

Zinc y cobre y la razón cobre/zinc en lesiones mamarias benignas y malignas.

M.C. Viader, J.I. Monreal, M.C. Quirós, C. Tormo, C.M. Rodríguez, M.C. Pérez-Barquero, M.T. Villar

Se ha estudiado el contenido de zinc, cobre y receptores estrogénicos y de progesterona en tejido tumoral de mama. Las determinaciones se realizaron en un total de 58 tumores: 14 fibroadenomas y 44 carcinomas (8 lobulillares y 36 ductales).

Se ha constatado que en los carcinomas con un número de receptores de estrógenos superior a 20 fmol por mg de proteína existe un incremento en la concentración de zinc, así como la existencia de correlación entre el número de receptores de estrógenos y el contenido en zinc por mg de proteína en el mismo grupo. El contenido de cobre y de receptores de progesterona no mostró variaciones significativas respecto al tipo de tejido tumoral y no se observó correlación entre los receptores y el contenido citosólico de Cu.

Introducción

Se ha señalado en los últimos años la importancia del papel fisiológico de los elementos traza esenciales. Son numerosas las descripciones sobre factores patológicos que pueden perturbar los niveles de los mismos en distintos tejidos y se ha demostrado la utilidad de estas variaciones en su concentración para diagnósticos diferenciales o bien como pronóstico de enfermedades específicas (1).

The levels of zinc, copper and estrogen and progesterone receptors in human breast cancer tissues were studied. Fifty-eight tumour specimens were analyzed: 14 fibroadenomas and 44 carcinomas.

We found that the zinc concentrations in the samples with estrogen receptor concentration equal or superior to twenty fmol/mg protein were higher than the others. Also, correlation between estrogen receptors and zinc levels in this group was observed. Tissue copper and progesterone receptors were not affected by the histological nature of tumour. We did not find correlation between hormone receptors and cytosolic copper concentrations.

Se han hallado niveles anormales de zinc y cobre en una gran variedad de condiciones fisiológicas y patológicas (2). En particular existe un número creciente de estudios que describen alteraciones en los niveles de estos metales en pacientes con cáncer (3). En estos trabajos se ha investigado preferentemente en suero, existiendo datos no bien contrastados e incluso contradictorios, aunque la mayoría de los estudios demuestran relación entre la magnitud de la variación del elemento traza y la actividad de la enfermedad (4-13).

Respecto a su contenido en tejido tumoral y en concreto de mama, se ha observado un acúmulo de estos elementos en el mismo (14-18).

En el presente trabajo nos proponemos conocer el contenido de zinc y cobre en este tejido y su relación con

Servicio de Bioquímica
Clínica Universitaria de la Universidad de Navarra
Avda. Pío XII
Pamplona.

otras características del tumor como el contenido en receptores de estrógenos y progesterona, considerados como buenos factores pronóstico de la eficacia del tratamiento hormonal.

Material y métodos

El estudio ha incluido la determinación del contenido de zinc (Zn), cobre (Cu), receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) en biopsias de tumores mamarios. Los tumores estudiados fueron catorce fibroadenomas y cuarenta y cuatro carcinomas, ocho de ellos lobulillares y treinta y seis ductales.

Determinación de RE y RP

La determinación de RE y RP se hizo siguiendo el método de MC Guire (19). Dicho método se puede considerar constituido por tres etapas: la primera, extracción de los receptores citosólicos del tejido mediante homogeneización del mismo y centrifugación; la segunda, incubación de citosol con la hormona marcada, ^3H -Estradiol y ^3H -R5020 para RE y RP respectivamente, utilizando un exceso de la misma en un sólo ensayo para conseguir la ocupación de los receptores (saturación a un punto); y, finalmente, la tercera, separación de la radiactividad libre y ligada con el uso de carbón-dextrano. La determinación de las proteínas se realizó con el método de Lowry (20).

