

## CONCENTRACIONES SERICAS DE ACIDO FOLICO Y CINC EN SUERO MATERNO Y CORDON UMBILICAL. INFLUENCIA EN EL DESARROLLO DEL EMBARAZO Y EL PARTO Y CONDICIONES DEL RECIEN NACIDO

**María Díez-Ewald\*, Gerardo Fernández\*\*, Ernesto Bonilla\*, Bertha Portillo\*\*, Gilberto Vizcaíno\* y Hugo Machado\*\***

\* Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. \*\* Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Chiquinquirá, Maracaibo, Venezuela.

Con la asistencia técnica de Carmen P. de Suárez, Trina C. de Oroño, José O. Dávila y Rafael Rivas.

Palabras claves: ácido fólico, cinc, embarazo

### RESUMEN

Se estudiaron 82 mujeres embarazadas a término para determinar los niveles de ácido fólico y cinc séricos en la madre y en el cordón umbilical del recién nacido.

Cincuenta y dos de las pacientes habían recibido ácido fólico durante la gestación y eran de condición socioeconómica media y 30 eran de bajos recursos económicos y no habían recibido suplemento vitamínico regular durante el embarazo. La concentración promedio de ácido fólico en sueros maternos fué normal en los dos grupos. La mayoría de las pacientes de bajos recursos tenía entre 3 y 7 ug/l de la vitamina (53%) mientras que el 69% de las de medianos recursos tenía más de 7 ug/l. Lo mismo se observó en el suero de cordón donde el 56% de los casos de medianos recursos tenían más de 24 ug/l de ácido fólico.

Se encontró que las concentraciones de cinc tanto en el suero materno como en el cordón umbilical eran normales y similares en los dos grupos. Al ordenar las concentraciones de nutrientes en forma ascendente, se halló que aquellas pacientes que correspondían al cuarto inferior de cinc presentaron, con más frecuencia, hemorragia del postparto ( $p < 0,05$ ) y niños con bajo índice de Apgar al minuto ( $p < 0,01$ ). No se encontró relación entre concentraciones séricas de ácido fólico y complicaciones feto-maternas.

Recibido 18-01-89

Aceptado 28-02-89

### INTRODUCCION

El déficit de ácido fólico es un hallazgo frecuente durante el embarazo, especialmente en las poblaciones de menor poder adquisitivo (1, 6, 9, 21, 23). En Venezuela se ha reportado esta deficiencia desde 1958 (1), y específicamente en Maracaibo, Estado Zulia, en 1974 se encontró que la deficiencia de folato sérico y eritrocitario alcanzaba el 29% de las embarazadas en el tercer trimestre (23), y un estudio más reciente reveló que el 14% de mujeres adolescentes y adultas no embarazadas, presentaba carencia de esta vitamina (10).

Por estas razones, la administración suplementaria de ácido fólico durante la gestación, es una práctica rutinaria en Venezuela, teniendo en cuenta la relación que se ha hallado entre su déficit y defectos del tubo neural en el producto de la concepción (20, 30, 31), complicaciones obstétricas y bajo peso del recién nacido (15, 27, 28).

Efectos similares a los ya descritos, se han reportado en situaciones de déficit de cinc durante el embarazo. Los experimentos en animales han demostrado que la deficiencia de cinc durante la gestación puede causar teratogénesis, retardo en el desarrollo, parto prolongado, sangramiento excesivo, etc. (12, 13, 17, 32). En el humano, Sever y Emanuel (29) postularon una relación entre el status de cinc en la madre y malformaciones congénitas del sistema nervioso central, basados en la incidencia de estas malformaciones en áreas con déficit endémico de este metal, y ya Damyanov y Dutz (8) habían llamado la atención sobre la frecuencia de anencefalia en Shiraz, Iran, lugar donde se había reportado deficiencia de cinc en humanos (14, 22, 26). Posteriormente esta deficiencia se ha relacionado con espina bífida (2), anencefalia (3, 4) hipertensión inducida por el embarazo (7), hemorragia del postparto, etc. (24, 32).

Mukherjee y col (24), en un estudio longitudinal en mujeres embarazadas, encontraron mayor incidencia de complicaciones feto-maternas en casos en que las madres tenían bajos niveles de cinc y albúmina y altas concentraciones de ácido fólico plasmático y sugirieron que el suplemento de ácido fólico puede inhibir la absorción intestinal de cinc. El propósito de este trabajo, fue conocer los niveles de folato y cinc séricos en embarazadas a término y en suero del cordón umbilical, y si las concentraciones séricas de estos nutrientes guardan alguna relación entre sí y con alteraciones de la madre y del recién nacido.

### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 82 mujeres embarazadas a término, durante el trabajo de parto. Cincuenta y dos pertenecían a la población de medianos recursos económicos y habían recibido regularmente 5 mg diarios de ácido fólico a partir del segundo o tercer mes de la gestación. Las 30 embarazadas restantes pertenecían a una población de pocos recursos económicos que en su mayoría no habían recibido atención prenatal

ni ácido fólico suplementario en forma regular. Las edades de las pacientes estaban comprendidas entre 18 y 38 años, y la edad gestacional entre 38 y 40 semanas, con la excepción de un caso de 43 semanas. Las pacientes fueron escogidas al azar en dos centros obstétricos de la ciudad de Maracaibo; uno privado y el otro público y todas expresaron su conformidad con el estudio, una vez informadas del propósito del mismo.

La sangre venosa materna se extrajo dentro de las 2 horas previas al parto y la del cordón umbilical, inmediatamente después de producido éste. Todas las pacientes se encontraban en ayuno de más de 8 horas.

La toma de la muestra se realizó utilizando jeringas plásticas desechables en el caso de la madre y recogiéndola directamente del lado placentario del cordón. Todas las muestras se colocaron en tubos libres de metales y una vez extraído el suero, se guardaban en alícuotas a  $-60^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

Se diseñó una historia para recoger todas las incidencias del embarazo, el parto (infección, hipertensión inducida por el embarazo, sufrimiento fetal, distocia, hemorragia, etc), y características del recién nacido, tales como índice de Apgar al minuto y a los 5 minutos, peso, talla, circunferencia cefálica y presencia de anomalías congénitas evidentes.

Las determinaciones de folato sérico se realizaron mediante radioinmunoanálisis (Diagnostic Products Co.) y el cinc sérico se midió en un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin-Elmer, modelo 2380), siguiendo metodología previamente descrita (25).

El análisis estadístico consistió del cálculo de la *t* de Student para establecer diferencias de promedios entre los dos grupos, coeficiente de correlación entre ácido fólico y cinc séricos y cálculo de  $X^2$  para estudiar las deficiencias de los parámetros clínicos entre los grupos (33).

## RESULTADOS

Los promedios de las concentraciones séricas de ácido fólico, estuvieron dentro de límites normales en la madre y en el cordón, en las mujeres de bajos y medianos recursos. Sin embargo, como era de esperarse, aquellas pacientes que no recibieron ácido fólico (bajos recursos), tenían concentraciones séricas del nutriente significativamente más bajas que las que lo recibieron, observándose que solo el 27% tenía concentraciones en suero materno mayores de 7  $\mu\text{g/l}$ , mientras que el 69% de las mujeres de medianos recursos tenían valores superiores a esa cifra. El folato del suero del cordón fue significativamente más alto que el del suero materno en ambos grupos ( $p < 0,01$  y  $P < 0,05$  respectivamente) y de nuevo las concentraciones más altas se encontraron en el grupo de medianos recursos (Tabla I). Las concentraciones de cinc fueron esta-

**TABLA I**  
**NIVELES DE ACIDO FOLICO EN SUEROS MATERNO Y DEL CORDON UMBILICAL,**  
**EN PACIENTES DE BAJOS Y MEDIANOS RECURSOS ECONOMICOS**

GRUPO	SUERO MATERNO (ug/l)		SUERO DEL CORDON (ug/l)	
	$\bar{X} \pm E.E.*$ < 3 %	3 - 7 %	$\bar{X} \pm E.E.*$ ug/l	< 12 %      12 - 24 %      > 24 %
Bajos Recursos (n = 30)	20	53	24,4 ± 5,9	20      60      20
Medianos Recursos (n = 52)	8	23	36,2 ± 3,5	8      36      56
P	N.S.	< 0,01 $\chi^2 = 8,9$	N.S.	N.S.      N.S.      < 0,01 $\chi^2 = 10,85$ $\chi^2 = 10,49$

\* Promedio ± Error Estandar

dísticamente similares en los sueros materno y del cordón (Tabla II). El índice de correlación en ácido fólico y cinc maternos fue bajo y sin significación estadística ( $r = 0,29$ ), tampoco se halló correlación entre el ácido fólico materno y el cinc del cordón ( $r = 0,06$ ).

