متغيرات أيض الكالسيوم خلال مراحل الحمل والإرضاع في مدينة الموصل

إيمان سالم محمود
قسم الكيمياء/ كلية التربية للبنات/جامعة الموصل

(NJC)

(تاريخ الاستلام ٤ / ٨ / ٢٠٠٨) **(تاريخ القبول ١٨ / ٢ /٢٠٠٩)**

الخلاصة

كان هدف البحث دراسة المتغيرات الكيميوحيوية لمستوى الكالسيوم، الفوسفور اللاعضوي، الألبومين، إنزيم الفوسفوتيز القاعدي في الدم لنساء حوامل ومرضعات خلال فترات الحمل والإرضاع الطبيعية في مدينة الموصل،واجريت هذه الدراسة على (66)نموذجاً لمصل دم نساء حوامل و(44) نموذجاً لمصل دم نساء مرضعات وتم اختيار(43)نموذجاً لمصل دم نساء غير حوامل وغير مرضعات (مجموعة السيطرة)

بينت النتائج أن هناك انخفاض معنوي تدريجي لمستوى تركيز الكالسيوم الفوسفور اللاعضوي والألبومين في مصل دم النساء الحوامل وأن هناك ارتفاع معنوي تدريجي لمستوياتهم في مصل دم النساء المرضعات بالمقارنة مع مجموعة (السيطرة)، وأظهرت النتائج أن هناك ارتفاع عالي المعنوية بفعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي في مصل دم النساء الحوامل والمرضعات لجميع المجاميع بالمقارنة مع مجموعة (السيطرة)

الكلمات الدالة: الحمل ، الإرضاع ، الكالسيوم ، الفوسفور اللاعضوي ، الألبومين ، إنزيم الفوسفوتيز القاعدي.

Abstract

The purpose of this research is to study the biochemical change in calcium, inorganic phosphate, albumin and alkaline phosphatase activity in the blood in pregnant and lactating women during normal pregnancy and lactation in Mosul City ,This study done on (66)specimens of blood of pregnant women and (44) specimens of blood of lactating women and (43) specimens of healthy non pregnant non lactating women as control group ,Results showed that there is gradual significant decrease in level of calcium, inorganic phosphate, albumin of pregnant women and gradual significant increase in their blood levels in lactating women compared with control group ,While the results showed that there is a high significant increase in alkaline phosphatase activity in all groups (pregnant and lactating women) compared with control group.

Key Words: Pregnancy, lactation, calcium, inorganic phosphate, albumin, alkaline phosphate.

المقدمة

يعد الحمل والإرضاع حالة فسلجية طبيعية تشهد تغيراً في النظام الداخلي للأم [1] يتضمن عدة تغيرات هرمونية وأيضية معقدة تسبب تغيراً في القيم الكيميوحيوية [2] لتأمين متطلبات نمو الجنين ولحماية الأم من مخاطر الحمل والولادة [3] إذ تكيف الجسم فسلجياً لحالة الحمل والإرضاع وتحصل تغيرات ديناميكية في أيض العظام والهرمونات المنظمة لتركيز الكالسيوم.

إن هذه التغيرات التي تحدث خلال الحمل والتي تؤثر على مستويات الكالسيوم والفوسفور اللاعضوي والألبومين وإنزيم الفوسفوتيز القاعدي تختلف عن حالة الإرضاع.

