



# Alimentación y exposición a tóxicos durante el embarazo

UNIVERSITAT  
Miguel  
Hernández

Tesis doctoral presentada por:

**Rosa María Ramón Bonache**







Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y  
Ginecología  
Universidad Miguel Hernández  
Alicante, 2009

Alimentación y exposición a tóxicos durante el  
embarazo: Efecto de la ingesta de frutas y verduras,  
del pescado y de la exposición prenatal a mercurio  
sobre el crecimiento fetal

Memoria de tesis doctoral presentada por  
Rosa María Ramón Bonache

Directores: Dr. Ferran Ballester Díez  
Dr. Jesús Vioque López  
Dra. Marisa Rebagliato Ruso





Dr. Enrique Perdiguero Gil, Director del Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández

**CERTIFICA:**

Que Rosa María Ramón Bonache ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de tesis doctoral titulada **“Alimentación y exposición a tóxicos durante el embarazo: Efecto de la ingesta de frutas y verduras, del pescado y de la exposición prenatal a mercurio sobre el crecimiento fetal”**, cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo en forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de doctor.

Lo que certifico en San Juan de Alicante, a diecinueve de mayo de dos mil nueve.

Enrique Perdiguero Gil  
Director del Departamento



FERRAN BALLESTER DIEZ, Doctor en Medicina y Profesor Asociado de Universidad, JESÚS VIOQUE LÓPEZ, Profesor Titular de Universidad y MARISA REBAGLIATO RUSO, Profesora Titular de Universidad.

## **CERTIFICAN**

Que la presente memoria para acceder al grado de Doctor, que lleva por título **“Alimentación y exposición a tóxicos durante el embarazo: Efecto de la ingesta de frutas y verduras, del pescado y de la exposición prenatal a mercurio sobre el crecimiento fetal”** de la que es autora Rosa María Ramón Bonache, ha sido realizada bajo su dirección.

Y para que así conste expido la presente certificación en San Juan a diecinueve de mayo de dos mil nueve.

Fdo:

Ferran Ballester Diez

Jesús Vioque López

Marisa Rebagliato Ruso





*A mis hijas, Agueda y Mar*





## PRESENTACION DE LA TESIS

Esta tesis doctoral se presenta con un conjunto de publicaciones, de acuerdo a la normativa vigente en la Universidad Miguel Hernández. Siguiendo esta normativa, esta tesis consta de una introducción general, de los artículos de investigación publicados o enviados para publicación, una discusión general, las conclusiones finales y recomendaciones así como de un resumen global. De los tres artículos que la componen, dos están publicados y uno enviado para publicación en revistas de divulgación científica internacional. Los tres artículos son contribuciones originales con datos provenientes de un proyecto de investigación, la red de investigación colaborativa INfancia y Medio Ambiente (INMA), que se constituyó en 2003 con financiación del Instituto de Salud Carlos III (G03/176) y se ha cofinanciado con proyectos de investigación FIS (FIS 03/1615, FIS 04/1112, FIS 04/1509, FIS 05/1052) y Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2002-03508). El tema central de la tesis es la influencia de la alimentación y de la exposición a tóxicos medioambientales en el crecimiento fetal. Concretamente, se ha estudiado el efecto sobre el crecimiento fetal de dos grupos de alimentos que son considerados de gran relevancia para la salud en la actualidad, el de las frutas y verduras por su aporte en ácido fólico, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos, y el de pescado por su aporte principal en ácidos grasos esenciales omega 3. Siendo el pescado un alimento controvertido por su contenido en mercurio, se ha estudiado la exposición prenatal a mercurio y sus factores determinantes así como su papel en el crecimiento fetal cuando se estudia conjuntamente con el consumo de los diferentes tipos de pescado.

Mi participación desde el inicio del proyecto, como contratada a tiempo completo, consistió en organizar y coordinar el trabajo de campo, realizar la monitorización de la cohorte de embarazo, contribuir a la divulgación científica. Fui además investigadora principal del FIS 04/1112.



## AGRADECIMIENTOS

Si a Santi Perez Hoyos no se le hubiera ocurrido enviar mi currículum a la UMH el verano de 2002, que consiguió cuando me presenté a una plaza de becaria, que no me concedieron, y si Julia del Amo no me hubiera llamado desde la UMH, comprendiendo lo que se siente cuando se vuelve del extranjero, probablemente no me hubiera incorporado al mundo de la investigación en España y mi vida profesional hubiera sido diferente. Por todo ello, les agradezco en primer lugar el que haya sido posible la realización de este trabajo de investigación.

