Determinación sérica de cobre, cinc y relación sérica CU/ZN en pacientes con artritis reumatoide

Determination serum copper, zinc and serum ratio Cu / Zn in patients with rheumatoid arthritis

Esther Giménez[1*], Oscar Alarcón[2], Vicente Rodríguez[3], Carlos Rondón[2], Humberto Riera[3], Luisa Betancourt[3], Gladys Coulantoni [3], Pablo Carrero[2]

RESUMEN

El presente estudio tiene por objetivo comparar los niveles séricos de cobre (Cu), cinc (Zn) y el cociente molar Cu/Zn en 129 pacientes con artritis reumatoide (RA), en 94 individuos sanos como grupo control (GC) y 21 pacientes con enfermedades reumáticas no artríticas (NER), como la fibromialgia, espondilitis anquilosante entre otras. Las concentraciones séricas de Cu y Zn fueron analizadas por espectroscopía de absorción atómica en llama acoplada a un sistema de inyección en flujo continuo (EAA/FIA). Los resultados muestran un incremento significativo ($p<0,05$) del cobre sérico en los pacientes con AR en comparación con los otros grupos (NER y GC); este aumento fue directamente proporcional a la actividad inflamatoria de la enfermedad. El nivel medio de cinc sérico mostró una disminución progresiva. Asimismo, el detrimento sérico del cinc está relacionado con la evolución de la enfermedad o la pérdida de capacidad funcional del paciente con los niveles alterados de cobre observados en pacientes con AR activo y en etapa temprana de la enfermedad ($p<0,05$). Los cocientes molares de Cu/Zn fueron de 1,88; 1,14 y 1,18 para la AR, GC y NER, respectivamente, demostrando que su modificación es más notoria que evaluar cada oligoelemento por separado. Estos hallazgos sugieren que existe una redistribución tanto del cobre como del cinc en muchos compartimientos del cuerpo, como respuesta inflamatoria. Por lo que niveles séricos de Cu, Zn y Cu/Zn molar puede ser un criterio valioso para la evaluación clínica y posiblemente, para el estudio y seguimiento de los pacientes con AR.

Palabras clave: Cobre, cinc, artritis reumatoide, espectroscopía de absorción atómica en llama, inyección en flujo.

SUMMARY

The aim of this study was to measure the serum levels of copper (Cu) and zinc (Zn) in 129 patients with rheumatoid arthritis (RA), in 94 healthy subjects (HS) and in 21 patients with non-rheumatic diseases (NRD) such as osteoarthritis, fibromyalgia, and ankylosing spondylitis. Serum concentrations of Cu and Zn were measured by flow injection analysis/flame atomic absorption spectroscopy (FIA/FAAS). The Cu/Zn molar ratio in serum also was evaluated in these patients. The result shown that the average concentration of serum copper in patients with RA was significantly increased ($p <0.05$), on comparing with other patients. This increase was directly proportional to staging or disease progression while zinc concentration was significantly lower in patients with RA, but no differences were found between the stages of the disease. The values of Cu/Zn ratio were 1.88, 1.14 and 1.18, for AR, HS, and NRD patients, respectively. In conclusion, in patients with RA serum copper tend to increase and serum Zn tend to decrease and Cu/Zn molar ratio increases significantly ($p<0.05$). In conclusion, our results suggest that serum Cu, Zn and Cu/Zn molar ratio could be valuable criteria for clinical evaluation and possibly follow-up study of patients with RA.

Keywords: Copper, zinc, rheumatoid arthritis, atomic absorption spectroscopy, flame, flow injection.

1. Laboratorio de Bioquímica Nutricional. Unidad de Investigación en Bioquímica. Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado”. Barquisimeto, Venezuela.
2. Laboratorio de Espectroscopia Molecular. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
3. Servicio de Reumatología, Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes. Mérida, Venezuela.
4. Unidad de Investigación en Bioquímica. Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado”. Barquisimeto, Venezuela.

Autor de correspondencia: Esther Giménez. Laboratorio de Bioquímica Nutricional. Unidad de Investigación en Bioquímica. Decanato de Ciencias de la Salud. Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado”. Av. Andrés Bello con av. Libertador al lado del Hospital Central “Antonio María Pineda”. Tel/Fax: (0251) 259.1950. Correo electrónico: gimenez.esther@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inmuno-inflamatoria crónica de etiología desconocida que afecta aproximadamente el 2% de la población adulta, de dos a tres veces más frecuente en la mujer que en el hombre y, aunque puede comenzar a cualquier edad, tiene una incidencia máxima entre los 25 y los 60 años[1]. Esta enfermedad se caracteriza por la inflamación persistente del cartílago articular, o de las coyunturas sinoviales, que conllevan progresivamente a la destrucción del hueso circundante al cartílago. El proceso se inicia cuando la capa que cubre el interior de las articulaciones se inflama, causando dolor y entumecimiento; los daños son más comunes en dedos de manos y pies, pero no resultan raros en muñecas, codos, hombros, rodillas y tobillos. Asimismo pueden afectar los cartílagos, huesos y ligamentos, provocando deformación, cicatrices y rigidez, dificultando el movimiento, especialmente después de largos períodos de reposo[2].

La causa de la AR se desconoce y se ha sugerido que es una manifestación de la respuesta del huésped con susceptibilidad genética a un agente infeccioso. Algunos autores sugieren que también podrían involucrarse factores ambientales y hormonales, interrelacionados en forma compleja[3]. Dada la amplia distribución de la AR en todo el mundo, se piensa que el microorganismo infeccioso debe ser ubicuo y aunque se han propuesto diferentes microorganismos (mycoplasma, citomegalovirus, etc.), no existen pruebas concluyentes que demuestre que producen la enfermedad[4].

Las manifestaciones clínicas de la AR se inician con la llegada de los leucocitos en el líquido sinovial. Estos linfocitos producen mediadores proteicos (citoquinas) que inician la inflamación, atraen otras células inmunológicas al sitio, activan células residentes y causan un exceso en la producción del líquido sinovial[5]. En la AR temprana, la membrana sinovial se vuelve delgada debido a la hiperplasia e hipertrofia de las células de la membrana sinovial. Una extensa red de nuevos vasos (angiogénesis) comienza a formarse en el espacio sinovial. Las células T (principalmente CD4+) y las células B (algunas de las cuales son células plasmáticas) se infiltran en la membrana sinovial. Estas células se encuentran inclusive en el líquido sinovial, junto con un gran número de neutrófilos. En las etapas tempranas de la AR, la membrana sinovial comienza a invadir el cartílago. En la AR declarada, la membrana sinovial se comienza a transformar en un tejido inflamatorio "*panus*". Este tejido invade y destruye el cartílago y el hueso adyacente. El *panus* consiste en sinoviositos tipo A (sinoviositos tipo macrófagos) y tipo B (sinoviositos tipo fibroblastos) y células plasmáticas[3,5].

