

DEFICIENCIA DE ZINC Y COBRE EN MENORES DE 15 AÑOS EN UNA POBLACIÓN RURAL DE VENEZUELA.

* Dioslibeth Rodríguez; ** Jham Papale; ** Graciela Dellan; *** Mario Torres; ** Yelitza Berné; **** Norelys Mendoza; ** José Miguel Moreno; ** Jesusista Salazar; ** Norma Cardinale-Randazzo.

PALABRAS CLAVES: Cobre. Zinc. Deficiencia.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivos determinar las concentraciones séricas de zinc y cobre, establecer la deficiencia de estos minerales. El estudio se realizó en la comunidad de San Antonio de Guache del Municipio Andrés Eloy Blanco del Estado Lara, Venezuela. La población estudiada consistió en 292 menores de 15 años, distribuida en 39, 140 y 113 individuos dentro de los grupos etáreos < 2 años, 2 – 6 años y 7 – 14 años respectivamente. Las concentraciones séricas de zinc y cobre se determinaron mediante espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados hallados muestran una concentración de zinc sérico en la población total de $0,83 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ y una concentración de cobre de $1,30 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$, se observó una deficiencia del 24,32 % de la población estudiada para el zinc y del 4,45 % para el cobre. En el caso del zinc, el grupo etarios más afectado fue el < 2 años y para el cobre el grupo 2 – 6 años. En conclusión las cifras obtenidas para las deficiencias de los oligoelementos zinc y cobre presentan importancia nutricional ya que indican una baja biodisponibilidad, probablemente, causado por el consumo de una dieta pobre en estos oligoelementos o a la presencia de inhibidores de la absorción de estos minerales en dicha dieta. Se recomienda llevar a cabo una intervención donde estén involucrados tanto el componente nutricional como el educativo.

KEY WORDS: Copper. Zinc. Deficiency.

ABSTRACT

The main purpose of the present work was to determine zinc and copper serum concentrations in order to establish the deficiency of these minerals in the community of San Antonio de Guache at the Andrés Eloy Blanco Municipality, Lara State, Venezuela. The sample consisted of 292 children smaller than 15 years old, distributed in 39, 140 and 113 individuals inside the groups <2 years, 2 – 6 years and 7 – 14 years old, respectively. The serum concentrations of zinc and copper were determined by atomic absorption spectroscopy. Results shown a serum zinc concentration in the total population of $0,83 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ and a serum copper concentration of $1,30 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$. A zinc and cooper deficiency were observed in 24,32% and 4,45% of the population, respectively. For zinc, the group most affected was the <2 years old and for copper was the group 2 – 6 years old. In conclusion, our results demonstrate a relative high prevalence of oligoelements deficiency, probably due to low biodisponibility caused by oligoelements poor diet consumption or by the presence of inhibitors of cooper and zinc absorption in the diet. We recommend to carry out an intervention where oligoelements suminstration an educational intervention will be involved.

* Ministerio de Sanidad y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela.

** Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” Decanato de Medicina. Unidad de Investigación en Bioquímica. Laboratorio de Bioquímica nutricional.

*** Centroccidental “Lisandro Alvarado” Decanato de Medicina. Departamento Medicina Preventiva. Unidad de Investigación en Bioquímica. Laboratorio de Bioquímica nutricional.

**** Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” Decanato de Medicina. Departamento de Enfermería. Unidad de Investigación en Bioquímica. Laboratorio de Bioquímica nutricional.

Autor Responsable: Jham Papale

Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” Decanato de Medicina. Av. Libertador entre Av. Vargas y Av. Andrés Bello, anexo al Hospital Universitario Antonio María Pineda. código postal 3001 Barquisimeto, Estado Lara. Venezuela. Fax: 0251 – 2591918

e-mail:jhamfrank@yahoo.es.

INTRODUCCIÓN

Los micronutrientes zinc y cobre cumplen una gran variedad de funciones importantes en el metabolismo intermediario, proliferación celular y en los procesos de oxido – reducción.

