

## سطح سرمی روی در نوزادان مبتلا به ناهنجاری های لوله عصبی در گرگان

دکتر محمد جعفر گلعلی پور\*؛ PhD جنین شناسی، دانشیار گروه جنین شناسی دانشگاه علوم پزشکی گرگان و مرکز

تحقیقات ناهنجاری های مادرزادی گرگان

دکتر آذرخش منصوریان؛ PhD بیوشیمی، دانشیار گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

دکتر عباسعلی کشتکار؛ PhD اپیدمیولوژی، گروه بهداشت دانشگاه علوم پزشکی گرگان

## خلاصه

**هدف:** نقائص لوله عصبی متشکل از گروهی از ناهنجاری های مادرزادی است که شامل اسپینا بیفیدا، آنانسفالی و آنسفالوسل می باشد. بعضی از مطالعات نشان داده اند که کاهش روی یکی از عوامل مهم ناهنجاری های لوله عصبی است. لذا این مطالعه به منظور تعیین و مقایسه سطح سرمی روی در نوزادان مبتلا به نقائص لوله عصبی و نوزادان سالم در این منطقه انجام شده است.

**روش مطالعه:** این مطالعه تحلیلی از نوع مورد- شاهدی بر روی ۲۳ نوزاد مبتلا به نقائص لوله عصبی و ۳۵ نوزاد سالم متولد شده در طول سال های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳، در مرکز آموزشی درمانی دزیانی گرگان انجام گرفت. نمونه خون نوزادان مبتلا به نقائص لوله عصبی (۲۳ نفر) و همزمان نمونه خون نوزادان سالم (۳۵ نفر) گرفته شد و پس از سانتریفوژ سرم حاصله به روش اسپکتروفتومتر میزان نقائص لوله عصبی سرم بر حسب میکرومول در لیتر تعیین گردید. داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**یافته ها:** میانگین و انحراف معیار سطح سرمی روی در گروه مورد و شاهد به ترتیب  $8 (\pm 3/9)$  و  $12/3 (\pm 4)$  میکرومول در لیتر تعیین شد. کاهش روی در ۱۳ نفر ( $43/5\%$ ) از گروه مورد و ۷ نفر ( $8/5\%$ ) از گروه شاهد دیده شد ( $\chi^2=9/73, p=0/002$ ). آزمون رگرسیون لجستیک ارتباط بین کاهش روی و نقائص لوله عصبی ( $OR=8/2, CI: 1/9-34/7, 95\%$ ) را تعیین نمود.

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد که کاهش روی در سرم نوزادان مبتلا به نقائص لوله عصبی می تواند یکی از عوامل مؤثر در ایجاد نقائص لوله عصبی در نوزادان در این منطقه باشد.

\*مسئول مقاله، آدرس:

گرگان، خیابان شهید بهشتی،  
بیمارستان دزیانی، مرکز تحقیقات  
ناهنجاری های مادرزادی  
E.mail:mjgolalipour@yahoo.corدریافت: ۸۴/۱۱/۱  
بازنگری: ۸۵/۵/۱۱  
پذیرش: ۸۵/۵/۲۳

واژه های کلیدی: روی، ناهنجاری لوله عصبی، اسپینا بیفیدا، آنانسفالی، ناهنجاری های مادرزادی

## مقدمه

متفاوت می باشد [۴].  
اتیولوژی این ناهنجاری ها به خوبی و به طور کامل مشخص نشده و اغلب عوامل چند فاکتوری مانند عوامل ژنتیکی و محیطی از قبیل عوامل تغذیه ای را در ایجاد این بیماری موثر می دانند [۵، ۶، ۷]. عوامل تغذیه ای نظیر کاهش اسید فولیک و کاهش روی از دومین عوامل مؤثر و مهم در ناهنجاری های عصبی می باشد [۸]. روی یک عنصر است که در اعمال بیولوژیکی متعدد در ارگانیزم نظیر تقسیم سلولی، تکامل و تمایز اهمیت داشته و به عنوان یک کوفاکتور در مسیره های متابولیسمی گوناگون در سنتز اسید فولیک مشارکت دارد [۸، ۹، ۱۰]. بعضی از مطالعات انجام شده در نقاط مختلف دنیا نشان دهنده نقش کاهش روی در نقائص لوله عصبی بوده است