Determinación de Zn y Cu

Para la determinación de Zn y Cu se utilizó una alícuota del citosol obtenido en la primera etapa de la analítica de RE y RP. La medida se realizó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer, modelo 305-B, a 213,9 y 325 nm, respectivamente.

La aspiración de la muestra se realizó directamente de las muestras sin someter a estas a diluciones previas.

El contenido en receptores y metales se expresó por mg de proteica citosólica.

Método estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo aplicando el test "t" de Student para la diferencia entre grupos y el índice de correlación para la comparación entre parámetros.

Resultados

Para el estudio de los resultados consideramos, por una parte, la relación entre el tipo de tumor y el contenido de metales y receptores, y por otra, la relación entre receptores y metales.

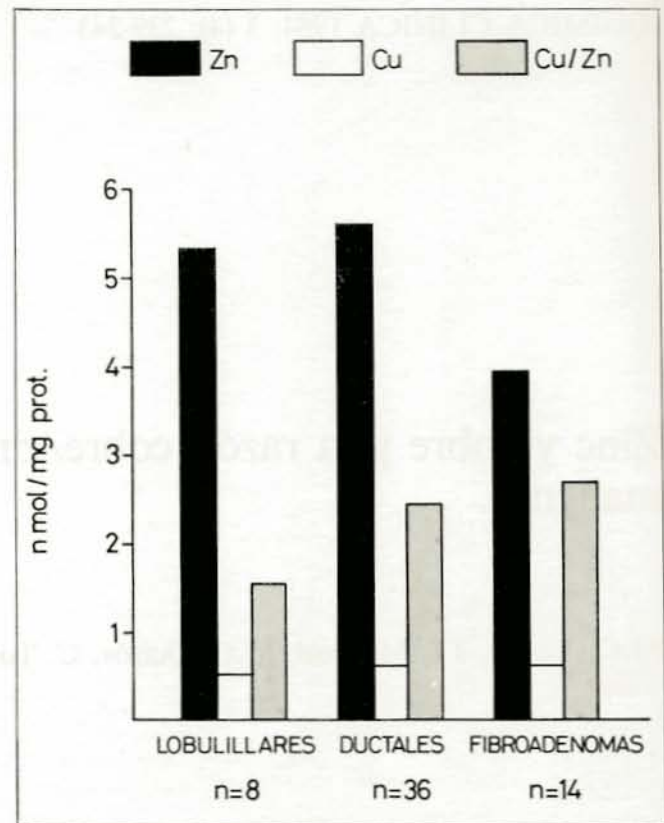


Figura 1. Concentración de Zn y Cu en nmol/mg de proteína en tejido tumoral, considerado éste según su tipo histológico.

