

EFFECTOS ADVERSOS DEL SUMINISTRO DE ALTAS DOSIS DE ZINC EN CONEJOS (ORYCTOLAGUS CUNICULUS)

Adverse effects of the supply of high doses of zinc in rabbits (Oryctolagus cuniculus)

Hernández A¹, Walter; Bustamante C John Jairo²; Jiménez Arango, Fabián³

Recibido: 16 de agosto de 2017

Aceptado: 1 de noviembre de 2017

Resumen:

La utilización indiscriminada de micronutrientes en la alimentación animal, con el fin de obtener mayores rentabilidades, ha ocasionado, en muchos casos, disturbios metabólicos y desbalances nutricionales cuyos daños logran percibirse solo hasta el apareamiento de los primeros síntomas de lesión. A pesar de todas las propiedades benéficas que se han atribuido al Zinc, es poco lo que se conoce acerca de los efectos negativos que ocasiona el exceso de este micronutriente, tanto en animales, como en el mismo ser humano. El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar las posibles alteraciones de la administración oral de un exceso del Zinc sobre el comportamiento de la ganancia de peso de conejos; así como también, describir cambios en algunos parámetros hematológicos en estos animales. Para ello, fueron tomados doce especímenes que se distribuyeron al azar en dos grupos, de igual número, en jaulas separadas: Grupo Tratamiento (T1) y grupo Testigo (T0). El grupo T1 recibió 1.5 g/100 mL de Acetato de Zinc vía oral, diariamente, durante 120 días. El grupo T0 recibió agua destilada por la misma vía. Los dos grupos fueron pesados cada mes; al mismo tiempo, fueron valorados parámetros hemáticos como Hematocrito, Hemoglobina y conteo diferencial de la línea blanca, mediante contador de células automático. Los resultados arrojados indicaron que no hubo diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en los parámetros estudiados entre los dos grupos; sin embargo, se notó una tendencia hacia la disminución de peso, y de los parámetros hemáticos en el grupo tratado con zinc.

¹ Médico Veterinario. Esp. MSc. Universidad de la Paz - UNIPAZ – Barrancabermeja. Walterh42@gmail.com

² Médico Veterinario. Esp. PhD. Universidad de Pamplona. jhonjabu@unipamplona.edu.co

³ Zootecnista. Esp. MSc. Universidad de Santander - UDES. fjimenezoot@yahoo.com

Según estas observaciones, puede concluirse que el empleo del Zinc en dosificación inadecuada, durante un tiempo prolongado, puede provocar modificaciones negativas en el organismo de los animales.

Palabras clave: hematología, lagomorfos, leucocitos, micro mineral, peso corporal, sobredosis, toxicidad.

Abstract:

The indiscriminate use of micronutrients in animal feed, in order to obtain greater profitability, resulted, in many cases, metabolic disturbances and nutritional imbalances whose damage manage to perceive only until the appearance of the first symptoms of injury. Despite all the beneficial properties that have been attributed to the Zinc, is little known about the negative effects that it causes the excess of this micronutrient, both in animals and in the same human being. The main objective of this study was to evaluate the possible alterations of the oral administration of an excess of Zinc on the behavior of the rabbits weight gain; as well, describe changes in some hematological parameters in these animals. To do so, were taken twelve specimens which were distributed randomly in two groups of equal number, in separate cages: group treatment (T1) and (T0) control group. The T1 group received 1.5 g / 100 mL of Zinc acetate oral, daily, for 120 days. The Group T0 received water distilled by the same route. The two groups were weighed every month; at the same time, were valued parameters hematic as hematocrit, hemoglobin, and differential count of the white line, through automatic cell counter. Thrown results indicated there were no significant differences ($p = 0,05$) in the parameters studied between the two groups; However, there was a trend towards the reduction of weight, and the parameters in the group treated with zinc hematic. According to these observations, it can be concluded that the use of Zinc in inadequate dosage, for a long time, may cause negative change in the body of animals.

