

VALORES DE REFERENCIA DE ZINC Y COBRE EN NIÑOS APARENTEMENTE SANOS

María Fátima Garcés¹ , Celsy Hernández² , Yacelli Bustamante³ , Yraima Patiño⁴ ,
Betania Rodríguez⁴ , Ana Cecilia Márquez⁵ , Xiomara Moreno⁶

¹Licenciada en Bioanálisis. Dra. En Ciencias Mención Bioquímica. Profesor Titular. Cátedra de Bioquímica "A". Coordinador del Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Director de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. ²Licenciada en Bioanálisis. M.Sc. en Sistemas de la Calidad. Profesor Agregado. Cátedra de Bioquímica "B". Investigador del Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. ³Licenciada en Bioanálisis. MSc. en Sistemas de la Calidad. Profesor Asociado. Cátedra de Matemática y Bioestadística. Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. ⁴Licenciada en Bioanálisis. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela. ⁵Médico Cirujano. Especialista en Psiquiatría. Coordinador de la Unidad de Autismo. Maternidad Concepción Palacios. ⁶Licenciada en Bioanálisis. M.Sc. En Micología Médica. Microbiólogo del Departamento de Microbiología. Instituto Médico la Floresta.
Recibido para publicación el 5 octubre 2019. Aprobado para publicación el 5 noviembre 2019.

RESUMEN:

Introducción: El zinc (Zn) y el cobre (Cu) son oligoelementos importantes para el desarrollo cognoscitivo y neurológico normal de los niños. **Objetivo:** Establecer los valores de referencia de Zn y Cu séricos en niños aparentemente sanos. **Métodos:** Se utilizaron muestras de suero de niños de ambos sexos (n = 69), clínicamente sanos, elegidos al azar, provenientes del Colegio "Patria de Bolívar", ubicado en Santa Mónica - Caracas, con edades comprendidas entre 4 y 14 años, cuyos padres o representantes aceptaron y dieron su consentimiento informado para la participación del niño en el estudio, todos residentes actuales de la Gran Caracas. Los niveles de Zn y Cu se determinaron en muestras de suero, recolectadas luego de un periodo de ayuno de 8 a 12 horas, libres de hemólisis, ictericia y turbidez, por un método estandarizado y controlado, de espectrofotometría de absorción atómica. **Resultados:** Las concentraciones séricas promedio de Zn, Cu y relación Zinc/Cobre (Zn/Cu) fueron de 1,159 ± 0,269, 1,660 ± 0,238 y 0,712 ± 0,206, mg/L, respectivamente. No hubo diferencias significativas en las concentraciones de los elementos Zn y Cu entre los varones y las hembras en los diferentes grupos etarios. No se encontraron deficiencias de Zn y Cu en los niños incluidos en estudio. Los valores de referencia determinados para Zn fueron de 0,781 – 1,815 mg/L, Cu 1,230 – 2,132 mg/L y relación Zn/Cu 0,398-1,223. **Conclusiones:** La metodología estandarizada que se empleó para llevar a cabo las respectivas determinaciones de Zn y Cu por Espectrofotometría de absorción atómica, resultó adecuadamente precisa, y útil para el análisis de las muestras clínicas. Es necesario establecer los valores de referencia de estos oligoelementos en la población pediátrica, a fin de poder evidenciar posibles deficiencias que puedan afectar el normal desarrollo neurológico y cognoscitivo en los niños, entre otros aspectos.

Palabras claves: Niños, Pediatría, Valores de referencia, Cobre, Zinc, espectrofotometría de absorción atómica.

REFERENCE VALUES OF ZINC AND COPPER IN APPARENTLY HEALTHY CHILDREN

SUMMARY

Introduction: Zinc (Zn) and copper (Cu) are trace elements important for the normal cognitive and neurological development of children. **Objective:** To establish the reference values of serum Zn and Cu in apparently healthy children. **Methods:** Serum samples from children of both sexes (n = 69), clinically healthy, randomly chosen, from the Colegio "Patria de Bolívar", located in Santa Mónica - Caracas, aged between 4 and 14 years, were used. Their parents or representatives accepted and gave their informed consent for the child's participation in the study, all of them current residents of Greater Caracas. Zn and Cu levels were determined in serum samples, collected after a fasting period of 8 to 12 hours, free of hemolysis, jaundice, and turbidity, by a standardized and controlled method of atomic absorption spectrophotometry. **Results:** The mean serum concentrations of Zn, Cu, and the Zinc / Copper ratio (Zn / Cu) were 1,159 ± 0,269, 1,660 ± 0,238 and 0,712 ± 0,206 mg/L, respectively. There were no significant differences in the concentrations of the elements Zn and Cu between males and females in the different age groups. Zn and Cu deficiencies were not found in the children included in the study. The reference values determined for Zn were 0,781 - 1,815 mg/L, Cu 1,230 - 2,132 mg/L and Zn / Cu ratio 0,398 - 1,223. **Conclusions:** The standardized methodology that was used to carry out the respective determinations of Zn and Cu by atomic absorption spectrophotometry, was adequately precise and useful for the analysis of clinical samples. It is necessary to establish the reference values of these trace elements in the pediatric population, in order to be able to show possible deficiencies that may affect normal neurological and cognitive development in children, among other aspects.

