

EL ZINC PLASMÁTICO Y SU RELACION CON LOS PERCENTILES DE CRECIMIENTO DE NIÑOS COSTARRICENSES EN ÁREAS URBANAS

Miguel E. Flores ¹, Jorge A. Ramírez ¹, Emilio Vargas ¹,
Joaquín B. Calivá ², Carlos de Céspedes ³

Key word Index: Zinc, Child Nutrition

RESUMEN

El presente estudio reporta la relación de los percentiles de crecimiento con algunos indicadores del estado nutricional de Zinc, en un grupo de 114 niños costarricense con edades entre los seis y los 14 meses. Se seleccionaron de áreas urbanas pobres en la provincia de San José, mediante el sistema de muestreo por conglomerados. Para medir la adecuación nutricional de zinc se utilizó el valor de zinc plasmático, el valor en el plasma de las principales proteínas relacionadas con su transporte (albúmina y a 2 macroglobulina) y de la proteína transportadora del retinol (P.T.R) como indicador de disponibilidad de zinc a nivel hepático.

En el 14 por ciento de los casos los niveles plasmáticos de zinc están por debajo del límite inferior normal (< 70 ug/dl) que estadísticamente encontramos con confiabilidad del 95 por ciento para los niños con percentiles normales de crecimiento (peso / talla, edad / talla, mayores del 10 percentil). Es en este grupo de niños normales (55 por ciento) donde se encuentran la mayoría de los dieciséis casos con niveles subnormales de zinc. Los niños con concentraciones menores de 70 ug/dl de zinc en el plasma y los que tenían valores normales no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), ni relación con las categorías de estado nutricional según medidas antropométricas y bioquímicas del estudio (albúmina, a 2 macroglobulina y P.T.R.). En los niños con desgaste y achicamiento, se encontraron concentraciones promedio de zinc plasmático significativamente mayores ($p < 0.05$), de 123.7 ug/dl. El 37.2 por ciento de los niños se localizan por debajo del 10 percentil (edad / talla, peso / talla) sin relación con los indicadores de deficiencia de zinc, reportada como factor ambiental que contribuye a la frecuencia de retraso en el crecimiento en determinados grupos de población. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1985;6(1):).

1.— Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), Apartado 4, Tres Ríos, Costa Rica.

2.— Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

3.— Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" y Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

INTRODUCCION

En el informe sobre los micronutrientes en nutrición humana, la Organización Mundial de la Salud describe la importancia biológica del zinc y otros micronutrientes, y recomienda los estudios sobre el estado nutricional de las poblaciones en relación a los minerales minoritarios (33).

El zinc y el cobre son los dos minerales de este grupo que se han investigado más intensamente, ya que se les considera como los de mayor importancia en el metabolismo humano (7). El zinc ha sido identificado en su papel metabólico, principalmente como cofactor de varias metaloenzimas, setenta de las cuales se encuentran en varios sistemas de organismos vivos (15).

Actualmente no hay una determinación de laboratorio completamente satisfactoria para identificar el estado nutricional de zinc en el individuo. Sin embargo, los niveles de zinc en el pelo y el plasma están frecuentemente bajos como resultado de un consumo inadecuado de este elemento; ambos parámetros son de valor ya demostrado en el estudio del estado nutricional de zinc en el individuo (5). La vitamina A es movilizada de las reservas hepáticas y circula en el plasma principalmente como retinol, unida a un complejo específico proteína-proteína, formado por la proteína transportadora (PTR) y la prealbúmina (22). La síntesis hepática de la PTR depende de la cantidad de zinc disponible, de ahí que esta proteína es un indicador de la disponibilidad hepática de este elemento en el hombre (24), además, recientemente se ha demostrado su valor como indicador sensible del estado de nutrición proteica (20). Diferentes investigadores han demostrado una relación lineal entre la concentración de la albúmina y la concentración de zinc en la sangre (8). El 30 al 40 por ciento del zinc circulante está unido débilmente a una α —2 macroglobulina y un 60 a 70 por ciento está unido firmemente a la albúmina, por esa razón ambas proteínas se deben cuantificar, al medir la cantidad de este mineral en el plasma.

En el hombre, la deficiencia de zinc está asociada con severo retardo en el crecimiento e hipogonadismo (16), pero sus verdaderas consecuencias se hicieron evidentes en 1973, cuando Moynaham reconoció a dicha deficiencia como causa de la acrodermatitis enteropática, una enfermedad hereditaria rara, transmitida en forma autosómica recesiva (12).