Key words: body weight, Hematology, lagomorphs, leukocytes, micro mineral, overdose, toxicity

Introducción

Recientemente, el Zinc (Zn) ha sido reconocido como un micronutriente de excepcional importancia por su diversidad biológica, clínica y salud pública global (National Academy Press, 2001). La importancia del zinc como un nutriente esencial para la salud humana es de amplio conocimiento. A comienzos de la década de 1930 estudios en animales mostraron la importancia del zinc en el crecimiento y supervivencia de los animales (Todd *et al*, 1934). Más adelante, en 1961, Prasad y colaboradores reconocieron la importancia de la deficiencia de zinc en humanos. Recientemente, se conoce que seis grupos de enzimas requieren zinc para su actividad catalítica (oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, lisasas, isomerasas y ligasas) (Vallee y Falchuk, 1993). Además de las funciones catalíticas y estructurales, los iones de zinc intracelulares cumplen una función reguladora activando o inhibiendo ciertos factores que son responsables de la expresión

genética (Cousins, 1996). El Zn es importante, en etapas de rápido crecimiento, tanto en edad prenatal, como en la post-natal para los tejidos que se encuentran en continua remodelación celular, como el sistema inmune y el tracto gastroentérico (Gibson, 1990). Por otra parte, el zinc plasmático, usado frecuentemente como indicador del estado de del micromineral en el organismo, se encuentra regulado homeostáticamente; de tal modo, que individuos con una deficiencia marginal del microelemento pueden mostrar valores normales (Bertino y L'Abbé). Adicionalmente, el zinc plasmático puede ser influenciado por varios factores no nutricionales, tales como infecciones (disminución por redistribución del zinc desde el plasma hacia el hígado), enfermedades asociadas a una hipoalbuminemia, embarazo (disminución por expansión del volumen sanguíneo), y enfermedades asociadas a hemólisis (aumento por liberación del zinc en eritrocito al plasma) (Sandstrom *et al*, 1985).

Se han propuesto y utilizado, sobre todo en trabajos de investigación científica, indicadores para evaluar el estado de zinc tales como, zinc en plasma o suero, en eritrocitos, en leucocitos, en pelo, en orina, actividad de ciertas enzimas dependientes de zinc (alkalina fosfatasa, ectopurina 5' nucleotidasa) y timulina sérica (Fischer *et al*, 2005). Sin embargo, no existe a la fecha un indicador bioquímico específico y sensible para evaluar el estado de zinc de un individuo. Para la evaluación del estado de zinc de una población se recomienda el uso del valor de zinc plasmático o sérico, pues refleja la ingesta de zinc de una población y existen valores de referencia para la mayoría de grupos de edad y de género (López de Romaña *et al*, 2010).

Con respecto a la deficiencia de Zinc, debido a su papel fundamental en el organismo, la carencia de este elemento traza conduce a problemas de salud generalizados y de gravedad. Ambos estados de deficiencia (nutricionales y/o heredados) generan idénticos síntomas (Ackland y Michalczyk, 2006); así mismo, las deficiencias clínicas de Zinc causan un espectro de efectos, desde leves, hasta síntomas de naturaleza severa (Prasad, 1985). Existen reportes de un grupo de desórdenes del metabolismo del Zinc el cual es heredado; en él, los niveles basales del microelemento en el plasma se encuentran por encima de 300 µg/100 mL, más de tres veces el nivel fisiológico, mientras que los niveles de hierro y cobre son normales (Failla *et al*, 1982; Smith *et al*, 1976).

Por otro lado, la cantidad normalmente encontrada en el suero de pacientes intoxicados con zinc, éstos pueden observarse desde asintomáticos hasta presentar anemia severa, fallas en el crecimiento, inflamación sistémica; todo ello, pareciéndose más a una deficiencia del elemento que a una intoxicación aguda (Fessatou *et al*, 2005; Sampson *et al*, 1997).

Cuando se han encontrado bajos niveles de zinc, se ha atribuido a la excesiva unión a proteínas, como por ejemplo a la albúmina, o, a la sobreexpresión de la unión del zinc a la proteína calprotectin S100 (Fessatou *et al*, 2005); por lo tanto, las cantidades de zinc en el suero de esos pacientes son secuestradas por proteínas, agotando el zinc biológicamente disponible (Sampson *et al*, 1997).