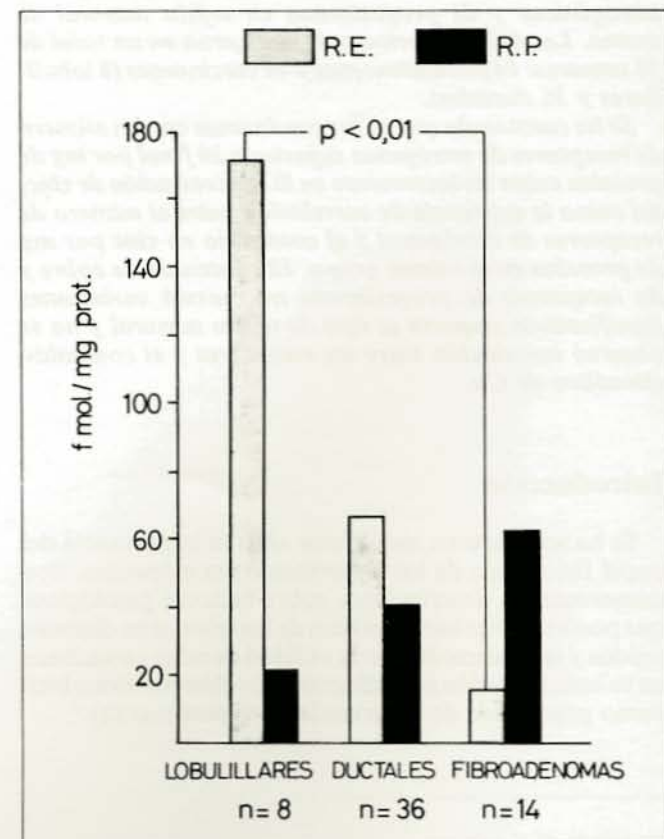


Figura 2. Concentración de RE y RP en fmol/mg de proteína en tejido tumoral, considerado éste según su tipo histológico.

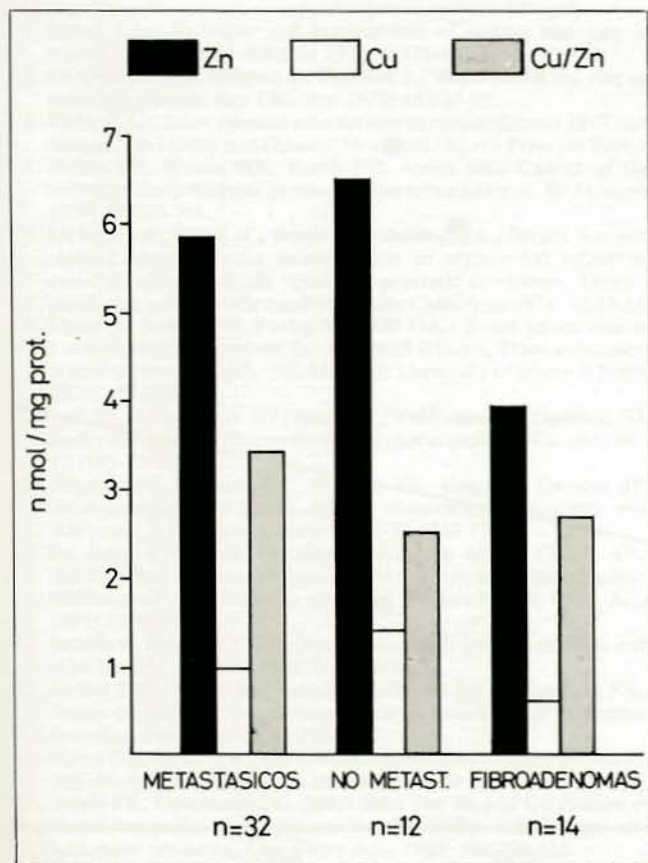


Figura 3. Concentración de Zn y Cu, en nmol/mg de proteína en fibroadenomas y carcinomas que presentan o no metástasis.

Relación del tipo tumoral con el contenido en metales y receptores

Considerando los tumores según sus tipos histológicos—fibroadenomas y carcinomas lobulillares y ductales—del análisis estadístico no se obtuvieron diferencias significativas entre los tres grupos, en el contenido de Zn y Cu, ni en el de RP. Sí se obtuvo ($p = 0.01$) entre los carcinomas lobulillares y fibroadenomas respecto a su contenido de RE al presentar unos valores medios de 172 y 16 fmol/mg de proteína, respectivamente. (Figuras 1 y 2.)

Clasificando los tumores en fibroadenomas y carcinomas y éstos según presenten o no metástasis, las diferencias carecieron de significación cuando se comparaban los tres grupos tanto respecto a su contenido en ambos metales como en el de RP. (Figura 3.) Sin embargo, como se observa en la Figura 4, las diferencias adquirieron rango de significación ($p = 0.05$) cuando se comparaban los contenidos en RE de los carcinomas metastásicos, 103 fmol/mg de proteína, con los fibroadenomas, 16 fmol/mg de proteína.

