

## DISTRIBUCION DEL COBRE SERICO EN UNA POBLACION SUBURBANA DE MARACAIBO (VENEZUELA)

Nayda Paz de Moncada\*, José Joaquín Villasmil\*\*  
y Ernesto Bonilla\*\*\*

\* Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. \*\* Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. \*\*\* Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Apartado Postal 1151. Maracaibo, Venezuela.

### RESUMEN

Se estudió la concentración de cobre sérico en 99 muestras tomadas al azar en una población suburbana de Maracaibo. Haciendo abstracción del sexo, el promedio y la desviación estándar de la concentración de cobre encontrada en adultos y en niños fue de  $74,1 \pm 26,9$  y  $66,4 \pm 23,8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , respectivamente. La gran variabilidad de los resultados encontrados en los diferentes grupos etarios y la diferencia del número de observaciones en las distintas clases, pudieron haber impedido detectar algunas diferencias significativas entre los promedios de ambos sexos. Sin embargo, al aplicar el análisis de la variancia para datos desbalanceados, se detectaron diferencias significativas entre sexos, observándose una concentración promedio de cobre en el sexo femenino ( $74,70 \pm 27,21 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ) mayor que en el masculino ( $65,41 \pm 27,91 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ). Se aplicó el análisis de regresión para estudiar la relación funcional entre la concentración de cobre y los factores sexo y edad, encontrándose el siguiente modelo:

$$Y = 72,39 + 10,35S - 2,55X + 0,118X^2 + 0,0028X^3 - 0,000069X^4$$

donde  $X$  = edad en años;  $S = 0$ , sexo masculino;  $S = 1$ , sexo femenino.

Después de haber fijado el modelo anterior, se encontró mediante el análisis de la variancia, que el sexo era el factor de mayor influencia sobre el contenido de cobre y por lo tanto, el modelo pudiera expresarse sólo en función de este factor.

## INTRODUCCION

La presencia de cobre en tejidos de animales y plantas fué reportada hace muchos años. La evidencia concluyente de su papel esencial provino de los estudios de regeneración de hemoglobina, en ratas que sufrían anemia (14). Luego se reportó que el cobre, además del hierro, era necesario para la hematopoyesis en estas especies (14). Trabajos posteriores, realizados en varias partes del mundo, encontraron funciones más amplias para este elemento. Actualmente el papel del cobre en el género humano comprende tres áreas de primordial importancia: a.— Interviene en el desarrollo y mantenimiento de la actividad cardiovascular y esquelética. b.— En la función eritropoyética, incluyendo el metabolismo del hierro. c.— En la función y estructura del SNC (8).

La concentración de cobre en la sangre está influenciada por los niveles de cobre en la dieta y por la relación del contenido de este elemento con los otros componentes de la dieta, especialmente molibdeno, sulfatos inorgánicos, hierro y zinc.

La ingestión de una dieta deficiente en cobre produce hipocupremia, la cual ha sido reportada en ciertos casos de anemia producida en niños cuya dieta estaba constituida, casi exclusivamente, por leche de vaca (14).

La hipocupremia está también asociada con nefrosis y con la enfermedad de Wilson. La deficiencia de cobre afecta al SNC, en especial en las primeras etapas del desarrollo (8). El síndrome de Menkes aparece en neonatos y se caracteriza por hipocupremia, retardo en el crecimiento, pigmentación del pelo y cambios degenerativos en la elastina aórtica (4). Este síndrome es producido por un defecto en la absorción de cobre, en cuyo caso la administración parenteral del metal estimula la formación de ceruloplasmina (11).

La hipocupremia se ha observado en las infecciones crónicas, en leucemia, enfermedad de Hodgkin, algunas anemias, hemocromatosis e infartos del miocardio (14).

De lo anteriormente expuesto se deduce que la determinación de las concentraciones de cobre, en el suero humano, es de gran interés médico y nos permite estudiar las relaciones entre el cobre sérico, el tipo de dieta y en cierto modo, el estado de salud de los individuos.