إذ لوحظ أن الحمل يترافق مع زيادة إفراز الهرمونات السيترويدية وخاصة الاستروجين estrogen الذي يحافظ على العظام من الانحلال[4] وارتفاع مستوى هرمون الكالستونين calcitonin الذي يمنع تحرك الكالسيوم من العظام[5,6] كما يلاحظ تضاعف مستوى فيتامين D الفعال ، 1,25 dihydroxy vitamin D منذ الفصل الأول للحمل [7]الذي يحفز امتصاص الكالسيوم والفوسفات من الأمعاء [8] من خلال حث تصنيع ما يسمى بالبروتين الرابط للكالسيوم calcium-binding protein في الخلايا الظهارية للأمعاء (مؤدياً الى خزنهما في الهيكل العظمي للأم والاستفادة منهما لنمو الجنين في الأشهر الأخيرة من الحمل)، هذه التغيرات التي تحصل لمواجهة الفقد في الكالسيوم الذي يحصل خلال الحمل والذي يترافق مع فترة التعظم السريع لعظام الجنين وخاصة في الفصل الثالث من الحمل ، إذ يحصل انتقال 300-250 ملغم من الكالسيوم يومياً من الدورة الدموية للأم الى الجنين عبر المشيمة (أي بمقدار 30غم خلال الحمل 80% ينتقل خلال الفصل الثالث من الحمل [9] لنمو وبناء الهيكل العظمي للجنين مما يؤدي الى انخفاض مستوى تركيز كالسيوم مصل الدم وهذا الانخفاض يزداد مع تقدم الحمل ، نتيجة انخفاض مستوى البومين مصل الدم[10] نتيجة توسع حجم بلازما الدم [11] وبالتالي حصول التخفيف[12]،كما يحدث زيادة سرعة الترشيح الكبيبي[13] glomerular filtration rate GFR مما ينتج عنه زيادة في طرح الكالسيوم الى الإدرار[14] .

لكن في حالة الإرضاع يحصل انخفاض مستوى هرمون الاستروجين الذي يترافق مع زيادة في مستوى هرمون جنيب الدرقية المرتبط بالبروتين Parathyroid hormone-related protein (PTHrp المحفز لفقدان الكالسيوم من العظام مؤدياً الى انحلال العظام [15]وانخفاض مستوى فيتامين D الفعال[16] 1,25dihydroxy vitamin D مؤدياً الى انخفاض في امتصاص الكالسيوم من قبل الأمعاء [18,17]ولمواجهة الحاجة الى الكالسيوم الذي يحدث نتيجة انتقال 400-240 ملغم من الكالسيوم يومياً أي بمقدار 50 غم خلال 6 اشهر من الرضاعة [19] يحصل زيادة في تحرك الكالسيوم من العظام الأم المرضع [20]مؤدياً الى انخفاض الكثافة المعدنية للعظام بمعدل 6%-4 من محتوى العظام من المعادن خلال 6 أ شهر من الرضاعة [22,21] كما يحصل إعادة امتصاص الكالسيوم والفوسفات من قبل الأنابيب الكليوية وبالتالي انخفاض طرحهما الى الإدرار نتيجة انخفاض سرعة الترشيح الكبيبي مما يؤدي الى ارتفاع مستوى تركيز الكالسيوم [23] وفوسفات مصل الدم [25,24] .

بالرغم من أن الفقد في الكالسيوم خلال الفصل الثالث من الحمل وفترة الإرضاع متساوية

300ملغم/يوم [26] لكن لا يحصل فقدان في الكثافة المعدنية لعظام النساء الحوامل [28,27] لكن يحصل فقدان كبير لكثافة العظام للنساء المرضعات [29]. كما وجد أن تناول مكملات الكالسيوم لا يمنع حصول انخفاض الكثافة المعدنية [22] مما يجعلها معرضة لخطر حدوث الكسور نتيجة حصول هشاشة العظامOsteoporosi . [30]

تم في هذا البحث دراسة متغيرات أيض الكالسيوم في دم النساء الحوامل والمرضعات خلال مراحل الحمل والإرضاع في مدينة الموصل، ونظراً للدور الحيوي الذي يقوم به الكالسيوم والفوسفور اللاعضوي في عملية بناء الهيكل العظمي للجنين وتأثيرات نقص مستوياتهما في حصول انخفاض الكثافة المعدنية للأم مما يعرضها لحصول أحد أمراض العظام وهو هشاشة العظام فقد تم تقدير مستويات الكالسيوم والفوسفور اللاعضوي والألبومين وفعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي ثم التعرف على أسباب التغيرات التي تحدث في مستوياتهم لمعرفة تأثير الحمل والإرضاع على أيض الكالسيوم والهرمونات المنظمة له.

