

Valor pronóstico de la ferritina sérica materna en el crecimiento intrauterino retardado

J. Uberos

Departamento de Pediatría, Hospital "San Cecilio". Universidad de Granada
(España)

Address for correspondence and offprint request: Dr. José Uberos. Dpto. Pediatría. Hospital Clínico San Cecilio. Granada (Spain). eMail: joseuberos@telefonica.net

Originales

RESUMEN

La ferritina como estimador del hierro de depósito en el organismo puede ser en la gestante un estimador útil de la demanda de hierro por parte del feto. Durante la gestación la ferritina sérica desciende en un 50% sobre sus valores normales, circunstancia debida a la hemodilución normal en la gestante y a su extracción por la unidad fetoplacentaria.

El objetivo del presente estudio fue analizar las concentraciones sanguíneas de ferritina en una cohorte de gestantes y considerar si la variabilidad de este parámetro bioquímico puede guardar relación con el retraso del crecimiento fetal.

Se consideró como único criterio de inclusión tener una edad gestacional comprendida entre 29 y 34 semanas. Se determinaron en sangre de la gestante hematocritometría -Coulter electronics-, glucosa, urea, colesterol, triglicéridos, fosfatasa alcalina, ferritina, Dímero D y fibrinógeno.

Las gestantes con crecimiento intrauterino retrasado (CIR) muestran unos valores medios de ferritina 3,73 ng/ml mayores que los observados en gestantes sin CIR (CI 95%: 0,4 a 7,06

ng/ml). La razón de riesgos de las gestantes a las 38 semanas de edad gestacional con ferritina mayor de 13 ng/ml es de 4.5, es decir, las gestantes con ferritina sanguínea mayor de 13 ng/ml y parto en la semana 38 tienen un riesgo de recién nacido de bajo peso 4.5 veces mayor que las gestantes con ferritina sanguínea inferior a los niveles considerados y parto en la semana 38 de gestación.

El CIR altera la normal transferencia de ferritina de la gestante hacia la unidad placentaria, resultando en un aumento de los valores de ferritina plasmáticos. Creemos que la monitorización de los valores de ferritina puede ser un dato complementario útil en el seguimiento y valoración de la gestación con CIR.

Palabras clave: Ferritina, crecimiento intrauterino retardado.

INTRODUCTION

La ferritina es una proteína con funciones de reserva de hierro en los mamíferos que está localizada fundamentalmente en el hígado, bazo, médula ósea y en menor cantidad en la mayoría de los tejidos. Tiene un peso molecular aproximado de 450.000 daltons y es una proteína multimérica que consta de 2 subunidades que forman una capa que rodea un núcleo compuesto de óxido y fosfato de hierro. Las subunidades son de dos tipos H y L, difieren tanto en su estructura primaria como en su punto isoeléctrico y propiedades inmunógenas. La ferritina en el hígado y en el bazo esta compuesta casi exclusivamente por subunidades H (más ácidas) en tanto la ferritina que circula normalmente en suero esta compuesta casi completamente por subunidades L y contiene niveles relativamente bajos de hierro en comparación con las ferritinas tisulares. Las concentraciones de ferritina en suero tienen una buena correlación con la reserva de hierro total del organismo lo que convierte a esta proteína en un estimador fiable de las reservas férricas del organismo. Durante la gestación la ferritina sérica desciende en un 50% sobre sus valores basales, a este hecho contribuyen por un lado la hemodilución propia de la gestación y la extracción de hierro por parte del feto (1). La utilidad de la ferroterapia durante la gestación continua siendo objeto de controversia, existiendo trabajos que demuestran efectos beneficiosos para la gestante consistentes en menor porcentaje de anemias postconcepcionales (2, 3, 4) o para el feto, demostrando niveles de ferritina mas elevados en los recién nacidos de madres

tratadas con hierro durante la gestación (5). Sin embargo, otros estudios demuestran la escasa correlación entre los niveles de ferritina sanguíneos en el segundo trimestre de gestación y los niveles próximos al parto (6, 7), del mismo modo, la rápida extracción de hierro del suero materno por parte de la unidad feto-placentaria explica que los niveles de hemoglobina maternos sean malos indicadores del estado de deplección de los depósitos férricos maternos (8).