La actividad incrementada de los macrófagos, con la cooperación de otras células como monocitos y granulocitos, infiltran el tejido sinovial, generan especies reactivas del oxígeno (radicales libres) que se consideran mediadores de la inflamación. Estos radicales libres también son mediadores del daño tisular, debido a que estas especies reactivas del oxígeno promueven la peroxidación lipídica, una reacción oxidativa en cadena, con efectos devastadores, que destruyen los fosfolípidos (ácidos grasos insaturados) de las membranas celulares, con daños a la proteínas membranales que determinan la lesión /inflamación y la muerte de las células[6].

El cinc y el cobre son parte integral de diversas metaloenzimas como la Cu, Zn- superoxido dismutasa (Cu, Zn-SOD) y la ceruloplasmina, una cuproenzima[7], que desempeñan un papel importante en la inmunidad y en los mecanismos de protección ante el daño causado por las especies reactivas del oxígeno, tales como la disminución de la expresión de las citoquinas y la actividad de las colagenasas inducidas por el factor de necrosis tumoral α, el cual necesita un mecanismo adicional de protección contra la AR[8].

El papel del Zn en la inflamación crónica ha sido de gran interés por su participación como cofactor de enzimas importantes involucradas en la síntesis de colágeno, el metabolismo óseo, sistema de complemento, enzimas de liberación lisosomal y función del macrófago [9,10]. En pollos, la deficiencia de cinc está asociada con artropatías y en el hombre, esta carencia determina alteraciones en la cicatrización de heridas, ulceraciones cutáneas y quemaduras, enfermedades hepáticas entre otras[9]. En relación al Cu se observa una alteración de sus niveles séricos en patologías con actividad inflamatoria importante[11]. En un modelo animal con procesos inflamatorios se ha demostrado que este oligoelemento posee propiedades anti-inflamatorias, ya que al parecer forma complejos con los agentes anti-inflamatorios potenciando su efecto[11,12]. Por esta razón la determinación simultánea de los niveles séricos de cobre (CuS) y de cinc (ZnS) ha sido utilizada para la evaluación clínica en diversos procesos infecciosos e inflamatorios. Los resultados obtenidos en estas investigaciones sugieren

que la relación molar CuS/ZnS es útil para evaluar la eficacia de los regímenes terapéuticos empleados en sus tratamientos, mientras que en otros casos la relación pudiera ser empleada con fines diagnósticos y/o pronósticos[13].

La AR es una enfermedad con un compromiso inflamatorio articular importante, por lo que es posible que existan alteraciones en las concentraciones séricas de estos micronutrientes esenciales. En tal sentido, el motivo del presente estudio fue determinar las concentraciones séricas de cobre y cinc y estimar la relación molar CuS/ZnS, en pacientes que padecen AR, en individuos sanos y en pacientes que padecen enfermedades reumatológicas, y establecer la comparación entre los grupos. Además correlacionar algunos parámetros relacionados con la actividad de la enfermedad, como la velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína "C" reactiva (PCR), la hematología, el factor reumatoide (FR) y las concentraciones séricas de estos elementos traza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

El presente estudio es de corte transversal, descriptivo, de tipo casos y control, sin hipótesis previa. Para el cálculo de la muestra se utilizó el paquete estadístico Epi Info Versión 7.0, recomendado por la OMS. Se estudiaron 244 personas de los dos géneros (160 mujeres y 84 hombres) y de edades entre 18 y 79 años, durante los meses febrero-junio del 2010, divididos en tres grupos de estudio:

A. Pacientes con artritis reumatoide (AR): en este grupo se incluyeron 129 pacientes con artritis reumatoide (117 mujeres y 12 hombres), diagnosticados con artritis reumatoide según los criterios de la Asociación Americana de Reumatología (ARA[14]) y clasificados de acuerdo a la escala de capacidad funcional en cuatro estadios, siendo la clase IV, la de mayor discapacidad funcional. El estado de remisión del paciente con AR, se valoró según los criterios reportados por Pinals y col.[15].

B. Personas con enfermedades reumatológicas no artríticas (NAR): este grupo incluyó 21 pacientes (18 mujeres y 3 hombres) que padecen enfermedades como artrosis, fibromialgias, espondilitis anquilosante; todas las patologías diagnosticadas tanto por clínica como por radiología.

Todos los pacientes con enfermedades reumatológicas fueron diagnosticados y monitoreados en el servicio de Reumatología del Instituto Autónomo del Hospital de La Universidad de los Andes (Iahula).

Criterios de inclusión: se incluyeron en el presente estudio aquellos pacientes con enfermedades reumatológicas y AR inclusive; diagnosticadas al menos tres meses previos a la realización del estudio y que estuvieran recibiendo cualquier tipo de terapia antirreumática y que firmaron su consentimiento voluntario por escrito para su participación en la investigación. Como **criterios de exclusión** se consideraron los siguientes aspectos: antecedentes con trastornos cardiovasculares, hepáticos y renales, síntomas sugestivos de lupus eritematoso sistémico, lesiones óseas traumáticas en mano recientes, infecciones agudas o crónicas, situación clínica general inestable, diabetes no controlada, estar recibiendo suplementación de vitaminas y/o micronutrientes, estar participando en otro estudio, embarazo y cuestionario de información demográfica incompleta.

C. Individuos sanos o grupo control (Control): este grupo estuvo conformado por 94 individuos voluntarios aparentemente sanos de entre 18 y 75 años, que acudieron al Banco de Sangre del IAHULA como donantes voluntarios. Todos ellos sometidos a un minucioso examen clínico y de laboratorio, evidenciando que no presentaron signos clínicos de enfermedad ni aguda ni crónica (no controlada), ni evidencia de infecciones o procesos inflamatorios recientes (al menos en los últimos dos meses) y hematocrito, proteína "C" reactiva y presión arterial normal.

Procedimiento

Para la selección de la muestra y el desarrollo de la investigación, se procedió siguiendo los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos[16]. El estudio se realizó previa evaluación y autorización del Comité de Ética del IAHULA y en estricta adherencia a los principios éticos de la buena practica clínica. A los pacientes que acudieron a la consulta de reumatología y que presentaran un diagnóstico de AR, previo a la evaluación clínica se concertó una entrevista a fin de comunicarles el objetivo de la investigación, las evaluaciones y determinaciones de laboratorio que se realizarían, así como también sobre los beneficios y los riesgos a los cuales se exponían durante la participación. Los pacientes que expresaron su voluntad de participar

en el estudio firmaron por escrito el consentimiento informado. Seguidamente se les aplicó un cuestionario en el cual se obtuvo información de cada uno de los participantes sobre aspectos demográficos básico tales como: edad, sexo, tiempo de la enfermedad, medicamentos, terapia de reemplazo (para el sexo femenino), tabaquismo, consumo de alcohol y tiempo promedio de padecer la enfermedad. De acuerdo con los criterios de selección previamente establecidos, a todas las personas seleccionadas se les citó nuevamente para la toma de muestra sanguínea.