El zinc interviene en la síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, por ende es un mineral esencial en la proliferación y el crecimiento celular (1,2), regula la expresión genética, formando parte de factores de transcripción (3,4), además intervienen en el mantenimiento de la integridad del sistema inmune (1,5,6), ya que su deficiencia aumenta la frecuencia de infecciones bacterianas, virales y micóticas (5,7).

En 1961, Prasad y colaboradores (8) reportaron la deficiencia de zinc en humanos, al describir a un grupo de 11 hombres iraníes quienes presentaban anemia severa por deficiencia de hierro, hepatoesplenomegalia, baja estatura y un hipogonadismo marcado. La anemia respondió a la administración oral de sulfato ferroso, mientras que los otros aspectos clínicos no podían ser explicados sobre las bases de una deficiencia de hierro solamente, por lo que se consideró también una deficiencia de zinc.

En la deficiencia de zinc, de moderada a severa, se puede observar una disminución en el crecimiento, maduración ósea, desarrollo gonadal, percepción del gusto y del olfato, adaptación a la oscuridad, cicatrización (9), atrofia del timo, disminución en las funciones de los neutrófilos, disminución en la capacidad fagocítica de los macrófagos (1,5,6) y alteración en las funciones neuropsicológicas, desarrollo motor y de la actividad, por lo tanto interfiere con el desarrollo cognitivo (10 – 17).

El cobre se encuentra presente en enzimas que poseen actividad oxido – reductasa, entre las que podemos citar: Lisil-6-oxidasa, Catecol Oxidasa, Superóxido Dismutasa I y Ceruloplasmina (1,18), forman parte de factores de transcripción que regulan la expresión genética (18) e intervienen en el mantenimiento de la integridad del sistema inmune (19).

La deficiencia de cobre genera manifestaciones clínicas tales como anemia refractaria a tratamiento con hierro, ya que este oligoelemento interviene en la movilización del hierro desde el hígado hasta la médula ósea (20,21), también se ha observado alteraciones como anomalías óseas, las cuales incluyen osteoporosis y fracturas de huesos largos y costillas (22,23). Con menos frecuencia se han observado otras

manifestaciones clínicas como: hiperpigmentación del cabello y la hipotonía (23), alteración en el crecimiento (24), aumento en la incidencia de infecciones y alteraciones en la capacidad fagocítica de los macrófagos.

El Municipio Andrés Eloy Blanco, ubicado en la región sureste del Estado Lara, de la República Bolivariana de Venezuela, esta formado por tres parroquias, Pío Tamayo, Yacambú y Quebrada Honda de Guache, con una población aproximada de 40.625 habitantes. El 64,24% de esta población vive en el área rural y el 28% corresponde a menores de 15 años. El analfabetismo asciende a un 36,64 % de la población, aproximadamente. Su principal actividad económica es la agricultura, específicamente el cultivo del café.

En la población de San Antonio de Guache, comunidad perteneciente a la Parroquia Quebrada Onda de Guache del Municipio Andrés Eloy Blanco, los estudiantes del último año de la carrera de medicina de la UCLA en su pasantía rural, sólo han hecho diagnósticos nutricionales, en niños menores de 15 años, utilizando indicadores antropométricos, donde se indica un déficit nutricional del 60% (datos no publicados). Sin embargo no se ha realizado estudio alguno que refleje la situación nutricional de los micronutrientes zinc y cobre.

Considerando la situación nutricional de la población de este Municipio y los efectos negativos a que conlleva la deficiencia de zinc y cobre, micronutrientes que forman parte de la dieta alimentaria, se plantea como objetivo del presente trabajo conocer la situación nutricional de los micronutrientes zinc y cobre en la población menor de 15 años de la Comunidad de San Antonio de Guache.

MATERIALES Y METODOS

Muestra poblacional

La muestra poblacional estuvo compuesta por 134 niñas y 158 niños, para un total de 292 individuos, con edades comprendidas entre 3 meses y 14 años. El consentimiento para participar en el estudio se les solicitó por escrito a sus respectivos padres, siendo concedidos por ellos.

