

EFFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE INDICADORES MATERNOS DE OBESIDAD, INFLAMACIÓN Y ANEMIA

CARLOS ARMANDO ECHANDÍA, MSc.¹, CECILIA AGUILAR DE PLATA, MSc.¹,
ALEJANDRA ARBELÁEZ Est. PhD.¹, ISABELLA ECHEVERRY, PhD.¹, CRISTINA ARAUJO, ND¹,
BLANCA SALAZAR, MSc.¹, GUILLERMO ORTEGA, MSc.¹, ELIÉCER JIMÉNEZ-CHARRIS, MSc.¹,
JULIO CESAR MONTOYA, PhD.¹, ADALBERTO SÁNCHEZ, PhD.¹, ANDRÉS CASTILLO, PhD¹

RESUMEN

Introducción: El estrés oxidativo es un factor central en la programación de las enfermedades crónicas no transmisibles durante la gestación, lo que ha llevado a considerar la implementación de terapias antioxidantes con vitaminas y oligoelementos durante el embarazo, como una estrategia para prevenirlas. **Objetivo:** Evaluar el efecto de la complementación con micronutrientes antioxidantes durante la gestación, sobre la antropometría, niveles de hemoglobina en sangre y proteína C-reactiva en plasma de mujeres primigestantes. **Materiales y métodos:** En un ensayo clínico controlado, se captaron mujeres primigestantes sanas, entre las 16 y 20 semanas de gestación, aleatorizadas en dos grupos: Grupo control (I): placebo, Grupo de intervención (II): complementación con micronutrientes antioxidantes. **Resultados:** Se evaluaron 74 madres, 36 con la intervención y 38 en el grupo control. La media para la edad fue 20,4±3,4 años y la edad gestacional fue 14,4±2,1 mm de Hg. Luego de la complementación con micronutrientes antioxidantes, las participantes presentaban una disminución en los niveles de proteína C reactiva y ningún cambio en los niveles de hemoglobina entre las semanas 20 a la 32 de embarazo. No se encontró diferencias en el Índice de masa corporal. **Conclusión:** Hay un ligero indicio del efecto protector para el desarrollo de inflamación y anemia materna mediante el uso de fórmulas con micronutrientes antioxidantes durante la gestación.

Palabras claves: *Micronutrientes antioxidantes, Embarazo, Proteína C-reactiva, Anemia, Inflamación*

SUMMARY

Introduction: Oxidative stress is a central factor in the programming of chronic noncommunicable diseases during gestation, which has led to the investigation of antioxidant therapy with vitamins and trace elements during pregnancy as a preventative strategy. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the effects of antioxidant micronutrient complementation during pregnancy on anthropometry and levels of hemoglobin in blood and protein C reactive in plasma from nulliparous pregnant women. **Materials and methods:** We carried out a simple controlled trial in nulliparous pregnant women, between 16 and 20 weeks of pregnancy, randomized to two groups. Control group (I): placebo; Intervention group (II): complemented with antioxidant micronutrients during pregnancy. **Results:** Seventy-four women completed the study. The mean age was 20±3 years and gestational age was 39±1 weeks. After the intervention with antioxidant micronutrients, the participants had a decrease in the protein C-reactive levels and no change in hemoglobin levels between 20 to 32 weeks of pregnancy. **Conclusions:** There was a slight indication of a protective effect of an antioxidant micronutrient formula taken during pregnancy against the development of maternal inflammation and anemia.

Key words: *Antioxidant micronutrients, Pregnancy, Reactive C-protein, Anemia, Inflammation disorders, School children, Colombia*

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Crónicas no Transmisibles (ECNT), representan la principal causa de morbi-mortalidad y discapacidad prematura en el mundo¹. Cada vez es más frecuente la aparición de obesidad e hipertensión en edades muy tempranas de la vida²⁻⁷. Los niños y adolescentes que son obesos probablemente serán obesos cuando sean adultos y por lo tanto tendrán mayor riesgo de sufrir las

¹Grupo de Nutrición. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Escuela de Ciencias Básicas. Universidad del Valle. Cali, Colombia

enfermedades de los adultos como las ECNT, algunos tipos de cáncer y osteoartritis^{4,6,7}.

