

CONCENTRACIONES SERICAS DE COBRE Y CINC EN UNA POBLACION SUBURBANA DEL ESTADO ZULIA (VENEZUELA)

Jesús Estévez*, Leonor Chacín de Bonilla**, Ernesto Bonilla** y
Ruddy Villalobos***

* Fundacite-Zulia, Inbiomed, Apartado Postal 376, Maracaibo 4001-A, Venezuela. ** Instituto de Investigaciones Clínicas Apartado Postal 1151, Maracaibo 4001-A, Venezuela. *** Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia.

Palabras Claves: cobre, cinc

RESUMEN

Se realizó un estudio, mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, por el método de adición de estándares, de las concentraciones séricas de cobre y de cinc, en un universo consistente en 227 personas de una población suburbana de bajo nivel socioeconómico del Estado Zulia, Venezuela. Se determinaron deficiencias, en el 7% de la población general, para las concentraciones de cobre, y en el 19.6% de la población, para las de cinc. Se detectaron incrementos anormales del coeficiente cobre/cinc en el 20.2% de la población. Las deficiencias se distribuyeron principalmente en los grupos etarios de 3 a 7 años y de 19 hasta los 45 años. Se observó una diferencia significativa en la concentración de cobre entre todos los individuos del sexo femenino (128.7 ± 3.10 ug/dl), con respecto a los del sexo masculino (116.26 ± 2.87 ug/dl). Las deficiencias observadas pudieran deberse primordialmente a una disminución en la ingesta de proteínas, con niveles de absorción de los oligoelementos en el límite de la normalidad, lo cual conduciría al déficit cuando las necesidades de los mismos aumentan. Las diferencias entre los sexos pudieran ser debidas a un efecto estrogénico.

INTRODUCCION

Para que un elemento sea considerado esencial debe llenar los siguientes criterios: a), estar presente en los tejidos sanos de todos los organismos; b), que su concentración sea relativamente constante y c), que su ausencia o deficiencia produzca anormalidades estructurales y fisiológicas similares en diferentes especies biológicas, las cuales son prevenidas o revertidas por la adición del elemento en cuestión (24).

Recibido 12-04-88

Aceptado 29-11-88

El cobre desempeña un papel muy importante en el metabolismo del hierro, como parte esencial de la ceruloplasmina (25), enzima que interviene en la homeostasis del hierro a nivel intra y extracelular. El cobre es esencial para el funcionamiento de la cadena respiratoria, por ser cofactor del citocromo C (32). También es indispensable para la protección de las membranas celulares, por su relación, la que comparte con el cinc, con la enzima superóxido dismutasa citosólica (10). El cuadro clínico de deficiencia de cobre pudiera cursar con anemia refractaria al tratamiento con hierro, retardo en el crecimiento, defectos de queratinización, pigmentación del cabello, hipotermia, cambios degenerativos en las fibras elásticas constituyentes del tejido conectivo y de las arterias, anormalidades en la metafisis de los huesos largos, tortuosidad de los vasos cerebrales y progresivo deterioro mental (2, 15, 24, 32, 35).

El cinc ha sido reconocido como un elemento esencial dentro de los sistemas biológicos desde hace más de una centuria. Es un componente de más de 20 metaloenzimas y es requerido para la síntesis o degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (ARN y ADN) (19, 21, 22). Igualmente, juega un rol en la función gonadal (21) y se considera que es importante en los procesos de respuesta inmune, tanto celular como humoral (4, 26). Estas relaciones implican que las deficiencias o alteraciones en el metabolismo de este metal deben conducir a un deterioramiento en los procesos de duplicación y desarrollo celular, de la maduración sexual y de la respuesta inmune. En efecto, los síntomas principales encontrados en la deficiencia de este oligoelemento se pueden enumerar: disminución de la rata de crecimiento en individuos en desarrollo, retardo en la madurez sexual e hipogonadismo en varones, pérdida del apetito y de la sensibilidad gustativa y olfatoria, disminución de la resistencia a las infecciones por *Candida albicans* y otros gérmenes, dermatitis de las extremidades y trastornos neuropsiquiátricos (1, 4, 12, 14, 21, 26, 30). Igualmente, Prasad y Soltan (21, 28) han reportado alteraciones patológicas en el embarazo, tanto en la madre como en el producto, en casos de hipocinquemia materna.