Para la agrupación en edades se usaron las escalas que utiliza el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS) de la República Bolivariana de Venezuela y el Sistema de Vigilancia Alimentaria Nutricional (SISVAN) del

Instituto Nacional de Nutrición (INN), que los agrupa en < 2 años, 2-6 años y de 7-14 años.

Muestra sanguínea

A cada individuo, se le tomaron 10 ml de muestra de sangre por punción venosa, en el pliegue de codo, con jeringas desechables libre de metales, entre las 7 a.m. y las 9 a.m., para evitar el ciclo circadiano del zinc (25).

Para la determinación de los oligoelementos, zinc y cobre, se usaron 8 ml de sangre sin anticoagulante, los cuales fueron colocados en tubos de vidrio 13x100, lavados con ácido nítrico al 12%, se dejaron 90 minutos (26) a temperatura ambiente hasta la retracción del coagulo, se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 20 minutos, el suero obtenido se almacenó a – 20 °C en tubos plásticos, lavados previamente con ácido nítrico al 12 %, hasta la medición de los mismos.

Determinación de cobre y zinc sérico

Las determinaciones de zinc y cobre se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica de llama, mediante el método de Smith (27) para lo cual se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica PYE UNICAM SP191. Las concentraciones de los patrones de cobre utilizadas fueron: 0,5, 1 y 2 ppm y las concentraciones de los patrones de zinc fueron: 0,2; 0,4 y 0,8 ppm; todos en medio acuoso.

La longitud de onda usada para la determinación de cobre fue de 324,8 nm y para la determinación del zinc fue de 219,3 nm. Para ambos oligoelementos se usó un flujo de aire 5 L/min. y de acetileno 600 ml/min. Las corrientes de cada una de las lámparas utilizadas fueron aquellas recomendadas por los fabricantes.

Determinación de las deficiencias de Zinc y Cobre.

Para determinar las deficiencias de zinc y cobre se escogieron como punto de corte aquellos descritos por Estévez y Colaboradores (28): < 0,72 µg/ml para la deficiencia de zinc y < 0,87µg/ml para la deficiencia de cobre.

G. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico se utilizó el programa SPSS 9.0. Los resultados están expresados en promedio ± DE. Se realizaron estudios de ANOVA de una vía para comparar medias y el Test de Duncan para comparar grupos. Se consideró como diferencia estadísticamente significativa un valor de $p < 0,05$. Se realizó el estudio correlacional de Pearson.

RESULTADOS

La muestra estuvo constituida por 292 niños cuyas edades estuvieron comprendidas entre los 3 meses y 14 años, con una media de 6,0 años y una DE de 3,7 años.

El Cuadro 1, muestra las concentraciones séricas de zinc y cobre para la población total y los grupos etáreos. La población total presentó una concentración de zinc de $0,83 \pm 0,19$ µg/ml, el grupo etario de 7 – 14 años presentó la mayor concentración de zinc y el grupo etario < 2 años la menor concentración, siendo ambos grupos estadísticamente diferentes ($p < 0,01$), también se encontró una correlación positiva débil entre la edad y la concentración sérica de zinc de la población total estudiada (0,159).

Cuadro 1

Concentración sérica de zinc y cobre por grupos etario y población total en niños menores de 15 años. San Antonio de Guache, Municipio Andrés Eloy Blanco. Estado Lara.

GRUPOS ETARIO	ZINC (µG/ML)	COBRE (µG/ML)
< 2 AÑOS	$0,76 \pm 0,15^A$	$1,45 \pm 0,34^A$
2 – 6 AÑOS	$0,82 \pm 0,20^B$	$1,32 \pm 0,29^B$
7 – 14 AÑOS	$0,87 \pm 0,18^B$	$1,22 \pm 0,22^C$
TOTAL	$0,83 \pm 0,19$	$1,30 \pm 0,28$

La concentración sérica de cobre obtenida para la población total fue de $1,30 \pm 0,28$ µg/ml, siendo el grupo etario < 2 años el que presentó la mayor concentración de este metal y el grupo etáreo de 7 – 14 años la menor concentración, presentándose diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos etarios ($p < 0,01$). A diferencia del zinc, la correlación entre la concentración sérica de cobre y la edad de la población total fue negativa (-249).