Este trabajo corresponde a un amplio proyecto de estudio multidisciplinario del Barrio El Callao (región suburbana de Maracaibo) que es una zona habitada por individuos de clase económica pobre, sin desnutrición evidente.

## MATERIAL Y METODOS

Las 99 muestras de sueros utilizadas en este trabajo fueron tomadas al azar y gracias a la colaboración de los habitantes del barrio El Callao. Las edades de los pacientes oscilaron entre 3 y 64 años. Sesenta muestras corresponden al sexo femenino y treinta y nueve al masculino.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante venipuntura, utilizando jeringas plásticas desechables. La sangre fué recogida en tubos de ensayo, libres de metales (2). Una vez retraído el coágulo, el suero se separó y se almacenó en frascos de vidrio, libres de metales, a  $-70^{\circ}\text{C}$ , hasta su uso.

Para la determinación de Cu se utilizó un Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian AeroGraph, modelo AA-775 acoplado a un horno de grafito CRA-90 que puede calentar automáticamente el tubo de grafito en tres etapas sucesivas: secado, ceniza y atomización.

Se utilizó un flujo continuo de Nitrógeno a través del tubo de grafito. Las muestras de suero fueron agregadas al tubo, utilizando micropipetas automáticas con puntas desechables de polipropileno (libres de metales). Para la determinación de Cu sérico, se utilizaron siempre alicuotas de  $5\ \mu\text{l}$ . Los resultados analíticos fueron registrados en un inscriptor alfa numérico Packard, modelo 5150A. La solución patrón de Cu ( $1000\ \text{mg/l}$ ) se obtuvo diluyendo  $1.0\ \text{gr}$  de Cu (Titrisol Merck) y  $10\ \text{ml}$  de HCl concentrado hasta un litro de volumen final con  $\text{H}_2\text{O}$  tridestilada y desionizada.

Las soluciones de trabajo se preparaban diariamente, diluyendo la solución patrón con agua tridestilada y desionizada. Tanto el agua como los reactivos utilizados, fueron analizados periódicamente para comprobar si había contaminación con Cu. Las siguientes condiciones fueron utilizadas para el análisis: a.— Longitud de onda:  $324.9\ \text{nm}$ ; b.— Apertura de hendidura:  $0.5\ \text{nm}$ ; c.— Secado:  $100^{\circ}\text{C}$  x  $40\ \text{seg.}$ ; d.— Ceniza:  $700^{\circ}\text{C}$  x  $30\ \text{seg.}$ ; e.— Atomización:  $2000^{\circ}\text{C}$  x  $2\ \text{seg.}$ ; f.— Rampa:  $500^{\circ}\text{C}$  x  $\text{seg.}$

Todas las muestras fueron analizadas mediante la técnica de adición de estándares escrita por Christian (3). Las adiciones utilizadas fueron las siguientes: 0.25, 0.50 y 1.25 ng de Cu.

Los datos fueron clasificados por sexo y con intervalos de edad de 5 años. Para cada clase se determinó la media y la desviación estándar, con el propósito de caracterizarlas y poder realizar comparaciones con valores referenciales (12).

Se aplicó un análisis de regresión para determinar la función matemática que expresara la relación entre la edad y el contenido de cobre. Este análisis se inició con el modelo más sencillo, es decir, estimando la ecuación de la línea recta y luego los polinomios de mayor orden, hasta alcanzar un polinomio de cuarto orden. El modelo fué estimado, tomando en consideración todos los datos generados, sin clasificar por sexo y después se hizo para cada sexo (12). Se aplicó el análisis de la variancia, para probar la hipótesis con respecto a la existencia de regresión entre las variables concentración de cobre y edad, en ambos sexos. En vista de la diferencia entre el número de observaciones para las diferentes clases de sexo y edad, se utilizó el análisis de la variancia para datos desbalanceados, con el propósito de estudiar el efecto de los factores sexo y edad sobre la concentración de cobre (1).