En cuanto al exceso de zinc, es poco probable que una dosis exagerada por una vez llegue a provocar intoxicación aguda; además, como éste es considerado un nutriente, luego algunas personas asumen que: “si poco es bueno; mas, sería mejor”: así, entonces, muchas personas creen que el zinc sería la cura para casi todos los males: De este modo, se ha malinterpretado la alta disponibilidad y la facilidad para obtener en el mercado, cualquier preparado como suplemento para mejorar la salud (Ervin y Kennedy, 2002); sin embargo, estudios recientes han demostrado los efectos adversos que ocasiona el consumo de sobredosis de dichas formulaciones por tiempo prolongado (O’Nriagu, 1988).

Con el ánimo de ampliar el conocimiento acerca de la toxicidad del zinc y evaluar sus potenciales efectos deletéreos sobre algunos parámetros sanguíneos y sobre el comportamiento de la ganancia de peso en conejos, se elaboró el presente trabajo.

Materiales y método

De una granja comercial fueron adquiridos doce conejos, machos, jóvenes, con un promedio de peso de 1000 gramos. Los animales fueron sometidos a un período de adaptación de 15 días, durante el cual les fue suministrado concentrado comercial adicionado con coccidostatos, agua a voluntad y se vermifugaron. Luego, fueron distribuidos en dos grupos de seis animales cada uno y alojados en dos jaulas separadas. El grupo Tratamiento (T1) recibió 1.5 g/100 mL de Acetato de Zinc vía oral, diariamente, a través de una sonda acoplada a una jeringa descartable; al grupo Control (T0) le fue suministrado agua destilada vía oral con la ayuda de similar dispositivo. Todos los animales del experimento recibieron idéntica ración, siguiendo instrucciones de la casa comercial que suministró el alimento concentrado, los animales dispusieron de agua a voluntad. El experimento duró 120 días.

Los 12 conejos fueron sometidos a muestreo en cuatro momentos diferentes: antes del tratamiento (AT), para obtener los valores basales; luego, cada mes (DT). Así, se permite la evaluación de la evolución de los índices a estudiar de los animales luego del tratamiento.

La medición del peso corporal para evaluar la ganancia de peso de cada animal, fue realizada en horas de la mañana, antes de suministrar el alimento. Se utilizó una báscula digital con sensibilidad de 5 gramos.

El muestreo de sangre, para la valoración de los parámetros hematológicos en estudio, fue realizado por punción de la vena auricular con la ayuda de vacutainer. El procedimiento para la toma de sangre consistió en la inmovilización del animal; luego, se desinfectó, con algodón empapado de alcohol, el área interna del pabellón auricular; después ubicarse un vaso sanguíneo de buen calibre, se incrustó la aguja del vacutainer, con EDTA recolectándose 3 mL de sangre. Las muestras fueron levadas al laboratorio.

Para la medición del Hematocrito (Hto) fue empleado un contador Mindray bc-2800, la Hemoglobina (Hb) fue determinada a través del método de la ciano-metahemoglobina, como descrito por el Comité Internacional para la Estandarización de Hematología (ICSH), modificado 1977 (International Committee for Standardization in Haematology, 1978).

En el momento de la recolección de sangre, se separaron muestras pequeñas con el fin de hacer extensiones de sangre para el recuento diferencial de leucocitos, según descrito por el National Committee for Clinical Laboratory Standards; Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture de 1991 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991).

El diseño estadístico empleado fue completamente al azar, con análisis de ANOVA para hallar diferencias de promedios entre tratamientos.

Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran los resultados de los pesajes promedios de los grupos de conejos que recibieron tratamiento con zinc con relación al presentado por el grupo testigo. Puede observarse la inclinación de las curvas de los dos grupos con el paso del tiempo; se denota una mayor tendencia de la ganancia de peso en el grupo Control (T0) con respecto al grupo Tratamiento (T1); sin embargo, el análisis estadístico señaló que no hubo diferencia estadística ($p > 0,05$) en ganancia de peso entre los dos grupos.