Key words: Children, Pediatrics, Reference values, Copper, Zinc, atomic absorption spectrophotometry.

Solicitar copia a: Dra. María Fatima Garcés (mariafatimagarcés@hotmail.com; mariafatimagarcésasilva@gmail.com)

Introducción

El cobre (Cu) y el zinc (Zn) son micronutrientes esenciales que desempeñan funciones indispensables para mantener la vida, el crecimiento, la diferenciación celular y reproducción; por lo que sus deficiencias producen alteraciones funcionales y estructurales que generan un deterioro celular y tisular, que afecta al sistema inmunológico y al desarrollo neurológico y cognoscitivo de los niños, entre otros (1-6).

El zinc como oligoelemento tiene tres funciones importantes: catalítica, estructural y reguladora (4, 5). Es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y al ser un ion intracelular se encuentra en su mayoría en el citosol. Es el segundo oligoelemento en relación a la cantidad total en el organismo, siendo superado por el Fe (7). El Zn se encuentra presente en todos los órganos, tejidos, fluidos y secreciones del cuerpo humano. Aproximadamente el 83% del Zn en el organismo, se encuentra en músculo y hueso y el 95% se encuentra a nivel intracelular (8).

Se considera que la ingesta inadecuada de Zn es responsable del 20% de la mortalidad infantil mundial (9). Los niños con anemia por deficiencia de hierro tienen niveles séricos elevados de Cu y niveles séricos bajos de Zn (10). Las deficiencias de oligoelementos surgen de una baja ingesta dietética y se desarrollan especialmente cuando aumentan las necesidades o se agotan las reservas corporales. La absorción de oligoelementos puede verse afectada por una mayor ingesta de componentes dietéticos, como el fitato o la ingesta excesiva de suplementos minerales (11). Otro posible mecanismo para la deficiencia de oligoelementos es la excreción o el uso excesivo. La deficiencia de Zn y Cu también se encuentra en síndromes de malabsorción, como diarrea crónica, enfermedad celíaca, enfermedad inflamatoria intestinal, ileostomía, cirrosis alcohólica y anemia hemolítica (12).

El Cu también es un nutriente dietético vital, aunque solo en pequeñas cantidades del metal son necesarios para el bienestar. El Cu es el tercer oligoelemento traza más abundante en el organismo (luego del hierro y el Zn). El cobre está presente en casi todos los tejidos del cuerpo y se almacena principalmente en el hígado y en menor proporción en el cerebro, el corazón, riñón y músculos (13). El cobre se absorbe en el intestino y es transportado al hígado.

En la sangre, el cobre es principalmente distribuido entre los eritrocitos y el plasma (14). Se transporta en forma de ceruloplasmina al plasma donde se controla su metabolismo y se excreta en la bilis (15). La ceruloplasmina representa el 90% del contenido de cobre en sangre y es responsable de llevar cobre a las células deficientes (16). La superóxido dismutasa una metaloenzima de cobre-zinc contiene el 60% del cobre en los eritrocitos y el restante 40% está débilmente unido a otras proteínas y aminoácidos.

En los últimos años, se han realizado esfuerzos para establecer valores y proporciones normales de metales en humanos, incluyendo suero y plasma, con el objetivo de determinar los rangos que mejor apoyan una correcta actividad enzimática y condición de salud. El zinc y el cobre tienen efectos antagónicos entre sí. Hay varios estudios publicados que afirman que la proporción normal de zinc a cobre, en niños y adultos, es cercana a 1:1 y esta se ha asociado con una respuesta inmune más eficaz a los agentes infecciosos (17). El zinc mantiene un equilibrio con el cobre en la sangre, y los niveles en sangre de ambos tienden a estar inversamente relacionados, los niveles bajos de zinc plasmático casi siempre se asocia con niveles altos de cobre sérico.

La relación Zinc/Cobre (Zn/Cu) se ha establecido como un método rápido para determinar el estado funcional del sistema metalotioneína (MT). Las proporciones más bajas de Zn/Cu pueden reflejar deficiencia de zinc corporal y disminución de la eficiencia en la eliminación de metales pesados nocivos de los tejidos y la sangre a través del sistema MT. Una de las principales funciones de MT es eliminar iones metálicos, principalmente para mantener homeostasis de zinc y cobre (18). Dado que el zinc y el cobre interactúan con MT, la relación Zn/Cu puede ser visto como una forma de determinar el estado del sistema MT.

Las deficiencias de Zn y/o Cu son frecuentes en lactantes, niños y mujeres embarazadas, de ahí la importancia de tener establecidos los niveles de referencia y contar con una metodología estandarizada y precisa para medirlos. El objetivo de este estudio fue establecer los valores de referencia séricos de Zn y Cu así como la Relación Zinc/Cobre en niños aparentemente sanos, empleando una metodología estandarizada y precisa fundamentada en la espectrofotometría de absorción atómica.

