ARTÍCULOS ORIGINALES

NIVELES DE ZINC EN PLASMA Y GLOBULO ROJO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIAS

PLASMATIC AND ERYTHROCYTE ZINC LEVELS IN UNIVERSITY STUDENTS

María Luz Pita Martín de P. (1), Adriana Weisstaub (1), Marisa Vazquez (2), Laura Beatriz López (2)

(1) Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

(2) Escuela de Nutrición, Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires, Argentina

ABSTRACT

Introduction: According to the National Nutrition and Health Survey of Argentina, 33,5 % of women aged 14 to 49 years old could have a low zinc intake. Nevertheless, there is no information about the biochemical evaluation of zinc nutritional status in women at a reproductive age. **Objective:** To carry out an exploratory survey in order to study three biochemical parameters: zinc in plasma (ZnP), zinc in erythrocyte (ZnE) and the relationship zinc / Hemoglobin (Hb) in a group of female university students. **Methods:** The sample included 48 university students without pathologies who accepted to participate in the survey. Participants were evaluated by anthropometric measurements and Body Mass Index (BMI) was calculated. Fasting blood samples were obtained and plasma Zn and erythrocyte Zn levels were determined by atomic absorption spectrometry. **Results:** The group had a mean $\pm$ standard deviation of $22,3 \pm 3,3$ years and the anthropometric characteristics were: weight (kg): $56,0 \pm 6,8$; height (m): $1,62 \pm 0,05$; BMI (kg/m²): $21,3 \pm 2,2$. **Descriptive statistics:** Mean $\pm$ SD (95% Confidence Interval) and [range] for biochemical parameters were: ZnP (μ g/dL): 95 ± 20 , (89 ñ 100), [50 ñ 175]; ZnE (μ g/dL): 1320 ± 260 , (1250 ñ 1390), [760 ñ 1850] ; Zn/Hb (μ g/g): $39,8 \pm 7,2$, (37,7-41,9), [24,4-54,0]. **Conclusions:** Biochemical parameters, especially ZnE showed a normal distribution. Only 6.3% of the students had ZnP below 70 μ g/L (the cut-off point proposed internationally). However, they were within the range of other Argentine figures from studies made in healthy adults, so these findings may indicate an adequate zinc nutritional status.

Key words: plasma zinc; erythrocyte zinc; university students

Este trabajo fue recibido el 6 de Enero de 2009 y aceptado para ser publicado el 21 de Julio de 2009.

INTRODUCCIÓN

El zinc (Zn) es un oligoelemento esencial necesario para la actividad de más de 100 enzimas que lo requieren específicamente para su función catalítica. Su presencia es necesaria para múltiples actividades metabólicas y fisiológicas como el crecimiento, los mecanismos inmunes, la función reproductiva y el desarrollo neurológico (1,3).

En América Latina, la evaluación del estado nutricional de este micronutriente en grupos poblacionales vulnerables como las embarazadas y los niños revela grados variables de deficiencia, que en algunos casos

constituye un problema de salud pública y que se ha atribuido a la ingesta marginal debido a la presencia en la dieta de factores inhibitorios responsables de la baja biodisponibilidad del Zn (4,5).

El nivel de Zn en plasma es uno de los indicadores más utilizados para su evaluación nutricional y el único acerca del cual se dispone de puntos de corte consensuados internacionalmente. No obstante los valores de Zn en eritrocito y la relación Zn/hemoglobina constituyen indicadores complementarios que deben tenerse en cuenta para ampliar el diagnóstico nutricional (6 - 8).

En Argentina, la información disponible a nivel na-

cional proviene de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNYS), cuyos resultados se comunicaron el año 2007. En este estudio, con representatividad nacional, la ingesta promedio, en mujeres de 10 a 49 años arrojó una mediana de 8,6 mg/d (9).

Teniendo en cuenta la escasa información disponible respecto al estado nutricional de Zn en mujeres en edad fértil de Argentina, el propósito de este trabajo fue estudiar en un grupo de estudiantes universitarias la distribución de tres parámetros bioquímicos: Zn en plasma, Zn en eritrocito y la relación Zn /hemoglobina, comparándolos con los publicados en la bibliografía internacional. Dichos valores serán de utilidad para la identificación de grupos vulnerables y su seguimiento en intervenciones nutricionales.