Se ha demostrado posteriormente que un inadecuado estado nutricional de zinc es común en los niños preescolares con bajos percentiles de crecimiento, pertenecientes a familias de bajo ingreso económico (3, 4). Los defectos de la deficiencia de este metal son más aparentes en la infancia y en la adolescencia, debido al rápido crecimiento y aumento en los requerimientos del mismo (18). En otros estudios, la suplementación de la dieta con zinc se ha asociado a un mayor crecimiento de los niños y a un aumento en los niveles plasmáticos de este metal (27).

Los datos epidemiológicos sobre la situación nutricional del país, recogidos a través de diferentes estudios (1, 26), demuestran que los alimentos de origen vegetal, con bajo contenido de zinc, son las principales fuentes de proteínas en la dieta del costarricense. Estos estudios además muestran que existe una prevalencia de 15 por ciento a 20 por ciento de niños con retardo de un 10 por ciento o más en la talla correspondiente a la edad. Estas consideraciones indican que existen algunas condiciones de riesgo, en cuanto a déficit nutricional de zinc, principalmente para la población infantil del país, razón por lo cual se emprendió este estudio.

MATERIAL Y METODOS

Muestra

La muestra comprende 114 niños de estrato socioeconómico bajo, con edades entre los 6 y 14 meses de las áreas urbanas del Distrito de Hatillo del Cantón de San José y de los cantones de Guadalupe y Santa Ana. Fueron seleccionados mediante el método de muestreo por conglomerados y habían sido definidos para un estudio conjunto del Ministerio de Salud y el INCIENSA, a nivel nacional, en junio y julio de 1980.

Medidas antropométricas

La talla y el peso se tomó en forma estandarizada por personal auxiliar de enfermería previamente entrenado. Cada medida se hizo en dos ocasiones consecutivas, repitiendo el procedimiento cuando las medidas de peso diferían en 0.02 kg y la talla en 0.5 cm. Todos los niños al momento de tomar las medidas estaban libres de enfermedades infecciosas aparentes.

Para valorar el estado nutricional de los niños, se utilizaron las curvas para peso y talla del National Center for Health Statistics (13) y los criterios de clasificación de Waterlow (30).

Análisis de laboratorio

Previo consentimiento por escrito e información a los padres de los niños, se les tomó una muestra de sangre periférica. Se utilizaron jeringas de polipropileno con agujas de acero inoxidable, tratadas con ácido nítrico y agua desionizada para eliminar el zinc contaminante. La muestra se pasó a tubos con heparina libre de zinc detectable (Becton, Dickinson, No. 6527), especiales para la determinación de minerales traza y luego centrifugada para separar los eritrocitos del plasma, de acuerdo con técnicas establecidas (17).

El zinc plasmático fue determinado en un espectrofotómetro de absorción atómica de llama, provisto de registrador automático (Perkin Elmer Model 560) mediante aspiración de una muestra del plasma diluido 5 veces en agua destilada-desionizada y calibrado con estándares de zinc en solución al 5 por ciento de glicerol-agua (23).

La proteína transportadora del retinol y la α macroglobulina se determinaron por medio de inmunodifusión radial (M-Partigen Retinol Binding Protein α -2 macroglobulina, Accupak Kits Behring Diagnostics, American Hoechst Corp. Somerville N.J. 08876).

Las proteínas totales y la albúmina se cuantificaron en el plasma mediante la técnica descrita por Wolfon (32) y Webster (31), respectivamente.

Análisis estadístico

Se usó el sistema de computación de la Universidad de Costa Rica, con el "Paquete SPSS". Se utilizó análisis de varianza o de "t" y en los casos en donde hubo diferencias significativas al 5 por ciento los medios se separaron mediante la prueba de Duncan. Los límites de confianza para la distribución según el estado nutricional de los niños se establecieron mediante la fórmula: $Li \pm t \frac{Sc}{n}$ en donde: Li = Límite de confianza, X = valor promedio, t = valor de la tabla de "t" de student, Sc = suma de cuadros (59.938), n = número de individuos.

