

CUERPO EDITORIAL

DIRECTOR

- **Dr. Esteban Sánchez Gaitán**, Dirección de Red Integrada de Servicios de Salud Huetar Atlántica, Limón, Costa Rica.

CONSEJO EDITORIAL

- Dr. Cesar Vallejos Pasache, Hospital III Iquitos, Loreto, Perú.
- Dra. Anais López, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Lima, Perú.
- Dra. Ingrid Ballesteros Ordoñez, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Dra. Mariela Burga, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Lima, Perú.
- Dra. Patricia Santos Carlín, Ministerio de Salud (MINSA), Lima, Perú.
- Dr. Raydel Pérez Castillo, Centro Provincial de Medicina Deportiva Las Tunas, Cuba.

COMITÉ CIENTÍFICO

- Dr. Zulema Berrios Fuentes, Ministerio de Salud (MINSA), Lima, Perú.
- Dr. Gerardo Francisco Javier Rivera Silva, Universidad de Monterrey, Nuevo León, México.
- Dr. Gilberto Malpartida Toribio, Hospital de la Solidaridad, Lima, Perú.
- Dra. Marcela Fernández Brenes, Caja costarricense del Seguro Social, Limón, Costa Rica.
- Dr. Hans Reyes Garay, Eastern Maine Medical Center, Maine, United States.
- Dr. Steven Acevedo Naranjo, Saint- Luc Hospital, Quebec, Canadá.
- Dr. Luis Osvaldo Farington Reyes, Hospital regional universitario José María Cabral y Báez, República Dominicana.
- Dra. Caridad María Tamayo Reus, Hospital Pediátrico Sur Antonio María Béguez César de Santiago de Cuba, Cuba.
- Dr. Luis Malpartida Toribio, Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión, Callao, Perú.
- Dra. Allison Viviana Segura Cotrino, Médico Jurídico en Prestadora de Salud, Colombia.
- Mg. Luis Eduardo Traviezo Valles, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto, Venezuela.
- Dr. Pablo Paúl Ulloa Ochoa, Instituto Oncológico Nacional "Dr. Juan Tanca Marengo", Guayaquil, Ecuador.

EQUÍPO TÉCNICO

- Msc. Meylin Yamile Fernández Reyes, Universidad de Valencia, España.
- Lic. Margarita Ampudia Matos, Hospital de Emergencias Grau, Lima, Perú.
- Ing. Jorge Malpartida Toribio, Telefónica del Perú, Lima, Perú.
- Srta. Maricielo Ampudia Gutiérrez, George Mason University, Virginia, Estados Unidos.

EDITORIAL MÉDICA ESCULAPIO

50 metros norte de UCIMED,
Sabana Sur, San José-Costa
Rica
Teléfono: 8668002
E-mail:

revistamedicasinergia@gmail.com



ENTIDAD EDITORA SOMEA

SOCIEDAD DE MEDICOS DE AMERICA

Frente de la parada de buses Guácimo, Limón. Costa
Rica
Teléfono: 8668002
Societaddemedicosdeamerica@hotmail.com
<https://somea.businesscatalyst.com/informacion.html>



Revista Médica Sinergia
Vol. 6, Núm. 12, diciembre. 2021,
[e735](#)



<https://doi.org/10.31434/rms.v6i12.735>



revistamedicasinergia@gmail.com

Enfermedad de Wilson: generalidades y enfoque en un estudio de correlación para la determinación de ceruloplasmina sérica entre dos métodos para su diagnóstico

Wilson Disease: generalities and focus on a correlation study for the determination of serum ceruloplasmin between two methods for its diagnosis



¹Dr. Vernon José Rojas Montero

Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica

<https://orcid.org/0000-0002-6981-5924>

²Dr. José Daniel Pérez Muñoz

Área de Salud Barva, Heredia, Costa Rica

<https://orcid.org/0000-0002-5284-7145>

³Dr. Luis Álvaro Padilla Segura

Investigadora independiente, San José, Costa Rica

<https://orcid.org/0000-0002-6827-4863>

Recibido
24/09/2021

Corregido
07/10/2021

Aceptado
20/10/2021

RESUMEN

La Enfermedad de Wilson es un trastorno autosómico recesivo del metabolismo del cobre, que produce cirrosis hepática y degeneración neuronal. Se realizó un estudio de correlación de Pearson para 165 muestras de las Divisiones de Inmunología y Nefrología del Laboratorio Clínico del Hospital San Juan de Dios, entre el método considerado como referencia, que es la actividad enzimática, y la concentración sérica, que es el método de estudio. Se segregaron en tres grupos distintos según el resultado obtenido por la metodología de actividad enzimática y basados en los valores de referencia definidos por esta metodología de referencia en “valores por debajo del valor inferior de referencia”, “valores dentro del intervalo de referencia” y “valores superiores al límite superior de referencia” y se realizó un estudio de correlación de Pearson para cada grupo. Se evidenció que existe una pobre correlación para los 4 escenarios planteados obteniendo $r = 0,84$, $r = 0,40$, $r = 0,44$ y $r = 0,74$ respectivamente. Se recomienda no realizar determinaciones de ceruloplasmina sérica basadas únicamente en la concentración de esta proteína llevadas a cabo por inmunoturbidimetría, especialmente en pacientes con sospechas diagnósticas por Enfermedad de Wilson. Se demostró que existe una baja correlación entre las 2 metodologías disponibles en todo su intervalo analítico. La metodología de la actividad enzimática es considerada aún como el estándar de oro para la determinación de esta proteína.



PALABRAS CLAVE: degeneración hepatolenticular; cirrosis hepática; ceruloplasmina; inmunoturbidimetría; ATPasas transportadoras de cobre.