Obtención de las muestras

A cada paciente se les tomó aproximadamente 10 mL de muestra sanguínea por extracción venosa antecubital con jeringa desechable libre de metales, en ayunas entre las 7 y 9 a.m. Esta precaución de obtener el espécimen sanguíneo durante este intervalo de tiempo limitado es con el fin de evitar las fluctuaciones fisiológicas (ritmo circadiano) reportadas al cabo de este lapso, y en ayunas para evitar falsos resultados o variaciones de la concentración de cinc, provocados por la turbidez plasmática que se produce, luego de la ingestión de los alimentos[17]. Cuatro mL de sangre se colocaron en un tubo con anticoagulante EDTA para las determinaciones hematológicas correspondientes. El resto del espécimen sanguíneo (6mL) se colocó en un tubo sin anticoagulante, se dejó a temperatura ambiente hasta la retracción del coágulo y se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos. El suero así obtenido se distribuyó en dos alícuotas, que fueron colocadas en tubos de polipropileno. Una alícuota se conservó a –20 °C para el análisis de cobre y cinc. La otra alícuota se conservó a 4 °C, y se procesó a la brevedad para los estudios inmunoquímicos.

Las pruebas de laboratorio a determinar en las muestras sanguíneas fueron las siguientes: hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), cuenta de leucocitos, velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR), y factor reumatoideo (FR), y para la determinación de los micronutrientes: cobre y cinc.

Los valores y rangos normales para estos parámetros, de acuerdo con el servicio de Reumatología, fueron los siguientes:

a.- Hb Normal: Hombres (H) = 16 ± 2 g/dL; Mujeres (M) = 14± 2 g/dL

b.- Hto Normal: H = 47 ± 5%; M = 42 ± 5 %.

c.- Cuenta de leucocitos normal: 5000-10000 mm^3.

d.- PCR: Normal: <6 mg/dL; actividad inflamatoria (AI) leve: 7-25 mg/dL; 25-192 mg/dL AI moderada; AI extensa: >192 mg/dL.

e.- VSG: normal 0-15mm; elevada >16 mm.

f.- FR: Normal <8 IU/mL; bajo 8-32 IU/mL; moderado 33-256 IU/mL; alto>257 IU/mL.

g.- Para los micronutrientes se considerarán los puntos de corte para el cinc de 0,70 µg/mL y 0,90 µg/mL para el cobre[18].

Se estimó el índice de actividad inflamatoria (AI) obtenido de una fórmula de regresión logística que determina numéricamente el grado de actividad de la AR (DAS28), el cual incluye tanto los hallazgos clínicos categorizados tales como: tiempo de rigidez matutina, intensidad del dolor articular, número de articulaciones dolorosas y tumefactas, y marcadores de laboratorio (VSG y PCR), los cuales se combinaron para obtener el AI que se clasificó como leve, moderada y alta[15].

Equipos y reactivos

Para la determinación de cinc y de cobre se empleó un equipo de espectroscopía de absorción atómica marca Perkin Elmer (Norwalk, CT EE.UU.), modelo Precisely Analyst 200. Para las determinaciones hematológicas se utilizó un contador hematológico modelo C1200 Diff de Beckman Coulter (Fulerton, CA, EE.UU.). Para VSG se utilizaron tubos milimetrados específicos para el método de Wintrobe. La PCR y el FR se determinaron por la técnica de aglutinación directa en látex, utilizando kits comerciales de los Laboratorios Plasmatec (Londres, Inglaterra).

Para la preparación de soluciones y lavado del material de laboratorio se empleó agua desionizada de alta pureza (18 Ω-cm^{-1} de resistividad). Todo el material utilizado para la determinación de los minerales fue tratado con ácido nítrico al 20% y luego se enjuagó en tres ocasiones con agua desionizada, con el objeto de eliminar cualquier contaminación de material y trazas de los elementos en estudio. De igual manera los materiales utilizados en cada uno de los pasos de la toma de muestra hasta su análisis fueron controlados para asegurar la ausencia de contaminación exógena por metales. Todos los reactivos utilizados fueron de mayor grado analítico

(marcas Merk, Sigma y Riedel De Häen). Se prepararon soluciones patrones de 1000 mg/L de cobre y de cinc (Marca Perkin Elmer), al disolver cantidades apropiadas de nitrato de cobre (99%) y cinc metálico (99,9%). De estas soluciones se prepararon diariamente patrones de trabajo para los elementos por dilución sucesiva usando los mismos reactivos. El material biológico para evaluar la exactitud y precisión en la medición de los parámetros hematológicos, inmunoquímicos y minerales fueron: muestras sanguíneas certificadas nivel I y II (marca Coulter Beckman); suero reactivo: positivo y negativo (marca Plasmatec) y suero certificado (marca Nycomed, Noruega), respectivamente.

Metodología analítica

La técnica de análisis para la determinación de Cu y de Zn se realizó por espectrofotometría de absorción atómica con atomización en llama (EAA), acoplado a un sistema de inyección en flujo continuo (FIA). Esta técnica fue optimizada en el laboratorio de Espectroscopía Molecular de La Universidad de los Andes; las condiciones de trabajo fueron verificadas con un patrón acuoso específico de acuerdo al elemento a determinar y en base a esto se seleccionaron las condiciones instrumentales adecuadas para cada análisis[19]. Las determinaciones de los elementos evaluados se llevaron a cabo por regresión lineal simple, previa absorción de la muestra por el equipo. Las condiciones de lectura para el cinc fueron de longitud de onda de 213,86 nm y corriente de 12 mA y para el cobre 324,8 nm y 15 mA. Empleando para ambos minerales una composición de la llama aire-acetileno con estequiometría oxidante (flujo de aire/ acetileno: 10,0/2,5 mL/min).

Las muestras se midieron por triplicado, y una serie de patrones y muestras de pool de suero (de concentración previamente conocida) se corrieron por cada 20 muestras analizadas. La exactitud del método se investigó mediante el análisis de una muestra de suero certificada. Para todas las pruebas los controles se analizaron simultáneamente con las muestras sanguíneas.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 15.0 (Spss®, Inc.,Chicago, IL, USA) y hoja de cálculo Excel, ambos en ambiente Windows. Las concentraciones séricas de cinc (ZnS), cobre (CuS) y la relación sérica de Cu/Zn (CuS/ZnS) se expresaron en medias ± desviación estándar (X ± DE) y las variables categóricas (edad, estadio de la enfermedad, actividad inflamatoria) se expresaron en frecuencias y porcentajes. Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para verificar la distribución normal, para los niveles de CuS y ZnS distribuidos por edad y sexo. Para establecer las diferencias significativas entre dos promedios se aplicó la prueba "t" de Student y para comparaciones múltiples se aplicó el análisis de varianza de un factor (ANOVA) seguido del pos-test de Tukey. Para establecer la relación entre las variables se empleó el test de correlación simple de Pearson (*r*), a las correlaciones significativas; se construyeron modelos de regresión lineal para establecer las ecuaciones de relación entre las variables (sexo, edad, ZnS y CuS). Se tomó como índice de confiabilidad estadística el 95% ($p<0,05$).