Los cuadros 2 y 3 muestran los porcentajes de individuos deficientes de Zinc y Cobre de la población total y los grupos etarios respectivamente. El 24,32 % de la población total estudiada presentó niveles bajo de Zinc y un 4,45% de Cobre, siendo el grupo etario < 2 años el más afectado en el caso del Zinc (46,15%), mientras que para el Cobre el grupo más afectado fue el de 2 – 6 años (5,71%).

Cuadro 2

Distribución de individuos con niveles de zinc sérico bajo y normal por grupos etarios y población total de niños menores de 15 años. San Antonio de Guache, Municipio Andrés Eloy Blanco. Estado Lara.

GRUPOS ETARIOS	ZINC SÉRICO				TOTAL	
	BAJO		NORMAL		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
< 2 AÑOS	18	46,15	21	53,85	39	100
2 – 6 AÑOS	35	25	105	75	140	100
7 – 14 AÑOS	18	15,93	95	84,07	113	100
TOTAL	71	24,32	221	75,68	292	100

Cuadro 3

Distribución de individuos con niveles de cobre sérico bajo y normal por grupos etarios y población total de niños menores de 15 años. San Antonio de Guache, Municipio Andrés Eloy Blanco. Estado Lara.

GRUPOS ETARIOS	COBRE SÉRICO				TOTAL	
	BAJO		NORMAL		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
< 2 AÑOS	1	2,57	38	97,43	39	100
2 – 6 AÑOS	8	5,71	132	94,29	140	100
7 – 14 AÑOS	4	3,54	109	96,46	113	100
TOTAL	13	4,45	279	95,55	292	100

Los valores están expresados en promedio \pm ds. el número de individuo estudiado para los grupos etarios < 2 años, 2 – 6 años y 7 – 14 años fueron 39, 140 y 113 respectivamente, para una población total de 292 individuos. A, B, C corresponde al test de Duncan.

DISCUSIÓN

El presente trabajo consistió en determinar la Situación Nutricional de los micronutrientes Zinc y Cobre en niños y niñas menores de 15 años de la población de San Antonio de Guache del Municipio Andrés Eloy Blanco del Estado Lara.

Los valores de zinc sérico hallados para la población total ($0,83 \pm 0,19$ $\mu\text{g/ml}$) en el presente trabajo son inferiores a los encontrados por Ece et al (29) en una población de niños turcos con edades comprendidas entre 1 y 14 años ($1,35 \pm 0,56$ $\mu\text{g/ml}$).

En cuanto a los valores de zinc sérico obtenidos para el grupo etario < 2 años ($0,76 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$) fue inferior al hallado en estudios realizados en niños venezolanos del Estado

Zulia ($0,91 \pm 0,11$ $\mu\text{g/ml}$)(28), mientras que los valores encontrados para el grupo etario 2 – 6 años fue similar al hallado en el grupo de 3 – 7 años de la misma población zuliana ($0,80 \pm 0,04$ $\mu\text{g/ml}$).

Por otro lado, los valores encontrados para el grupo etario de 7 a 14 años ($0,87 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$) fueron superiores a los encontrados en una población de escolares de la misma edad del Estado Mérida, Venezuela ($0,78 \pm 0,14$ $\mu\text{g/ml}$) (30) y en niños venezolanos de una región suburbana del Estado Zulia con edades comprendidas entre 7 y 12 años ($0,84 \pm 0,04$ $\mu\text{g/ml}$) (28), pero inferiores a los obtenidos en niños japoneses sanos ($0,92 \pm 0,13$ $\mu\text{g/ml}$) con edades en el rango de 6 a 12 años (31).

La deficiencia de zinc sérico encontrada para los grupos etarios < 2 años (46,15%), 2-6 años (25 %) y de 7-14 años (15,93 %), fueron superiores a los hallados por Estévez et al (28) en una población suburbana del Estado Zulia, Venezuela para los grupos etáreos 0-3 años (0,9 %), >3-7 años (6,4 %) y >7-12 años (2,3%).

