev Cuba Oncol.* 1994;10(1/2):19-24.

Comentarios

NIVELES SÉRICOS DE COBRE EN PACIENTES CON ENFERMEDAD BENIGNA Y CÁNCER DE MAMA

ÁLVARO GÓMEZ RODRÍGUEZ

ADJUNTO SERVICIO DE PATOLOGÍA MAMARIA DEL HOSPITAL ONCOLÓGICO PADRE MACHADO, VICEPRESIDENTE DE LAS SOCIEDAD VENEZOLANA DE MASTOLOGÍA

El cáncer de mama representa en nuestro país la segunda causa de muerte oncológica en el sexo femenino, después del cáncer de cuello uterino, siendo muy interesante observar que se tratan de desarrollar en los centros nacionales de investigación del cáncer, estudios y ensayos clínicos en la búsqueda de la probable etiología de esta enfermedad, pero no restringiéndose solamente a la búsqueda de los factores de riesgo, epidemiológicos, donde es importante, por ejemplo, el tipo de dieta, tipo de alimentación, sino también el estudio de la biología molecular y sobre todo de la carcinogénesis.

Durante mucho tiempo en esa búsqueda epidemiológica de los factores de riesgo, se ha relacionado la aparición del cáncer de mama con la ingesta de elementos tan diferentes y variables como el ácido fólico, vitamina B12, zinc y cobre, pero sin llegar a conclusiones importantes. Al revisar la literatura podemos encontrar ensayos a favor o en contra de la importancia de los niveles séricos sobre todo del cobre, así autores como Dabek y col. ⁽¹⁾, opinan que existe una relación importante entre

la presencia de niveles séricos elevados de cobre y carcinoma de la mama, similar al que observamos en el presente estudio, pero esta relación es más frecuente y estadísticamente significativa en pacientes con cáncer de mama pero que sean premenopáusicas, diferencia que aparentemente no ocurre en las mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama. Otros autores como Cavallo y col. ⁽²⁾, no encuentran relación entre los niveles séricos de cobre y cáncer de mama, pero sí cuando se relacionan los niveles séricos de zinc.

Por otra parte, el cobre es un metal trazador esencial en la dieta de los seres humanos, y se sabe que es un factor importante en el desarrollo de la angiogénesis tumoral, asimismo estimula la proliferación y migración de las células endoteliales humanas. Algunos reportes muestran una disminución en la densidad de los microvasos y del tamaño tumoral en ratones tratados con penicilamina, con la que se logra una deficiencia de cobre, pero sin saberse con certeza el mecanismo molecular por el cual la deficiencia de cobre regula la angiogénesis.

Desde que Folkman en 1971 ⁽³⁾, quien fue el primero en descubrir que los tumores con dimensiones menores de 2 mm necesitan de la angiogénesis para crecer, desarrollarse, adquirir

Correspondencia: icut145@cantv.net

la habilidad de formar vasos *in novo*, no sólo para su crecimiento sino también para aumentar su potencial metastático, el saber que la reducción del cobre en plasma parece bloquear la angiogénesis es una buena noticia. De ahí la gran importancia que investigadores de nuestro país estén desarrollando esta línea de investigación.

La importancia del presente estudio clínico también radica en el hecho de que en el futuro, las terapias contra el cáncer de mama, que inhiben la angiogénesis no sólo se utilizarán solas sino también para aumentar la eficacia de drogas de quimioterapia, y probablemente en conjunto con fármacos que logren la disminución de los niveles séricos de cobre de las pacientes portadoras de cáncer de mama.

No me queda más que felicitar a los autores del presente estudio clínico y mantengan la motivación que los impulsa en la búsqueda de respuestas a las diferentes preguntas y dudas que se nos presentan en el manejo clínico y terapéutico del cáncer de mama.

REFERENCIAS

1. Dabek JT, Hyvonen-Dabek M, Harkonen M, Adlercreutz H. Evidence for increased non-ceruloplasmin copper in early-stage human breast cancer serum. *Nutr Cancer*. 1992;17(2):195-201.
2. Cavallo F, Gerber M, Marubini E, Richardson S, Barbieri A, Costa A, et al. Zinc and copper in breast cancer. A joint study in northern Italy and southern France. *Cancer*. 1991;67(3):738-745.
3. Pan Q, Kleer CG, van Golen KL, Irani J, Bottema KM, Bias C, et al. Copper deficiency induced by tetrathiomolybdate suppresses tumor growth and angiogenesis. *Cancer Res*. 2002;62(17):4854-4859.