RESULTADOS

Los datos demográficos y las características de la población, tales como fumador activo, consumo de licor y actividad de la enfermedad se muestran en la tabla I.

Tabla I

Características de la población estudiada

Datos demográficos	Grupos de estudio		
	Control	AR	NER
Sexo			
• Femenino (%)	20,6	73,1	6,3
• Masculino (%)	72,6	14,3	13,1
Edad	33,4 ± 11°	50,2 ± 13	48,2 ± 13
Tiempo de enfermedad (años)	—	11,7 ± 10	6,6 ± 6
Fumador activo (%)	6,4	22,5	1,0
Frecuencia de consumo de alcohol (%):			
< 2 veces por semana	52	17,8	0
> 2 veces por semana	1,0	0	0
Actividad de la enfermedad (%):			
• Activa	—	85	88
• Remisión		15	12

En lo que respecta al grupo AR, el grupo mayormente afectado fue el sexo femenino (73,1%), con una edad

promedio de inicio de los síntomas compatibles con la AR, entre los 35 y 45 años (82,89%), siendo los estadios más avanzados entre los 40 y 60 años (75%), y con mayores niveles de actividad inflamatoria y limitación de la capacidad funcional en pacientes con edades entre 60 y 79 años (77,7%). Sin embargo, se observó que un 15% de los pacientes más jóvenes ya reportaban limitaciones importantes en la capacidad funcional y niveles importantes de actividad inflamatoria. Entre los rasgos clínicos más relevantes que manifestaron los pacientes encontramos el dolor articular en las manos y rigidez matutina (87,5%) en el grupo más joven (<45 años), mientras que en las personas de más edad se observó que tanto la rigidez matutina como la articulaciones comprometidas eran de mayor duración y extensión. A pesar de estas observaciones la relación entre la AR y la edad fue débilmente significativa (*r* 0,38; *p* 0,041). El 86% de los pacientes con AR estudiados se encontraban entre los estadios I y II de capacidad funcional, y el 14% (18 pacientes) en los estadios III y IV.

Para la determinación sérica de cobre y de cinc por el método EAA-FIA se evaluó la precisión intraensayo e interensayo; siendo los coeficientes de variación de 2,2 y 1,9 y de 2,2 y 1,8% de cobre y de cinc, respectivamente. La exactitud determinada mediante el análisis del suero certificado, los valores experimentales obtenidos no difieren significativamente de los valores de referencia ($p<0,05$). Para evaluar si existe interferencia por parte de las muestras de suero, se realizó un estudio de adición de estándar, el cual demostró que no existe efecto de matriz para la determinación de los elementos analizados, ya que las pendientes de la curva de calibración acuosa y la de adición estándar no muestran diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

Para estudiar si existe una relación entre el género, consumo de alcohol y tabaquismo y actividad de las enfermedades reumatológicas se aplicó el test de X^2 con el método de Cochran-Mantel-Haenszel, el cual arrojó un porcentaje de cambio menor al 5%, lo que indica que estas variables no afectan significativamente la evolución de la enfermedad en el presente estudio. Por lo tanto, no se tomaron en consideración para los posteriores análisis estadísticos.

En el grupo de pacientes con AR se encontró un incremento significativo ($p<0,05$) en los niveles de VSG, PCR y FR, pruebas de laboratorio empleadas en la evaluación clínica de la enfermedad, en comparación con los valores detectados en los grupos NER y control sano, los cuales se incluyen dentro de la normalidad. El modelo lineal univariante aplicado demostró que estos parámetros, indicadores de la actividad inflamatoria en los pacientes con AR, están significativamente relacionados ($p<0,001$), explicando el 79,5% de la actividad inflamatoria (AI) observada en los pacientes. En lo que respecta a los niveles hematológicos, solamente la hemoglobina (Hb) del grupo que cursa con la AR fue significativamente menor a los valores observados para los otros grupos de estudio ($p<0,001$). También se mostró una discreta disminución de la cuenta de leucocitos tanto en el grupo AR como en el grupo NER, aunque sin relevancia estadística ($p>0,05$) (tabla II).

Tabla II
Parámetros de laboratorio evaluados en el estudio

Pruebas de laboratorio	Control	AR	NER
Hb (g/dL)	14,2 ± 0,1°	13,7 ± 1,0 [a]	14,2 ± 1,0
Hto (%)	45 ± 4	41 ± 3	43 ± 4
Cuenta de blancos (mm^3)	7000 ± 1091	6722 ± 1661	6781 ± 1551
VSG (mm)	3 ± 1	28 ± 14 [a,b]	17 ± 12
PCR (mg/mL)	< 5	177 ± 58 [a,b]	8 ± 6
FR (IU/mL)	< 6	893 ± 255 [a,b]	28 ± 8

° Cada resultado corresponde a Media ± DE (µg/mL); [a] $p<0,05$ al comparar los grupos AR y Control. [b] $p<0,05$ al comparar los grupos AR y NER.

Como puede apreciarse en la tabla III, el valor medio de cobre sérico encontrado en el grupo AR es significativamente mayor ($p<0,05$), mientras que el Zn sérico, por el contrario, es significativamente inferior ($p<0,05$) al comparar los grupos control y NER. Un comportamiento similar se observó en los valores medios de la relación molar CuS/ZnS ($p<0,001$).

En los pacientes con AR activa la concentración de Cu es mayor, mientras que la de Zn es menor ($p<0,05$) en comparación a lo que se observa en los pacientes en etapa de remisión, si bien está claro que si los síntomas clínicos cesan y la AI disminuye, es de esperarse que también los niveles tanto de cobre como de cinc tiendan a normalizarse (ver tabla IV). El mayor valor para la relación molar CuS/ZnS se encuentra en los pacientes con AR activa ($p<0,05$). Al discriminar la concentración sérica

Tabla III

Niveles séricos de cobre (CuS), cinc (ZnS) y relación molar CuS/ZnS obtenidos en pacientes con artritis reumatoide (AR), pacientes con enfermedades reumatológicas no artríticas (NER) y Control

Bioelemento	Grupos de Estudio		
	Control	AR	NER
CuS (ug/L)	1,13 ± 0,09°	1,36 ± 0,26 [a,b]	1,16 ± 0,19 [c]
ZnS (ug/L)	0,98 ± 0,11	0,80 ± 0,24 [a,b]	1,17 ± 0,30 [c]
Relación CuS/ZnS	1,14	1,88 [a,b]	1,18 [c]

° Cada resultado corresponde a la media ± desviación estándar.
[a] p<0,001 al comparar los grupos control y AR.
[b] p<0,001 al comparar el grupo AR con el grupo NAR.
[c] p<0,001 al comparar los grupos NER y Control.