Métodos

Muestra

La muestra incluida en el estudio estuvo constituida por sesenta y nueve (69) niños aparentemente sanos seleccionados de manera intencional según criterios de inclusión, provenientes del Colegio "Patria de Bolívar", ubicado en Santa Mónica-Caracas, con edades comprendidas entre 4 y 14 años, cuyos padres o representantes aceptaron y dieron su consentimiento informado para que el niño participara en el estudio, todos residentes actuales de la Gran Caracas. Los criterios de inclusión para los participantes de este estudio incluyeron: a) Niños aparentemente sanos, normotípicos sin ninguna condición neurológica ni enfermedad gastrointestinal demostrada; b) Consentimiento informado escrito firmado, (donde se explican los beneficios y riesgos de su participación en la investigación).

Es importante destacar que el protocolo del estudio se realizó bajo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki ratificada por la 29th World Medical Assembly, Tokio 1995 (19). Este estudio contó con la aprobación del Comité de Bioética de la Maternidad Concepción Palacios y el consentimiento informado de los padres y/o representantes de los niños incluidos en el estudio.

A cada niño incluido en el estudio se le realizó una toma de muestra de sangre venosa para la obtención de suero. La muestra de suero para la determinación de Zinc y Cu se obtuvo mediante una punción venosa en la región ante cubital del brazo, luego de 8 a 12 horas de ayuno, considerando e implementando todas las medidas para evitar la estasis venosa, así como la hemólisis al momento de la toma. La muestra de sangre venosa se recolectó en tubos comerciales al vacío con tapón de plástico blando y sin anticoagulante (Vacutainer® de BD Life Sciences). Inmediatamente luego de la retracción del coágulo, la muestra se centrifugó 10 minutos a 3.500 rpm. Una vez centrifugada, la muestra de suero fue separada del paquete globular y alícuotada en tubos de reacción (Eppendorf) estériles y deionizados. Inmediatamente, las alícuotas fueron conservadas a -70°C hasta el momento de su análisis.

Determinación de Zn y Cu

Las concentraciones séricas de Zn y Cu se determinaron por espectrometría de absorción atómica utilizando un Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer, modelo Analyst 200 (Norwalk, CT, EEUU), el cual emplea la absorción, emisión y fluorescencia de radiación electromagnética por partículas atómicas como principio para la determinación de cada especie atómica, y está compuesto por una lámpara de cátodo hueco para Cu y una lámpara de cátodo hueco para el Zn, así como por un quemador o mechero, constituido a su vez por un nebulizador de la muestra, y dispositivos de selección de longitudes de onda, transducción, amplificación y lectura de la señal (20).

La técnica de espectrometría de absorción atómica empleada consistió en la medición de la especie atómica por absorción a una longitud de onda de 234,75 nm para el Cu, y de 213, 86 nm para Zn. Las especies atómicas se lograron por atomización con la flama o llama, nebulizando y luego diseminando la muestra en forma de aerosol dentro de la llama de aire de acetileno con estequiometría oxidante.

Para llevar a cabo las determinaciones, todo el material de laboratorio empleado fue tratado con ácido nítrico al 10% durante doce horas, y posteriormente lavado cuatro veces con agua destilada desionizada.

Los estándares de Zn y Cu fueron preparados según las especificaciones del manual de Perkin Elmer, utilizando glicerol al 10%. Para cada elemento, se preparó una solución madre al 10%, a partir de la cual se realizaron diferentes diluciones con el fin de obtener patrones de diferentes concentraciones que incluyeron 0.25 mg/L, 0.50 mg/L y 0.75 mg/L para el Zn, y 0.2 mg/L, 0.4 mg/L, 0.8 mg/L para el Cu. Las concentraciones de los patrones fueron elegidas considerando los límites de cuantificación (Límite inferior de cuantificación y linealidad del método), así como los valores de referencia y variaciones fisiopatológicas para cada uno de los analitos (21).

Para llevar a cabo el procesamiento, las muestras fueron diluidas 1:5, lo cual se consiguió añadiendo 480 µl de agua destilada desionizada a 120 µl de muestra, obteniendo un volumen final de 600µl, el cual fue sometido a análisis. Todas las muestras se analizaron por duplicado y se promediaron sus

valores, obteniendo las concentraciones de los elementos (Zn, Cu) por regresión lineal simple, de acuerdo al software del equipo Perkin Elmer.

Antes de llevar a cabo el análisis de las muestras, se determinó la precisión del sistema de medición mediante el análisis interdiario de un pool de muestras, el cual fue elaborado a partir de sueros de pacientes aparentemente sanos, libre de interferentes (turbidez, hemólisis, ictericia) y riesgos biológicos (VIH, Virus de Hepatitis), los cuales fueron recolectados y almacenados en iguales condiciones establecidas para las muestras de pacientes y controles. El análisis interdiario del pool de sueros se llevó a cabo por duplicado, diariamente durante 4 semanas. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente, para obtener media, desviación estándar y coeficiente de variación. El coeficiente de variación se utilizó para establecer la imprecisión del sistema de medición. Adicionalmente, se empleó la media ± 2 desviaciones estándar (95% de confianza), para establecer el rango de valores esperados en el análisis sucesivo del pool de muestras. Durante el procesamiento de las muestras se llevó a cabo el análisis por duplicado del mencionado pool de muestra, antes y después de la corrida analítica, con el fin de llevar a cabo el control del proceso de medición, empleando como criterios de aceptación y rechazo las reglas y planes múltiples de Westgard. Todos los datos generados en el control del proceso de medición fueron registrados y graficados semanalmente (gráfica de Levey-Jennings), a fin de llevar a cabo la identificación de datos atípicos y tomar las acciones correctivas y preventivas pertinentes.