Mi mayor agradecimiento va dirigido a todas las mujeres participantes en el proyecto INMA y a sus recién nacidos, sin los cuales este trabajo no hubiera podido realizarse. Siempre me maravillará la implicación de las madres sobre todo lo que concierne a la maternidad y la de su participación en un proyecto de investigación, sabiendo que no obtendrán de él un beneficio personal a corto plazo, si no que contribuirán a que se avance a mejorar la salud en otras poblaciones.

A Ferran Ballester, codirector de la tesis, por haberme involucrado en el mundo de los tóxicos, en concreto del mercurio, por haber guiado los trabajos, haberme ayudado a hacerme autónoma en el análisis de datos y haber supervisado todo el trabajo científico que comporta esta tesis. También por los muchos "ratos" pasados juntos discutiendo sobre el tema, el enfoque que le dábamos, como lo que teníamos que analizar, entendido con rapidez mis pensamientos y notas.

A Marisa Rebagliato, codirectora de la tesis, por haberme introducido en el proyecto INMA, por haberme guiado en la metodología y haberme llevado al campo de la nutrición. A Marisa le agradezco los años que pasé trabajando en su casa, por lo que no puedo dejar de agradecer también a su familia, Vicent y Miguel y a Maruja, por haber "soportado" mi presencia durante todos esos años.

A Jesús Vioque, codirector de la tesis, por haberme introducido en la epidemiología de la nutrición y haberme enseñado lo que sé sobre la evaluación de la ingesta alimentaria.

A Joaquín García Aldeguer, de la secretaría de la UMH, sin cuya ayuda inestimable y eficacia en todos los aspectos administrativos y de gestión del doctorado y de la tesis, así como en la gestión de proyectos, el proceso hubiera

sido mucho más largo y penoso. Le agradezco su amabilidad y buena disponibilidad.

Al personal que realizó el trabajo de campo en el Hospital la Fe, trabajadoras de campo y encuestadoras. Al resto de compañeras que se ubicaba en la EVES y también participaba en los trabajos de campo. Especialmente a Ana Esplugues, cuya juventud y madurez conjuntas hicieron menos penosos algunos duros momentos del trabajo de campo y más agradables los buenos momentos. De la segunda etapa que pasé ubicada en la EVES, agradezco a Amparo Cases por su saber hacer, su responsabilidad y su gran simpatía.

A Marina Lacasaña, por el tiempo que compartimos en el trabajo de campo y en el científico, por los momentos pasados en el Hospital la Fe. También por la amistad que ha perdurado entre nosotras.

Al equipo de estadísticos del proyecto INMA Valencia, Carmen Iñiguez y Mario Murcia, cuya ayuda metodológica ha sido imprescindible en la investigación y cuyos consejos personales me han ayudado a avanzar en el análisis de datos. A M<sup>a</sup> Paz por el tiempo dedicado a la monitorización. Quiero también agradecer a Marisa Estarlich por su simpatía y su buena disponibilidad a echarme siempre una mano con Stata y SPSS (ah! Y por supuesto por el mapa de la zona de estudio).

Al equipo INMA de las otras comunidades. Especialmente a Núria Ribas, por su saber hacer y los momentos de trabajo compartidos cuando ella era la coordinadora de la red INMA. Le agradezco también el trabajo realizado en su tesis doctoral que me introdujo en el vasto mundo de la exposición crónica a tóxicos persistentes y sus efectos en la salud infantil y me ha servido de guía para elaborar mi propia tesis.

A los responsables de los servicios del hospital La Fe que participaron en el proyecto, Alfredo Marco de pediatría y Alfredo Perales de ginecología. Así mismo a todas las matronas, a las personas que separaban la sangre de las madres para el proyecto INMA, a Amaya y las residentes de ginecología por el procesamiento de la sangre de cordón. No puedo por último, dentro de la Fe, olvidarme del servicio de informática del hospital, especialmente de Juanjo e Isabel, que hicieron posible el seguimiento de las mujeres de la cohorte y la recuperación de la información de visitas y parto.

Agradezco muy especialmente a Xabier Aguinagalde y a Ascensión Amurrio, del laboratorio de Salud Pública de Vitoria, porque sin ellos y su eficacia en el análisis

de las muestras de mercurio, no hubiera sido posible la realización de esta tesis. He dejado este lugar al final de todos los que estaban ligados de una u otra forma al proyecto INMA de manera expresa porque cierra el ciclo que inició Santi el día que decidió enviar mi CV a la UMH. Agradezco a Xabier por la cordial colaboración y el intercambio que hemos llevado sobre información del mercurio. Aprovecho para agradecer también a Jesús Ibarluzea, del País Vasco, por su simpatía y apoyo.