Las complicaciones feto maternas estuvieron principalmente representadas por distocia y hemorragia del postparto e índice de Apgar menor que 7. Las concentraciones séricas de folato y cinc se ordenaron en forma ascendente y las tablas III y IV muestran las principales características de las madres y del recién nacido en los casos en que las primeras tenían el folato sérico en el cuarto superior de toda la población estudiada, en las que tenían el cinc sérico en el cuarto inferior y en el resto de la población. Puede observarse que la única diferencia significativa se encontró en las pacientes en el cuarto inferior de cinc, en la incidencia de hemorragia del post parto ( $p < 0,05$ ) y el índice de Apgar al minuto, que se halló disminuído con mayor frecuencia en los recién nacidos de madres con cinc sérico bajo ( $p < 0,01$ ). En todos los casos el índice de Apgar era normal a los 5 minutos.

Se registró un caso de embarazo prolongado de 43 semanas, y la única malformación congénita detectada fue un caso de fimosis. En ambas situaciones los niveles de ácido fólico y cinc de la madre, eran normales.

En 6 de las madres, coincidió una alta concentración de ácido fólico, con bajos niveles de cinc sérico. Estas seis mujeres se compararon con las pacientes en el cuarto superior de fólico, en el cuarto inferior de cinc y con el resto de las embarazadas y se halló una frecuencia de hemorragia del postparto similar a la encontrada en el resto de la población y el índice de Apgar menor que 7 tuvo una incidencia similar a la del cuarto inferior de cinc y significativamente diferente del grupo en el cuarto superior de ácido fólico ( $p < 0,01$ ).

Las comparaciones anteriores se repitieron utilizando los parámetros del suero del cordón y no se encontraron diferencias significativas en las características de los grupos.

La frecuencia total de complicaciones maternas fue mayor en el grupo que recibió ácido fólico, a pesar de que tenían mejores recursos económicos. De estas complicaciones 34 correspondieron a partos mediante intervención cesárea, en su mayoría practicados por cesárea anterior, 11 del grupo de pocos recursos y 23 del de medianos recursos (Tabla V). No se halló diferencia entre los grupos en relación a características del recién nacido.



TABLA III

CARACTERISTICAS Y COMPLICACIONES MATERNAS EN RELACION  
A NIVELES SERICOS MATERNOS DE ACIDO FOLICO Y CINC

Características y Complicaciones	Cuarto Superior de ácido fólico (n = 21)	Cuarto Inferior de cinc (n = 21)	Resto de la Población estudiada (n = 40)
Edad (años)	28 ± 5	27 ± 51	27 ± 9
RECURSOS ECONOMICOS			
Bajos	1	8	21
Medianos	20	13	19
TIPO DE PARTO			
Vaginal	8	12	33
Cesárea	12	9	13
COMPLICACIONES			
Fórceps	1	1	0
HIPE**	0	0	1
Infección	0	0	1
Hemorragia del post parto	5	10*	6

\* P &lt; 0,05

\*\* Hipertensión inducida por el embarazo

TABLA IV

CARACTERISTICAS DEL RECIEN NACIDO EN RELACION A LOS NIVELES  
SERICOS MATERNOS DE ACIDO FOLICO Y CINC

Características	Cuarto Superior de ácido fólico (n = 21) Nº de casos	Cuarto Inferior de cinc (n = 21) Nº de casos	Resto de la población estudiada (n = 40) Nº de casos
Sufrimiento fetal	2	1	3
Apgar al minuto			
< 4	1	3	0
< 7	0	9*	2
Peso < 2500 g	2	3	1
Circunferencia cefálica < 33 cm	0	1	4
Talla < 48 cm	0	4	6

\* p &lt; 0,001

**TABLA V**  
**FRECUENCIA DE COMPLICACIONES FETO-MATERNAS EN RELACION**  
**CON LA TERAPIA PRENATAL CON ACIDO FOLICO**

Grupo	Complicaciones Obstétricas		Alteraciones en el recién nacido
	Total	Cesáreas	
Bajos Recursos (n = 30)	18	11	12
Medianos Recursos (n = 52)	41	23	20
P	< 0,05	N.S.	N.S.
Total	59	34	32

## DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran en primer lugar que los niveles de cinc sérico de 82 embarazadas a término, de bajos y medianos recursos económicos, de la ciudad de Maracaibo, son similares a los reportados por Estévez y col (11) en mujeres no embarazadas de la misma región y superiores a los reportados en otras latitudes en mujeres que también se encontraban en trabajo de parto. Mientras nuestros resultados señalan un promedio de 86 ug/dl, autores como Zimmerman y col (34), Kunhurt y col (19) en Estados Unidos, Hunt y col (16) en México y Mepsen y Clemmensen (18) en Dinamarca, consiguen valores plasmáticos entre 53 y 65 ug/dl. Las concentraciones de cinc en nuestras pacientes son similares en los dos grupos económicos estudiados, esto contrasta con los hallazgos de Cavdar y col en Turquía (5), quienes estudiaron dos grupos de diferentes condiciones económicas, uno de clase alta o media alta con control del embarazo y administración suplementaria de vitaminas y hierro y otro de clase pobre y mal nutrido y encontraron que las pacientes de clase socioeconómica alta tenían niveles de cinc significativamente más altos que las de clase pobre, sin que hubiera una caída en el tercer trimestre, mientras estas últimas sufrían un descenso marcado al final de la gestación. A pesar de que no se han hecho encuestas acerca de la ingesta diaria de este nutriente en la población de Maracaibo, los resultados sugieren que es adecuada para suplir las necesidades de la madre y el feto en la mayoría de las embarazadas. De acuerdo a los hallazgos de Milne y col (22) en estudios de absorción de cinc en humanos, si la ingesta del metal es adecuada, el suplemento de ácido fólico no debe afectar la absorción. Los niveles de ácido fólico como

era de esperarse fueron superiores en las mujeres que lo recibieron como suplemento durante la gestación, y su concentración en el cordón umbilical aunque fue de similar promedio en los dos grupos y muy superior a la concentración en el suero materno mostró mayor frecuencia de niveles mayores a 24 ug/l en el grupo de medianos recursos. La concentración de cinc del cordón no fué estadísticamente diferente a la del suero materno, lo cual indicaría que aunque hay un balance positivo y acumulativo de cinc en el feto (34), el transporte no es tan activo como el de otros nutrientes como por ejemplo del hierro y del ácido fólico. Contrasta también el porcentaje de déficit de ácido fólico y cinc; mientras el primero fue del 20% en las mujeres de pocos recursos, la deficiencia de cinc fue solo del 4% en las mismas pacientes. Aquí cabe señalar que el folato eritrocitario es un mejor reflejo del ácido fólico tisular, que el folato sérico, por lo que convendría en futuras investigaciones comprobar el primero con las concentraciones de cinc en otros comportamientos como por ejemplo en los leucocitos. Es interesante observar que en las mujeres de medianos recursos que recibieron ácido fólico, el déficit de cinc alcanzó al 10% y que este mismo grupo fue el que presentó mayor número de complicaciones maternas, lo cual aparentemente concordaría con los hallazgos de Milne (22) en lo referente a menor absorción del metal y con los de Mukherjee (24) en lo referente a la relación ácido fólico y complicaciones feto-maternas. En este último caso se debe tomar en cuenta que el 56% de las alteraciones maternas en las mujeres de medianos recursos y el 61% de las de pocos recursos correspondieron a intervenciones cesárea, en su mayoría indicada por cesárea anterior, lo que hace más evidente que las mujeres con más recursos y que recibieron ácido fólico durante el embarazo tenían mayor número de complicaciones obstétricas, lo que confirmaría los resultados de Mukherjee y otros investigadores (24), que a mayor concentración de ácido fólico en la madre mayor incidencia de complicaciones feto-maternas, sin embargo el grupo en el cuarto superior de ácido fólico no tuvo más complicaciones que el resto de la población.

En conclusión, mientras que en un grupo de 82 mujeres embarazadas a término de la región de Maracaibo, no se encontró déficit importante de cinc, si se halló que aquellas con los niveles más bajos de este metal en el suero, presentaban con mayor frecuencia hemorragia del postparto, y niños con bajo índice de Apgar al minuto de nacer. Las concentraciones séricas de ácido fólico aparentemente no influenciaron los anteriores resultados; sin embargo, dado que el déficit de cinc sérico materno aunque no en forma significativa, fue más alto en el grupo de mujeres que recibía ácido fólico, y que existen reportes sobre el efecto inhibitorio que ejerce el ácido fólico en la absorción de cinc, es aconsejable que el primero se indique a dosis adecuadas para suplir las necesidades de la madre y el feto, las cuales consideramos quedarían plenamente satisfechas con 1 mg diario de la vitamina, y evitar la dosificación excesiva que pudiera agravar una hipotética deficiencia de cinc.

Trabajo financiado parcialmente por FUNDACITE, Zulia, CONDES, LUZ y CONICIT.