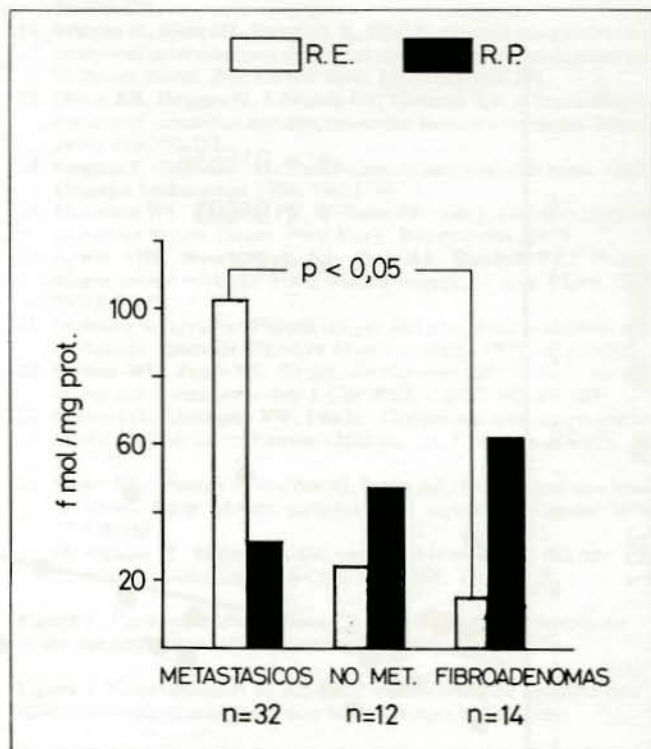


Figura 4. Concentración de RE y RP en fmol/mg de proteína, en fibroadenomas y carcinomas que presentan o no metástasis.

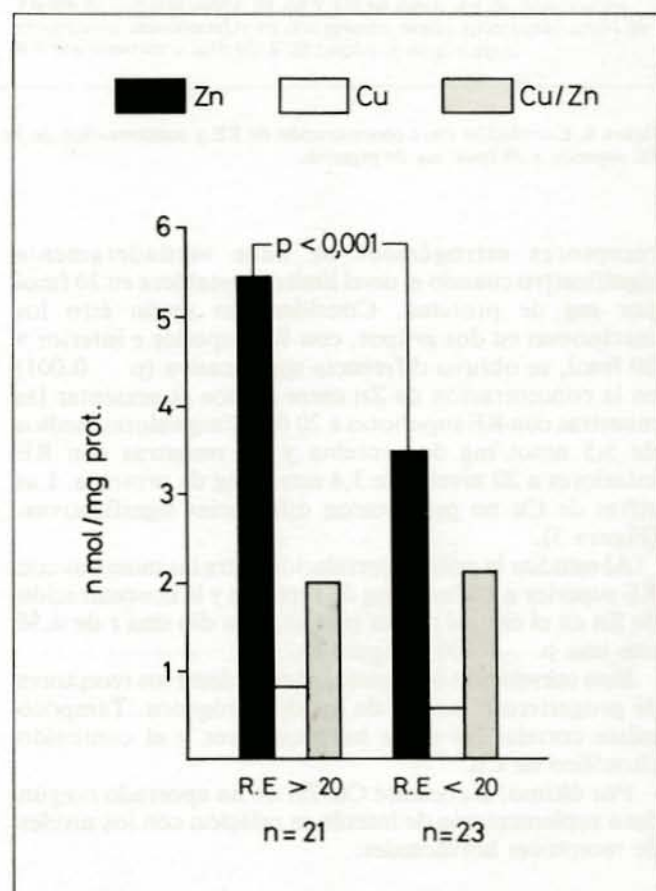


Figura 5. Concentración de Zn y Cu en nmol/mg de proteína en carcinomas considerados en dos grupos, según su concentración de RE sea superior o inferior a 20 fmol/mg de proteína.

