

NIVELES DE ELEMENTOS TRAZA ESENCIALES EN CABELLO DE NIÑOS DE LA ETNIA BARÍ

Bravo Alfonso¹, Hernández Yorman¹, Montilla Brinolfo², Colina Marinela², Semprún Neomar³, Villalobos Daniel¹, Martínez Ninfa¹

¹Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición, FDM-LUZ

²Laboratorio de Química Ambiental, FEC-LUZ

³Laboratorio de Inmunología, FEC-LUZ

arbravo@gmail.com

Resumen

Importantes funciones biológicas como el transporte de oxígeno, producción de energía, y múltiples reacciones enzimáticas dependen específicamente de los elementos traza. La detección de estos micronutrientes en muestras de cabello puede ser de utilidad como indicador del estado nutricional de las poblaciones. Por tal motivo, el objetivo del estudio fue determinar los niveles de hierro (*Fe*), zinc (*Zn*), cobre (*Cu*), cobalto (*Co*), selenio (*Se*) y manganeso (*Mn*), en el cabello de niños de la etnia Barí. Se realizó una investigación descriptiva, transversal, en una muestra de niñas y niños (n=40) con edades comprendidas entre 2-12 años, de la comunidad indígena Barí “Kumanda”, ubicada en la Sierra de Perijá, estado Zulia. Las muestras de cabello fueron lavadas rigurosamente con un detergente no iónico, agua desionizada, y se mineralizaron en medio ácido utilizando digestores Parr. La concentración de elementos traza fue determinada por espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP- MS). El análisis de los resultados evidenció los siguientes niveles de elementos traza ($\mu\text{g/g}$): *Fe* $190,37 \pm 134,41$; *Zn* $107,40 \pm 68,78$; *Cu*, $6,79 \pm 4,19$; *Co* $0,11 \pm 0,16$; *Se* $3,19 \pm 4,34$; y *Mn* $25,33 \pm 14,21$. Respectivamente los valores de *Zn* y *Cu* en las muestras de los niños Barí, oscilaron en un orden de magnitud inferior al reportado en la literatura para cabello humano, mientras que los niveles de *Fe*, *Co*, *Se* y *Mn* fueron más elevados. Estos resultados pueden servir de base para futuras investigaciones donde se explore las posibles fuentes de los elementos y su relación con el estado de salud de la población infantil en estudio.

Palabras clave: elementos traza, cabello, etnia Barí, ICP-MS.

Introducción

Los micronutrientes hierro, zinc, cobre, cobalto, selenio y manganeso son elementos traza u oligoelementos presentes en los tejidos corporales en cantidades muy pequeñas. Se consideran especies químicas esenciales, ya que forman parte de proteínas y enzimas que actúan en diversos procesos biológicos indispensables para el funcionamiento de un organismo vivo (Jiménez y Marín, 1990). El hombre requiere absorberlos desde la dieta durante toda la vida, especialmente en etapas de rápido crecimiento. Sin embargo, la dieta de la mayoría de las poblaciones, particularmente en Latinoamérica, son frecuentemente deficiente en estos microminerales, produciendo un aumento de la susceptibilidad a infecciones severas (O'Donnell y Carmuega, 1998).

Existe una mayor probabilidad de sufrir deficiencia de elementos traza en aquellos grupos poblacionales en los que ocurre un inadecuado consumo y asimilación de la dieta, o un aumento de su demanda. Entre estos se encuentran los lactantes, niños, adolescentes, embarazadas y mujeres en edad reproductiva [Pombo *et al.*, (2001)]. La deficiencia de micronutrientes es un problema serio de salud pública en los países en desarrollo, por el impacto que ocasionan sobre la salud y el bienestar de la población según lo expuesto por [Solano *et al.*, (1998)]. a pesar de que tradicionalmente la deficiencia de micronutrientes es evaluada a través de muestras de sangre, se ha demostrado que el cabello resulta ser el tejido ideal para este tipo de análisis, principalmente