SUJETOS Y MÉTODOS

El diseño del estudio fue descriptivo, transversal, de carácter exploratorio. La muestra se seleccionó en forma no probabilística y estuvo conformada por 48 estudiantes universitarias, clínicamente sanas. El trabajo se realizó de acuerdo a las Normas Éticas Internacionales y las estudiantes expresaron su consentimiento informado, por escrito, de acuerdo a las Normas de Ética del Comité de Docencia e Investigación de la Universidad de Buenos Aires.

Se realizó la evaluación antropométrica mediante la medición del peso y la talla. El peso se tomó en ropas livianas en balanza marca Cam®, la talla se midió con cinta métrica inextensible de lectura frontal y se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC) en kg/m², que se categorizó como adecuado: de 18.5 a 25, sobrepeso >25 y bajo peso, inferior a 18.5.

Por la mañana, en ayunas se extrajo sangre por punción venosa y se determinó en sangre entera: hemograma completo y Zn por espectrofotometría de absorción atómica (VARIAN, SPECTR AA 220, lámpara de deuterio para

corrección de fondo y llama de aire- acetileno, a 213,9 nm; slit: 1,0 nm; corriente de lámpara: 5,0 mA). El rango de lectura fue de 0,25 a 1,5 mg/L ($r=0,9753$); se utilizaron estándares certificados (Riedel de Haen, Fixanal, código 498582). Los controles interlaboratorio se realizaron en la Network EQAS Organizers (Consejería de Industria, Trabajo y Desarrollo Tecnológico), Dirección General de Trabajo, Centro de Seguridad y Salud en el Trabajo. Gobierno de Cantabria, Santander España.

Todo el material utilizado fue tratado durante 24 horas con una solución de ácido nítrico al 20% y posteriormente lavado 6 veces con agua destilada y 6 veces con agua ultrapura (Easypure RF, compact ultrapure water system, Barnstead MW-cm).

El punto de corte utilizado como referencia para el zinc en plasma fue el propuesto por el International Zinc Nutrition Consultative Group (IZINCG): 70 µg/dL (6).

Los resultados se analizaron empleando estadísticas descriptivas, para evaluar la normalidad en la distribución de los indicadores se utilizó el test de Shapiro Wilk. Para el análisis se empleó el programa Statistix 7.

RESULTADOS

El grupo estudiado presentó una edad promedio de 22.3 ± 3.3 años y las siguientes características antropométricas (Media $\pm$ DE): Peso (kg): 56.0 ± 6.8 ; talla (m): $1.62 \pm 0,05$; IMC (kg/m²): 21.3 ± 2.2 . La mayor proporción de las estudiantes, el 87.5%, presentó valores de IMC en el rango de normalidad, solo una joven presentó bajo peso (IMC = 17.9), el 10.4% (n= 5) tuvo sobrepeso con valores de IMC entre 25.2 y 27.3 y ninguna presentó obesidad.

Las estadísticas descriptivas: media, desviación estándar, intervalos de confianza del 95% y rango observados en los indicadores bioquímicos se presentan en la tabla 1. La dispersión en los valores fue baja, observándose una curva de distribución normal para el indicador

TABLA 1

Estadísticas descriptivas de los niveles de zinc en plasma, en eritrocito y zinc/Hb en estudiantes universitarias

	Zinc en Plasma (µg/dL)	Zinc en GR (µg/mL)	Zinc/Hb (µg/g)
Media $\pm$ DE	95 $\pm$ 20	13.2 $\pm$ 2.6	39.8 $\pm$ 7.2
IC 95%	89 – 100	12.5 – 13.9	37.7 – 41.9
Mediana	95	13.0	39.3
Valor Mínimo	50	7.6	24.4
Valor Máximo	175	18.5	54.0

Zn en eritrocito y la relación Zn/Hb (Shapiro Wilk Normality test) para Zn GR: W: 0.985, $p=0.7767$, para Zn/Hb: W:0.973, $P=0.3509$. En relación al Zn en plasma, 2 estudiantes (6.3%) presentaron valores inferiores a 70 $\mu\text{g/dL}$, punto de corte sugerido por el IZICG.