Relación RE-ZN

En un estudio previo (datos no publicados) se ha puesto de manifiesto que el valor pronóstico aportado por los

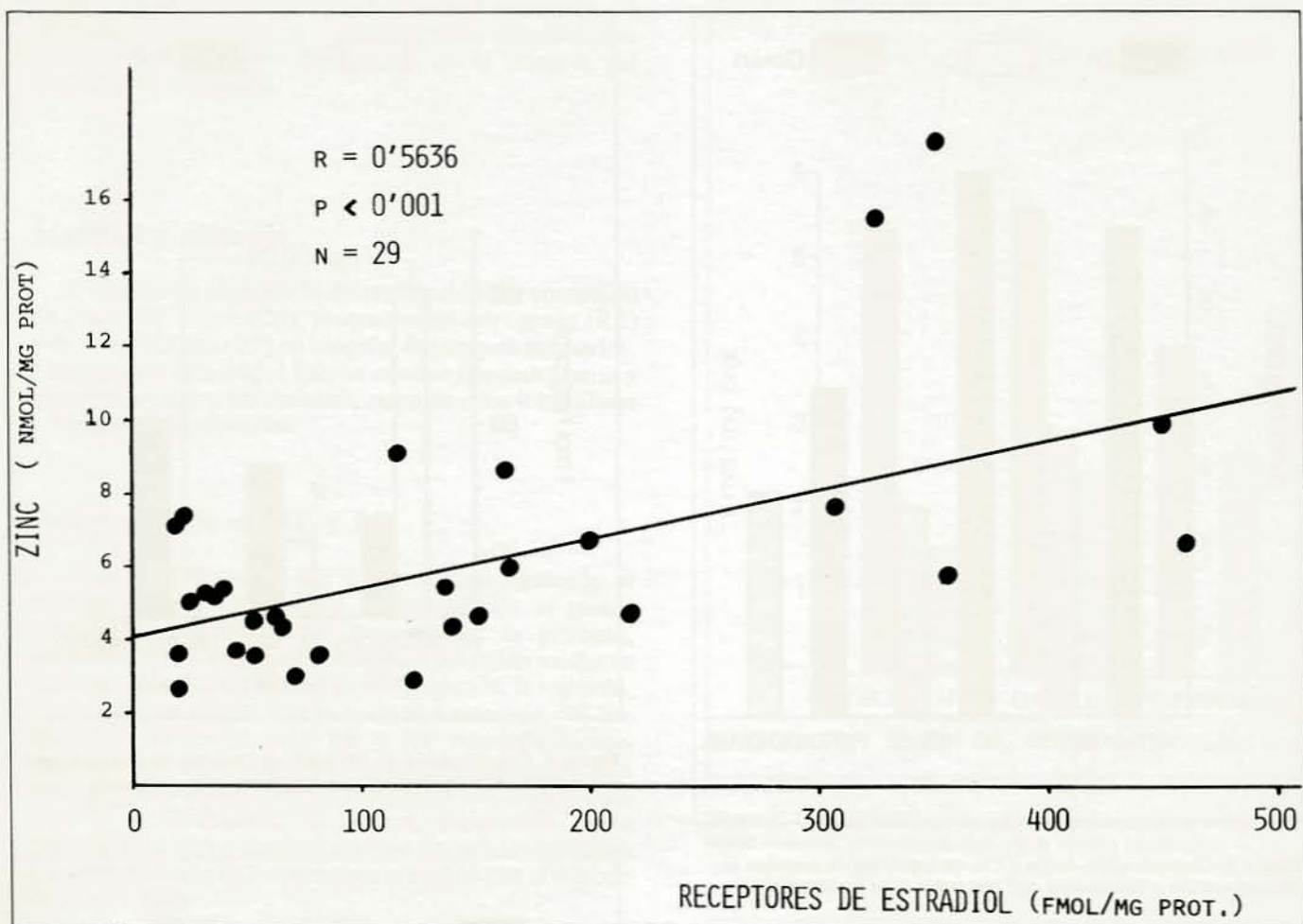


Figura 6. Correlación entre concentración de RE y concentración de Zn (nmol/mg de proteína) en citosol de carcinomas con una concentración de RE superior a 20 fmol/mg de proteína.