## ABSTRACT

**Maternal and umbilical cord serum levels of folic acid and zinc. Its relationship with pregnancy outcome.** Diez-Ewald M., (Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela), Fernández G., Bonilla E., Portillo B., Vizcaíno G., Machado H. *Invest Clín* 29(4): 205-217, 1988.— Serum folic acid and zinc concentrations were measured in 82 pregnant women at term and in the umbilical cord of the newborn. Fifty two of the patients received folic acid supplements during gestation and were from a medium economic class, the other 30 women were of low economic class and did not receive vitamins during their pregnancies. It was observed that the levels of zinc in the mother and the umbilical cord were similar in both groups of patients. Serum folic acid means were normal in both socioeconomic groups, however the patients who received supplementary folate showed higher concentrations in maternal and cord sera. There were more cases of post partum hemorrhage ( $p < 0,05$ ) and babies with low Apgar index at 1 minute ( $p < 0,01$ ) in the lowest quartile of maternal zinc. No relationship was found between the highest quartile of folic acid and feto-maternal complications.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AGUERO O., LAYRISSE M.: "Megaloblastic anemia of pregnancy in Venezuela". *Am J Obst Gynec.* 73: 903-908, 1958.
- 2- BERGMAN K.E., MAKOSCH G., TECOS K.H.: Abnormalities of hair zinc concentration in mothers of newborn infants with spina bifida. *Am J Clin Nutr* 33: 2145-2150, 1980.
- 3- BUAMAH P.K., RUSSELL M., BATES G., MILFORD W.A., SKILLEN A.W.: Maternal zinc status: a determination of central nervous system malformation. *Br J Obstet Gynec* 91: 788-790, 1984.
- 4- CAVDAR A.O., ARCASOY A., BAYEN T., HIMMETOGLN O.: Zinc deficiency and anencephaly in Turkey. *Teratology* 22: 141, 1980.
- 5- CAVDAR A.O., BABACAN E., ARCASOY A., ERTEM V.: Effect of nutrition on serum zinc concentration during pregnancy in Turkish women. *Am J Clin Nutr.* 33: 542-544, 1980.
- 6- COOK J.D., ALVARADO J., GUTNISKY A., JAMRA M., LABARDINI J., LAYRISSE M., LINARES J., LORIA A., MASPE V., RESTREPO A., REYNAFARJE C., SANCHEZ-MEDAL I., VELEZ H., VITERI L: Nutritional deficiency and anemia in Latin America: a collaborative study. *Blood* 38: 591-603, 1971.
- 7- CHERRY F.F., BENNETT E.A., BAZZANNO G.S., JOHNSON L.K., FOSMITE G.J., BATSON H.K.: Plasma zinc in hypertension/toxemia and other reproductive variables in adolescent pregnancy. *Am J Clin Nutr* 34: 2367, 1981.

- 8- DAMYANOV I., DUTZ W.: Anencephaly in Shiraz, Iran. *Lancet* 1: 82, 1971.
- 9- DIEZ-EWALD M., MOLINA R.A.: Iron and folic acid deficiency during pregnancy in western Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 21: 587-591, 1972.
- 10- DIEZ-EWALD M., ZAMBRANO DE RODRIGUEZ N., VIZCAINO G.: Niveles de ácido fólico y vitamina B12 en habitantes de la ciudad de Maracaibo. *Invest Clin* 28(2): 75-85, 1987.
- 11- ESTEVEZ J., CHACIN DE BONILLA L., BONILLA E., VILLALOBOS R.: Concentraciones séricas de cobre y cinc en una población suburbana del Edo. Zulia. *Invest Clin* 29(3): 97-109, 1988.
- 12- GOLUB M.S., GERSHWIN M.E., HURLEY L.S., BALY D.L., HENDRICK A.G.: Studies in marginal zinc deficiency in rhesus monkeys I. Influence on pregnant dams. *Am J Clin Nutr* 39: 265-80, 1984.
- 13- GOLUB M.S., GERSWIN M.E., HURLEY L.S., BALY D.L., HENDRICK A.G.: Studies on marginal zinc deprivation in rhesus monkeys: II. Pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 39: 879-887, 1984.
- 14- HALSTED J.A., RONAGHY H.A., ABADI P.: Zinc deficiency in man: the Shiraz experiment. *Am J Med* 53: 277-284, 1972.
- 15- HIBBARD E.D., SMITHEL R.W.: Folic acid metabolism and human embryopathy. *Lancet* I: 1254, 1965.
- 16- HUNT I.F., MURPHY N.J., MARTNER-HEIWES P.M., FARAJI B., SWENDSEID M.E., REYNOLDS R.D., SANCHEZ A., MEJIA A.: Zinc, Vitamin B-6, and other nutrients in pregnant women attending prenatal clinics in Mexico. *Am J Clin Nutr* 46: 563-569, 1987.
- 17- HURLEY L.S.: Teratogenic aspects of manganese, zinc and copper nutrition. *Physiol Rev* 61: 244-295, 1981.
- 18- JEPSEN L.V., CLEMMENSEN K.: Zinc in danish women during late normal pregnancy and pregnancies with intrauterine growth retardation. *Acta Obstet Gynecol. Scand* 66: 401-405, 1987.
- 19- KUHNERT P.M., KUHNERT B.R., ERHARD P., BRASHEAR W.T., GROHWARGO S.L., WEBSTER S.: The effect of smoking on placental and fetal zinc status. *Am J Obstet Gynec* 156: 1241-1246, 1987.
- 20- LAWRENCE K.M., JAMES N., MILLER M.H., TENNANT G.B., CAMPBELL H.: Double-blind randomised controlled trial of folate treatment before conception to prevent recurrence of neural-tube defects. *Lancet* I: 1509-1511, 1981.