Por otro lado, no se observaron diferencias entre los niveles de ninguno de los indicadores en relación el IMC de las estudiantes. Además, los valores de ZnE y Zn/Hb se encontraron dentro del mismo rango tanto en las estudiantes con valores de ZnP inferiores a 70 $\mu\text{g/L}$ como en las que presentaron valores de ZnP > 70 $\mu\text{g/L}$.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, los niveles medios de Zn en plasma hallados en la muestra estudiada de estudiantes

universitarias clínicamente sanas fueron de 95 $\mu\text{g/dL}$, cifras similares a las observadas por otros investigadores en poblaciones hispanas de mujeres adultas (tabla 2). En Chile la muestra estudiada por Gattás Zaror presentó un valor medio de 94 $\mu\text{g/dL}$ (10). Por otro lado, los valores medios de esta muestra de estudiantes universitarias son más elevados que los referidos por Meertens en Venezuela (77.2 $\mu\text{g/dL}$) (11) y los datos provenientes de la Encuesta Nacional de Nutrición en México, que revelan una media de 74 $\mu\text{g/dL}$ en mujeres de 12 a 49 años (12). En Brasil, Saliba refiere una media de 98 $\mu\text{g/dL}$ en jóvenes de un equipo femenino de voleibol (13). Además, nuestros resultados en relación al Zn plasmático son comparables a los valores encontrados en diferentes estudios llevados a cabo en la última década en España (14-16).

TABLA 2

Resumen de los principales hallazgos publicados sobre los indicadores bioquímicos para el zinc en mujeres hispanas

Autor, año (Referencia)	Lugar (Tamaño muestral)	Hallazgo
Gattás Zaror V, 1987 (10)	Chile (n= 21)	Zinc P(media $\pm$ DE): 94 $\pm$ 19 $\mu\text{g/dl}$ 9.5 % con valores < a 70 $\mu\text{g/dl}$
Meertens L,2002 (11)	Venezuela (n= 60)	Zinc S (media $\pm$ DE): 77 $\pm$ 12 $\mu\text{g/dl}$ 41.5 % con valores < a 70 $\mu\text{g/dl}$
Villalpando S, 2003 (12)	México (543)	Zinc P (media, 95% IC): 76 (75-77) 29.7% con valores inferiores a 65 $\mu\text{g/dl}$
Saliba L, 2006 (13)	Brasil (n= 12)	Zinc P (media $\pm$ DE): 98 $\pm$ 14 $\mu\text{g/dl}$ Ninguna con valores < a 75 $\mu\text{g/dl}$ Zinc E /Hb(media $\pm$ DE): 24.4 $\pm$ 3.6 $\mu\text{g/g}$
de Mateo Silleras B, 2002 (14)	España (n= 186 de ambos sexos)	Zinc P (media, 95% IC): 97 $\mu\text{g/dl}$ (95 – 99)
Díaz Romero C, 2002 (15)	Islas Canarias (n= 208)	Zinc S (media $\pm$ DE):116 $\pm$ 52 $\mu\text{g/dl}$
Sánchez C,2007 (16)	Sur de España (n= 184)	Zinc P (media $\pm$ DE): 107 $\pm$ 41 $\mu\text{g/dl}$ 18.5% con valores < a 70 $\mu\text{g/dl}$
Weisstaub A, 2008 (17)	Argentina (n= 19)	Zinc P (mediana 80: rango 49 - 131 $\mu\text{g/dl}$) Zinc E P Mediana: 1360 (1130 – 1610 $\mu\text{g/dl}$) Zinc/Hb: Mediana 40.2 (:34.4 –47.5
Gonçalves dos Santos, 2005 (29)	Brasil (n=24)	Zinc E/Hb (media $\pm$ DE): 38.2 $\pm$ 5 $\mu\text{g/g}$

DE: Desviación Estándar
Zinc P: Zinc en plasma
Zinc E: Zinc en eritrocito
Hb: Hemoglobina

En la República Argentina, no existe información representativa a nivel nacional que identifique el comportamiento de los valores de Zn en plasma en grupos de población. No obstante, estas cifras fueron ligeramente mayores a las de un trabajo reciente donde, en mujeres sanas de Buenos Aires, de 23 a 66 años, con adecuación nutricional, se evidenció un rango de 42 a 157 $\mu\text{g/dL}$ (17). En dicho trabajo se realizó una encuesta de consumo de alimentos y las ingestas de Zn fueron de $12,6 \pm 2,4$ (9,3-17,4) mg/día, cifras que superaron las Recomendaciones Dietéticas para dietas con Zn de biodisponibilidad intermedia (18).

En el presente trabajo sólo el 6.3% de las jóvenes presentó valores de Zn en plasma inferiores a 70 $\mu\text{g/dL}$, cifra muy cercana a la encontrada en Chile (9.5%) (10), pero inferior a las publicadas por Meertens y Villapando en Venezuela y México (41.5% y 29.7%, respectivamente) (11,12), estas diferencias podrían ser atribuidas a las características de los hábitos alimentarios.