No puedo dejar de agradecer a todas mis compañeras de la Conselleria, del Servicio de Salud Infantil y de la Mujer, con las que trabajo desde agosto de 2008, por la acogida que me han hecho y por la comprensión hacia alguien que no sólo cambia de trabajo si no que tiene que terminar una tesis doctoral al mismo tiempo. Especialmente a Ana Fullana, M<sup>a</sup> Jesús Redondo y Marisa Carpio de mi sección.

Agradezco también a mi queridísima sobrina Lorena por haberme hecho el montaje final de edición y haberme diseñado el estupendo dibujo de la portada. A Maribel Zomeño por la ayuda prestada y el tiempo dedicado a mejorar la presentación visual de la tesis.

Y finalmente a mi familia, que con una gran paciencia ha sobrellevado mis ausencias y el mucho tiempo que he dedicado al trabajo, sin contar con mis ocasionales bajadas de ánimo. Sin la comprensión y la ayuda de Paco habría sido simplemente imposible. Y a mis hijas, Agueda y Mar, por el tiempo que les he quitado en su infancia. Sólo espero que les haya servido de lección, una mujer debe hacer todo lo posible por ser independiente y avanzar en su trabajo.





<b>PRESENTACION DE LA TESIS</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>ii</b>
<b>INDICE</b> .....	<b>v</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>1</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUCCION</b> .....	<b>7</b>
1. Embarazo, alimentación y medio ambiente .....	7
2. Ingesta de frutas y verduras durante el embarazo y crecimiento fetal .....	11
3. Ingesta de pescado durante el embarazo y crecimiento fetal .....	15
4. Exposición prenatal a mercurio y crecimiento fetal .....	17
a. El mercurio .....	17
b. Mercurio y crecimiento fetal .....	19
c. Exposición prenatal a mercurio .....	24
d. Recomendaciones de consumo de pescado en población Vulnerable .....	25
5. El proyecto Infancia y Medio Ambiente (INMA) .....	27
<b>JUSTIFICACION</b> .....	<b>29</b>
<b>HIPOTESIS</b> .....	<b>31</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>33</b>
<b>METODOLOGIA Y RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
<b>Artículo 1.</b> Vegetable but not fruit intake during pregnancy is associated with newborn anthropometric measures .....	39
<b>Artículo 2.</b> Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain .....	47
<b>Artículo 3.</b> Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother- infant cohort study in Spain .....	59
<b>DISCUSION</b> .....	<b>95</b>
1. Sobre la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo y su efecto sobre el crecimiento fetal .....	95
2. Sobre la exposición prenatal a mercurio .....	97
3. Sobre el consumo de pescado durante el embarazo, la exposición prenatal mercurio y el crecimiento fetal .....	101
4. Sobre las limitaciones del estudio .....	104
5. Sobre las implicaciones en Salud Pública del estudio .....	106
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>109</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>113</b>

<b>Anexo 1.</b> Ramón R. J Epidemiol Community Health. 2008 .....	113
<b>Anexo 2.</b> Lo que Usted Necesita Saber Sobre el Mercurio en el Pescado y los Mariscos .....	117
<b>Anexo 3.</b> Ramón R. Rev Esp Salud Pública. 2005 .....	121
<b>Anexo 4.</b> Ribas-Fito N. Paediatric Perinat Epidemiol. 2006 .....	141
<b>Anexo 5.</b> Cuestionario de Frecuencia de Alimentos .....	151
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>157</b>
<b>REFLEXION FINAL</b> .....	<b>175</b>