Para llevar a cabo el análisis de los resultados de las muestras, los valores de referencia empleados fueron 0,82 a 2,80 $\mu\text{g/ml}$ para el Cu y 0,78 a 2,51 $\mu\text{g/ml}$ para el Zn, respectivamente.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos del procesamiento de las muestras y determinación de los oligoelementos, fueron procesados mediante el software estadístico R (22) y se analizaron siguiendo los procedimientos estadísticos recomendados por la Federación Internacional de Química Clínica (23). En primer lugar, se realizó un análisis de estadística descriptiva, se verificaron valores aberrantes o extremos con base a los criterios de Dixon (24) y el cumplimiento de los supuestos estadísticos normalidad mediante la prueba estadística Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) en R. Asimismo se hizo uso

de estadística inferencial para comprobar diferencias de medias entre grupos para aplicar criterios de partición entre grupos.

Valores de referencia

Los valores de referencia se calcularon considerando el 95% central de la distribución, usando como límites inferior y superior del valor de referencia los percentiles 2.5 y 97.5, respectivamente. El algoritmo de cálculo de valores de referencia respeta lo recomendado por el protocolo NCCLS C28-A2, (24) y recomendaciones de otros autores (25,26).

Resultados

Características generales de la muestra

La muestra estuvo conformada por 69 niños neurotípicos, con edades comprendida entre 4 y 12 años, con una media de 7 años. Con respecto al sexo, el 54% fueron del género femenino y 46% del masculino.

Determinación de Zn y Cu

Se obtuvieron coeficientes de variación de 2,1 % y 2,0% para Cu y Zn, respectivamente.

En cuanto al análisis de muestras, los datos obtenidos de la determinación de Zn, Cu y Relación Zn/Cu se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles de Zn, Cu y Relación Zn / Cu en niños aparentemente sanos.

Estadísticos	Zn (mg/L)	Cu (mg/L)	Zn/Cu
Mínimo	0.665	1.070	0.373
Media	1.159	1.660	0.712
Mediana	1.105	1.645	0.666
Máximo	2.165	2.360	1.429
Desviación típica	0.269	0.238	0.206
N	67	69	67

Partición en grupos por factores de variabilidad Biológica (edad, sexo, etc)

Se decidió evaluar como posible factor de partición el género (Sexo) de los individuos. Los gráficos de densidad (Gráfico 1) permiten observar la

distribución de los resultados de los oligoelementos Cobre y Zinc, y su Relación. Se puede observar que en los tres casos las distribuciones según el sexo son similares, la curtosis de la distribución de valores de Zinc y la Relación Zn/Cu, para el género femenino es leptocúrtica al compararle con la del género masculino. Asimismo, se observa también para estas dos pruebas que sin importar el sexo, parecen reportar resultados sesgados a la izquierda. Ahora analizando el comportamiento de cada variable por el género, gráficamente en los tres casos se observa que los resultados se superponen, por lo que debemos esperar al estudio de la diferencia de medias.

Se verificó la normalidad de los subgrupos creados según el género femenino o masculino, (Tabla 2), obteniendo a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov modificada por Lilliefors que no es significativa ($p > 0,05$), por lo que no se rechaza la hipótesis de normalidad con un nivel de significación del 5%.

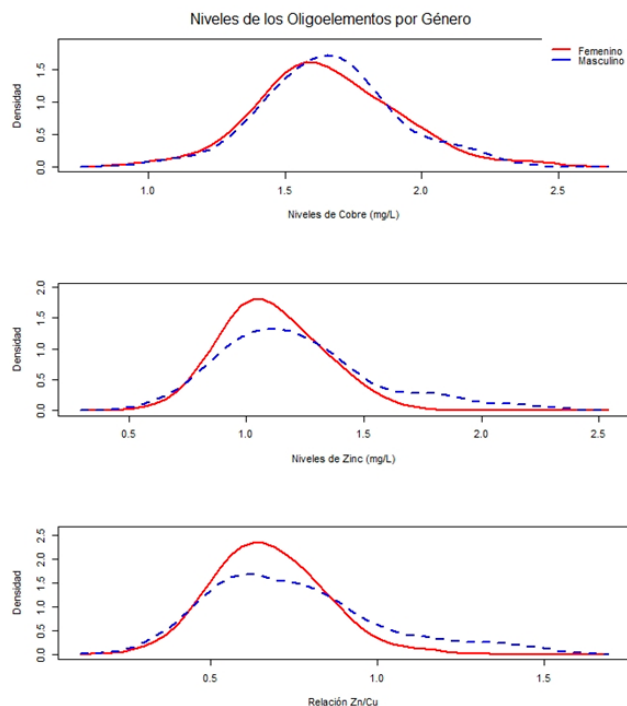


Gráfico 1. Gráficos de densidad. Distribución de niveles de Cobre, Zinc y Relación de Zn/Cu sérico en niños aparentemente sanos según su género