El elevado porcentaje de niños y niñas deficientes de zinc hallados en esta población (24,32%), nos lleva a inferir que existe una deficiencia de consumo de este micronutriente o la presencia de inhibidores de su absorción en la dieta de estos pobladores tales como son los fitatos presentes en los cereales y leguminosas.

Con relación a los valores de cobre sérico, se encontró que la población total estudiada presentó niveles inferiores ($1,30 \pm 0,28$ $\mu\text{g/ml}$) a los hallados por Ece et al (29) en una población de niños turcos con edades comprendidas entre 1 y 14 años.

Entre tanto, el grupo etario de 7 – 14 años presentó un valor de cobre ($1,22 \pm 0,22$ $\mu\text{g/ml}$) superior a la encontrada por Ohtake and Tamura (31) en niños japoneses con edades entre 6 – 12 años ($1,09 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$).

En cuanto a la deficiencia de cobre sérico hallada para los grupos etarios < 2 años (2,57 %), 2 – 6 años (5,71%) y 7 – 14 años (3,54%) son superiores a los hallados por Estévez et al (1988) en niños venezolanos de bajo recursos económicos del Estado Zulia con edades entre 0 – 3 años (0,4%), >3 – 7 años y >7 – 12 años (1,3%)(28).

En conclusión en la población menor de 15 años estudiada se encontró una deficiencia de zinc de 24,32 % y un 4,45 % de individuos deficientes de cobre, siendo ambas cifras de mucha relevancia nutricional ya que son indicativas de una disminución en el consumo de estos nutrientes o bien una baja biodisponibilidad de los mismos, por lo que se recomienda una intervención nutricional donde estén involucrados tanto el componente nutricional como educativo.

AGRADECIMIENTOS

Nuestros agradecimientos al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" por su apoyo económico. A Luli González por su profesionalismo y dedicación, a la Alcaldía del Municipio Andrés Bello por su valiosa y oportuna colaboración para la alimentación de los niños durante la realización del trabajo.