El objetivo del presente estudio fue analizar las concentraciones sanguíneas de ferritina en una cohorte de gestantes y considerar si la variabilidad de este parámetro bioquímico puede guardar relación con el retraso del crecimiento fetal. De confirmarse esta hipótesis, estimar el riesgo de crecimiento intrauterino retardado e índices de impacto asociados a cada nivel sanguíneo de ferritina.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudiaron mujeres gestantes atendidas en la consulta de Obstetricia del Hospital Santa Ana de Motril (Granada, Spain). Se consideró como único criterio de inclusión tener una edad gestacional comprendida entre 29 y 34 semanas. Los criterios de exclusión considerados fueron los siguientes: 1) enfermedad crónica de la madre (nefropatía primaria o secundaria, HTA con arteriopatía o nefropatía, cardiopatía isquémica, tumores malignos, colagenosis, anemias crónicas), 2) malformaciones congénitas evidenciables en el recién nacido. Para el calculo del tamaño muestral asumimos una prevalencia del CIR en nuestra población de un 10%, ajustamos el error α en un 5% y asumimos un error β del 70%, deseamos detectar una diferencia en la prevalencia de CIR de al menos un 10% en relación con los mayores niveles de ferritina sérica de

las gestantes. De acuerdo con estos datos precisamos al menos 250 gestantes para detectar estas diferencias. Finalmente se consigue reclutar a 226 gestantes en el estudio lo que otorga una potencia a nuestro estudio del 66%.

Se solicita en la primera entrevista el consentimiento informado de la gestante antes de procederse a la inclusión en el estudio, con posterioridad se determina tensión arterial con la paciente acostada (anotándose la media de 2 determinaciones), peso, talla y se extrae una analítica sanguínea, con la paciente en ayunas, que incluye: recuento de hematíes, hemoglobina y hematocrito -Coulter electronics-, glucosa, urea, colesterol, triglicéridos, fosfatasa alcalina -métodos colorimétricos- ferritina -fluorometric enzyme immunoassay, Baxter diagnostics- Dímero D - Minutex, Dímero D- y fibrinógeno - Electra 1000 Coagulometer, Baxter-.

De forma sistemática se realiza tratamiento con sulfato ferroso (40 mg/día) desde la semana 20 de gestación en todas aquellas gestantes con hemoglobina inferior a 11 g/dl. Tras el parto se recogen los datos de somatometría del recién nacido y exploración física neonatal.

Para el análisis estadístico realizamos un test de normalidad de Kolmogorov, t-test, estudio de correlación de Pearson, estudio de regresión lineal y logística, análisis de supervivencia (Kaplan-Meier y actuarial) y estudio de regresión de riesgos proporcionales (Cox).

RESULTADOS

De las 226 gestantes incluidas en el estudio, 19 gestantes (8,4%) tuvieron un hijo con crecimiento intrauterino retardado y 201 (88,1%) tuvieron un recién nacido de peso normal para su edad gestacional. Se registraron 4 casos perdidos (2.7%) durante el periodo de seguimiento y 2 recién nacidos se excluyeron al presentar malformaciones consistentes en hidronefrosis congénita y labio leporino respectivamente.

Observamos anemia ($Hb < 11$ g/dl) en el 29.9% de las gestantes sin crecimiento intrauterino retardado (CIR) y en el 5.6% de las que presentaron CIR (χ^2 : 4.86; $p=0.02$); existiendo un porcentaje mayor de gestantes tratadas con sulfato ferroso en el grupo sin CIR, donde a pesar de este hecho los niveles de ferritina fueron menores que los observados en las gestantes con CIR.