Las concentraciones séricas del cobre y del cinc se correlacionan inversamente, tanto en los estados fisiológicos como en los patológicos. De allí la importancia de su estudio simultáneo (6, 8, 30, 33).

El análisis del cociente cobre/cinc ha sido reportado como una ayuda diagnóstica y pronóstica en el curso de diversos tipos de enfermedades tales como sarcomas, leucemias, linfomas, infartos al miocardio, etc, en los cuales este índice tiende a incrementarse, por lo que el estudio de sus fluctuaciones en la referida población nos podría dar una idea de su utilidad (6, 8).

Este trabajo se realizó con el objeto de determinar las posibles deficiencias de cobre o cinc en una población suburbana de bajo nivel socioeconómico; y las posibles influencias que sobre el porcentaje de deficiencias pudieran tener el nivel de ingestas y las parasitosis observables en los individuos analizados.

MATERIALES Y METODOS

Para el estudio se analizaron muestras de suero de un universo consistente en 144 mujeres y 83 hombres con edades comprendidas entre los 2 y los 70 años, todos provenientes del caserío San José de Potreritos, que es una población suburbana del Municipio El Carmelo del Distrito Urdaneta, del Estado Zulia, Venezuela, con un nivel de ingresos económicos por debajo de la media normal. El universo analizado corresponde al 24.7% de la población del caserío. Un estudio previo determinó un índice de parasitosis del 75.5%, observándose parasitosis múltiple en un 62.2% de los individuos infectados (3).

La recolección de las muestras se realizó por punción venosa, luego de 12 horas de ayuno, entre las 8 y 9 a.m., para evitar las posibles variaciones circadianas (13, 16, 24). El suero fue separado y almacenado a -80°C hasta su análisis. Las concentraciones de cinc y cobre séricos fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica en un Espectrofotómetro Perkin Elmer 2380 con un horno de grafito HGA2100 (20, 23). Las especificaciones para el lavado del material utilizado tanto en el ensayo como en la obtención de las muestras así como la preparación de los sueros han sido descritas previamente (20).

Para definir los estados de déficit se tomaron como rangos normales de concentraciones séricas de cobre las reportadas por nosotros (7, 8) y por Reinhold (24), de 87 a 153 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Mientras que para el cinc se definió un rango normal, determinado en nuestro laboratorio (Paz de Moncada, N y col. Datos no publicados) y descrito también por Halsted y Smith (11), de 72 a 115 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Esto lo definimos en función de que algunos rangos, más elevados, reportados por otros autores, fueron explicados posteriormente como producto de contaminaciones de las muestras, antes de su análisis (23).

Para el análisis estadístico los individuos estudiados se dividieron en 6 grupos a saber: Grupo 1, de 0 años a 3 años; Grupo 2, > 3 a 7 años; Grupo 3, > 7 años a 12 años; Grupo 4, > 12 años a 19 años; Grupo 5, > 19 años a 45 años y Grupo 6, > 45 años.

Se realizó un Análisis de Variancia de los factores cinc, cobre, coeficiente cobre/cinc, sexo, edad, y grupo etario (31). El test de Duncan se utilizó para determinar la probabilidad estadística entre los promedios significativamente diferentes según el Análisis de Variancia. El test "t" de Student fue utilizado para determinar las diferencias entre los sexos de los diferentes grupos etarios. Igualmente se determinaron los coeficientes de correlación de los factores enunciados, para definir las posibles interrelaciones entre ellos.

RESULTADOS

La tabla I representa los promedios y las desviaciones estándares, discriminadas por sexo, de las concentraciones de cobre y cinc, y del coeficiente cobre/cinc. Se pudo determinar una diferencia significativa de los valores de cobre y del coeficiente cobre/

cinc entre todos los individuos del sexo femenino, con respecto a los del sexo masculino ($p < 0.05$).

