

Cuantificación de la excreción fecal de elementos traza en recién nacidos como expresión de la secreción intestinal fetal*

J. González de Dios, M. Moya Benavent, E. Cortés Castell

Resumen. *Introducción.* Los elementos traza han adquirido una gran importancia en el conocimiento de la composición corporal y en su participación en el metabolismo de determinados procesos orgánicos. *Objetivos.* Conocer la concentración de los elementos traza en materiales biológicos (suero, meconio y heces) de recién nacidos (RN) pretérmino y término durante distintos días del período neonatal. *Material y métodos.* Determinación de las concentraciones de Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, P, Pb y Zn en heces y suero de 12 recién nacidos pretérmino y 38 a término, mediante espectroscopía de emisión con plasma de argón inducido (ICP). Las muestras de heces se recogieron en el 1º (meconio), 10º y 20º días de vida, y el suero durante la visita a los 10 días de vida. *Resultados.* En suero, los RN término presentaron mayor valor ($p < 0,05$) de los elementos traza potencialmente tóxicos (Al y Pb) que los RN pretérmino. En meconio, los RN pretérmino presentaron mayor excreción de Cu ($p < 0,001$) y Fe ($p < 0,01$) que los término. En las heces del 10º y 20º días los RN término presentaron mayor excreción de Fe ($p < 0,05$) que los pretérmino. La excreción fecal de todos los oligoelementos aumentó durante los días de estudio, a excepción del Mn que disminuyó. *Conclusiones.* El contenido mineral del meconio y heces en el recién nacido ha sido descrito infrecuentemente, siendo el ICP un método interesante de cuantificación de elementos traza en estas muestras biológicas durante el período neonatal.

An Esp Pediatr 1996;45:281-285.

Palabras clave: Elementos traza; Recién nacido; Meconio; Heces; Suero; Espectrofotometría de emisión atómica.

QUANTIFICATION OF TRACE ELEMENTS EXCRETION IN STOOLS OF NEWBORNS AS EXPRESSION OF FETAL INTESTINAL SECRETION

Abstract. *Objective:* Trace elements have acquired major importance in the knowledge concerning corporal composition and in the comprehension of their metabolic participation in organic processes. The objective of this study was to know the concentration of trace elements in biological material (serum, meconium and feces) from preterm and fullterm infants during the neonatal period. *Patients and methods:* Concentrations of Al, Ca, Cr Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, P, Pb and

Zn were determined simultaneously in stools and serum by induction coupled argon plasma-atomic-emission spectrometry (ICP) of 12 preterm and 38 fullterm infants. Stools were collected for the 1st (meconium), 10th and 20th day and serum on the 10th day. *Results:* Compared to serum from preterm infants, fullterm infants had an elevated ($p < 0.05$) value of potentially toxic trace elements (Al and Pb). Compared meconium from fullterm infants, preterm infants had an elevated excretion of Cu ($p < 0.001$) and Fe ($p < 0.01$). Compared to stools from the 10 and 20th day from preterm infants, fullterm infants had an elevated excretion of Fe ($p < 0.05$). Stool excretion of all of the trace elements increases throughout the days during the neonatal period, whereas Mn decreases. *Conclusions:* The mineral content of meconium and stools in newborns rarely has been described and ICP is an interesting method of assessment of trace elements in these biological samples during the neonatal period.

Key words: Trace elements. Newborn. Meconium. Stools. Serum. Spectrophotometry atomic emission.

Introducción

Los elementos traza (microminerales u oligoelementos) se encuentran en concentraciones inferiores al 0,01% ($< 100 \mu\text{g/g}$) de la masa corporal, y son indispensables para un adecuado funcionamiento metabólico⁽¹⁻³⁾. De los 15 elementos traza que se consideran esenciales en la nutrición de los mamíferos, sólo 9 de los mismos tienen realmente importancia en clínica humana: cromo (Cr), cobre (Cu), flúor (F), hierro (Fe), yodo (I), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se) y zinc (Zn). Por otra parte, dos elementos como el plomo (Pb) y el aluminio (Al) plantean problemas desde el lado de la toxicidad. Con las excepciones del Fe, F, I y el déficit grave del Zn, la identificación clínica de otros déficit de elementos traza es difícil, y debe sospecharse en presencia de circunstancias favorecedoras: ambientales, dietéticas y/o metabólicas^(1,4).