Las gestantes con CIR muestran unos valores medios de ferritina 3,73 ng/ml mayores que los observados en gestantes sin CIR (CI 95%: 0,4 a 7,06 ng/ml). Sin embargo, otros factores que clásicamente repercuten sobre el desarrollo de CIR como la edad materna, paridad o consumo de tabaco no difieren en nuestra muestra entre gestantes con y sin CIR. Los valores de ferritina sanguíneos no difieren significativamente entre las gestantes fumadoras y no fumadoras, observamos una diferencia de medias de -1.79 (CI 95%: -4.19 a 0.60). El consumo de tabaco se comporta como una variable confusora, ya que en el análisis de regresión entre ferritina sanguínea (variable dependiente)

Tabla 1. Valores medios (DS) de las variables estudiadas en gestantes con y sin crecimiento intrauterino retardado (CIR).

	No C.I.R.	C.I.R.	
Edad Madre (años)	28,2 (5,3) IC 95%: 27,4-28,9	26,1 (5,9) IC 95%: 22,7-28,2	NS
Hematíes (10 ⁶)	3,90 (0,33) IC 95%: 3,85-3,95	4,13 (0,25) IC 95%: 4,01-4,26	***
Hemoglobina (g/dl)	11,4 (0,88) IC 95%: 11,3-11,5	12,3 (1,04) IC 95%: 11,8-12,8	***
Hematocrito (%)	34,4 (2,4) IC 95%: 34,1-34,8	36,8 (2,5) IC 95%: 35,1-38,1	***
Fosfatasa alcalina (U/l)	235,6 (68,1) IC 95%: 225,6-245,6	302,5 (79,5) IC 95%: 263,0-342,1	***
Ferritina (ng/ml)	12,2 (6,3) IC 95%: 11,3-13,1	15,9 (7,9) IC 95%: 11,7-20,1	**
Tensión arterial sistólica (mmHg)	107,4 (12,3) IC 95%: 105,8-109,6	110,9 (13,4) IC 95%: 104,2-117,6	NS
Tensión arterial diastólica (mmHg)	66,1 (7,3) IC 95%: 65,2-67,3	68,8 (9,9) IC 95%: 63,9-73,8	NS
Glucemia (mg/dl)	83,5 (6,8) IC 95%: 82,5-84,6	81,7 (6,4) IC 95%: 78,5-84,9	NS
Dímero D (>250 µg/ml)	39/154	8/16	*
Fibrinógeno (mg/dl)	543,4 (101,6) IC 95%: 528,5-558,3	545,6 (133,9) IC 95%: 479-612,2	NS

NS: no diferencias estadísticas significativas. * p<0.05; ** p=0.02.

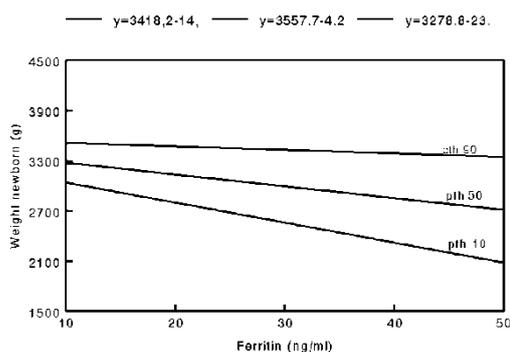


Figura 1. Regresión lineal simple entre peso del recién nacido y ferritina materna sanguínea.

y existencia o no de CIR, ajustando por consumo de tabaco observamos una

disminución del error estándar y un estrechamiento del intervalo de confianza del coeficiente β (β :3.95; EE:1.68); es decir en las gestantes con CIR la ferritina es de media 3.95 ng/ml más elevada que en las gestantes sin CIR (CI 95%: 0.63 a 7.29 ng/ml). Recalculamos la potencia ($1-\beta$) de nuestro estudio y obtenemos un 65,2% de probabilidades de detectar estas diferencias para un error α del 95%.

