

Valores de referencia de cinc (Zn) y de cobre (Cu) séricos en escolares sanos procedentes de la ciudad de Barquisimeto, Venezuela

Reference values of zinc (Zn) and copper (Cu) in serum from healthy schoolchildren residing in Barquisimeto, Venezuela

ESTHER GIMÉNEZ MILLÁN^{1*}, JHAM PAPA¹, YELITZA BERNÉ¹, MANUEL CASTRO², JOSÉ MIGUEL MORENO¹, OSCAR M ALARCÓN³ Y MARIO TORRES²

RESUMEN

En el presente estudio se determinaron las concentraciones séricas de cobre (CuS) y de cinc (ZnS) en escolares de ambos sexos, con edades entre 7-14 años, que viven en la ciudad de Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. La muestra consistió de 195 estudiantes (112 niñas y niños 83) clínicamente sanos, que no mostraron evidencias de enfermedades crónicas o infecciones agudas o procesos inflamatorios al momento de la evaluación clínica. Las concentraciones séricas de los metales se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica. La influencia entre los valores séricos de los elementos traza, la edad y el género también se investigó. Las concentraciones séricas promedio de Zn y Cu fueron de $0,97 \pm 0,17$ y $0,90 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. No hubo diferencias significativas en los niveles séricos de cinc entre niños y niñas en los diferentes grupos de edad. Los valores séricos de cobre son mayores en las niñas ($p < 0,05$) que en los niños. Los intervalos de referencia para estos elementos traza en suero se calcularon siguiendo los criterios del CLSI y fueron de 0,70 a 1,30 y 0,70 a 1,20 $\mu\text{g/mL}$ para cinc y cobre, respectivamente. La mayoría de los síntomas clínicos de la deficiencia marginal de estos elementos traza no son muy específicos, y su diagnóstico no es fácil. En conclusión, los valores de Cu y Zn, y los intervalos de referencia, de este estudio pueden ser útiles en el diagnóstico de estas deficiencias margina-

ABSTRACT

In the present study the serum concentrations of copper (CuS) and zinc (ZnS) in schoolchildren of both genders, aged between 7-14 yr. living in the city of Barquisimeto, Lara State, Venezuela. The sample consisted of 195 students (112 girls and 83 boys) clinically healthy at the time of evaluation, which showed no evidence of any chronic disease or acute infections or inflammatory processes. Serum concentrations of metals were determined by flame atomic absorption spectrophotometry. The relation between serum values of trace elements, age and gender was also investigated. Mean serum concentrations of Zn and Cu were $0,97 \pm 0,17$ and $0,90 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$, respectively. There were not significant differences in serum zinc between boys and girls in the different age groups. Serum copper values are higher in girls ($p < 0,05$) than in boys. Reference intervals for these serum trace elements were calculated following the criteria of CLSI and were 0,70 to 1,30 and 0,70 to 1,20 $\mu\text{g/mL}$ for zinc and copper, respectively. Most of the clinical symptoms of trace element deficiency are not very specific, and the diagnosis of this deficiency is not easy. In conclusion, the values of Zn and Cu, and the reference intervals, of the present study can be useful in the diagnosis of these marginal trace elements deficiency. Marginal or severe trace element imbalances can be considered risk factors for several diseases of public health importance.

1. Laboratorio de Bioquímica Nutricional, Departamento de Ciencias Funcionales. Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado".
2. Laboratorio de Bioquímica Nutricional, Departamento de Medicina Preventiva. Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado".
3. Laboratorio de Espectroscopía Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes.

* **Correspondencia:** Lcda. Esther Giménez. Avenida Andrés Bello con Avenida Libertador. Decanato de medicina (al lado del Hospital Central "Antonio María Pineda"). Piso 1, Unidad de Investigación de Bioquímica, Laboratorio de Bioquímica Nutricional. Telefax (0251) 2591950. Correo gimenez.esther@yahoo.es ;egimenez@ucla.edu.ve.

Financiado por: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (CDCHT-UCLA)

les. Las carencias marginales o graves de estos elementos pueden considerarse factores de riesgo para diversas enfermedades de importancia en salud pública.

Palabras clave: Cobre, cinc, escolares, valores de referencia, espectroscopia de absorción atómica.

Keyword: copper, zinc, schoolchildren, reference values, spectroscopy absorption atomic.

INTRODUCCIÓN

El cinc (Zn) y el cobre (Cu) son micronutrientes inorgánicos esenciales, tanto para el hombre como para las diversas especies animales. Aproximadamente 100 enzimas requieren de cinc para su actividad óptima, especialmente en aquellas que intervienen en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Lo que explica su importancia en el crecimiento y la reparación tisular. El cinc también mantiene la estructura de las proteínas de transcripción mediante la incorporación de residuos de cisteína e histidina, formando los enlaces cruzados llamados "dedos de cinc"⁽¹⁾. En este sentido el Zn participa en la transcripción de los genes de control, y en facilitar la acción enzimática. El cinc está vinculado con el crecimiento celular y con la síntesis y degradación de hidratos de carbono, proteínas y grasas. En términos muy generales se puede afirmar que el Zn es fundamental para la proliferación celular, la competencia inmune, la fagocitosis bacteriana y los mecanismos de defensa del organismo. Se relaciona de igual manera con el mecanismo de acción de diversas hormonas considerándose un componente integral e importante de la respuesta metabólica al trauma y al stress por su estrecha interrelación con el eje hipofiso-suprarrenal. Además incluso se ha relacionado con el metabolismo de la vitamina A y otros minerales, en especial con el hierro y el cobre. Por esta razón está comprometido con la síntesis de la hemoglobina y con la eritropoyesis^(2,3).

El cobre tiene un papel primordial en las metaloenzimas que actúan como oxidasas. Por ejemplo, la citocromo c oxidasa es especialmente importante en el metabolismo energético, la lisil oxidasa que produce el entrecruzamiento del colágeno y la elastina y la ferroxidasa que oxida el hierro para unirlo a la transferrina y ser llevado desde el plasma a los tejidos. Es por esta razón el Cu, está involucrado en la movilización y liberación de hierro almacenado en el hígado, en la formación de mielina y hueso, en el mantenimiento de la elastina de grandes vasos sanguíneos y en el sistema inmune⁽¹⁾. Por tanto está relacionado con el desarrollo y mantenimiento

de la integridad esquelética y cardiovascular; en el mantenimiento de la estructura y la función del sistema nervioso central, en el metabolismo energético y con el mecanismo de la fosforilación oxidativa. El Cu, además actúa como pro-oxidante de manera similar al hierro ya que actúa sobre los radicales superóxidos y cataliza la formación del radical hidroxilo a través de la reacción de Fenton^(3,4). Razones por la que el Cu es muy importante en las etapas de crecimiento.