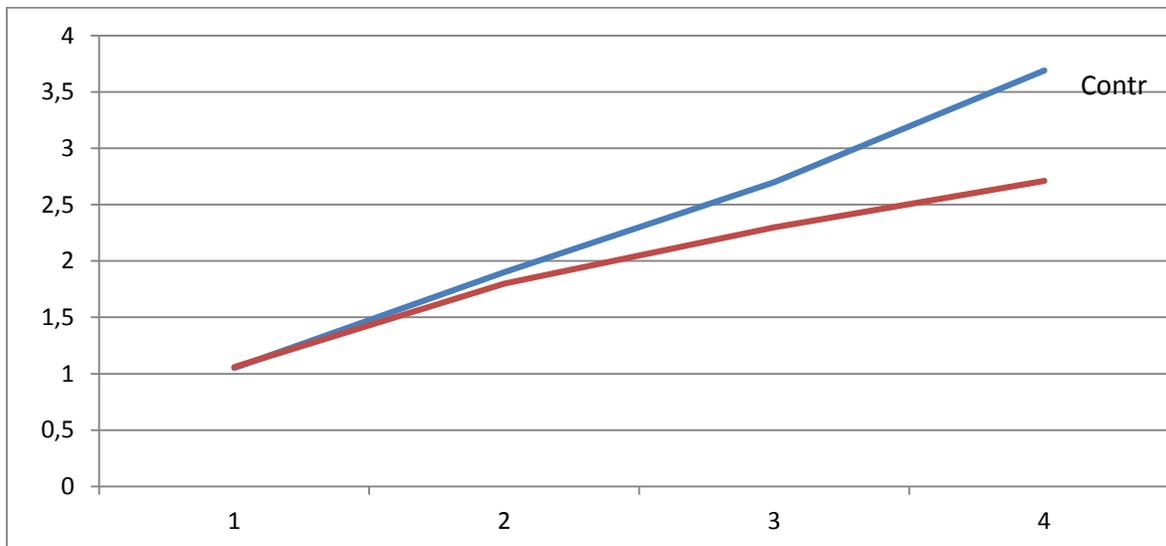


Figura 1. Promedio de pesos de conejos de los grupos tratados con zinc y el grupo testigo.

Con relación al comportamiento del Hematocrito y Hemoglobina, no hubo diferencia estadística ($p > 0,05$) cuando fueron comparados los dos grupos. Sin embargo, como se observa en la figura 2, la curva del Hematocrito tiende hacia abajo a partir del

tercer pesaje, mientras que la curva del grupo Control se mantiene estable. Comportamiento muy similar lo presenta la Hemoglobina, como se puede observar en la figura 3.