Los valores medios de hemoglobina, número de hematíes y hematocrito no difieren entre las gestantes con y sin CIR como puede observarse en la Tabla 1. Observamos una correlación estadísticamente significativa entre peso del recién nacido/hematocrito materno

Tabla 2. Tabla de vida para el bajo peso al nacer en gestantes con ferritina sanguínea inferior a 13 ng/ml.

Tiempo (días)	Nº Afectos en el intervalo	Nº expuestos a riesgo	Probabilidad acumulada de supervivencia (ES)	Probabilidad de densidad (SE)	Razón de riesgos (SE)
0	0	131	1 (0)	0 (0)	0 (0)
7	1	130.5	1 (0)	0 (0)	0 (0)
14	0	130	1 (0)	0 (0)	0 (0)
21	2	129	1 (0)	0 (0)	0 (0)
28	12	122	0.9918 (0.0082)	0.0012 (0.0012)	0.0012 (0.0012)
35	9	110	0.9739 (0.0149)	0.0026 (0.0018)	0.0026 (0.0018)
42	26	91	0.9524 (0.0209)	0.0031 (0.0021)	0.0032 (0.0022)
49	32	60	0.9366 (0.0259)	0.0023 (0.0022)	0.0024 (0.0024)
56	23	31.5	0.9068 (0.0385)	0.0042 (0.0042)	0.0046 (0.0046)
63+	19	9.5	0.9068 (0.0385)		

($r=-0,22$; $p<0,001$) y entre peso del recién nacido/ferritina materna ($r=-0,17$; $p<0,01$).

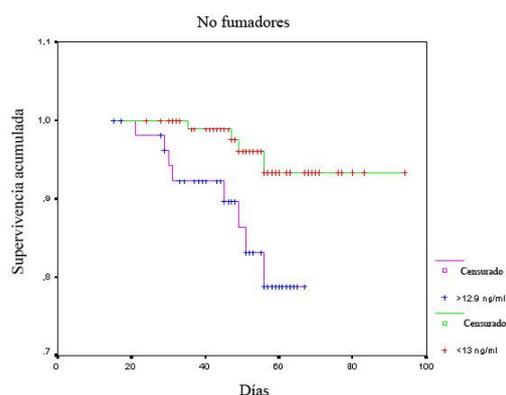


Figura 2. Análisis de supervivencia para el bajo peso al nacer en gestantes no fumadoras y ferritina sérica mayor o menor de 13 ng/ml.

Los niveles de ferritina se asocian de forma significativa con los niveles observados de fosfatasa alcalina inespecífica, obtenemos un coeficiente β en la regresión lineal de 0.015 (CI 95%: 0.003 a 0.025) ($t: 0.17$; $p=0.019$).

Si efectuamos un análisis de regresión entre peso del recién nacido (variable dependiente) y ferritina sanguínea obtenemos un modelo según el cual la ferritina podría explicar el 3,3 % de la variabilidad del peso del recién nacido ($r^2: 0,033$); $\beta: -14$, de forma que por cada ng/ml de incremento de la ferritina sanguínea el peso del recién nacido es de media 14 g. menor (CI 95%: -4,2 a -23,9 g), según se muestra en la figura 1. Hemos efectuado un análisis de regresión entre el hematocrito materno y la ferritina sérica,

Tabla 3. Tabla de vida para el bajo peso al nacer en gestantes con ferritina sanguínea mayor o igual a 13 ng/ml.