Dada la inespecificidad de la clínica en el déficit de elementos traza, se ha intentado analizar su concentración a través de los niveles plasmáticos, pero éstos dan una información muy pobre acerca de la distribución corporal total de ese nutriente, pues sólo refleja una fase transitoria de la absorción o de la movilización metabólica.

A pesar de las mejoras técnicas en la instrumentalización, la medición en plasma de alguno de estos elementos traza escapa de las rutinas, incluso de laboratorios avanzados. Esta es la razón por la cual conocemos poco del estatus nutricional de los

Servicio de Pediatría, Hospital Universitario «San Juan». Departamento de Pediatría, Universidad de Alicante.

Correspondencia: J. González de Dios. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario «San Juan». Ctra. Alicante-Valencia, s/n. 03550 San Juan de Alicante (Alicante).

* Trabajo financiado con la ayuda de la Beca de Investigación Heinz-Koch 1994

Recibido: Diciembre 1995

Aceptado: Mayo 1996

Tabla I Datos generales de la población en estudio

	G1 (n = 12)	G2 (n = 38)
Sexo (V/M)	7/5	20/18
EG (sem)	34,6 ± 1,3***	39,2 ± 1,1
Peso (g)	2.180 ± 460***	3.248 ± 540
Talla (cm)	45,3 ± 2,3***	49,5 ± 2,1
PC (cm)	31,7 ± 1,7***	34,5 ± 1,6
Parto distócico	58%	52,6%
Apgar 1 ^{er} min ≤ 6	9,1%	26,3%
pH AU	7,31 ± 0,05	7,22 ± 0,10
pH VU	7,34 ± 0,06*	7,25 ± 0,12
Reanimación con PPI	25%	21%
Hora del 1 ^{er} meconio (hs)	14,5 ± 7,3	17,0 ± 12,6
Extracción suero (días)	10,6 ± 1,3	10,6 ± 1,2

Datos expresados como media ± desviación estándar para variables cuantitativas y porcentajes para variables cualitativas.
V/M = varón/mujer
pH AU = gasometría arterial umbilical
pH VU = gasometría vena umbilical
PPI = presión positiva intermitente
* = p < 0,05; *** = p < 0,001

elementos traza, no siendo, por otro lado, superponibles los conocimientos adquiridos en un oligoelemento con los de otro.

A causa de sus bajas concentraciones en tejidos y fluidos biológicos, su valoración ha sido difícil antes de que se desarrollaran procedimientos adecuados. Las técnicas más utilizadas actualmente para su cuantificación son la espectrofotometría de emisión atómica, el análisis de emisión de plasma acoplado inductivamente.

En el estudio de los elementos traza destacamos: i) Su importancia en la nutrición infantil⁽⁵⁾; ii) El relativo desconocimiento del estatus nutricional de los elementos traza en el período neonatal; iii) La dificultad de su cuantificación, habiéndose estudiado hasta ahora principalmente la «ventana» plasmática, que ofrece una pobre información sobre la distribución corporal total de los diversos oligoelementos. El contenido de elementos traza en heces puede ser una alternativa.

El objetivo de nuestro estudio es conocer la excreción fecal de los elementos traza de importancia clínica, durante distintos momentos del período neonatal (1^o, 10^o y 20^o días), en recién nacidos (RN) a término y pretérmino.