نقص لوله عصبی ناهنجاری شدید مادرزادی است که به علت اختلال در تشکیل لوله عصبی ایجاد شده و شامل اسپینا بیفیدا، آنانسفالی و آنسفالوسل می باشد [۱]. نقائص لوله عصبی یکی از مهم ترین علت مورثالیته و موربیدیتی و ناتوانی جسمی در میان نوزادان تازه متولد شده و کودکان است [۲]. نقص لوله عصبی دومین ناهنجاری مادرزادی جدی بعد از ناهنجاری مادرزادی قلب در ایالات متحده امریکا می باشد [۳]. بروز ناهنجاری لوله عصبی به تفکیک مناطق جغرافیایی مختلف و قومیت و نژاد متفاوت است به طوری که از یک مورد تولد در ۱۰۰ تولد زنده در مناطقی از چین تا حدود ۱ مورد در ۵۰۰۰ تولد زنده یا کمتر در کشورهای اسکانندیناوی

آماري شامل تست مجذور کای و من‌ویتنی و تست دقیق فیشر استفاده شد. علاوه بر این به‌منظور برآورد نسبت برتری خام و تصحیح شده کاهش سطح سرمی روی در وقوع تولد نوزاد با نقص تکامل لوله عصبی از آزمون رگرسیون لجستیک و فاصله اطمینان ۹۵٪ مربوطه استفاده گردید. میزان خطای نوع اول در همه آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع ۲۳ نوزاد ناهنجار و ۳۵ نوزاد سالم در این مطالعه وارد شدند. بیشترین نوع ناهنجاری لوله عصبی اسپینا بیفیدا در ۱۴ مورد (۶۱٪) و به‌دنبال آن آنسفالای در ۷ مورد (۳۰٪) و آنسفالای در ۲ مورد (۹٪) بود. میانگین و انحراف معیار سن مادران و پدران در گروه شاهد و مورد در جدول شماره یک نشان داده شده است. اختلاف آماری معنی‌داری بین توزیع سنی مادران و تعدد زایمان در دو گروه وجود نداشت (جدول ۱).

میانگین و انحراف معیار طول حاملگی در گروه مورد ۳۶ (۲/۵±) (محدوده ۳۱ تا ۳۸ هفته) و برای گروه کنترل ۳۸/۵ (۰/۹±) (محدوده ۳۶ تا ۳۹ هفته) بود. این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ) (جدول ۲). میانگین و انحراف معیار میزان روی سرم در نوزادان گروه مورد ۸ (۳/۹±) و در گروه شاهد ۱۲/۳ (۴/۷±) میکرومول در لیتر بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ). کاهش روی در ۴۳/۵٪ از نوزادان گروه مورد و ۸/۵٪ از نوزادان گروه کنترل مشاهده شد که این تفاوت نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/002$  و  $\chi^2 = 9/73$ ).

آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که یک ارتباط بین کاهش سطح سرمی روی و وقوع نقایص لوله عصبی وجود دارد (حدود اطمینان ۹۵٪: ۳۴/۷ - ۱/۹ و  $OR = 8/2$ ). پس از

۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳]. با توجه به میزان ۳/۱۲ در هزار نقایص لوله عصبی در این منطقه [۱۴]، ما تصمیم گرفتیم که این مطالعه را به‌منظور مقایسه سطح سرمی روی نوزادان مبتلا به نقایص لوله عصبی و سطح سرمی روی نوزادان سالم، انجام دهیم.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد - شاهدی است که در مرکز آموزشی - درمانی بیمارستان دزیانی گرگان در طول سال‌های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ انجام گردید. گروه مورد شامل ۲۳ نفر از نوزادان مبتلا به نقایص لوله عصبی و گروه شاهد، از ۳۵ نفر از نوزادان سالم متولد شده بعد و یا قبل از هر نوزاد ناهنجار مبتلا به نقایص لوله عصبی انتخاب گردید.

نمونه خون کلیه نوزادان مبتلا به نقص لوله عصبی پس از تأیید تشخیص متخصص کودکان گرفته شده و هم‌زمان به ازای هر نوزاد ناهنجار، نمونه خون یک یا دو نفر نوزاد سالم را گرفته و پس از سانتریفوژ، سرم حاصله جهت انجام آنالیز با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت RONDOS انگلیس به روش اسپکتوفتومتر میزان روی سرم بر حسب میکرومول در لیتر تعیین گردید. در صورت کمتر بودن میزان روی سرم از ۷/۶ میکرومول در لیتر کمبود سطح سرمی روی تلقی گردید [۱۵، ۱۶].