Tiempo (días)	Número Afectos en el intervalo	Número expuestos en riesgo	Probabilidad acumulada de supervivencia (ES)	Probabilidad de densidad (SE)	Hazard Rate (SE)
0	0	63	1 (0)	0 (0)	0 (0)
7	0	63	1 (0)	0 (0)	0 (0)
14	3	61.5	1 (0)	0 (0)	0 (0)
21	0	60	0.9833 (0)	0.0024 (0)	0.0024 (0.0024)
28	4	57	0.9143 (0.0165)	0.0099 (0.0048)	0.0104 (0.0052)
35	7	47.5	0.9143 (0.0366)	0.0000 (0)	0.0000 (0)
42	12	38	0.8903 (0.0366)	0.0034 (0.0034)	0.0038 (0.0038)
49	7	27.5	0.8255 (0.0429)	0.0092 (0.0063)	0.0108 (0.0076)
56	14	15	0.7705 (0.0594)	0.0079 (0.0076)	0.0099 (0.0098)
63+	7	3.5	0.7705 (0.0768)		

obteniendo un análisis de varianza para la regresión con un valor F: 3,69 (p=0.056), lo que puede indicar que las modificaciones observadas para la ferritina no son explicables sólo por las modificaciones descritas en el valor hematocrito durante la gestación o que el ritmo de extracción de hierro de la sangre materna por la unidad fetoplacentaria es lo suficientemente acelerado como para no traducirse en modificaciones inmediatas de los valores de hematocrito o hemoglobina maternos.

Los productos de degradación del fibrinógeno evaluados en nuestro estudio como dímero D son indicativos de la actividad fibrinolítica del plasma. En nuestra muestra, se detectan valores elevados (>250 ng/ml) con más frecuencia

en las mujeres con CIR de lo que sería esperable por el azar (χ^2 :4,41; p<0.05), ello a pesar de que las concentraciones de fibrinógeno no son significativamente mayores en las gestantes con CIR (Tabla 1).

Uno de los problemas fundamentales de nuestro estudio radica en que aunque las gestantes fueron incluidas todas ellas próximas a la 31 semana de edad gestacional (CI 95%: 31.3 a 31.6), el momento del parto no es predecible y cada gestante permaneció en el estudio tiempos diferentes, con la indudable repercusión de este hecho sobre el peso al nacimiento. Por ello, como último paso en nuestro análisis se realiza un estudio de supervivencia para el evento bajo peso al nacer, los resultados de dicho análisis se muestran en las Tablas 2 y 3.

Consideramos dos grupos de gestantes según que tengan un valor de ferritina en sangre mayor o igual a 13 ng/ml (límite superior en el CI 95% para los valores de ferritina en gestantes sin CIR). La supervivencia acumulada de las gestantes con ferritina mayor de 13 ng/ml es menor que la observada en gestantes con ferritina menor de este nivel; observamos diferencias significativas en la comparación de las curvas de supervivencia de las gestantes con ambos niveles de ferritina. (χ^2 : 5.36; p=0.02) (figura 2). Estratificando por el consumo de tabaco observamos en las gestantes no fumadoras (figura 2) diferencias significativas entre las curvas de supervivencia en gestantes con niveles de ferritina sanguínea mayores o menores de 13 ng/ml (χ^2 :7.22; p=0.007); sin embargo en las gestantes fumadoras ambas curvas de supervivencia se superponen (figura 2) (χ^2 :0.30; p=0.58); este es un hecho más que apoya la observación de que el consumo de tabaco es una variable modificadora de efecto en la asociación objeto de nuestro estudio (ferritina sanguínea de la gestante *versus* peso al nacimiento).

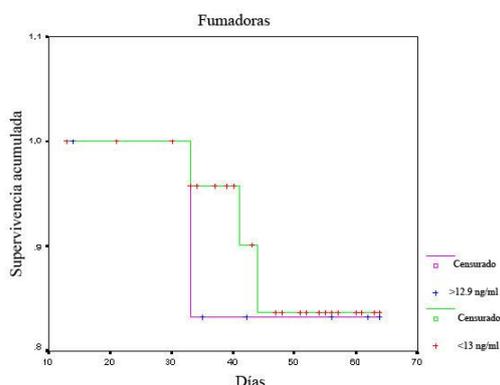


Figura 3. Análisis de supervivencia para el bajo peso al nacer en gestantes fumadoras y ferritina sérica mayor o menor de 13 ng/ml.