porque son muestras fáciles de obtener y, además, porque no causa ningún tipo de dolor en las personas. Así mismo, las muestras pueden ser enviadas al laboratorio sin requisitos especiales de manejo [Domellöf *et al.*, (2002)]. Diferentes estudios han documentado la validez del análisis de elementos traza en cabello [Morton *et al.*, (2002); Blaurock-Busch *et al.*, (2011)]. De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental (EPA), el cabello es “un tejido significativo y representativo” para la medición de metales tóxicos y nutrientes seleccionados. También puede ser utilizado en el diagnóstico de suplementación insuficiente en elementos esenciales antes de la aparición de un estado de deficiencia aguda (Nnorom *et al.*, 2005). Con el avance de la tecnología en los últimos 10 años, el análisis elemental del cabello se ha convertido en una herramienta valiosa dentro de diferentes disciplinas científicas, gracias al desarrollo de técnicas muy sensibles como la espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS) (Rodushkin y Axelsson, 2000). Con respecto al análisis de muestras de cabello de población infantil, Sakai *et al.* (2000) midieron en Japón los cambios en la concentración de 4 elementos trazas esenciales, estudio en el cual se evidenció una disminución del Zn a partir de los 6 años. En Bolivia, Barbieri *et al.* (2011) determinaron 15 elementos en niños de 7-12 años, donde los valores de Zn fueron más altos en las niñas. En el estudio de Dongarrà *et al.* (2012), en Italia, fueron analizados 19 elementos en niños de 11-13 años,

con diferencias en el Zn entre géneros y Mn elevado en habitantes de zonas industriales. En Venezuela, actualmente son muy limitadas las referencias sobre análisis de elementos en cabello, y sólo se documentan los metales tóxicos mercurio y plomo [Bello *et al.*, (2002); Rojas *et al.*, (2007)].

El empobrecimiento de la población venezolana ha sido uno de los problemas más difíciles que enfrenta el país [Portillo *et al.*, (2004)], y en este sentido, se puede afirmar que uno de los grupos más vulnerables han sido las etnias indígenas. En Venezuela existen alrededor de 30 etnias aborígenes, la mayoría de las cuales ha pasado por largos períodos de exclusión de los planes sociales implementados por los gobiernos anteriores, lo que ha ocasionado que estas poblaciones padezcan de muchas necesidades biopsicosociales, que imposibilitan un desarrollo a la par con los grupos no indígena [Maury *et al.*, (2010)].

Ante esta situación, es probable detectar deficiencias de elementos traza esenciales en los grupos indígenas. De ahí que el objetivo de este estudio haya sido el de determinar los niveles de Fe, Zn, Cu, Co, Se y Mn en el cabello de niños de la etnia Barí, mediante espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS).

Materiales y Métodos

A continuación se describen los métodos y materiales utilizados en la investigación.

Población y Muestra

El estudio fue prospectivo, transversal, descriptivo y analítico. La comunidad indígena Barí “Kumanda” está ubicada en la Sierra de Perijá, estado Zulia, Venezuela, con una población estimada para el año 2008 de 114 individuos, existiendo un importante número de infantes. Se colectaron muestras de cabello de 40 niños de ambos géneros, con edades comprendidas entre los 2-12 años. Debido a las características de la población, el tipo de muestreo fue por conveniencia [Hernández *et al.*, (2006)].

Criterios selección de la muestra

Fueron seleccionados niños saludables de la etnia Barí, cuyos padres debían ser de la misma ascendencia indígena en dos generaciones sucesivas. Todos los padres de los niños estuvieron de acuerdo con la toma de muestra y manifestaron verbalmente su aprobación sobre la participación de sus hijos en la investigación. Los procedimientos empleados estuvieron ajustados a las normas éticas para trabajos con seres humanos, expresados en la declaración de Helsinki (Manzini, 2000).

Obtención de las muestras

Las muestras fueron colectadas de la región occipital del cráneo. Se utilizó una tijera de acero inoxidable, manteniendo una distancia de 2 cm a partir de la raíz del cabello. Cada muestra fue depositada en bolsas plásticas, químicamente limpias, con cierre hermético, que posteriormente fueron almacenadas a temperatura ambiente hasta el momento de su procesamiento.

Lavado de las muestras de cabello

Las muestras de cabello fueron sometidas a un proceso de lavado para garantizar la remoción del contenido de metales de procedencia endógena. Se utilizó un protocolo de limpieza convencional para este tipo de muestras biológicas (Blaurock-Busch *et al.*, 2012). El lavado se realizó colocando el cabello por 10 minutos en una solución de detergente no iónico (*Sodosil* – Riedel de Haën) al 0,3%; luego se lavó tres veces por 5 minutos con H_2O desionizada y, finalmente, el material fue secado durante toda la noche a 50°C (Yáñez *et al.*, 2005).