Tabla 2. Prueba de normalidad por género

Oligoelemento / Relación	p valor Lilliefors	
	Kolmogorov-Smirnov	
	Femenino	Masculino
Cobre	0,5646	0,3061
Zinc	0,3659	0,1955
Relación Zn/Cu	0,5817	0,1494

Partiendo de la normalidad de los subgrupos según el género, se verificó la homogeneidad de las varianzas para aplicar la prueba t para muestras independientes según corresponda. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Comparación de Niveles de Zn, Cu y relación Zn/Cu en niños

Oligoelemento / Relación	Prueba Igualdad de las varianzas		Prueba t muestras independientes	
	F	p valor	T	p valor
Cobre	1,1672	0.6649	-0,09044*	0.9282
Zinc	0.31471	0.001306	-1,6882**	0.09789
Relación Zn/Cu	0.32138	0.001584	-1,5255**	0.1337

* Prueba t asumiendo varianzas iguales. ** Prueba t para varianzas diferentes

Considerando los resultados de la prueba F para homogeneidad de varianzas, asumimos varianzas iguales para los valores de cobre ($p > 0,05$) y heterocedasticidad de las varianzas en los grupos para el Zinc y la Relación de Zn/Cu ($p < 0,05$). Al aplicar la prueba t para muestras independientes no se encontraron diferencias significativas en los valores de Cobre, Zinc y la Relación Zn/Cu para un nivel de significación de 5% ($p > 0,05$) en los grupos según el género, por lo tanto no se justifica la partición o determinación de los valores de referencia en grupos según el género.

Determinación de outliers. Criterios de Dixon

Se entiende como valores extremos aquellos datos que se apartan de modo notable de la distribución y

que, por tanto, es poco verosímil que pertenezcan a la misma. Estos valores no corresponden a posibles errores analíticos, lo cual fue contemplado en el control interno de la calidad realizado. Una vez identificados los valores extremos podrán ser eliminados de los datos. Se recomienda el criterio de Dixon, para ello se calculó la relación D/R, donde D es la diferencia absoluta entre observación extrema (máximo o mínimo) y la siguiente más grande (o más pequeña) observación, y R es el rango de todas las observaciones (máximo - mínimo). El valor de corte es 1/3; es decir, si el valor observado de D fuera igual o superior a un tercio del rango R, la observación extrema se eliminaría (24). Con base a estos criterios no se obtuvieron valores extremos en los oligoelementos Cobre y Zinc, ni en la relación Zn/Cu, como se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4. Criterio de Dixon para identificación de valores extremos

Valor D	Zn	Cu	Zn/Cu
X2-X1	0.070	0.030	0.047
Xn-Xn-1	0.305	0.165	0.130
Dixon R/3	0.5	0.43	0.136

Verificación normalidad para todos los datos

Cuando se utiliza el método paramétrico, el número de individuos de referencia seleccionados debe ser de 30 como mínimo, pero si se utiliza el método no paramétrico, 120 es el número mínimo (27). En nuestra experiencia, el tamaño muestral es mayor de 30, pero menor a 120, por lo que se verificó los supuestos de normalidad para cada uno de los oligoelementos. El Gráfico 2, presenta la comparación de los gráficos de caja en cada uno de los elementos. Observamos que las distribuciones se asemejan a una normal, lo cual se corresponde a lo mostrado en los resultados de la Tabla 5, con algunos valores outliers según los criterios de los gráficos de caja (desestimados por los criterios de Dixon presentados).

Gráficos de Caja para observar la distribución de los datos

Con estos gráficos se puede observar que las distribuciones se asemejan a una distribución normal, con algunos valores outliers según los criterios de los gráficos de caja, pero para asegurar esto debemos aplicar un test para verificar normalidad.

En la Tabla 5, mediante el test de normalidad de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov), se verificó la hipótesis de que las muestras provienen de una