receptores estrogénicos se hace verdaderamente significativo cuando el nivel límite se establece en 20 fmol por mg de proteína. Considerando según esto los carcinomas en dos grupos, con RE superior e inferior a 20 fmol, se obtuvo diferencia significativa ($p = 0.001$) en la concentración de Zn entre ambos al presentar las muestras con RE superiores a 20 fmol/mg valores medios de 5,5 nmol/mg de proteína y las muestras con RE inferiores a 20 niveles de 3,4 nmol/mg de proteína. Las cifras de Cu no presentaron diferencias significativas. (Figura 5).

Al estudiar la posible correlación entre las muestras con RE superior a 20 fmol/mg de proteína y la concentración de Zn en el citosol de sus células, ésta dio una r de 0,56 con una $p = 0.001$. (Figura 6).

Esta correlación desaparece al considerar los receptores de progesterona en vez de los de estrógenos. Tampoco existe correlación entre los receptores y el contenido citosólico de Cu.

Por último, el cociente Cu/Zn no ha aportado ningún dato suplementario de interés en relación con los niveles de receptores hormonales.

Discusión

Se han propuesto los niveles de Zn y Cu como

parámetros útiles en la estimación de una variedad de estados patológicos. Recientes estudios han sugerido la razón Cu/Zn como índice valorable para la estimación de la extensión y actividad del carcinoma y determinación del pronóstico en pacientes con cáncer (21-25).

Sin embargo, en nuestro estudio el contenido de Cu y la razón Cu/Zn no presentaban variaciones respecto al tipo histológico del tumor, ni al contenido de RE ni RP. No así la concentración de Zn que alcanza valores más altos en muestras con RE superiores a 20 fmol/mg proteína. Este dato, unido a la correlación hallada entre ambos parámetros, se suma al conocido papel de este metal en la actividad enzimática y metabólica celular (25).

A la vista de los resultados obtenidos no se puede dilucidar si la relación entre Zn y RE es directa por la asociación de ambos o indirecta por la modificación que uno pueda realizar sobre el metabolismo del otro. No obstante, el estudio y discusión del metabolismo de ambos parámetros en el tejido tumoral requiere la investigación de la absorción y excreción del metal en función de otros factores que, como la edad, pueden afectar al menos a los niveles del Zn (15-25).