Mineralización de las muestras

Se pesó en una balanza analítica (Ohaus, Pioneer™ PA 313) entre 1-100 mg de cabello. Las muestras fueron colocadas en dispositivos para digestión Parr, adicionando

5 ml de una mezcla 5:3 de HNO₃ concentrado (J.T. Baker Inc.) y H₂O desionizada. La mineralización se realizó en un horno por convección, a 110°C de temperatura, durante 6 horas.

Determinación de minerales

Las muestras mineralizadas fueron diluidas con H_2O desionizada, empleando balones aforados de 5 ml. Las concentraciones de Fe, Zn, Cu, Co, Se y Mn se midieron por espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS), en un equipo marca Agilent Technologies, modelo 7500

series. Los resultados fueron expresados en µg/g de cabello. Se utilizó material certificado (NIST 1566a Oyster Tissue) como parte del control de calidad y para la validación de los resultados.

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados mediante la aplicación del paquete estadístico SPSS, versión 20.0 (SPSS Inc., 2011). Se calcularon los estadísticos descriptivos (promedio ± desviación estándar y porcentajes) de cada variable en estudio. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. En las variables donde hubo distribución normal se aplicó *t-student*, y aquellas con distribución no normal se evaluaron con la prueba Mann-Whitney. Las diferencias fueron consideradas significativas con p<0,05.

Resultados y Discusión

Las características generales de los niños Barí aparecen en la Tabla 1. Del total de los niños elegidos para el estudio, 40% (n=16) fueron del género masculino y 60% (n=24) del femenino, con edad promedio de 6,43 años, peso 18,65 kg y talla 104,88 cm. No hubo diferencias significativas para estas variables al comparar entre los géneros.

Tabla 1. Características generales de los niños Barí

Característica	Masculino (n=16) ns	Femenino (n=24) ns	Todos (n=40)
Edad (años)	5,88 ± 3,30 ns	6,79 ± 3,01 ns	6,43 ± 3,12
Peso (kg)**	17,34 ± 8,43 ns	19,52 ± 7,14 ns	18,65 ± 7,65
Talla (cm)	101,13 ± 22,92	107,38 ± 16,91	104,88 ± 19,51

*Diferencias entre género, prueba t-student, ns: no significativo.

**Diferencias entre género, prueba Mann-Whitney, ns: no significativo.

En la Tabla 2 se presenta el contenido de elementos traza esenciales en las muestras de cabello. El orden decreciente de las concentraciones fue: *Fe*>*Zn*>*Mn*>*Cu*>*Se*>*Co*. La concentración promedio de Fe fue de 190,37 ± 134,41 µg/g; de Zn, 107,37±68,78 µg/g; de Mn,

25,33±14,21 µg/g; de Cu, 6,79±4,19 µg/g; de Se, 3,19±4,34 µg/g; y de Co, 0,11±0,16 µg/g. En las niñas fue detectada una mayor concentración de Zn y en los varones un mayor contenido de Co, con diferencias significativas ($p<0,05$).

Tabla 2. Contenido de elementos traza esenciales (µg/g) en cabello de niños Barí.

Elemento	concentración (µg/g)		
	Masculino ns	Femenino ns	Todos
Fe**	199,40 ± 128,69 _a	184,35 ± 140,50 _a	190,37 ± 134,41
Zn**	80,19 ± 17,68 _{ns}	125,49 ± 83,44 _{ns}	107,40 ± 68,78
Cu**	5,89 ± 4,10 _a	7,25 ± 4,25 _a	6,79 ± 4,19
Co**	0,29 ± 0,00 _{ns}	0,02 ± 0,01 _{ns}	0,11 ± 0,16
Se **	4,54 ± 6,29 _{ns}	2,39 ± 2,48 _{ns}	3,19 ± 4,34
Mn	23,11 ± 13,36	26,72 ± 14,82	25,33 ± 14,21

*Diferencias entre géneros, prueba Mann-Whitney, ns: no significativo.