Si evaluamos la función de riesgo (hazard rate) mostrada en las tablas 2 y 3, que representa en nuestro ensayo la probabilidad condicionada por día de cada gestante de tener un recién nacido con bajo peso observamos como a partir de aproximadamente 28 días de ser incluidas en nuestro estudio, las gestantes tienen una función de riesgo mayor cuando la concentración de ferritina sanguínea es más alta. Así por ejemplo, la razón de riesgos (Hazard ratio) de las gestantes a las 38 semanas de edad gestacional y ferritina mayor de 13 ng/ml es de 4.5 (HR = 0.0108/0.0024 = 4.5), es decir, las gestantes con ferritina sanguínea mayor de 13 ng/ml y parto en la semana 38 tienen un riesgo de recién nacido de bajo peso 4.5 veces mayor que las gestantes con ferritina sanguínea inferior a los niveles considerados y parto en la semana 38 de gestación.

Por último, para calcular la tasa de riesgo de bajo peso al nacer, asociada a los valores de ferritina sanguínea durante la gestación hemos efectuado una regresión de Cox para la concentración de ferritina sanguínea en ng/ml, ajustando la regresión por la variable consumo de tabaco (0: no fuma, 1: fuma). Hemos obtenido en coeficiente β : 0.08 (SE:0.029) y e^{β} : 1.09 (CI 95%:1.03 - 1.15). El índice pronóstico centrado (PI) sería:

$$PI = 0.08 \times \text{Ferritina (ng/ml)} + 0.89 \times \text{tabaco}$$

De esta forma, el PI_a de una gestante con ferritina sanguínea de 20 ng/ml y no fumadora será de 1.6, en tanto en PI_b de una gestante con ferritina sanguínea de 10 ng/ml y no fumadora es de 0.8. Puesto que el riesgo relativo (RR) de CIR podemos estimarlo en base a:

$$RR = e^{(PI_a - PI_b)}$$

Podemos estimar que el RR de parto con CIR en la gestante "a" es 2.2 veces mayor que en las gestante "b".

DISCUSIÓN

Durante la gestación se incrementan las demandas de hierro de 0.8 a 7.5 mg/día, razón por la que se recomienda la suplementación con hierro a todas las gestantes a partir de la semana 20 de gestación (9); de acuerdo con estas recomendaciones, todas las mujeres incluidas en nuestro estudio recibieron 40 mg/día de hierro si la hemoglobina era inferior a 11 mg/dl. Estas consideraciones terapéuticas se hicieron a partir de la semana 20 de gestación antes de conocer si se desarrollaría o no CIR; pensamos que el hecho de tratar o no con hierro a las gestantes no introduce ningún factor diferencial en los niveles de ferritina sérica de ambos grupos, al ser una actitud constante el tratamiento con sulfato ferroso (40 mg/día) si la hemoglobina descendía por debajo de 11 g/dl independientemente de la que mujer presentase CIR identificado clínicamente. Este hecho, al igual que otros autores (6, 7), nos hace cuestionar la utilidad de la profilaxis con hierro durante la gestación para prevenir el CIR

Las consecuencias para el recién nacido de una suplementación de hierro durante la gestación se resumen en una menor incidencia de anemia durante los primeros meses de vida y puntuaciones de Apgar más altas (2). La ferritina puede disminuir como resultado de la hemodilución que ocurre durante la gestación; a pesar de ello, las concentraciones medias de ferritina que se sitúan por debajo de 15 ng/dl son indicativas de ferropenia en cualquier periodo de la gestación en opinión de algunos autores (10). Llama la atención que