Material y métodos

El estudio se ha realizado en la Unidad Neonatal del Hospital Universitario «San Juan» durante el período abril-diciembre de 1994, y las mediciones analíticas en la Unidad de Nutrición,

Tabla II Concentración de los elementos traza en suero de RN pretérmino (G1) y RN a término (G2) al 10^o día de vida

	G1 (n = 12)	G2 (n = 38)
Al (µg/L)	8,70 ± 8,87*	14,38 ± 10,50
Ca (mg/100 ml)	11,0 ± 2,0	11,0 ± 2,6
Cr (µg/L)	41,95 ± 42,35	45,48 ± 41,90
Cu (µg/100 ml)	68,9 ± 58,7	113,2 ± 71,0
Fe (µg/L)	51,17 ± 26,44	56,26 ± 32,49
Mg (mg/100 ml)	1,85 ± 0,71	1,94 ± 0,39
Mn (µg/L)	0,67 ± 0,68	5,15 ± 11,45
Mo (µg/L)	1,62 ± 1,27	5,83 ± 10,80
P (mg/100 ml)	6,7 ± 1,3	6,6 ± 1,3
Pb (µg/L)	1,45 ± 1,42*	5,91 ± 8,79
Zn (µg/100 ml)	61,8 ± 35,1	69,2 ± 33,9

Datos expresados como media ± desviación estándar
µg = microgramos; mg = miligramos
* = p < 0,05 (Kruskall-Wallis)

Metabolismo y Crecimiento del Departamento de Pediatría, Universidad de Alicante.

A) Material. Los pacientes se dividen en dos grupos de estudio. Grupo 1 (G1): RN pretérmino alimentados mediante lactancia artificial.

Grupo 2 (G2): RN término alimentados con lactancia materna y/o con fórmula adaptada de inicio con adición de polisacáridos de cadena larga (LCP).

Recogida de la primera deposición, para valorar la excreción de elementos traza en meconio como marcador de los eventos nutricionales en la etapa prenatal. Posteriormente, recogida de varias deposiciones (2 ó 3) durante los días 10^o y 20^o de vida.

En el día 10^o de vida también se extrae una muestra de sangre que se centrifuga, para aislar el suero. Adaptamos en lo posible la extracción del suero a las necesidades del RN.

Las muestras de heces y suero se guardan en todo momento en congelador (a -20 °C) hasta su determinación analítica.

En cada paciente se confecciona una ficha con los siguientes datos: sexo, edad gestacional, somatometría al nacimiento, características del embarazo, parto y reanimación, y motivo de ingreso en la Unidad Neonatal; se anota el tiempo que transcurre en realizar el primer meconio tras el nacimiento, y el tipo de lactancia durante el período de recogida.

B) Métodos. Los minerales incluidos en nuestro estudio se han clasificado en tres grupos: macrominerales (Ca, Mg y P), microminerales (Cr, Cu, Fe, Mn, Mo y Zn) y minerales con capacidad tóxica conocida (Al y Pb).

- *Preparación de la muestra:* La preparación de las heces se ha efectuado mediante calcinación de un peso de muestra conocido a 800 °C. Las muestras son previamente desecadas

Tabla III Concentración de la excreción de elementos traza en meconio de RN pretérmino (G1) y RN a término (G2)

	G1 (n = 12)	G2 (n = 38)
Al (µg/g heces)	43,0 ± 61,0	23,0 ± 34,0
Ca (mg/g heces)	1,2 ± 3,0	1,3 ± 2,6
Cr (µg/g heces)	3,2 ± 2,2	2,4 ± 1,7
Cu (µg/g heces)	77,2 ± 40,0***	36,4 ± 21,2
Fe (µg/g heces)	58,5 ± 32,2**	46,4 ± 51,3
Mg (µg/g heces)	503,0 ± 230,0	514,0 ± 340,0
Mn (µg/g heces)	5,2 ± 5,6	4,1 ± 4,1
Mo (ng/g heces)	187,0 ± 112,0	145,0 ± 154,0
P (µg/g heces)	97,0 ± 90,0	73,0 ± 105,0
Pb (ng/g heces)	445,0 ± 586,0	289,0 ± 271,0
Zn (µg/g heces)	48,0 ± 26,0	76,0 ± 72,0

Datos expresados como media ± desviación estándar
 ng = nanogramos; µg = microgramos; mg = miligramos.
 ** = p < 0,01; *** = p < 0,001 (Kruskall-Wallis)

con gradiente de temperatura hasta 100 °C, y posteriormente calcinada mediante incrementos programados de temperatura hasta 800 °C para evitar salpicaduras y consiguientes pérdidas. Posterior pesada de las cenizas y disolución con 10 ml de HCl 1M. Filtrado para eliminar los restos insolubles con filtro de 0,45 µm.

