

ZINC Y COBRE PLASMATICOS EN LACTANTES CON DESNUTRICION PROTEINICO-ENERGETICA

*Mauro Fisberg¹, Carlos Castillo Durán², Juan I. Egaña² y
Ricardo Uauy Dagach³*

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

Se estudiaron las concentraciones plasmáticas de zinc y cobre en 45 lactantes con desnutrición tipo marasmo, seleccionados entre los que ingresan al Centro de Recuperación Nutricional del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago de Chile. El Zn plasmático promedio fue de $92.4 \pm 24 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ($\bar{x} \pm \text{DE}$), y el 70% de los lactantes sufrió hipozincemia definida por zincemia $< 70 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. La mediana para la cupremia fue de $90 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (rango 27-172) y el 49% de los niños tuvo hipocupremia, definida por concentraciones $< 90 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Se estudiaron como factores condicionantes de hipocupremia e hipozincemia el peso del niño al nacer, alimentación al seno materno y hospitalización previa por diarrea aguda con deshidratación. Los lactantes con antecedentes de hospitalización previa por diarrea aguda, presentaron concentraciones de cupremia más bajas que aquellos referidos desde centros de control ambulatorio. La alimentación materna se asoció con concentraciones más altas de cupremia. No se encontró ninguna relación entre las concentraciones de zincemia y estos factores, pero sí hubo diferencias en relación al grado de desnutrición y época del año en que ingresaron. En esta investigación, no se encontró deficiencia de zinc, pero sí se constató que la hipocupremia es un problema muy significativo en lactantes marásmicos, especialmente cuando su destete ha sido precoz y hay antecedentes de diarrea aguda con deshidratación.

Manuscrito modificado recibido: 28-9-83.

- 1 Becado del Programa Mundial Contra el Hambre de la Universidad de las Naciones Unidas (UNU), con sede en Tokio, Japón, asignado al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- 2 Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- 3 Profesor de Nutrición y Pediatría del INTA, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

INTRODUCCION

El número de oligoelementos considerados como indispensables para la nutrición humana, ha ido en aumento en la medida que las investigaciones ahondan en este interesante campo de la nutrición. La mayoría de los estudios se han orientado hacia los oligoelementos relativamente más abundantes en los seres vivos, tales como el Fe, Zn y Cu.

Se han comunicado concentraciones séricas bajas de Zn y Cu en niños con desnutrición proteínico-energética (1). La hipocupremia ha sido asociada con una disminución en las concentraciones de albúmina, ceruloplasmina y hierro, sugiriendo que forma parte del síndrome de deficiencia proteínica (2, 3). Las concentraciones de Zn plasmático notificadas para lactantes marásmicos son de alrededor de 50 a 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, aunque muchos de ellos clasificados como marásmicos en esas investigaciones tenían niveles plasmáticos de albúmina menores de 2.8 g/100 ml, y serían más bien formas mixtas de marasmo-kwashiorkor (4, 5). Según diferentes estudios al respecto, las concentraciones de cobre en lactantes marásmicos presentan niveles normales o bajos (2, 6).

En Chile, el marasmo es el tipo de desnutrición prevalente, y todos los casos acusan habitualmente albúmina normal ($> 3.5\text{ g}/100\text{ ml}$). La anemia es un signo frecuente en dichos lactantes, aunque ésta no siempre ocurre por carencia de hierro (7). En otras comunicaciones, hemos informado casos de deficiencia clínica de cobre en el transcurso de la recuperación nutricional de lactantes marásmicos (8). Las concentraciones de cupremia en esos niños estaban disminuidas, lo que se asociaba a bajo peso al nacer y ausencia de lactancia materna (9).

El presente estudio se llevó a cabo con el fin de determinar la prevalencia y magnitud de Cu y Zn plasmáticos bajos en lactantes marásmicos, al momento de ingresar al Centro Cerrado de Recuperación Nutricional del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Nos interesaba también conocer los factores condicionantes, y la posible interacción del déficit de Zn y Cu.