المواد وطرائق العمل

تم جمع (66) عينة من الدم لنساء حوامل خلال مراحل مختلفة من الحمل وقسمت العينات الى ثلاثة مجاميع (ثلاثة فصول) شملت المجموعة الأولى (من شهر الى ثلاثة أشهر) من الحمل إذ كان عدد العينات (25)عينة والمجموعة الثانية (من أربعة أشهر الى ستة أشهر) من الحمل وكان عددهم (22) عينة والمجموعة الثالثة (من سبعة أشهر الى تسعة اشهر) من الحمل وكان عددهم (19) عينة من الدم. كما تم جمع (44) عينة من الدم لنساء مرضعات وقسمت العينات الى مجموعتين، شملت المجموعة الأولى (من شهر الى ثلاثة أشهر) من الرضاعة وكان عددهم (23) عينة من الدم والمجموعة الثانية من (أربعة أشهر الى ستة أشهر) من الرضاعة وكان عددهم(21) عينة من الدم وللمقارنة تم جمع (43) عينة من دم لنساء طبيعيات غير حوامل وغير مرضعات، وتم سحب الدم بمقدار 5 ملي لتر من جميع المجاميع ثم وضعت في أنابيب بلاستيكية معقمة وأجري لها عملية طرد مركزي بسرعة 300 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة للحصول على مصل الدم وتم جمع عينات الإدرار لجميع المجاميع خلال 24 ساعة، جميع المجاميع بأعمار تراوحت بين (18–35) سنة تم استبعاد عينات الحوامل والمرضعات المرضى.

المتغيرات الكيميوحيوية المقاسة

استخدمت الطرق اللونية في تقدير كل من الكالسيوم الكلي [31] والفوسفور اللاعضوي[32] والألبومين[33] وفعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي [34].

ان المواد التي تم استخدامها في هذا البحث هي عدد التحاليل القياسية Standard Kits المتضمنة عدد التحاليل المجهزة من شركة (Bio Mereiux) الفرنسية لقياس كلاً من فعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي، والفوسفور اللاعضوي والكالسيوم الكلي واستعملت عدة تحاليل مجهزة من شركة (RANDOX) البريطانية لقياس الألبومين.

التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائياً باستخدام اختبار(T-test) للمقارنة بين مجموعة السيطرة وكلاً من مجاميع الدراسة، واعتبرت النتائج معنوية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$).

النتائج

تعد هذه الدراسة مقارنة لبعض متغيرات الكيميوحيوية (الكالسيوم، الفوسفور اللاعضوي، الألبومين، إنزيم الفوسفوتيز القاعدي في مصل الدم وكالسيوم الإدرار لكل مجموعة من مجاميع الحمل ومجاميع الإرضاع ومقارنتها مع مجموعة السيطرة وفيما يلي عرض لنتائج الدراسة :

جـــدول (1) : يوضـــح معـــدل تركيـــز الكالسيوم في مصل الدم والإدرار للنساء الحوامل خـــلال المجـــاميع الثلاثـــة مـــن الحمـــل والنســـاء المرضعات خلال مجموعتين من الرضاعة نالمقارنة مع مجموعة السيطرة

يلاحـظ فـي الجـدول انخفـاض تـدريجي معنوي لمستوى الكالسيوم في مصل الدم في مراحل الحمـل الثلاثـة وارتفـاع تـدريجي معنـوي لمسـتوى كالسـيوم الإدرار لجميـع مجـاميع الحمـل، بينهمـا لـوحظ ارتفـاع تـدريجي معنـوي فـي مسـتوى كالسـيوم مصل الدم في المجموعة الثانية من الإرضـاع بينما كـان هنـاك انخفـاض تـدريجي معنـوي فـي مسـتوى كالسيوم الإدرار في مجموعتي الإرضاع.

