

Anemia Nutricional del Embarazo en Maracaibo. Venezuela

Dr. Rafael Molina* y Dra. María Diez de Ewald**

RESUMEN

Se estudió la deficiencia de hierro y folato en mujeres que acudían por primera vez a la consulta prenatal, en púerperas y un grupo testigo de mujeres sanas, no embarazadas. Se halló una alta tasa de deficiencia de hierro, y aún mayor de deficiencia de ácido fólico. El déficit de hemoglobina y folato eritrocitario se hizo mayor con el progreso del embarazo; siendo la carencia más acentuada la de folato en muestras de puerperio. Creemos que ésto sea debido a dieta inadecuada e infrecuente prescripción de ácido fólico en las clínicas prenatales. No se encontró correlación entre hemoglobina y niveles de folato sérico y eritrocitario, pero sí entre hemoglobina e índice de saturación de transferrina. Hubo correlación significativa entre índice de segmentación neutrofílica y niveles de folato en pacientes ferropénicas, pero nó en el grupo general, a pesar de que los valores bajos de folato correspondieron usualmente a aumento del promedio de lóbulos. Se hace énfasis sobre la necesidad de administrar rutinariamente ácido fólico en el período prenatal.

INTRODUCCION

La anemia nutricional es aquella que se desarrolla como consecuencia de la carencia de uno o varios factores nutricionales indispensables para la hematopoyesis. Los nutrientes más frecuentemente involucrados en su etiología son: el hierro, el ácido fólico y la vitamina B₁₂. Recientemente se han señalado otros factores, como el ácido ascórbico, la piridoxina, y las proteínas; sin embargo, aún no se sabe ciertamente si sus deficiencias

*Hospital Chiquinquirá. Maracaibo. Venezuela

**Instituto de Investigación Clínica. Apartado 1151. Maracaibo. Venezuela

causal) o acompañan al síndrome anémico (14). Este tipo de anemia se observa en todas las latitudes, pero es más frecuente en las regiones tropicales, debido a la existencia de condiciones que la favorecen, como es el bajo nivel socioeconómico que lleva consigo una disminución en la cantidad y calidad de alimentos, una mayor frecuencia de parasitosis y aumento de los miembros del núcleo familiar. El embarazo, al sumar al factor carencial el aumento de la demanda de nutrientes y estados disabsortivos, condiciona más la aparición de la anemia.

En Venezuela, el problema ha sido estudiado en el centro del país, específicamente en la población de Caracas (1, 19, 21); sin embargo, poco se sabe con respecto a la situación en la zona occidental, donde las condiciones ambientales y hábitos nutricionales son diferentes. Existe una comunicación hecha en 1955 (2) donde los autores, basados en valores de hemoglobina y hematocrito, encontraron anemia en el 70 o/o de las embarazadas; de tipo macrocítica en todos los casos. En 1957, Suárez (26) encontró que 91 o/o de las embarazadas de Maracaibo estaban parasitadas, encontrándose tricocefalosis en más de la mitad del grupo estudiado. En 1965 Hernández y col. (15) estudiaron el hierro sérico de embarazadas provenientes de la clase pobre y de la clase media, hallando una alta incidencia de hierro entre las primeras, y resultados prácticamente normales entre las segundas. En el presente estudio, hemos enfocado el problema de la anemia nutricional del embarazo, midiendo parámetros que señalan deficiencias específicas de los factores hematopoiéticos reconocidos.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 132 pacientes de la consulta prenatal, 29 que estaban hospitalizadas durante los dos primeros días del puerperio, y un grupo testigo de 31 mujeres sanas, no embarazadas, de edades comparables a las de los grupos anteriores. Las edades de las mujeres estudiadas variaron entre 15 y 41 años, con un promedio de 27. La población estudiada fue bastante homogénea en cuanto a status socioeconómico, perteneciendo a los estratos inferiores. El grupo de embarazadas fue dividido en subgrupos correspondientes a los tres trimestres de gestación. A cada historia clínica se le anexó una historia socioeconómica, que incluía datos sobre estado civil, ingreso monetario familiar, nivel educacional, número de miembros en la familia y hábitos alimenticios.