MATERIALES Y METODOS

Se midieron las concentraciones plasmáticas de Zn y Cu en 45 lactantes ingresados al Centro Nutricional del INTA durante el período de octubre de 1980 a febrero de 1981: 25 de sexo masculino y 20 de sexo femenino, con una edad promedio de ocho meses (rango de 3 a 18 meses). El 60% (27 niños) fueron referidos desde el Hospital Base del Área (Hospital Josefina Martínez) y de ellos, 21 habían estado hospitalizados por síndrome diarreico agudo y deshidratación; el 40% restante fueron referidos por los 10 consultorios distritales de la misma Área. El estado nutricional del grupo se determinó en base a los indicadores peso/edad (P/E) y peso/talla (P/T), expresados como porcentaje de la mediana correspondiente de los estándares establecidos por la OMS en 1979 (10). El promedio \pm DE del peso/edad fue de $65 \pm 7\%$ y el de peso/talla, de $87 \pm 7\%$ y todos se habían desnutrido primariamente por déficit de ingestión de alimentos. La duración promedio de la lactancia materna para el grupo de 37 con el antecedente consignado, fue de 1.6 meses, y

el 48% de ellos no llegó a recibir pecho. El peso promedio al momento del nacimiento de los 41 lactantes en quienes se tenía ese antecedente, fue de $2,760 \pm 650$ g; el 40% tuvo un peso al nacer por debajo de 2,500 g. En la Tabla 1 se resumen las características del grupo.

TABLA 1

CARACTERISTICAS DE LOS 45 LACTANTES A SU INGRESO AL CENTRO DE RECUPERACION NUTRICIONAL

Edad promedio y rango (meses)	8 (3-18)
Sexo (masc/fem)	25/20
Peso al nacer (g)	$2,763 \pm 656^*$
Peso/edad (% del estándar de la OMS)	65 ± 7
Peso/talla (% del estándar de la OMS)	87 ± 7
Duración promedio de lactancia materna (meses)	1.6

$\bar{x} \pm DE$.

El protocolo de la investigación fue revisado y aprobado previamente por el Comité de Ética del INTA, y se obtuvo el consentimiento escrito de los padres de los niños. De cada uno de ellos se extrajo una muestra de sangre por punción venosa dentro del término de 48 horas de su ingreso. Esto se hizo en ayunas y se usaron jeringas de material plástico desechable con agujas de acero a fin de evitar contaminación con los elementos en estudio. Se usó heparina libre de Zn y Cu. El plasma se separó por centrifugación y luego fue analizado para determinar su contenido de Zn y Cu en un espectrofotómetro de absorción atómica, Modelo Perkin Elmer 303, de acuerdo al método de Fernández y Kahn (11). En dos lactantes no se obtuvo el resultado de cupremia. Se determinó además, albuminemia por técnica fotocolorimétrica del verde de bromocresol sulfonftaleína; hemoglobina por el procedimiento de la cianometahemoglobina; recuento celular por contador electrónico, y recuento de neutrófilos por observación directa al microscopio.

RESULTADOS

La mediana de los valores de Cu plasmático para el grupo fue de 90 $\mu\text{g}/100$ ml (rango de 27-172), presentando cifras de hipocupremia (< 90 $\mu\text{g}/100$ ml) cerca del 50% de los lactantes. Si se considera 60 $\mu\text{g}/100$ ml como límite para la deficiencia severa, el 20% del grupo tuvo valores por debajo de esa concentración.

El promedio \pm DE de zincemia fue de 92 ± 24 $\mu\text{g}/100$ ml. Sólo en tres lactantes se establecieron valores menores de 70 $\mu\text{g}/100$ ml, cifra utilizada habitualmente como límite de lo normal. Los datos correspondientes se consignan en la Tabla 2.