جدول (1) : تأثير مجاميع الحمل والإرضاع على مستوى الكالسيوم الكلي في مصل الدم والإدرار

المجموعة	كالسيوم ملغم/١٠٠ مل ±الخطأ القياسي	كالسيوم ملغم/٢٤ ساعة ±الخطأ القياسي
مجموعة السيطرة	9.8 ± 0.175	125 ± 9.01
المجموعة الأولى من الحمل	9.4** ± 0.147	04*** ±6.85
المجموعة الثانية من الحمل	8.8*** ± 0.126	312*** ±4.39
المجموعة الثالثة من الحمل	8.0*** ± 0.121	398*** ±11.05
المجموعة الأولى من الارضاع	9.9 ± 0.176	85.83*** ±10.80
المجموعة الثانية من الإرضاع	0.4*** ± 0.183	57.1*** ±12.36

** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.01)

*** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.001)

جـــدول (2) يوضـــح معـــدل تركيـــز الفوســـفور اللاعضـــوي فـــي مصـــل الـــدم لكـــل مجموعـــة مـــن مجـاميع الحمـل ومجـاميع الإرضـاع كمـا مبـين فـي الجـدول: لـوحظ انخفـاض تـدريجي معنـوي بمسـتوى الفوسفور اللاعضوي في مصل الدم خاصة خلال المرحلتين الأخيرتين من الحمل بينما كـان هنـاك ارتفـاع تـدريجي معنـوي فـي المرحلـة الثانيـة مـن مجاميع الإرضاع.

جدول (2): تأثير مجاميع الحمل والإرضاع على مستوى الفوسفور اللاعضوي في مصل الدم

المجموعة	فوسفور لاعضوي ملغم/١٠٠ مل ±الخطأ القياسي
مجموعة السيطرة	3.6 ± 0.176
المجموعة الأولى من الحمل	3.2** ± 0.147
المجموعة الثانية من الحمل	3.0*** ± 0.103
المجموعة الثالثة من الحمل	2.7 *** ± 0.13
المجموعة الأولى من الارضاع	3.7 ± 0.16
المجموعة الثانية من الإرضاع	3.9** ± 0.194

** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.01)

*** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.001).

جدول (3) يوضح تأثير مجاميع الحمل والإرضاع على مستوى الألبومين في مصل الدم حيث يبين أن هناك انخفاض تدريجي معنوي بمستوى تركيز ألبومين مصل الدم في كل مجاميع الحمل بينما كان هناك ارتفاع تدريجي معنوي في المجموعة الثانية من الإرضاع.

جدول(3): تاثير مجاميع الحمل والارضاع على مستوى الالبومين في مصل الدم

المجموعة	ألبومين غم/١٠٠ مل ±الخطأ القياسي
مجموعة السيطرة	4.1 ± 0.16
المجموعة الأولى من الحمل	3.6*** ± 0.13
المجموعة الثانية من الحمل	3.0*** ±0.127
المجموعة الثالثة من الحمل	2 .8 *** ±0.121
المجموعة الأولى من الارضاع	4.0 ±0.163
المجموعة الثانية من الإرضاع	4.6*** ± 0.172

*** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.001)

جدول (4) يوضح تأثير مجاميع الحمل ومجاميع الإرضاع على فعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي حيث لوحظ أن هناك ارتفاع تدريجي معنوي لجميع مجاميع الحمل وارتفاع معنوي لمجموعتي الإرضاع مقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول (4): تأثير مجاميع الحمل والإرضاع على فعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي

المجموعة	إنزيم الفوسفوتيز القاعدي وحدة/لتر ±الخطأ القياسي
مجموعة السيطرة	74.5 ±3.97
المجموعة الأولى من الحمل	108*** ±3.48
المجموعة الثانية من الحمل	152*** ±2.33
المجموعة الثالثة من الحمل	193*** ±4.70
المجموعة الأولى من الارضاع	169*** ±2.96
المجموعة الثانية من الإرضاع	161*** ±2.04