En todos los casos se realizaron los estudios siguientes: hemoglobina, por el método de la cianometahemoglobina (6), microhematocrito, conteo de glóbulos rojos y blancos, conteo de plaquetas por el método indirecto de Damesheck (7), conteo de reticulocitos coloreados con el

nuevo azul de metileno, morfología de sangre periférica y determinación del índice de lobulación neutrofílica (11); hierro sérico y capacidad total de combinación de hierro por transferrina (TIBC) según Caraway (4), folato sérico por la técnica de Herbert (13) y folato eritrocitario de acuerdo a la técnica de Hoffbrand (17).

En 40 casos se hicieron determinaciones del nivel sérico de vitamina B₁₂, siguiendo la técnica microbiológica de Ross (24); y en 11 pacientes con evidencia clínica de severa anemia, se hizo estudio morfológico de la médula esternal, acompañado de investigación de hemosiderina por la técnica de Dry (9).

Para evaluar los resultados se utilizan los siguientes criterios: se hablará de anemia cuando el nivel de hemoglobina esté por debajo de 11 g/100 ml (5). La deficiencia de hierro será definida como severa cuando la concentración en plasma sea inferior a 50 ug/100 ml, y para folato sérico el valor mínimo aceptable será de 3 ng/ml (21). De acuerdo con el método utilizado (17), el valor mínimo normal de folato eritrocitario será de 160 ng/ml, y con relación a vitamina B₁₂, se considerará como deficiencia severa un nivel inferior a 80 pg/ml (21).

RESULTADOS

Los datos de la historia socioeconómica demostraron que la mayoría de la población estudiada forma parte de un grupo social muy pobre, donde el desempleo es frecuente, las familias son grandes y el ingreso monetario familiar muy bajo (en la mayoría de los casos, el sueldo del marido no sobrepasaba los Bs. 500 al mes). De allí que el consumo alimenticio básico esté representado por maíz, plátano, queso y arroz, con infrecuente ingestión de carne y vegetales frescos.

Los promedios de los parámetros estudiados, con excepción de TIBC y folato eritrocitario, estuvieron dentro de límites normales, aunque las desviaciones de la media eran muy grandes. Las tablas 1 y 2 muestran los promedios y percentilas de hemoglobina, hierro sérico, transferrina y ácido fólico. Se observó un aumento progresivo de la TIBC con el transcurso del embarazo, no acompañado por cambios significativos en la concentración de hierro sérico: de allí que el índice de saturación de transferrina vaya disminuyendo también progresivamente. Los promedios de concentración de hemoglobina se mantuvieron bastante constantes en los 3 trimestres del embarazo; y aunque normales, fueron significativamente menores que los de las púerperas y el grupo de control. El promedio de folato sérico permaneció en los límites bajos de la normalidad durante el embarazo, alcanzando su nivel inferior en el puerperio.

TABLA I
 CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA, HIERRO SERICO Y TIBC

	NUMERO DE CASOS	HEMOGLOBINA		HIERRO SERICO		TIBC	
		MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS	MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS	MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS
		gr./100 ml.		ug./100 ml.		ug./100 ml.	
EMBARAZADAS							
1er TRIMESTRE	45	11,8	10,7 - 13,8	83	36 - 143	380	234 - 624
2º TRIMESTRE	44	11,7	10,1 - 12,9	76	31 - 133	504	285 - 657
3º TRIMESTRE	43	11,6	9,6 - 13,9	80	27 - 122	671	267 - 765
TOTAL	132	11,7	9,9 - 13,8	80	29 - 130	509	264 - 687
PUERPERIO	29	12,3	9,2 - 13,3	85	39 - 125	551	290 - 738
NO EMBARAZADAS	31	13,3	11,8 - 15,2	94	38 - 167	398	279 - 489