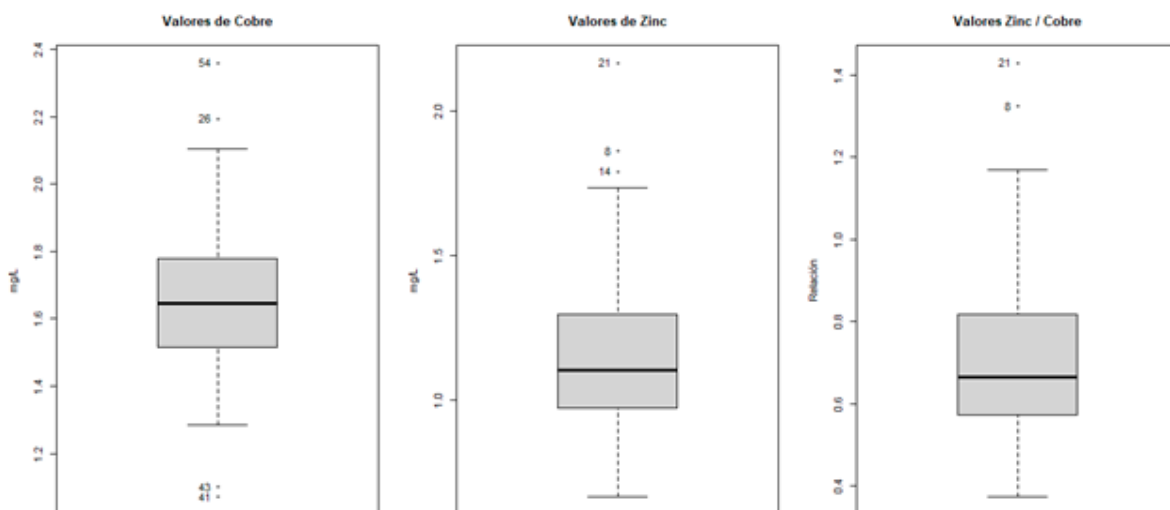


Gráfico 2. Gráficos de Caja con la distribución de todos los datos por Oligoelemento y su relación

Tabla 5. Resultados del Test de Normalidad con todos los individuos

Oligoelemento / Relación	Estadístico de Contraste	p valor
Cobre	D = 0.074673	0.4446
Zinc	D = 0.10362	0.07147
Relación Zn/Cu	D = 0.10342	0.07256

población normal, obteniendo que en todos los casos el p valor fue > 0,05, por lo que podemos asumir la normalidad de todas las distribuciones.

Con todo lo obtenido, se pudieron determinar los valores de referencia como los percentiles 2,5 y 97,5 que contiene al 95% de los valores que serán usados para referenciar los resultados de los diferentes individuos de características similares a nuestra experiencia. Estos valores se muestran en el Gráfico 3, donde se evidencia que los intervalos de referencia biológicos para el Cobre se encuentran entre 1,230 y 2,132 mg/L, Zinc entre 0,781 y 1,815 mg/L y la Relación Zn/Cu entre 0,398 y 1,223.

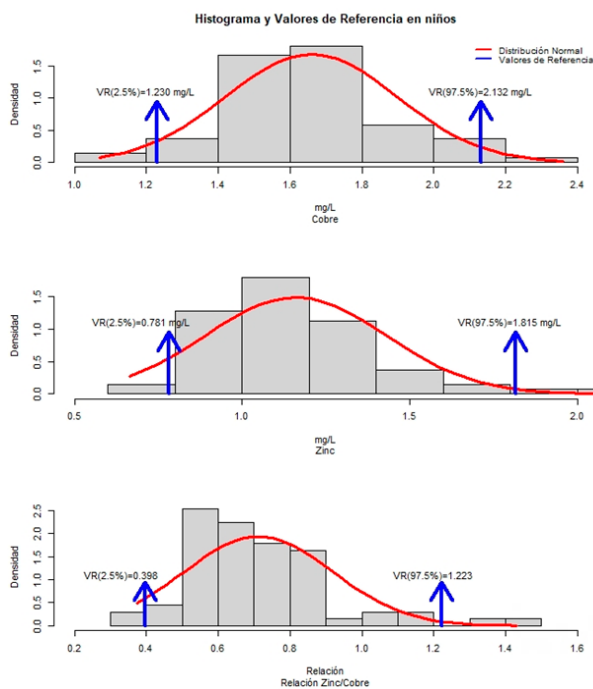


Gráfico 3. Distribución y Valores de Referencia

Discusión

En el presente trabajo, se determinaron las concentraciones de Zn y Cu en el suero de 69 niños sanos seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión con edades comprendidas entre 4 a 14 años, que residen en la Gran Caracas. Los valores de Zn sérico <0,70 mg/L (Gibson *et al.* 1989) (27), y Cu sérico <0,90 mg/L (Cordano 1998) (28), respectivamente, se escogieron como puntos de corte para indicar una nutrición inadecuada en estos micronutrientes.

Los niveles medios de Zn fueron $1,159 \pm 0,269$ mg/L, no encontrándose diferencia significativa en el nivel del zinc entre varones y hembras en los diferentes grupos de edad; este hallazgo concuerda con los trabajos de Carpentieri y col (29), Lockitch G y col (30), Feliu y col en Argentina (31) y Silva y col en Mérida, Venezuela (32). El valor de zinc sérico por debajo de 0,70 mg/L sugiere una nutrición inadecuada por deficiencia de Zn. Este valor se considera el límite más bajo para los adultos y los niños normales según Gibson y col (27). De acuerdo con esto, uno sólo de los niños del estudio (1,4%), presentó valores por debajo de esta cifra. El 71,7% de la población estudiada presenta valores de Zn entre 1 y 2 mg/L. Dorner y col., para una población similar (5 - 18 años), muestran valores de Zn sérico entre 0,64 - 1,10 mg/L, más bajos que los resultados obtenidos en este trabajo (33).

Con respecto a los niveles de Cobre la media obtenida fue de $1,660 \pm 0,238$ mg/L, sin diferencias significativas entre niños y niñas. Se encontró que el 91,3% de los niños presenta valores de Cu entre 1 y 2 mg/L. Dorner K y col. hallaron para Cu sérico una media de 0,98 mg/L con un rango entre 0,66 - 1,36 mg/L (34), resultados similares a los reportados por Lockitch G y col. en niños entre 1 y 13 años de edad 0,80 - 1,20 (30), Silva T y col. en una población de niños obtuvieron una media de $1,18 \pm 0,43$ mg/L con un rango 0,87 - 1,49 (32) similar a lo reportado por Brunetto y col. (35), todos estos estudios hallaron niveles inferiores respecto a los encontrados en el presente trabajo. Otros estudios realizados en el mismo grupo de edad muestran valores similares a los de este estudio (36).