Es un hecho igualmente conocido que la carencia de estos micronutrientes produce diversas manifestaciones clínicas importantes. En los niños la deficiencia de cinc determina alteraciones del crecimiento, trastornos en la cicatrización, dermatitis, susceptibilidad a infecciones recurrentes, síndrome de déficit de atención y fatiga mental, disminución del sentido del gusto llevando a una pérdida de peso⁽⁵⁾. La carencia de cobre a su vez, determina la aparición de anemia con neutropenia, afecta la función del sistema nervioso central y se acompaña de trastornos locomotores⁽¹⁾. Los infantes, niños y adolescentes son los más susceptibles de padecer esta deficiencia de los micronutrientes cobre y cinc, por ser una etapa de creciente desarrollo psicomotor, neurológico, físico y sexual, durante la cual el requerimiento nutricional es mayor.

Diversos autores refieren la necesidad en la práctica pediátrica clínica de tener parámetros de referencia confiables de estos micronutrientes a fin de detectar posibles carencias nutricionales y dar el tratamiento adecuado a las mismas⁽⁶⁾. En este sentido, Céspedes (2008) opina que las disparidades y limitaciones estadísticas para estudiar y definir las cifras de deficiencia de micronutrientes en el Caribe y América Latina se debe a que los estudios y encuestas demográficas son insuficientes, los datos existentes están desactualizados (con más de 20 años) y no son representativos, la mayoría de los estudios son muy generales y sin representatividad nacional, con diferencias en los puntos de cortes. Y señalando como posibles causas que no se disponen de intervalos de referencia procedentes de poblaciones infantiles sanas, característicos de cada región geográfica⁽⁷⁾. De igual

manera, otros investigadores plantean que la mayoría de los estudios no se han regido por un criterio unificado, tanto para la selección de la muestra como para la estimación estadística de los intervalos acorde con los lineamientos actuales^(8,9).

Por otra parte, algunos investigadores han señalado que los niveles séricos de los micronutrientes son característicos para cada edad y son particulares para cada región geográfica, debido a la variedad de alimentos y hábitos alimenticios características de cada sector, por lo que no se puede demarcar la correlación entre los niveles de estos oligoelementos y la dieta^(10,11). A este respecto, se hace necesario definir los niveles normales de una determinada población, especialmente de los grupos más vulnerables (niños y ancianos), a fin de disponer del conocimiento fisiológico del contenido de los elementos trazas en los tejidos y su estrecha relación con la dieta. El biomarcador que más se utiliza para medir el estado del cobre y del cinc, es el plasma o el suero sanguíneo, que ha sido relacionado con la ingesta (siempre y cuando no haya una respuesta inflamatoria). Debido a que estos niveles se deprimen con los estados de deficiencia, responden rápidamente a la suplementación y son estables cuando la ingesta es adecuada, la magnitud de su ingesta da una referencia del tamaño del pool intercambiable y de los tejidos de depósito⁽¹²⁾.

En base a las consideraciones anteriores, el motivo del presente estudio fue: 1) Determinar los niveles séricos de cinc y de cobre en escolares sanos, procedentes de la ciudad de Barquisimeto, Venezuela; 2) Estudiar la influencia de la edad y del género, en los niveles séricos de los elementos traza evaluados y 3) Estimar los intervalos de referencia y comparar estos valores con las referencias internacionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

El presente estudio es de corte transversal, descriptivo, sin hipótesis previa. El universo estuvo conformado por los niños 1.105 en edades comprendidas entre 7 y 14 años, inscritos en los planteles educativos ubicados en el Municipio Iribarren, parroquia Santa Rosa (sector urbano) ubicada al Este de la ciudad de Barquisimeto. El tamaño de la muestra se calculó mediante el paquete estadístico Epi Info 2000 (recomendado por la OMS) y comprendió 216 escolares cuya convocatoria fue al azar mediante un muestreo aleatorio estratificado, balancea-

do según edad y género. Como parámetros de inclusión se consideraron los siguientes criterios: Consentimiento informado firmado por el representante para la participación del niño en la investigación. Peso y talla acorde con la edad cronológica. Historia clínica y examen físico general sin evidencia clínica de alguna patología bien sea aguda o crónica en el momento de la evaluación. Valores dentro del rango de la normalidad para: Hemoglobina, cuenta de leucocitos, glicemia, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, transaminasa glutámico oxaloacética y albúmina. De igual manera el análisis coproparasitológico y de orina sin evidencia de infecciones o alteraciones fisicoquímicas. Como parámetros de exclusión: trastornos hormonales, enfermedades hematológicas, hepáticas, renales o gastrointestinales, diabetes o infecciones en curso o cualquier otra causa clínica o bioquímica señalada por un profesional médico o que se encuentre recibiendo tratamiento médico o suplementación vitamínica, y cuyos padres y/o representantes no firmaran el consentimiento para la participación del niño en el estudio o no residente en el sector.

Procedimiento

Una vez definida la muestra, se procedió al desarrollo de la investigación, de acuerdo a los lineamientos éticos para las investigaciones biomédicas⁽¹³⁾, según las siguientes etapas:

1. Entrevista con los padres y/o representantes con el fin de solicitar la autorización por escrito para la incorporación al estudio.
2. A los escolares con autorización de sus representantes, se les citó posteriormente (en el mismo plantel educativo), para realizar las siguientes valoraciones: físico-clínica general, antropométrica, recepción de las muestras recolectadas de heces y orina. La extracción de muestra sanguínea se realizó con los escolares en ayunas, entre las 7:00 y las 9:00 am, para evitar las variaciones circadianas en las concentraciones séricas de los elementos traza: Zn y Cu.
3. El análisis de las muestras biológicas se realizó en el Laboratorio de Bioquímica Nutricional (LBN), adscrito al Decanato de Ciencias de la Salud de la Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Los niveles séricos de glucosa, urea y creatinina se determinaron por métodos enzimáticos utilizando kit comerciales de los laboratorios Qualitest (Caracas, Venezuela) y el colesterol total, triglicéridos y trans-

aminasas por kit de los laboratorios Wiener (Buenos Aires, Argentina). Para el examen coproparasitológico se empleó el método recomendado por la OMS (Kato-Kats cuantitativo). Para el análisis de orina se realizó de acuerdo a las recomendaciones establecidas en los laboratorios clínicos de rutina.

4. La determinación de cobre y cinc en suero sanguíneo libre de hemólisis por espectrofotometría de absorción atómica de llama (EAA), mediante el método de Smith⁽¹⁴⁾. Para la obtención de la concentración de cobre y cinc se realizaron curvas de calibraciones: entre 0 y 5 µg/mL a partir de soluciones acuosas de los patrones. Las muestras de suero (previamente conservadas a -18 °C) fueron diluidas (1:4) en agua desionizada y desmineralizada. Las determinaciones de los elementos evaluados se llevaron a cabo por regresión lineal simple previa absorción de la muestra por el equipo. Las condiciones de lectura para el cinc fueron de longitud de onda de 219,3 nm y corriente de 5 mA y para el cobre 324,8nm y 8 mA. Empleando para ambos minerales una composición de la llama aire-acetileno con estequiometría oxidante (flujo de aire 5 L/min y de acetileno 600 mL/min).
5. La valoración físico-clínica fue realizada por un médico pediatra, el diagnóstico nutricional lo realizó un especialista en nutrición, debidamente estandarizado para las mediciones antropométricas. Los índices considerados para el estudio fueron: peso, talla, edad, género, y la combinación de estos para obtener los indicadores de dimensiones corporales correspondientes, estos datos fueron tomados por el mismo antropometrista para eliminar el error inter-examinador. Las características antropométricas son determinadas por los patrones de referencia de la Organización Mundial de la Salud⁽¹⁵⁾, y los patrones de referencia del Proyecto Venezuela⁽¹⁶⁾. De acuerdo al estado nutricional los niños fueron clasificados en eutróficos o sanos, desnutridos y obesos, estos dos últimos no fueron considerados para el estudio de oligoelementos.