TABLA 2

SATURACION DE TRANSFERRINA Y CONCENTRACION DE ACIDO FOLICO

EMBARAZADAS	NUMERO DE CASOS	SATURACION DE TRANSFERRINA		FOLATO SERICO		FOLATO ERITROCITARIO	
		MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS %	MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS ng./ml.	MEDIA	10 - 90 PERCENTILAS ng./ml.
1er TRIMESTRE	45	22	6 - 37	5,0	0,5 - 9,7	79	25 - 148
2º TRIMESTRE	44	15	7 - 28	4,9	0,6 - 10,2	82	22 - 241
3º TRIMESTRE	43	12	5 - 31	5,1	1,2 - 11,2	61	15 - 141
TOTAL	132	16	6 - 36	5,0	1,1 - 11,1	74	22 - 153
PJERPERIO	29	15	5 - 44	4,3	1,4 - 6,6	56	11 - 92
NO EMBARAZADAS	31	24	7 - 39	5,9	2,8 - 8,9	95	47 - 169

Mención aparte merecen los resultados de folato eritrocitario, con promedios tan bajos en todos los grupos, que tuvimos que hacer abstracción de los valores normales correspondientes al método, y establecer para nuestro estudio un valor mínimo de 50 ng/ml, correspondiente al promedio del grupo testigo menos una desviación standard.

Hemoglobina y Deficiencia de Nutrientes (Tabla 3).- La incidencia de anemia fue bastante alta en los grupos de embarazo y puerperio. El 36 o/o de las embarazadas y el 38 o/o de las púerperas tenían concentraciones de hemoglobina por debajo de 11 g/100 ml, observándose en las primeras un aumento de la frecuencia de anemia con la edad de la gestación. No se observó ningún caso de anemia en el grupo control.

La frecuencia de bajos valores de hierro y folato también fue elevada, especialmente si la comparamos con el grupo control. La tasa de deficiencia de hierro no cambió sustancialmente con la edad del embarazo, pero sufrió un aumento considerable en el puerperio; al contrario del folato sérico, que se encontró tan deficitario en el segundo trimestre como en el puerperio. En el folato eritrocitario sí hubo un evidente aumento de la tasa de deficiencia con la edad gestacional. Entre las pacientes en quienes se investigó vitamina B₁₂, no hubieron valores subnormales.

La deficiencia de nutrientes varió con respecto a la presencia o no de anemia (tabla 4). En las pacientes anémicas, lo más frecuente fue la deficiencia aislada de hierro o combinada con deficiencia de folato; mientras que en las no anémicas lo más frecuente fue la deficiencia aislada de folato, lo cual está de acuerdo con la falta de correlación entre hemoglobina y ácido fólico que pudimos establecer.

A pesar de que tampoco hallamos correlación entre hierro sérico y TIBC, sí encontramos una correlación baja pero significativa, entre hemoglobina e índice de saturación de transferrina, $r = 0,37$; $p = 0,015$.

Imagen de Sangre Periférica.- Aunque la imagen predominante en los hematíes fue macrocítica, la alta frecuencia de deficiencias combinadas condicionó en muchas ocasiones frotis de aspecto heterogéneo. En los leucocitos, lo más común fue la hipersegmentación neutrofílica. Entre las embarazadas el índice de lobulación fue $3,50 \pm 0,02$ e.s.; en las púerperas fue $3,52 \pm 0,04$; y en el grupo testigo $3,36 \pm 0,03$. Aunque generalmente a niveles bajos de folato le correspondieron índices de segmentación