Los sueros se diluyen directamente 1/10 con agua bidestilada, desionizada y acidulada con HCl.

Todos los estándares (Titrisol[®], Merck) y patrones (Precinorm[®], Boehringer) se diluyen con la misma agua acidulada utilizada anteriormente.

- *Determinación de los elementos traza:* Se han cuantificado los iones metálicos, tanto en heces como en suero, mediante espectroscopía de emisión con plasma de argón inducido (ICP, Inductively Coupled Argon Plasma), Perkin Elmer modelo Optima 3000 con nebulizador Cross-flow y detección Diodo-Array.

En cada fase de estudio se cuantifican los oligoelementos en las heces recogidas en 2-3 deposiciones/día, expresándose el peso del elemento traza por gramo de heces.

Estudio estadístico. En una primera fase se recogió y almacenó la información de cada sujeto con la ayuda del programa Database III Plus, depurándose los ficheros con las variables de interés. El análisis estadístico se realizó en el programa Epi-Info. Se estimaron las medias con sus desviaciones estándar para las variables continuas y las proporciones para las variables categóricas. Para la comparación de medias aritméticas se utilizó el test de Kruskall-Wallis, al tener grupos con menos de 30 individuos cuyos valores no siguen la curva de Gauss. Para la comparación de las variables categóricas se utilizó el test de la «chi» cuadrado, aplicando la corrección de Yates y/o la prueba

Tabla IV Concentración de la excreción de elementos traza en las heces del 10º día de RN pretérmino (G1) y RN a término (G2)

	G1 (n = 12)	G2 (n = 38)
Al (µg/g heces)	62,0 ± 44,0	52,0 ± 55,0
Ca (mg/g heces)	10,4 ± 6,2	8,0 ± 4,3
Cr (µg/g heces)	5,4 ± 2,1	4,8 ± 3,0
Cu (µg/g heces)	60,4 ± 69,8	42,7 ± 32,0
Fe (µg/g heces)	72,5 ± 59,4*	166,5 ± 129,2
Mg (µg/g heces)	654,0 ± 368,0	564,0 ± 355,0
Mn (µg/g heces)	1,1 ± 0,8	1,1 ± 0,6
Mo (ng/g heces)	167,0 ± 96,0	155,0 ± 90,0
P (µg/g heces)	492,0 ± 637,0	240,0 ± 482,0
Pb (ng/g heces)	1.209,0 ± 1.262,0	574,0 ± 549,0
Zn (µg/g heces)	111,0 ± 60,0	109,0 ± 78,0

Datos expresados como media ± desviación estándar
 ng = nanogramos; µg = microgramos; mg = miligramos
 * = p < 0,05 (Kruskall-Wallis)

exacta de Fisher cuando fue necesaria⁽⁷⁾.

Resultados

Se estudiaron un total de 50 RN, con la siguiente distribución: 12 en G1 (RN pretérminos) y 38 en G2 (RN a término).

En la **Tabla I** se reflejan los datos generales de la población de estudio. Las diferencias significativas se corresponden, lógicamente, a la menor edad gestacional y somatometría de los RN del G1 respecto a los del G2.

También difieren los motivos de ingreso en la Unidad Neonatal: en el G1 el motivo es la prematuridad-bajo peso en todos; en el G2 predominan la observación por riesgo de aspiración meconial⁽¹⁰⁾, asfixia perinatal leve⁽⁹⁾, dificultad respiratoria⁽⁶⁾ y observación. La asfixia perinatal predominante en el G2 puede explicar la menor puntuación en los valores de la gasometría de vena umbilical encontrada en estos pacientes.