Equipos y reactivos

La determinación de cobre y cinc se realizó por espectroscopia de absorción atómica con atomización en llama modelo Perkin Elmer *Precisely Analyst 200* (Norwalk, CT EEUU), con una computadora integrada al equipo y un software Gem Desktop, Gem/3; equipado con un corrector de fondo D₂; lámparas de cátodo hueco

monoelemental para Cu y Zn marca Perkin Elmer. Para las determinaciones hematológicas se utilizó un contador hematológico modelo AcT5 Diff de Beckman Coulter (Fulerton, CA, EEUU). En las determinaciones bioquímicas se utilizó un espectrofotómetro Marca Spectronic modelo Génesis, en la valoración antropométrica se utilizó una balanza Tanita digital modelo 2001W-B y un estadiómetro marca Holtain Limited.

Todos los reactivos utilizados fueron de mayor grado analítico, marca Merk Alemania. Se prepararon soluciones patrones de 1000 mg/L de cobre y de cinc (marca Perkin Elmer), al disolver cantidades apropiadas de nitratos de cobre (99%) y cinc metálico (99,99%). De estas soluciones se prepararon diariamente patrones de trabajo para los elementos por dilución sucesiva usando los mismos reactivos. El agua que se utilizó para la preparación de todas las soluciones, buffers, y para enjuagar el material de laboratorio fue de tipo Milli-Q desmineralizada y desionizada (Milipore) con resistividad de 18M Ω·cm⁻¹. Todo el material utilizado para la determinación de los minerales fue tratado con ácido nítrico al 12% y luego se enjuagó en tres ocasiones con agua desionizada, con el objeto de eliminar cualquier contaminación de material y sobre todo trazas de los elementos estudiados.

Control de calidad

Para la calibración de los métodos analíticos correspondiente a los parámetros bioquímicos y hematológicos se utilizaron multicalibradores nivel 1 y 2 procedente de las casas comerciales de los equipos analíticos utilizados siguiendo las especificaciones del proveedor. El material biológico utilizado como control fue suero certificado Seronorm (TM Human) nivel: normal y alterado, y muestras sanguíneas certificadas nivel I y II (Coulter Beckman).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 15.0 (Spss®, Inc, Chicago, IL, USA) y hoja de cálculo Excel ambos en ambiente Windows. Las concentraciones séricas de cinc (ZnS) y cobre (CuS) se expresaron como medias ± desviación estándar (X ± DE) y las variables categóricas se expresaron en frecuencias y porcentajes. Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para verificar la distribución normal, para los niveles de CuS y ZnS distribuidos por edad y género. Se aplicó la prueba de Levene para verificar la homogeneidad de

varianzas previo a la prueba "t" de Student para establecer las diferencias significativas entre los promedios. Para el tratamiento paramétrico de los datos se tomó el 95% como índice de confiabilidad estadística ($p < 0.05$). Asimismo, se realizó ANOVA de un factor para evaluar las diferencias entre las medias entre dos o más grupos de edad. Para medir las asociaciones entre las variables continuas, se evaluaron por medio del test exacto de Fisher o coeficiente de correlación simple de Pearson (r), a las correlaciones significativas, se construyeron modelos de regresión lineal para establecer las ecuaciones de relación entre las variables (género, edad, ZnS y CuS).

Posteriormente los intervalos de referencia fueron estimados siguiendo los criterios "a priori" del Clinical Laboratory Standards (CLSI) y las recomendaciones de su normativa C28-A3⁽⁸⁾ y los lineamientos para elementos traza⁽¹⁷⁾.

RESULTADOS

Para la caracterización analítica del método en la determinación sérica de cobre y cinc se estimó la precisión intraensayo e interensayo, las cuales fueron de 1,6% y 1,9% para el cinc y de 1,8% y 2,2% para el cobre, respectivamente. Todas las diluciones de cada muestra se leyeron por triplicado para cada elemento, con una precisión intralectura menor al 1% de variabilidad. La exactitud del método se investigó mediante el análisis de una muestra de suero certificada; los valores obtenidos

no difieren significativamente ($p < 0,05$) de los valores reportados y la precisión fue menor del 5%. Se realizó un estudio de adición de estándar el cual demostró que no existe efecto de matriz para la determinación de los elementos analizados. Por lo que el método analítico utilizado para la determinación sérica de Cu y Zn por EAA se consideró preciso, exacto y libre de interferencias.

De los 216 niños evaluados solamente fueron considerados para la determinación sérica de cobre y de cinc: 195 niños (112 niñas y 83 niños), en concordancia con los criterios de inclusión establecidos. Las determinaciones hematológicas y bioquímicas características de los niños incluidos en el estudio se muestran en la tabla N° 1.

Las concentraciones séricas de cinc mostraron un patrón de distribución normal. Con la transformación logarítmica de los datos se probó la hipótesis de igualdad de varianzas poblacional de los grupos de edad y género ($p > 0,050$). La concentración sérica de cobre, aunque su distribución no se ajustó a un modelo normal, demostró homogeneidad en los grupos y dado que el tamaño muestral es grande ($n > 30$), se aplicó tratamiento paramétrico para la estimación de los descriptivos. Para facilitar el estudio de los escolares se agruparon en cuatro grupos etarios de la siguiente manera: 7- 8 años, 9 -10 años, 11-12 años y 13-14 años. Los valores medios \pm la desviación estándar obtenida tanto de cobre y de cinc de los escolares sanos (de acuerdo a los criterios de inclusión) se muestran en la tabla N° 2.

Tabla N° 1

Valores hematológicos y bioquímicos de los escolares sanos residentes en la ciudad de Barquisimeto

Analito	Unidad	Valor de referencia para inclusión	Promedio \pm DS
Hemoglobina	g/dL	12-14	13 \pm 0,9
Hematocrito	%	35-45	41 \pm 3
Cuenta de blancos	mm ³	5000-1000	7131 \pm 1800
Glicemia	mg/dL	70-100	75 \pm 0,1
Urea	mg/dL	10-35	22 \pm 0,10
Creatinina	mg/dL	0,6-1,4	0,70 \pm 0,03
Colesterol	mg/dL	<200	143 \pm 42
Triglicéridos	mg/dL	<150	81 \pm 46
Albúmina	g/L	3.5-50	4,4 \pm 0.8
T.G.O.	UI/dL	0-28	20 \pm 9

Tabla N° 2

Concentración sérica de cinc (ZnS) y de cobre (CuS) según el género, en escolares procedentes de la ciudad de Barquisimeto, Venezuela

Variable	Género		Total	p
	Femenino	Masculino		
ZnS (mg/mL)	0,97 \pm 0,17°	0,95 \pm 0,19	0,97 \pm 0,18	0,209
	[0,95 – 1,08]	[0,90 – 0,99]	[0,94 – 0,99]	
CuS (mg/mL)	0,91 \pm 0,17	0,84 \pm 0,15	0,89 \pm 0,17	
	[0,89 – 0,95]	[0,81 – 0,87]	[0,87 – 0,92]	0,009

Cada resultado corresponde a Media \pm DE (μ g/mL); [] 95% de intervalo de confianza. p valor de significancia estadística (Prueba t de Student aplicada al género).