Tabla IV

Niveles séricos de cobre (CuS), cinc (ZnS) y relación molar CuS/ZnS en pacientes con artritis reumatoide (AR), según la actividad de la enfermedad

Bioelemento	Grupo AR		
	Activo	Remisión	Todos
CuS (ug/L)	1,40 ± 0,19	1,26 ± 0,13 [a]	1,36 ± 0,26
ZnS (ug/L)	0,78 ± 0,22	0,92 ± 0,19	0,80 ± 0,24
Relación CuS/ZnS	2,01 ± 0,53	1,55 ± 0,52 [a]	1,88 ± 0,71

[a] p<0,05 al comparar el estado activo de la AR con el de remisión.

de los oligoelementos en estudio, en las pacientes femeninas con AR que reciben estrógeno no se evidenciaron diferencias significativas con respecto a aquellas que no lo reciben (p<0,05) (Tabla VI).

Tabla V

Niveles séricos de cobre y cinc según el nivel de actividad inflamatoria en pacientes con AR

Analito	Nivel de actividad inflamatoria de la enfermedad [ŧ]			
	Leve	Moderada	Alta	*p* valor
Cobre	1,31 ± 0,12	1,34 ± 0,17	1,44 ± 0,15	0,098
Cinc	0,82 ± 0 ,24	0,79 ± 0,25	0,75 ± 0 ,25	0,640
RI CuS/ZnS	1,77 ± 0,66	1,87 ± 0,72	2,12 ± 0,63	0,270

ŧ todos los estadios de la AR.

Los pacientes con FR positivo muestran una cupremia mayor (1,37 ± 0,1 µg/mL) que la observada en aquellos pacientes con FR negativo (1,33 ± 0,3 µg/mL), aunque estadísticamente no sean significativas (p>0,050). El cinc sérico no cursa con diferencias importantes al respecto (p 0,602). La relación molar CuS/ZnS se modificó positivamente para el grupo AR con PCR y FR seropositivos (1,98 y 1,87 respectivamente) en comparación con los pacientes seronegativos (1,82 y 1,84), aunque esta diferencia no muestra aceptación estadística (p>0.050).

Tabla VI

Relación entre las concentraciones séricas de cobre y de cinc y cada uno de las variables consideradas para el estudio de AR

Variable independiente	ZnS		CuS		RI CuS/ZnS	
	Valor de *r*	*P* valor	Valor de *r*	*P* valor	Valor de *r*	*P* valor
Hb	0,49	0,002	-0,13	0,053	-0,32	0,000
Cuenta de blancos	0,24	0,000	-0,03	0,602	0,19	0,003
VSG	-0,47	0,000	0,42	0,000	0,52	0,000
PCR	-0,18	0,005	0,19	0,003	0,30	0,000
FR	-0,64	0,003	0,11	0,094	0,36	0,000
AI	-0,33	0,000	0,24	0,001	0,52	0,000
Estadio de la AR	- 0,39	0,000	0,49	0,005	0,38	0,000

Se observó que los pacientes con FR positivo reportaron un nivel de cupremia mayor (1,37 ± 0,10 µg/mL) que la observada en aquellos pacientes con FR negativo (1,33 ± 0,26 µg/mL), aunque estadísticamente no sean significativas.

En relación al género, se observaron diferencias significativas tanto para la cupremia (CuS) y la cincemia (ZnS) del grupo control (p<0.050). En relación a la edad, la población estudiada mostró un ligero aumento en los niveles de cupremia a medida que incrementa la edad (*r*=0.369; p<0.009); este hallazgo fue más contundente para el grupo AR (*r*=0.415; p<0.001). En este mismo sentido, el cinc mostró una franca disminución para la variable edad (p<0.05). Un comportamiento semejante se observó al analizar la actividad funcional o evolución de la enfermedad, encontrando una relación inversamente proporcional con los niveles de cincemia a medida que avanzaba la enfermedad, no así para el cobre sérico, que a pesar que demuestra una franca alteración de sus niveles, desde el inicio de la AR, al discriminarse por estadío no se aprecian diferencias importantes entre los mismos (ver Figura 1).

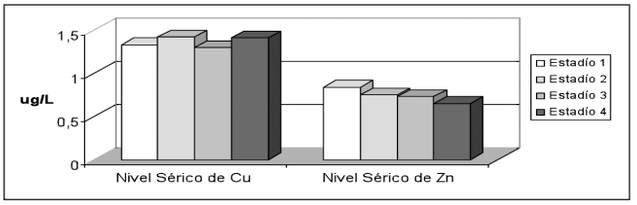

Figura 1. Niveles séricos de cobre y cinc en pacientes con AR, según el estadío o evolución de la enfermedad

Se encontró que un 24,8% de los pacientes con AR presentaban riesgo de deficiencia de cinc (<0,70 µg/mL) mientras que el 86,82% presentan niveles de cobre sérico por encima de 1,40 µg/mL, siendo los grupos etarios de mayor edad los más afectados. Al considerar las concentraciones séricas de cobre y cinc según el índice de actividad inflamatoria en la AR, se observó un comportamiento semejante al reportado con los estadios de la AR, mostrándose la relación inversa entre la cupremia y la cincemia. Esto se corresponde con lo presentado en la tabla V, aunque no se diferencian significativamente los niveles reportados con la actividad leve y moderada; se aprecia claramente una divergencia con la AI elevada.

En lo que respecta al grupo NER, la actividad inflamatoria en la mayoría de los casos estudiados fue menor en comparación con el grupo AR, y no se encontraron diferencias importantes (p<0,05) entre las enfermedades reumatológicas estudiadas. No se observaron niveles séricos de cobre por encima de los rangos normales y para el caso de cincemia, solamente el 2% de los casos estudiados reportaron riesgo de deficiencia de cinc. La relación molar CuS/ZnS no reportó modificaciones relevantes para este grupo.

El análisis de correlación de Pearson (ver tabla VI), indica que las variables Hb, cuenta de blancos, VSG, PCR, FR, AI y estadio de la AR están vinculadas significativamente con las concentraciones de cinc y de cobre, por lo cual la modificación de algunos de estos parámetros está relacionado significativamente con la variación sérica del Cu y del Zn. De igual manera, esta correspondencia es semejante para la relación molar CuS/ZnS, aunque la modificación es más dramática que el evaluar individualmente la cupremia y la cincemia (p<0,001). El modelo lineal multivariante aplicado a las concentraciones séricas de cobre y de cinc demostró que las variables estudiadas explican el 81,2% y el 67% de los cambios observados en estos oligoelementos, siendo las variables más importantes en relación al cobre séricos, la VSG, el FR y la AI mientras que para el cinc sérico, la Hb, La VSG y el FR son las variables más significativas. Sin embargo, al considerar la relación molar CuS/ZnS el valor predictivo es mayor (92,9%).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, en los pacientes con AR se observó una disminución en la concentración sérica del cinc (cincemia), y hemoglobina, en contraparte con un incremento concomitante en los niveles de cobre, PCR, VSG y FR en comparación con los grupos control y NAR que no muestran esta modificación. Estas diferencias se corresponden con la literatura consultada[11, 12, 21-24].