La distribución de las concentraciones de Cu y Zn en forma de frecuencia acumulada se presenta en las Figuras 1 y 2. En el caso del cobre,

TABLA 2

**CONCENTRACIONES DE ZINC Y COBRE PLASMATICOS AL INGRESO
AL CENTRO DE RECUPERACION NUTRICIONAL**

	n	Promedio \pm DE	Mediana (rango)	% Niños por debajo de lo normal*
Zn ($\mu\text{g}/100$ ml)	45	92.4 \pm 24.0	94 (59-206)	7
Cu ($\mu\text{g}/100$ ml)	43	91.1 \pm 39.0	90 (27-172)	49

* Límite inferior de normalidad para Zn: 70 $\mu\text{g}/100$ ml; para Cu: 90 $\mu\text{g}/100$ ml.

la distribución no fue normal y la mediana coincidió con el límite inferior de la normalidad. Los niveles de Zn estaban normalmente distribuidos.

Los estudios hematológicos mostraron que 18 lactantes tenían hemoglobina inferior a 11 g/100 ml, pero sólo 11 de éstos presentaban evidencias de déficit de hierro, tales como microcitosis e hipocromia. De los 22 niños con hipocupremia, seis tenían anemia tipo ferropriva, incluyendo cuatro de los nueve lactantes que acusaban cupremia por debajo de 60 $\mu\text{g}/\text{dl}$. El recuento absoluto de neutrófilos reveló que sólo uno de

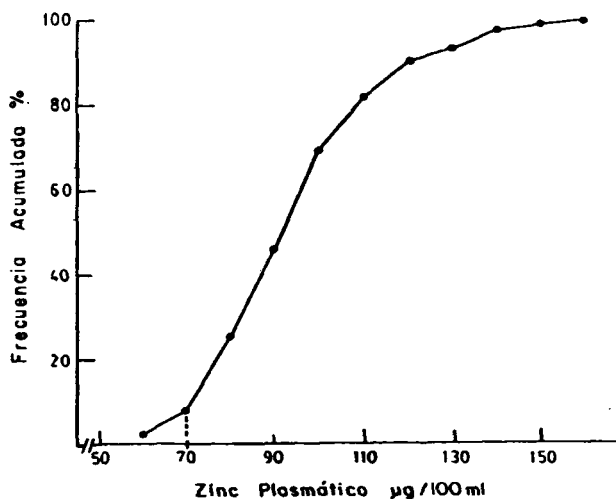


FIGURA 1

Frecuencia acumulada de concentraciones de cobre plasmático en 45 lactantes marásicos al momento del ingreso al Centro de Recuperación Nutricional. La línea punteada marca el límite inferior de normalidad

esos niños tenía un recuento de neutrófilos menor de $1,500 \times \text{mm}^3$. La albúmina plasmática promedio fue de $3.9 \text{ g}/100 \text{ ml}$, y todos acusaron cifras por encima de $3.5 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

Con base en los factores condicionantes conocidos para deficiencia de oligoelementos, investigamos la influencia del peso al nacimiento, duración de la lactancia materna, e infección gastrointestinal reciente. Los resultados se exponen en la Tabla 3.

Las concentraciones de cobre fueron más bajas en los niños con antecedentes de peso al nacer inferior a $2,500 \text{ g}$, y para aquéllos con una historia de haber suspendido la alimentación materna antes del primer mes de edad ($\chi^2 = 5.57$; $P < 0.025$), aunque en la primera situación no alcanzó significación estadística. El antecedente de hospitalización por diarrea antes de ingresar al Centro Nutricional fue significativo para determinar concentraciones más bajas que el grupo enviado desde los Consultorios Distritales ($\chi^2 = 3.96$; $P < 0.05$). Los niveles de zincemia en el grupo que presentó hipocupremia fueron semejantes al del grupo en su totalidad ($93 \pm 24 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$). No se encontró correlación entre las concentraciones de zinc y cobre.