## RESULTADOS

Los datos obtenidos de la media y desviación estándar para cada una de las clases de edades establecidas para ambos sexos, se muestran en la tabla I. El promedio y la desviación estándar de la concentración de cobre encontrado en adultos y niños, sin clasificar por sexo, fue de  $74,1 \pm 26,9$  y  $66,4 \pm 23,8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , respectivamente.

De los modelos estimados se encontró que el polinomio de cuarto orden era el que mejor expresaba la relación funcional entre la edad y el contenido de cobre, para aquellos casos donde se fijó el modelo, incluyendo la información de ambos sexos (modelo general, sin clasificar por sexo) y la correspondiente al sexo masculino, en comparación con aquellos de menor orden.

Los resultados obtenidos, incluyendo los coeficientes de correlación respectivos, fueron los siguientes:

a.— **Modelo General** (sin clasificar por sexo)

$$Y = 67,34152 - 0,45196X + 0,10997X^2 - 0,00393X^3 + 0,00003X^4$$
$$r = 0,21088 \text{ (no significativa)}$$

**TABLA I**

CONCENTRACION DE COBRE EN EL SUERO DE INDIVIDUOS PERTENECIENTES A UNA ZONA SUBURBANA DE MARACAIBO

Grupos Etarios (años)	Concentración de Cobre ( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ )		P*
	Hembras	Varones	
0 - 5	94,1 (1) <sup>***</sup>	85,2 $\pm$ 44,9 <sup>**</sup> (4)	-
6 - 10	69,0 $\pm$ 16,7 (18)	62,6 $\pm$ 18,1 (14)	N.S.
11 - 15	71,7 $\pm$ 24,2 (10)	60,9 $\pm$ 33,2 (9)	N.S.
16 - 20	84,5 $\pm$ 31,5 (7)	71,1 $\pm$ 27,4 (3)	N.S.
21 - 25	99,9 $\pm$ 35,3 (6)	60,2 (1)	-
26 - 30	84,3 $\pm$ 53,0 (5)	39,8 (1)	-
31 - 35	53,6 $\pm$ 14,4 (3)	66,1 $\pm$ 29,3 (2)	N.S.
> 36	65,5 $\pm$ 13,7 (10)	74,5 $\pm$ 36,5 (5)	N.S.

\* Diferencia entre varones y hembras de los mismos grupos etarios (test t de Student)

\*\* Los valores reportados representan las medias  $\pm$  D.S.

\*\*\* Las cifras entre parentesis corresponden al número de personas estudiadas.

**b.- Sexo Masculino**

$$Y = 91,79674 - 3,04672X + 0,26957X^2 - 0,00550X^3 + 0,00003X^4$$

$r = 0,20090$  (no significativa)

En lo que se refiere al sexo femenino, no existen diferencias sustanciales entre el modelo polinómico de tercer orden y el de cuarto orden. Sin embargo, en forma preliminar se puede seleccionar el modelo de cuarto orden, por presentar un mayor coeficiente de correlación, siendo conveniente realizar un estudio que permita alcanzar una decisión definitiva acerca del modelo matemático que mejor expresa la relación estudiada. El modelo polinómico de cuarto orden obtenido para el sexo femenino fue:

$$Y = 49,91814 + 2,62065X + 0,00806X^2 - 0,00332X^3 + 0,0004X^4$$

$r = 0,36155$  (significativo).

Como puede observarse, el análisis de regresión para el modelo de cuarto orden no demostró ninguna significación entre la concentración de cobre y la edad, tanto al considerar los individuos de ambos sexos en conjunto, como los del sexo masculino; mientras que por el contrario, se detectó una relación significativa entre las concentraciones de cobre y la edad de las personas del sexo femenino.

Los resultados de los valores de F generados en los análisis de variancia aplicados a los modelos de segundo, tercero y cuarto orden en el sexo femenino, conjuntamente con sus coeficientes de correlación, se muestran en la tabla II.

