

1 11221

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1  
2ej.

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
CURSO DE ESPECIALIZACION EN LABORATORIO CLINICO



## ESTUDIO LONGITUDINAL DE ZINC, COBRE Y HIERRO EN NIÑOS PRÉTERMINO ( EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE HIERRO PROFILACTICO )

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS DE POST-GRADO  
SERGIO MORALES DOMINGUEZ  
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA  
CENTRO MEDICO NACIONAL I. M. S. S  
MEXICO, D. F.

**2002**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E :

INTRODUCCION..... 1

MATERIAL Y METODOS..... 2

RESULTADOS..... 4

DISCUSION..... 6

BIBLIOGRAFIA.....11

## INTRODUCCION:

El zinc, cobre y hierro son 3 de los 15 elementos -  
traza esenciales para la vida animal, y junto con el cobalto,  
cromo, manganeso y selenio son los más importantes para la vi-  
da humana (1). El zinc interviene en la síntesis de DNA y RNA  
(2), en múltiples sistemas enzimáticos (3). Su deficiencia ex-  
perimental en ratas embarazadas puede ocasionar malformacio-  
nes congénitas graves, principalmente en el sistema nervioso  
central (4); su deficiencia en el hombre ha sido reportada en  
acrodermatitis enteropática (5), hipogonadismo (6), enfermeda-  
des infecciosas (7), desnutrición (8), etc. El cobre partici-  
pa fundamentalmente en la mielinización (9), así como cofac-  
tor en diferentes sistemas enzimáticos (10), y es esencial al  
igual que el hierro para una eritropoyésis adecuada (11). Su  
deficiencia en el niño puede manifestarse por anemia, leucope-  
nia, hipoproteinemia, diarrea prlongada e intermitente (12),  
o bien manifestarse por el llamado síndrome de Menkes, que es  
un defecto genéticamente determinado de absorción deficiente  
de cobre en la mucosa intestinal (13); en el niño pretérmi-  
no recibiendo una alimentación normal puede presentarse defi-  
ciencia de cobre (14), así como en niños que reciben alimenta-  
ción parenteral (15). El hierro participa en la síntesis de -  
hemoglobina, mioglobina y en diferentes sistemas enzimáticos  
(16); su deficiencia se manifiesta básicamente por una anemia

microcítica hipocrómica (17). Es conocido que la anemia por deficiencia de hierro es una complicación frecuente del niño nacido pretérmino (18). La deficiencia de hierro puede ocasionar -- una disminución de la sobrevivida del eritrocito (19) y la eritropoyésis es defectuosa (20). El feto humano acumula el 70 % de zinc y cobre durante las últimas 12 semanas de gestación, no -- así el hierro cuyo almacenamiento a partir de la semana 28 de gestación es el mismo cuantitativamente (21), siendo así que el niño pretérmino puede presentar deficiencia de éstos metales durante su desarrollo post-natal. El presente estudio fué diseñado para conocer la evolución longitudinal de éstos tres metales.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron un total de 19 niños pretérmino, los -- cuales fueron subdivididos en dos grupos (Cuadro I): uno de 10 -- niños al que no se le administró hierro (Grupo I) y otro de 9 -- niños, al que se le administró hierro (Grupo II), en forma de -- sulfato ferroso a la dosis de 2 mg/kg/día de hierro elemental, -- la cual se administró a partir de los 21 días. La edad gestacional se calculó de acuerdo a la fecha de la última menstruación -- y a la valoración de Dubowitz (22), evaluándose el estado nutricional al nacer en las curvas de Lubchenco (23). La alimentación que recibieron mientras estuvieron hospitalizados fué a base de una leche modificada en proteínas, diluída al 16 %, con -- una concentración de hierro elemental de 6 mg/l, durante los --

microcítica hipocrómica (17). Es conocido que la anemia por deficiencia de hierro es una complicación frecuente del niño nacido pretérmino (18). La deficiencia de hierro puede ocasionar -- una disminución de la sobrevivencia del eritrocito (19) y la eritropoyésis es defectuosa (20). El feto humano acumula el 70 % de zinc y cobre durante las últimas 12 semanas de gestación, no -- así el hierro cuyo almacenamiento a partir de la semana 28 de gestación es el mismo cuantitativamente (21), siendo así que el niño pretérmino puede presentar deficiencia de éstos metales durante su desarrollo post-natal. El presente estudio fué diseñado para conocer la evolución longitudinal de éstos tres metales.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron un total de 19 niños pretérmino, los -- cuales fueron subdivididos en dos grupos (Cuadro I): uno de 10 -- niños al que no se le administró hierro (Grupo I) y otro de 9 -- niños, al que se le administró hierro (Grupo II), en forma de -- sulfato ferroso a la dosis de 2 mg/kg/día de hierro elemental, -- la cual se administró a partir de los 21 días. La edad gestacional se calculó de acuerdo a la fecha de la última menstruación -- y a la valoración de Dubowitz (22), evaluándose el estado nutricional al nacer en las curvas de Lubchenco (23). La alimentación que recibieron mientras estuvieron hospitalizados fué a base de una leche modificada en proteínas, diluída al 16 %, con -- una concentración de hierro elemental de 6 mg/l, durante los --

CARACTERISTICAS CLINICAS DE PACIENTES ESTUDIADOS

	GRUPO I	GRUPO II
PESO Kg	1787 ± 201.5	1776.7 ± 152.81
TALLA cm	43.39 ± 1.98	43.32 ± 1.74
EDAD GEST. meses	34.50 ± 1.58	34.18 ± 1.40
n	10	9

Grupo II.- Con suplemento de Hierro (2mg/Kg/24hr).