En este estudio no se encontraron niveles nutricionales inadecuados de Zn y Cu, lo cual puede estar relacionado a que estos niños no presentan desnutrición (datos no mostrados). Fernández y col

encontraron que a medida que aumenta el grado de desnutrición en el niño, disminuyen los niveles de Zn y Cu (37). Niveles disminuidos o hipocupremia fue reportada por Duran y col. (38) y Subotzky y col. 1992 (39) en infantes y niños malnutridos.

Por otra parte, cuando analizamos la relación Zn/Cu encontramos una media de $0,712 \pm 0,206$ mg/L y un rango de 0,398 - 1,223 mg/L. Valores de referencia para la relación Zn/Cu similares fueron reportados por Lockitch G y col., estos investigadores encontraron que la relación se mantenía constante a lo largo de todas las edades de la infancia, desde un mínimo de 0,4 hasta un máximo de 1,3 (30).

Las carencias marginales de estos elementos pueden estar determinadas por el ingreso inadecuado, la composición de la dieta, las infecciones recurrentes, las parasitosis, la diarrea y otras causas (40).

Conclusiones

Conocer el balance de micronutrientes es importante, en especial lo que se refiere al Zn, Cu y la relación Zn/Cu debido a que da una idea del estado nutricional del niño y orienta al clínico sobre los problemas que puede presentar el niño en su desarrollo cognoscitivo y/o neurológico normal, o bien que estemos en presencia de un problema de disbiosis con una relación Zn/Cu aumentada, u otro proceso infeccioso o malnutrición.

La metodología estandarizada que se empleó para llevar a cabo las respectivas determinaciones de Zn y Cu por Espectrofotometría de absorción atómica, resultó adecuadamente precisa y útil para el análisis de las muestras clínicas. Los valores de referencia establecidos son un aporte para poder evidenciar posibles deficiencias de estos oligoelementos en la población pediátrica, a fin de poder identificar posibles deficiencias que puedan afectar el normal desarrollo neurológico y cognoscitivo en los niños, entre otros aspectos.

Referencias

- Hegazy AA, Zaher MM, Abd El-Hafez MA, Morsy AA, Saleh RA. Relation between anemia and blood levels of lead, copper, zinc and iron among children. *BMC Res Notes*. 2010;3:1-9. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-133>
- Taha G, Afify M, Elmalah W and Gaber M. Impacts of Blood Lead Level on Trace Element Status and Hematological Parameters in Anemic Children from Beni-Suef, Egypt. *J Clin Toxicol*. 2018;8:2. <https://doi.org/10.4172/2161-0495.1000383>
- Ergul AB, Turanoglu C, Karakukcu C, Karaman S, Altuner Torun Y. Increased Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia in Children with Zinc Deficiency. *Eurasian J Med*. 2018;50:34-37. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2017.17237>
- Voskaki I, Arvanitidou V, Athanasopoulou H, Tzagkaraki A, Tripsianis G, Giannoulia-Karantana A. Serum copper and zinc levels in healthy Greek children and their parents. *Biol Trace Elem Res*. 2010;134(2):136-145. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8462-2>
- Burjonrappa SC, Miller M. Role of trace elements in parenteral nutrition support of the surgical neonate. *J Pediatr Surg*. 2012;47(4):760-771. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2012.01.015>
- Özden TA, Gökçay G, Cantez MS, Durmaz Ö, İşsever H, Ömer B, Saner G. Copper, zinc and iron levels in infants and their mothers during the first year of life: a prospective study. *BMC Pediatr*. 2015;15:157. <https://doi.org/10.1186/s12887-015-0474-9>
- Rubio C, González-Weller D, Martín-Izquierdo R.E, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A. El zinc: oligoelemento esencial. *Rev Nutr Hosp*. 2007; 22(1):101-107.
- López D, Castillo C, Diazgranados D. El zinc en la salud humana I. *Rev Chil Nutr*. 2010;37(2):234-239. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200013>
- Jacks B, Sall M, Jacks G. A first assessment of zinc intake in Niger Inland Delta, Mali. *Sight and Life*. 2008;2:27-32.
- Ece A, Uyanik BS, Iscan A, Ertan P, Yigitoglu MR. Increased serum copper and decreased serum zinc levels in children with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res*. 1997;59:31-39. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02783227>
- Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr*. 2000;130:1378-1383. <http://dx.doi.org/10.1093/jn/130.5.1378S>
- Gibson RS. Trace element deficiencies in humans. *Can Med Assoc J*. 1991;145:231.
- Osredkar J and Sustar N. Copper and zinc, biological role and significance of copper/zinc imbalance. *J Clin Toxicol*. 2011;S3:001. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0494.S3-001>
- Minoia C, Sabbioni E, Apostoli P, et al. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci Total Environ*. 1990;95:89-105. [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(90\)90055-y](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(90)90055-y)
- Adelstein S and Vallee B. Copper metabolism in man. *N Engl J Med*. 1961;265:892-897. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM196111022651806>