RESULTADOS

El análisis de varianza según la procedencia (cuadro 1) no demuestra diferencias significativas en los valores de zinc plasmático, ni en las proteínas relacionadas con el metabolismo de este elemento. En las tres comunidades los valores promedio del zinc y las proteínas (albúmina, P.T.R. a 2 macroglobulina) en el plasma están dentro de los límites normales. Los valores de zinc en la Figura 1, se distribuyen en un ámbito de 52 ug/dl a 163 ug/dl. Dieciseis casos tuvieron concentraciones por debajo de 70 ug/dl.

En el cuadro 2 se analiza los valores promedio de zinc y proteínas plasmáticas estudiadas, en relación al estado nutricional de los niños. Se puede observar que los valores promedio de estos indicadores en el plasma, están dentro del ámbito normal. Los niños con achicamiento y desgaste, mostraron concentraciones de zinc plasmático significativamente mayores ($p < 0.05$). Con los valores promedio de las proteínas no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos de niños. En la Figura 2 se muestra la distribución y los límites de confianza de los valores plasmáticos de zinc en cada uno de los grupos analizados.

Mediante el análisis de límites de confianza (figura 2), en los niños con nutrición normal se encontró un valor mínimo normal de zinc en el plasma de 70 ug/dl, semejante a la cifra de 68 ug/dl establecida por la Academia Americana de Pediatría (14).

En los resultados del cuadro 3, se observa que un 14.0, 25.4, 24.6, 14.8 y 3.5 por ciento de los niños estudiados presentan en el plasma valores subnormales de zinc, proteínas totales, albúmina, PTR y a 2 macroglobulina respectivamente.

Para analizar la relación entre la concentración de zinc en el plasma con las medidas antropométricas y bioquímicas señaladas en el estudio, los niños se agruparon en dos grupos: a) aquellos con concentraciones menores de 70 ug/dl y b) con concentraciones mayores que 70 ug/dl. Los resultados de este análisis se presentan en el cuadro 4, en donde se observa que un 100 y 93.7 por ciento de los niños con un percentil menor de 10 para peso / talla y talla / edad, respectivamente, tienen concentraciones de zinc en el plasma mayores de 70 ug/dl. En los valores medios de los otros parámetros, según este análisis, no existe diferencia significativa ($p < 0.05$).

DISCUSION

El papel metabólico del zinc, se conoce por las manifestaciones de la deficiencia de este metal, tales como retardo en el crecimiento, hipogonadismo, anorexia, anormalidades en el sentido del gusto del olfato y lesiones de acrodermatitis. Además, puede producir alteraciones en el metabolismo de la vitamina A, trastornos en la cicatrización de heridas y en la inmunidad celular (11, 19). No existe una prueba de laboratorio específica para demostrar la deficiencia de zinc; la baja concentración de este mineral en el plasma, asociada a concentraciones subnormales de la proteína transportadora del retinol, sigue siendo el mejor indicador para detectar dicha deficiencia. Como consecuencia de una inadecuada ingesta dietética, esta situación se ha observado en niños norteamericanos, y se ha relacionado al bajo contenido de zinc de algunas fórmulas para su alimentación (menos de 2 mg/litro), por causa de la dilución de la leche de vaca durante el proceso que trata de simular la leche materna (28).