3 primeros meses de edad, seguida de leche entera diluída al 16 %, con una concentración de hierro elemental de 5 mg/l. El esquema de abalactación fué similar para todos los niños e incluyó a los 2 meses jugo de tomate y naranja, a los 3 meses cereal de avena, a los 3 meses y medio, puré de manzana y/o plátano, a los 4 meses, yema de huevo, a los 5 meses verduras y a los 6 meses hígado de pollo. Se indicaron cantidades similares de estos alimentos respetando la libre demanda del niño. Ninguno de ellos al inicio del estudio tenía enfermedades infecciosas o metabólicas y se consideraron clínicamente sanos; al ser dados de alta, se les citó mensualmente a revisión. El material biológico obtenido (3 ml de sangre en ayuno), fué tomado y procesado simultáneamente para evaluar la utilidad de la administración profiláctica de hierro, de niños pretérmino internados en el Servicio de Neonatología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del I.M.S.S., y en los cuneros del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 2 de la misma Institución (24); todas las muestras fueron tomadas entre las 8 y las 9 de la mañana, para evitar las variaciones circadianas (25). Para el presente estudio, se determinaron zinc, cobre, hierro, además fosfatasa alcalina y ceruloplasmina, llevándose también a cabo registro antropométrico, todas éstas determinaciones se repitieron mensualmente.

La determinación de zinc se hizo por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando el método de Davies (26);

el cobre sérico se estudió por el método de Piper y Higgins modificado (27); el hierro por el método de Olson y Hamlin (28). La determinación de fosfatasa alcalina se practicó por espectrofotometría UV por el método cinético de Hausemaen y cols. (29), y la ceruplasmina se midió por técnicas de inmunodifusión radial (30).

El material utilizado para la obtención de las muestras y procesamiento de las mismas fué lavado en ácido nítrico al 50 % durante 48 hrs.

#### RESULTADOS:

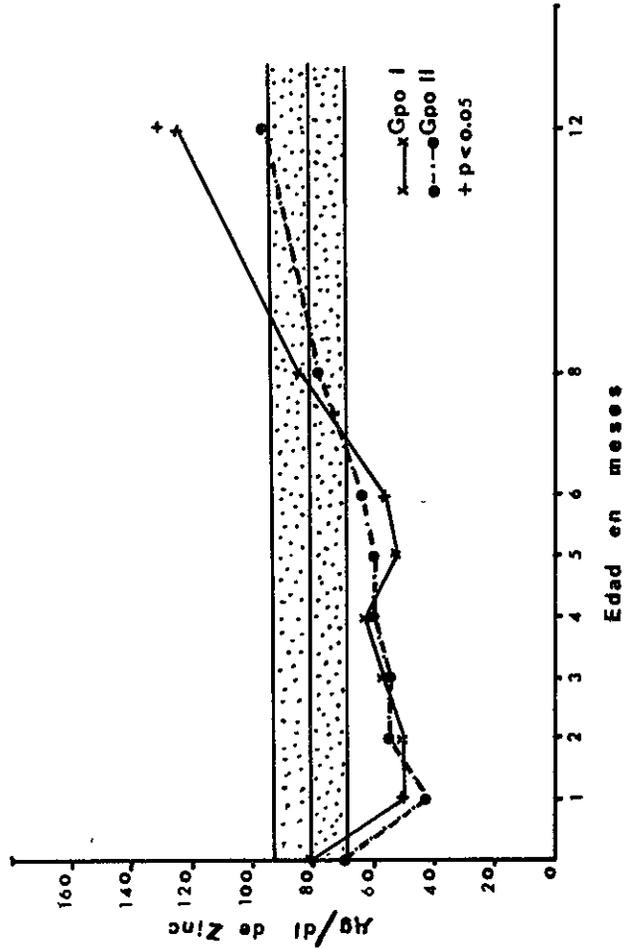
Las determinaciones de zinc fueron comparadas con los valores de un grupo de niños menores de un año de edad (31) siendo el valor de referencia para éstos de  $81 \mu\text{g}/\text{dl} \pm 11.5$ . En la gráfica I, se presenta la evolución de los 2 grupos, en la determinación basal el Grupo I se encontró dentro de estos valores normales, y el grupo II estuvo por abajo de los mismos valores promedio; ambos grupos en los siguientes 6 meses se encontraron por abajo de dichos valores de referencia; al octavo mes estaban dentro de la normalidad y al doceavo mes habían sobrepasado dichos valores, sin embargo el grupo que no recibió hierro tuvo niveles significativamente más altos que el otro grupo de niños. Simultáneamente se valoró la evolución de la fosfatasa alcalina, en comparación con los niveles de --

el cobre sérico se estudió por el método de Piper y Higgins modificado (27); el hierro por el método de Olson y Hamlin (28). La determinación de fosfatasa alcalina se practicó por espectrofotometría UV por el método cinético de Hausemaen y cols. (29), y la ceruplasmina se midió por técnicas de inmunodifusión radial (30).