La concentración de Zn en plasma o suero es uno de los biomarcadores disponibles más utilizados para evaluar la deficiencia de Zn, y la respuesta a la suplementación, por lo cual se recomienda su uso en la evaluación del estado nutricional (6, 19). Es importante destacar que los valores de referencia que corresponden a Zn en suero provienen de las encuestas realizadas en EEUU (NHANES II) en población norteamericana presumiblemente sana. El análisis estableció promedios, medianas y percentilos de acuerdo a sexo, raza y rangos de edad, cada 5 años, mostrando un incremento desde la infancia hasta la adolescencia, con mayores cifras en los varones que en las mujeres, alcanzando las mayores diferencias entre los 20 y 44 años. Sin embargo, en ese estudio, no fue posible tener en cuenta a las mujeres que tomaban anticonceptivos, o suplementos de minerales, por lo cual esos datos deben ser tomados como valores tentativos (6). Se debe tener en cuenta que los valores en suero son algo mayores que en plasma, lo que se atribuye al efecto de la hemólisis invisible y a liberación de Zn de las plaquetas durante el proceso de coagulación. No obstante, la determinación de Zn en suero y/o plasma toma indistintamente los mismos rangos de referencia. Por otra parte, en esas encuestas (NHANES II) no se calculó la ingesta de Zn, pero se supuso que era adecuada para la población norteamericana, lo cual se confirmó en las encuestas realizadas entre 1988-1994 (20).

Gibson en Nueva Zelanda, estudió un grupo más numeroso de mujeres (n=213) de 21 a 40 años, con adecuación de la ingesta de Zn, encontrando valores ligeramente inferiores a los de las mujeres del presente trabajo, con una mediana de 78 $\mu\text{g/dL}$ (21).

Una de las limitaciones del presente trabajo, cuyo

diseño fue de tipo exploratorio, fue el pequeño tamaño de la muestra. Otro factor menos estudiado pero que también podría influenciar los valores plasmáticos de zinc y que no pudo evaluarse en este grupo es sobre la pérdida reciente de peso corporal durante la cual se incrementarían los valores plasmáticos debido a la liberación del zinc asociada a la pérdida de masa muscular (7). Esta respuesta con un incremento en los valores de zinc en plasma y/o en eritrocito se ha observado tanto en mujeres como en niños obesos luego de un tratamiento con dietas hipocalóricas (22,23). Sin embargo, a pesar de no haber evaluado la ingesta de nutrientes, las características del grupo, estudiantes de la Licenciatura en Nutrición, permiten suponer que consumían una dieta equilibrada, con aporte energético adecuado para mantener el peso corporal deseado y adecuación en el consumo de Zn.

Dado que no existe un indicador bioquímico único para establecer el estado nutricional con respecto al Zn, se han propuesto las determinaciones en leucocitos o en neutrófilos como indicadores más sensibles de estado nutricional, debido a la corta vida media de estas células. Sin embargo, las dificultades inherentes a su separación y el volumen de muestra disponible limitan su aplicación en estudios poblacionales (24). La determinación en pelo ha sido utilizada en algunos trabajos, aunque presenta diversos inconvenientes, ya que está afectada por el lugar del cuero cabelludo donde se toma la muestra y por la contaminación con tierra y champúes (25).

Las determinaciones en glóbulos rojos han sido utilizadas por diversos autores, ya que reflejan la disponibilidad del Zn para ser incorporado en el momento de la eritropoyesis y, por consiguiente, el estado nutricional en el período de vida media del eritrocito (26, 27).

La determinación de Zn eritrocitario y su expresión/g de eritrocitos fue utilizada para evaluar el estado nutricional de mujeres adolescentes americanas blancas y negras y establecer los cambios en función de la edad y de la raza, concluyendo que existía un incremento con la edad, pero sin diferencias raciales (28).

En este estudio el comportamiento del Zn eritrocitario mantuvo una distribución normal, especialmente al ser expresado mediante la relación Zn/hemoglobina, y al igual que los hallazgos de Saliba y Gonçalves dos Santos provenientes de mediciones en mujeres jóvenes brasileñas, los valores se encontraron en un rango comprendido entre los 24 y los 54 $\mu\text{g/g}$ (13, 29).