*** تعني أن هناك فرق معنوي عند مستوى احتمالية أقل من (0.001)

المناقشة

تشير النتائج الموضحة في جدول (1) أن هناك انخفاض في مستوى تركيز الكالسيوم الكلي في مصل دم النساء الحوامل وارتفاع في مستوى تركيز كالسيوم الإدرار وهذه النتائج مطابقة للعديد من الدراسات [36,35,9] ، حيث أشارت الى أن انخفاض مستوى تركيز كالسيوم مصل الدم يعود الى استخدام الكالسيوم في عملية بناء الهيكل العظمي للجنين وكذلك نتيجة انخفاض مستوى الألبومين نتيجة توسع حجم بلازما الدم[37] وبالتالي حصول التخفيف[12]وبما أن50% من الكالسيوم مرتبط بالبروتين وخاصة الألبومين لذا يحصل انخفاض مستوى كالسيوم مصل الدم، كما ان هذا الانخفاض يحدث كنتيجة لزيادة معدل الترشيح الكبيبي وبالتالي زيادة طرح الكالسيوم الى الإدرار وهذا يفسر سبب ارتفاع مستوى تركيز كالسيوم الإدرار وهذا ما أكدته الدراسات[38,14].

كما يبين الجدول حصول ارتفاع مستوى تركيز كالسيوم مصل الدم في النساء المرضعات وانخفاض مستواه في الإدرار وهذايتوافق مع نتائج الدراسات [39,23] حيث أشارت أن سبب ارتفاع مستوى تركيز كالسيوم مصل الدم لدى النساء المرضعات على الرغم من الحاجة الى الكالسيوم لإنتاج الحليب أكثر من الحاجة للكالسيوم للنساء الحوامل يعود الى زيادة تحرك الكالسيوم من العظام للنساء المرضعات [21] مؤدياً الى حصول انخفاض الكثافة المعدنية للعظام [40] كما يحصل إعادة امتصاص الكالسيوم من قبل الأنابيب الكليوية وبالتالي انخفاض في طرح الكالسيوم الى الإدرار نتيجة انخفاض مستوى تركيز كالسيوم الإدرار.

ان السبب في تغير مستوى تركيز كالسيوم مصل الدم والإدرار لدى النساء الحوامل عن مستواه لدى النساء المرضعات يعود الى التغيرات التي تحدث خلال الحمل والإرضاع والتي تؤثر على أيض الكالسيوم.

فخلال الحمل يلاحظ زيادة في إفراز الهرمونات وخاصة الاستروجين المحافظ على العظام من الانحلال [4] وارتفاع مستوى هرمون الكالستونين الذي يمنع تحرك او انحلال الكالسيوم من العظام [6] لكن خلال الإرضاع يحصل انخفاض مستوى هرمون الاستروجين وزيادة مستوى هرمون PTHrP (هرمون جنيب الدرقية–المرتبط بالبروتين) الذي له علاقة بتحرك أو انحلال الكالسيوم من العظام [42,41] مؤدياً لحدوث هشاشة العظام osteophosis وبالتالي التعرض لخطر حدوث الكسور [30] .

وتشير النتائج الموضحة في جدول (2) أن هناك انخفاض في مستوى الفوسفور اللاعضوي لمصل دم النساء الحوامل بينما يلاحظ ارتفاع مستواه لدى النساء المرضعات وهذا يتطابق مع نتائج احدى الدراسات [27] حيث أشارت الى أن انخفاض مستواه لدى النساء الحوامل يعود الى استخدامه في عملية بناء الهيكل العظمي للجنين بينما ارتفاع مستواه لدى النساء المرضعات يعكس إعادة امتصاص الفوسفات من خلال الأنابيب الكليوية مما يسبب انخفاض في طرح الفوسفات [24]

كما يعكس تأثير انسياب الفوسفات في مجرى الدم من الغذاء المتناول نظراً لتوفر الفوسفات في عدد كبير من الأغذية المتناولة وكذلك تحرك الفوسفات من العظام [43,10]

كما أشارت النتائج في جدول (3) أن هناك انخفاض مستوى الألبومين في مصل دم النساء الحوامل وهذا يتفق مع ما أشارت إليه الدراسة [44] حيث يعد عامل التخفيف الذي يكون مرتبطاً مع توسع حجم البلازما خلال الحمل هو السبب في انخفاض الألبومين وربما أيضاً نتيجة اعتماد الجنين على غذاء الأم الحامل. بينما يلاحظ حصول ارتفاع تدريجي بمستوى الألبومين في مصل دم النساء المرضعات ليصل الى المعدل الطبيعي أو أعلى قليلاً والسبب يعود الى أن حجم البلازما يتركز أي يقل حجمها وهذا ماكدته احد ى الدراسات [12]