El material utilizado para la obtención de las muestras y procesamiento de las mismas fué lavado en ácido nítrico al 50 % durante 48 hrs.

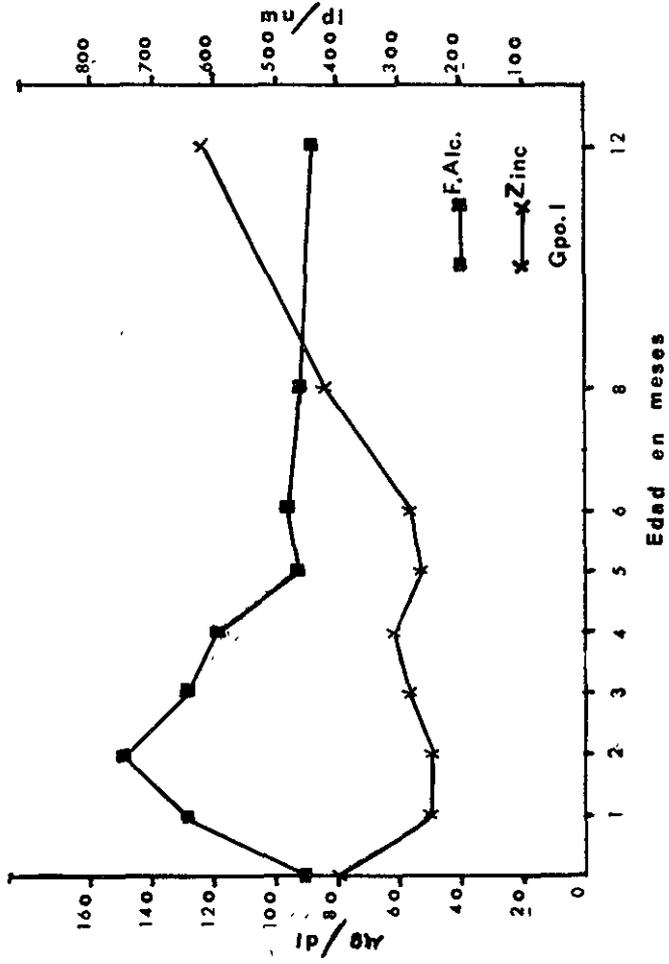
#### RESULTADOS:

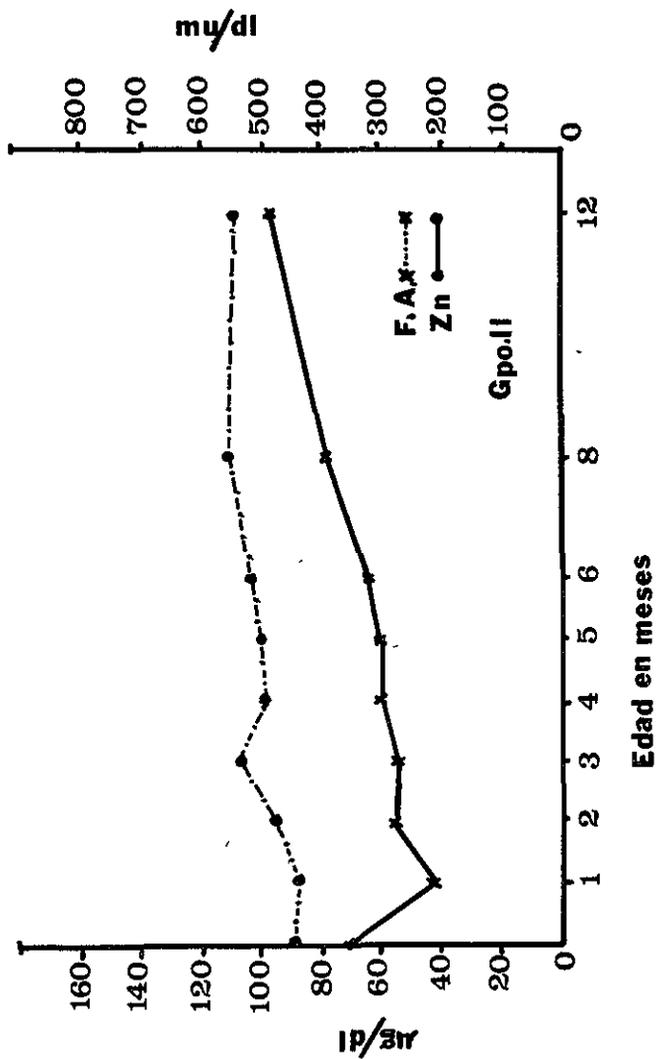
Las determinaciones de zinc fueron comparadas con los valores de un grupo de niños menores de un año de edad (31) siendo el valor de referencia para éstos de  $81 \mu\text{g}/\text{dl} \pm 11.5$ . En la gráfica I, se presenta la evolución de los 2 grupos, en la determinación basal el Grupo I se encontró dentro de estos valores normales, y el grupo II estuvo por abajo de los mismos valores promedio; ambos grupos en los siguientes 6 meses se encontraron por abajo de dichos valores de referencia; al octavo mes estaban dentro de la normalidad y al doceavo mes habían sobrepasado dichos valores, sin embargo el grupo que no recibió hierro tuvo niveles significativamente más altos que el otro grupo de niños. Simultáneamente se valoró la evolución de la fosfatasa alcalina, en comparación con los niveles de --