16. Harris ED. Copper homeostasis: the role of cellular transporters. *Nutr Rev.* 2009;59(9):281–285. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2001.tb07017.x>
17. Van Weyenbergh J, Santana G, D'Oliveira A Jr, Santos AF Jr, Costa CH, Carvalho EM, et al. Zinc/copper imbalance reflects immune dysfunction in human leishmaniasis: and ex vivo and in vitro study. *BMC Infect Dis.* 2004;4:50. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-4-50>.
18. Aschner M, Syversen T, Souza DO, Rocha JBT. Metallothioneins: mercury species-specific induction and their potential role in attenuating neurotoxicity. *Exp Biol Med.* 2006;231:1468–1473. <https://doi.org/10.1177/153537020623100904>.
19. The World Medical Association ethics unit declaration of helsinki. Disponible en: <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>. [citado 21 mayo 2019].
20. La espectrometría de absorción atómica. QuimiNet. 2008. Disponible en: <https://www.quiminet.com/articulos/la-espectrometria-de-absorcion-atmica-31648.htm>. [citado 21 mayo 2019].
21. The Perkin-Elmer Corporation. Métodos Analíticos para espectrofotometría de absorción atómica. 1996. p 160.
22. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
23. Solberg, H.E. Approved Recommendation on the Theory of Reference Values Part 5. Static Treatment of Collected Reference Values Determination of Reference Limits. *J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* 1987; 25:645-656.
24. NCCLS. How to define and determine intervals in the clinical. 2nd ed. NCCLS document C28A2, 2000
25. Fuentes Arderiu (Estimación, adopción y validación de intervalos de referencia (ifcc.org)),
26. Queraltó [https://www.seq.es/download/revista/736/1744/1058239757/1024/cms/QuimicaClinica1983;2\(1\)43-55.pdf](https://www.seq.es/download/revista/736/1744/1058239757/1024/cms/QuimicaClinica1983;2(1)43-55.pdf)
27. Gibson R, Smit-Vanderkooy P, McDonald A, Goldman A, Ryan B, Berry M. A growth-limiting, mild zinc-deficiency, syndrome in some Southern Ontario boys with low height percentiles. *Am J Clin Nutr.* 1989;49:1266-1273. doi: 10.1093/ajcn/49.6.1266.
28. Cordano A. Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(Suppl):1012S-1016S. doi: 10.1093/ajcn/67.5.1012S.
29. Carpentieri V, Myers J, Thorpe L, Daeschner CW, Haggard ME. Copper, zinc and iron in normal and leukemic lymphocytes from children. *Cancer Res.* 1986;46: 981-984.
30. 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, and related proteins. *Clin Chem.* 1988;34(8):1625-1628.
31. Feliu M, Piñeiro M, López C, Slobodianik N. Valores de referencia de cobre, zinc y selenio en niños. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2005;39(4):459-462.
32. Silva T, Alarcón O, Alarcón A, Ramírez M, D'Jesús I, Mejía A. Niveles séricos de Zinc (Zn), hierro (Fe) y cobre (Cu) de preescolares que acuden a consulta en los ambulatorios urbanos tipo III de la ciudad de Mérida. *MedULA.* 2005;12(1-4):18-25.
33. Dörner K. Zinc in serum: report 1. En: Meites S, editor. *Pediatric clinical chemistry: Reference (normal) values.* Washington, DC: AACC Press, 1989, p.296
34. Dörner K, Copper S. En: Meites S, editor: *Pediatric clinical chemistry: Reference (normal) values.* 3rd. ed. Washington, DC: AACC Press, 1989, p.101.
35. Brunetto M, Alarcón O, Dávila E, Gallignani M, Rondón C, Burguera JL, et al. Serum trace elements and fat-soluble vitamins A and E in healthy pre-school children from a Venezuelan rural community. *J Trace Elements Med Biol.* 1999;13: 40-50.
36. Voirin J, Leroy F, Guincestre-Ybureau F et al. Vitamin and trace elements states in children with progressive muscular dystrophy. *Trace Elem Med.* 1989;6:165-168.
37. Fernández D, Vásquez A, Villasmil J, Ocando A, Manzanilla J, Pereira N, et al. Metodologías analíticas para la determinación de Cu y Zn en suero sanguíneo de niños zulianos con deficiencias nutricionales por ETA-AAS. *Ciencia.* 2012;20(4):244-253.
38. Castillo-Durán C, Uauy R. Copper deficiency impairs growth of infants recovering from malnutrition. *Am J Clin Nutr.* 1988;47:710-714
39. Subotzky E, Heese H, Sive A, Dempster W, Sacks R, Malan H. Plasma zinc, copper, selenium, ferritin and whole blood manganese concentrations in children with kwashiorkor in the acute stage and during refeeding. *Ann Trop Paediatr.* 1992;12:13-22.
40. Prasad A. Zinc in human health: an update. *J Trace Elem Exp Med.* 1998;11:63-87.