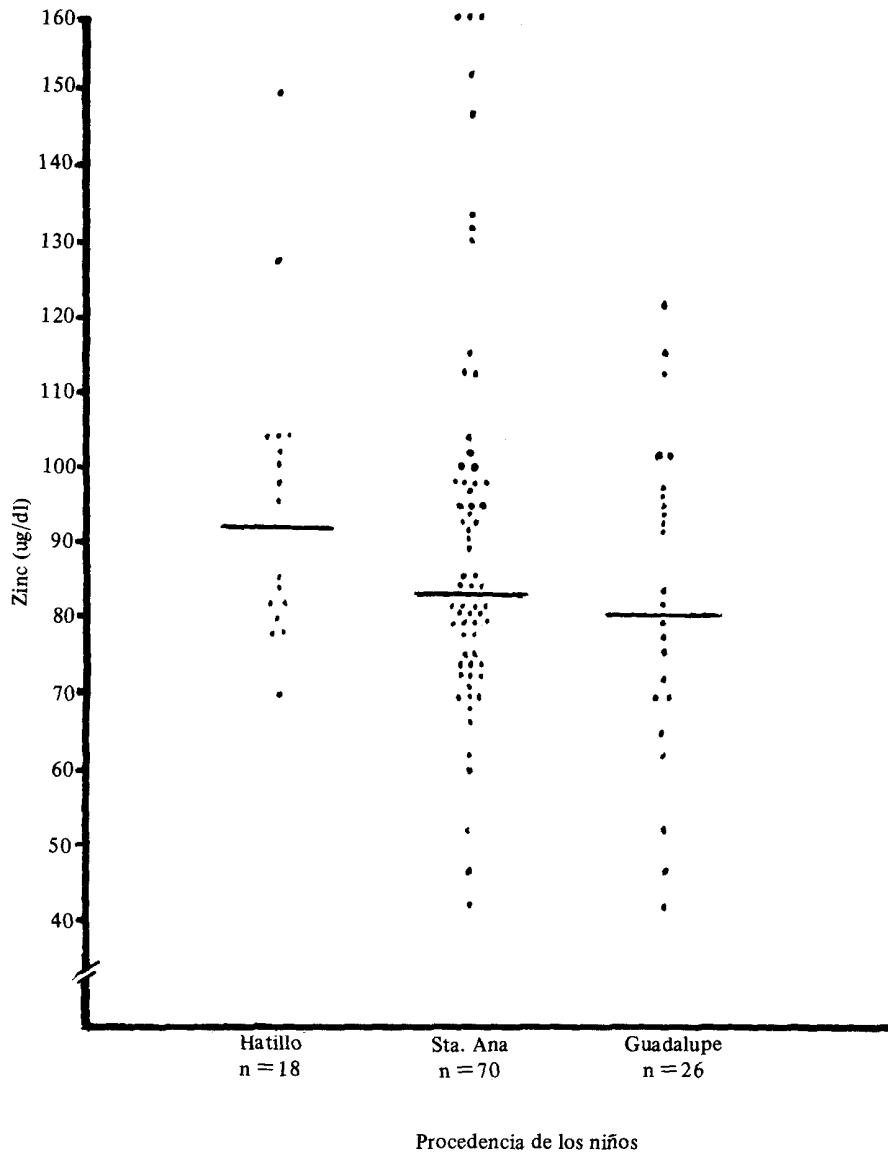
CUADRO 1

VALORES PLASMATICOS DE ZINC, PROTEINAS TOTALES, ALBUMINA P.T.R.
Y α 2 MACROGLOBULINA DE 114 NIÑOS DE AREAS URBANAS
SAN JOSE, COSTA RICA

Edad (meses)	Procedencia	Zinc (ug/dl)		Proteínas totales (ug/dl)		Albumina (ug/dl)		PTR (ug/dl)		α 2 Macroglobulina (ug/dl)	
		X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE
6-14	Santa Ana n = 70	91.0	25.7	7.4	1.1	4.1	1.0	3.5	0.8	205.0	43.2
6-14	Guadalupe n = 26	85.3	19.0	7.2	1.4	4.7	1.2	3.6	0.6	215.9	34.3
6-14	Hatillo n = 18	95.1	20.1	6.2	0.9	4.0	0.4	3.6	0.8	205.8	38.5
Todas las áreas		90.6	23.7	7.2	1.3	4.3	0.9	3.5	0.8	207.8	38.5

FIGURA 1

DISPERSION DE LOS VALORES PLASMATICOS DE ZINC, DE 114 NIÑOS
DE AREAS URBANAS DE SAN JOSE, COSTA RICA 1980



CUADRO 2
EL ESTADO NUTRICIONAL Y LOS VALORES PROMEDIO DE ZINC Y PROTEÍNA
RELACIONADAS, EN NIÑOS DE AREAS URBANAS DE SAN JOSE, 1980