El análisis de la variancia obtenido para los datos desbalanceados se muestra en la tabla III. En esta tabla se evidencia que, para las fuentes de variación sexo y edad, se detectaron diferencias significativas. Así, de acuerdo con los valores obtenidos, el promedio de concentración de cobre en el sexo femenino ( $\bar{X}_f = 76,454 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ) es mayor significativamente que el promedio observado en el sexo masculino ( $\bar{X}_m = 64,6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ). Además, en términos del modelo fijado se encontró el siguiente polinomio:

$$Y = 72,39 - 2,55X + 10,35S + 0,118X^2 + 0,0028X^3 - 0,000069X^4$$

donde:

Y = contenido de cobre; X = efecto lineal de la edad;  $X^2$  = efecto cuadrático de la edad;  $X^3$  = efecto cúbico de la edad;  $X^4$  = efecto cuártico de la edad; S = efecto del sexo (S = 0, para el sexo masculino; S = 1, para el sexo femenino).

Después de haber obtenido el modelo anterior, se aplicó un análisis de la variancia para estudiar la importancia de la contribución de los factores edad, en sus diferentes órdenes y el sexo. Se encontró que de los términos incluidos en dicho modelo, el sexo era el de mayor influencia significativa sobre el contenido de cobre y por lo tanto, el modelo pudiera expresarse solo en función de este factor. En la figura 1 se muestra la relación entre la concentración de cobre, la edad y el sexo.

La comparación de nuestros resultados con los obtenidos por otros autores se señala en la tabla IV.

## DISCUSION

En el plasma, el cobre se presenta en dos formas principales, una firmemente y otra ligeramente unida a proteínas. La primera está represen-

**TABLA II**

VALORES DE F OBTENIDOS EN LOS ANALISIS DE VARIANCA  
GENERADOS PARA LOS DIFERENTES MODELOS

Modelo	F (sexo femenino)	Grados de Libertad	Correlación
2° orden	0,23549	2 y 58	0,08975
3° orden	2,75944	3 y 57	0,35611*
4° orden	2,04931	4 y 55	0,36015*

\* Correlación significativa

**TABLA III**

ANALISIS DE LA VARIANCA CON DATOS DESBALANCEADOS  
PARA ESTUDIAR EL EFECTO DEL SEXO Y LA EDAD

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	F
Sexo	1	2461,097	2461,097	3,77
X	1	114,841	114,841	0,18
X <sup>2</sup>	1	5070,684	5070,684	7,77
X <sup>3</sup>	1	3523,417	3523,417	5,40
X <sup>4</sup>	1	42,746	42,746	0,07
Error	68	44357,767	652,320	—
Total	73	55570,552	—	—

Nivel de significación  $\alpha = 5\%$

tada por una cuproproteína azul (ceruloplasmina) que es una alfa 2 globulina con un peso molecular de 151.000, la cual contiene 8 átomos de cobre por molécula (14). En el hombre, alrededor del 80% del cobre plasmático existe como ceruloplasmina que actúa bioquímicamente como una oxidasa que interviene en la conversión del hierro ferroso a férrico, para que este último forme complejos estables con la transferrina. De allí que a la ceruloplasmina se le conozca con el nombre de ferroxidasa I (7). Los animales muy deficientes en cobre pierden la habilidad para utilizar el hierro almacenado en los tejidos, debido a la falla en la conversión del hierro ferroso a férrico (9), como resultado, pueden observarse anemias hipocrómicas, a pesar de existir depósitos elevados de hierro en los tejidos; es decir, la alteración de la actividad ferroxidásica constituye un meca-