La concentración promedio de cinc para los 83 niños fue de 0,95 \pm 0,19 μ g/mL y para las 112 niñas fue de 0,97 \pm 0,17 μ g/mL diferencia no estadísticamente relevante ($p > 0,209$). Al discriminar los niveles séricos del cinc por

grupo de edad (ver tabla N° 3), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, tanto en los diversos grupos etarios del mismo género (p 0,798), como de géneros diferentes (p 0,343), aun cuando se observa una disminución de la cincemia en los niños de 7 y 8 años al comparar con los demás grupos etarios. En lo que respecta a las variables género y edad no se encontró una correlación estadística significativa con la concentración sérica de cinc.

Tabla N° 3
Concentraciones séricas de cinc ($\mu\text{g/mL}$) en escolares sanos procedentes de la ciudad de Barquisimeto, Estado Lara

Grupo etario (Años)	Femenino	Masculino	Total
7-8	1,02 \pm 0,21°	0,92 \pm 0,17	0,95 \pm 0,20
	[0,93 – 1,02]	[0,84 – 1,01]	[0,92 – 1,04]
9-10	0,96 \pm 0,16	0,94 \pm 0,10	0,95 \pm 0,13
	[0,91 – 1,00]	[0,90 – 0,98]	[0,92 – 0,99]
11-12	0,96 \pm 0,14	0,98 \pm 0,17	0,95 \pm 0,16
	[0,91 – 1,02]	[0,83 – 1,09]	[0,90 – 1,02]
13-14	1,01 \pm 0,18	0,84 \pm 0,15	0,89 \pm 0,17
	[0,89 – 0,95]	[0,81 – 0,87]	[0,87 – 0,92]

° Cada resultado corresponde a Media \pm DE ($\mu\text{g/mL}$); [] 95% de intervalo de confianza.

La concentración promedio de cobre sérico (CuS) obtenida para la población escolar fue de 0,89 \pm 0,17 $\mu\text{g/mL}$. Las concentraciones séricas de cobre según el género y los grupos de edad en los escolares sanos se muestran en la tabla N° 4. En relación al género se observa que las niñas presentan una cupremia mayor que la de los niños, siendo esta diferencia significativa (p 0,011).

En la distribución por grupo etario se encontró una discreta disminución en los niveles séricos de cobre, a medida que se incrementa la edad. Esta disminución se aprecia en ambos géneros, aunque la pendiente de disminución es mayor en los niños (r -0,200; p 0,011).

De acuerdo con las recomendaciones de la CLSI C28, el presente estudio presenta un nivel de confianza del 97,5% ya que se obtuvieron 195 individuos de referencia como punto de partida para la estimación del intervalo. Siguiendo el protocolo establecido, se verificó la normalidad de la distribución (Kolmogorov-Smirnov

Tabla N° 4
Concentraciones séricas de cobre ($\mu\text{g/mL}$) de escolares sanos procedentes de la ciudad de Barquisimeto, Venezuela

Grupo etario (Años)	Femenino	Masculino	Total
7-8	0,93 \pm 0,14°	0,87 \pm 0,13	0,91 \pm 0,14
	[0,87 – 0,99]	[0,81 – 0,95]	[0,86 – 0,95]
9-10	0,95 \pm 0,18	0,86 \pm 0,16	0,92 \pm 0,18
	[0,90 – 1,00]	[0,80 – 0,93]	[0,88 – 0,96]
11-12	0,88 \pm 0,18	0,83 \pm 0,15	0,86 \pm 0,17
	[0,82 – 0,96]	[0,77 – 0,92]	[0,82 – 0,92]
13-14	0,91 \pm 0,17	0,84 \pm 0,20	0,89 \pm 0,17
	[0,89 – 0,95]	[0,81 – 0,87]	[0,87 – 0,92]

° Cada resultado corresponde a Media \pm DE ($\mu\text{g/mL}$); [] 95% de intervalo de confianza.

$p > 0,50$), y como ya señalamos previo a este apartado se calculó la media y la desviación estándar de cada uno de los analitos en estudio. Se analizaron los datos mediante la técnica de Tukey para detectar y eliminar los datos aberrantes o anómalos. En base a las observaciones previamente realizadas con respecto a las variables edad y género; se aplicó la prueba Z a los niveles de cupremia y cincemia, para determinar si se requiere la categorización del intervalo de referencia. En este sentido, el criterio de partición o categorización sólo fue valido para la cupremia y la variable género. Finalmente se calcularon los percentiles 5 y 95 para la estimación de los intervalos de referencia con su respectivo intervalo de confianza al 95% a cada límite tanto superior como inferior (Ver tabla N° 5).

Tabla N° 5
Valores de referencia de cinc y cobre sérico obtenidos por EAA

Analito	Valores de Referencia		IC 95%
	Límite Inferior (P_5)	Límite Superior (P_{95})	
Zn ($\mu\text{g/ml}$)	0,75	1,25	0,70 - 1,35
Cu ($\mu\text{g/mL}$)	0,70	1,30	0,65 - 1,35
Femenino	0,76	1,35	0,70 - 1,30
Masculino	0,70	1,20	0,65 - 1,25

DISCUSIÓN

El valor medio de la cincemia obtenida en los escolares sanos (7-14 años) fue de $0,97 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$, lo cual se corresponde con los niveles publicados por otros investigadores. En relación a este punto en las tablas N° 6

y 7 se muestra una recopilación de los niveles séricos de cinc y de cobre publicados tanto a nivel nacional como internacional. Tomando en consideración este señalamiento previo, los criterios para clasificar los grupos etarios varían ampliamente, lo cual es un problema para es-

Tabla N° 6
Niveles séricos de cobre y cinc reportados en niños y adolescentes en Venezuela