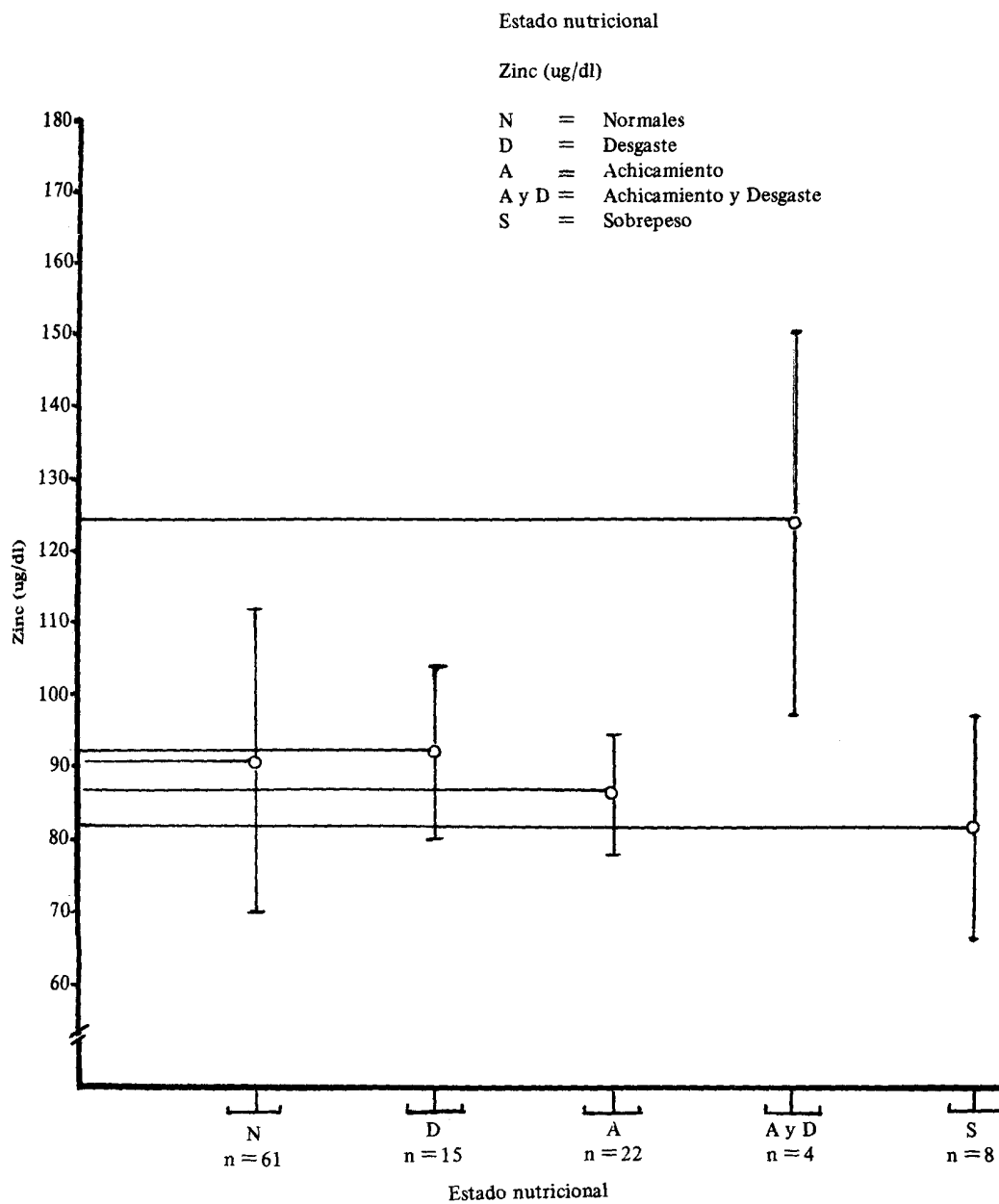
Estado nutricional ²	n	%	Zinc (ug/dl)		Proteínas (ug/dl)		Albúmina (ug/dl)		PTR ¹ (ug/dl)		2 macroglobulina (ug/dl)	
			X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE
Normales	61	55.5	89.8	24.6 ^b	7.2	1.2	4.3	0.8	3.6	0.6	208.0	35.9
Desgaste	15	13.6	92.3	20.5 ^b	7.0	0.9	4.1	0.4	3.4	0.8	207.3	37.3
Achicamiento ³	22	20.0	89.5	16.3 ^b	7.5	1.3	4.4	0.6	3.7	0.7	214.2	34.4
Desgaste y achicamiento	4	3.6	123.7	20.1 ^a	7.3	1.0	3.9	0.9	3.9	0.9	200.7	32.6
Sobrepeso	8	7.2	81.9	13.1 ^b	6.1	1.5	4.2	0.4	3.6	0.4	216.3	29.8

a,b Los valores promedio de zinc con una letra distinta a la par, son estadísticamente diferentes

1. Proteína transportadora del retinol
2. En cuatro niños no se logró obtener medidas antropométricas
3. Nueve niños con sobrepeso