Los estudios epidemiológicos conducidos por Barker et al.⁸, y los modelos experimentales han ido construyendo la teoría de la “Programación Fetal de las ECNT”⁹⁻¹¹, la cual sugiere que el inicio de las ECNT ocurre muy temprano en la vida, durante el desarrollo fetal. Una característica común de las ECNT es el desarrollo de disfunción endotelial y estrés oxidativo (EO) en etapas muy tempranas^{13,14}.

El embarazo normal se caracteriza por un aumento moderado y progresivo en los niveles de biomarcadores de EO¹⁵ y por la disminución de moléculas antioxidantes como el alpha-tocoferol¹⁶. Pero en aquellos embarazos con complicaciones como preeclampsia, diabetes gestacional, retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU) y obesidad, se encuentran altos niveles de EO^{17,18}.

Las crías de mamíferos que durante el periodo gestacional han sido sometidas a factores pro-oxidantes, tales como: hipoxia, desnutrición o malnutrición materna desarrollan resistencia a la insulina, hipertensión y obesidad en la etapa adulta^{14,19}. Intervenciones con terapias antioxidantes en mamíferos dirigidas a reducir el EO durante el embarazo y en presencia de factores pro-oxidantes, han mostrado que estas intervenciones contrarrestan la programación de ECNT. En modelos murinos de RCIU, inducido por desnutrición materna, se ha encontrado que el tratamiento con moléculas antioxidantes previene la disfunción endotelial de la crías en la etapa adulta^{20,21}.

Estos hallazgos sugieren que la disfunción endotelial y el EO pueden ser un factor central en la programación de ECNT durante la gestación lo que ha llevado a considerar el desarrollo e implementación de terapias antioxidantes con vitaminas y oligoelementos como una estrategia para prevenir y controlar el EO en búsqueda de reducir el riesgo de programación de ECNT en humanos.

En este estudio se propuso evaluar el efecto de la complementación con micronutrientes antioxidantes durante la gestación sobre la antropometría y los niveles de hemoglobina en sangre y de la proteína C-reactiva en plasma en mujeres primigestantes durante el embarazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Ensayo clínico controlado en mujeres primigestantes sanas que fueron aleatorizadas por bloques balanceados, en dos grupos: Grupo control (I): placebo, Grupo de intervención (II): complementación con micronutrientes antioxidantes y seguidas hasta la semana 32 del embarazo. Este proyecto se llevó a cabo con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad del Valle (Resolución 021-010UV) y es un análisis secundario de un trabajo derivado de un proyecto mayor financiado por Colciencias (Grant No. 1106-45921540; *Trial registration* NCT00872365) y publicado anteriormente²².

Población y muestra: Las participantes incluidas en el estudio asistían a control prenatal usual en centros de salud de la red pública Empresa Social del Estado (ESE-Ladera) de Cali-Colombia. Fueron captadas entre las semanas 16 y 20 de gestación (determinada por fecha de última menstruación o ecografía de primer trimestre), tenían entre 16 y 30 años de edad y sin malformaciones severas detectables por ultrasonido. Los criterios de exclusión fueron: antecedentes patológicos y/o ginecológicos como cirugía o trauma mayor en el último año, diagnóstico de cáncer, diagnóstico de incompetencia cervical, antecedentes de dos o más abortos espontáneos, embarazo múltiple, hemorragia vaginal o amenaza de aborto, diagnóstico de EPOC, asma o bronquitis, infecciones sistémicas, antecedente de problemas renales, enfermedad osteomuscular, enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial no controlada, polihidramnios u oligohidramnios o diagnóstico previo de enfermedad mental.