En la **Tabla II** se expresan los valores en suero (al 10º día) de los elementos traza en estudio. Las únicas diferencias significativas (p < 0,005) se encuentran en los elementos tóxicos (Al y Pb), presentando los RN a término una mayor concentración de ambos que los RN pretérmino. Destaca la gran disparidad de valores encontrados.

En la **Tabla III** se expresan los valores de los elementos traza en meconio. Las únicas diferencias significativas es que los RN pretérmino presentan mayor excreción de Cu (p < 0,001) y Fe (p < 0,01) en meconio que los RN a término. La dispersión de valores es grande, pero no tanto como la encontrada en suero.

En la **Tabla IV** se expresan los valores de los elementos traza en las heces del 10º día. La única diferencia significativa es que los RN a término presentan mayor excreción de Fe (p < 0,05) que los RN pretérmino.

En la **Tabla V** se expresan los valores de los elementos tra-

za en las heces del 20° día. La única diferencia significativa es que los RN a término presentan mayor excreción de Fe ($p < 0,05$) que los RN pretérmino.

Evolutivamente, en las tres muestras estudiadas de heces (meconio, 10° y 20° días), se aprecia un aumento progresivo en la excreción de todos los elementos traza, salvo en el Mn que disminuye en RN pretérmino y RN a término. La excreción fecal de Cu en RN pretérmino permanece relativamente estable en las tres muestras estudiadas.

Discusión

La ICP es un tipo de espectroscopía atómica muy exacta, que basa su potencia en la vaporización y excitación de los elementos por la ionización del gas inerte argón (formación de plasma de argón), lo cual hace conseguir a la muestra temperaturas entre 5.500 y 8.000 °Kelvin. Estas temperaturas permiten una atomización completa de los elementos, minimizando los efectos de interferencia⁽⁶⁾.

Se pueden obtener buenos espectros para la mayoría de los elementos bajo el mismo tipo de condiciones de excitación; en consecuencia, es posible registrar simultáneamente los espectros para múltiples oligoelementos en pequeñas muestras, tal como se refleja en nuestro estudio. En esta aplicación, la ICP no es superada por ninguna otra técnica.

Presenta, frente a las técnicas habituales de espectroscopía atómica, una mayor sensibilidad y además la posibilidad de simultanear la cuantificación de un gran número de elementos, escogiendo las bandas de emisión exclusivos de cada uno de ellos, con las consiguientes ventajas de tiempo y muestras a utilizar. Como inconvenientes de esta técnica cabe reseñar la limitación como técnica de rutina por su alto costo y la necesidad de un operador especializado con experiencia para eliminar las frecuentes interferencias espectrales.

La importancia de los elementos traza en el feto y RN ha sido bien establecida, inicialmente extrapolando en el hombre datos experimentales de animales⁽⁸⁾.

Los elementos traza han sido ampliamente estudiados en el período neonatal desde distintos puntos de vista: en el RN pretérmino^(9,10) y en el RN a término⁽¹¹⁾; en madres gestantes⁽¹²⁾; en el binomio madre-hijo^(13,14), incluyendo determinadas peculiaridades: madres fumadoras⁽¹⁵⁾, relación con el parto pretérmino y rotura prematura de membranas⁽¹⁶⁾, ...; en el líquido amniótico⁽¹⁷⁾; en el tipo de lactancia: materna⁽¹⁸⁾ o fórmula adaptada⁽¹⁹⁾. La mayoría de los estudios cuantifican los oligoelementos en suero.

En el meconio se han determinado proteínas, lípidos y otros compuestos^(20,21), pero son escasos los estudios respecto al análisis de su contenido mineral⁽²²⁾.