FIGURA 2

LIMITES DE CONFIANZA ($\alpha = 5\%$) DE LOS NIVELES PLASMATICOS PROMEDIO DEL ZINC SEGUN EL ESTADO NUTRICIONAL DE 114 NIÑOS DE AREAS URBANAS SAN JOSE, 1980



CUADRO 3

PREVALENCIA DE NIÑOS CON CONCENTRACIONES DE ZINC PLASMÁTICO Y DE LAS PROTEÍNAS RELACIONADAS POR DEBAJO DE LOS VALORES MÍNIMOS ESTABLECIDOS

VARIABLES ESTUDIADAS	n	PREVALENCIA	
		n	%
Zinc (ug/dl) <70	16	16	14.0
Proteínas totales (g/dl) 2 <6.47		29	25.4
Albumina (g/dl) <4.24		28	24.6
P.T.R. (mg/dl) <3		21	18.4
α 2 macroglobulina (ug/dl) <150		4	3.5

CUADRO 4

DISTRIBUCION DE ALGUNAS MEDIDAS ANTROPOMETRICAS Y CONCENTRACION DE PROTEINAS EN PLASMA EN RELACION AL CONTENIDO DE ZINC EN EL PLASMA DE NIÑOS DE ÁREAS URBANAS DE SAN JOSE

Variables estudiadas	Concentración de zinc en el plasma	
	<70 ug/dl n = 16	≥70 ug/dl n = 98
Peso/talla (<10 percentil), %	0	100.0
Talla/edad (<10 percentil), %	6.3	93.7
Proteínas totales (g/100ml)	7.4	7.2
Albumina (g/dl)	4.3	4.3
α 2 macroglobulina (ug/dl)	203.7	208.6
Proteína transportadora del retinol (PTR) (mg/dl)	3.7	3.5

El factor endógeno leucocitario, derivado de los leucocitos, actúa en la redistribución del zinc mediante el secuestro hepático de este mineral durante las infecciones (29), durante las cuales también puede encontrarse niveles subnormales de este nutriente en el plasma.

En algunas comunidades de los Estados Unidos de Norteamérica, el retardo en talla/ edad afecta al 37 por ciento de los niños. En estos casos, el 33.8 por ciento tiene valores subnormales de zinc en el plasma (27). Este hallazgo contrasta con los datos obtenidos en nuestras comunidades, en donde el 95 por ciento de los niños de una comunidad populosa y pobre, como Hatillo, tuvo valores normales de este elemento y el 38.9 por ciento tuvo algún grado de atraso en talla/edad. Una situación semejante se observa en toda la población estudiada, en la cual el 40 por ciento de los niños tiene algún déficit en su estado nutricional, pero sólo un 14 por ciento exhiben niveles subnormales de zinc.

Entre los indicadores antropométricos (peso / talla) y los niveles de zinc en el plasma se encontró una correlación inversa, estadísticamente significativa ($r = 0.186$, $p < 0.05$). Esta relación negativa no permite sustentar la presunción de este estudio: que los niños con bajos percentiles de crecimiento tendrían bajos niveles plasmáticos de zinc, principalmente aquellos con desgaste y achicamiento. Contra lo esperado, los niveles promedio de zinc en plasma en esta clase de niños desnutridos fueron superiores y estadísticamente diferentes a los encontrados en los niños normales. Previamente se ha observado que el zinc en el plasma aumenta por encima de los valores normales, cuando ocurre pérdida de peso y durante período prolongado de ayuno debido a la movilización de este mineral de los tejidos en condiciones de catabolismo (2).

El valor promedio de la proteína transportadora del retinol de los niños estudiados, está dentro del ámbito normal (3-6mg/dl); esto sugiere que existen cantidades de zinc adecuadas para los requerimientos de estos niños. Experimentalmente, se ha visto una síntesis hepática disminuida de proteína transportadora del retinol, en condiciones de deficiencia de zinc (21).

La falta de correlación entre los niveles plasmáticos de zinc y la proteína transportadora del retinol, en los niños de la muestra, es un hecho no consistente con estudios previos (9, 25). En nuestros casos, la frecuencia de cifras de albúmina menores de 4.24 g/dl es de un 24.6 por ciento, pero en ninguno de los niños se encontraron valores menores de 2.5 g/dl. Es con estas cifras de albúmina que otros autores (6) han demostrado relación con niveles subnormales de zinc, lo que explica la falta de correlación entre la albúmina y el zinc plasmático en los niños de nuestro estudio.