Las mujeres asignadas aleatoriamente y doble ciego, como grupo intervenido, recibieron como complementación de micronutrientes antioxidantes diariamente una tableta que contenía: Zinc 30 mg, Vitamina E 72 mg, ácido ascórbico 300 mg, selenio 70 µg, nicotinamida 135 mg y beta-caroteno 9 mg hasta el fin del embarazo y el grupo control recibieron diariamente una tableta similar físicamente a la tableta con micronutrientes, pero que contenía maltodextrina como placebo.

Procedimientos: A las primigestantes que aceptaron y firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio, se les trasladó al laboratorio del Grupo de Nutrición de la Facultad de Salud de la Universidad del

Valle para la aplicación de un cuestionario sobre antecedentes sociodemográficos y estilos de vida, además, se les realizó toma de medidas de peso (kg), talla (m), con los cuales se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC) y porcentaje de grasa corporal usando una pesa Tanita Modelo 2001.

De cada participante fue tomada una muestra de sangre venosa para la medición de la hemoglobina materna mediante un equipo *HemoCue B-Haemoglobin Analyser*, este equipo es un hemoglobinómetro portátil que utiliza el método de la azida-metahemoglobina. Este método está basado en la hemólisis completa de la muestra de sangre a analizar mediante sodio-desoxicolato, la reacción de la hemoglobina liberada con nitrito sódico para formar metahemoglobina y la de ésta con azida sódica para dar metahemoglobina azídica. También se midió los niveles de la proteína C reactiva (PCR) en el plasma sanguíneo, para lo cual se utilizó el *Kit C-Reactive-Protein-hs de Biosystems* (Cat.31927). El método se basa en la aglutinación que se produce cuando la PCR plasmática reacciona con anticuerpos anti-proteína C reactiva que se encuentran unidos a micropartículas de látex. Como controles de calidad se utilizaron los sueros Control Proteico I y II (Cat.31211 y Cat.31212 *Biosystem*) reconstituidos en agua destilada. Las mediciones se realizaron en el analizador automatizado de bioquímica clínica A15-*Biosystems*.

Después de la realización de estas pruebas, las participantes fueron asignadas aleatoriamente al: Grupo control (I): placebo y Grupo de intervención (II): complementación con micronutrientes antioxidantes. La intervención tuvo una duración hasta el final del

embarazo y las primigestantes fueron citadas nuevamente para repetición de las pruebas ya descritas a la semana 32.

La información de los cuestionarios se ingresó en una base de datos y se procesó con el paquete estadístico *Statistical Package for the Social Sciences*, versión 13.0 (*SPSS Inc.*). En breve, se realizó un análisis exploratorio para determinar la frecuencia y la distribución de las variables estudiadas. La normalidad de las variables continuas se evaluó mediante la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*. Se utilizó la prueba de la *t de Student* o *Kruskal-Wallis* para las comparaciones intragrupos según la distribución. Se consideró significativo un valor de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Se evaluaron 74 madres, 36 en el grupo con la intervención y 38 en el grupo control. La media±desviación estándar (DE) de la edad de las participantes en la primera cita fue 20,4±3,4 años y la media±DE de la edad gestacional fue 14,4±2,1 semanas. Las demás características socio demográficas se presentan en la Tabla 1 por grupos.

La Tabla 2 muestra el efecto de la intervención con micronutrientes antioxidantes durante el embarazo desde la primera evaluación a la segunda evaluación en indicadores maternos como el IMC, los niveles de la PCR y hemoglobina. Los dos grupos de madres mostraron similar aumento en el IMC. Las participantes del grupo intervenido presentaron un

Tabla 1
Características sociodemográficas de la población estudiada

Característica	Intervenido (36)	Control (38)	p
Edad (años ± DE)	20,6±3.3	20,3±3.5	0,48
Secundaria	31 (86%)	35 (92%)	0,31
Unión libre	22 (61%)	21 (55%)	0,8
Mestiza	35 (97%)	33 (87%)	0,11
Subsidiado	35 (97%)	35 (92%)	0,33
Porcentaje grasa corporal	35.6±9	32.9±9.8	0,29
Presión arterial diastólica	64,8±8.2	64,4±6.8	0,79