ABSTRACT

Wilson's disease is an autosomal recessive disorder of copper metabolism, causing cirrhosis of the liver and neuronal degeneration. A Pearson correlation study was carried out for 165 samples from the Immunology and Nephrology Divisions of the Clinical Laboratory of the San Juan de Dios Hospital, between the method considered as a reference, which is the enzymatic activity, and the serum concentration, which is the study method. They were segregated into three different groups according to the result obtained by the enzyme activity methodology and based on the reference values defined by this reference methodology in "values below the lower reference value", "values within the reference interval" and "values higher than the upper limit of reference". A Pearson correlation study was performed for each group. It was evidenced that there is a poor correlation for the 4 settings, obtaining $r = 0.84$, $r = 0.40$, $r = 0.44$ and $r = 0.74$ respectively. It is recommended not to perform serum ceruloplasmin determinations based solely on the concentration of this protein carried out by immunoturbidimetry, especially in patients with suspected diagnosis of Wilson's disease. It was shown that there is a low correlation between the 2 available methodologies throughout their analytical range. The enzyme activity methodology is still considered the gold standard for the determination of this protein.

KEYWORDS: hepatolenticular degeneration; liver cirrhosis; ceruloplasmin; inmunoturbidimetría; copper-transporting ATPases.

¹Microbiólogo Químico Clínico, Especialista en Química Clínica, graduado de la Universidad de Costa Rica (UCR). Correo: vernon.rojasm@gmail.com

²Médico general, graduado de la Universidad de Costa Rica (UCR). Cód. MED16511. Correo: josedan_pm@hotmail.com

³Bachiller en Ciencias Médicas, graduado de la Universidad de Costa Rica (UCR). Correo: adilla.segura@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Wilson (EW) es un trastorno autosómico recesivo del metabolismo del cobre, que produce cirrosis hepática y degeneración neuronal. Su presentación es muy variada: puede, incluso, cursar de forma asintomática hasta llegar a falla hepática fulminante o cirrosis. En la mayoría de los casos, la enfermedad se vuelve sintomática cuando se llega a la edad de 35 años. Es una enfermedad progresiva y, en última instancia, mortal si no se trata y es probablemente la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica en los niños (1,2).

La acumulación de cobre ocurre tanto en el hígado como en el sistema nervioso central, especialmente en los ganglios basales. Por tanto, sus manifestaciones clínicas son fundamentalmente hepáticas, neurológicas y psiquiátricas (2). Cuando se trata a los pacientes con agentes quelantes orales y se le somete a una dieta baja en cobre antes de que desarrollen daño tisular permanente, podrían llevar una vida normal. Sin embargo, los pacientes diagnosticados con EW después de la aparición de cirrosis hepática o deficiencias neurológicas tienen un pronóstico desfavorable. A pesar del tratamiento agresivo, su calidad de vida a

menudo se ve comprometida de forma permanente (3).

Varios parámetros clínicos se asocian constantemente con la EW, incluida la ceruloplasmina sérica disminuida, la presencia de anillos de Kayser-Fleischer, concentraciones altas de cobre en el hígado o la orina, enfermedad hepática y temblor o distonía (1).

Algunos pacientes con EW que presentan concentraciones normales de ceruloplasmina se han documentado y se siguen identificando muchos casos. Algunos autores encontraron que aproximadamente un tercio de los pacientes estudiados tenían concentraciones séricas normales de ceruloplasmina, determinadas por métodos inmunológicos (4).

En la actualidad, el desarrollo y la aplicación de ensayos inmunológicos disponibles comercialmente es cada vez mayor en los laboratorios clínicos, generalmente nefelometría automatizada o inmunturbidimétricos para detectar ceruloplasmina sérica (5).

Se desconoce cuál metodología de determinación de ceruloplasmina sérica es la que debe ser utilizada para que brinde al paciente y al médico solicitante la mejor información clínica en la toma de decisiones según sospecha médica, o bien, si ambas metodologías poseen la misma capacidad y desempeño analítico que generarán un resultado confiable para el usuario interno y externo. Con este artículo de investigación se determinará el grado de relación que existe entre la actividad enzimática y la concentración de la ceruloplasmina sérica a través de un estudio de correlación para valorar su utilidad clínica.

MÉTODO

Para la elaboración del marco teórico, se procedió a realizar una revisión bibliográfica utilizando las bases de datos Science Direct, PubMed, Clinical Key y UptoDate, con los

términos de búsqueda “Wilson’s disease”, “liver cirrhosis”, “hepatolenticular degeneration”, y “ceruloplasmin”. Se tomaron en cuenta artículos de revisión bibliográfica, ensayos clínicos, metaanálisis y guías de referencia.

Por otro lado, se realizó un estudio analítico, experimental, con el objetivo principal de determinar la concentración sérica y la actividad enzimática de remanentes de muestras de pacientes para diversos estudios en las Divisiones de Inmunología y Nefrología del Laboratorio Clínico del Hospital San Juan de Dios (LCHSJD). Adicionalmente se contó la exoneración del permiso del Comité Ético Científico del Hospital San Juan de Dios para el desarrollo de esta investigación.

Se analizaron 165 muestras de suero por dos metodologías distintas para determinar ceruloplasmina sérica en el LCHSJD. En primer lugar, se determinó la actividad enzimática de la ceruloplasmina sérica por el método utilizando o-dianisidina dihidrocloruro como sustrato (6), y posteriormente se determinó la concentración sérica de la ceruloplasmina de las mismas muestras por un método inmunturbidimétrico en un analizador automatizado COBAS c311 de ROCHE.

Se realizó un estudio de correlación de Pearson para las 165 muestras entre el método considerado como referencia que es la actividad enzimática y la concentración sérica que es el método de estudio.