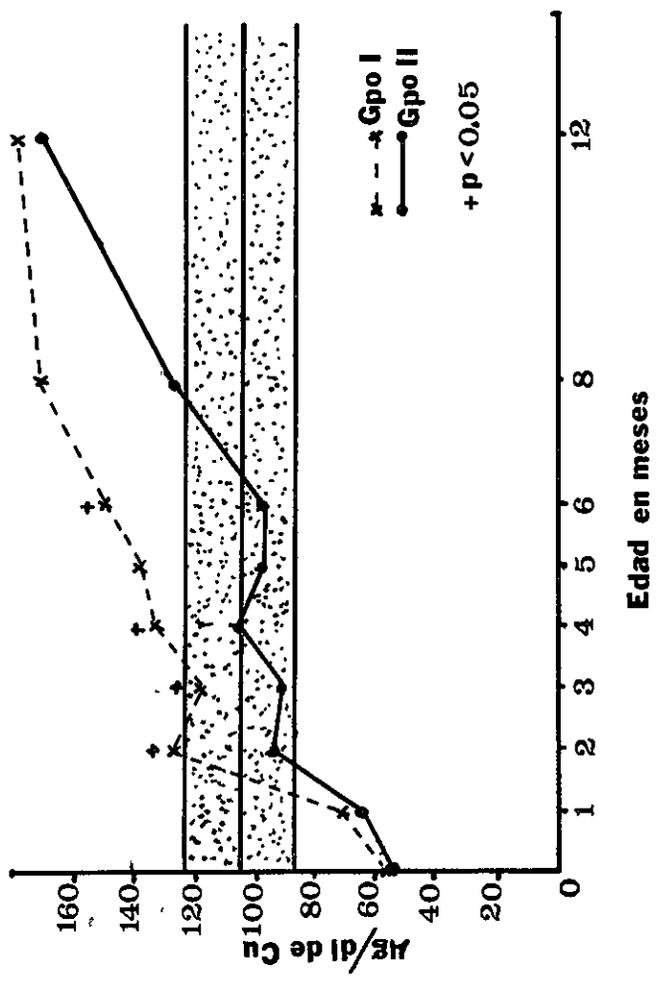
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