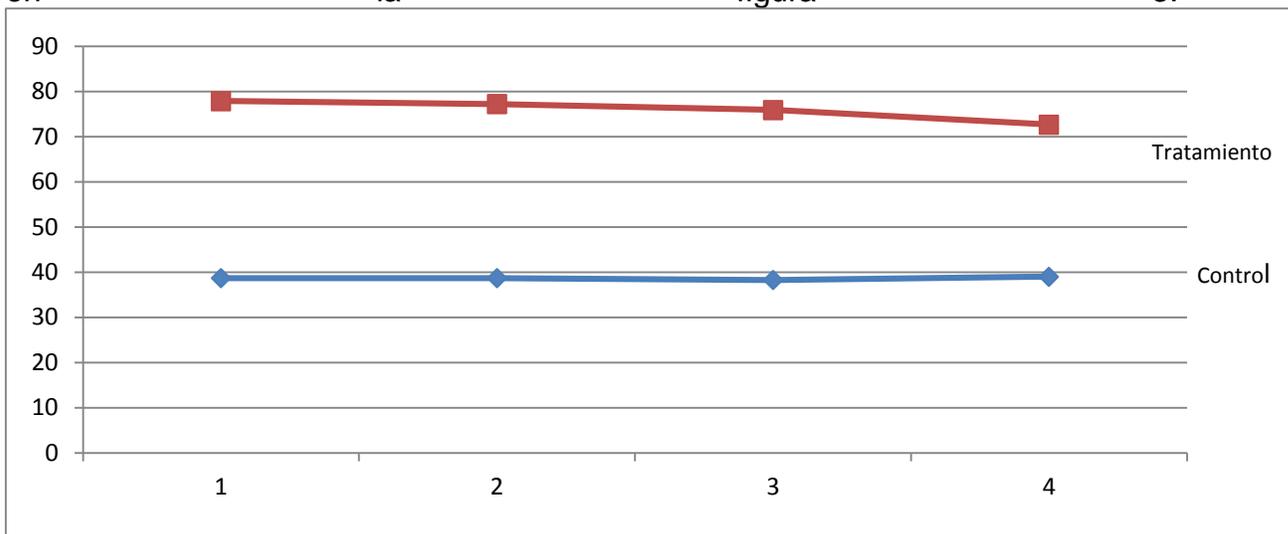


Figura 2. Promedio de Hematocrito de grupos tratados con zinc y el control

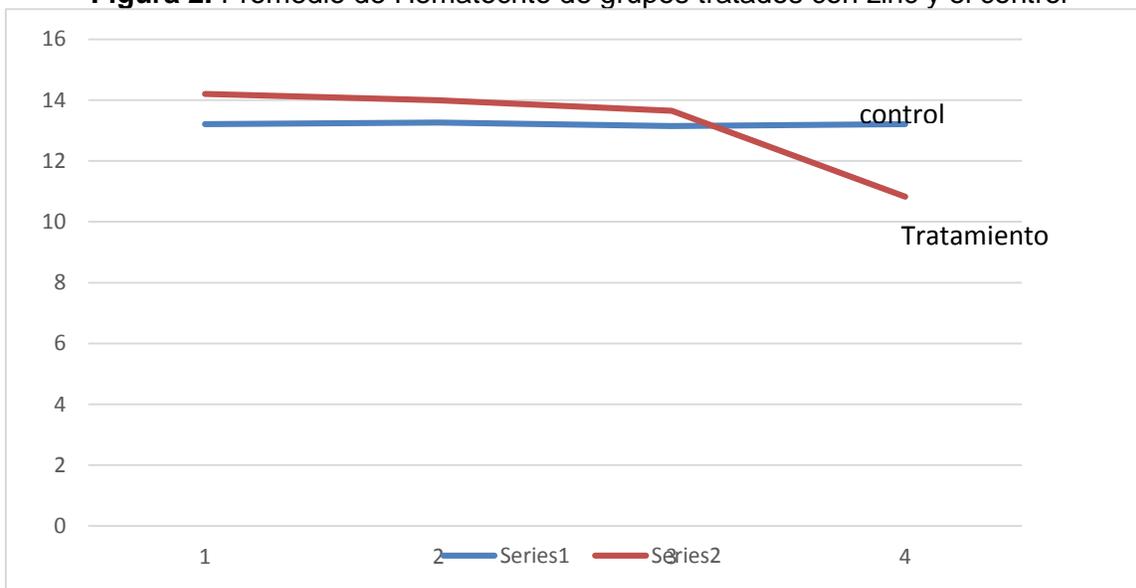


Figura 3. Promedio de Hemoglobina de grupos tratados con zinc y el control

Respecto al comportamiento de la línea blanca, al compararse los dos grupos, no se halló diferencia estadística ($p > 0,05$); con referencia especial a los neutrófilos, en la figura 4 puede notarse el descenso marcado de estas células a partir del tercer pesaje en el grupo Tratamiento con relación al grupo Control.