Adicionalmente, se segregaron en tres grupos distintos según el resultado obtenido por la metodología de actividad enzimática y basados en los valores de referencia definidos por esta metodología en “valores por debajo del valor inferior de referencia”, “valores dentro del intervalo de referencia” y “valores superiores al límite superior de referencia” y se realizó un estudio de correlación de Pearson para cada grupo (7).

GENERALIDADES

La EW, también denominada degeneración hepatolenticular, es un trastorno genético poco común que causa una acumulación excesiva de cobre en el hígado y el cerebro y es fatal si no se detecta y trata (8,9).

La epidemiología de la EW varía en todo el mundo, se estima que la patología afecta aproximadamente a 1 de 30 000 personas (10). Países como Costa Rica y Japón muestran la prevalencia más alta, casi duplicando los informes a nivel mundial, aspecto que se ha convertido en un problema de salud (8).

El elevado número de casos en Costa Rica podría explicarse por las altas tasas de consanguinidad en el país, en las que hubo un pequeño número de familias fundadoras y que se remonta al siglo XVIII y bajas tasas de migración. A pesar de la alta incidencia de EW en Costa Rica, en la actualidad, la relación entre el número de muertes por degeneración hepatolenticular y la mortalidad por otras enfermedades hepáticas no está muy definida. El mapeo genético familiar de la EW ha sido una importante línea de investigación y ha identificado mutaciones genéticas que afectan tanto a la población como a las familias más afectadas del país (8).

El análisis de mutaciones para el diagnóstico es engorroso debido a la aparición de muchas mutaciones, cada una de las cuales es rara. Además, la mayoría de los pacientes son heterocigotos compuestos (es decir, portan dos mutaciones diferentes). El diagnóstico directo de la mutación es útil solo si una mutación ocurre con una frecuencia razonable en la población. En Europa del Norte, Central y del Este, las mutaciones más comunes son: mutación H1069Q (frecuencia alélica: 43,5%), mutaciones del exón 8 (6,8%), 3400delC (3%) y P969Q (1,6%) (1).

Fisiopatología y características clínicas de la Enfermedad de Wilson

El cobre (Cu) es un nutriente dietético esencial y facilita las reacciones de transferencia de electrones cuando se incorpora a cuproproteínas específicas en la respiración mitocondrial, la biosíntesis de melanina, el metabolismo de la dopamina, la homeostasis del hierro, la defensa antioxidante, la formación de tejido conectivo y la amidación de péptidos (11,12).

Existen vías específicas que permiten el tráfico intracelular de cobre mediante ATPasas transportadoras de cobre y la compartimentación de este evitando la toxicidad celular. Los estudios en humanos que utilizan isótopos de cobre revelan una eliminación rápida y eficiente del cobre de la circulación portal (13,14). La excreción biliar es el único mecanismo para la eliminación del cobre y la cantidad de cobre excretada en la bilis es directamente proporcional al tamaño de la reserva de cobre hepático (15). Se desconocen las consecuencias funcionales de la mayoría de las mutaciones, la más estudiada es la mutación H1069Q en el gen para ATP7B. En altas concentraciones de cobre intracelular, esta mutación resultó en una inestabilidad sensible a la temperatura de ATP7B, mientras que el plegado y la estabilidad se mantuvieron en condiciones de bajo contenido de cobre. Por tanto, esta mutación permite la síntesis de ceruloplasmina hasta cierto punto y se asocia con una enfermedad neurológica de aparición tardía. Se han descrito más de 200 mutaciones distintas que causan enfermedades en este gen y aproximadamente la mitad de estas mutaciones son de tipo “non-sense” o “sin sentido” (13,16).

La patogenia de la enfermedad hepática de Wilson es una consecuencia directa de la acumulación de cobre en los hepatocitos. Inicialmente provoca daño mitocondrial con alteración de la oxidación de lípidos, lo que resulta en una esteatosis hepática marcada (1).

La acumulación de cobre prooxidante dentro de las mitocondrias hepáticas conduce al envejecimiento oxidativo prematuro del ADN mitocondrial al causar mutaciones somáticas del genoma mitocondrial. La liberación de cobre de los hepatocitos necróticos da como resultado un estrés oxidativo que conduce a un mayor daño de los hepatocitos, inflamación y fibrogénesis. Si se agota la capacidad del hígado para almacenar cobre, el cobre se libera a la circulación y prácticamente todos los órganos lo absorben, pero la toxicidad del cobre afecta principalmente al sistema nervioso central. Dado que el cobre no es absorbido por las neuronas, el aumento de las cantidades de cobre extracelular puede explicar el mecanismo del daño neuronal en la EW (1). La EW puede presentarse en una variedad de condiciones clínicas, siendo las más comunes la enfermedad hepática y los trastornos neuropsiquiátricos. Ninguno de los signos clínicos es típico y diagnóstico. Uno de los rasgos más característicos de la EW es que no hay dos pacientes, ni siquiera dentro de una familia, que sean iguales (3). La mayoría de los pacientes con EW, cualquiera que sea su presentación clínica o estado presintomático, tienen algún grado de enfermedad hepática. La edad común de manifestación hepática es entre 8 y 18 años, pero la cirrosis ya puede presentarse en niños menores de 5 años. Puede imitar todas las formas de afecciones hepáticas comunes, desde transaminasemia asintomática, hepatitis aguda o crónica, insuficiencia hepática fulminante y cirrosis (4).

