



**Multiciencias**

ISSN: 1317-2255

revistamulticiencias@gmail.com

Universidad del Zulia

Venezuela

Sembrún de Villasmil, Blanca; Fernández, Denny; Cáceres, Ana; Bermúdez, Valmore; Granadillo, Víctor A.

Niveles de Cu y Zn en suero sanguíneo de pacientes con síndrome metabólico de la ciudad de Maracaibo

Multiciencias, vol. 10, 2010, pp. 259-264

Universidad del Zulia

Punto Fijo, Venezuela

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90430360041>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## Niveles de Cu y Zn en suero sanguíneo de pacientes con síndrome metabólico de la ciudad de Maracaibo

Blanca Semprún de Villasmil<sup>1</sup>, Denny Fernández<sup>2</sup>, Ana Cáceres<sup>3</sup>,  
Valmore Bermúdez<sup>4</sup> y Víctor A. Granadillo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina.

<sup>2</sup>Lab. de Instrumentación Analítica, <sup>3</sup>Lab. de Desarrollo de Métodos de Análisis, Facultad Experimental de Ciencias.

<sup>4</sup>Centro de Investigación Endocrino Metabólico, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina.

Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

blansenirene@gmail.com; vgranadillo@luz.edu.ve

### Resumen

En el presente estudio se determinaron por espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS) los niveles séricos sanguíneos de cobre (Cu) y zinc (Zn) de 100 individuos (n=100), 50 de ellos con síndrome metabólico (SM) y 50 como controles (C) de ambos géneros residentes en la ciudad de Maracaibo. Las muestras de sangre completa para ambos grupos se recolectaron del antebrazo derecho, en tubos de polipropileno no heparinizados en el Centro de Investigación Endocrino Metabólico (CIEM) de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia (LUZ), una vez separado el coágulo, se centrifugó para obtener el suero sanguíneo y se almacenó a 4°C. La cuantificación de Cu y Zn se realizó por curvas de calibración preparadas a partir de soluciones estándares concentradas de Zn y Cu. Los rangos de trabajo fueron de 0,10; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 y 6,00 y 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,80; y 1,00 para Cu y Zn, respectivamente. Los resultados analíticos están expresados en mgL<sup>-1</sup>. Los niveles séricos de Cu y Zn en pacientes con SM (ca. 0,76 ± 0,24 y 1,31 ± 0,42) estuvieron por debajo de las obtenidas para los individuos controles (ca. 0,96 ± 0,21 y 1,04 ± 0,14), evidenciando compromiso de estos elementos en los trastornos del metabolismo de los carbohidratos y lípidos estudiados.

**Palabras clave:** absorción atómica, síndrome metabólico, suero sanguíneo, cobre y zinc.

## Cu and Zn Levels in the Blood Serum of Patients with Metabolic Syndrome in the City of Maracaibo

### Abstract

In this study, copper (Cu) and zinc (Zn) levels were determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) in the blood serum of patients with metabolic syndrome (MS) and controls (C) from the city of Maracaibo. Whole blood samples (N = 100; 50 for MS and 50 for C) were collected in polypropylene containers at the Endocrine Metabolic Research Center (CIEM), Faculty of Medicine at the University of Zulia. After separating the clot, each sample was centrifuged to obtain serum and stored at 4°C. Quantification of copper and zinc was performed by calibration curves prepared with concentrated aqueous standards of 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 and 6.00 mg Cu L<sup>-1</sup>; and 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.80, and 1.00 mg Zn L<sup>-1</sup>. Serum concentrations of copper and zinc in patients with MS (ca. 0.76 ± 0.24 and 1.31 ± 0.42 mg L<sup>-1</sup>, respectively) were below those obtained for subjects in the control group (ca. 0.96 ± 0.21 and 1.04 ± 0.14 mg L<sup>-1</sup>, respectively), demonstrating the involvement of Cu and Zn in disorders of carbohydrate and lipid metabolism in the experimental population studied.

**Key words:** flame atomic absorption spectrometry, metabolic syndrome, blood serum, copper, zinc.

### Introducción

La determinación de metales esenciales tales como: cobre (Cu), zinc (Zn), calcio (Ca), hierro (Fe), magnesio (Mg), potasio (K) y sodio (Na), entre otros, en fluidos biológicos, permite conocer el estado de salud del individuo [1, 6, 10, 17]. Asimismo, establece la importancia de estos en algunas vías metabólicas y relaciona sus carencias o deficiencias con algunas enfermedades, estableciendo algunas relaciones entre las concentraciones de los mismos y ciertas patologías clínicas [5, 7, 14, 12].