Autor(es) / año	Lugar	N° de individuos estudiados	Grupos etarios relacionados* (años)	Niveles de cinc ($\mu\text{g/mL}$)	Niveles de cobre ($\mu\text{g/mL}$)
En el presente estudio	Barquisimeto	195	7-14	$0,97 \pm 0,18$	$0,89 \pm 0,17$
Acosta y col (2010)	Valencia	82	4-14	$0,84 \pm 0,16$	$1,25 \pm 0,25$
Berné y col (2008)	La Escalera	310	0-14 7-14	$0,83 \pm 0,18$ $0,84 \pm 0,16$	–
Guerrero, Y (2007)	Mérida	62	11-17	$0,80 \pm 0,20$	$1,50 \pm 0,70$
Rodríguez y col (2004)	San Antonio Guache	292	0-14 7-14	$0,83 \pm 0,19$ $0,87 \pm 0,18$	$1,30 \pm 0,28$ $1,22 \pm 0,22$
Silva y col (2005)	Mérida	130	2-6	$0,78 \pm 0,24$	$1,18 \pm 0,51$
Marcó y col (2001)	Barquisimeto	–	8-58	$1,21 \pm 0,08$	$1,08 \pm 0,05$
Brunetto y col (1999)	Canaguá	320	2-6	$0,74 \pm 0,25$	$1,18 \pm 0,30$
Alarcón y col (1997)	Mérida	320	7-14	$0,78 \pm 0,14$	$1,20 \pm 0,13$
Amaya y col (1997)	Maracaibo	159	3 (meses) – 8 años	$0,79 \pm 0,21$	–
Burguera y col (1992)	Mérida	202	2-6	$0,50 - 1,32$	$0,36 - 1,54$
Estévez y col (1988)	Maracaibo	227	3-45 >7-12 >12-19	$0,88 \pm 3,88$ $0,87 \pm 4,36$ $1,10 \pm 5,53$	$1,24 \pm 0,26$ $1,29 \pm 7,51$
Paz de Moncada y col (1982)	Maracaibo	487	0-10 11-15	$0,82 \pm 0,16$ $0,78 \pm 0,23$	–
Paz de Moncada y col (1981)	Maracaibo	99	3-64	–	$0,66 \pm 0,24$

* solamente se refieren los grupos etarios inherentes al presente estudio.

Tabla N° 7

Niveles séricos de cobre y cinc reportados en niños y adolescentes en Latinoamérica y otras latitudes

Autor(es) / año	Lugar	Nº de individuos estudiados	Grupos etarios relacionados* (años)	Niveles de cinc (µg/mL)	Niveles de cobre (µg/mL)
Feliu y col (2005)	Buenos Aires, Argentina	42	1mes a 12 años	0,82 ± 2,80 1-2 (76,8%)	0,78 ± 2,51 1-2 (92,9%)
Weistaud y col. (2004)	Tacopaya, Bolivia	112	7- 10	0,50-1,10	1,18 ± 18,6
Dos Santos y col (2003)	São Paulo, Brasil	140	7-15	0,97 ± 0,30	1,45 [1,15-1,80]
Urbano y col (2002)	Río de Janeiro, Brasil	47	12- 16	0,84	1,15
Díaz-Romero y col (2002)	Islas Canarias, España	395	6-75	1,16 ± 0,52	1,10 ± 0,25
Mockus y col (1998)	Bogotá, Colombia	75	8-9	0,59 ± 0,11	0,91 ± 0,20
Elcarté López y col (1997)	Provincia de Navarra, España	3887 7-14	4-17 1,12	1,13 1,17	1,18
Duarte-Fávaro y Vannucchi (1990)	Ribera de Preto, Brasil	126	2-7	0,89 ± 0,16	-
Arvanitidou y col (2007)	Atenas, Grecia	105	3-14	0,98 ± 0,19	1,66 ± 0,33
Chien-Yi Y col (2004)	Taiwan, China	81	3-8	1,99 ± 0,68	-
Van Biervliet y col (2003)	Bélgica	457	0-14	0,70 -1,00	-
Bárány y col (2002)	Suiza	372	15	1,00 ± 0,10	1,10 ± 0,20
Gibson y col (2000)	Nueva Zelanda	453	11	0,91	-
Rukgauer y col (1997)	Stuttgar, Alemania	137 10-14	0-18 6-10 0,86 ± 0,31	0,83 ± 0,46 0,88 ± 0,20 1,34 ± 0,24	1,30 ± 0,62 1,48 ± 0,15
Madaric y col (1994)	Bratislava, República Slovak	408	8-20	0,83 ± 0,12	0,98 ± 0,14
Lockitch y col (1988)	Vancouver, Canadá	261 15-19	6-9 10-14 0,60 – 1,17	0,77 – 1,17 0,76 – 1,18 0,64 – 1,60	0,84 – 1,36 0,80 – 1,21
Iyengar y Woittiez (1988)	National Bureau of Standards	60 estudios	Referencia en humanos	0,93 [0,70-1,20]	1,10 [0,80-1,75]
Hatano y col (1982)	Hiroshima, Japón	101	6-10 11-15	- -	0,98 ± 0,19 0,88 ± 0,11
Ohtake y Tamura (1976)	Tohoku, Japón	156	6-12	0,92 ± 0,13	1,09 ± 0,17

*solamente se refieren los grupos etarios inherentes al presente estudio.

tablecer las comparaciones respectivas. Nuestros valores son muy parecidos a los obtenidos por diversos investigadores entre ellos: Arvanitidou y col⁽¹⁸⁾, Santos y col⁽¹⁹⁾, Bárány y col⁽²⁰⁾, Gibson y col⁽²¹⁾, Madaric y col⁽²²⁾, Ohtake y Tamura⁽²³⁾, Laitinen y col⁽²⁴⁾, e Iyengar y col⁽²⁵⁾. Aunque en algunos estudios, la cincemia pueden ser ligeramente superiores⁽²⁶⁻²⁹⁾, otros reportan una concentración sérica de cinc menor⁽³⁰⁻³⁶⁾.

Llama la atención que la mayoría de los reportes nacionales señalan una cincemia menor a la encontrada en nuestro estudio, no obstante la cincemia de los escolares de la región central y capital es muy cercana a la nuestra (región centroccidental). En tal sentido, se aprecia una homogeneidad en los valores de cinc sérico, en estudios realizados dentro de una misma región y con características geográficas semejantes e incluso con ligeras diferencias entre el sector urbano y rural. A este respecto, observamos que los niveles de cincemia en la población infantil reportados por nuestro laboratorio en la región rural San Antonio de Guache y la Escalera^(37,38) son significativamente menores en comparación con la reportada por el presente estudio (sector urbano). Esto se corresponde con lo informado por Brunetto y col⁽³⁰⁾ en la región de Mérida, quienes encontraron que los preescolares de la comunidad rural de Canaguá, una cincemia menor en comparación con los infantes residentes de la ciudad de Mérida, explicando que esta diferencia puede ser indicio de una deficiencia de cinc sérico en los niños del sector rural.

Estudios minuciosos, realizados en Finlandia y en el Reino Unido por el Instituto Ambiental de la Comunidad Europea, inducen a pensar que la heterogeneidad de valores reportados en las diferentes regiones puede ser atribuida, a factores geoquímicos característicos de cada zona geográfica⁽³⁹⁾. Esto significa que la ubicación geográfica ejerce un factor importante y determinante en los niveles sanguíneos de algunos elementos traza. Otros estudios semejantes realizados en China y España tanto en niños como en adultos (respectivamente) atribuyen que las variaciones observadas no solamente se corresponden con lo previamente señalado, sino que además están relacionados con la ingesta alimenticia y por el estilo de vida característico de cada ambiente^(29,40).

Sobre la base de las consideraciones anteriores, la discrepancia en los niveles séricos de cinc observada en la población infantil en el ámbito nacional, se aprecia del mismo modo al comparar nuestros niveles con los reportados en otras latitudes (Ver tabla N° 2).