TABLA 3

DEFICIENCIA DE HEMOGLOBINA Y NUTRIENTES EN RELACION CON LA EDAD DEL EMBARAZO

GRUPOS	HEMOGLOBINA < 11,0 g./100 ml. %	HIERRO SERICO < 50ug./100 ml. %	FOLATO SERICO < 3 ng./ml. %	FOLATO ERITROCITARIO < 50 ng./ml. %
1er. TRIMESTRE (45)	20 (9)	22 (10)	22 (10)	29 (13)
2º. TRIMESTRE (44)	34 (15)	27 (12)	36 (16)	36 (16)
3er. TRIMESTRE (43)	53 (23)	28 (12)	23 (10)	47 (20)
PUERPERIO (29)	38 (11)	38 (11)	38 (11)	66 (19)
NO EMBARAZADAS (31)	0	16 (5)	13 (4)	10 (3)
SIGNIFICACION DE X ²	p < 0,0005	N. S.	N. S.	p < 0,0005

Las cifras entre paréntesis, corresponden al número de casos.

N. S. = no significativo.

TABLA 4

ANEMIA Y DEFICIENCIA DE NUTRIENTES

GRUPOS	DEFICIENCIA DE HIERRO SOLO %	DEFICIENCIA DE FOLATO SERICO SOLO %	DEFICIENCIA DE FOLATO ERITROCITARIO SOLO %	DEFICIENCIA COMBINADA DE FOLATO SERICO Y ERITROCITARIO %	DEFICIENCIA COMBINADA DE HIERRO Y FOLATO %
CON ANEMIA					
EMBARAZADAS (47)	17	11	13	4	30
PUERPERIO (11)	9	27	9	0	36
NO EMBARAZADAS (0)	0	0	0	0	0
SIN ANEMIA					
EMBARAZADAS (85)	5	9	20	9	11
PUERPERIO (18)	5	22	44	0	28
NO EMBARAZADAS (31)	13	10	10	0	3

TABLA 3

MORFOLOGIA DE MEDULA OSEA Y CONCENTRACION DE NUTRIENTES

CASO	MEDULA OSEA MORFOLOGIA	HEMOSIDERINA	FOLATO SERICO ng./ml.	FOLATO ERITROCITARIO ng./ml.	HIERRO SERICO ug./100 ml.
N.A.	MEGALOBLASTOS	+	2,2	55	32
A.H.	..	-	1,0	83	38
H.A.	..	-	1,1	75	25
J.O.	..	-	1,0	40	28
I.C.	..	++	4,1	36	50
D.CH.	..	-	4,8	29	27
R.M.	METAMIELOCITOS GIGANTES	+	3,4	89	47
M.M.	..	-	14,1	85	47
C.G.	NORMAL	+++	4,0	161	140
M.CH.	..	++	11,1	169	53
L.S.	..	++	4,9	144	47

neutrofílica altos, no hallamos correlación entre estos dos datos; sin embargo, cuando de la población general estudiada tomamos solamente personas deficientes de hierro, sí hallamos una correlación negativa pequeña, pero de valor estadístico, entre folato e índice de segmentación neutrofílica, siendo $r = 0,45$, $p = 0,0007$ para folato sérico; y $r = -0,37$, $p = 0,0054$ para folato eritrocitario.

Aspecto de la Médula Osea (Tabla 5).- De los 11 casos estudiados, 6 presentaron cambios megaloblásticos típicos, otros 2 mostraron metamielocitos gigantes y 3 fueron normales. En 5 casos no hubo hemosiderina demostrable, 3 tenían muy pequeña cantidad, y el resto fue normal.

DISCUSION

A pesar de que, exceptuando los valores de folato eritrocitario, los promedios de los nutrientes se mantuvieron normales en todos los grupos, encontramos una alta incidencia de déficit de hierro y folato. El hecho más llamativo fue la baja concentración del folato en hematíes, subnormal en todos los grupos con respecto a los valores mínimos del método (17). Aún refiriéndonos como valor mínimo a la cifra arbitrariamente escogida por nosotros (50 ng/ml), la deficiencia fue desde 29 o/o en el primer trimestre hasta 47 o/o en el tercero, alcanzando un grado mayor aún en el puerperio. Tales cambios no se encontraron en los valores de folato sérico, que aunque fueron algo más bajos durante el puerperio, se mantuvieron más o menos iguales a través del embarazo; eso podría significar que el folato eritrocitario sea un indicador más confiable de la carencia de ácido fólico. Se sabe que las concentraciones de folato sérico varían fácilmente en cortos períodos de tiempo, dependiendo de factores como la ingesta más reciente.