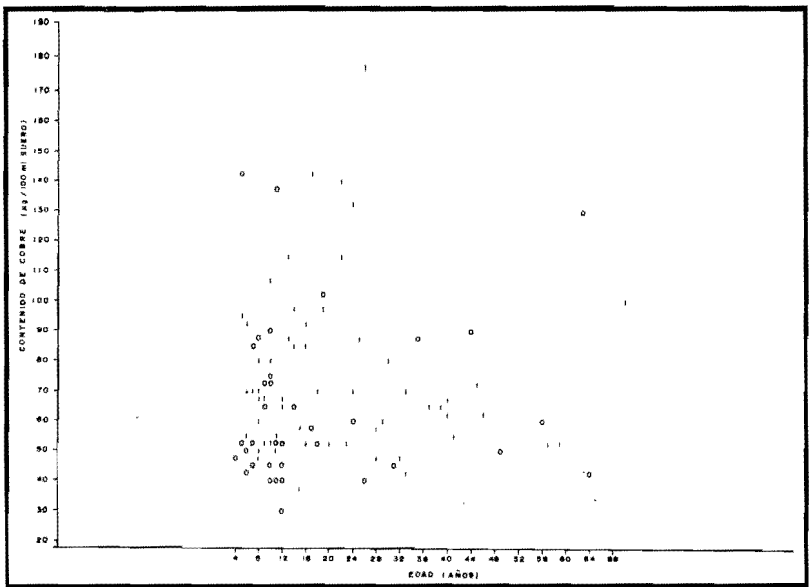


Fig. 1.— Relación entre la concentración de cobre, la edad y el sexo (S = 0, para el sexo masculino; S = 1, para el sexo femenino).

nismo mediante el cual la deficiencia de cobre puede producir lo que parecería ser una anemia atribuible a la deficiencia de hierro.

El rango normal de la concentración de cobre en animales sanos es muy amplio. No se han demostrado diferencias significativas entre ambos sexos en la mayor parte de las especies, aunque algunos autores han reportado niveles plasmáticos de cobre más altos en mujeres que en hombres (14).

En el primer análisis aplicado en este estudio, la gran variabilidad de los resultados encontrados en los diferentes grupos etarios y la diferencia en el número de observaciones para las distintas clases establecidas, pudieron haber impedido detectar algunas diferencias significativas entre ambos sexos, aún cuando el promedio de concentración de cobre en el sexo femenino ( $74,70 \pm 27,21 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ) fué aparentemente mayor que en el masculino ( $65,41 \pm 27,91 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ), analizados los datos mediante la aplicación del análisis de la variancia para datos desbalanceados, se detectaron diferencias significativas entre los promedios anteriores.

Por otro lado, solamente en el sexo femenino se observó una correlación positiva entre edad y concentración de cobre, notándose las más elevadas concentraciones durante la juventud, hallazgo éste de interés, puesto que se ha demostrado que la administración de estradiol en las mujeres, aumenta la concentración de cobre en el suero (14).



**TABLA IV**  
**CONCENTRACIONES NORMALES DE COBRE SERICO**  
**REPORTADAS POR DIFERENTES AUTORES**

Método Empleado	Edad	N	Concentración de Cobre ( $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ )	p*	Referencias
Absorción atómica	Adultos	51	$74,1 \pm 26,9^{**}$	-	Presente estudio
Absorción atómica	Niños	48	$66,4 \pm 23,8$	-	Presente estudio
Activación neutrónica	Adultos	46	$107,0 \pm 24,0$	$< 0,001$	Versieck J et al (15)
Absorción atómica	Niños	13	$126,8 \pm 21,2$	$< 0,001$	Delves HT et al (5)
Absorción atómica	Adultos	25	$108,0 \pm 13,9$	$< 0,001$	Fisher GL et al (6)
Activación neutrónica	Adultos	6	$89,0 \pm 13,0$	$< 0,05$	Parr RM y Taylor DM (10)

\* Los valores de P (test t de Student) expresan las diferencias con las cifras reportadas en nuestro estudio

\*\* Promedios  $\pm$  D.S.

Todos los autores consultados (5, 6, 10, 15) han reportado cifras significativamente más altas que las observadas en la población estudiada. Este hallazgo se manifiesta más dramáticamente en la población infantil, en la cual se encontraron concentraciones de cobre que corresponden apenas a un 52% de las reportadas por Delves y cols. en Inglaterra (5), lo que hace pensar en la posibilidad de que la dieta de nuestros infantes sea muy deficiente en cobre (13). La otra posibilidad para explicar nuestro hallazgo, pudiera ser la de que los niños sufrieran de diarrea crónica y desnutrición, lo cual descartamos, porque todos los casos estudiados eran aparentemente sanos y bien nutridos. El estudio de otros parámetros nos permitirá conocer la causa de esta aparente hipocupremia, ya que los resultados encontrados en esta población infantil, no son diferentes a los observados en adultos, cuando se considera la población de ambos sexos en conjunto.