Al investigar la influencia que puede tener la edad sobre la cincemia, no se observó una correlación estadística entre estas variables (p 0,768); esto se corresponde con lo reportado en otros estudios con grupos etarios semejantes^(23,28,33,41-44) aunque otros investigadores señalan un incremento en los niveles séricos del cinc a medida que aumenta la edad e incluso en algunos casos con significancia estadística^(18,19,41,42,45). En concordancia con varias publicaciones previas no se encontró ninguna diferencia significativa en el nivel del cinc entre los niños y niñas en los diferentes grupos de edad^(30,31,44) aunque la cincemia de las niñas es mayor en la mayoría de los grupos etarios. Esto coincide con los hallazgos publicados por Buxaderas y Farré- Rovira⁽⁴⁶⁾ quienes detectaron en el género femenino un nivel superior de cinc con respecto al otro género, en el grupo de edad de 10 a 19 años. Urbano y cols⁽⁴⁷⁾ en adolescentes residentes en Río de Janeiro y Elcarté-López y cols⁽²⁸⁾, adolescentes residentes en la Provincia de Navarra (España) también señalan una cincemia más elevada en las niñas entre 12 y 13 años con respecto a los niños de la misma edad. Estos autores atribuyen este hallazgo a una mayor demanda de cinc durante la primera etapa de la pubertad, debido a los cambios hormonales característicos de cada género que conllevan a cambios en su composición corporal. De igual manera, Salgueiro y col⁽⁴⁸⁾, señalan que la modificación de la cincemia en este grupo etario, puede estar relacionado al incremento del pico hormonal y, por ende, a un aumento del metabolismo anabólico, que incluye a los tejidos que participan en el pool de cinc, por lo que la homeostasis puede disminuir las reservas de este micronutriente, si la ingesta dietaria no compensa esta demanda adecuadamente. En este sentido, los niños en la infancia tardía y en la preadolescencia son particularmente vulnerables a la deficiencia de este micronutriente.

En lo que respecta al cobre sérico la concentración promedio obtenida en los niños fue de $0,90 \pm 0,18$ $\mu\text{g/mL}$ siendo este valor muy parecido al reportado por otros investigadores^(25,49-52). Otros estudios informan en el mismo grupo de edad valores de cupremia superiores a los nuestros^(18,19,23,28,30,33,41,43,53) Sin embargo, Feliu y col⁽⁴⁹⁾, Paz de Moncada y col⁽⁴⁴⁾ y Lockitch y col⁽⁵⁴⁾, señalan niveles de cupremia significativamente menores a los del presente estudio. Al estudiar la relación entre cupremia y edad, no se evidencian diferencias estadísticas importantes entre los grupos etarios considerados. Sin embargo, se observa una disminución de los niveles de cupremia a medida que aumenta la edad, más marcada

en los niños que en las niñas. Esto coincide con lo reportado por Acosta-García y col⁽³²⁾, Elcarté y col⁽²⁸⁾, y Díaz y col⁽²⁷⁾, quienes demuestran que los individuos menores de 15 años presentan una correlación inversa con la edad, es decir, que a medida que aumenta la edad mayor es la tendencia a que los niveles de cupremia sean menores. Esta disminución suele comenzar alrededor de los diez años, debido al movimiento del contenido de cobre entre los compartimientos extra e intracelular, hasta poco antes de alcanzar a edad adulta (entre los 13 y 16 años).

En lo que respecta al género, a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente importantes, el género femenino muestra una cupremia mayor a la del género masculino. Diversos investigadores señalan esta diferencia, que en algunos casos se caracteriza por ser significativa^(18,28,54,33,41,44). Adicionalmente Laitinen y col⁽²⁴⁾ y Estévez y cols⁽⁴²⁾, señalan que el aumento en los niveles de cobre sérico en las niñas ocurre entre las edades de 12 y 19 años ó 15 a 18 años respectivamente, no así para los niños. Esta diferencia puede atribuirse al efecto estrogénico puberal ya que la cupremia es proporcional al nivel de estrógeno circulante, o por el uso de contraceptivos orales del tipo estrógeno-progesterona⁽²⁰⁾. Existen publicaciones que mediante el empleo de modelos estadísticos (tomando en consideración la edad y el género), sugieren que el factor de mayor influencia en la concentración de cobre sérico es el género^(30,33,44) lo que demuestra que los cambios hormonales característicos de cada género afectan la concentración sérica de cobre.

Al aplicar la metodología estadística, recomendada por la CLSI, para la estimación del intervalo de referencia se observa que el 95% de la población presenta valores entre 0,75-1,30 µg/mL para el cinc sérico y de 0,70-1,30 µg/mL para el cobre, respectivamente.

Al consultar la literatura sobre el tema, se observa que la mayoría de los estudios muestran solamente el valor medio y la dispersión observada, por lo que estos descriptivos no proveen una suficiente información para estimar adecuadamente el intervalo referencial de la población. En tal sentido, el intervalo de referencia en el presente estudio se corresponde con los valores reportados por Van Biervliet y col⁽⁵⁵⁾, Rukgauer y col⁽⁴¹⁾ e Iyengar y Woittiez⁽²⁵⁾. Incluso el límite inferior de nuestro intervalo se corresponde con el punto de corte establecido por la literatura como indicador de riesgo de deficiencia (0,70 µg/mL), contrario a lo observado en otros traba-

jos, donde el valor límite inferior se ubica muy por debajo de este punto de corte recomendado^(25,49,53). Por lo que podemos afirmar que la cincemia obtenida en la presente investigación se encuentra dentro de los rangos o valores de referencia considerados como normales para este mineral: 60-120 µg/mL, por los diversos investigadores consultados^(21,55) y al mismo tiempo destacamos la existencia de valores promedios contradictorios, con amplio margen de variación, lo cual concuerda con lo señalado por Viloria⁽⁵⁶⁾.

En lo que respecta al cobre sérico se encontraron valores más bajos de cupremia en los niños más jóvenes (7-10 años) en relación a los niños mayores (11-14 años). Sin embargo, el estudio de significación (intra e intergrupo) como la *prueba Z* demostraron que esta observación no es relevante como para considerar una sub-clasificación etaria al momento de estimar el intervalo de referencia ($p > 0.095$; $Z_{\text{exp}} < Z_{\text{crítico}}$ respectivamente). El nivel de cupremia referencial para la población escolar estudiada, al ser comparada con otras publicaciones se incluye dentro de los rangos normales^(21,25,41). Sin embargo, el límite inferior de nuestro intervalo se encuentra por debajo del valor de riesgo (0,80 – 0,90 µg/mL) recomendado por la literatura^(21,45). En tal sentido, tomando en consideración la literatura consultada y las recomendaciones de la CLSI, se estimó el percentil 10 de la distribución como punto de corte para estimar la susceptibilidad o riesgo de deficiencia aparente, el valor de cupremia 0,85 µg/mL. Esta elección se debe a que el método paramétrico proporciona intervalos de referencia de mayor amplitud, pero tiene la ventaja que a partir de la distribución se puede ajustar la amplitud de intervalo con el propósito de afinar la confiabilidad⁽⁸⁾.