4-B

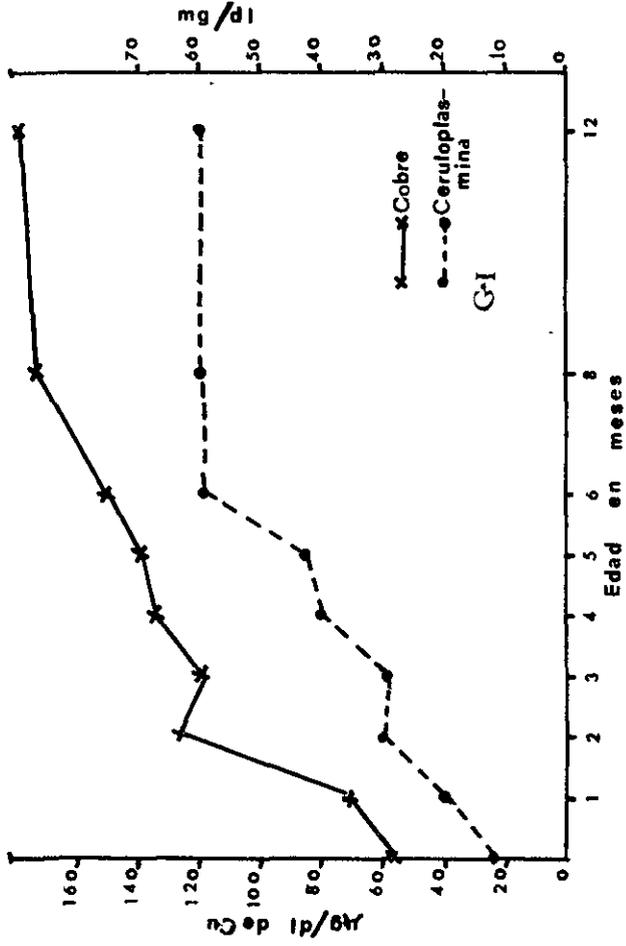


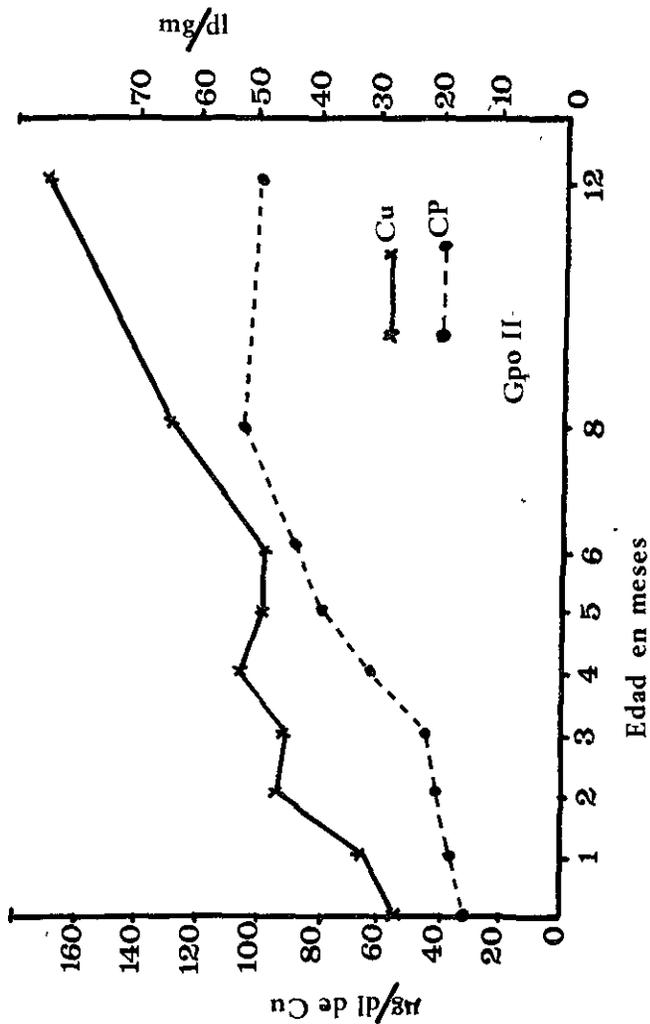


TESIS CON FALLA DE ORIGEN



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN





zinc, observándose en el Grupo I que los valores más bajos de zinc correspondían con las cifras más altas de fosfatasa alcalina, hasta el cuarto mes, y posteriormente a partir de esa edad se observó una evolución paralela de la misma, hasta el octavo mes; a los doce meses hubo entrecruzamiento de estos valores. En el Grupo II se observó una evolución paralela de zinc y fosfatasa alcalina, no observándose entrecruzamiento como en el grupo I (Gráficas 2 y 3).

Los valores de cobre, aparecen en la Gráfica IV, en la misma se observa que la evolución de cobre fué semejante únicamente al inicio y al primer mes, posteriormente el grupo que no recibió hierro tuvo valores significativamente más altos de cobre hasta el octavo mes, al doceavo mes los valores fueron semejantes para los dos grupos. También se analizaron las determinaciones de ceruloplasmina en ambos grupos y se compararon gráficamente con los valores de cobre (Gráficas 5 y 6). En el Grupo I, la ceruloplasmina tuvo una evolución paralela con el cobre hasta el sexto mes y posteriormente a pesar de tener niveles más altos de cobre ya no aumentaron los valores de la enzima. En el Grupo II se observó un aumento más lento de la ceruloplasmina en los 3 primeros meses, coincidiendo esto con niveles más bajos de cobre. Posteriormente se observaron cifras normales e igual que en el Grupo I a partir del octavo mes ya no hubo aumento de la ceruloplasmina a pesar de conti--

nuarse elevando los niveles séricos de cobre.

Se hizo correlación entre los valores séricos de cobre y edad gestacional, de 28 niños en los que quedaron incluidos los Grupos I y II (Gráfica 7), encontrando que a menor edad gestacional los valores de cobre eran más bajos ( $r = 0.91$ ).

Se presenta en la Gráfica 8 la evolución del hierro sérico. En el Grupo I se observó un descenso gradual a partir del segundo mes, hasta llegar a niveles de  $60 \mu\text{g}/\text{dl}$  al sexto mes, la misma cifra se sostuvo hasta el doceavo mes. El Grupo II empezó a descender desde el primer mes de vida observándose una elevación progresiva del tercero al quinto mes, después de esta edad hubo un descenso importante con recuperación posterior al octavo mes, pero al final del estudio los valores de hierro estuvieron por abajo de los  $60 \mu\text{g}/\text{dl}$ .

#### DISCUSION:

Los datos presentados nos permiten conocer la evolución longitudinal del zinc, cobre, hierro, ceruloplasmina y fosfatasa alcalina en niños pretérmino sanos, alimentados en forma normal; simultáneamente se pudo continuar hasta los 12 meses de edad el estudio de la evolución del hierro sérico en niños recibiendo sulfato ferroso, que previamente habían sido estudiados hasta la edad de 6 meses (24), y a la vez observar los niveles de hierro y cobre en relación a la suplementación con hierro.

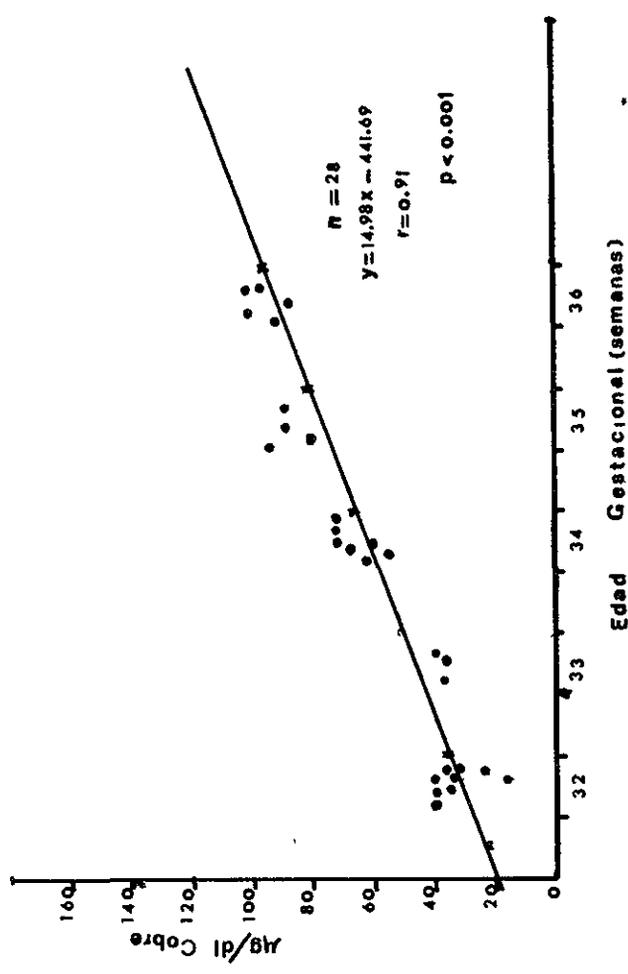
nuarse elevando los niveles séricos de cobre.