#### Agradecimientos

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la realización del presente trabajo en especial al Técnico Químico Carlos R. Valbuena, a la Sra. Norma de Morillo y al Econ. Rafael Vera.

Este trabajo fue financiado parcialmente con fondos de CONDES - LUZ y de la Fundación Polar.

#### ABSTRACT

**Serum copper distribution in a suburban population of Maracaibo, Venezuela.** Paz-Moncada N., Villasmil JJ, Bonilla E. (*Instituto de Investigaciones Clínicas. Apartado Postal 1151. Maracaibo. Venezuela. 4001-A*). *Invest Clín* 22(2): 83-94, 1981.— The concentration of serum copper was studied in 99 samples taken from a suburban population of Maracaibo (Venezuela). Disregarding sex, the mean  $\pm$  S.D. copper contents in adults and children were  $74.1 \pm 26.9$  and  $66.4 \pm 23.8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  respectively. When the analysis of variance for unbalanced data was applied, a significant difference was detected between sexes being the Cu concentration higher in females ( $74.70 \pm 27.21 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ) than in males ( $65.41 \pm 27.91 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ). A regression analysis was done to study the functional relationship between copper concentration, sex and age. The following model was found:

$$Y = 72.39 + 10.35S - 2.55X + 0.118X^2 + 0.0028X^3 - 0.000069X^4$$

Considering this model it was demonstrated that sex was the main factor influencing Cu content.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BANCROFT JA: Topics in intermediate statistics. Vol I pag. 3. The Iowa State University Press. Ames-Iowa (USA), 1968.
- 2- BONILLA E: Flameless atomic absorption spectrophotometric determination of manganese in rat brain and other tissues. Clin Chem 24: 471-474, 1978.
- 3- CHRISTIAN GD: Medicine, trace elements and atomic absorption spectroscopy, Anal Chem 41: 24A, 1969.
- 4- DANKS DM, CAMPBELL DE, STEVEN BJ: Menkes kinky hair syndrome. An inherited defect in copper absorption with widespread effects. Pediatrics 50: 183-201, 1972.
- 5- DELVES HT, ALEXANDER FW, LAY H: Copper and zinc concentration in the plasma of leukaemic children. Brit J Haematol 24: 525, 1973.
- 6- FISHER GL, BYERS VS, SHIFRINE M, LEVIN AS: Copper and zinc levels in serum from human patients with sarcomas. Cancer 37: 356-363, 1976.
- 7- FRIEDEN E: The ferrous to ferric cycles in iron metabolism. Nutr Rev 31: 41-44, 1973.
- 8- O'DELL BL: Biochemistry of copper. Med Clin NA 60: 687-703, 1976.
- 9- OSAKI S, JOHNSON DA, FRIEDEN E: Mobilization of iron from the perfused mammalian liver. J Biol Chem 246: 3018-3023, 1971.
- 10- PARR RM, TAYLOR DM: The concentration of cobalt, copper, iron and zinc in some normal human tissues as determine by neutron activation analysis. Biochem J 91: 424-431, 1964.
- 11- REINHOLD JG: Trace elements. A selective survey. Clin Chem 21: 476-500, 1975.
- 12- SNEDECOR G, COCHRAN W: Statistical methods. pag. 447, The Iowa University Press. Ames Iowa 6ta. Ed., 1967.
- 13- STURGEON P, BRUBAKER C: Copper deficiency in infants, a syndrome characterized by hipocupremia, iron deficiency anemia, and hipoproteinemia. Am J Dis Child 92: 524, 1956.

- 14 - UNDERWOOD EJ: Trace elements in human and animal nutrition. p 57, Academic Press, New York, 1971.
  - 15 - VERSIECK J, BARBIER F, SPEECKE A, HOSTE J: Influence of myocardial infarction on serum manganese, copper, and zinc concentrations. Clin Chem 21 : 578-581, 1975.
-