DE = desviación estándar

IMC de 22.6 ± 4.5 kg/m² en la primera evaluación, y luego en la segunda evaluación un IMC de 25.6 ± 5 kg/m². En el grupo placebo el IMC en la primera evaluación fue 23.3 ± 5 kg/m² y de 26 ± 5.4 kg/m² en la segunda. Los niveles de la PCR para la primera evaluación fueron de 1 ± 1 mg/L y para la segunda evaluación de 0.5 ± 0.7 mg/L en el grupo experimental. En el grupo placebo los niveles de la PCR fueron para la primera evaluación de 0.5 ± 0.7 mg/L y para la segunda evaluación de 0.5 ± 0.7 mg/L.

Los niveles de la hemoglobina para la primera medición fue de 11.8 ± 1.2 g/dL y en la segunda medición de 11.4 ± 2 g/dL para el grupo intervenido y en el grupo placebo el valor de la hemoglobina para la primera evaluación fue de 12 ± 1.7 g/dL y para la segunda medición de 10.8 ± 1.8 g/dL.

DISCUSIÓN

El embarazo es un estado fisiológico que se acompaña de una demanda energética elevada y un incremento en los requerimientos de oxígeno, aún en el embarazo normal se podría esperar un aumento de la carga pro-oxidante²³, lo que se une a evidencias de la participación del estrés oxidativo en la patogenia de varias afecciones propias de la gestación y al efecto perjudicial de otros factores cuando se asocia con el embarazo, como la exposición a sustancias tóxicas, al alcohol y al humo del cigarro. Los efectos pro-oxidantes que acompañan al

embarazo normal, parecen encontrar respuestas antioxidantes compensatorias que no están presentes en el aborto espontáneo.

Se encontró una disminución en el indicador de inflamación, niveles de la PCR, entre el segundo y tercer trimestre, en las primigestantes que recibieron complementación con micronutrientes antioxidantes a diferencia de las gestantes que recibieron placebo, cuyos niveles de PCR no cambiaron. La relación entre la capacidad antioxidante total de la dieta y los marcadores de inflamación apenas ha sido estudiada. De entre los posibles datos disponibles, señalan una posible relación significativa inversa entre la PCR en plasma y los antioxidantes totales de la dieta ingeridos. Lo anterior podría explicar el efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares de una dieta rica en antioxidantes²⁴.

Igualmente, nuestros resultados con relación al indicador de anemia muestran que las primigestantes complementadas con micronutrientes antioxidantes no presentaron cambios en sus niveles de hemoglobina entre el segundo y tercer trimestre del embarazo, de 11.8 a 11.4 g/dL, a diferencia del grupo de mujeres placebo que presentó un descenso de 12 a 10.8 g/dL. Durante la gestación, el valor de la hemoglobina es muy particular porque tiene tendencia a disminuir considerablemente durante el embarazo, en el primer trimestre se habla de anemia con niveles menores a 11 g/dL y en los trimestres 2-3 cuando es menor a 10.5

Tabla 2
Efecto de la complementación con micronutrientes antioxidantes durante la gestación sobre indicadores maternos de obesidad, inflamación y anemia

Indicador	Evaluación 1 (10-20 sem)	Evaluación 2 (29-35 sem)	Dirección de cambio
Índice de masa corporal			
Intervenido	22,6±4.5	25,6±5	Aumento
Control	23,3±5	26±5.4	Aumento
Proteína C reactiva (mg/L)			
Intervenido	1±1	0,5±0.7	Disminuyo
Control	0,5±0.7	0,5±0.7	Igual
Hemoglobina (gr/dl)			
Intervenido	11,8±1.2	11,4±2	Igual
Control	12±1.7	10,8±1.8	Disminuyo

g/dL. Después del parto se habla de anemia cuando existen niveles menores a 10. Al parecer aunque un estado de anemia en la mujer gestantes disminuye el flujo de nutrientes y oxígeno en la madre y entre la madre-feto, el disminuir la viscosidad sanguínea puede también disminuir el riesgo de trombosis.