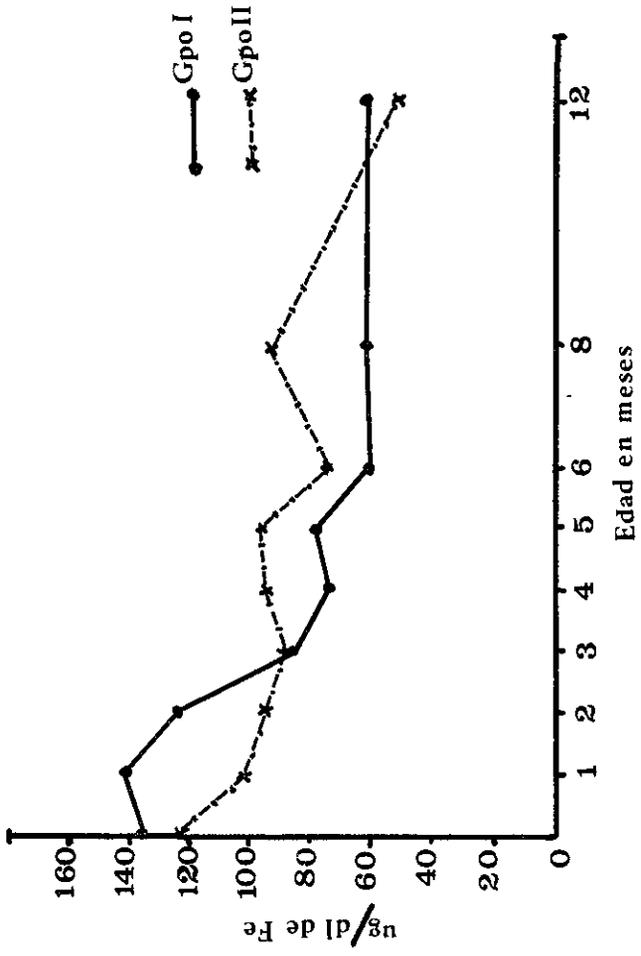
Se hizo correlación entre los valores séricos de cobre y edad gestacional, de 28 niños en los que quedaron incluidos los Grupos I y II (Gráfica 7), encontrando que a menor edad gestacional los valores de cobre eran más bajos ( $r = 0.91$ ).

Se presenta en la Gráfica 8 la evolución del hierro sérico. En el Grupo I se observó un descenso gradual a partir del segundo mes, hasta llegar a niveles de  $60 \mu\text{g}/\text{dl}$  al sexto mes, la misma cifra se sostuvo hasta el doceavo mes. El Grupo II empezó a descender desde el primer mes de vida observándose una elevación progresiva del tercero al quinto mes, después de esta edad hubo un descenso importante con recuperación posterior al octavo mes, pero al final del estudio los valores de hierro estuvieron por abajo de los  $60 \mu\text{g}/\text{dl}$ .

#### DISCUSION:

Los datos presentados nos permiten conocer la evolución longitudinal del zinc, cobre, hierro, ceruloplasmina y fosfatasa alcalina en niños pretérmino sanos, alimentados en forma normal; simultáneamente se pudo continuar hasta los 12 meses de edad el estudio de la evolución del hierro sérico en niños recibiendo sulfato ferroso, que previamente habían sido estudiados hasta la edad de 6 meses (24), y a la vez observar los niveles de hierro y cobre en relación a la suplementación con hierro.





La concentración de zinc sérico al nacimiento estuvo en cifras definitivamente más bajas que las observadas por --- Sann y cols. (32) observándose un descenso por abajo de los valores normales para niños menores de un año de edad (31); los mismos autores, encontraron también un descenso gradual del zinc hasta los 60 días de vida extrauterina, pero sin llegar a estar abajo de valores normales. La deficiencia de zinc observada en el grupo aquí estudiado, podría ser explicado por una deficiencia de zinc en las madres, la cual tendrá que ser confirmada. La evolución de zinc en los niños pretérmino del presente estudio, semeja más a los valores de zinc plasmático reportados por Henkin y cols. (33), en niños nacidos a término y estudiados longitudinalmente, quienes presentaron valores por abajo de los establecidos para adultos hasta el sexto mes de vida. Una deficiencia de zinc en el período post-natal en animales - puede ocasionar un crecimiento deficiente del cerebro anterior (34). Los bajos niveles de zinc en el presente estudio pueden - ser explicados por un aporte deficiente en la dieta del niño, hecho que no pudo confirmarse, ya que no se determinó el contenido de zinc en la dieta; Walravens y Hambridge demostraron un crecimiento deficiente en niños recibiendo dietas con bajo contenido de zinc, mientras que un grupo control recibiendo un aporte extra de zinc tuvo una talla y peso significativamente mayor (35).