Los anillos de Kayser-Fleischer son un sello distintivo de la enfermedad, pero están ausentes en la mayoría de los pacientes. Se encuentran en 95% de los pacientes con síntomas neurológicos, pero sólo en 50 a 60% de los pacientes sin síntomas neurológicos y en 10% de los hermanos asintomáticos. Estos anillos se manifiestan como una franja oscura de color dorado o

verdoso que está situada en la periferia de la córnea, en el punto en donde esta se une con la esclerótica y se debe a la acumulación de cobre en la membrana de Descemet (1). Los síntomas neurológicos generalmente se desarrollan en la mediana edad o en los años veinte. Los síntomas iniciales pueden ser muy sutiles, como temblores leves, problemas del habla y de la escritura, y con frecuencia se diagnostican erróneamente como problemas de conducta asociados con la pubertad. El sello distintivo de la EW neurológica es un trastorno progresivo del movimiento. Los síntomas más comunes son disartria, disfagia, apraxia y síndrome de temblor-rigidez (parkinsonismo juvenil) (3). El diagnóstico de la EW generalmente se basa en hallazgos clínicos típicos y anomalías de laboratorio y puede realizarse sin más pruebas si se presentan dos de los siguientes síntomas: anillos de Kayser-Fleischer, síntomas neurológicos típicos y niveles bajos de ceruloplasmina sérica (13). Ninguno de los parámetros comúnmente utilizados por sí solo permite un diagnóstico seguro de la EW. Por lo general, es necesaria una combinación de varios parámetros de laboratorio para establecer con firmeza el diagnóstico. Los hallazgos de biopsia hepática generalmente son inespecíficos y no ayudan directamente a hacer el diagnóstico de la EW (4) (17).

Hoy en día, el pilar del tratamiento de la EW sigue siendo una terapia farmacológica de por vida. Según la guía práctica reciente de la AASLD sobre la EW, el tratamiento inicial para pacientes sintomáticos debe incluir un agente quelante (penicilamina o trientina). El trasplante de hígado, que corrige el defecto hepático subyacente en la EW en 80-90% de los pacientes, se reserva para casos severos o resistentes. Es el tratamiento de elección en pacientes con enfermedad fulminante o con cirrosis descompensada. El papel del trasplante de hígado en el tratamiento de pacientes con EW neurológica en ausencia

de insuficiencia hepática es incierto (18) (19).

CERULOPLASMINA

La ceruloplasmina es sintetizada en el hígado como una cadena polipeptídica simple y se secreta como una α -2-glicoproteína a nivel plasmático. Puede ser igualmente sintetizada por células integrantes de otros tejidos como los monocitos, astrocitos y células Sertoli, y desde un punto de vista funcional, interviene transportando el 90% del cobre existente en el plasma sanguíneo ya que el otro 10% lo transportará la albúmina (20).

Pertenece a la familia de las multicuprooxidasas, se caracterizan desde el punto de vista estructural por presentar tres tipos de sitios de unión para el cobre con características espectroscópicas diferentes y, desde el punto de vista funcional, por catalizar la reducción de una molécula de oxígeno con formación de una de agua, sin la liberación de intermediarios potencialmente tóxicos (3).

La ceruloplasmina posee actividad oxidasa inespecífica, participando en reacciones de oxidación de múltiples sustratos orgánicos e inorgánicos, no obstante, únicamente el ión Fe^{2+} se considera un sustrato biológico para esta enzima. Además, se ha descrito una acción moduladora en procesos como la coagulación, la angiogénesis, así como una capacidad inactivadora de aminas biogénicas y de defensa frente al estrés oxidativo. Asimismo, forma parte de la familia de proteínas sensibles a la inflamación que incluye la α -1-antitripsina, haptoglobina, Proteína C Reactiva, orosomucoide y fibrinógeno cuyos niveles se han visto asociados a factores de riesgo cardiovascular como hipercolesterolemia, aumento del peso corporal, diabetes e hipertensión arterial y en general son marcadores de inflamación al actuar como proteínas de fase aguda positivas (21).

El gen de la ceruloplasmina está localizado en el cromosoma 3, siendo sintetizada ésta como una apoproteína primordialmente en el hígado, a la que se le incorpora el cobre a nivel del aparato de Golgi, siendo entonces liberada en la sangre como holoceruloplasmina, conteniendo 6 átomos de cobre por molécula (22).

MÉTODOS DE LABORATORIO

La combinación de anillos de Kayser-Fleischer y un nivel de concentración de ceruloplasmina sérica bajo (< 10 mg/dL) es suficiente para establecer un diagnóstico, sin embargo, cuando los anillos de Kayser-Fleischer no están presentes los niveles de ceruloplasmina en sangre no son fiables, ya que pueden ser bajos por otros motivos (por ejemplo, hepatitis autoinmune, insuficiencia hepática severa, enfermedad celíaca, aceruloplasminemia familiar). Por ello, para muchos pacientes, podría ser necesaria una combinación de pruebas (3).

Ceruloplasmina sérica

Los niveles de ceruloplasmina en suero se pueden medir enzimáticamente por su actividad oxidasa dependiente de cobre frente sustratos específicos, o mediante ensayos con anticuerpos, como los radioinmunoensayos, la inmunodifusión radial, nefelometría e inmunoturbidimetría. Los ensayos inmunológicos pueden sobreestimar las concentraciones de ceruloplasmina, ya que no discriminan entre apoceruloplasmina y holoceruloplasmina. En la EW, por lo general, es inferior a 10 mg/dL. Las concentraciones séricas de ceruloplasmina se elevan por inflamación aguda, en estados asociados con hiperestrogenemia, como el embarazo y la suplementación con estrógenos. Los niveles de ceruloplasmina sérica se encuentran típicamente bajos en pacientes con afectación neurológica debido a EW, pero pueden estar en el rango normal o bajo en

aproximadamente la mitad de los pacientes con enfermedad hepática activa. Por otro lado, la ceruloplasmina sérica puede estar disminuida en otras enfermedades o condiciones con gran pérdida de proteínas por vía renal o entérica, en síndromes de malabsorción o con enfermedad hepática grave en fase terminal de cualquier etiología (3).