Hay gran diferencia entre los resultados obtenidos por Hernández y col. (15) y los nuestros, en lo que a concentraciones de hierro sérico se refiere. Diferente a lo esperado, que a medida que progresa el embarazo el déficit de hierro aumente, estos autores encuentran lo contrario, pero no especifican si sus pacientes venían siendo tratadas con hierro, lo cual explicaría sus resultados. El hecho de que consideran normales a pacientes con 10 g de hemoglobina también explica el por qué de la alta frecuencia de déficit de hierro que ellos encuentran en pacientes no anémicas.

Nuestros resultados para hierro son similares a los obtenidos en una población comparable de la ciudad de Caracas (21), pero la carencia de folatos es considerablemente mayor entre nosotros. Tal situación es contraria a lo que se esperaba encontrar, ya que nosotros trabajamos con

embarazadas de los 3 trimestres, mientras que las pacientes de Caracas pertenecían principalmente al tercer trimestre, época en la que aumentan los requerimientos de ácido fólico. Una posible explicación sería la tendencia general entre muchos de nuestros obstetras, a no prescribir ácido fólico con la misma frecuencia que el hierro en sus pacientes prenatales. Muchas de nuestras mujeres van de embarazo a embarazo sin recibir más folato que el suministrado por su dieta precaria. Además, la alta temperatura de Maracaibo podría inactivar parcialmente el ácido fólico de los alimentos.

Es interesante la baja, pero significativa correlación, encontrada entre folatos sérico y eritrocitario, y la segmentación neutrofílica en pacientes ferropénicas. Esto puede ser debido a una alteración de la actividad de forminotrasferasa (3), causada por la carencia de hierro, la que unida a la falta de folato haría más evidente la hipersegmentación.

Del mismo modo que ha sido demostrado por Layrisse (comunicación personal), encontramos que en las embarazadas, a pesar de que la TIBC y el hierro sérico no guardan relación, el índice de saturación de transferrina sí se correlaciona con la concentración de hemoglobina. Estos resultados son interesantes, ya que ha sido demostrado que el aumento de la transferrina durante el embarazo es debido en gran parte a los cambios hormonales que se suceden (18). Sin embargo, queda todavía por esclarecer, si este aumento de la TIBC está también asociado a cambios en el metabolismo del hierro propios del embarazo. Pudiera ser que debido al aumento de los requerimientos en la gestante, lo que sería hierro sérico normal para la no embarazada, fuera insuficiente para la primera. El alza de la transferrina sería un mecanismo compensatorio para garantizar buen transporte del hierro disponible.

Aunque el número de casos con determinación de vitamina B₁₂ es pequeño, y escogido al azar de la población general, es de notar que ninguno mostró valores por debajo de 80 pg/ml; al contrario, 40,8 o/o de las mujeres estudiadas en Caracas, tenían deficiencia de esta vitamina (21).

Es llamativa la alta frecuencia de cambios megaloblásticos en las médulas estudiadas, por lo que creemos justificable ampliar el estudio de este problema. Para Herbert (12), la sola presencia de metamielocitos gigantes traduce megaloblastosis; aunque otros (8) aseveran que esto puede aparecer en deficiencia pura de hierro. Sería importante conocer el aspecto morfológico de médula ósea al final del embarazo, en grupos con o sin suplemento de ácido fólico, en asociación a un buen suplemento de hierro.