وتشير النتائج في جدول (4) أن هناك ارتفاع في فعالية إنزيم الفوسفوتيز القاعدي في مصل دم النساء الحوامل وهذا يتوافق مع نتائج دراسة سابقة [45] بسبب تحرره من المشيمة الى الدورة الدموية إذ ان المشيمة تحتوي على تركيز عالي من الإنزيم، بينما بينت النتائج حصول انخفاض بفعالية الإنزيم في مصل دم النساء المرضعات ناتجة عن فقدان المشيمة خلال الولادة لكن تبقى فعاليته أعلى من المعدل الطبيعي لفعالية الإنزيم وهذا ماكدته دراسات عديدة [46,8].

References

1- W.C. Waltzer, ***The Urinary Tract in Pregnancy J***., 1981, **125**, 271.
2- W.J.Dignam, Physiology of the female reproductive system, 3rd Ed., Lange, California., (1980) 59-81,.
3- D.P.Cruikshank and P.M.Hays, ***Churchill Livingston, New York***, 1986, 137.
4- G. Weiss, .Endocrinology of parturition, ***J. Clin. Endocrinol. Metab***., 2000, **85**, 4421.
5- J.Kovarik, W.Woloszczuk, W.Linkesch, R.Pavelka, ***Calcitonin in pregnancy*** (letter)., 1980, **Lancet 1**, 199.
6- O.LSilva, P. Titus, Dillon, K.I. Becker, R.H. Snider, C.F. Moore, ***J. Natl. Med. Assoc.***, 1981, **73**, 649.
7- D.D.Bikle, ,E. Gee, B.Halloran, J.G.Haddad , ***J.Clin Invest***., 1984, **74**, 1966.
8- N.A. Cross, L.S.Hillman, ,S.H. Allen, , G.F.Krause, N.E.Vieira, ***Am. J. Clin. Nutr***., 1995, **61**, 514.
9- A.Prentice., ***Am. J. clin. Nutri***. , 1994, **59**, 477S.
10- C.S.Kovacs and H.M. Kronenberg, ***Endocr Rev***., 1997, **18**, 832.
11- I.M. Theunissen, J.T. Parer, ***Clin. Obstet. Gynecol***., 1994, **37**, 3.
12- C.S.Kovacs**, *J. Clin. Endocrinol Metab***., 2001, **86**, 2344.
13- C.L.Gaboury, L.L. Woods, Semin, ***Nephrol***., 1995, **15**, 449.
14- J.M.Gertner, D.R. Coustan, A.S. Kliger, L.E. Mallette, N. Ravin, A.E.Broadus, ***Am. J. Med***., 1986, **81**, 451.
15- M.F. Sowers, B.W. Hollis, B. Shapiro, J. Randolph, C.A. Janney, D. Zhang, A. Schork, M. Crutchfield, F. Stanczyk and M.Russell- Aulet, ***J. Am. Med. Assoc***., 1996, **276**, 549.
16- B.Lund, A. Selenes, ***Acta-Endocrinol (Copenh)***., 1979, **92**, 330.