la mayoría de las gestantes sin CIR de nuestra muestra se incluyen en el rango ferropénico y las gestantes con CIR presentan valores medios de ferritina superiores a los 15 ng/ml; sin embargo, las concentraciones de hemoglobina se sitúan en un rango de normalidad en los dos grupos de gestantes. Diversos estudios (5), indican que el feto extrae hierro de la madre en cantidades proporcionales a los niveles disponibles en sangre materna. Según se desprende de nuestros resultados, las gestantes con CIR presentan hemoglobina, recuento de hematíes y ferritina superiores a los valores observados en las gestantes sin CIR, debemos por tanto suponer que el paso de hierro de la madre hacia el feto es mayor en los fetos con crecimiento intrauterino no retrasado, similares hallazgos han sido referidos por Gaspar et al. (11). Por otro lado, otros interesantes estudios encuentran una relación inversa entre ferritina sérica y volumen placentario medido por ecografía en la semana 18 de gestación (12), sin que modifiquen esta relación otras variables como paridad, edad de la gestante o consumo de tabaco; según estos hallazgos las concentraciones de ferritina sérica más altas se relacionarían con placentas más pequeñas (13). Todos estos hechos parecen indicar que las concentraciones de ferritina en sangre se modifican en función de la extracción de hierro materno por la unidad feto-placentaria, de forma que los niveles de ferritina más elevados en sangre de gestantes con CIR se deben a un defecto de la extracción de este elemento por la placenta. Dado que la alteración en la extracción de hierro por parte de la placenta antecede al desarrollo de un CIR clínicamente constatado, pensamos que la

monitorización de los niveles de ferritina sanguínea materna puede ser un estimador válido de sospecha de CIR al inicio del tercer trimestre de gestación.

Rosen et al. (14) describen niveles más bajos de isoferritina oncofetal o placentaria en gestantes con CIR, este hallazgo unido al nuestro de niveles de isoferritina sérica por encima de la media de las gestantes con fetos de crecimiento normal, podría interpretarse como una interrupción en el paso de hierro desde la ferritina sérica materna al feto como resultado de una actividad trofoblástica alterada (15). La isoferritina oncofetal o placentaria tiene características ácidas y predominio de subunidades H, a diferencia de la isoferritina sérica de pH básico y predominio de subunidades L. Diversos estudios (14), han puesto de manifiesto un efecto inhibitorio de la ferritina placentaria y oncofetal sobre la hematopoyesis y función de los linfocitos T. Las alteraciones de la concentración de ferritina placentaria en gestantes con CIR no se relaciona con niveles alterados de gonadotropina coriónica, estradiol o progesterona (16).

En relación al consumo de tabaco pensamos que la ausencia de asociación con CIR puede deberse al pequeño número de mujeres gestantes fumadoras de nuestra muestra, lo que dificulta evaluar esta variable con una potencia estadística adecuada. La fosfatasa alcalina inespecífica aumenta durante la gestación hasta valores aproximadamente del doble de los observados en mujeres fuera del periodo gestacional, gran parte de este incremento se justifica por el aumento de las isoenzimas placentarias de fosfatasa alcalina aunque en las semanas 31-32 cobran gran importancia las isoenzimas óseas (17). Meyer et al. (18) encuentran que los niveles de fosfatasa alcalina

elevados 2 veces sobre los niveles medios en gestantes se asocian a un riesgo de parto prematuro de 2.1 a 3.9 veces mayor. Según nuestros datos, el incremento de fosfatasa alcalina en gestantes con CIR también se relaciona con un defecto en la extracción de hierro del plasma materno por parte de la unidad feto-placentaria, lo que se traduciría en niveles de ferritina mayores a los observados en gestantes con fetos de mayor tamaño. Según nuestros datos el incremento de fosfatasa alcalina inespecífica en 1 unidad se asocia a un incremento medio de la ferritina sanguínea de 0.015 ng/ml. Esta observación permite implicar a la placenta en las alteraciones de los niveles de ferritina descritas en gestantes con CIR.