از طریق مصاحبه با مادران و تکمیل پرسشنامه، اطلاعاتی در زمینه مشخصات والدین نظیر سن والدین، تعداد حاملگی‌ها و زایمان قبلی، تعداد موارد سقط قبلی، سابقه وجود ناهنجاری مادرزادی در نوزادان قبلی ثبت شد. همچنین مشخصات دموگرافیک نوزادان شامل قد و وزن، سن حاملگی و مصرف دارو در مدت سه ماهه اول حاملگی ثبت گردید.

داده‌ها پس از ورود به کامپیوتر توسط نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای توصیف اطلاعات از جداول و در تحلیل داده‌ها از تست‌های

جدول ۱ - مشخصات و تاریخچه خانوادگی نوزادان گروه شاهد و مورد

مشخصات	مورد (n=۲۳)	شاهد (n=۳۵)	P value
سن مادر (میانگین ± انحراف معیار)	۲۷/۲ (±۶)	۲۵/۷ (±۵/۳)	* ۰/۴۶
سن پدر (میانگین ± انحراف معیار)	۳۱/۳ (±۶/۳)	۲۹/۰ (±۶/۰)	* ۰/۱۵
تعدد زایمان	۵ (۲۰٪)	۶ (۱۶/۲٪)	‡ ۰/۷۰
سابقه سقط جنین (فراوانی)	۴ (۱۶٪)	۵ (۱۳/۵٪)	‡ ۰/۷۹
سابقه نقایص لوله عصبی	-	-	-
سابقه سایر موارد ناهنجاری‌های مادرزادی (فراوانی)	۴ (۱۰/۸٪)	۱ (۴/۳٪)	§ ۰/۶۴

\* بر اساس تست من - ویتنی

‡ بر اساس تست کای اسکوئر

§ بر اساس تست دقیق فیشر

جدول ۲ - مشخصات دموگرافیک دو گروه نوزادان مورد مطالعه در بدو تولد

P value	شاهد (n=۳۵) میانگین (±انحراف معیار)	مورد (n=۲۳) میانگین (±انحراف معیار)	مشخصات
*./۰.۰۱	۳۴۳۹ (±۴۹۷)	۲۸۶۵ (±۷۱۹)	وزن نوزاد (گرم)
*./۰.۰۵	۵۰ / ۰ (±۲/۵)	۴۷ (±۴/۶)	قد نوزاد(سانتی متر)
‡./۰.۰۰۱	۳۸/۵ (±۰/۹)	۳۶/۰ (±۲/۵)	سن جنین(هفته)
§./۰.۰۰۶	۱ (±۰/۲۷)	۷ (±۰/۲۸)	قرار گرفتن مادر در معرض دارو در سه ماهه اول حاملگی

\* بر اساس تست من - ویتنی  
 ‡ بر اساس تست کای اسکوئر  
 § بر اساس تست دقیق فیشر

عمده مطالعات بر روی ارتباط بین کاهش روی و نقایص لوله عصبی یا استفاده از نمونه‌های مادران دارای نوزادان نقایص لوله عصبی انجام گرفته است. مطالعاتی که با استفاده از سرم نوزادان نظیر این مطالعه انجام شده باشد اندک می‌باشند. برای مثال یک مطالعه انجام شده در مکزیک [۱۳] نشان داد که یک ارتباط بین نقایص لوله عصبی و کاهش سرمی روی نوزادان وجود دارد. همچنین مطالعه دیگر در هلند [۲۰] بر روی سرم نوزادان نشان داد که وضعیت سرمی روی با افزایش خطر اسپینا بیفیدا ارتباط دارد. همچنین Cavador در سال ۱۹۹۱ [۲۸] گزارش کرد که ارتباط بین کاهش روی در موها با نقایص لوله عصبی وجود دارد. Srinivas [۲۹] گزارش کرد که بین سطح پائین روی موی نوزادان با نقایص لوله عصبی وجود دارد اما هیچ ارتباطی را بین میزان روی سرم این نوزادان با نقایص لوله عصبی پیدا نکرد. این اختلاف در گزارش نتایج ممکن است به دلیل روش‌های آماری استفاده شده برای تجزیه و تحلیل سطح روی و یا به دلیل استفاده از Odds Ratio نظیر مطالعه ما و مطالعه مکزیک [۱۳] باشد.