En la revisión realizada (por medio del sistema de búsqueda bibliográfica informatizada Medline) durante el período 1982-primer semestre 1995 (utilizando como palabras clave «trace elements and newborn»), sólo hemos detectado un estudio similar al nuestro⁽²³⁾. En dicho trabajo se analiza el contenido de elementos traza en meconio de 23 RN pretérmino (29 ± 3 sem) y 27 RN a término ($39,5 \pm 1$ sem), encontrando que

Tabla V Concentración de la excreción de elementos traza en las heces del 20° día de RN pretérmino (G1) y RN a término (G2)

	G1 (n = 12)	G2 (n = 38)
Al (µg/g heces)	76,0 ± 61,0	52,0 ± 43,0
Ca (mg/g heces)	11,8 ± 6,3	8,5 ± 5,3
Cr (µg/g heces)	7,3 ± 3,7	5,6 ± 6,6
Cu (µg/g heces)	65,0 ± 28,2	54,0 ± 36,0
Fe (µg/g heces)	109,5 ± 123,3*	248,0 ± 256,0
Mg (µg/g heces)	838,0 ± 555,0	725,0 ± 460,0
Mn (µg/g heces)	1,1 ± 0,8	1,3 ± 0,7
Mo (ng/g heces)	257,0 ± 215,0	238,0 ± 337,0
P (µg/g heces)	671,0 ± 925,0	196,0 ± 392,0
Pb (ng/g heces)	1.083,0 ± 541,0	743,0 ± 831,0
Zn (µg/g heces)	119,0 ± 85,0	124,0 ± 91,0

Datos expresados como media ± desviación estándar
 ng = nanogramos; µg = microgramos; mg = miligramos
 * = $p < 0,05$ (Kruskall-Wallis)

estos últimos excretan mayor cantidad de Zn, Cu, Mn, pero no de Fe y Cr.

En nuestro estudio demostramos mayor excreción de Fe y Cu en el meconio de RN a término, si bien nuestra población de prematuros presenta, comparativamente, mayor edad gestacional ($34,6 \pm 1,3$ sem) que el trabajo previamente reseñado. En las heces del 10° y 20° días sólo persiste una mayor excreción de Fe en las heces de los RN a término.

Todos los elementos traza incrementan su excreción en las distintas muestras de heces analizadas al 1°, 10° y 20° días de vida, a excepción del Mn que disminuye. No podemos establecer una hipótesis a este particular comportamiento del Mn, siendo además un oligoelemento poco estudiado⁽²⁴⁾.

Los microminerales tóxicos (Al, Pb, Hg, Cd, ...) son, actualmente, motivo frecuente de estudio^(25,26). Llama la atención que la única diferencia significativa en el suero de nuestra población sea la mayor concentración en RN a término de los dos elementos tóxicos analizados (Al y Pb).

Por consiguiente, las variaciones encontradas en la excreción fecal de elementos traza por la técnica ICP se debe a la variabilidad individual de los recién nacidos, que aun incluso se pone de manifiesto durante una etapa de relativo reposo digestivo como es el período fetal.

En conclusión, el estudio de la excreción fecal de los elementos traza en el período neonatal por ICP abre prometedoras vías de estudio en el conocimiento del metabolismo y estatus nutricional de estos micronutrientes.

Bibliografía

- 1 Moya M. Suplementos minerales y vitamínicos. *Rev Esp Pediatr* 1991;47:283-291.
- 2 Nielsen FH. Trace and ultratrace elements in health and disease.

Comprehensive Therapy 1991;**17**:20-26.