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de alteraciones que presenta un mismo individuo, entre las que se encuentra aumento de la circunferencia de la cintura, aumento de la presión arterial, incremento de los triacilglicéridos en ayunas, bajos niveles de colesterol-HDL y aumento de la glucosa basal, entre otros [18, 21]. El SM se presenta cuando al menos tres de estos cinco factores de riesgo están presentes. El SM a su vez está asociado como un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares (ECV), las cuales hoy día van en incremento en el país [20, 23].

La incidencia del SM es elevada y sigue incrementándose rápidamente en la ciudad de Maracaibo, por lo que se espera que esta patología incida en un aumento de ECV

[11]. Esto es debido a varios factores como una dieta diaria caracterizada por una alimentación hipercalórica, sedentarismo, poca actividad física y un incremento de la prevalencia de la obesidad. Estos factores también incrementan la incidencia de la diabetes tipo 2, que aparece por la interacción de factores genéticos e influenciados por el ambiente, la alimentación y poca actividad física [20]. Cabe indicar que el SM y la diabetes son una epidemia global, ya que se estima que afecta a más de 150 millones de personas alrededor del mundo, siendo la diabetes tipo 2 la responsable de más del 90% de los casos [18]. Debido a estas patologías asociadas con el déficit y aumento de estos elementos trazas, es necesario determinar los niveles séricos de los mismos, que permitan ser indicadores bioquímicos de esta patología, tal es el caso del Cu y Zn, mediante el uso de técnicas analíticas confiables, exactas y precisas como lo es la FAAS.

En tal sentido, existen diferentes técnicas para la determinación de Cu y Zn en suero sanguíneo humano. Estas incluyen: (i) espectrometría de masa con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) [1, 8], (ii) voltametría de despojo anódico (ASV) [15], (iii) espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETA-AAS) [9, 24] y (iv) espectrometría de absorción atómica con llama

(FAAS) [6, 16], entre otras. De todas, la FAAS es la más usada, debido a: su buena precisión y exactitud, control de las interferencias, fácil manejo y bajos costos de operación. En este trabajo se presentan los niveles de Cu y Zn en suero sanguíneo de pacientes con SM y sujetos controles determinados a través de la FAAS, destacando la importancia clínica de estos elementos en el tratamiento de la patología estudiada.

## Metodología

### Equipos

Para la determinación analítica de Cu y Zn se usó un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 2380, en el modo instrumental de absorción atómica con llama (FAAS), usando las condiciones instrumentales recomendadas por el fabricante del equipo [2]. La mineralización del material certificado sólido se realizó en recipientes cerrados de Teflón® con válvulas de despresurización irradiados en un horno de microondas marca CEM modelo MDS-81D, aplicando el procedimiento previamente reportado [9, 22].

### Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico. Las soluciones concentradas de Cu y Zn (ca. 1000 mg L<sup>-1</sup>) se prepararon a partir de una solución concentrada comercial (e.g., Titrisol, Merck). Las soluciones patrones de las curvas de calibración se prepararon diariamente. El intervalo de concentraciones para las curvas de trabajo o calibración fue: Cu (mg L<sup>-1</sup>) 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 y para Zn (mg L<sup>-1</sup>) 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80 y 1,00. Todas las soluciones de trabajo se prepararon con agua desionizada grado I ASTM [3], en ácido nítrico 0,01 M.

### Muestras

La población estuvo conformada por 50 pacientes con SM y 50 individuos controles (personas sanas), que asisten al Centro de Investigación Endocrino Metabólico (CIEM) de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Se tomaron 5 mL de sangre completa y se colocaron en tubos de polipropileno, una vez formado el coágulo se centrifugaron a 1500 rpm por 20 minutos, separando el suero en un tubo de polipropileno nuevo y limpio. Las muestras previamente rotuladas e identificadas se almacenaron a 4°C hasta el momento del análisis.

### Procedimientos

Las muestras de suero sanguíneo como los materiales certificados se diluyeron 10 veces con agua desionizada y

ácido nítrico 0,01 M, respectivamente. Cada porción de prueba se preparó por triplicado y las lecturas de absorbancia de Cu y Zn se registraron por pentaplicado.