TABLA I
CONCENTRACION SERICA DE Cu Y Zn, Y COEFICIENTE Cu/Zn
DE ACUERDO AL SEXO

Sexo	Cu(ug/dl)	Zn(ug/dl)	Cu/Zn
F	128.70 ± 3.10* (144)	86.97 ± 1.55 (140)	1.54 ± 0.05 (140)
M	116.26 ± 2.87* (83)	89.73 ± 2.46 (79)	1.36 ± 0.60** (78)
Total	124.15 ± 0.26 (227)	87.97 ± 3.88 (219)	1.47 ± 0.04 (218)

* Los valores representan los promedios y los errores estándares para cada elemento y sexo

** Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con respecto al sexo femenino
Números en paréntesis corresponden a las muestras procesadas para cada elemento

La tabla II muestra la variable cobre, pero discriminada por sexo y grupo etario. Entre los valores de cobre sérico se determinó una diferencia significativa entre los

TABLA II
CONCENTRACION SERICA DE Cu EN ug/dl EN UNA POBLACION
SUBURBANA DE MARACAIBO, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	P
1	0--3	132.62 ± 14.01 (5)**	137.06 ± 13.99 (8)	NS***
2	> 3--7	128.66 ± 8.41 (21)	129.05 ± 6.62 (13)	NS
3	> 7--12	106.98 ± 6.17 (17)	112.60 ± 4.89 (22)	NS
4	> 12--19	118.91 ± 5.09 (33)	102.59 ± 4.76 (15)	< 0.05
5	> 19--45	136.63 ± 5.47 (58)	111.23 ± 5.29 (20)	< 0.001
6	> 45	149.97 ± 11.83 (10)	126.90 ± 18.44 (5)	NS

* Los valores representan los promedios ± los errores estándares

** Número de muestras analizadas

*** Valor de p según el test "t" de Student

sexos, para los grupos 4 y 5 ($p < 0.05$ y $p < 0.001$, respectivamente). Los valores para el sexo femenino, de los diferentes grupos etarios, fueron significativamente diferentes entre el grupo 6 y los grupos de preescolares ($p < 0.02$) y adolescentes ($p < 0.02$). En el sexo masculino, se determinaron diferencias entre el grupo 1 los grupos 3 ($p < 0.02$), 4 ($p < 0.002$) y 5 ($p < 0.02$).

Para el cinc (Tabla III), no se detectaron diferencias entre los sexos, ni entre los grupos etarios de igual sexo.

TABLA III
CONCENTRACION DE Zn EN ug/dl EN UNA POBLACION
SUBURBANA DE MARACAIBO, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	P
1	0--3	91.00 ± 10.94 (5)**	83.16 ± 5.72 (7)	NS***
2	> 3--7	80.03 ± 3.65 (21)	79.92 ± 6.60 (13)	NS
3	> 7--12	83.78 ± 3.74 (17)	89.35 ± 4.98 (20)	NS
4	> 12--19	84.33 ± 3.16 (30)	89.16 ± 4.00 (14)	NS
5	> 19--45	89.09 ± 2.56 (57)	93.12 ± 5.88 (20)	NS
6	> 45	100.82 ± 5.98 (10)	114.00 ± 7.48 (5)	NS

* Los valores representan los promedios ± los errores estándares

** Número de muestras analizadas

*** Valor de p según el test "t" de Student

El análisis del coeficiente cobre/cinc (Tabla IV) permitió la detección de una diferencia significativa entre los sexos de los grupos 4 ($p < 0.02$) y 5 ($p < 0.05$). En el sexo masculino se observó una diferencia significativa, para las diferentes edades, en el coeficiente cobre/cinc entre el grupo 2 y los grupos 3 ($p < 0.002$), 4 ($p < 0.01$), 5 ($p < 0.02$) y 6 ($p < 0.02$).

La Tabla V nos muestra los diversos porcentajes de deficiencias en las concentraciones de cobre. Como es ostensible, los mayores porcentajes se observan en el sexo masculino y en los grupos etarios 4 y 5 para el sexo femenino, y 3 y 4 para el masculino. El grupo 4 resultó ser el de mayor porcentaje de irregularidades.

TABLA IV
COEFICIENTE Cu/Zn EN UNA POBLACION SUBURBANA
DE MARACAIBO, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	P
1	0--3	1.55 ± 0.28* (5)**	1.66 ± 0.26 (7)	NS***
2	> 3--7	1.72 ± 0.17 (21)	1.84 ± 0.28 (12)	NS
3	> 7--12	1.29 ± 0.06 (17)	1.25 ± 0.06 (20)	NS
4	> 12--19	1.46 ± 0.10 (30)	1.15 ± 0.07 (14)	< 0.02
5	> 19--45	1.58 ± 0.08 (57)	1.28 ± 0.10 (20)	< 0.05
6	> 45	1.50 ± 0.11 (10)	1.13 ± 0.17 (5)	NS