Es un hecho conocido que la inflamación induce cambios sistémicos, conocidos colectivamente como respuesta de fase aguda. Entre las alteraciones que producen esta respuesta encontramos: hipoferremia, hipocincemia, hipercupremia, incremento de la concentración sérica de PCR y VSG. Es probable que estas respuestas estén mediadas, en parte, por la producción y liberación de citosinas como la interleucina 1 (IL-1), la interleucina 6 (Il-6), interferón (IFN-alfa 2) y el factor de necrosis tumoral (TNF)[25]. Estos cambios se piensa que son aspectos beneficiosos de la respuesta de fase aguda temprana y se pueden considerar como un mecanismo de defensa frente a los procesos inflamatorios. La mayoría de estos cambios se observan en cuestión de horas o días después de la aparición de la inflamación[10]. La IL-1, proteína termolábil, se libera en los tejidos lesionados y favorece la captación de cinc, hierro y aminoácidos a nivel de tejido hepático, con una salida incrementada del cobre hacia la circulación; lo cual ha sido señalado por algunos investigadores, como principal mediador de la respuesta de fase aguda y como una posible causa de los cambios séricos de los elementos y proteínas con estas respuestas[23].

La hipocincemia ha sido reportada en diversas patologías inflamatorias; esto puede ser por el resultado de diversos factores, tales como una dieta inadecuada, el suministro de medicamentos, anorexia, vómitos, hospitalización y caquexia[22,23,26]. La caquexia reumatoidea describe la pérdida de masa celular corporal que puede ocurrir entre pacientes con AR, la cual está caracterizada por una alteración en el metabolismo proteico-calórico, que conduce a un incremento en la producción de cito-

sinas inflamatorias (interleucinas -1B Y TNF)[27] y a un hipercatabolismo corporal total que se acompaña, a su vez, de una pérdida marcada de Zn por la orina. Por otra parte, esta rápida disminución de la concentración sérica de Zn, hasta un 70% de lo normal[28] puede explicarse en gran parte, a un paso acelerado del Zn desde el plasma al hígado[29]. De acuerdo con Funseth y col.[30] la disminución de Zn y de los aminoácidos séricos y su depósito elevado en el hígado es fundamental para la síntesis incrementada de las diversas "proteínas de fase reactiva aguda" (entre ellas la ceruloplasmina y la PCR), que intervienen en los mecanismos de defensa del huésped frente a los procesos inflamatorios e infecciosos[31]. La disminución de Zn sérico en esta enfermedad no es indicativo de deficiencias pasadas[32]. Posiblemente también los monocitos sanguíneos periféricos puedan ser un sitio adicional para que el cinc sea movilizado durante la fase inflamatoria en pacientes con un estado activo de la enfermedad con periodos mayores a 54 meses. El mecanismo que explica este hallazgo no es muy claro, ya sea que la citosinas en fase crónica continúen con la movilización del cinc desde el compartimiento a otro o si realmente se produce un agotamiento del catión, lo que significa una depleción que no se correlaciona ni con la edad y la duración de la enfermedad ni con la concentración plasmática del cinc[33].

La alteración del Cu es común durante los estados infecciosos e inflamatorios[10]. Se cree que lo cambios en el metabolismo del Cu son secundarios a un aumento de la síntesis hepática y a la liberación de ceruloplasmina y del Cu hacia el plasma. Este hecho es de importancia: primero, porque la ceruloplasmina tiene propiedades antiinflamatorias y gobierna la capacidad antioxidante del plasma y, segundo, porque el Cu tiene propiedades bactericidas y antiflamatorias[34]. El aumento de la concentración sérica de Cu (hipercupremia), generalmente empieza muy pronto en el curso de una inflamación aguda o de una infección, pero es menos acelerada en comparación con los cambios que presentan el Zn y el Fe[10].

La concentración sérica de los elementos traza en los pacientes con AR no mostró relación con la duración de la enfermedad. Asimismo, no se evidenciaron variaciones séricas importantes en este grupo con el suministro de estrógeno, lo cual coincide con los trabajos previos [35]. Se demostró que los niveles de cobre se modifican desde el inicio de la enfermedad y se mantiene alterado durante la evolución de la AR, mientras que la disminución de la cincemia (hipocincemia) persiste ante la severidad de la actividad inflamatoria y en concordancia con la disminución de la capacidad funcional del paciente. Los niveles plasmáticos de cinc se correlacionan significativamente y de forma inversa con los hallazgos clínicos y de laboratorio. Por su parte, Wanchu y col.[33], refieren que en los pacientes con AR en etapa de remisión, los niveles séricos de los elementos traza tienden a normalizarse. En tal sentido, nuestros resultados confirman esta observación: aunque los niveles séricos de cobre y de cinc se mantienen dentro de los rangos normales, es evidente que la relación inversa se mantiene y la tendencia a los valores extremos es discreta. La concentración sérica del cobre elevada puede estar relacionada con el desarrollo de las lesiones patológicas observadas en AR y algunos investigadores afirman que puede ser debido a una respuesta secundaria. Esto puede explicarse, dado que el cobre se encuentra fuertemente unido a un transportador proteico específico conocido como ceruloplasmina. Esta proteína es conocida como reactante de fase aguda, la cual se incrementa como respuesta a la inflamación. La ceruloplasmina no se analizó en el presente estudio, pero existe evidencia que demuestra una correlación significativa entre el Cu y la ceruloplasmina en estudios con AR y control[32,36].

En relación al desarrollo de las lesiones patológicas en la AR, podemos señalar que esta enfermedad se puede categorizar como enfermedad angiogénica, ya que muchas de las moléculas involucradas en la patogénesis de la AR promueven la angiogénesis, entre ellas diversas citosinas, factores de crecimiento, quimiocinas y metaloproteínas de la matriz[37,38]. Algunos investigadores refieren que el cobre, por ser parte integrante de la angiogenina, una cuproenzima, y diversas citosinas inflamatorias es capaz de promover el proceso de angiogénesis y mantener el proceso inflamatorio en el tiempo[39,40]. Por esta razón, diversos estudios han sugerido que el tetratiomolibdato (TTM), un potente quelante del Cu, produce un efecto antiangiogénico y antiflamatorio disminuyendo los niveles séricos y tisulares de cobre en modelos animales con AR. Por lo que se ha informado su valor terapéutico en el tratamiento de varios tipos de cáncer, AR y otros procesos inflamatorios[41].