کنترل سایر عوامل نسبت برتری تصحیح شده رابطه کمبود روی با بروز نقائص لوله عصبی برابر ۷ بود. همچنین رگرسیون لجستیک نشان داد که بین مصرف دارو در سه ماهه اول حاملگی با بروز نقایص لوله عصبی ارتباط وجود داشت (حدود اطمینان ۰/۹۵: ۱۲۲/۷-۱/۶، Crude OR=۱۴) (جدول ۳).

### بحث

در این مطالعه ۴۳/۵٪ نوزادان مبتلا به نقایص لوله عصبی دچار کمبود روی سرم خون بودند در حالی که ۸/۵٪ نوزادان سالم کمبود روی داشتند و ارتباطی بین ناهنجاری های لوله عصبی و کاهش روی یافت شد. یافته‌های مطالعه ما با نتایج مطالعه انجام شده قبلی در ترکیه [۱۷، ۱۸]، کانادا [۱۰]، فرانسه [۱۹]، کالیفرنیا [۹]، هلند [۲۰، ۲۱]، و دیگر مطالعات [۲۲، ۲۳] مشابهت دارد. از طرف دیگر مطالعاتی دیگر، نظیر مطالعه Hambidge و همکاران [۲۴] و Nikolov و همکاران در صوفیه [۲۵]، Weekes و همکاران [۲۶] و Ghosh و همکاران در چین [۲۷] هیچ ارتباطی را بین کاهش روی و نقایص لوله عصبی نیافتند.

جدول ۳ - آزمون رگرسیون لجستیک عوامل بررسی شده در مطالعه

P- value	Adjusted OR	*OR (محدوده اطمینان ۰/۹۵) ‡	فاکتور خطر
۰/۰۰۸	۷ (۱/۵-۳۲/۷)	۸/۲ (۱/۹-۳۴/۷)	پائین بودن سطح روی
NS	۱/۲ (۰/۲-۷/۴)	۱/۳ (۰/۴-۴/۸)	تعداد زایمان (n)
NS	۱ (۰/۳-۳/۲)	۱/۳ (۰/۶-۲/۹)	تاریخچه سقط
۰/۰۲۸	۱۱/۹ (۱/۲-۱۱۸/۲)	۱۴ (۱/۶-۱۲۲/۷)	مصرف دارو در سه ماهه اول (n)

\* OR: Odds Ratio

‡ CI: Confidence Interval

و همچنین یک کاهش در وزن و قد نوزادان گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد وجود داشت. این تغییرات به وجود ناهنجاری های مادرزادی در نوزادان نسبت داده می شود. ناهنجاری های مادرزادی با تاثیر بر روی تکامل جنین باعث کاهش رشد جنین می گردند.

### نتیجه گیری

در این مطالعه یک ارتباط بین کاهش سطح سرمی روی و ناهنجاری های لوله عصبی یافت شد. این یافته ها اهمیت تغذیه ای و سلامت مادران در اتیولوژی بیماری های لوله عصبی خاطر نشان می سازد. مطالعات بیشتری نیاز است تا ارتباط بین اسید فولیک و روی را در این بیماری مشخص نمود تا به صورت یک برنامه غذایی مکمل در زنانی که قصد بارداری دارند پیشنهاد گردد.

### سیاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و تقدیر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گرگان بخاطر حمایت مالی از اجرای طرح و از خانمها دکتر الهام مبشری، دکتر آرزو میرفاضلی، معصومه حاجی زاده و ثریا غفاری به دلیل همکاری صمیمانه اعلام می دارند.

با توجه به نقش روی در ساختمان بسیاری از آنزیمها، کاهش آن می تواند سبب ساخت غیر طبیعی اسیدهای فولیک و پروتئینها و پلیمریزاسیون غیر طبیعی توبولین، اختلالات کروموزومها، بیان ژنهای تأثیرگذار در مرگ سلولی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا سلولی گردد که این فرایندها موجب ناهنجاری در ساختمان لوله عصبی و بروز نقایص لوله عصبی می گردند [۳۰].