Un estudio prospectivo sobre la ceruloplasmina sérica, utilizándose como prueba de cribado para la EW en pacientes remitidos con enfermedad hepática, mostró que el valor predictivo de presentar un nivel de ceruloplasmina por debajo de lo normal era del 6%. En niños con EW, 15-36% tenían una concentración de ceruloplasmina en el rango normal (23).

En un estudio de series de casos, 12 de los 55 pacientes con EW tenían niveles de ceruloplasmina normal y no presentaban anillos de Kayser-Fleischer (4). El valor predictivo positivo de la ceruloplasmina sérica para el diagnóstico de la EW en la insuficiencia hepática aguda es muy bajo (24).

En un estudio publicado en la década pasada, la medición de la actividad oxidasa de la ceruloplasmina sérica fue superior a los ensayos inmunológicos para el diagnóstico de la EW, pero estas pruebas no están disponibles en los laboratorios comunes (25).

Cobre sérico

Aunque es una enfermedad en la que se produce acumulación de cobre, el cobre sérico total (que incluye el cobre incorporado en la ceruloplasmina) en la EW suele disminuir en proporción a la disminución de la concentración de ceruloplasmina en sangre. En pacientes con daño hepático grave, el cobre sérico puede estar dentro del rango normal, independientemente de si los niveles de ceruloplasmina sérica son elevados o bajos (20).

En el contexto de la insuficiencia hepática aguda debida a la EW, los niveles de cobre sérico pueden incluso estar especialmente elevados debido a la liberación repentina del metal desde los almacenes hepáticos. El principal problema de utilizar el cobre no unido a ceruloplasmina como prueba diagnóstica para la EW es que depende de la adecuación de los métodos para medir tanto el cobre como la ceruloplasmina séricos. Es de más valor en el control de la farmacoterapia que en el diagnóstico de la EW (24).

Excreción urinaria de cobre

En los pacientes no tratados, la excreción urinaria de cobre en 24 horas refleja la cantidad de cobre no unido a ceruloplasmina circulante. En caso de insuficiencia renal, la prueba no es aplicable. En los pacientes sintomáticos no tratados, una excreción de cobre superior a 1,6 $\mu\text{mol}/24\text{h}$ (100 $\mu\text{g}/24\text{h}$) se toma como el diagnóstico de la EW. Sin embargo, la excreción urinaria basal de cobre en 24 horas puede ser menor que 1,6 $\mu\text{mol}/24\text{h}$ en la presentación de la enfermedad en el 16-23% de los pacientes, especialmente en niños y hermanos asintomáticos. Además, la interpretación de la excreción urinaria de cobre en 24 horas puede ser difícil debido a la coincidencia con los niveles encontrados en otros tipos de enfermedad hepática (por ejemplo, hepatitis autoinmune, enfermedad hepática crónica activa o colestasis y, en particular, durante la insuficiencia hepática aguda de cualquier origen) (3).

Concentración de cobre en el parénquima hepático

La acumulación de cobre en el hígado es la característica distintiva de la EW. Sin embargo, los colorantes específicos como rodamina y la orceína revelan acumulaciones de cobre en menos del 10 % de los pacientes, ya que sólo detectan las deposiciones de cobre lisosomal. Por lo

tanto, la acumulación hepática de cobre no puede ser descartada únicamente por la evaluación histoquímica de una biopsia de hígado. Por ello, la medición de la concentración de cobre del parénquima hepático es el método de elección para el diagnóstico de la EW (3).

RESULTADOS

El análisis de correlación de Pearson realizado a las 165 muestras mostró un coeficiente de correlación $r = 0,84$ (figura 1) obtenido en el software Excel. El valor mínimo de actividad enzimática fue de 0,6 UI/L, mientras que el valor máximo obtenido fue de 332 UI/L. Por su parte el valor mínimo de concentración sérica fue de 3 mg/dL, mientras que el valor máximo obtenido fue de 74 mg/dL.

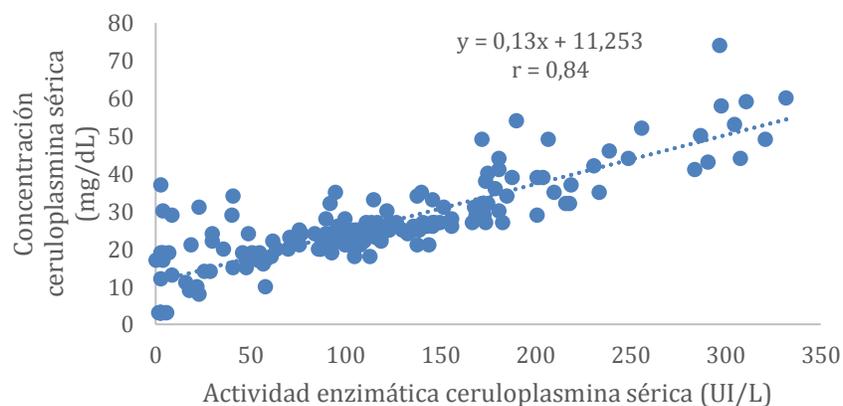
Dentro de la categoría “valores menores al límite inferior de referencia” se tomaron en cuenta todos aquellos valores con un resultado de actividad enzimática menores a 55 UI/L, para un $n = 43$. Al realizar el análisis de Pearson se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0,40$ (figura 2). El valor mínimo de actividad enzimática fue de 0,6 UI/L, mientras que el valor máximo obtenido fue de 54 UI/L. Por su parte el valor mínimo

de concentración sérica fue de 3 mg/dL, mientras que el valor máximo obtenido fue de 37 mg/dL.

Dentro de la categoría “valores dentro del intervalo de referencia” se tomaron en cuenta todos aquellos valores con un resultado de actividad enzimática entre 55 UI/L y 150 UI/L, para un $n = 79$. Al realizar el análisis de Pearson se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0,44$ (figura 3). El valor mínimo de actividad enzimática fue de 57 UI/L, mientras que el valor máximo obtenido fue de 150 UI/L. Por su parte el valor mínimo de concentración sérica fue de 10 mg/dL, mientras que el valor máximo obtenido fue de 42 mg/dL.