Bibliografía

1. Fisher GL.: Function and homeostasis of copper and zinc in mammals. *Sci Total Environ* 1975; 4:373-412.
2. De Quiros J F B, Iñiguez C, Carreres J.: Importancia del zinc en patología clínica. *Rev Clín Esp* 1978; 151:87-95.
3. Fisher GL.: Trace element interactions in carcinogenesis In: *Trace Elements in Health and Disease*. New York: Raven Press (In Press).
4. Habib FK, Mason MK, Smith PH, Sttich SR.: Cancer of the prostate: Early diagnosis by zinc and hormone analysis. *Br J Cancer* 1979; 39:700-704.
5. McBean LD, Smith JC, Berne BH, Halsted JA.: Serum zinc and alpha-2 macroglobulin concentration in myocardial infarction, decubitus ulcer, multiple myeloma, prostatic carcinoma, Down's syndrome, and nephrotic syndrome. *Clin Chim Acta* 1974; 50:43-51.
6. Flynn A, Strain WH, Pories WJ, Hill OA.: Blood serum zinc as a indicator of acute stress. In: Hemphill DD, ed. *Trace substances in environmental health*. VII. Missouri: University of Missouri Press, 1973; 271-276.
7. Isell BF, MacFayden BV, Gum ET, Valdivieso M, Dudrick SJ, Bodey GP.: Serum zinc levels in lung cancer patients. *Cancer* 1981; 47:1845-1848.
8. Hrgovic M, Tessmer CF, Thomas FB, Ong PS, Gamble JF, Shullenberger CC.: Serum copper observation in patients with malignant lymphoma. *Cancer* 1973; 32:1512-1524.
9. De Jorge FB, Goes JS, Guedes AB, De Ulhoa Cintra AB.: Biochemical studies on copper, copper oxidase, magnesium, sulfur, calcium and phosphorus in cancer of the breast. *Clin Chim Acta* 1975; 12:403-406.
10. Kolaric K, Roguljic A, Fuss V.: Serum copper levels in patients with solid tumors. *Tumori* 1975; 61:173-177.
11. Breiter DN, Diasio RB, Neifeld JP, Roush ML, Rosenberg SA.: Serum copper and zinc measurements in patients with osteogenic sarcoma. *Cancer* 1978; 42:598-602.
12. Fisher GL, Spitzer LE, McNeill KL, Rosenblatt LS.: Serum copper and zinc levels in melanoma patients. *Cancer* 1981; 47:1838-1844.
13. Habib FK, Dembinski TC, Sttich SR.: The Zn and Cu content of blood leucocytes and plasma from patients with benign and malignant prostates. *Clin Chim Acta* 1980; 104:329-335.
14. Addink NWH, Frank LJP.: Remarks a propos of analysis of trace elements in human tissues. *Cancer* 1959; 12: 544-551.
15. Schwartz AE, Leddicotte GW, Fink RW, Friedman EW.: Trace elements in normal and malignant human breast tissue. *Surgery* 1974; 76:325-329.
16. Schicha H, Klein HJ, Kasperek K, Ritzl F.: Quantitative activation-analytical determination of several elements in several organs and in cancer tissue. *Brit Pathol Anat* 1969; 138:245-271.
17. Olson KB, Heggen G, Edwards CF, Gorman LW.: Trace element content of cancerous and non cancerous human liver tissue. *Science* 1954; 119:772-773.
18. Saegusa T.: Studies of zinc metabolism in tumor bearing hosts. *Osaka Daigaku Igakuzasshi* 1966; 18:11-30.
19. McGuire WL, Carbone PP, Wollmer EP. (eds.). *Estrogen receptors in human breast cancer*. New York: Raven Press, 1975.
20. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
21. Inutsuka S, Araki S.: Plasma copper and zinc levels in patients with malignant tumor of digestive organs. *Cancer* 1978; 42:626-631.
22. Bucher WC, Jones SE. Serum, copper-zinc ratio in patients with malignant lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1977; 68:104-105.
23. Delves HT, Alexander FW, Lay H.: Copper and zinc concentration in the plasma of leukaemic children. *Br J Haematol* 1973; 24: 525-531.
24. Fisher GL., Byers VS, Shifrine M, Levin AJ.: Copper and zinc levels in serum from human patients with sarcomas. *Cancer* 1976; 37:356-363.
25. De Quiros JF, Iñiguez C, Carreres J.: Metabolismo del zinc y su significado biológico. *Rev Clín. Esp* 1958; 151,1: 1-7.

Figura 1. Concentración de Zn y Cu en nmol/mg de proteína en tejido tumoral, considerado éste según su tipo histológico.

Figura 2. Concentración de RE y RP en fmol/mg de proteína en tejido tumoral, considerado éste según su tipo histológico.

Figura 3. Concentración de Zn y Cu, en nmol/mg de proteína en fibroadenomas y carcinomas que presenten o no metástasis.

Figura 4. Concentración de RE y RP en fmol/mg de proteína, en fibroadenomas y carcinomas que presenten o no metástasis.

Figura 5. Concentración de Zn y Cu en nmol/mg de proteína en carcinomas considerados en dos grupos, según su concentración de RE sea superior o inferior a 20 fmol/mg de proteína.