Además, estos niños tienen cantidades normales de a 2 macroglobulina que reflejan condiciones adecuadas para el transporte de zinc en el plasma, hacia los sitios de utilización en el organismo (10).

La situación descrita en este estudio sugiere en primer lugar, que existe el riesgo de inadecuación dietética de este nutriente, en ciertos grupos de la población infantil costarricense, con base en los niveles subnormales de zinc en el plasma encontrados en el 14 por ciento de los niños. En segundo lugar, que esta condición no es uno de los factores del ambiente relacionado con los bajos percentiles de crecimiento encontrados en los niños estudiados. Es recomendable evaluar estos resultados mediante estudios prospectivos de suplementación con zinc, en los grupos de niños costarricenses que muestren mayor frecuencia de retardo en talla.

ABSTRACT

The biological importance of zinc has been emphasized by the W.H.O. report: "The Micronutrients in Human Nutrition" and motivated this study.

One hundred fourteen Costa Rican children aged from 6 to 24 months of low socioeconomic status were selected, using the cluster sample technique.

Plasma zinc was measured, and also some zinc transporting protein. Hepatic synthesis of the latter is zinc-dependent and it is also a good indicator of protein nutrition. Anthropometric measurements were recorded and a general physical examination was performed, in order to rule out intercurrent infections.

Fourteen percent of these children had a plasma zinc concentration lower than 70 ug/dl and were considered as zinc deficient. In a previous article, we have demonstrated a lower normal limit of 70 ug/dl for these ages at 95 percent of confidence.

No relationship was found between zinc deficiency and a low weight/height and height/age ratio, which were at the 10th percentile or lower in 13.6 and 20 percent of the cases. This finding fails to confirm reports in similar populations, where zinc deficiency has been deemed responsible for a low growth rate.

REFERENCIAS

- 1.— Flores, M.; Aranda, J. Evaluación dietética a nivel nacional en Costa Rica. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 1980; 30: 432-450.
- 2.— Gordon, R.P., Woodruff, C.W., Anderson, H.L., O'Dell, B.L. Effect of acute zinc deprivation on plasma zinc and platelet aggregation in adult males. *Am. J. Clin. Nutr.* 1982; 35: 113-119.
- 3.— Hambidge, K.M.; Hambidge, C.; Jacobs, M.; Baum, J.D. Low levels of zinc in hair, anorexia, poor growth, and hypogeusia in children. *Pediatric Res.* 1972; 6: 868-874.
- 4.— Hambidge, K.M.; Walravens, P.A.; Brown, R.M.; Webster, J.; White, S.; Anthony, M.; Rothe, M.L. Zinc nutrition of preschool children in the Denver Head Start Program. *Am. J. Clin. Nutr.* 1976; 29: 734-738.
- 5.— Hambidge, K.M.; Walravens, P.A. Zinc deficiency in infants and pre-adolescent children. IN: Prasad, A.S., ed. *Trace Elements in Human Health and Disease*. New York: Academic Press, 1976; 21-32.
- 6.— Hartoma, T.R., Sotoniemi, E.A., Maatanen, J. Effect of zinc on some biochemical indices of metabolism. *Nutr. Metabol.* 1979; 23: 298-301.
- 7.— Hill, C.H.; Matrone, G. Chemical parameters in the study on in vivo and in vitro interactions of transition elements. *Federation Proc.* 1970; 29: 1474-1479.
- 8.— Jacob, R.A., Sandstead, H.H.; Solomons, N.W. et al. Zinc status and vitamin A transport in cystic fibrosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978, 31: 638-644.