* Los valores representan los promedios ± los errores estándares

** Número de muestras analizadas

*** Valor de p según test "t" de Student

TABLA V
DEFICIENCIA DE Cu (<87 ug/dl) EN UNA POBLACION SUBURBANA
DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	Total
1	0--3	0* (0)**	1 (1.2)**	1 (0.4)***
2	> 3--7	2 (1.4)	0 (0)	2 (0.9)
3	> 7--12	1 (0.7)	2 (2.4)	3 (1.3)
4	> 12--19	3 (2.1)	3 (3.6)	6 (2.6)
5	> 19--45	3 (2.1)	1 (1.2)	4 (1.8)
6	> 45	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total		9 (6.3)	7 (8.4)	16 (7)

* Número de casos determinados

** Porcentaje de casos con respecto al número total del sexo femenino y masculino (respectivamente)

*** Porcentaje de casos con respecto al número total de individuos de la población estudiada

En cuanto a las deficiencias de Zn, (Tabla VI) se observó un porcentaje del 19.6% sobre la población general, con mayor incidencia en el sexo femenino. Los grupos 2, 4 y 5 presentaron el mayor porcentaje de casos en ambos sexos.

TABLA VI
DEFICIENCIA DE Zn (<72ug/dl) EN UNA POBLACION SUBURBANA
DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	Total
1	0--3	1* (0.7)**	1 (1.3)**	2 (0.9)***
2	> 3--7	8 (5.7)	6 (7.6)	14 (6.4)
3	> 7--12	3 (2.1)	2 (2.5)	5 (2.3)
4	> 12--19	8 (5.7)	1 (1.3)	9 (4.1)
5	> 19--45	10 (7.1)	2 (2.5)	12 (5.5)
6	> 45	1 (0.7)	0 (0)	1 (0.5)
Total		31 (22.1)	12 (15.2)	43 (19.6)

* Número de casos determinados

** Porcentaje de casos con respecto al número total de individuos del sexo femenino y masculino (respectivamente)

*** Porcentaje de casos con respecto al número total de individuos de la población estudiada

Las anomalías del coeficiente cobre/cinc (Tabla VII), tuvieron su mayor expresión en el sexo masculino, y en los grupos etarios 2 y 5.

La correlación entre las variables analizadas solo fue significativa entre la edad y los oligoelementos estudiados (edad:cobre $p < 0.02$; edad: cinc $p < 0.02$).

TABLA VII

ANOMALIAS DEL COEFICIENTE Cu/Zn (>1.8) EN UNA POBLACION SUBURBANA DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Grupo	Edad (años)	Femenino	Masculino	Total
1	0--3	2* (1.4)**	3 (3.8)**	5 (2.3)***
2	> 3--7	7 (5)	5 (6.4)	12 (5.5)
3	> 7--12	0 (0)	0 (0)	0 (0)
4	> 12--19	6 (4.3)	0 (0)	6 (2.8)
5	> 19--45	15 (10.7)	4 (5.1)	19 (8.7)
6	> 45	2 (1.4)	0 (0)	2 (0.9)
Total		32 (22.8)	12 (15.4)	44 (20.2)

* Número de casos determinados

** Porcentaje de casos con respecto al número total de individuos del sexo femenino y masculino (respectivamente)

*** Porcentaje de casos con respecto al número total de individuos de la población estudiada

DISCUSION

Las concentraciones del cobre y del cinc, encontradas en este trabajo, se corresponden fehacientemente con las reportadas por otros autores (8, 11, 33). La diferencia observable en la tabla I, para el cobre, es producida aparentemente por efecto estrogénico (7, 32); esto es ostensible en la tabla II donde se determina que la diferencia entre los promedios se observa en los grupos 4 y 5, cuyo rango de edades se extiende sobre la mayor parte fértil del sexo femenino. La diferencia entre el grupo de lactantes, con concentraciones séricas de cobre elevadas, con respecto a los grupos de escolares, adolescentes y adultos del sexo masculino (tabla II), ha sido reportada (24), aunque hay estudios contradictorios al respecto (21); parece deberse a las excepcionales necesidades que tiene ese grupo etario en particular. El que el mismo fenómeno no se observe en el sexo femenino, es comprensible en función del efecto estrogénico, ya descrito (32). Para la diferencia manifiesta en las concentraciones séricas de cobre entre el grupo 6 y la mayoría de los otros grupos etarios, no tenemos una explicación satis-

factoria, puesto que lo esperado es una declinación en los niveles séricos del metal en las edades extremas (24).