بعضی از مطالعات پیش بینی کرده اند که مکمل روی باعث کاهش میزان نقایص لوله عصبی شود [۲۲، ۲۸]. البته باید خاطر نشان کرد که تجویز روی در طی بارداری حداقل به اندازه تجویز اسید فولیک در جلوگیری از ناهنجاری های لوله عصبی اهمیت دارد [۱۸، ۲۲]. یک مطالعه انجام شده در آمریکا نشان داد که مکمل های تغذیه نظیر ترانس المانتها (روی) در قبل و یا در طی اوایل بارداری باعث کاهش ریسک نقایص لوله عصبی می گردد [۹]. در این مطالعه همچنین یک اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و گروه مورد در مصرف دارو توسط مادران نوزادان در طی سه ماهه اول حاملگی وجود داشت که این نکته یک عامل پذیرفته شده در ناهنجاری های مادرزادی می باشد.

در مطالعه حاضر مشخصات دموگرافیک نوزادان را تجزیه و تحلیل نمودیم (جدول ۲). براساس یافته های ما طول زمان زندگی داخل رحمی در گروه مورد کوتاهتر از گروه کنترل بود

## Serum zinc level in newborns with neural tube defects in Gorgan

**J Golalipour\***; PhD, Associate Professor of Embryology, Gorgan University of Medical Sciences

**AR Mansourian**; PhD, Associate Professor of Biochemistry, Gorgan University of Medical Sciences

**AA Keshtkar**; PhD, Assistant Professor of Epidemiology, Gorgan University of Medical Sciences

**\*Correspondence author**

**Address:** Congenital Malformation Research Center, Dezyani Hospital, Shahid Beheshti Ave, Gorgan, IR Iran  
E-mail: mjgolalipour@yahoo.com

**Received:** 21/1/06

**Revised:** 2/8/06

**Accepted:** 14/8/06

### Abstract

**Background:** Neural tube defects (NTD) are a group of congenital malformations that include spina bifida, anencephaly and encephalocele. Some investigations have indicated that Zinc deficiency is one of the causative factors of NTDs. This study was done to determine the relation between neural tube defect and neonatal serum Zinc level in Gorgan - North of Iran.

**Methods:** This case-control study was carried out on 23 newborns with NTD and 35 healthy newborns, in Dezyani hospital in Gorgan-north of Iran. Serum zinc level was assessed with spectrophotometry. Data was analyzed by SPSS soft ware.

**Findings:** Mean of serum Zinc levels in case and control groups were 8 ( $\pm 3.9$ )  $\mu\text{mol/Lit}$  and 12.3 ( $\pm 4$ )  $\mu\text{Mol/Lit}$ , respectively ( $p < 0.001$ ). Zinc deficiency was found in 43.5% of the cases and 8.6% of the controls ( $\chi^2 = 9.73$ ,  $p = 0.002$ ). The logistic regression analysis has shown an association between the presence of NTDs and zinc deficiency (OR=8.2, 95% CI: 1.9-34.7).

**Conclusion:** This study showed that Zinc deficiency was thought to be one of the most important factors in the NTDs etiology in this area.

**Key Words:** Neural tube defects, Zinc, Congenital malformations, Spina bifida, Anencephaly

### REFERENCES:

1. Copp AJ, Brokk FA, Extibrio JP. The embryonic development of mammalian neural tube defects. *Prog Neurobiol.* 1990; 35(5):636-403.
2. Lary JM, Edmonds LD. Prevalence of spina bifida at birth--United States, 1983-1990: a comparison of two surveillance systems. *MMWR CDC Surveill Summ.* 1996; 45(2): 15-26.
3. Lynberg MC, Khoury MJ. Contribution of birth defects to infant mortality among racial/ethnic minority groups, United States. 1983. *MMWR CDC Surveill Summ.* 1990; 39(3): 1-12.
4. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2000; 151(9): 862-77.
5. Seller MJ. Risks in spina bifida. *Dev Med Child Neurol.* 1994; 36(11): 1021-5.
6. Van Loon K, Besseghir K, Eshkol A. Neural tube defects after infertility treatment: a review. *Fertil Steril.* 1992; 58(5):875-84.
7. Harris MJ, Juriloff DM. Mini-review: toward understanding mechanisms of genetic neural tube defects in mice. *Teratology.* 1999; 60(5):292-305.
8. Milunsky A, Morris JS, Jick H, et al. Maternal zinc and fetal neural tube defects. *Teratology.* 1992; 46(4): 341-8.