Se emplearon dos materiales certificados de referencia para evaluar la exactitud del método: "Tejido de Ostras" (NIST SRM-1566) y "Agua de Consumo Humano" (HPS CRM-590321).

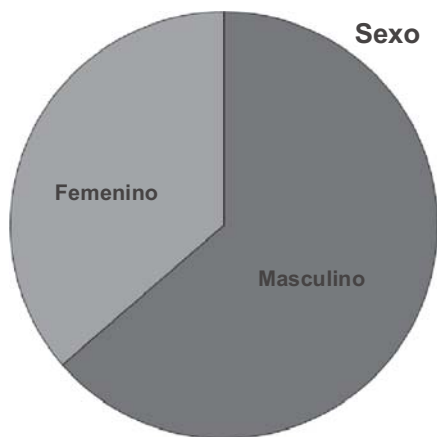
### Análisis estadístico

El análisis de los resultados obtenidos se realizó utilizando el paquete estadístico SAS ("Statistical Analysis System") [19], se evaluaron los efectos del tratamiento (muestras de suero) sobre la variable respuesta (concentraciones totales de Cu y Zn) a través de la técnica del análisis de varianza mediante el procedimiento GLM ("General Linear Model"). Para la separación de medias se utilizó la prueba de Duncan Waller. Se utilizó un nivel de 5% para medir la significancia de diferencia entre medias.

## Resultados y discusión

En la Figura 1 se presenta la distribución de frecuencia según el sexo, donde el 63,6% corresponde al género masculino y el 36,4% al femenino. De la población bajo estudio (n=50) diagnosticados con SM el 77,6% (38 individuos) correspondió al sexo masculino y el 22,4% (11 individuos) al femenino. Estos resultados concuerdan con el realizado por la NHANES (Encuesta Nacional de Examinación de Salud y Nutrición) y Framingham, mostrando una prevalencia de 24 y 26,8% en hombres y de 23,4 y 16,6% en mujeres, respectivamente [11, 20]. En relación a la población control (n=50), el 50% (25 personas) correspondió tanto al género femenino y masculino.

En la Tabla 1 se presentan los criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico según la Federación Internacional de la Diabetes (IDF), la Asociación Americana del Corazón (AHA, USA) y el Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre (NHLBI, USA). Se puede observar que los individuos diagnosticados con SM (n=50) presentaron los siguientes valores alterados en los exámenes clínicos: índice de masa corporal 32,81 Kg/m<sup>2</sup> (VN < 30 Kg/m<sup>2</sup>), glicemia basal de 104,77 mg dL<sup>-1</sup> (VN = 70-100 mg dL<sup>-1</sup>), los triacilgliceridos de 228 mg dL<sup>-1</sup> (VN < 150 mg dL<sup>-1</sup>), lipoproteína de alta densidad (HDLc) 34,60 mg dL<sup>-1</sup> (≥ 40 mg dL<sup>-1</sup> para el hombre y ≥ 50 mg dL<sup>-1</sup> para la mujer) y la presión arterial sistólica 131,42 mmHg (VN < 130 mmHg). Es decir, los individuos estudiados presentaron más de 2 factores de riesgo establecidos por la IDF, para su correcta ubicación en este grupo experimental. En oposición, los pacientes sin SM (población control)



**Figura 1.** Distribución de frecuencia según el sexo.

(n=50) presentaron todos los valores para las pruebas clínicas de laboratorio dentro de los intervalos esperados para este tipo de población (Tabla 1).

En la Tabla 2 se presentan las figuras analíticas de mérito para la determinación de Cu y Zn por la FAAS en suero sanguíneo de pacientes con SM y controles.