Los valores de cinc reportados (tabla III) por nosotros se corresponden con estudios previos (5, 11). Aunque a diferencia de estos estudios, las concentraciones séricas de nuestros grupos de menor edad (1 y 2) no se diferencian significativamente de los demás grupos etarios; esta concentración entre anteriores reportes, en los cuales se detectó una menor concentración en estas edades (24), y el nuestro podría explicarse en virtud de un factor nutricional no analizado, puesto que nuestros datos se corresponden con un estudio anterior de nuestro laboratorio (Paz de Moncada y col, Datos no publicados).

Las diferencias observadas entre los sexos, para los coeficientes cobre/cinc (tabla IV), se corresponden, en los grupos de adolescentes y adultos, con la diferencia de concentración del cobre entre los sexos. La diferencia entre los grupos etarios masculinos podría explicarse por el gran número de anomalías que presenta el grupo 2 en sus coeficientes, debido en parte a una deficiencia del cinc del 7.6%.

Las deficiencias reportadas podrían ser debidas a las siguientes causas: elevadas concentraciones de fibra o fitatos en la dieta (17); disminución de ingestas de proteínas, a las cuales van adicionadas generalmente las deficiencias de cobre y cinc (9, 17); geofagia o coprofagia pues éstas producen quelación de estos oligoelementos en la luz intestinal (5); infestaciones por parásitos intestinales que pueden provocar pérdidas sanguíneas de importancia, y síndromes de malaabsorción, como los producidos por el *Ancylostoma duodenale* (27). En la dieta de la población estudiada, aparentemente no se observa ningún elemento conocido que pueda disminuir la biodisponibilidad de los oligoelementos estudiados (17), pues el consumo de fibra o fitatos es limitado. La geofagia o coprofagia puede, en los primeros grupos, ser un agente causal del déficit. No se pudo detectar ninguna correlación aparente entre las parasitosis que presentan los individuos (3) y las concentraciones séricas de cobre y cinc. El aumento de las necesidades nutricionales debido a la pubertad, unido a una ingesta restringida en oligoelementos y proteínas, podría explicar las deficiencias observables en los grupos de escolares y adolescentes. Greger y Snedeker (9) demostraron en humanos, que la disminución de las ingestas de proteínas, aun dentro de los rangos de normalidad, pueden acarrear una disminución estadísticamente significativa en la absorción y concentración sérica de el cobre y el cinc, por lo que consideramos que las deficiencias observadas pudieran corresponderse con un cambio de los hábitos alimenticios entre los grupos etarios, y a una disminución de las ingestas de proteínas en la dieta. Esta última deducción es de carácter hipotético, pues queda por dilucidar, en forma clara, los mecanismos de las insuficiencias, no descartándose, en forma absoluta, ninguno de los posibles agentes involucrados. Además, las conclusiones sobre los grupos etarios extremos, con un número de individuos reducido, no pueden ser consideradas concluyentes.

Las anomalías del coeficiente cobre/cinc (Tabla VII) pueden ser explicadas en parte por los déficit de uno u otro elemento. El antagonismo inverso entre las concentraciones de cobre y cinc, reportado en previas publicaciones (18, 33), sólo lo observamos en algunos casos; de 42 deficiencias de cinc sólo en 14 se encontraron niveles elevados de cobre; de 14 deficiencias de cobre, por otro lado, sólo se determinó 1 caso de concentraciones séricas incrementadas de cinc; hubo un sólo caso de deficiencia simultánea de cobre y cinc. Pensamos que la carencia de una respuesta uniforme, sea debida a que los niveles de absorción de ambos elementos pueden encontrarse en el límite de la normalidad y que no haya un aumento cierto de la concentración de un elemento cuando el otro disminuye (18).

Nuestro estudio demuestra que las deficiencias de estos oligoelementos no son raras, sobre todo en poblaciones de bajos recursos, pues a pesar de que el universo estudiado fue limitado, los porcentajes de déficit determinados son de moderados a altos. Las implicaciones de estos hallazgos son obvias, puesto que nos indicarían que un elevado grupo de individuos de nuestra población, que pueden tener o no manifestaciones clínicas de deficiencia, podrían presentar alteraciones permanentes en su desarrollo, madurez o expresión biológica, provocados por una alteración de los procesos metabólicos en los cuales los referidos oligoelementos son esenciales.