También puede tenerse otra explicación a los niveles subnormales de zinc por un metabolismo exagerado de un organismo en crecimiento que requiere de la utilización del zinc para síntesis de proteínas o bien de los múltiples sistemas enzimáticos en que participa; ésto puede inferirse de las elevadas cifras de fosfatasa alcalina observados en los primeros meses de evolución en que los valores de zinc estuvieron más disminuidos. También a diferencia de Sann y cols. (32), no se encontró correlación entre edad gestacional y nivel sérico de zinc. Cualquiera que sea la causa del descenso del zinc en los niños pretérmino, será de interés el efectuar otros estudios en los cuales se suplemente el zinc en la dieta.

La evolución de cobre fué muy semejante a la reportada por Henkin y cols. (33), aunque los valores referidos por dicho autor en niños a término en los primeros días de vida -- fueron más bajos que los observados en el estudio actual, y al igual que ellos también se observó una elevación por arriba de los valores normales a partir del tercer mes en el Grupo I, -- mientras que en el grupo II se observó hasta después del octavo mes; es probable que estos valores más bajos de cobre en el -- Grupo II hayan estado relacionados a la competencia entre hierro y cobre, ya que éste grupo fué el que recibió suplementación de hierro. Al igual que Sann y cols.(32), se encontró una

correlación positiva entre la edad gestacional y la concentración de cobre. Comparativamente con Manser y cols. (14), no se encontró deficiencia de cobre en éste grupo de niños alimentados en forma normal, por lo que puede inferirse que probablemente la dieta que recibieron tenía suficiente aporte de dicho metal. es importante señalar que la administración de hierro coincidió con niveles más bajos de cobre, lo cual deberá ser tenido en cuenta cuando un niño desarrolle anemia y leucopenia mientras reciba medicación con hierro. La correlación positiva entre los niveles séricos de cobre y ceruloplasmina apoyan la normalidad de los valores de cobre ya que la ceruloplasmina es una cuproproteína (36), siendo por tanto un índice indirecto para evaluar una deficiencia de cobre.

La evolución del hierro sérico en los grupos estudiados fué similar, observándose un descenso progresivo en ambos, siendo sin embargo en el grupo que no recibió hierro desde el cuarto mes en adelante, aunque al doceavo mes los dos estaban en cifras prácticamente iguales, lo que sugiere que la administración extra de hierro no es suficiente para elevar el hierro sérico, por lo tanto la afirmación de Hagberg, de que esta disminución del hierro debe ser considerada fisiológica más que patológica puede resultar válida (37). Estos valores relativamente bajos de hierro sérico en el ni-

ño pretérmino menor de un año de edad pueden ser explicados -- por una utilización aumentada de hierro (38), por una dieta deficiente en el niño (39), o bien secundaria a factores que ---- inhiben la absorción de hierro como ha sido reportada en niños alimentados conleche de vaca (40); por lo tanto la administración de hierro profiláctico en el niño pretérmino alimentado - normalmente no parece ser de utilidad.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Goello, Ramfrez, P. y Dfaz-Bensunssen, S. Zinc deficiency in malnutrition. En: Clinical disorders in Pediatric Nutrition. En prensa.
- 2.- Anónimo. Zinc in relation to DNA and RNA synthesis in regeneratin rat liver. Nutr. Rev. 27:211, 1969.
- 3.- Paris1, A.F., Vallee, B.L. Zinc metalloenzymes characteristics and significance in biology and medicine. Am. J. Clin. Nutr. 22:1222, 1969.
- 4.- Hurley, L.S. y Swenerton, H. Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats. Proc. Soc. Exp. -- Biol. Med. 123:692, 1966.
- 5.- Moynahan, E.J. y Barnes, P.M. Zinc deficiency and a synthetic diet for lactose intolerance. Lancet. 1:676, 1973.
- 6.- Prasad, A.S., Miale, A.Jr, Farid, Z., Sandstead, H.H., y Schulert, A.R. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatoesplenomegaly, -- dwarfism and hypogonadism. J.Lab. Clin. Med. 61:537, --- 1963.
- 7.- Beisel, W.R. Zinc metabolism in infection. In: Zinc metabolism: Current aspects in health and disease. Ed. G.J.\_ Brewer and A.S. Prasad. Publ. Alan A. Liss. Inc. New --- York, N.Y. 1977, pp 155-176.
- 8.- Ronaghy, H., Spivey Fox, M.R., Garn, S.M. Controlled --- zinc supplementation for malnourished school boys. A pilot experiment. Am. J. Clin. Nutr. 22:1279, 1969.
- 9.- DiPaolo, D.V., Kanfer, J.N. y Newberne, P.M. Copper deficiency and the central nervous system: Myelination in the

rat: Morphological and Biochemical studies. *Neurphatol. Exper. Neurol.* 33:226, 1974.