En el estudio de la exactitud para ambos elementos, el porcentaje medio de error entre los valores experimentales y certificados fue menor al 5%, lo cual indica una adecuada exactitud según los estándares internacionales de calidad [9]. Además, este parámetro también se evaluó mediante estudios de recuperación, obteniendo porcentajes promedios de recuperación de  $97,67 \pm 0,58$  para Zn y  $98,67 \pm 3,51$  para Cu. Estos resultados corroboran una vez más la adecuada exactitud para los métodos analíticos empleados; por estar incluidos dentro del intervalo teórico aceptable a nivel internacional de 95 a 105% [3, 9]. La precisión promedio encontrada (expresada como desviación estándar relativa, DER), tanto en la corrida como entre las corridas, fue 1,64% para el Zn y 3,32% para el Cu, los cuales se ubican dentro del intervalo aceptado de valores de DER establecidos por las normas internacionales (ca.  $\pm 5,0\%$ ) e indica la excelente reproducibilidad de los métodos utilizados. El método de adición estándar se utilizó para la cuantificación metálica, así como para la evaluación de los efectos de las interferencias no espectrales por

**Tabla 1.** Diagnóstico de Síndrome Metabólico según IDF/AHA/NHLBI 2009.

	Sin SM		Con SM		Total		p
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
Edad	33,57	15,52	44,48	14,07	38,97	15,73	< 0,001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	25,73	4,93	32,81	5,99	29,23	6,51	< 0,001
Glicemia basal (mg/dL)	90,33	29,43	104,77	45,09	97,47	38,48	0,066
Colesterol total (mg/dL)	162,84	43,60	184,29	38,41	173,45	42,30	0,012
Triacilglicéridos (mg/dL)	87,39	49,70	228,48	127,34	157,21	119,17	< 0,001
HDL (mg/dL)	52,082	15,073	34,604	6,699	43,433	14,585	< 0,001
HOMA-IR	1,76	0,88	3,28	1,47	2,51	1,42	< 0,001
Presión Arterial Sistólica (mmHg)	118,67	17,31	131,42	17,72	124,98	18,56	0,001
Presión Arterial Diastólica (mmHg)	72,51	9,00	83,81	12,18	78,10	12,06	< 0,001

IDF: Federación Internacional de Diabetes. AHA: Asociación Americana del Corazón. NHLBI: Instituto Nacional del Pulmón, Corazón y Sangre. IMC: Índice de masa corporal. HDL: Lipoproteína de alta densidad. Homa-IR: resistencia a la insulina medido por el modelo homeostático.

**Tabla 2.** Figuras analíticas de mérito para la determinación de Cu y Zn en suero sanguíneo de pacientes con síndrome metabólico por la FAAS.

Metal	Curva de calibración <sup>a</sup>	Coefficiente de correlación	Rango Linear (mg L <sup>-1</sup> )	L <sub>D</sub> <sup>b</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	L <sub>Q</sub> <sup>c</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Exactitud (%)	Precisión <sup>d</sup> DER (%)	Concentración Característica <sup>e</sup> (mg L <sup>-1</sup> )
Cu	Y=0,0484X+0,0013	0,9998	6,0	0,026	0,17	98,67 ± 3,51	1,64	0,086
Zn	Y=0,2088X+0,0019	0,9997	1,0	0,007	0,041	97,67 ± 3,51	3,32	0,016

<sup>a</sup> X y Y son la concentración del metal (mg L<sup>-1</sup>) y la absorbancia integrada (s), respectivamente.

<sup>b</sup> Límite de detección, definido como tres veces la desviación estándar del blanco.

<sup>c</sup> Límite de cuantificación, definido como diez veces la desviación estándar del blanco.

<sup>d</sup> Promedio de la DER, para muestras reales. Las muestras se prepararon por triplicado y leídas por pentaplicado.

<sup>e</sup> Concentración del analito que produce una absorbancia integrada de 0,0044.

comparación de las pendientes de las curvas de calibración preparadas con patrones acuosos en ácido nítrico 0,01 M.

Este método permitió obtener curvas de adición estándar con pendientes estadísticamente indistinguibles de aquellas obtenidas para las curvas de calibración de Cu y Zn construidas con estándares acuosos. Esto indicó la ausencia de interferencias no espectrales en el análisis empleando los métodos analíticos basados en la FAAS y, en consecuencia, permitió la cuantificación de Cu y Zn mediante la curva de calibración. Una vez validada analíticamente las metodologías, estas se emplearon para determinar las concentraciones de Cu y Zn en suero sanguíneo de pacientes con SM y controles.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de las concentraciones de Cu y Zn en el suero sanguíneo estudiado. Al comparar los resultados obtenidos de los pacientes con SM y con los de los individuos controles no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ), podemos observar que los pacientes con SM presentan concentraciones de Cu y Zn menores que las obtenidas para los individuos controles; sin embargo están dentro de los valores referenciales de cobre para hombres (ca. 0,71-1,4 mg L<sup>-1</sup>) y mujeres (ca. 0,8-1,5 mg L<sup>-1</sup>), y de zinc (0,7-1,5 mg L<sup>-1</sup>) [13]. Estos resultados concuerdan con los reportados por Skalnaya y col. [21], donde individuos obesos y diabéticos presentaron bajos niveles de Cu y Zn en relación a los sujetos controles, los cuales evidencian la presencia de trastornos en el metabolismo de los carbohidratos y lípidos en esta patología, ya que el Cu y el Zn actúan como co-factores de numerosas enzimas; tales como, superóxido dismutasa, lisil oxidasa, ceruloplasmina, anhidrasa carbónica y fosfatasa alcalina, entre otras [1, 10].