La AR es una enfermedad de inflamación crónica con exacerbaciones agudas de incremento sérico de proteínas de fase aguda[21]. Por lo tanto, es probable que la elevación sérica de cobre observada en nuestros pacientes

con AR, sea una respuesta secundaria como consecuencia de la elevación de la ceruloplasmina promovida por la síntesis hepática como respuesta a la fase activa de la inflamación y en parte se deba a la inflamación descontrolada como resultado de la deficiencia de cobre en el sitio de la inflamación. Esta explicación ha sido respaldada por otros investigadores[23,24,32] y se corresponde con nuestros hallazgos, al encontrar que la proteína de fase aguda PCR y la VSG (la cual está influenciada por la proteína de fase aguda fibrinógeno) están alteradas en pacientes con AR y ambas están significativamente relacionadas con el cobre sérico. No obstante, la evidencia de que la concentración sérica del cobre en AR refleja la respuesta de fase aguda, puede ser demostrada de manera similar en pacientes con espondilitis anquilosante, la cual es una condición inflamatoria bien conocida y asociada con una respuesta de fase aguda[36]. Sin embargo, no se ha demostrado que los niveles de cobre elevados están asociados a la condición degenerativa, no asociada con fase de respuesta aguda.

Los resultados del presente estudio han demostrado que existe una relación importante entre el cobre y la actividad de la enfermedad medida a través de los marcadores tanto clínicos como de laboratorio. Los pacientes evaluados han presentado una actividad elevada de la enfermedad y en concordancia con el incremento de los valores medios de cupremia; de igual manera se han correspondido con las manifestaciones de menor intensidad de la AR.

Las diferentes variables consideradas en el presente estudio reflejan la extensión y severidad de la AR, y demuestran que tanto la concentración sérica del cobre y del cinc como la combinación de ellos puede ser considerada un buen predictor de la actividad inflamatoria y por ende, en la evolución de la enfermedad, debido a la asociación existente entre la severidad de la enfermedad y el componente inmuno-inflamatorio del proceso reumático y la alteración de las concentraciones séricas de cobre y de cinc.

Por otra parte, es posible considerar acerca del posible papel de la suplementación del cobre y cinc en pacientes con AR. En el presente estudio los resultados muestran que los pacientes con AR en remisión pueden tener niveles muy similares a los obtenidos por el grupo control. Algunos investigadores opinan al respecto que si la dieta de los pacientes con AR activa puede ser deficiente en cinc (como se muestra en los niveles séricos), puede que sea improbable que el contenido de cobre se eleve por tal deficiencia o viceversa[33]. En relación a esto hay mucha discrepancia, por esta razón se requieren estudios de cohorte con pacientes con la AR activa, donde se observe con detenimiento el inicio de la remisión. Si los niveles plasmáticos de cinc se incrementan y los niveles de cobre disminuyen con el control de la inflamación y llegan a los niveles de control, indica que no es necesaria la suplementación dietaria de estos elementos.

En diversos procesos patológicos habitualmente se cuantifican las concentraciones séricas de cobre o de cinc de manera individual. En estos procesos, con pocas excepciones, se encuentra un incremento en el cobre y una disminución simultánea en los niveles séricos del cinc. Sin embargo, la relación CuS/ZnS no ha sido evaluada en la gran mayoría de las enfermedades, aun cuando ella se modifica más dramáticamente que las concentraciones individuales del cobre y del cinc. Los estudios previos realizados en diversos procesos infecciosos e inflamatorios sugieren que la relación es útil para evaluar la eficacia de los regímenes terapéuticos empleados en sus tratamientos; mientras que en otros casos la relación pudiera ser empleada con fines diagnósticos y/o pronósticos. El cinc plasmático disminuido, el cobre que se incrementa y la relación Cu /Zn que se eleva son hallazgos muy frecuentes. Este modelo se observa en el infarto miocárdico, en la cardiopatía isquémica y en diversos procesos catabólicos e inflamatorios no específicos y en diversos procesos catabólicos e inflamatorios no específicos[24,42-45].

Se han demostrado, para ciertas enfermedades, cambios en los niveles plasmáticos de Cu y de Zn, pero un desequilibrio de la relación CuS/ZnS parece ser un mejor indicador de infecciones, complicaciones vasculares y pronóstico de las enfermedades que el estado del Zn o del Cu por sí solos[46-48]. También se ha observado una asociación positiva y significativa entre la proporción Cu/ Zn del suero y el estrés oxidativo en pacientes urémicos.

Hubo correlaciones positivas de la relación CuS/ZnS con el índice de actividad inflamatoria (AI), estadio de la enfermedad y parámetros de laboratorio (VSG, Hb, PCR y FR). En la presente investigación se observó un marcado incremento en la relación de CuS/ZnS en los pacientes con AR activa, la cual tiende a disminuir y alcanzar los valores de los pacientes sanos y de control a medida que la enfermedad tiende a la remisión. Por esta

razón los niveles de Cu, Zn y la relación molar CuS/ZnS pueden ser criterio valioso para la evaluación clínica y posiblemente, para el estudio y seguimiento de los pacientes con AR.

AGRADECIMIENTO

Nuestro más sincero agradecimiento a todos los pacientes que atentamente contribuyeron para que el presente estudio se realizara, de igual manera a todo el personal del Servicio de Reumatología y al Servicio de Laboratorio General del IAHULA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) Maiche M. Artritis reumatoide, criterios diagnósticos y actualización terapéutica. Arch Med Interna 2008; 30 supl: S20-S28.

(2) García R, García A. Artritis reumatoide. Medicina 2005; 9 (28): 1805-1814.

(3) Quesada M, García M. 2004. Artritis reumatoide: fisiología y tratamiento. CIMED-Centro Nacional de Información de Medicamentos. Instituto de Investigaciones Farmacéuticas. Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica. Serie de actualización profesional.

(4) Choy E, Panayi G. Cytokine Pathways and joint inflamation in rheumatoid arthritis. N. Eng J Med 2001; 244: 907-916.

(5) La Valle J. Natural therapeutics pocket guide. 2000-2001. Ohio: Lexi- Comp Inc 2000.

(6) Sato M, Miyozaki T, Nayaja T. Antioxidants inhibit tumor necrosis factor alpha mediated stimulation of interlekin-8 monocyte chemo attractant protein 1 and collagenase expression in cultured human sinovial cells. J rheumatol 1996; 23:432-438.

(7) Mc Cord J, Keede B, Fridovich I. An enzyme based theory of oblígate anaerobiosis: the physiologycal function of superoxide dismustase. Proc Natl Acad Sci USA. 1971; 68: 1027-1030.

(8) Gutteridge J. Ceruplasmin: a plasma protein, enzime and antioxidant. Ann Clin Biochem 1978; 71: 495-500.

(9) Prasad A. Clinical and biomedical spectrum of zinc deficiency in human subjects. In: Prasad A.S. Clinical, Biochemical and Nutricional aspects of trace elements. Ed New York Allan R. Liss 1982:3-62.

(10) Beisel W. The role zinc in neutrophil function. In: Prasad A.S. Clinical, Biochemical and Nutricional aspects of trace elements. Ed New York Allan R. Liss 1982:3-62.

(11) Scudder P, Al Timini D, Mc Murray W, White A, Zoob B, Dormanay T. Serum copper and related variables in rheumatoid arthriris. Ann Rheuma Dis 1978; 37:67-70.

(12) Sorenson J. The anti-inflamatory activities of copper complexes. In metal ions biologycal System. Ed H Sigel Marcel Dekker. New York pp. 77-124(24)1982.