Tampoco se constató ninguna asociación entre los antecedentes de peso al nacer, duración de la lactancia materna y diarrea aguda con deshidratación y las concentraciones plasmáticas de zinc. Los lactantes admitidos durante la primavera de 1980 (septiembre, octubre, noviembre, con temperaturas que fluctúan entre 60° y 250°C), tuvieron concentraciones promedio de Zn de $107 \pm 23 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ versus $87 \pm 12 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ para

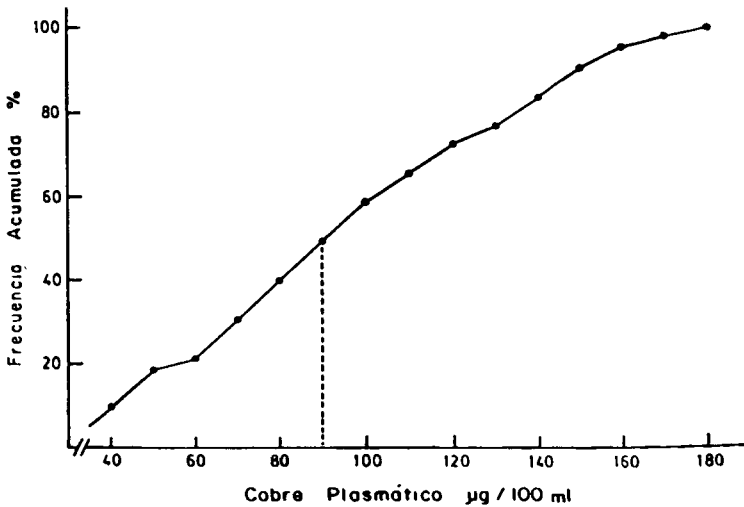


FIGURA 2

Frecuencia acumulada de zinc plasmático en 43 lactantes marásmicos al momento del ingreso al Centro de Recuperación Nutricional. La línea punteada marca el límite inferior de normalidad

TABLA 3

EFECTO DE ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA CUPREMIA EN LACTANTES MARASMICOS

	n	Cupremia µg/100 ml	Significación estadística (χ^2) P <
Peso al nacer			
> 2,500 g	27	96 (14-159)*	NS
< 2,500 g	14	75 (36-172)	
Duración de lactancia materna			
> 1 mes	13	114 (48-159)	0.025
< 1 mes	24	76 (34-172)	
Hospitalización por diarrea aguda			
No	23	113 (14-172)	0.05
Sí	14	75 (26-148)	

* Mediana (rango). NS = No significativa.

aquéllos admitidos en los meses de verano (diciembre, enero, febrero y marzo, con temperaturas de 12° a 34°C). Esta diferencia fue significativa ("t" de Student: 2.50; P < 0.025) y podría explicarse dada la mayor severidad del marasmo en el último grupo. También hubo cierta tendencia a mostrar diferencias, aunque no significativas, entre las medianas de las cupremias de los niños ingresados en ambos períodos ($\chi^2 = 2.95$; NS). Se observó un efecto significativo del déficit ponderal en relación con la zincemia al separar el grupo en aquéllos con una relación peso/edad mayor o menor de 600/o (Tabla 4).

DISCUSION

Ya es más que conocido el significado del Cu y del Zn en la nutrición. La mayoría de los signos clínicos y bioquímicos de su déficit puede atribuirse a su acción como cofactores o reguladores de importantes metaloenzimas (12, 13).

Las concentraciones plasmáticas bajas de zinc y cobre, son claramente interpretables en la presencia de signos clínicos de deficiencia. Pero el significado de bajas concentraciones de estos elementos en el plasma o en el pelo de poblaciones aparentemente sanas, no ha sido aún bien definido (14). Tampoco está muy claro el papel específico que el déficit de Zn y Cu juega dentro de la desnutrición proteínico-energética, aun cuando estos elementos son importantes para la utilización de proteína y energía (2, 3, 16). La interacción entre la desnutrición y el déficit de oligoele-

TABLA 4

**EFFECTO DE ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN EL ZINC
PLASMATICO EN LACTANTES MARASMICOS**

	n	Zn plasmático ug/100 ml	Significación estadística prueba "t" de Student P <
Estación de admisión:			
Primavera	17	107 ± 23*	0,001
Verano	25	87 ± 12	
Severidad de desnutrición:			
Peso/edad < 60%/o	11	80 ± 16	0,001
Peso/edad > 60%/o	33	100 ± 18	