En base a nuestros resultados podemos concluir que la monitorización de los niveles de ferritina sanguínea durante la gestación es un estimador útil de la actividad trofoblástica placentaria, resultando de sus alteraciones una menor transferencia de micronutrientes desde la madre al feto, con el consiguiente desarrollo de CIR.

REFERENCIAS

1. Van Buul E. J., Steegers E. A., Jongsma H. W., Eskes T. K., Thomas C. M., and Hein P. R. Haematological and biochemical profile of uncomplicated pregnancy in nulliparous women; a longitudinal study. *Neth.J.Med.* 46 (2):73-85, 1995.
2. Preziosi P, Prual A, Galan P, Daouda H, Boureima H, Hercberg S. Effect of iron supplementation on the iron status of pregnant women: consequences for newborns. *Am J Clin Nutr* 1997;66:1178-1182.
3. Viteri FE. Iron supplementation for the control of iron deficiency in populations at risk. *Nutr Rev* 1997;55:195-209.

4. Williams MD, Wheby MS. Anemia in pregnancy. *Med Clin North Am* 1992;76:631-647.
5. Singla PN, Tyagi M, Shankar R, Dash D, Kumar A. Fetal iron status in maternal anemia. *Acta Paediatr* 1996;85:1327-1330.
6. Turkyay S, Tanzer F, Gultekin A, Bakici MZ. The influence of maternal iron deficiency anaemia on the haemoglobin concentration of the infant. *J Trop Pediatr* 1995;41:369-371.
7. Milman N, Graudal N, Agger AO. Iron status markers during pregnancy. No relationship between levels at the beginning of the second trimester, prior to delivery and post partum. *J Intern Med* 1995;237:261-267.
8. Goonewardene M, Seekkuge J, Liyanage C. Iron stores and its correlation to haemoglobin levels in pregnant women attending an antenatal clinic. *Ceylon Med J* 1995;40:67-69.
9. Milman N, Bergholt T, Eriksen L, Ahring K, Graudal NA. Iron requirements and iron balance during pregnancy. Is iron supplementation needed for pregnant women?. *Ugeskr Laeger* 1997;159:6057-6062.
10. Haram K, Hervig T, Ulvik RJ. Hemoglobin, iron deficiency and anemia in pregnant women. Diagnostic aspects. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1997;117:962-966.
11. M. J. Gaspar, R. M. Ortega, and O. Moreiras. Relationship between iron status in pregnant women and their newborn babies. Investigation in a Spanish population. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993. Oct. 72:534-537
12. Howe DT, Wheeler T, Osmond C. The influence of maternal haemoglobin and ferritin on mid-pregnancy placental volume. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:213-219.
13. Rosen AC, Hafner E, Auerbach L, Rosen HR, Schuchter K, Huber K, Ausch C, Moroz C. Placental isoferritin in pregnancies with small-for-gestational age fetuses. *Prenat Diagn* 1996;16:641-646.
14. Rosen HR. Placental isoferritin-associated p43 in pregnancy and breast cancer. Minireview. *Neoplasma* 1996;43:357-362.
15. Maymon R, Bar J, Halperin R, Bukovsky I, Moroz C. Placental isoferritin patterns during first-trimester intrauterine gestation. *Gynecol Obstet Invest* 1996;42:271-273.
16. Maymon R, Zitzer P, Manor Y, Bukovsky I, Moroz C. Placental isoferritin patterns during normal first trimester and tubal gestations. *Hum Reprod* 1995 Sep 1998;10:2445-2447.
17. Okesina, D. Donaldson, P. T. Lascelles, and P. Morris. Effect of gestational age on levels of serum alkaline phosphatase isoenzymes in healthy pregnant women. *Int J Gynaecol Obstet* 48 (1):25-29, 1995.
18. R. E. Meyer, S. J. Thompson, C. L. Addy, C. Z. Garrison, and R. G. Best. Maternal serum placental alkaline phosphatase level and risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1995. Jul. 173:181-186