(13) Ala S, Shokrzadeh M, Pur Shoja S, Sacedi S. zinc and copper plasma cocentration in rheumatoid arthritis patient-from a selected pòpulation in Iran. Pak J Biol Sci 2009; 12(14): 1041-1044.

(14) Hakada M, Ollanen R, Niemen P. The ARA 1987 revised criteria select patient with clinical reumathoid arthritis from populations based cohort. J Rheumatol 1993; 20: 1674-1678.

(15) Pinals RS et al. Preliminary criteria for clinical remission in Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 1981; 24: 1308-1315.

(16) Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki. Ginebra 2004.

(17) Rosenberg I, Solomons V. Simposium: The biological availabilioty of minerals and trace elements. Ann J Clin Nutr 1981.

(18) Gibson R. Principies of nutritional assessment. New York: Oxford University Press.

(19) Di Bernardo M, Cova Y, Burguera M, Burguera J, Alarcón O. Serum Essential elements in patients with vitiligo treated with copper. Trace Element and Electrolytes. 2002; 11: 29-31.

(20) Westgard J, Oryall J, Koch D. Predicting effects of quality control practices on the cost effective operation of stable, multitester analitycal system. Clin Chem 1990, 36; 17:60-116.

(21) Youssef A, Wood B, Bacon D. Serum copper: a marker of disease activity in rheumatoid arthritis. J Clin Pathol 1983; 36:14-17.

(22) Mussalo-Rauhamaa H, Konttinen Y, Letho J, Honkanen V. Predictive Clinical and laboratory parameter for serum zinc and copper in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1988; 47:816-819.

(23) Dinarello C. Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response. N Engl J Med 1984; 311: 1413-1418.

(24) Honkanen V, Lambert C, Vesterinen M, Letho J, Westermarck T, Metsa K. Plasma zinc and copper concentrations in rheumatoid arthritis: influence of dietary factors and disease activity. Ann J Clin Nutr 1991; 54.1082-1086.

(25) Shenkin A. Trace elements and inflammatory response: implications for nutritional support. Nutrition 1995,11(1 suppl): 100-105.

(26) Balogh Z, El-Ghobarey A, Fell G, Brown D, Dunlop J, Dick W. Plasma zinc its relationship to clinical symptoms and drug treatment in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1980; 39:329-332.

(27) Rall L, Roubenoff R. Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanism and interventions. Rheumatology 2004, 43:1219-1233.

(28) Truong-Tran A, Ruffin R, Foster P, et al. Altered zinc homeostasis and caspace-3 activity in murine alllegic airway inflamations. Am J. Respir. Cell. Mod. Biol. 2002; 27:286-296.

(29) Akçil E, Yavuz G, Koçak M. Effects of inflammation and antiflammatory treatment on serum trace elements concentrations. Biol Trace Elem Res 2003; 93:95-104.

(30) Funseth E, Linch V, Wesslin L, Friman G, Ilback N. Trace element changes in the myocardium during coxsakievirus B3 myocarditis in the mouse. Biol Trace elem Res 2000; 76: 149-160.

(31) Panichi V, Taccola D, Rizza G. et al. Ceruloplasmin and de acute phase protein levels are associated with cardiovascular disease in chronic dialysisi patient. J Nephrol 2004; 17:715-720.

(32) Banford J, Brown D, Hazetton R, Mc Neil C, Strurrock R, Smith W. Serum copper and erythrocyte superoxide dismutase in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1982; 41: 458-462.

(33) Wanchu A, Sud A, Bambery P, Prasad R, Kumar V. Plasma and peripheral blood mononuclear cells levels of zinc and copper among Indian patient with arthritis rheumatoid. Ann Rheum Dis 2001; 61: 88.

(34) Denko C. Protective role of ceruloplasmin in inflammation. Agents Actions 1979; 9:333-336.

(35) Sorenson J. and Ditommaso D. Letter: significance of plasma copper and caeruloplasmin concentrations in rhematoid arthritis. Ann Rheum Dis 1976; 35:186-188

(36) Jayson M, Davis P, Whicker J, Watter G. Serum copper and caeruloplasmin in ankylosing spondilitis systemic sclerosis and morphea. Ann Rheum Dis 1976; 35:443-445.

(37) Folkman J. Angiogenesis: in cáncer, vascular, rheumatoid and other disease. Nat Med 1995, 1:27-31.

(38) Koch A. Review: Angiogenesis: implications for rheumatoid arthrtitis. Arthrtitis Rheum 1998; 41:951-962.

(39) Turski M, Thiele D. New roles for copper metabolism in cell proliferation, signaling, and molecular disease. J Biol Chem 2009; 284:717-721.

(40) Vonk W, Wijmeyer C, Van de Sluis B. Relevance of animal models for undertanding mammalian copper homeostasis. Am J Clin Nutr 2008; 88:840s-845s.

(41) Omoto A, Kawashito Y, Prudousky I, Tubouchi Y, Kimura M, Ishimino H, Wada M, Yoshida S. Copper Chaltion with tetrathiomolybdate suppresses adjuvant-induced arthritis and inflammation associated cachexia in rats. Arthritis Res Ther 2005; 7:R1174-1182.

(42) Nakajima H, Hangaishi M, Ishizaka N, Taguchi J, Igarashi R, Mizushima Y, Nagai R, Ohno M. Lecithinized copper, zinc-superoxide dismutase ameliorates ischemia-induced myocardial damage. Life Sci; 2001; 69:935-944.

(43) Spencer J. Direct relationship between the body's copper/zinc ratio, ventricular premature beats, and sudden coronary death. Am J Clin Nutr, 1979; 32:1184-1185.

(44) Alarcón O, De Gamboa M, Silva M, Urdaneta-Carruyo E, Ramírez M. Niveles séricos de cobre y de cinc y relación Cu/Zn en niños con leucemias agudas y linfomas de Hodgkin. Bol Med Hosp Infant Mex, 1995; 52:399-497.

(45) Zouczak M, Iskra M, Trolinski L, Cofta S. Analysis of serum copper and zinc concentrations in cáncer patient. Biol Trace Elem Res. 2001; 82:1-8.

(46) Karhan S, Deger O, Orem A, Ucar F, Erem C. and Alver A. The effects of impaired trace element status on polymorphonuclear leukocyte activation in the development of vascular complications in the type 2 diabetes mellitus. Chem Lab Med 2001; 39:109-115.

(47) Barrera R, Schattner M, Gabovich N, Zhang J, Saced M. and Genao A, et al. Bacteremic episodes and copper/zinc ratio in patients receiving home parenteral nutrition. Nutr Clin Pract 2003; 18:529-532.

(48) Guo C, Ko W, Chem P, Hsui G, Lin C. and Wang C. Alterations of trace elements and oxidative stress in uremic patients with dementia. Biol Trace Elem Res 2009; 131:13-24.

Recibido: 03 de noviembre de 2011 / Aprobado: 05 de marzo de 2012