* $\bar{x} \pm DE$.

mentos es compleja. Bajo ciertas circunstancias el déficit de Zn *per se* puede llevar a desnutrición, mientras que en el caso del kwashiorkor, las concentraciones de los oligoelementos caen secundariamente en déficit de proteína y energía (2, 5, 14). Las dificultades en la estandarización de los indicadores de nutrición de Zn y Cu contribuyen aún más a la disparidad de los resultados. La asociación de signología clínica específica, con las determinaciones de estos elementos en plasma, pelo y alguna metaloenzima, parece ser la forma más adecuada de definir poco a poco sus deficiencias. En el caso del zinc, la fosfatasa alcalina es la enzima más factible de ser utilizada, y en el del cobre, la ceruloplasmina y la superoxidismutasa (15). Una elevación de sus concentraciones como respuesta a la suplementación, termina por confirmar la deficiencia (16).

Los resultados informados de mediciones de oligoelementos en la desnutrición proteínico-energética, son confusos, lo que se debe a los diferentes métodos utilizados para las determinaciones de Zn y Cu, así como a la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas. El único hallazgo habitual son las concentraciones bajas de zinc y cobre en casos de desnutrición tipo kwashiorkor (4, 5). En cambio, en cuanto al marasmo, la mayoría de los estudios muestran concentraciones bastante por encima de las del kwashiorkor, normales o con un descenso moderado. En muchos casos, la clasificación de marasmo se ha hecho en base a indicadores clínicos, ya que si asociamos algunos indicadores bioquímicos, muchos de los niños sometidos a estudio pueden ser más bien formas mixtas de marasmo-kwashiorkor. En nuestro estudio, todos los lactantes tenían albúmina plasmática normal.

Sólo tres de los niños incluidos en la investigación acusaban concentraciones de zinc plasmático levemente por debajo del límite de normalidad fijado por nosotros. El déficit sub-clínico de zinc es difícil de establecer y para ello los niveles plasmáticos aislados ciertamente no son los más

adecuados (17), siendo necesaria la asociación de otras mediciones, según se mencionó. Mediciones practicadas en plasma y pelo de niños peruanos con desnutrición, no han revelado evidencia de déficit de zinc (18), aunque sí se observó en lactantes desnutridos severos en el estudio de Golden y Golden (16). En dicha investigación, la deficiencia se corroboró con un alza de la zincemia al recibir la suplementación requerida, así como con una mayor ganancia de peso, mejor eficiencia calórica, y recuperación del tamaño del timo.

El calostro y la leche humana madura son buenas fuentes de zinc y suficientes para satisfacer los requerimientos del lactante en crecimiento. La leche de vaca tiene un contenido de zinc cercano al adecuado (3-3.5 mg/lt en nuestras fórmulas basadas en leche de vaca entera), pero su biodisponibilidad es menor que la de la leche materna (19, 20). Los resultados obtenidos por nosotros no mostraron un efecto de la duración de la lactancia materna sobre las concentraciones de zinc. Los lactantes eran alimentados con fórmulas artificiales en base a leche de vaca en polvo; a pesar de ello, sin embargo, presentaron concentraciones de zinc plasmático normales.

Las reservas limitadas de zinc, adquiridas durante los últimos meses de gestación, se almacenan en el hígado y los huesos, y son extremadamente lábiles (21). Tampoco encontramos efectos de la duración de la gestación sobre la zincemia.

En la desnutrición tipo kwashiorkor, las concentraciones de zinc están disminuidas, principalmente a causa de un descenso de su proteína transportadora, la que también puede estar afectada por infecciones intercurrentes, tanto en el marasmo como en el kwashiorkor. No se constataron efectos de infecciones gastrointestinales agudas previas sobre las concentraciones de zinc plasmático, y ninguno de los lactantes tuvo evidencia clínica de malabsorción intestinal. Los lactantes con mayor déficit de peso fueron admitidos predominantemente en el verano, y sus concentraciones de zinc eran más bajas, aun cuando las concentraciones de albúmina se presentaban normales. No obstante, en algunos casos no estaba del todo claro el antecedente de diarrea previo a su admisión al Centro de Recuperación Nutricional. Los lactantes que ingresaron en los meses de verano, tenían una alta frecuencia de ese antecedente.