A pesar de que las opiniones sobre la relación causa a efecto de déficit de ácido fólico y algunas condiciones patológicas obstétricas son contradictorias (16, 20, 25), es innegable que el ácido fólico es indispensable en la síntesis de proteínas y en la hematopoyesis; esto apoya la necesidad de corregir su carencia durante el embarazo. Exista o no peligro de daño sobre el feto, la anemia megaloblástica materna debe prevenirse o tratarse si ya está desarrollada. Con respecto al hierro, Pritchard y col. (22) han señalado que su carencia se asocia a veces a complicaciones obstétricas que se traducen en un aumento de la mortalidad y morbilidad perinatales. Dada la alta frecuencia de deficiencia combinada de hierro y ácido fólico, es aconsejable administrar ambos nutrientes en forma rutinaria en las clínicas prenatales.

Mucho se ha hablado del peligro de enmascaramiento de anemia por déficit de B₁₂ si se administra ácido fólico: con 0,300 mg diarios de éste, hay suficiente para prevenir la deficiencia en embarazadas (27), sin el peligro de pasar desapercibida la deficiencia de B₁₂, ya que tal dosis no corregiría la megaloblastosis por falta de B₁₂ (10). Desgraciadamente esta dosis no es suficiente para corregir la deficiencia en el embarazo, si no que en la mayoría de los casos se necesita 1 mg de ácido fólico para obtener una buena respuesta (22). Debido a que la dosis mínima que encontramos en el mercado es de 5 mg, y tomando en cuenta que la deficiencia de B₁₂ es rara entre nosotros, administramos 2,5 mg o sea media tableta por día.

AGRADECIMIENTO

A las Srtas. Trina Castellanos y Carmen Pirela, por su asistencia técnica.

Nutritional anemia of pregnancy in Maracaibo, Venezuela.

Molina, R. (Hospital Chiquinquirá, Maracaibo, Venezuela) and Diez-Ewald, M. Invest. Clín. No. 39: 15-28 1971.- Iron and folate deficiencies were studied in women attending prenatal clinic for the first time and in the early puerperium period and compared with a group of non pregnant women. A high incidence of iron deficiency and an even higher folic acid deficiency was found.

Hemoglobin and red cell folate deficiencies increased as pregnancy progressed. In the puerperium stage, folic acid reached its lowest value. This is believed to be due to inadequate diet and infrequent prescription of

folic acid in the prenatal period. No correlation was found between hemoglobin and serum or red cell folate. A good correlation was encountered between hemoglobin and the transferrin saturation index.

A significant correlation between neutrophil hypersegmentation and low folate was found only in iron deficient patients, although low folate generally corresponded to increased neutrophil loba average.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - AGUERO, O.; LAYRISSE, M. "Megaloblastic anemia of pregnancy in Venezuela". *Am. J. Obst. Gynec.* 73: 903-908. 1958.
- 2 - ARRIETA, V.; GONZALEZ G., F. "Hematología de embarazadas." *Rev. Obst. Ginec. Venezuela.* 15: 887-895. 1955.
- 3 - BEARD, M.E.J.; WEINTRAUB, L.R. "Hypersegmented neutrophilic granulocytes in iron deficiency anemia". *Brit. J. Haemat.* 16: 161-163. 1969.
- 4 - CARAWAY, W.T. "Macro and micro methods for the determination of serum iron and iron binding capacity." *Clin. Chem.* 9: 188-199. 1963.
- 5 - Council On Foods And Nutrition, Committee on Iron Deficiency. "Iron Deficiency in the United States", *J.A.M.A.* 203: 119-124. 1968.
- 6 - CROSBY, W.H.; MUNN, J.L.; FURTH, F.W. "Standardizing a method for clinical hemoglobinometry". *U.S. Armed Forces Med. J.* 5: 693-703. 1954.
- 7 - DAMESHECK, W. "A method for the simultaneous enumeration of blood platelets and reticulocytes". *Arch. Int. Med.* 50: 579. 1932.
- 8 - DAVIDSON, W.M. "Significance of morphologic variation in neutrophil metamyelocytes in anemia". *Am. J. Clin. Path.* 24: Suppl. 88. 1954.
- 9 - DRY, D.S. "Improved methods for the demonstration of mitochondria, glycogen, fat and iron in animal cells." *South African J. Sc.* 1: 298-301. 1945.
- 10 - HERBERT, V. "Current concepts in therapy: Megaloblastic anemia". *New Engl. J. Med.* 268: 201-368. 1963.
- 11 - HERBERT, V. "Studies of folate deficiency in man". *Proc. Rcy. Soc. Med.* 57: 377-384. 1964.
- 12 - HERBERT, V. "Megaloblastic Anemias. Mechanisms and management." *Disease - a - Month, Year Book Medical Publishers Inc Chicago.* 1965.