CONCLUSIONES

El comportamiento de los indicadores evaluados, presentó una distribución normal y sólo el 6.3% de las estudiantes tuvo valores inferiores al punto de corte

para ZnP (70 $\mu\text{g/L}$). Sin embargo, los valores de Zn eritrocitario y Zn/Hb indicarían en todos los casos un estado nutricional satisfactorio para este micronutriente. Teniendo en cuenta las características de normalidad de esta muestra y debido a que aún no se dispone de un punto de corte para el ZnE y la relación zinc/Hb, los rangos de los indicadores estudiados pueden ser orientadores para interpretar los valores de grupos de individuos de Argentina en los que no se cuente con datos de ingesta del micronutriente estudiado.

RESUMEN

Introducción: en Argentina es muy escasa la información bioquímica respecto al estado nutricional con respecto al zinc (Zn) en mujeres en edad fértil. Según la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud el 33,5% de las mujeres de 10 a 49 años presentan una ingesta inadecuada. **Objetivos:** La finalidad de este trabajo exploratorio fue estudiar el comportamiento de tres indicadores bioquímicos: Zn en plasma (ZnP), Zn en eritrocito (ZnE) y la relación Zn/Hb en un grupo de estudiantes universitarias. **Métodos:** La muestra estuvo constituida por 48 estudiantes universitarias clínicamente sanas, que aceptaron ser incluidas en el estudio. Se les realizó una evaluación antropométrica mediante la determinación del IMC. Se les extrajo sangre venosa en ayunas, determinando ZnP y ZnE por espectrofotometría de absorción atómica. **Resultados:** El grupo estudiado presentó una edad promedio de 22.3 ± 3.3 años y las siguientes características antropométricas (Media $\pm$ DE): peso (kg): 56.0 ± 6.8 ; talla (m): 1.62 ± 0.05 ; IMC (kg/m^2): 21.3 ± 2.2 . Las estadísticas descriptivas: media $\pm$ DE, (IC 95%) y [rango] de los indicadores bioquímicos fueron: ZnP ($\mu\text{g/dL}$): 95 ± 20 , (89 – 100), [60 – 175]; ZnE ($\mu\text{g/mL}$): 13.2 ± 2.6 , (12.5 – 13.9), [7.6 – 18.5]; Zn/Hb: 39.8 ± 7.2 , (37.7–41.9), [24.4–54]. **Conclusiones:** El comportamiento de los indicadores presentó una distribución normal y el 6.3% de las estudiantes con valores de ZnP inferiores a 70 $\mu\text{g/L}$ se encontraron dentro del mismo rango de ZnE y Zn/Hb de las que presentaron valores de ZnP > 70 $\mu\text{g/L}$, lo cual indicaría un estado nutricional satisfactorio para este oligoelemento.

Palabras clave: Zinc plasmático; zinc eritrocitario, zinc/hemoglobina; estudiantes universitarias.

Dirigir la correspondencia a:

Profesora
Laura Beatriz López
Escuela de Nutrición
Facultad de Medicina
Universidad de Buenos Aires

Marcelo T de Alvear 2202, Piso 4
Argentina
Fono: 054-11-4508-3565/4508-3871
E-mail: lblopez@fmed.uba.ar

Agradecimientos: El financiamiento de este trabajo fue por la Universidad de Buenos Aires (UBACYT M812)

BIBLIOGRAFÍA

1. Rubio C, González Weller D, Martín-Izquierdo RE, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp* 2007;22(1):101-7.
2. Frassinetti S, Bronzetti G, Caltavuturo L, Cini M, Croce CD. The role of zinc in life: a review. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006;25(3):597-610.
3. Bhatnagar S, Taneja S. Zinc and cognitive development. *Br J Nutr* 2001;85 (Suppl 2):139-45.
4. Rosado JL, Bourges H, Saint-Martin B. Vitamin and mineral deficiency in Mexico. A critical review of the state of the art. I. Mineral deficiency. *Salud Publica Mex* 1995; 37(2):130-9.
5. Pizarro A, Olivares M, Kain B J. Hierro y zinc en la dieta de la población de Santiago. *Rev Chil Nutr* 2005;32(1):19-27.
6. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZINCG). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Hotz C, Brown KH, eds. *Food Nutr Bull* 2004. 25:S91:S204.
7. Hess SY, Pearson JM, King JC, Brown KH. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status *Food Nutr Bull* 2007; 28 (3 Suppl):S403-29.
8. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board & Institute of Medicine, National Academy of Sciences. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. Washington, D.C., 2001.
9. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. Ministerio de Salud de la Nación. Resultados. 2007. Disponible en www.msal.gov.ar
10. Gattás Zaror V, Fisberg M, Barrera Acevedo G, Dagach-Imbarack RU. Zinc nutrition in young Chilean adults. *Arch Latinoam Nutr* 1987; 37(2):239-49.
11. Meertens L, Solano L, Sánchez A. Hemoglobina, ferritina y zinc sérico de mujeres en edad reproductiva. Su asociación con el uso de anticonceptivos. *An Venez Nutr* 2002;15 (1) 5-10.