La prevalencia de hipocupremia en nuestro grupo fue muy alta, cercana al 50%, y los datos muestran que el antecedente de hospitalización previa por diarrea aguda, es un factor de importancia en la aparición de hipocupremia. Un estudio previo efectuado con lactantes admitidos durante el período de invierno, cuando la diarrea es poco frecuente, reveló sólo un 7% de hipocupremia en el momento de la admisión, cifra que aumentaba a cerca de 30% en el transcurso de la recuperación nutricional, si el lactante no era suplementado con cobre (8).

El cobre plasmático está menos relacionado con la ingestión dietética que el zinc plasmático. Las reservas de cobre adquiridas en las semanas finales de gestación se suman a aquéllas obtenidas de la alimentación por calostro y de la lactancia materna posterior (21, 22). Los lactantes alimentados al pecho por el término de más de un mes, acusaban cupremias más altas que los que no lo habían recibido. En un estudio previo de nuestro grupo también se encontró una influencia significativa de la duración de la lactancia materna sobre la cupremia dentro del primer año de vida (9).

Graham y Cordano estimaban que la hipocupremia se encontraba principalmente en lactantes desnutridos con diarrea crónica asociada (23). En nuestro estudio, ningún lactante mostró evidencia clínica de malabsorción, aunque tuvieran el antecedente de diarrea aguda, previa a su admisión. La desnutrición proteínico-energética *per se* no parece ser un factor determinante de hipocupremia. Se hace necesario medir las pérdidas de cobre y su absorción durante y después de episodios diarreicos.

Los resultados obtenidos en este caso muestran que la deficiencia de cobre está asociada al marasmo y sus patologías intercurrentes, y sugieren la necesidad de tomar en cuenta el contenido de cobre de las dietas utilizadas para la recuperación nutricional.

Las dietas basadas en leche de vaca entera, proporcionan una ingestión inadecuada de cobre; y además, pueden agravar el déficit de cobre preexistente.

SUMMARY

PLASMA ZINC AND COPPER IN CHILDREN WITH PROTEIN-ENERGY MALNUTRITION

Forty-five marasmic infants were studied for plasma zinc and copper levels. They were selected from those children admitted to a nutritional recovery center. The mean plasma zinc level was $92.4 \pm 24 \mu\text{g/dl}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$); 70% of the infants had low zinc values as defined by zinc $< 70 \mu\text{g/dl}$. Median copper was $90 \mu\text{g/dl}$ (range 27-172) and 49% of the children had copper levels below $90 \mu\text{g/dl}$ (established as our normal limit). Birth weight, breast feeding and prior hospitalization for acute diarrhea with dehydration were studied as antecedents related to low Cu and Zn. Children with prior diagnosis of acute diarrhea and hospitalization had lower copper levels than those sent from primary care centers. Breast feeding was associated with higher Cu levels. No relationship was found between zinc levels and those antecedents, but differences were found in regard to the degree of malnutrition, season of the year and Zn status. In this investigation no Zn deficiency was found in marasmus cases. Hypocupremia, however, is a very significant problem in marasmic infants, especially when associated with early weaning and the presence of previous hospitalization for acute diarrhea.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de Ruperto Bravo en la determinación de los elementos; de Carmen Artaza, en el trabajo de enfermería, y de Genoveva Escobar, en la labor de secretaría.

BIBLIOGRAFIA

1. Shaw, J. C. L. Trace elements in the fetus and young infant. I-Zinc. *Am. J. Dis. Child.*, 133:1260-1268, 1979.
2. Hansen, J. D. L. & B. H. Lehman. Serum zinc and copper concentrations. *S. African. Med. J.*, 43:1248-1251, 1969.