Estudios realizados por De Blas Bravo y col. [8], Barany y col. [4] y Lin y col. [14] reportaron valores normales (mg/L) de Cu 1,5 ± 0,31; 1,0 (ca. 0,55 a 2,6); y 0,90 ± 0,13 y de Zn 2,2 ± 0,34; 0,99 (ca. 0,52 a 1,5); y 1,22 ± 0,25 en suero sanguíneo, empleando las técnicas analíticas ICP-OES y ICP-MS de última generación y por ende costosas, los cuales se correlacionan con los resultados obtenidos en este trabajo empleando FAAS, la cual es una técnica muy robusta, amigable, de fácil manejo por parte del personal técnico encargado de llevar a cabo los análisis espectrométricos y de mas bajo costo al comparar el valor comercial del argón empleado en las técnicas de ICP.

## Consideraciones finales

Las metodologías empleadas para la determinación de los elementos bajo estudio fueron exactas, precisas y libres de interferencias. Además, los resultados encontrados en

Tabla 3. Concentraciones (mg L<sup>-1</sup> ± 1DE) de Cu y Zn sérico en pacientes con síndrome metabólico e individuos controles de la ciudad de Maracaibo.

Metal	Síndrome metabólico (mg L <sup>-1</sup> ± 1DE)	Controles (mg L <sup>-1</sup> ± 1DE)
Cu	0,76 ± 0,24 (0,23-1,44)	1,31 ± 0,42 (0,66-2,73)
Zn	0,96 ± 0,21 (0,64-1,55)	1,04 ± 0,14 (0,80-1,37)

este estudio permiten afirmar que la alteración del metabolismo de carbohidratos y lípidos conlleva a niveles bajos de Cu y Zn en personas con síndrome metabólico.

## Referencias

- [1] ALEBIC-JURETIC, A.; FRKOVIC, A. (2005). Plasma copper concentrations in pathological pregnancies. *J Trace Elem. Med. Biol.* 19:191-194.
- [2] Analytical Methods for Furnace Atomic Absorption Spectrometry, Perkin Elmer: Überlingen, Alemania, Section I: pp. (3-7) - (3-10), (6-1) - (6-6), 1984.
- [3] AMESTY-VALBUENA, A., PEREIRA-MEDERO, N.; NUÑEZ-GONZALEZ, JR.; GARCIA, D.; VICENTE DE VILLAROE, M.; GRANADILLO, V.; MANZANILLA J. y FERNANDEZ, D. (2006). Concentraciones séricas de zinc en niños con diferentes grados de déficit nutricional. *Inv Clín* Vol. 47 (4):349-359.
- [4] BARANY, E.; BERGDAHL, I.A.; BRATTEBY, L.E.; LUNDH, T.; SAMUELSON, G.; SCHÜTZ, A.; SKERFVING, S.; OSKARSSON, A. (2002). Relationships between trace element concentrations in human blood and serum. *Toxicology Letters* 134:177-184.
- [5] BERY, D.; YUUDIN, M.B.; RIEDERER, P. (2004). Redox imbalance. *Cell Tissue Res.* 318:201-213.
- [6] CESPÓN-ROMERO, R.M.; YEBRA-BIURRUN, M.C. (2008). Determination of trace metals in urine with an on-line ultrasound-assisted digestion system combined with a flow-injection preconcentration manifold coupled to flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 609:184-191.
- [7] CRAYTON, J.W.; WALSH, W.J. (2007). Elevated serum copper levels in women with a history of post-partum depression. *J Trace Elem. Med. Biol.* 21:17-21.
- [8] DE BLAS BRAVO, I.; SANZ CASTRO, R.; LÓPEZ RIQUELME, N.; TORMO DÍAZ, C.; APRAIZ GOYENAGA D. (2007). Optimization of the trace element determination by ICP-MS in human blood serum. *J Trace Med. Biol.* 21:14-17.
- [9] FERNANDEZ, D.; VASQUEZ, A. del C.; HERNANDEZ, M.; OCANDO, A.M.; MANZANILLA, J.G.; SOTO, M.; ALVAREZ, F.; GRANADILLO V.A. (2005). Medical application of phase furnace program used in the plasma of children with Down syndrome. *Atom Spect.* 26 (3):117-124.