Una posible explicación sobre los cambios encontrados en los indicadores de anemia e inflamación en las primigestantes complementadas con micronutrientes antioxidantes y el grupo control sería que a nivel molecular la proteína hepcidina, bajo condiciones de anemia o hipoxia, cesa la producción hepática de hepcidina, aumentando por lo tanto el transporte basolateral de hierro y la movilización desde los lugares de depósito a través de la proteína transmembranosa-transportadora, llamada ferroportina (Ireg-1). La proteína Ireg-1 actúa como el receptor de hepcidina, es expresada en varios tipos celulares que exportan hierro al plasma (enterocitos, células placentarias, hepatocitos y macrófagos)¹². Además de responder a los niveles de hierro, se ha observado que la secreción de hepcidina es inducida durante los procesos inflamatorios. En presencia de interleucina 6 (citocina proinflamatoria) los hepatocitos liberan hepcidina como parte de la respuesta de fase aguda de tipo II¹². El efecto producido por esta hormona proteica sobre el transporte de hierro causa la característica disminución de la concentración plasmática del metal: hipoferremia de la inflamación. Aunque el objetivo primario de esta respuesta sería aumentar la resistencia del huésped a una infección mediante la restricción de la disponibilidad de hierro, contribuye también a la anemia de la enfermedad crónica. Así, la hepcidina constituye por lo tanto el vínculo molecular entre la regulación del metabolismo del hierro, los procesos inflamatorios y la anemia²⁵.

Nuestros resultados no muestran evidencia concluyente que la complementación con micronutrientes antioxidantes tenga algún efecto en el indicador antropométrico del IMC de mujeres gestantes durante el trimestre 2-3 de embarazo, por lo que se hace necesario evaluar otros tipos de indicadores a nivel molecular como los niveles de la hormona leptina asociada con el control de la ingesta y la obesidad/sobrepeso.

A partir de los estos resultados, nos surge la inquietud sobre si los resultados de la intervención hubiesen sido de mayor efecto si se hubiera iniciado la complementación con los micronutrientes antioxidantes antes del embarazo o en el primer trimestre como ocurre

con la administración de ácido fólico y hierro, con desenlaces muy positivos reportados en la literatura, en el desenlace materno y en el producto de la concepción^{26,27}.

En conclusión, a pesar que es difícil controlar en los participantes del estudio el porcentaje de cumplimiento en la toma de las tabletas reportado por las madres intervenidas, ya que hubo madres gestantes que reportaron cero en la toma hasta otras que reportaron 97%, nuestros resultados muestran una tendencia de efecto protector con el uso de preparados con micronutrientes antioxidantes durante la gestación en la inflamación y anemia en las mujeres gestantes.

FINANCIACIÓN

La investigación fue financiada con el apoyo de la Convocatoria Interna (CI 1702) de la Universidad del Valle. Cali, Colombia y el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología «Francisco José de Caldas» COLCIENCIAS (Grant No. 1106-45921540).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores expresan que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. WHO. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010, World Health Organization, Geneva
2. Rodríguez J. The burden of disease in Colombia. Instituto Nacional de Cancerología. (Cited 10 Agosto 2009). Available from: <http://incancerologia.blogspot.com/2009/08/carga-de-la-enfermedad-en-colombia.html>
3. Rosner B, Cook NR, Daniels S, Falkner B. Childhood blood pressure trends and risk factors for high blood pressure. Hypertension (Online) July, 15 of 2013
4. National Survey on the Nutritional Situation in Colombia (ENSIN 2010). (Cited 10 Nov 14). Available from: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortallCBF/NormatividadC/ENSIN1/ENSIN2010/LibroENSIN2010.pdf>
5. Cunningham SA, Kramer MR, Venkal KM. Incidence of childhood obesity in the United States. N Eng J Med 2014; 370: 401-411
6. Lesseur C, Armstrong DA, Paquette AG, Koestler DC, Padbury JF, Marsit CJ. Tissue-specific Leptin promoter DNA methylation is associated with maternal and infant perinatal factors. Molecular and Cellular Endocrinology 2013; 381: 160-167
7. Ruchat SM, Hivert MF, Bouchard L. Epigenetic programming of obesity and diabetes by in utero exposure