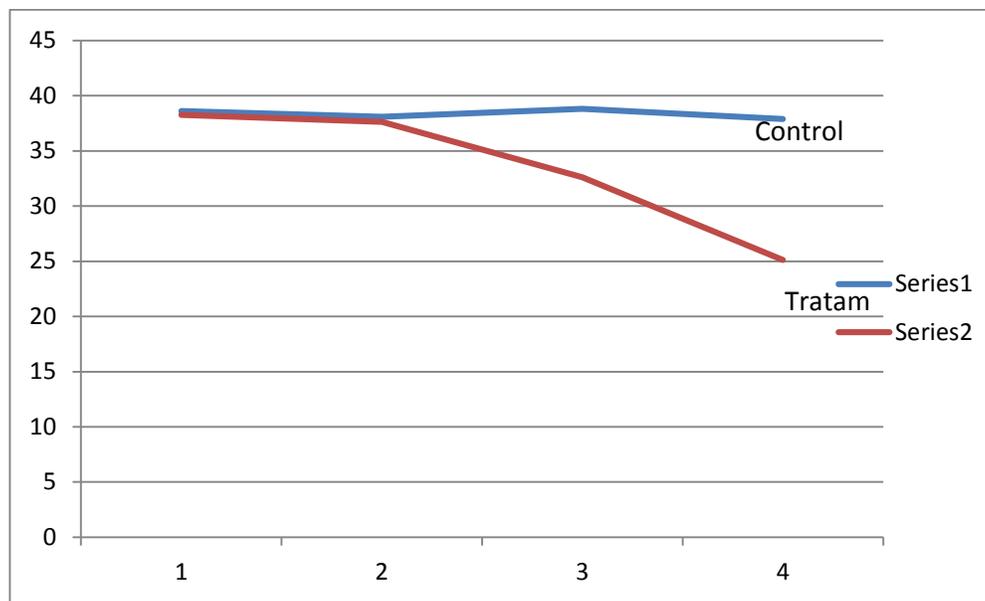


Figura 4. Promedio de Neutrófilos de grupos tratados con zinc y el control.

A pesar de que el zinc es el menos tóxico de todos los oligoelementos, y de poseer un margen de seguridad (diferencia entre la dosis tóxica y la dosis recomendada) muy amplio, es necesario evaluar su toxicidad (Rubio *et al*, 2007). Aunque ante una alta exposición al mineral, sus concentraciones en plasma, suero, orina y pelo puedan también resultar elevadas, hasta el momento no existe un método estandarizado para su medición en el organismo (Mareta y Sansteada, 2006). Son numerosas las enfermedades relacionadas a las bajas concentraciones de zinc en la sangre (hipozincaemia); no obstante, hasta el presente, son relativamente pocas las asociadas con altos niveles sanguíneos del elemento (hiperzincaemia).

Si bien recientemente se han estudiado las múltiples funciones esenciales del zinc en el organismo; también, actualmente, se está conociendo su potencial para interactuar con muchas funciones biológicas que pueden estar induciendo efectos adversos (Mareta y Sansteada, 2006).

Las observaciones realizadas en el presente estudio, referentes al comportamiento de la ganancia de peso en conejos que recibieron una sobredosis de zinc, pueden ser explicadas de forma parcial, debido al relativamente reducido tiempo de exposición de los animales al exceso del micromineral. A pesar de ello, los datos consignados en la Figura N°1, señalan un acentuado efecto negativo del zinc sobre el parámetro en mención, a medida que transcurre el tiempo. En este sentido, Tomoya *et al* (2012), trabajando con ratas, bajo condiciones experimentales, evaluaron el efecto del suministro de dietas suplementadas con zinc (1016–3000 mg/kg) sobre la tasa de crecimiento durante 10 días. Los autores sugirieron que el efecto del exceso de zinc sobre la ganancia de peso de las ratas, depende de la extensión del período de tratamiento. Snyder *et al* (1977), trabajaron con ratas macho, empleando 250 ppm de piritionato de Zinc vía oral ad libitum durante 10 días; los resultados indicaron que el producto provocó disminución de peso, incluso,

mucho tiempo después de suspender el tratamiento. Estos autores atribuyeron la pérdida de peso a una atrofia de la fibra muscular debido, posiblemente, a daño químico producido por acción del piritionato de zinc. Por otro lado, Sadasivan (1951), reportó disminución drástica de peso de ratas albinas ante el suministro de Óxido de zinc (1%) en la dieta, durante un periodo experimental de 15 días.

Con relación a los cambios en los parámetros hematológicos de los conejos en estudio durante el presente trabajo, pudo observarse que no hubo disminución significativa ($p > 0,05$) en ninguno de ellos en los animales sometidos al tratamiento con el acetato de zinc, cuando fue comparado con el grupo control; sin embargo, se aprecia en las figuras 2, 3 y 4 una tendencia hacia la disminución de dichos parámetros en el grupo Tratamiento.