- 3 Ernst JA, Neal PR. Minerals and trace elements. En: Fetal and Neonatal Physiology. Polin RA y Fox WW (eds). W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1992; págs. 239-247.
- 4 Söderhjelm ML. Some reflections on trace elements in pediatrics. *Acta Ped Scand* 1985;**74**:17-19.
- 5 Villa Elizaga I, Gost Garde JI. Elementos traza en nutrición infantil. Libro de Ponencias de la XXV Reunión Anual de la AEP. Barcelona 1994; págs. 24-30.
- 6 Sanz Medel A. Generación y características fundamentales de los diversos plasmas utilizados en el análisis espectroquímico. *Quím Analít* 1984;**4**:245-279.
- 7 Carrasco JL. El método estadístico en la investigación médica. Ed. Ciencia 3. Madrid, 1984.
- 8 Pleban PA, Numerof BS, Wirth FH. Trace elements in the fetus and neonate. *Clin Endocrinol Metab* 1985;**14**:545-566.
- 9 Shaw JC. Trace metal requirements of preterm infants. *Acta Ped Scand* 1982;**296**(Suppl):93-100.
- 10 Power HJ. Micronutrient deficiencies in the preterm neonate. *Proc Nutr Soc* 1993;**52**:285-291.
- 11 Moro R, Gialanella G, Zhang YX, Perrone L, Di Toro R. Trace elements in full-term neonate hair. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1992;**6**:27-31.
- 12 Bougle D, Foucault P, Voirin J y cols. Taux du molybdene, du selenium et du cuivre plasmatique a l'accouchement. *Arch Fr Pediatr* 1989;**46**:95-98.
- 13 Takacs S, Tatar A, Barkai L. Trace elements in the human blood, cerebrospinal and amniotic fluid. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1992;**193**:329-341.
- 14 Schramel P, Lill G, Hasse S, Klose BJ. Mineral -and trace element concentrations in human breast milk, placenta, maternal blood, and the blood of the newborn. *Biol Trace Elem Res* 1988;**16**:67-75.
- 15 Kuhnert BR, Kuhnert PM, Debanne S, Williams TG. The relationship between cadmiun, zinc, and birth weight in pregnant women who smoke. *Am J Obstet Gynecol* 1987;**157**:1245-1251.
- 16 Kiilholma P, Gronroos M, Erkkola R, Pakarinen P, Nanto V. The role of calcium, copper, iron and zinc in preterm delivery and premature rupture of fetal membranes. *Gynecol Obstet Invest* 1984;**17**:194-201.
- 17 Stoll C, Dott B, Maier EA, Leroy MJ. Oligo-elements du liquide amniotique des foetus normaux, hypotrophes et trisomiques 21. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1990;**85**:45-48.
- 18 Parr RM, DeMaeyer EM, Iyengar VG y cols. Minor and trace elements in human milk from Guatemala, Hungary, Nigeria, Philippines, Sweden and Zaire. Results from a WHO/IAEA joint project. *Biol Trace Elem Res* 1991;**29**:51-75.
- 19 Lonnerdal B. Trace element absorption in infants as a foundation to setting upper limits for trace elements in infant formulas. *J Nutr* 1989;**119**:1839-1844.
- 20 Buchanan DJ, Rapoport S. Chemical comparison of normal meconium and meconium from a patient with meconium ileus. *Pediatrics* 1952;**9**:304-310.
- 21 Terasaka D, Clark DA, Singh BN y cols. Free fatty acids of human meconium. *Biol Neonate* 1986;**50**:16-20.
- 22 Kopito L, Shwachman H. Mineral composition of meconium. *J Lab Clin Med* 1966;**68**:313-314.
- 23 Friel JK, Matthew JD, Andrews WL, Skinner CT. Trace elements in meconium from preterm and full-term infants. *Biol Neonate* 1989;**55**:214-217.
- 24 Friel JK, Penney S, Reid DW, Andrews WL. Zinc, copper, manganese, and iron balance of parenterally fed very low birth weight preterm infants receiving a trace element supplement. *J Parenter Enteral Nutr* 1988;**12**:382-386.
- 25 Plockinger B, Dadak C, Meisinger V. Blei, quecksilber und cadmiun bei neugeborenen und deren Muttern. *Z Geburtshilfe Perinatol* 1993;**197**:104-107.
- 26 Schramel P, Hasse S, Ovcár Pavlu J. Selenium, cadmiun, lead, and mercury concentrations in human breast milk, in placenta, maternal blood, and the blood of the newborn. *Biol Trace Elem Res* 1988;**15**:111-124.