**Diferencias entre géneros, prueba t-student ($p<0,05$), ns: no significativo.

En este estudio, el análisis de Fe en las muestras de cabello de los niños Barí evidenció una concentración promedio más alta (190,37 µg/g) en comparación con el promedio de 78,9 µg/g reportado por Benson (2011) en población infantil de Sudáfrica. Las investigaciones precedentes sobre el tema muestran valores de concentración muy amplios para el Fe. Ali *et al.* (1997), en un estudio realizado con niños de Bangladesh, mostraron valores de Fe desde 63 µg/g hasta 377 µg/g, con un

promedio de 312 µg/g. Sin embargo, la mayoría de los reportes citados muestran cifras menores a 80 µg/g. Al confrontar estos resultados se observa que las concentraciones de Fe en la población infantil Barí de Kumanda triplican los valores reportados en la mayoría de las investigaciones similares a este estudio, por lo que se podría inferir que existe un foco de exposición al hierro en esta comunidad.

López y Hernández (2004), en el estudio sobre la realidad actual de los pueblos

indígenas de Venezuela, manifestaron que las diferentes comunidades Barí que residen en la Sierra de Perijá se encuentran expuestas a problemas de salud pública debido a la explotación minera que ocurre en la región desde el año 1996. De acuerdo a estos investigadores, este tipo de actividades industriales podría estar contaminando las fuentes de agua utilizadas por las poblaciones nativas. No obstante, aún no se han realizado estudios suficientes que corroboren tales afirmaciones.

La deficiencia de elementos como el Fe es la carencia nutricional más prevalente a nivel mundial y la principal causa de anemia en niños, afectando además su desarrollo mental y motor [Galán y Hercberg, (1989)]. La anemia por deficiencia de Fe ha sido documentada en población infantil de Venezuela [Solano *et al.*, (2008)]. En niños de la etnia Barí, Maury *et al.* (2010) reportaron deficiencia de Fe según la valoración de los niveles plasmáticos de este mineral. Por otra parte, el contenido de Zn en cabello de niños Barí (107,37 µg/g) fue inferior al promedio de 172,08 µg/g reportado por Benson *et al.*, (2011). En el estudio de Blaurock-Busch *et al.* (2011) detectaron que este elemento a una concentración de 149,86 µg/g, en muestras de cabello de niños sanos. En las niñas Barí se encontró un contenido mayor de Zn en comparación con los varones, similar a lo descrito por Barbieri *et al.*, (2011) en cabello de niños en Bolivia. Las anteriores comparaciones permiten inferir que pudiera existir una deficiencia de Zn en la población infantil Barí de Kumanda, lo que estaría relacionado con la severa deficiencia

de este elemento traza esencial, según lo reportado por [Maury *et al.*, (2010)] para la misma comunidad indígena en el estudio de los niveles plasmáticos. La deficiencia de Zn podría ser responsable de consecuencias adversas severas sobre el crecimiento infantil, pérdida del sentido del gusto, lesiones cutáneas, retardo en la cicatrización de heridas y alteraciones inmunitarias [Gibson *et al.*, (2008)].

En cuanto al contenido de cobre, el valor promedio fue de Barí (6,79 µg/g) más bajo que el encontrado por Ali *et al.*, (1997) en cabello de niños sanos, cuyo promedio fue 21,70 µg/g. Para este elemento traza, Blaurock-Busch *et al.* (2012) reportaron un rango de referencia de 6,70-37,00 µg/g en un grupo de niños sanos. Esto permite suponer que en la población infantil Barí de Kumanda hay una probable deficiencia de Cu, similar a los hallazgos de Maury *et al.*, (2010) referentes a sus niveles plasmáticos. El déficit de Cu es menos frecuente que otros elementos como el Zn; ha sido descrito principalmente en lactantes prematuros, y en niños desnutridos se ha relacionado con anemia (Cordano, 1998).

En este estudio, la concentración promedio de Co fue de 0,11 µg/g, resultando más alta que el promedio de 0,03 µg/g encontrado por Blaurock-Busch *et al.* (2011) en un grupo de niños sanos. Sin embargo, es importante destacar que este elemento traza esencial sólo fue detectado en 7,5% (n=3) de las muestras de cabello, por lo tanto, los valores esperados para Co pueden ser muy bajos. En este orden de ideas, bajos niveles de Co en niños

han sido asociados a niveles elevados de colesterol total, anticuerpos anti-colágeno tipo IV e hipertensión esencial [Nicoloff *et al.*, (2006)].