Existe en la literatura una serie de documentos acerca de los efectos deletéreos del exceso de zinc sobre el organismo; algunos ellos hacen referencia al estudio de casos clínicos en seres humanos debido al suministro de sobredosis de zinc. (Selimoglu *et al*, 2006; Fengyuan *et al*, 2003; Dissanayake *et al*, 2009; Tomoya *et al*, 2012). Las alteraciones en parámetros hematológicos de conejos, provocadas por el suministro de altas dosis del microelemento, descritas en el presente trabajo, son coincidentes con estudios similares en otras partes del mundo. Las modificaciones presentadas en el Hematocrito de los conejos tratados con acetato de zinc podrían ser explicadas a partir de la relación de absorción competitiva dentro de los enterocitos mediados por la metalotioneína, una proteína de unión de zinc y cobre que se une al cobre con mayor afinidad que el zinc (Petar *et al*, 2002). Estos dos metales se unen a la metalotioneína y pueden ser almacenados, en el interior del enterocito, o, encontrarse como iones libres. Los iones acomplejados son almacenados en el interior del lumen del enterocito que luego se excreta cuando la célula epitelial se renueva. Los iones de zinc y cobre libres son absorbidos en la circulación portal. La expresión de la metalotioneína es regulada por el contenido del zinc dietario solamente. Cuando grandes cantidades de zinc son ingeridos, la expresión de metalotioneína incrementa; por tanto, más zinc es unido a esta proteína y más complejo metalotioneína-zinc es excretada. Debido a la diferencia en las afinidades de unión entre el zinc y el cobre (el cobre se une a la metalotioneína con mayor afinidad), existe un potencial de excreción pronunciado de cobre. Por lo tanto, un aumento sustancial en la ingestión de zinc podría causar una disminución dramática en la absorción de cobre. Por su parte, el cobre en la forma de ceruloplasmina actúa como un cofactor en reacciones que movilizan hierro almacenado necesario para la síntesis de hemoglobina; por tanto, una deficiencia de cobre conduce a anemia (Leist y De Sousa, 2009; Cragg *et al*, 2005; Willis *et al*, 2005; Wang *et al*, 2013).

En el presente trabajo, se pudo observar respuesta de la línea blanca, por parte de los neutrófilos que exhibieron un descenso a partir del segundo muestreo, para caer de manera drástica al final del experimento (gráfica N°4). Hasta el momento, es escasa la literatura que puedan brindar luces suficientes para intentar dar una explicación al comportamiento de los glóbulos blancos, con especial referencia a los neutrófilos. En este sentido, Leist y De Sousa (2009), reportan un cuadro de

leucopenia con neutropenia absoluta y anemia, en una paciente adulta, diagnosticada con esclerosis múltiple y que tenía el hábito de usar diariamente una crema dental con altos niveles de zinc (34,000 µg/g).

Conclusión

Son conocidos los innumerables efectos benéficos del zinc sobre la salud humana. También son indudables las mejoras en los rendimientos obtenidos durante la etapa de crecimiento de diferentes especies de valor comercial, cuando se adicionan suplementos que contienen el micronutriente; sin embargo, poco se sabe, hasta el momento, de los efectos perjudiciales que pudieran ocasionar un exceso de zinc en el organismo, sobre todo, cuando son suministrados durante largo tiempo.

Referencias Bibliográficas

Ackland ML & Michalczyk A (2006). Zinc deficiency and its inherited disorders: a review. *Genes. Nutr.* 1:41–49

Bertinato J, L'Abbé MR. Maintaining copper homeostasis: regulation of copper-trafficking proteins in response to copper deficiency or overload. *J Nutr Biochem* 2004;15:316–22.

Cousins RJ (1996). Zinc. In: Ziegler EE, Fuer LJ, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 7th ed. Washington, DC: ILSI Press. 293-306

Cragg RA, Phillips SR, Piper JM, et al (2005). Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut.* 54:469–478.

Dissanayake. S, DMAB, Wijesinghe, WD Ratnasooriya (2009). Sexual behavior in male rats. *J Hum Reprod Sci.* 2(2)

Ervin RB, Kennedy-Stephenson J (2002). Mineral intakes of elderly adult supplement and non-supplement users in the third national health and nutrition examinations survey. *J Nutr.* 132:3422–7.

Failla ML, Van de Veerdonk M, Morgan WT, Smith JC (1982). Characterization of zinc-binding proteins of plasma in familial hyperzincemia *J Lab Clin Med.* 100(6):943-52.