- 10.- O'Dell, B.L. Biochemistry of copper. *Med. Clin. N. Amer.* 60:687, 1976.
- 11.- Lahey, M.E. y Schubert, W.K. New deficiency syndrome occurring in infancy. *Am. J. Dis. Child.* 93:31, 1957.
- 12.- Cordano, A., Baertl, J.A., Mortey, W.H. Cartwright, G.E. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics.* 34:324, 1964.
- 13.- Menkes, J.H., Alter, M., Steigleder, G.K., Weakley, D.R., Sung, J.H. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics.* 29:764, 1962.
- 14.- Manser, I., Crawford, G.S., Tyrala, E.E., Brodsky, N.L., Grover, W.D. Serum copper concentrations in sick and well preterm infants. *J. Pediatr.* 97:795, 1980.
- 15.- Karpel, J.T., Peden, V.H. Copper deficiency in long-term parenteral nutrition. *J. Pediatr.* 80:32, 1972.
- 16.- Reinhold, J.G. Trace elements. A selective survey. *Clin. Chem.* 21:476, 1975.
- 17.- Sturgeon, P. Iron metabolism. A review with special consideration of iron requirements during normal infancy. *Pediatrics.* 18:267, 1956.
- 18.- Arthurton, M., O'Brien, D., Mann, T. Haemoglobin levels in premature infants. *Arch. Dis. Child.* 29:38, 1954.
- 19.- Layrisse, M., Linares, J., Roche, M. Excess hemolysis in subjects with severe iron deficiency anemia associates and non associates with hookworm infection. *Blood.* 25:73 1965.

- 20.- Robinson, S.H. Increased formation of early- labeled bilirubin in rats with iron deficiency anemia. Evidence for ineffective erythropoiesis. *Blood*. 33:909, 1969.
- 21.- Shaw, J.C.L. Parenteral nutrition in the management of sick low birthweight infants. *Pediatric Clin. North. Am.* 20:333, 1973.
- 22.- Dubowitz, L.S., Dubowitz, V., Golberg, C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J. Pediatr.* 77:1, 1970.
- 23.- Lubchenco, L.O., Hasman, G., Dressler, M., Boyd, E. Intra uterine growth as estimated from live born birth, weight data at 24 to 42 weeks gestation. *Pediatrics*. 32:793, 1963.
- 24.- Lima-Dávila, G.M. Valoración de fierro profiláctico en la anemia del prematuro. Tesis de Post-Grado. Hosp. de Pediatría. Centro Medico Nacional. I.M.S.S. México, D.F. 1976-1979.
- 25.- Lifschitz, M.D. y Henkin, R.I. Circadian variations in copper and zinc in man. *J. Appl. Physiol.* 31:88, 1971.
- 26.- Davies, I.J.T., Musa, M., Dormandy, T.L. Determination of zinc serum. Method of Davies modified. *Principles and techniques*. Ed. Richard J. Henry. Second Edition. 1974.
- 27.- Piper, K.H., Higgins, G. Determination of copper in serum. Method of Piper and Haggins modified. *Proc. Ass. Clin. Biochem.* 7:190, 1976.
- 28.- Olson, A.D., Hamlin, W.B. Iron method for atomic absorption. *Clin Chem.* 15:438, 1969.
- 29.- Hausamen, T.U., Helger, R., Rick, W., Gross, W. Optimal conditions for the determination of serum alkaline phosphatase by new kinetic method. *Clin. Chem. Acta.* 15:241, 1967.

30.- Mancini, C., Carbonara, A.C., Heremans, J.F. Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry.* 2:235, 1965.

31.- Sánchez-Lechuga, F. Determinación de cinc sérico en niños sin desnutrición y desnutridos con y sin infección. Tesis recepcional de Post-Grado, Pediatría. U.N.A.M. México, D.F. 1977.

32.- Sann, L., Rigal, D., Galy, G., Bienvenu, P. y Bourgeois, J. Serum copper and zinc concentration in premature and small-for-date infants. *Pediatr. Res.* 14:1040, 1980.

33.- Henkin, R.I., Schulman, J.D., Schulman, C.B. y Bronzert, D.A. Changes in total nondiffusible and diffusible plasma zinc and copper during infancy. *J. Pediatr.* 82:831, 1973.

34.- Sandstead, H.H., Gillespie, D.D. y Brody, R.N. Zinc deficiency: effect on brain of the suckling rat. *Pediatr. Res.* 6:119, 1972.

35.- Walravens, P.A., Hambridge, K.M. Growth of infants fed a zinc supplemented formula. *Am. J. Clin. Nutr.* 29: 1114, 1976.

36.- Holembreg, C.G. y Laurell, C.B. Investigations in serum copper. II Isolation of the copper containing protein - and description of its properties. *Acta Chem. Scand.* 2: 550, 1948.

37.- Hagberg, B. The iron binding capacity of serum in infants and children. *Acta Pediatr.* 42 (suppl.):93, 1953.

38.- Schulman, I. Iron requirements in infancy. *JAMA* 175: -- 118, 1961.

39.- Woodruff, C.W., Goode, M.D. Nutritional assessment of infants with hypochromic anemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 7:634,

1959.

- 40.- Schietz, J. y Smith, N.J. Quantitative study of the absorption of iron salts in infants and children. Am. J. Dis. Child. 95:120, 1958.