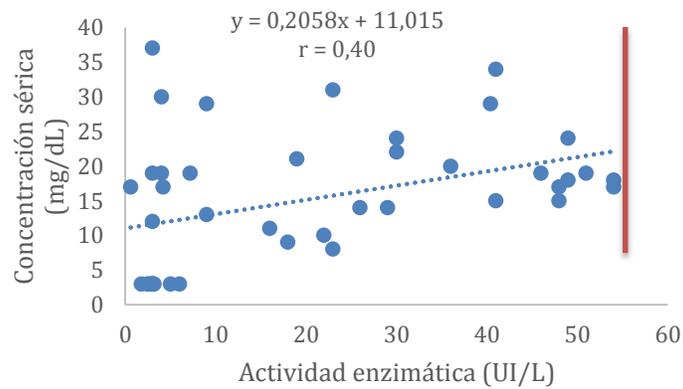
Dentro de la categoría “valores mayores al límite superior de referencia” se tomaron en cuenta todos aquellos valores con un resultado de actividad enzimática mayor a 150 UI/L, para un $n = 43$. Al realizar el análisis de Pearson se obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0,74$ (figura 4). El valor mínimo de actividad enzimática fue de 152 UI/L, mientras que el valor máximo obtenido fue de 332 UI/L. Por su parte el valor mínimo de concentración sérica fue de 26 mg/dL, mientras que el valor máximo obtenido fue de 74 mg/dL.

Figura 1. Estudio de correlación entre la actividad enzimática y la concentración de la ceruloplasmina sérica



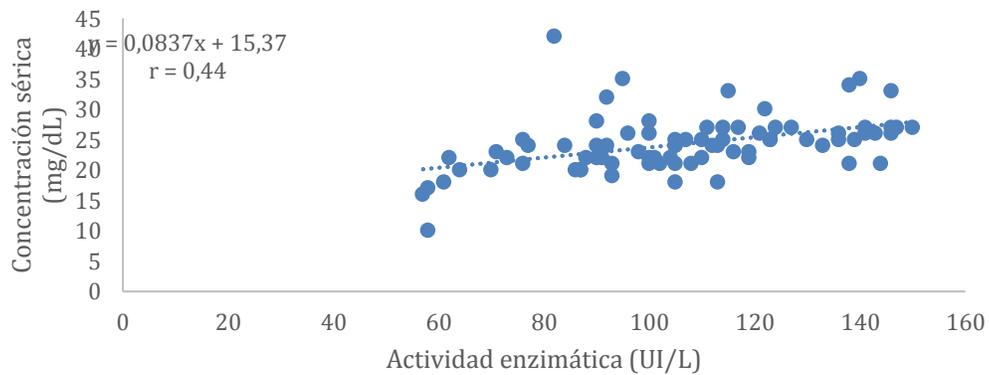
Fuente. Creación propia de los autores

Figura 2. Estudio de correlación entre la actividad enzimática y la concentración de la ceruloplasmina sérica para la categoría “valores menores al límite inferior de referencia”



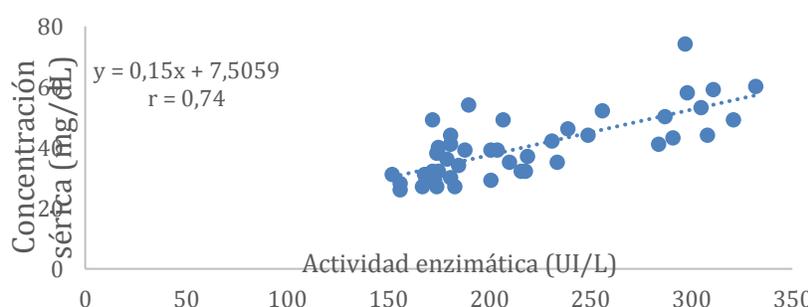
Fuente. Creación propia de los autores

Figura 3. Estudio de correlación entre la actividad enzimática y la concentración de la ceruloplasmina sérica para la categoría “valores dentro del intervalo de referencia”



Fuente. Creación propia de los autores

Figura 4. Estudio de correlación entre la actividad enzimática y la concentración de la ceruloplasmina sérica para la categoría “valores mayores al límite superior de referencia”



Fuente. Creación propia de los autores

DISCUSIÓN

El diagnóstico temprano de la EW es esencial porque un tratamiento específico de por vida puede prevenir una mayor lesión hepática y complicaciones neurológicas en la mayoría de los casos. Especialmente en pacientes con enfermedad hepática, el diagnóstico de EW es a menudo difícil, ya que ninguno de los parámetros de diagnóstico comúnmente utilizados proporciona un grado razonable de certeza para establecer o excluir el diagnóstico de EW (25).

Aunque la deficiencia de ceruloplasmina, por lo tanto, podría representar sólo un epifenómeno de EW, la concentración sérica de ceruloplasmina se considera una prueba de laboratorio útil para el diagnóstico de EW. Sin embargo, en un estudio sólo el 73% de los pacientes con EW con mutación confirmada por métodos moleculares, que presentaban enfermedad hepática crónica, tenían concentraciones de ceruloplasmina sérica menores a 20 mg/dL (4).

En pacientes con deterioro de la función hepática debido a una enfermedad hepática grave (aguda o crónica), el valor diagnóstico de la ceruloplasmina puede verse afectado, ya que su nivel sérico puede disminuir, presumiblemente debido a la falla de las funciones sintéticas del hígado (5).