CONCLUSIONES

La concentración sérica de los elementos valorados (cinc y cobre), se encuentran dentro de los rangos o valores de referencia considerados "normales" en la literatura consultada. Al mismo tiempo se destaca la existencia de valores promedios contradictorios, con amplio margen de variación. Nuestros resultados demuestran que no existe ninguna interacción positiva entre el género de los escolares y la cincemia encontrada en las diferentes edades; sin embargo se observó una disminución en los niveles de cincemia en los adolescentes especialmente en los varones de 12-14 años, aunque no significativa. En los escolares de género masculino la cupremia tiende a disminuir significativamente con la edad aunque en el

género femenino esto no se observó. Asimismo existe un efecto significativo del género sobre los niveles séricos del cobre, siendo mayor la cupremia de las niñas que la reportada por los niños.

En conclusión, las concentraciones séricas de cobre y de cinc en la población infantil estudiada, se detectaron algunas diferencias aunque muy similares a los reportados en otros países. Nuestro estudio demuestra que no solamente existen diferencias entre las regiones sino que también se observan diferencias en el sector rural y urbano. Esto indica que existe una interacción compleja entre los niveles séricos de los oligoelementos y la ubicación de la población infantil a evaluar, esto afianza la importancia de identificar en detalle las interrelaciones de los posibles factores involucrados. Por lo que se sugiere incluir para posteriores estudios el estado nutricional, balance metabólico e interacciones con otros minerales en los escolares de la Ciudad de Barquisimeto.

Por otra parte, las concentraciones séricas de cobre y cinc obtenidos de una población infantil sana son de utilidad para estimar los niveles normales o intervalos de referencia y estudiar la interacción que puedan ejercer el género y la edad sobre estos niveles. De tal manera que, el clínico pueda disponer de una referencia que lo oriente al momento de evaluar al infante, y así diagnosticar o prevenir una deficiencia marginal de estos oligoelementos en la población infantil. Dado que, la situación más común en la práctica es que la deficiencia inicialmente, cursa sin manifestaciones clínicas. Aunado a que estos niveles son característicos para cada población debido a sus condiciones propias de alimentación, estilo de vida y condiciones geoquímicas de la región en la que se ubican. De igual manera es importante señalar que la estimación estadística de los intervalos de referencia mediante un criterio unificado (recomendaciones de la CLSI), facilitan las comparaciones para posteriores estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Shenkin A. Basics in clinical nutrition; physiological function and deficiency status of trace elements. *E-SPEN, The european e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2008; 3: e255-e258.
- (2) Aggett P, Gomerford J. Zinc and human health. *Nutr Rev* 1995; 53(Supl): 16-22.
- (3) Pombo M, Castro I, Barreiro J. Mesa redonda, nutrición y oligoelementos: el crecimiento y desarrollo y los elementos traza. *Anales Españoles de Pediatría* 2001; 54:63-71.
- (4) Dank D. Copper deficiency in humans. *Ann Rev Nutr* 1988; 8: 235-570.
- (5) Hambirge M. Human zinc deficiency: zinc and health current status and future directions. *J Nutr* 2000 (suppl): 1344s-1349s.
- (6) Navas M. 1989. Niveles de zinc, hierro y cobre en la sangre de los escolares sanos procedentes de la ciudad de Mérida. Trabajo de grado de especialidad en Puericultura y pediatría. Universidad de Los Andes, Mérida Venezuela.
- (7) Céspedes A. Programa mundial de alimentos. Simposium: Hambre oculta, el reto de la sociedad moderna. Universidad de Costa Rica, San José 30 y 31 de julio 2008.
- (8) Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Defining, establishing, and verifying reference intervals in clinical laboratory; Approved guideline-Third edition CLSI document C28-A3 (IBN 1-56238-682-4). Clinical and laboratory standards institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2008.
- (9) Bertholf R. Statistical methods for establishing and validating reference intervals. *Labmedicine*, 2006; 37(5).
- (10) Samuelson G, Gralnem H, Arvidson E. An epidemiological study of child health and nutrition in a northern Swedis county. IV. Relationship between general and oral health, food habits and socioeconomic conditions. *Am J Clin Nutr* 1971; 24: 1361-1373.
- (11) Hagman U, Bruce A, Persson L, Samuelson G, Sjolín S. Food habits and nutrient intake in childhood in relation to health and socio-economic conditions. *Acta Paediatr Scand* 1986;75(suppl 328): 1-56.
- (12) WHO/ UNICEF/IAEA/IZINCG. Report of WHO/ UNICEF/ IAEA/IZINCG interagency meeting on zinc status indicator. *Food Nutr Bull* 2007; 28: 399-348.
- (13) Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki. Ginebra 2004.
- (14) Smith J, Butrimovitz B, Boeckx R, Chi R, McIntosch M, Prasad A. Direct measurement of zinc in plasma by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chem* 1979; 25: 1487-1491.
- (15) Organización Mundial de la Salud OMS. Anexo 2: Protocolos recomendados para la medición y el cálculo de los índices. Serie de Informes técnicos 854. el estado físico: uso e interpretación de la antropometría, Ginebra 1995.
- (16) Méndez Castellano H. Estudio nacional de crecimiento y desarrollo humanos de la República de Venezuela. Tomo II. Ministerio de la secretaria, FUNDACREDESA; Caracas Venezuela; 1996.
- (17) Solberg H. Approved recommendation on the theory of reference values. Part %. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clin Chim Acta* 1987b; 170:S12-S32.
- (18) Arvanitidou V, Voskaki I, Tripsianis G, Athanasopoulou H, Tsalkidis A, Filippidis S, Schulpis K, Androulakis I. Serum copper and zinc concentrations in healthy children aged 3-14 year in Greece. *Biol Trace Elem Res* 2007;115: 1-12.