9. Velie EM, Block G, Shaw GM, et al. Maternal supplemental and dietary zinc intake and the occurrence of neural tube defects in California. *Am J Epidemiol.* 1999; 150(6): 605-16.
10. Buamah PK, Russell M, Bates G, et al. Maternal zinc status: a determination of central nervous system malformation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1984; 91(8): 788-90.
11. Cavdar AO, Bahceci M, Akar N, et al. Zinc status in pregnancy and the occurrence of anencephaly in Turkey. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1988; 2(1): 9-14.
12. Bergmann KE, Makosch G, Tews KH. Abnormalities of hair zinc concentration in mothers of newborn infants with spina bifida. *Am J Clin Nutr.* 1980; 33(10): 2145-50.
13. Carrillo-Ponce Mde L, Martinez-Ordaz VA, Velasco-Rodriguez VM, et al. Serum lead, cadmium, and zinc levels in newborns with neural tube defects from a polluted zone in Mexico. *Reprod Toxicol.* 2004; 19(2):149-54.
14. Golalipour MJ, Vakili MA, Arya B. Neural tube defects in newborns in the southeast of the Caspian Sea border, Gorgan, Iran 1998-2000. *Medical Journal of the Islamic Republic of IRAN.* 2003; 4(16): 199-203.
15. Makino T, Saito M, Horiguchi D, et al. A highly sensitive colorimetric determination of serum zinc using water-soluble pyridylazo dye. *Clin Chim Acta.* 1982; 120(1):127-35.
16. Homsher R, Zak B. Spectrophotometric investigation of sensitive complexing agents for the determination of zinc in serum. *Clin Chem.* 1985; 31(8):1310-3.
17. Cavdar AO, Arcasoy A, Baycu T, et al. Zinc deficiency and anencephaly in Turkey. *Teratology.* 1980; 22(1):141-4.
18. Cengiz B, Soylemez F, Ozturk E, et al. Serum zinc, selenium, copper, and lead levels in women with second-trimester induced abortion resulting from neural tube defects: a preliminary study. *Biol Trace Elem Res.* 2004; 97(3): 225-35.
19. Favier M, Favier A, Robert E, et al. Can zinc deficiency in the mother be responsible for the occurrence of spina bifida aperta in the fetus? *Rev Fr Gynecol Obstet.* 1987; 82(10):575-81.
20. Groenen PM, Peer PG, Wevers RA, et al. Maternal myo-inositol, glucose and zinc status is associated with the risk of offspring with spina bifida. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(6):1713-9.
21. Hinks LJ, Ogilvy-Stuart A, Hambidge KM, et al. Maternal zinc and selenium status in pregnancies with a neural tube defect or elevated plasma alpha-fetoprotein. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989; 96(1): 61-6.
22. Shaw GM, Todoroff K, Schaffer DM, et al. Periconceptional nutrient intake and risk for neural tube defect-affected pregnancies. *Epidemiol.* 1999; 10(6): 711-6.
23. Groenen PM, Wevers RA, Janssen FS, et al. Are myo-inositol, glucose and zinc concentrations in amniotic fluid of fetuses with spina bifida different from controls? *Early Hum Dev.* 2003; 71(1): 1-8.
24. Hambidge M, Hackshaw A, Wald N. Neural tube defects and serum zinc. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993; 100(8): 746-9.
25. Nikolov V, Tsachev K, Marinov B. The zinc concentration of the maternal serum and the amniotic fluid in pregnancies with fetal neural defects in the second trimester. *Akush Ginekol (Sofia).* 1993; 32(2): 8-10.
26. Weekes EW, Tamura T, Davis RO, et al. Nutrient levels in amniotic fluid from women with normal and neural tube defect pregnancies. *Biol Neonate.* 1992; 61(4): 226-31.
27. Ghosh A, Fong LY, Wan CW, et al. Zinc deficiency is not a cause for abortion, congenital abnormality and small-for-gestational age infant in Chinese women. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985; 92(9):886-91.
28. Cavdar AO, Bahceci M, Akar N, et al. Effect of zinc supplementation in a Turkish woman with two previous anencephalic infants. *Gynecol Obstet Invest.* 1991; 32(2):123-5.
29. Srinivas M, Gupta DK, Rathi SS, et al. Association between lower hair zinc levels and neural tube defects. *Indian J Pediatr.* 2001; 68(6):519-22.
30. King JC. Determinants of maternal zinc status during pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(5 Suppl): 1334S-43S.