La mayoría de los laboratorios de rutina utilizan el método inmunológico para determinar la ceruloplasmina sérica, que desafortunadamente reconoce tanto la apoceruloplasmina biológicamente inactiva como la holoceruloplasmina biológicamente activa cargada con cobre. En los pacientes con EW, la ceruloplasmina no se carga adecuadamente con cobre y, por lo tanto, se excreta parcialmente en el suero como apoceruloplasmina que carece de actividad enzimática (25).

Por tanto, especialmente en pacientes con EW, la actividad enzimática de la ceruloplasmina sérica debería tener un valor

diagnóstico mayor que su concentración medida inmunológicamente (25).

Se sabe que los parámetros de diagnóstico establecidos: excreción urinaria de cobre, concentración sérica de ceruloplasmina y nivel sérico de cobre tienen sensibilidades y especificidades de sólo 80-90%. La medición del contenido de cobre hepático tiene una alta sensibilidad de 96,5%, pero requiere una biopsia hepática invasiva. En un estudio se demostró que el ensayo enzimático de ceruloplasmina tiene una especificidad mucho mayor para diagnosticar la EW que el ensayo inmunológico (100% vs. 78,8%), mientras que ambas pruebas tienen las mismas sensibilidades (93,6%) (25).

El método enzimático mide la holoceruloplasmina activa biológica exclusivamente, mientras que la prueba inmunológica de ceruloplasmina mide la ceruloplasmina total, es decir tanto la ApoCp como la HCp, dado lo anterior se puede decir que el ensayo de tipo inmunológico puede conducir a una sobreestimación de la cantidad total de ceruloplasmina funcional en el suero en individuos que producen niveles más altos de ApoCp circulante, esta teoría está respaldada por el trabajo de Gow y colaboradores en 2000 (5). Por otra parte, en un análisis extenso de la medición de ceruloplasmina y cobre en 106 pacientes con EW, demostró que los valores de ceruloplasmina obtenidos inmunológicamente eran consistentemente más altos que los valores de ceruloplasmina oxidasa (5).

En el presente trabajo se evidencia que los coeficientes de correlación obtenidos en las 165 muestras, así como en los 3 subgrupos están muy lejos de demostrar una buena correlación estadística entre ambas metodologías. Lo anterior es consistente en un estudio realizado con pacientes diagnosticados con EW y se observa una discrepancia de los niveles de ceruloplasmina obtenidos por el ensayo

enzimático e inmunológico de ceruloplasmina y se refleja en ese estudio en la correlación más débil siendo de $r = 0,70$ (25).

En el estudio por Merle y colaboradores (25), además demostraron la utilidad de la determinación de la actividad enzimática de la ceruloplasmina en pacientes con EW mediante el método descrito por Schosinsky en 1974 (6), y concluyen que el método es suficientemente simple para ser adecuado para el uso clínico de rutina, y afirman que la medición de la actividad oxidasa de la ceruloplasmina en suero es una prueba bioquímica discriminatoria para diagnosticar o excluir la EW de forma no invasiva y por último sentenció que esa prueba arrojó una excelente especificidad y una alta sensibilidad para el diagnóstico de EW.

Las concentraciones bajas de ceruloplasmina sérica, generalmente detectadas con el uso de un ensayo inmunológico, se usan comúnmente en la práctica como un indicador de diagnóstico de la EW. La prueba inmunológica es rápida (generalmente se realiza con el uso de nefelometría o turbidimetría automatizada) y proporciona una medida precisa de la ceruloplasmina total, pero no distingue entre HCp y ApoCp, sin embargo, se demostró que los valores de ceruloplasmina obtenidos con el uso de un ensayo inmunológico pueden ser considerablemente más altos que los medidos enzimáticamente, y es que la medición de la cantidad total de proteína ceruloplasmina puede no reflejar la actividad de la enzima ceruloplasmina en el suero. El uso de la prueba de oxidasa también es más apropiado para la identificación de aceruloplasminemia hereditaria, que, como la EW, puede causar enfermedad neurológica (26).

La aparición de una respuesta inflamatoria, que podría aumentar el nivel de ApoCp circulante en el rango normal, o un aumento de la concentración de una oxidasa sérica adicional puede contribuir a la mala

correlación observada en estas muestras. Un componente sérico adicional con actividad oxidasa puede explicar la mayor actividad oxidasa observada en el ensayo enzimático en comparación con la concentración detectada inmunológicamente, como también se observa en la EW (26).

Un valor disminuido de ceruloplasmina sérica evaluado inmunológicamente puede ser beneficioso en el diagnóstico del diagnóstico de EW, pero el uso de la prueba de oxidasa para la evaluación de ceruloplasmina es probablemente más informativo, particularmente en el caso de disfunción neurológica. Los pacientes con niveles aparentemente normales de ceruloplasmina, pero baja actividad oxidasa podrían ser excluidos erróneamente de las pruebas adicionales para EW, y es precisamente lo que se persigue en este estudio, evitar los falsos negativos para esta enfermedad demostrando la pobre correlación existente entre la medición de ceruloplasmina sérica medida por inmunoturbidimetría y la determinada por actividad enzimática.

CONCLUSIONES

Si bien la degeneración hepatolenticular es una enfermedad rara en todo el mundo, es mucho más común en Costa Rica. En las últimas décadas se han logrado importantes avances relacionados con la patología a través de una serie de acciones y esfuerzos en política de salud, política y trabajo multidisciplinario.

Debido a la importancia que se le da a la concentración reducida de ceruloplasmina como indicador de EW y la pobre correlación con los resultados enzimáticos, el uso de inmunoensayos automatizados para la evaluación de ceruloplasmina puede dificultar la identificación de pacientes con EW. El uso del ensayo enzimático para medir la actividad oxidasa de la

ceruloplasmina es un indicador más apropiado y biológicamente relevante de la ceruloplasmina sérica.