17- G.N.Kent, R.I.Price, D.H.Cutteridge, J.R. Allen, K.J. Rosman, M. Smith, C.I. Bhagat, S.G. Wilson, R.W. Retallack, , Int 3 [suppl],(1993): 44-47.
18- H.J.Kalkwarf, B.L.Specker, J.E. Heubi, N.E. Vieria, A.L. Yergey, ***Am. J. Clin. Nutr***., 1996, **63** 526.
19- M. SowersJ. ***Bon. Miner. Res.***, 1996, **11**, 1052.
20- B.Lamke, J. Brundin, P. Modbro , ***Acta. Obstet. Gynecol Scand***., 1977, **56**, 217.
21- C.C.Hayslip, T.A. Klein, H.L. Wray and W.E.Duncan, ***Obstet. Gyneco***., 1989, **73**, 588.
22- H.J.Kalkwarf, B.L. Specker, D.C Bianch, J. Ranz and M.HO, ***New England J. Med***., 1997, **337**, 523.
23- V.Grill, J. Hillary, P.M. Ho, F.M. Law, R.J. Maclsaac, J.M. Moseley, T.J. Martin , ***Clin. Endocrinol (oxf).***, 1992, **37**, 405.
24- J.Allen .,N.Kent,R. Price, D.Gutteridge ,S. Blakeman ,K. Rosman C.Bhagat, M.Smith , ***Bone Miner***., 1990, **10**, S317.
25- C .S.Kovacs, C.L. Chik , ***J. Clin. Endocrinol Metab.***, 1995, **80**, 3036.
26- M.A.Laskey, A.Prentice, L.A, Hanratty, L.M. Jarjon, B.Dibba, S.R. Beavan andT.J.Cole, ***Am. J. clin. nutri***., 1998, **67**, 685.
27- G.N.Kent, R.I.Price, D.H.Gutteridge, M.Smith, J.R. Allen, C.I Bhagat, M.P. Barnes, C.J. Hickling, R.W. Retallack, S.G.Wilson, ***J. Bone and Mine. Res***., 1990, **5**, 366.
28- G.N.Kent, R.I.Price, D.H.Gutteridge, K.J. Rosman, M.Smith, J.R. Allen, C.J. Hickling and S.L. Blackman, ***Calcifi tissue int***., 1991, **67**, 293.
29- P.J.Atkinson and R.R.West, ***J. Obstet. Gynecol. of the British Common Wealth***., 1970, **77**, 555.
30- I.R. Reid ,D.J. Wattie, M.C. Evans, A.A. Budayr, ***Clin. Endocrinol (OXF).***, 1992, **37**, 298.
31- K.Lorentz, ***Chimica. Acta***., 1982, **126**, 327.
32- H.H. Taussaky and E.Shorr, ***J. Bio. Chem.,*** 1953, **200**, 675P.
33- M.Lawrence, H. Robert and H.Gregor, Tietz N.W., 3rd ed., W.B. Saunders company, USA, A Division of Harcourt Brace and company, Philadelphia., (1999)588-590.
34- I.D. Wootton, . Microanalysis in Medical Biochemistry 4th Ed., J. and D. Churchill, LDD, London Group Limited., (1974)pp. 113.
35- R.M. Pitkin, ***Am. J. Obstet. Gynecol***., 1985, **151**, 99.
36- A. Prentice, ***Annu. Rev. Nutri.***, 2000, **20**, 249.
37- J.J.Duvekot, ,L.L.H. Peeters, ***Obstet.Gynecol.Surv***., 1994, **49**, 830.
38- T.Dahlman, H.E.Sjoberg, ,E. Bucht, , ***Acta. obstet. Gynecol Scand.***, 1994, **163**, 393.
39- L.Hillman, S. Sateesha, M.Haussler, W. Wiest, E. Slatoplsky, J. Haddad, ***Am. J. Obstet. Gynecol***., 1981, **139**, 471.
40- N.F.Krebs, C.J. Reidinger, A.D.Robertson, M. Brenner, ***Am. J. Clin. Nutr***., 1997, **65**, 1738.
41- W.A. Ratciffe ***Clin. Endocrinol (OXF)***., 1992, **37**, 675.
42- K.Lippuner, H.J. Zehnder, J.P. Casez, R. Takkinen, P. Jaeger, ***J. Bone. Miner. Res***., 1996, **11**, 1394.
43- R.M.Pitkin and M.P.Gebhardt, ***Am. J. Obstet Gynecol.***, 1977, **127**, 775.
44- J. Studd, Progress in obstetrics and Gynecology. Vol. 6, Churchill living stone., (1987)New York, pp. 23, 42, 26-31, 78-79, 102- 103.
45- J.W.Choi and S.H.Pai, ***Ann. Clin. Lab. Sci***., 2000, **30(4)**, 42.
46- A. Rodin, A. Duncan, H.W. Quartero, G.Pistofidis, G. Mashiter,K. Whitaker, D. Crook, J.C. Stevenson, M.G. Chapman and I.Fogelman, ***J. Clin. Endocrinology and metabolism***. ,1989, **68**, 1123.