- 21- LAYRISSE M., AGUERO O., BLUMENFELD N., WALLIS H., DUGARTE I., OJEDA A.: Megaloblastic anemia of pregnancy. Characteristics of pure megaloblastic anemia associated with iron deficiency. *Blood* 15: 724-740, 1960.
- 22- MILNE D.B., CANFIELD W.K., MAHOLKO J.R., SANDSTEAD H.H.: Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *Am J Clin Nutr* 39: 535-539, 1984.
- 23- MOLINA R.A., DIEZ-EWALD M., FERNANDEZ G., VELAZQUEZ N.: Nutritional anaemia during pregnancy. A comparative study of two socio-economic classes. *J Obstet Gynecol Brit Comm* 81(6): 454-458, ~~1984~~. 1979
- 24- MUKHERJEE M.D., SANDSTEAD H.H., RATNAPORKHI M.V., JOHNSON L.K., MILNE D.B., STELLING H.P.: Maternal zinc, iron folic acid, and protein nutriture and outcome of human pregnancy. *Am J Clin Nutr* 40: 496-507, 1984.
- 25- PAZ DE MONCADA N., VILLASMIL J., BONILLA E.: Distribución del cobre sérico en una población suburbana de Maracaibo (Venezuela). *Invest Clín* 22(2): 83-94, 1981.
- 26- PRASAD A.S., SCHULERT A.R., MIALE A., FARID Z., SANDSTEAD H.H.: Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. *J Lab Clin Med* 61: 537-542, 1953.
- 27- PRITCHARD J.A., WHALLEY P.J., SCOTT D.E.: The influence of maternal folate and iron deficiencies on intrauterine life. *Am J Obstet Gynec* 104: 388-396, 1969.
- 28- SCOTT D.E., WHALLEY P.J., PRITCHARD J.A.: Maternal folate deficiency and pregnancy wastage II. Fetal malformation. *Obstet Gynecol* 36: 26-28, 1970.
- 29- SEVER L.E., EMANUAL I.: Is there a connection between maternal zinc deficiency and congenital malformation of the central nervous system in man. *Teratology* 7: 117-118, 1973.
- 30- SMITHEL'S R.W., SHEPPARD S., SCHORAH C.J.: Vitamin deficiencies and neural tube defects. *Arch Dis Child* 51: 944-950, 1976.
- 31- SMITHEL'S R.W., SHEPPARD S., SCHORAH C.J., SELLER M.J., MEVIN N.C., HARRIS R., READ A.P., FIELDING D.W.: Possible prevention of neural tube-defects by periconceptual vitamin supplementation. *Lancet* I: 339-340, 1980.
- 32- SULTAN M.H., JENKINS D.M.: Maternal and fetal plasma zinc concentration and fetal abnormality. *Br J Obstet Gynecol* 89: 56, 1982.

- 33- ZAR J.H.: Biostatistical Analysis p. 45-108, 236. Prentice-Hall, Inc. Englewoods Cliffs, N.J. 1974.
- 34- ZIMMERMAN A.W., DUNHAM B.S., NOCHIMSON D.J., KAPLAN B.M., CLIVE J.M., KUNKEL S.L.: Zinc transport in pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 149: 523-528, 1984.
-