REFERENCIAS

1. FAO/WHO. Trace elements in Human Nutrition and Health. 1996. Cap. 5: 72 – 104.
2. SANDSTEAD H.H. Nutrition and brain function: Trace elements. *Nutr. Rev.* 1986; 44: 37 – 41.
3. VALLEE, B.L., FALACHUK, K.H. *Phys. Rev.* 1993; 73:79:118.
4. RADTKE, F., HENCHEL, R., GEORGIO, O., et al. *Embo J.* 1993 12:1355 – 1362.
5. WELLINGHAUSEN NELE, HOLGER KIRCHNER and LOTTHAR RINK. The Immunobiology of Zinc. *Inmunology Today* 1997; 18(11): 519 – 521.
6. ANURAY HS, and PRASAD AS. Prasad. Zinc and Immune Function: The biological basis of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68(suppl): 447S – 463S.
7. BLACK RE. Therapeutic and preventive effects of zinc on serious childhood infectious diseases in developing countries. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68(suppl): 476S – 479S.
8. PRASAD A.S., HOLSTED J.A., NADIMI M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, K dwarfism, hypogonadism and geophagia. *Am. J. Med.* 1961; 31: 532 – 546.
9. PRENTICE, ANN. Does mild zinc deficiency contribute to poor growth performance. *Nutr. Rev.* 1993; 51(9): 268 – 270.
10. BLACK MM. Zinc deficiency and child development. *Am J Clinical Nutr.* 1998; 68(suppl): 464S – 469S.
11. KIRKSEY A., RAHMONIFAR, A., WACHS, T.D. MCCABE, G.P., BASSILY, N.S., BISHRY, Z., GALAI, O.M., HSARRISON, G.G. and JEROME, N.W. Determinants of pregnancy outcome and new born behaviour of a semirural Egyptian population. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 54: 657 – 667.
12. KIRKSEY A., WACHS, T.D. YUNIS F., SRINATH, U., RAHMONIFAR, A., MCCABE, G.P., GALAI, O.M., HSARRISON, G.G. and JEROME, N.W. Relation of maternal zinc nutrition of pregnancy outcome and infant development in an Egyptian village *Am. J. Clin. Nutr.* 1994; 60:782 – 792.
13. THATCHER, R.W. MCALASTER, R., LESTER, M.L. and CANTOR, D.S. Comparison among EEG, hair minerals and diet predictions of reading performance in children. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1984; 433: 87 – 96.
14. SANDSTEAD, H.H., PENLAND, J.G., ALCOCK N. W., DAYAL, H.H., CHEN X.C., LI, J.S., ZHAO, F. and YANG, J.J. Effects of repletion with zinc and other micronutrient on Neuropsychologic performance and Growth of Chinese children *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 68(suppl): 470S – 475S.
15. PENLAND, J.G., SANDSTEAD, H.H., EGGER, N., DAYAL, H.H., ALCOCK, N. W., PLOTKIN R., ROCCO, R. and ZAVALA, A. Zinc, iron and micronutrients supplementation effects on cognitive and psychomotor function of Mexican-American school children. *FASEB J.* 1999; 13: A921 (abs).
16. SANDSTEAD, HAROL H. Causes of Iron and zinc deficiencies and their effect on Brain. *J. Nutr.* 2000; 130: 347S – 349S.
17. GOLUP MS, KEEN CL and GERSHWIN E. Moderate Zinc-Iron Deprivation Influences Behavior but not Growth in Adolescent Rhesus Monkeys. *J Nutr.* 2000; 130: 354S – 357S.
18. UAUY R., OLIVARES M., and GONZALEZ M. Essentiality of Copper in humans *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 67(suppl): 952S – 959S.
19. KELLEY DS, KANDU PA, TAYLOR PC, MACKAY BE, TURNLUND JR. Effects of Low Copper Diets on Human Immune Response. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; 54: 79 – 84.
20. WILLIAMS D. M. Copper deficiency in humans. *Semin. Hematol.* 1983; 20: 118 – 128.
21. MASAN K.E. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J. Nutr.* 1979; 109: 1979 – 2066.
22. HELLER RM, KIRCHNER SG, O'NEILL JA Jr. et al. Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving

- prolonged total parenteral nutrition. *J. Pediatr* 1978; 92: 947 – 949.
23. DANKS D.M. Copper deficiency in humans. *Ann Rev Nutr.* 1988; 8: 235 – 257.
 24. CASTILLO-DURAN C. and UAUY R. Cooper deficiency impairs growth of infants recovering from malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1988; 47(4): 710 – 714.
 25. BHATTACHARYA RD. Circadian rhythmic aspects of urinary zinc excretion in presumably healthy subjects. *Panminerva Medica.* 1979; 21: 201 – 203.
 26. ENGLISH JL and HAMBIDGE KM. Plasma and serum zinc concentrations: effect of time between collection and separation. *Clin Chim Acta* 1988; 175: 211 – 216.
 27. SMITH, JR. J.C., BUTRIMOVITZ, G.P., PURDY, W.C. Direct measurement of zinc in plasma by atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chem.* 1979; 25: 1487 – 1491.
 28. ESTÉVEZ J, CHACIN DE BONILLA L, BONILLA E and VILLALOBOS R. Concentraciones séricas de cobre y zinc en una población suburbana del Estado Zulia (Venezuela). *Inv. Clin.* 1988; 29(3): 97 – 109.
 29. ECE A, UYANIK BS, ISCAN A, ERTAN P and YUGITOGU MR. Increased serum copper and decreased serum zinc levels in children with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res.* 1997; 59 (1 – 3): 31 – 39.
 30. ALARCÓN M.O, REINOSA FJ, SILVA TM, ANGARITA C, TERÁN E, NAVAS M, SOLANO P and AGOSTONELLI M. Serum level of zn, cu and fe in healthy schoolchildren residing in Mérida, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 1997; 47(2): 118 – 122.
 31. OHTAKE M. and TAMURA T. Serum zinc and copper levels in healthy japanese children. *Tohoku J. Exp Med* 1976. 120: 99 – 103.