Agradecimiento

Deseamos agradecer al Sr. Rafael Rivas por su inestimable colaboración técnica y a la Srta. Elizabeth Prieto por su colaboración en la elaboración de las tablas. Este trabajo fue financiado parcialmente por Fundacite-Zulia y el CONICIT.

ABSTRACT

Serum concentrations of copper and zinc in a suburban population of the State of Zulia, Venezuela. Estévez J. (*Fundacite-Zulia, INBIOMED, Apartado Postal 376, Maracaibo 4001-A, Venezuela*), Chacín de Bonilla L., Bonilla E., Villalobos R. *Invest Clin* 29(3): 97-109, 1988.— Copper and zinc serum concentrations were studied, using atomic absorption spectrophotometry, in a population of 227 individuals from a low socioeconomic status. We found a copper deficiency in 7% of the general population and a zinc deficiency in 19.6% of the population studied. Abnormal increases in the copper-zinc coefficient were detected in 20.2% of the population. The deficiencies had a higher incidence in the population groups with ages ranging from 3 to 7 years old and from 19 to 45 years old. A significant difference in the levels of copper of the female group (128.7 ± 3.1 ug Cu/dl) relative to the male group (116.26 ± 2.87 ug Cu/dl) was observed. The deficiencies reported could be primarily due to a poor intake of proteins, causing trace elements levels to be at the limits of normality, which would lead to a deficiency when the biological needs raise. The differences between the sexes could be due to an estrogenic effect.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BAKAN R.: The role of zinc in anorexia nervosa. Etiology and treatment. *Med Hypotheses* 5: 731-736, 1979.
- 2- BURCH R.E., SULLIVAN J.F.: Diagnosis of zinc, copper and manganese abnormalities in man. *Med Clin N Amer* 60(4): 655-660, 1976.
- 3- CHACIN DE BONILLA L., RUBIO F., CUAMO Y., AÑEZ S.: Prevalencia de *Entamoeba histolytica* y otras parasitosis en una comunidad del Distrito Urdaneta, Estado Zulia. *Invest Clín* 25(1): 11-24, 1984.
- 4- CHANDRA R.K., PURI S.: Trace element modulation of immune responses and susceptibility to infection. In *Trace Elements in Nutrition of Children*. pp 87-105. 1th Edition. Ed. R.K. Chandra. Nestle Nutrition Workshop series. V. 8, Vevey/Raven Press. New York, 1985.
- 5- DANFORD D.E., SMITH J.C., HUBER A.M.: Pica and mineral status in the mentally retarded. *Am J Clin Nutr* 35: 958-967, 1982.
- 6- DELVES H.T., ALEXANDER F.W., LAY H.: Copper and zinc concentration in the plasma of leukaemic children. *Brit J Haematol* 25: 525-531, 1973.
- 7- ESTEVEZ J., SUAREZ H., DAVILA J.O., BONILLA E., MORALES L.M., CHACIN DE BONILLA L., VILLALOBOS R.: Cobre sérico en pacientes con Enfermedad de Huntington. *Invest Clín* 27(3): 203-211, 1986.
- 8- FISHER G.L., BYERS V.S., SHIFRINE M., LEVIN A.S.: Copper and zinc levels in serum from human patients with sarcomas. *Cancer* 37: 356-363, 1976.
- 9- GREGER J.L., SNEDEKER S.M.: Effect of dietary protein and phosphorus levels on the utilization of zinc, copper and manganese by adult males. *J Nutr* 110: 2243-2253, 1980.
- 10- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C.: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14, 1984.
- 11- HALSTED J.A., SMITH J.C.: Plasma-zinc in health and disease. *Lancet* 14: 322-324, 1970.
- 12- HAMBIDGE K.M.: Clinical deficiencies when to suspect there is a problem. In *Trace Elements in Nutrition of Children*. pp 1-15. 1th Edition. Ed. R.K. Chandra. Nestle Nutrition Workshop series. V. 8, Vevey/Raven Press. New York, 1985.
- 13- HETLAND O., BRUBAKK E.: Diurnal variation in serum zinc concentration. *Scand J. Clin Lab Invest* 32: 225-226, 1973.