- 13 - HERBERT, V. "Aseptic addition method for *Lactobacillus casei* assay of folate activity in human serum". *J. Clin. Path.* 19: 12-16. 1966.
- 14 - HERBERT, V. "Introduction to the Nutritional Anemias". *Sem. Hemat.* 7: 2-5. 1970.
- 15 - HERNANDEZ, C.; PIÑEIRO, R.; GONZALEZ, O.; SOCORRO, N. "Hierro sérico en nuestras embarazadas". *Rev. Soc. Méd. Quir. Edo. Zulia.* Año 30, Nos. 1-12: 197-222. 1965.
- 16 - HIBBEARD, E.; SMITHELLS, R. "Folic acid metabolism and human embryopathy". *Lancet.* 1: 1254. 1965.
- 17 - HOFFBRAND, A.V.; NEWCOMBE, B.F.A.; MOLLIN, D.L. "Method of assay of red cell folate activity and the value of the assay as a test for folate deficiency". *J. Clin. Path.* 19: 17-28. 1966.
- 18 - HORNE, C.H.W.; WEIR, R.J.; HOWIE, P.W.; GOUDIE, R.B. "Effect of combined oestrogen-progestogen and contraceptives on serum levels of alfa 2-macroglobulin, transferrin, albumin and IgG." *Lancet.* 1: 49-50. 1970.
- 19 - LAYRISSE, M.; AGUERO, O.; BLUMENFELD, N.; WALLIS, H.; DUGARTE, I.; OJEDA, A. "Megaloblastic anemia of pregnancy, Characteristics of pure megaloblastic anemia and megaloblastic anemia associated with iron deficiency." *Blood.* 15: 724-740. 1960.
- 20 - MARTIN, R.H.; HARPER, T.A.; KELSO, W. "Serum folic acid in recurrent abortion". *Lancet.* 1: 570-672. 1965.
- 21 - Pan American Health Organization. Advisory Committee Of Medical Research. Eighth Meeting. Washington D.C. 9-13. June 1969. Item 11.4 of the agenda.
- 22 - PRITCHARD, J.A. "Megaloblastic anemia during pregnancy and the puerperium". *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 83: 1004-1020. 1962.
- 23 - PRITCHARD, J.; SCOTT, D.; WHALLEY, P. "Folic acid requirements in pregnancy induced megaloblastic anemia". *J.A.M.A.* 208: 1163-1167. 1969.
- 24 - ROSS, G.I.M. "Vitamin B₁₂ assay in body fluids using *Euglena gracillis*". *J. Clin. Path.* 5: 250-256. 1952.
- 25 - SCOTT, D.E.; WHALLEY, P.J.; PRITCHARD, J.A. "Maternal folate deficiency and pregnancy wastage. II. Fetal malformation". *Obstet. Gynec.* 36: 26-28. 1970.
- 26 - SUAREZ H., R. "Parasitosis intestinal en Venezuela. Sus relaciones con el embarazo". *Rev. Obst. Ginec. Venezuela.* 17: 194-258. 1957.
- 27 - WILLOUGHBY, M.L.N.; JEWELL, F.J. "Investigation of folic acid requirements in pregnancy". *Brit. Med. J.* 2: 1568-1571. 1966.