3. Kualil, M., A. Kabiell, S. El Khateeb, K. Aref, M. El Lozy, S. Jahin & F. Nasr. Plasma and red cell water and elements in protein calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**:260-267, 1974.
4. Kuma, R. S. & K. S. J. Rao. Plasma and erythrocyte zinc levels in protein calorie malnutrition. *Nutr. Metabol.*, **15**:364-371, 1973.
5. Smit, Z. N. & P. J. Pretorius. Studies in metabolism of zinc. Part 2. Serum zinc levels and urinary zinc excretions in South African kwashiorkor patients. *J. Trop. Pediat.*, **9**:105-112, 1964.
6. Cordano, A., J. M. Baertl & G. G. Graham. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics*, **34**:324-336, 1964.
7. Walter, T., C. Castillo Durán, L. Schlessinger, M. Arévalo, P. Chadud, N. Follert, M. Fisberg & J. I. Egaña. Incidencia de hipocupremia en lactantes marásmicos. *Rev. Chil. Nutr.*, **8**:60, 1980 (Resumen).
8. Castillo Durán, C., M. Fisberg, A. Valenzuela, J. I. Egaña & R. Uauy. Controlled trial of copper supplementation during the recovery of marasmus. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**:898-903, 1983.
9. Fisberg, M., C. Castillo Durán, J. I. Egaña & R. Uauy. Factores condicionantes de hipocupremia en lactantes marásmicos. *Rev. Chil. Ped.*, **52**:410-414, 1981.
10. World Health Organization. **Measurement of Nutritional Impact**. Geneva, WHO, 1979. (WHO/FAO/79.1).
11. Fernández, F. J. & H. L. Kahn. Clinical methods for atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chem. Newsletter*, **3**:24-26, 1971.
12. Riordan, J. F. & B. L. Vallee. Structure and function of zinc metalloenzymes. In: **Trace Elements in Human Health and Disease**. Vol. I. A. S. Prasad (Ed.). New York, N. Y., Academic Press Inc., 1976, p. 227-256.
13. O'Dell, B. L. Biochemistry and physiology of copper in vertebrates. In: **Trace Elements in Human Health and Disease**. Vol. I. A. S. Prasad (Ed.). New York, N. Y., Academic Press Inc., 1976, p. 391-414.
14. Hambidge, K. M., P. A. Walravens, R. M. Brown, J. Webster, S. White, M. Anthony & M. L. Roth. Zinc nutrition of preschool children in Denver Head Start program. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29**:734-738, 1976.
15. Danks, D. M. Diagnosis of trace metals deficiency with emphasis on copper and zinc. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**:278-280, 1981.
16. Golden, M. H. N. & B. E. Golden. Effect of zinc supplementation on the dietary intake, rate of weight gain and energy cost of tissue deposition in children recovering from severe malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**:900-908, 1981.
17. Klevay, L. M. Hair as a biopsy material. I-Assessment of zinc nutriture. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**:284-289, 1970.
18. Bradfield, R. B., T. Yee & J. M. Baertl. Hair zinc levels of Andean Indian children during protein calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**:1349-1353, 1969.
19. Johnson, P. E. & G. W. Evans. Relative zinc availability in human breast milk, infants formulas and cow's milk. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**:416-421, 1978.
20. Vuori, E. & P. Kuitunen. The concentrations of copper and zinc in human milk. *Acta Pediat. Scand.*, **68**:33-37, 1978.
21. Widdowson, E. M., J. Dauncey & J. C. L. Shaw. Trace elements in foetal and early postnatal development. *Proc. Nutr. Soc.*, **33**:275-284, 1974.
22. Mischel, W. & R. Dreher. Der zink stoffwechsel in der schwangerschaft. *Med. Welt*. **32**:1594, 1963 cited in Klevay, L. M.; Hair as a biopsy material. II assessment of copper nutriture. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**:1194-1202, 1970.
23. Graham, G. G. & A. Cordano. Copper depletion in the malnourished infant. *J. Hopkins Med. J.*, **124**:139-150, 1969.