- [10] FORTE, G.; ALIMONTI, A.; VIOLANTE, N.; DI GREGORIO, M.; SENOFONTE, O.; PETRUCCI, F.; SANCESARIO, G.; BOCCA, B. (2005). Calcium, copper, iron, magnesium, silicon and zinc content of hair in Parkinson's disease. **J Trace Elem. Med. Biol.** 19:195-201.
- [11] FLOREZ, H.; SILVA, E.; FERNANDEZ, V.; RYDER, E.; SULBARAN, T.; CAMPOS, G.; CALMÓN, G.; CLAVEL, E.; CASTILLO-FLOREZ, S.; GOLDBERG, R. (2005). Prevalence and risk factors associated with the metabolic syndrome and dyslipidemia in White, Black, Amerindian and Mixed Hispanics in Zulia State, Venezuela. **Diabetes Research and Clinical Practice.** 69:63-77.
- [12] JOHNSON S. (2001). Micronutrient accumulation and depletion in schizophrenia, epilepsy, autism and Parkinson's disease?. **Med Hypothesis.** 56: 641-645.
- [13] KAPLAN, Lawrence A. (1991). **Química Clínica.** Editorial Médica Panamericana. p.p 1370.
- [14] LIM, H.B.; HAN, M.S.; LEE, K.J. (1996). Determination of trace elements in human serum by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with flow injection. **Anal. Chim. Acta.** 320:185-189.
- [15] LOUIS, Y.; CMUK, P.; OMANOVIC, D.; GARNIER, C.; LENOBLE, V.; MOUNIER, S.; and PIPETA, I. (2008). Speciation of trace metals in natural waters: The influence of an adsorbed layer of natural organic matter (NOM) on voltammetric behaviour of copper. **Anal Chim Acta.** 606 (1):37-44.
- [16] LOPES, C.M.P.V.; ALMEIDA, A.; SANTOS, J.L.M.; LIMA, J.L.F.C. (2006). Automatic flow system for the sequential determination of copper in serum and urine by flame atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta.** 555: 370-376.
- [17] ROSSI, L.; LOMBARDO, M.F.; CIRIOLO, M.R.; ROTILIO, G. (2004). Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases associated with copper imbalance. **Neuro Chem. Res.** 29:493-504.
- [18] RYDER, E. (2005). Una epidemia global: el síndrome metabólico. **An Venez Nutr.** 18(1):105-109.
- [19] SAS User's Guide: Statistics. Statistical Analysis System Institute (SAS) Proc GLM., 5<sup>th</sup> Edición. SAS Institute INC., Carry. NC. 1995.
- [20] SIRIT, Y.; ACERO, C.; BELLORIN, M.; PORTILLO, R. (2008). Síndrome Metabólico y otros Factores de Riesgo Cardiovascular en Trabajadores de una Planta de Policloruro de Vinilo. **Rev. Salud Pública.** 10 (2):239-249.
- [21] SKAINAYA, M.G.; DEMIDOV, V.A. (2007). Hair trace element contents in women with obesity and type 2 diabetes. **J Trace Elem. Med. Biol.** 21:59-61.
- [22] Standard Specification for Water. American Society for Testing and Materials. USA, Philadelphia, 1997.
- [23] VAN WIJK, J.P.H.; ELTE, J.W.F.; CASTRO CABEZAS, M. (2006). Metabolic dysregulation in diabetes and HIV-associated insulin resistance: from fatty acids to fat distribution. **Av Diabetol.** 22:19-31.
- [24] XUEPING Ji; JUJIE Ren (2002). Determination of copper and zinc in serum by derivative atomic absorption spectrometry using the microsampling technique. **Analyst.** 127:416-419.