- to gestational diabetes mellitus. *Nutrition Reviews* 2013; 71 (Suppl 1): 588-594
8. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. Type 2 diabetes. *British Med Bulletin* 2001; 60: 5-20
 9. Ravelli AC, Van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Obesity at the age 50, in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 811-816
 10. Simmons RA, Templeton LJ, Gertz SJ. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 2001; 50: 2279-2286
 11. Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet JJ. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biology of the Neonate* 1990; 57: 107-118
 12. Gómez MM, Garríguez AC, Erce JG, Ramírez GR. Fisiopatología del metabolismo del hierro: implicaciones diagnósticas y terapéuticas. *Nefrología* 2005; 25: 9-19
 13. Brawley L, Itoh S, Torrens C, Barker A, Bertram C, Poston L, et al. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatr Res* 2003; 54: 1-7
 14. Franco MC, Akamine EH, Reboucas N, Carvalho MH, Tostes RC, Nigro D, et al. Long-term effects of intrauterine malnutrition on vascular function in female offspring: implications of oxidative stress. *Life Sci* 2007; 80: 709-715
 15. Belo L, Caslake M, Santos-Silva A, Castro EM, Pereira-Leite L, Quintanilha A. LDL size, total antioxidant status and oxidised LDL in normal human pregnancy: a longitudinal study. *Atherosclerosis* 2004; 177: 391-399
 16. Palm M, Axelsson O, Wernroth L, Basu S. F (2)-isoprostanes, tocopherols and normal pregnancy. *Free Radic Res* 2009; 43: 546-552
 17. Biri A, Bozkurt N, Turp A, Kavutcu M, Himmetoglu O, Durak I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest* 2007; 64: 187-192
 18. Rajasingam D, Seed PT, Briley AL, Shennan AH, Poston L. A prospective study of pregnancy outcome and biomarkers of oxidative stress in nulliparous obese women. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 395-e1
 19. Desai M, Gayle D, Babu J, Ross MG. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R91-R96
 20. Racasan S, Braam B, van der Giezen DM, Goldschmeding R, Boer P, Koomans HA, et al. Perinatal L-arginine and antioxidant supplements reduce adult blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 44: 83-88
 21. Franco MC, Akamine EH, Aparecida M, Fortes ZB, Tostes RC, Carvalho MH, et al. Vitamins C and E improve endothelial dysfunction in intrauterine-undernourished rats by decreasing vascular superoxide anion concentration. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 211-217
 22. Ramírez-Vélez R, Romero M, Echeverri I, Ortega JG, Mosquera M, Salazar B, et al. A factorial randomized controlled trial to evaluate the effect of micronutrients supplementation and regular aerobic exercise on maternal endothelium-dependent vasodilatation and oxidative stress of the newborn. *Trials* 2011; 28: 60
 23. Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M, Tan D, Gitto P, Barberi S, et al. Causes of oxidative stress in the pre- and postnatal period. *Biol Neonate* 2002; 81: 146-157
 24. Brighenti F, Valtueña S, Pellegrini N, Ardigò D, Del Rio D, Salvatore S, Piatti P, et al. Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *Br J Nutr* 2005; 93: 619-625
 25. Pérez G, Vittori D, Pregi N, Garbossa G, Nesse A. Hemostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación y regulación. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2005; 39: 301-314
 26. Christian P. Micronutrients, Birth Weight and Survival. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 83-104
 27. Haider BA, Yakoob MY, Bhutta ZA. Effect of multiple micronutrient supplementation during pregnancy on maternal and birth outcomes. *BMC Public Health* 2011; 11 (Suppl 3): S19