Fengyuan Piao, Kazuhito Yokoyama, Ning Mab, Toru Yamauchi a (2003). Subacute toxic effects of zinc on various tissues and organs of rats *Toxicology Letters* 145: 28–35

Fessatou S, Fagerhol MK, Roth J, Stamoulakatou A, Kitra V, Hadarean M, Paleologos G, Chandrinou H, Sampson B, Papassotiriou I (2005). Severe anemia

and neutropenia associated with hyperzincemia and hypercalprotectinemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 27(9):477-80.

Fischer W, Kordas K, Stoltzfus RJ, Black RE (2005). Interactive effects of iron and zinc on biochemical and functional outcomes in supplementation trials. *Am J Clin Nutr.* 82:5-12.

Gibson RS (1990). *Principles of Nutritional Assessment.* New York-Oxford: Oxford University Press.

Leist T & De Sousa E (2009). When metals compete: a case of copper-deficiency myeloneuropathy and anemia. *Nature Clinical Practice NEUROLOGY* Rebecca I Spain* 5 (2).

International Committee for Standardization in Haematology (1978). Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH Standard EP 6/2: 1977) and specifications for international haemoglobincyanide reference preparation (ICSH Standard EP 6/3: 1977). *J. Clin. Pathol.* 31:139-143.

Mareta W y Sandsteda H (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 20: 3–18.

National Academy Press (2001). Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, vitamin K, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc.* Washington, DC.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (1991). *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture*, 3rd Ed. Document H3-A3. 11 (10).

Nriagu J (1988). A silent epidemic of environmental metal poisoning? *Environmental Pollution.* 50 (1–2): 139-161

Petar G, Igic MD, Lee E, Harper W & Roach K (2002). Toxic Effects Associated With Consumption of Zinc. *Mayo Clin Proc.* 77:713-716

Prasad AS (1985). Clinical manifestations of zinc deficiency. *Annu. Rev. Nutr.* 5:341–363.

Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M (1961). Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med.* 31:532-46.

López de Romaña D, Castillo C, Diazgranados D. (2010). El Zinc en la salud humana. *Rev Chil Nutr* 37 (2): 234-239

Rubio C; González D; Weller R E; Martín-Izquierdo, Revert C; Rodríguez I & Hardisson A (2007). El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp.* 22(1):101-107

Sadasivan V (1951). Studies on the biochemistry of zinc. 1. Effect of feeding zinc on the liver and bones of rats. *Biochem J.* 48(5): 527–530

Sampson B, Kovar IZ, Rauscher A, Fairweather-Tait S, Beattie J, McArdle HJ, Ahmed R (1997). A case of hyperzincemia with functional zinc depletion: a new disorder?, *Green C Pediatr Res.* 42(2):219-25.

Sandstrom B, Davidsson L, Cederblad A, Lonnerdal B (1985). Oral iron, dietary ligands and zinc absorption. *J Nutr* 1985;115:411-4.

Selimoglu M, Ertekin V, Yildirim Z, Altinkaynak S (2006). Familial hyperzincaemia: a rare entity. *International journal of clinical practice.* 60(1):108-9

Smith JC, Zeller JA, & Brown ED (1976). The ranges of intake for nutritionally essential. *Ong SC Science Elevated plasmz zinc: a heritable anomaly.* 193 (4252): 496-8.

Snyder D, Gralla E & Coltman G (1977). Preliminary neurological evaluation of generalized weakness in zinc pyriothione-treated rats. *Food Cosmet Toxicol.* 15 (1): 43 -47.

Todd WJ, Elvehjem CA, Hart EB (1934). Zinc in the nutrition of the rat. *Am J Physiol.* 107:146-156.

Tomoya Fujimura, Tohru Matsui and Masayuki Funaba (2012). Regulatory responses to excess zinc ingestion in growing rats. *British Journal of Nutrition.* 107, 1655–1663

Vallee BL, Falchuk KH (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 73:79-118.

Wang C, Xie P, Liu LL, Lu JJ, Zou XT (2013) Effects of dietary capsulated zinc oxide on growth performance, blood metabolism and mineral concentrations in weaning piglets. *Asian Journal of Animal & Veterinary Advances* 8(3):502–510

Willis MS, Monaghan SA, Miller ML, et al (2005). Zinc-induced copper deficiency: a report of three cases initially recognized on bone marrow examination. *Am J Clin Pathol.* 123:125–131.