- (19) Santos E, Amancio O, Oliva C. Estado nutricional, ferro, cobre e zinco em escolares de favelas da cidade de São Paulo. *Ver Assoc Med Brás* 2007; 53 (4):323-328.
- (20) Bárány E, Bergelahl I, Bratteby L, Lundh T, Samuelson G, Shutz A, Skerving S, Oskarsson A. Trace elements in blood and serum of Swedish adolescent: relation to gender, age, residential area and socioeconomic status. *Environmental Research section A*, 2002;89: 72-84.
- (21) Gibson R. *Principes of nutritional assessment*. New york: Oxford University Press.
- (22) Madaric A, Ginter E, Kadrabová J. Serum copper, zinc and copper/ zinc ratio in males: influence of aging. *Physiol Res* 1994; 43:107-111.
- (23) Ohtake M, Tamura T. Serum zinc and copper levels in healthy japanese children. *Tohoku. J exp med*. 1976;128: 99-103.
- (24) Laitinen R, Vuori E, Dahlstrom S, Akerblom H. Zinc, copper and growth status in children and adolescent. *Pediatr Res*. 1989; 25:323-326.
- (25) Iyengar V y Woittiez J. Trace element in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem* 1988;34 (3):474-481.
- (26) Marcó L, Giménez E, Hernández G, Rojas E, Greaves E. Determination of Zn/Cu ratio and oligoelements in serum samples by reflection X-ray fluorescence spectrometry for cancer diagnosis. *SPECTROCHEMICA ACTA*. Elsevier. 2001 (56):2195-2201
- (27) Díaz Romero C, Henríquez P, López F, Rodríguez E, Serra L. Serum copper and zinc concentrations in a representative sample of the Canarian population. *J. Trace Elem Med Biol* 2002; 16:75-81.
- (28) Elcarté T, Villa E, Gost J, Elcarté R, Martín A, Navascues J, Navarro I, Aparicio M. Cardiovascular risk factors in relation to the serum concentrations of copper and zin. *Epidemiological study on children and adolescents in the Spanish province of Navarra*. *Acta Paediatr* 1997; 86:248-253.
- (29) Chien-Yi C. Chromium, iron, selenium, and zinc levels in serum from preschool children in central Taiwan. *Biol Trace Elem Res* 2004; 100:169-184.
- (30) Brunetto M, Alarcón O, Dávila E, Contreras Y, Galignani M, Rondon C, Burguera JL, Burguera M, Angarita C. Serum trace element and fat-soluble vitamin A and E in healthy pré-school from a Venezuelan rural community. *J Trace Element Med Biol* 1999; 13:40-50.
- (31) Silva T, Alarcón O, Alarcón A, Ramirez M, Jesús L, Mejía A. Niveles séricos de cinc, hierro y cobre em preescolares que acuden a consulta em los ambulatorios urbanos tipo III de La ciudad de Mérida. *MedULA, Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes* 2005; 12:18-25.
- (32) Acosta E, Galdona E, Barón M, Paéz M, Velásquez L. Zinc y cobre séricos y la relación zinc/ cobre en un grupo de niños del sur de valencia, Venezuela. *Acta Bioquím. Clín Latinoam* 2010;44(11):25-31
- (33) Alarcón O, Fuller J, Silva T, Angarita C, Terán E, Navas M, Solano P, Agostinelli M. Serum level of Zn, Cu an Fe in Healthy schoolchildren residing in Mérida, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47(2): 118-122.
- (34) Amaya D, Urrieta R, Gil N, Molano N, Medrano I, Castejón H. Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47(1)23-28.
- (35) Paz de Moncada N, Chacín L, Villasmil J, Estévez J, Bonilla E. Concentraciones séricas de cinc en sujetos normales. *Inv. Clin* 1989.30(2):101-109.
- (36) Mockus I, Caminos J, Díaz J, Delgado M. Niveles séricos de zinc, hierro y cobre en tres grupos de escolares colombianos. Relación con algunos parámetros antropométricos. *Revista de pediatría on line*. [http:// www. Encolombia. com/ pediatría](http://www.Encolombia.com/pediatría) 342 (citado 5 de Junio 2005).
- (37) Rodríguez D, Papale J, Dellán G, Torres M, Berné Y, Mendoza N, Moreno J, Salazar J. Deficiencia de zinc y de cobre en menores de 15 años en una población rural de Venezuela. *Boletín Médico de Postgrado*, 2004; 20(2): 55-60.
- (38) Berné Y, Papale J, Torres M, Mendoza N, Rodríguez D. Zinc sérico en menores de 15 años de una comunidad rural del estado Lara. *Ann Venez Nutr* 2008; 21(2): 77-84.
- (39) Bjorksten F, Aromaa A, Knet P, Malinen L. Serum zinc concentration in Finns. *Acta Med Scand* 1978; 204:1-2.
- (40) Terres Martos C, Navarro M, Martín F, López H, López M. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by atomic absorption spectrometry. *Science of total environment* 1997; 198:97-103.
- (41) Rukgauer M, FKlein J, Kruse J. Reference values for the trace elements copper, manganese, selenium and zinc in the serum/ plasma of children, adolescents, and adult. *J Trace Elem Med Biol* 1997; 11:92-98.
- (42) Burguera J, Burguera M, Alarcón M. Blood level of zinc, cobalt, cooper, iron and manganese in children from Mérida, Venezuela. *Trace Elem Med* 1992;9 (4): 194-197.
- (43) Guerrero Y. Evaluación nutricional y estado corporal del cinc, cobre, hierro, calcio y magnesio en adolescentes de la ciudad de Mérida. Tesis de maestría. Mérida. Universidad de Los Andes. 2007.
- (44) Paz de Moncada N, Villasmil J, Bonilla E. Distribución del cobre sérico en una población suburbana de Maracaibo (Venezuela). *Inv Clin*. 1981; 22(2):83-94.
- (45) Estévez J, Chacín L, Bonilla E, Villalobos R. Concentraciones séricas de cobre y cinc en una población suburbana del estado Zulia (Venezuela). *Invest Clin* 1988; 29(3): 97-109.
- (46) Farré Rovira R. Whole blood and serum zinc levels in relation to sex and age. *Rev Esp Fisiol* 1985; 41:463-470.
- (47) Urbano M, Vitalle M, Juliana Y, Amancio O. Ferro, cobre e zinco em adolescentes no estirao pubertário. *J Pediatr (Rio J)* 2002; 78(4):

- (48) Salgueiro M, Weil R, Zubillaga M, Lysionek A, Caro R, Goldman C, Barrado D, Martínez M, Boccio J. Zinc deficiency and growth. *Bio Trace Elem Res* 2004; 99:49-69.
- (49) Feliu M, Piñeiro A, López C, Slobodianik N. Valores de referencia de cobre, zinc y selenio en niños. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2005; 39(4):459-462.
- (50) Duarte R y Vannuchi H. Niveis plasmáticos de zinco e antropometría de crianças da periferia de centro urbano no Brazil. *Rev Saude Publica* 1990; 24(1).
- (51) Hatano S, Nishi Y, Tomofusa U. Copper levels in plasma and erythrocytes in healthy Japanese children and adults. *J Am Clin Nutr* 1982;35:120-126.
- (52) Díaz C, Henríquez P, López F, Rodríguez E, Serra I. Serum copper and zinc concentrations in a representative sample of the Canarian population. *J Trace Elem Med Biol* 2002; 16:75-81.
53. Weisstaud S, Bustos M, Olivares X, Durán C, Araya Q. Situación nutricional de hierro, cobre y zinc en escolares de Tacopaya, Bolivia. *Rev.Soc Bol. Ped* 2004;43(2): 77-80.
54. Lockitch G, Halstead A, Wadsworth L, Quigley G, Reston L, Jacobson B. Age and sex specific pediatric reference intervals and correlations for zinc, copper, selenium, iron, vitamin A and E related proteins. *Clin Chem* 1988; 34(8): 1625-1628.
55. Van Biervliet S, Van Biervliet J, Bernard D, Vercaemst R, Blanton V. Serum zinc in healthy Belgian children. *Biol Trace Elem* 2002; 94:33-40.
56. Viloria N. Niveles séricos de zinc, cobalto y magnesio en niños sanos de 0 a 6 años, procedentes de la ciudad de Mérida. Tesis de especialista. Mérida Universidad de Los Andes. Hospital Universitario de Los Andes. 1983.