12. Villalpando S, García Guerra A, Ramírez Silva, C I Rodríguez F, Matute G, Shamah Levy G, Rivera J. Estado de hierro, zinc y yodo en niños menores de 12 años y en mujeres de 12-49 años de edad en México: una encuesta probabilística nacional. *Salud Pública Méx.* 2003;45 (Supl 4) 520-529.
13. Saliba, L F; Tramonte, V L; Faccin, Gerson L. Zinco no plasma e eritrócito de atletas profissionais de uma equipe feminina brasileira de voleibol. *Rev Nutr* 2006 ;19(5):581-590.
14. de Mateo Silleras B, Pérez García A, Miján de la Torre A. The zinc status in a selected Spanish population. A multivariate analysis. *Nutr Hosp* 2000; 15(1):32-41.
15. Díaz Romero C, Henríquez Sánchez P, López Blanco F, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L. Serum copper and zinc concentrations in a representative sample of the Canarian population *J Trace Elem Med Biol* 2002;16(2):75-81.
16. Sánchez C, López-Jurado M, Planells E, Llopis J, Aranda P Assessment of iron and zinc intake and related biochemical parameters in an adult Mediterranean population from southern Spain: influence of lifestyle factors. *J Nutr Biochem* 2009;20(2):125-31.
17. Weisstaub AR, Menéndez AM, Montemerlo H, Pastene H, Piñeiro A, Guidoni ME y Pita Martín de Portela ML. Zinc plasmático, cobre sérico y zinc y cobre eritrocitarios en adultos sanos de Buenos Aires. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008 42 (3); 315-23.
18. Human Vitamin and mineral requirements. Report OF a Joint WHO&FAO Expert Consultation, Bangkok, Thailand, Food Nutr Division, FAO, Rome, 2002.
19. Wastney ME, House WA, Barnes RM, Siva Subramanian KN. Kinetics of Zinc metabolism: variation with diet, genetics and disease. *J Nutr* 2000; 130: 1355S-1369S.
20. Briefel RR, Bialostosky K, Kennedy-Stephenson J, McDowell MA, Bethene Ervin R, Wright JD. Zinc intake of the U.S. population: findings from the Third National Health and nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Nutr* 2000; 130: 1367S-1373S.
21. Gibson RS, Heath L, Prosser N, Parnell W, Donovan UM, Green T et al. Are young women with low iron stores at risk of zinc deficiency as well as iron deficiency? *Trace Elements in man and in animals* 10. Roussel AM, Anderson RA and Favrier AE. ed. Kluwer Academia/Plenum Publishers, NY, 323-328, 2000
22. Ishikawa Y, Kudo H, Kagawa Y, Sakamoto S. Increased plasma levels of zinc in obese adult females on a weight-loss program based on a hypocaloric balanced diet. *In Vivo.* 2005;19(6):1035-7.
23. Di Toro A, Marotta A, Todisco N, Ponticiello E, Collini R, Di Lascio R, Perrone L. Unchanged iron and copper and increased zinc in the blood of obese children after two hypocaloric diets. *Biol Trace Elem Res* 1997;57(2):97-104.
24. Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI and Cosack ZT. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem* 1982; 28: 475-80.
25. Nynke de Jong; Gibson RS; Thomson CD; Ferguson EL; McKenzie JE; Green TJ and Horwarth CC. Selenium and Zinc status are suboptimal in a sample of older New Zealand women in a community-based study. *J Nutr* 2001; 131: 2677-84.
26. Gibson RS: Assessment of Zinc Status. In: *Principles of Nutritional Assessment*. New York Oxford. Oxford University Press. 1990 p 542-53.
27. Taylor Baer M and King JC. Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 556-70.
28. Kenney MA; Ritchey SJ; Culley P; Wendy Sandoval M; Moak S and Schilling P. Erythrocyte and dietary zinc in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 446-51.
29. Gonçalves dos Santos H; Arantes Sardinha FH; Colli C. Zinc eritrocitário (validação de um método de análise) e zinco dietético na avaliação do estado nutricional de mulheres adultas. *Rev Bras Cienc Farm* 2005; 41 (2):205-213