El Se fue detectado en mayor concentración (3,19 µg/g) que la observada por Blaurock-Busch *et al.* (2011), cuyo promedio fue 0,36 µg/g en cabello de niños sanos. En otro estudio más reciente, Blaurock-Busch *et al.* (2012) reportaron un rango de referencia para Se de 0,20-3,00 µg/g. Estas diferencias se explican al considerar que Venezuela, al igual que otros países latinoamericanos como Colombia y México, es una región con altas concentraciones de Se en los suelos. Las investigaciones realizadas por Werner (1992) demostraron que los niveles más altos de Se en suelo y orina han sido reportados para Venezuela, y las concentraciones de Se en niños de zonas seleníferas de Venezuela son mucho más altas que las encontradas en niños de Berlín y Oslo.

En referencia al Mn, fue encontrado en mayor concentración en cabello de los niños Barí (25,33 µg/g), el valor promedio de 11,09 µg/g descrito por Tasneem *et al.* (2009) en niños de una región rural de Pakistán. Estos resultados también se encuentran por encima de lo reportado por Blaurock-Busch *et al.* (2011), un promedio de 0,41 µg/g en grupo de niños sanos. El Mn es un elemento cuya fuente nutricional principal está en el reino vegetal. Este último aspecto resulta de interés, tomando en cuenta que en la comunidad Barí de Kumanda se observó el hábito muy frecuente entre los niños de masticar hojas de árboles. Esto pudiera

ocasionar una mayor absorción de Mn, lo que explicaría su alta concentración en cabello.

Los resultados de esta investigación pueden servir de base para futuros estudios donde se exploren las posibles fuentes de los elementos traza analizados y su relación con el estado de salud de la población infantil en estudio.

Conclusiones

Se concluye que los valores de Zn y Cu en las muestras de cabello de los niños Barí oscilaron en un orden de magnitud inferior al reportado en la literatura para cabello humano, mientras que los niveles de Fe, Co, Se y Mn fueron más elevados.

Agradecimiento

A todos los pobladores de la comunidad Barí de Kumanda, por su grata disposición durante el desarrollo de la investigación.

Referencias Bibliográficas

- Ali, M., Khan, H., Wahiduzzaman, M.; Malek, M. (1997). Trace element concentration in hair of Bangladesh children under normal and malnutrition conditions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 219 (1), 81-87.
- Barbieri, F.L.; Cournil, A.; Souza Sarkis, J. E.; Bénéfice, E.; y Gardon, J. (2011). Hair trace elements concentration to describe polymetallic mining waste exposure in Bolivian Altiplano. *Biological Trace Elements Research*, 139 (1), 10-23.
- Bello, S.; Rodríguez, M.; Fernández, D.; Vásquez, A.; Ocando, A.; Contreras,