- 9.— Jacobs, R.A.; Sandstead, H.H.; Solomons, N.W.; Rieger, R.; Rothberg, R. Zinc status and vitamin A transport in cystic fibrosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978; 31: 638-644.
- 10.— Kirschgessner, M.; Roth, H.P.; Weignad, E. Biochemical Changes in Zinc Deficiency. IN: Prasad, A., A., ed. *Trace Elements in Human Health and Disease*. Vol. 1, Zinc and Cooper. New York: Academic Press, 1976; (1): 189.
- 11.— McClain, C.; Soutor, C.; Zieve, L. Zinc deficiency: A complication of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1980; 78: 272-279.
- 12.— Moynaham, E.J. Acrodermatitis Enteropathica. A. Lethal inherits human zinc deficiency disorder. *Lancet* 1974; 1: 399-400.
- 13.— National Center for Health Statistics. *Growth Curves, for Children. Birth 18 years*. Publication No. (Public Health Services) 78-1650: Hyatsville, MD: Department of Health Education and Welfare, 1977.
- 14.— O'Brine, D.; Chase, P. *The assessment of nutrition status in individuals and population groups*. American Academy of Pediatrics. Pediatric Nutrition Handbook. Illinois: American Academy of Pediatrics 1979; 72-90.
- 15.— Parisi, A.F.; Vallee, B.L. Zinc metalloenzymes: Characteristics and significance in biology and medicine. *Am. J. Clin. Nutr.* 1969; 22: 1222-1239.
- 16.— Prasad, A.S.; Halsted, J.A.; Madimi, M. Syndrome of iron deficiency anemia hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism, and geophagia. *Am. J. Med.* 1961; 31: 532-546.
- 17.— Saleh, A., Udall, J.N.; Solomons, N.W. Minimizing contamination of specimens for zinc determination. *Clin. Chem.* 1981; 27: 339-340.
- 18.— Sandstead, H.H., Prasad, A.S.; Shulert, A.R.; Farid, Z.; Miale, A.; Bassilly, S.; Darby, W.J. Human zinc deficiency endocrine manifestations, and response to treatment. *Am. J. Clin. Nutr.* 1967; 20: 422-426.
- 19.— Sandstead, H.R.; Lannier, V.C.; Shepard, G.H. Zinc and wound healing. *Am. J. Clin. Nutr.* 1974; 23: 514-519.
- 20.— Shetty, P.S.; Watrasiewicz, K.E.; Junt, R.T.; James, W.P.T. Rapid turnover transport proteins: As index of subclinical protein-energy malnutrition. *Lancet* 1979; 2: 230.
- 21.— Smith, J.C.; E.G. McDaniel, E.G.; Fan, F.F. A trace element essential in Vitamin A metabolism. *Science* 1973; 181: 954-955.
- 22.— Smith, J.E.; Brown, E.D.; Smith, J.C. The effect of zinc deficiency on metabolism of retinolbinding protein in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 1974, 84: 692-697.
- 23.— Smith, S.C.; Butrimovitz, G.P. Direct measurement of zinc in plasma by absorption spectroscopy. *Clin. Chem.* 1979; 25: 1487-1491.
- 24.— Solomons, N.W. On the assessment of zinc and cooper nutriture in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 1979; 32: 856-871.
- 25.— Solomons, N.W.; Rosenberg, I.H., Sandstead, H.H. et al. Zinc deficiency in Crohn's disease. *Digestion* 1977; 16: 87-95.
- 26.— Ministerio de Salud. Departamento de Nutrición, Vigilancia Epidemiológica Nutricional y Alimentaria. Costa Rica, San José: Ministerio de Salud, 1979; 4.

- 27.— Walravens, P.A.; Hambidge, K.M. Growth of infants fed a zinc supplemented formula. *Am. J. Clin. Nutr.* 1976;29: 1114-1121.
- 28.— Walravens, P.A. Nutritional importance of copper and zinc in neonates and infants. *Clin. Chem.* 1980; 26: 185-189.
- 29.— Wannemacher, R.W., Pekarek, R.S., Klainer, A.S., Bartelloni, P.J., Dupont, H.L., Horninck, R.B., Beisel, W.R. Detection of a leucotyctic endogenous mediator-like mediator of serum amino acid and zinc depression during various infectious illnesses. *Infect. Immun.* 1975; 11: 873-875.
- 30.— Waterlow, J.C. Note on the assessment and classification of protein-energy malnutrition in children. *Lancet* 1973; 2: 87-89.
- 31.— Webster, D. The immediate reaction between bromocresol green and serum as a measure of albumin content. *Clin. Chem.* 1977; 23: 663-665.
- 32.— Wolfon, W.; Cohn, C.; Calvary, E.; Ichiba, F. Studies in serum proteins. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin in 1.0 ml of serum. *Am. J. Clin. Pathol.* 1948; 18: 723-727.
- 33.— World Health Organization. *Trace Elements in Human Nutrition*. WHO Technical Report Series No. 532. Geneva: WHO, 1973; 1-70.