Los síntomas neurológicos o hepáticos y los valores reducidos de ceruloplasmina oxidasa deben considerarse indicadores fuertes de una posible EW y deben estimular un análisis adicional. Sin embargo, incluso los pacientes con valores normales de ceruloplasmina sérica deben considerarse para ensayos adicionales, particularmente cobre en orina de 24 horas.

Debido a que el tratamiento de la EW es eficaz, se han realizado esfuerzos a nivel mundial para desarrollar un ensayo adecuado para el cribado de la población o subpoblación para detectar esta afección potencialmente mortal. Estudios que se basan en la detección inmunológica de ceruloplasmina en suero o sangre seca puede conducir a una subestimación de la prevalencia de la EW. El desarrollo de un ensayo de ceruloplasmina oxidasa de alto rendimiento podría ser más relevante en el diagnóstico de EW.

Finalmente, se recomienda al LCHSJD no realizar determinaciones de ceruloplasmina sérica basadas únicamente en la concentración de esta proteína llevadas a cabo por inmunoturbidimetría, especialmente en pacientes con sospechas diagnósticas por EW, ya que como se demostró en el presente trabajo existe una baja correlación entre las 2 metodologías disponibles en todo su rango analítico, a valores menores al límite inferior de referencia, a valores dentro del intervalo de referencia y a valores mayores al límite superior de referencia determinados por la metodología de la actividad enzimática que es considerado aún el estándar de oro para la determinación de esta proteína.

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. Ferenci P. Pathophysiology and Clinical Features. *Metabolic Brain Disease*. 2004;; p. 229-239.
2. Moratorio I, Pontet Y, Hernández N. Enfermedad de Wilson: presentación hepática y revisión bibliográfica. *Rev. urug. med. Interna*. 2019 Mayo; 4(2).
3. Ferenci P. Guías de Práctica Clínica de la EASL: Enfermedad de Wilson. *Journal of Hepatology*. 2012;; p. 671-685.
4. Steindl P. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology*. 1997;; p. 212-218.
5. Walshe J. Wilson's disease: the importance of measuring serum caeruloplasmin non-immunologically. *Ann Clin Biochem*. 2003;; p. 115-121.
6. Schosinsky K, Lehmann H, Beeler M. Measurement of Ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of o-Dianisidine dihydrochloride. *Clin.Chem*. 1974;; p. 1556-1563.
7. Schosinsky K, Vargas M, Esquivel A, Grant S, Artavia A, Chavarría M. Hallazgos de laboratorio en 61 casos de enfermedad de Wilson en Costa Rica. *BINASSS*. 1989;; p. 11-21.
8. Urrutia H, Ileana A, Sanabria A, Sánchez M. National alliance for Wilson's disease: health policy in Costa Rica. *Hepatology, Medicine and Policy*. 2017;; p. 1-6.
9. Schilsky M. Wilson disease: Clinical manifestations, diagnosis, and natural history. Uptodate. [Online].; 2021 [cited 2021 Setiembre 11. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/wilson-disease-clinical-manifestations-diagnosis-and-natural-history>.
10. Feldman M, Friedman L, Brandt L. Sleisenger and Fordtran's *Gastrointestinal and Liver Disease*. Décima ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
11. Culotta V, Gitlin J. *The Molecular and Metabolic Basis of Inherited Disease* New York: McGraw-Hill; 2001.
12. Migocka M. Copper-transporting ATPases: The evolutionarily conserved machineries for balancing copper in living systems. *IUBMB Life*. 2015 Octubre; 67(10).
13. Sternlieb I. Perspectives on Wilson's disease. *Hepatology*. 1990;; p. 1234-1239.
14. Lutsenko S, Arnab G, Burkhead J, Zuzel V. Cellular multitasking: The dual role of human Cu-ATPases in cofactor delivery and intracellular copper balance. *Elsevier*. 2008 Agosto; 476(1).
15. Hellman N, Gitlin J. Ceruloplasmin metabolism and function. *Annu. Rev. Nutr*. 2002;; p. 439-458.
16. Lutsenko S, Barnes N, Barteo M, Dmitriev O. Function and Regulation of Human Copper-Transporting ATPases. *Physiological Reviews*. 2007 Julio; 87(3).

17. Schilsky M. Wilson disease: Diagnostic tests. Uptodate. [Online].; 2021 [cited 2021 Setiembre 10. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/wilson-disease-diagnostic-tests>.
18. Herra S, Hevia F, Vargas M, Schosinsky M. Fulminant Wilson's disease in Costa Rica. Clinico-pathological study of 7 cases. G E N. 1989;; p. 9-14.
19. Clark Y. Enfermedad de Wilson. Actualidad del tema. Revista Médica Electrónica-SciELO. 2016 Febrero; 38(1).
20. Gow P, R S, Angus P, A S, Wall A, R S. Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. Gut. 2000;; p. 415-419.
21. Aguilar M, González E, Perona J, Álvarez J. Ceruloplasmina y su importancia clínica como factor indicador del riesgo cardiovascular en una población de escolares de Granada. Nutr Hosp. 2011;; p. 655-658.
22. Yapur V, Bustos M, González A, Negri G. Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2007;; p. 347-351.
23. Perman J, Werlin S, Grand R, J W. Laboratory measures of copper metabolism in the differentiation of chronic active hepatitis and Wilson disease in children. J Pediatr. 1979;; p. 564-568.
24. Korman J, Volenberg I, BJ, Webster J, Schiodt F, Squires JR. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. Hepatology. 2008;; p. 1167-1174.
25. Merle U, Eisenbach C, Weiss K, Tuma S, Stremmel W. Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease. J Hepatol. 2009;; p. 925-930.
26. Macintyre G, S K, Gutfreund W, M W, Richard C, Diane C. Value of an enzymatic assay for the determination of. J Lab Clin Med. 2004;; p. 294-301.S