- J. y Granadillo, V. (2002). Niveles de mercurio en cabello de individuos expuestos ocupacionalmente en el área odontológica. *Acta Odontológica Venezolana*, 40 (2); 123-128.
- Benson, O. (2011). Trace element indices in hair and saliva of school children. *Journal Basic of Applied Sciences Research*, 1 (3): 169-177.
- Blaurock-Busch, E., Amin, O. R., Dessoiki, H. H. y Rabah, T. (2012). Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism. *Maedica*, 7 (1): 38-48.
- Blaurock-Busch, E., Amin, O. R. y Rabah, T. (2011). Heavy metals and trace elements in hair and urine of a sample of Arab children with autistic spectrum disorder. *Maedica*, 6 (4): 247-257.
- Cordano, A. (1998). Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 1012S-1016S.
- Domellöf, M., Lönnnerdal, B.; Dewey, K., Cohen, J., Rivera, L. Hernell, O. (2002). Sex Differences in Iron status during infancy. *Pediatrics*, 110: 545-552
- Dongarrà, G.; Varrica, D.; Tamburo, E. D'Andrea, D. (2012). Trace elements in scalp hair of children living in differing environmental contexts in Sicily (Italy). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34 (2): 160-169.
- Galán, P.; Hercberg, S. (1989). El déficit del hierro en los países industrializados. Una carencia en el contexto de la abundancia (II). *ROL de Enfermería*, 135 (2), 69-73.
- Gibson, R.S.; Hess, S.Y.; Hotz, C. ; Brown, K.H. (2008). Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *British Journal of Nutrition*, 99 (3): 14-23.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C. Baptista, L.P. (2006). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw Hill.
- Jiménez, C.; Marín, M. (1990). Aspectos nutricionales y toxicológicos de algunos elementos minerales: cobre, hierro, magnesio y zinc. *Medicina Clínica*, 94 (1), 59-84.
- López Sánchez, R. y Hernández Rodríguez, C. (2004). Realidad actual de los pueblos indígenas de Venezuela: los Barí y los Yukpa y el conflicto con las empresas petroleras y carboníferas. *UNICA*, 5 (10), 122-144.
- Manzini, J. L. (2000). Declaración de Helsinki: principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta Bioethica*, 6 (2): 321-334.
- Maury, E., Mattei, A., Perozo, K., Bravo, A., Martínez, E. y Vizcarra, M. (2010). Niveles plasmáticos de hierro, cobre y zinc en escolares Barí. *Pediatria (Asunción)*, 37 (2): 112-117.
- Morton, J., Carolan, V. A. y Gardiner, P. H. E. (2002). Removal of exogenously bound elements from human hair by various washing procedures and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 455 (1): 23-34.
- Nicoloff, G.; Angelova, M.; Christova, I., Nikolov, A.; Alexiev, A. (2006). Serum cobalt in children with essential hypertension. *American Journal of Human Biology*, 18 (6): 798-805.
- Nnorom, I., Igwe, J. y Ejimone, J. (2005). Multielement analysis of scalp

- hair samples from three distant towns in southeastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 4 (10), 1124-1127.
- O'Donnell, A. Carmuega, E. (1998). *La transición epidemiológica y la situación nutricional de nuestros niños* [en línea]. Boletín CESNI, Argentina. Recuperado el 15 de julio de 2013, de http://www.cesni.org.ar/sistema/archivos/68-Volumen_6.pdf
- Pombo, M., Castro, L. y Barreiro, J. (2001). El crecimiento, el desarrollo y los elementos traza. *Anales Españoles de Pediatría*, 54 (1): 63-71.
- Portillo, C., Solano, L. y Fajardo, Z. (2004). Riesgo de deficiencia de macro y micronutrientes en pre-escolares de una zona marginal. *Investigación Clínica*, 45 (1), 17-28.
- Rodushkin, I. y Axelsson, M.D. (2000). Application of double focusing sector field ICP- MS for multielement characterisation of human hair and nails. Part I. Analytical methodology. *Science of the Total Environment*, 250: 83-100.
- Rojas, M.; Nakamura, K.; Seijas, D.; Squillante, G.; Pieters, M. A.; Infante, S. (2007). Mercury in hair as a biomarker of exposure in a coastal Venezuelan population. *Investigación Clínica*, 48 (3), 305-315.
- Sakai, T.; Wariishi, M.; Nishiyama, K. (2000). Changes in trace element concentrations in hair of growing children. *Biological Trace Elements Research*, 77(1), 43-51.
- Solano, L.; Meertens, L.; Peña, E; Argüello, F. (1998). Deficiencia de micronutrientes. Situación actual. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 11, 48-54.
- Solano, L., Barón, M., Sánchez, A. y Páez, M. (2008). Anemia y deficiencia de hierro en niños menores de 4 años de una localidad en Valencia. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 21 (2): 63-69.
- SPSS Inc. (2011). *IBM SPSS Statistics 20.0*, [software de computadora en disco]. Chicago, EEUU.
- Tasneem, G.; Hassan, A.; Naveed, K.; Mohammad, J.; Mohammad, A.; Nussarat J.; Ghulam, K. (2009). Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biological Trace Elements Research*, 122: 1-18.
- Werner, J. (1992). Selenio, un elemento esencial y tóxico. Datos de Latinoamérica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 42 (2), 90-93.
- Yáñez, J.; Fierro, V.; Mansilla, H.; Figuero, L.; Cornejoc, L.; Barnes, R. M. (2005). Arsenic speciation in human hair: a new perspective for epidemiological assessment in chronic arsenicism. *Journal of Environmental Monitoring*, 7, 1335-1341.