- 14- KLINGBERG W.G., PRASAD A.S., OBERLEAS D.: Zinc deficiency following penicillamine therapy. In Trace Elements in Human Health and Disease. Ed. A.S. Prasad. pp 51. Academic Press. New York, 1976.
- 15- LEE G.R., WILLIAMS D.M., CARTWRIGHT G.E.: Role of copper metabolism and heme biosynthesis. In Trace Elements in Human Health and Disease. Vol. 1, Zinc and Copper. pp 373-390. Ed. A.S. Prasad and D. Oberleas. Academic Press, Inc., New York.
- 16- LIFSCHITZ M.D., HENKIN R.I.: Circadian variation in copper and zinc in man. *J Appl Physiol* 31(1): 88-92, 1971.
- 17- O'DELL B.L.: Bioavailability of and interactions among trace elements. In Trace Elements in Nutrition of Children. pp 41-62. 1th Edition. Ed. R.K. Chandra. Nestle Nutrition Workshop series. V. 8, Vevey/Raven Press. New York, 1985.
- 18- OESTREICHER P., COUSINS R.J.: Copper and zinc absorption in the rat: Mechanism of mutual antagonism. *J Nutr* 115(2): 159-166, 1985.
- 19- PARISI A.F., VALLEE B.L.: Zinc metalloenzymes: Characteristics and significance in biology and medicine. *Am J Clin Nutr* 22(9): 1222-1239, 1969.
- 20- PAZ DE MONCADA N., VILLASMIL J.J., BONILLA E.: Distribución del cobre sérico en una población suburbana de Maracaibo (Venezuela). *Invest Clín* 22(2): 83-94, 1981.
- 21- PRASAD A.S.: Diagnostic approaches to trace elements deficiencies. In Trace Elements in Nutrition of Children. pp 17-39. 1th Edition. Ed. R.K. Chandra. Nestle Nutrition Workshop series. V. 8, Vevey/Raven Press. New York, 1985.
- 22- PRASAD A.S., OBERLEAS D., WOLF P., HORWITZ J.P.: Studies on zinc deficiency: Changes in trace elements and enzymes activities in tissues of zinc-deficient rats. *J Clin Invest* 46(4): 549-557, 1967.
- 23- PRICE W.J.: Chapter 9: Analytical data for the individual elements. In Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption. p. 356. 1th Edition. W.J. Price eds. Heyden & Son LTD (London), 1979.
- 24- REINHOLD J.G.: Trace elements - A selective survey. *Clin Chem* 21(4): 476-500, 1975.
- 25- ROESER H.P., LEE G.R., NACHT S., CARTWRIGHT E.: The role of ceruloplasmin in iron metabolism. *J Clin Invest* 49(12): 2408-2417, 1970.
- 26- SALVIN S.B., HORECKER B.L., PAN L.X., RABIN B.S.: The effect of dietary zinc and prothymosin on cellular immune responses of RF/J mice. *Clin Immunol Immunopathol* 43: 281-288, 1987.

- 27- SANDSTEAD H.H.: Some trace elements which are essential for human nutrition: zinc, copper, manganese and chromium. *Prog Food Nutr Sci* 1(6): 371-391, 1975.
 - 28- SOLTAN M.H., JENKINS D.M.: Maternal and fetal plasma zinc concentration and fetal abnormality. *Brit J Obstet Gynaecol* 89: 56-58, 1982.
 - 29- SOLTAN M.H., JENKINS D.M.: Plasma copper and zinc concentrations and infertility. *Brit J Obstet Gynaecol* 90: 457-459, 1983.
 - 30- SOURKES T.L., LLOYD K., BIRNBAUM H.: Inverse relationship of hepatic copper and iron concentrations in rats fed deficient diets. *Can J Biochem* 46: 267-271, 1968.
 - 31- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS: Users Guide. Raleigh. NC. U.S.A., S.A.S. Inc, 1985.
 - 32- UNDERWOOD E.J.: 3. Copper. In *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. pp 56-108. 4th Edition. E.J. Underwood eds. Academic Press. Inc. (London) LTD, 1977.
 - 33- VERSIECK J., BARBIER F., SPEECKE A., HOSTE J.: Influence of myocardial infarction on serum manganese, copper and zinc concentrations. *Clin Chem* 21: 568-571, 1975.
 - 34- WALRAVENS P.A.: Nutritional importance of copper and zinc in neonates and infants. *Clin Chem* 26(2): 185-189, 1980.
 - 35- ZIDAR B.L., SHADDUCK R.K., ZEIGLER Z., WINSKELTEINS A.: Observations on the anemia and neutropenia of human copper deficiency. *Am J Hematol* 3: 177-185, 1977.
-