## ABREVIATURAS

ATSDR: U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry

DHA: ácido docosahexaenoico

FDA: Food and Drug Administration

JECFA: Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants

Hg: mercurio

OMS: Organización mundial de la Salud

PEG: pequeño para la edad gestacional

PCB: bifenilos policlorados

RfD: reference dose

US EPA: US Environmental Protection Agency





---

## RESUMEN

---

### ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

Existe cada vez mayor evidencia científica sobre el papel de la alimentación y de la exposición a tóxicos durante el embarazo sobre el crecimiento fetal, así como sobre su influencia en el crecimiento y desarrollo del niño en etapas posteriores de la vida e incluso en el riesgo de padecer enfermedades crónicas en la edad adulta. Existen dos grupos de alimentos considerados de gran relevancia para la salud en la actualidad, el de las frutas y verduras por su aporte en ácido fólico, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos, y el de pescado por su aporte principal en ácidos grasos esenciales omega 3. El papel de las frutas y verduras sobre el crecimiento fetal es poco conocido en la actualidad. Los resultados del efecto del pescado sobre el crecimiento fetal son inconsistentes, ya que debido al posible acumulo de tóxicos, el efecto dependerá del tipo de pescado consumido. Pocos estudios han abordado el tema considerando los distintos tipos de pescado junto con la exposición prenatal a mercurio. Los objetivos del presente trabajo son los de evaluar el efecto del consumo de frutas y verduras durante el embarazo sobre el crecimiento fetal, determinar el papel del consumo de los distintos tipos de pescado en la exposición prenatal a mercurio y evaluar su efecto conjunto sobre el crecimiento fetal.

### MÉTODOS

Entre mayo de 2004 y febrero de 2006 se incluyeron 787 recién nacidos de las madres pertenecientes al proyecto Infancia y Medio Ambiente (INMA) procedentes de las áreas sanitarias 5 y 6 de la Comunidad Valenciana. Se realizó un primer análisis de exposición prenatal a mercurio en 253 recién nacidos y para el estudio de la asociación entre el mercurio y el crecimiento fetal se dispuso de sangre de cordón para 554 recién nacidos.

El diseño es un estudio de cohorte en el que se reclutaron las madres en el primer trimestre del embarazo y se siguieron hasta el nacimiento de sus bebés. La evaluación de la ingesta dietética se realizó mediante cuestionario de frecuencia de alimentos administrado mediante encuestador en el primer y

tercer trimestre. Los datos socio-demográficos y de estilo de vida se recogieron mediante cuestionario estructurado en entrevista personal. La antropometría al nacimiento, peso y talla, se recogió de los registros hospitalarios. El mercurio total se midió en sangre total de cordón umbilical. Se ha analizado mediante regresión lineal múltiple la asociación entre los factores de exposición y el peso y talla estandarizados por edad gestacional y mediante regresión logística la asociación con pequeño para edad gestacional de peso y talla (PEG), definidos como el peso y la talla por debajo del 10° percentil.

## RESULTADOS

La ingesta media de verduras fue de 293.0 (DE: 216.1) g/d; aproximadamente un 40% de las mujeres consumían verdura por debajo de 200 g/d. Una baja ingesta de verduras se asoció negativamente con el peso y la talla al nacimiento ajustados por edad gestacional de forma no lineal; los recién nacidos de madres en los dos quintiles más bajos de ingesta en el primer trimestre de la gestación presentaron un peso y talla significativamente menor que los recién nacidos en el cuarto quintil pero no con respecto al quinto. Las mujeres en el quintil más bajo de ingesta durante el primer trimestre presentaron un riesgo mayor de tener un bebé pequeño para edad gestacional (PEG) de peso que las mujeres en el quintil superior (OR: 3,7; 95% IC: 1,5-8,9; *P* de tendencia < 0,001) y un mayor riesgo de tener un bebé PEG de talla en el tercer trimestre (OR: 5,5; 95% IC: 1,7-17,7; *P* de tendencia < 0,04). La fruta no mostró asociación con la antropometría al nacimiento.

Los recién nacidos presentaron niveles detectables de mercurio total en un 98% de los casos. La media geométrica fue de 9,9 µg/L (95%IC: 9,0-10,8). El 75% de los recién nacidos presentaron niveles por encima del límite recomendado de 5,8 µg/L. Las mujeres que consumían una ración dos o más veces a la semana de pescado azul grande, blanco o frito variado presentaron niveles de mercurio total en sangre de cordón 1,6, 1,4 y 1,3 veces superior a las mujeres que consumían esos pescados de forma infrecuente (nunca o menos de una vez al mes). Otros factores asociados de forma independiente y significativa a los niveles de mercurio fueron la edad de la madre, el país de origen, fumar durante el embarazo y la estación del año en el momento del parto.

Los recién nacidos que presentaron niveles de exposición a mercurio en el cuartil superior pesaron 143,7 g menos (IC: -251,8, -35,6) y tuvieron un mayor riesgo de PEG de talla (OR: 5,3; 95%IC: 1,2-23,9) que los del cuartil inferior. El consumo de atún en lata se asoció con mayor peso al nacimiento, 116,4 g más (95%IC: 3,0-230,0) en las mujeres que consumían dos o más raciones a la semana respecto a las que consumían de forma ocasional. El consumo de dos o más raciones a la semana de pescado blanco se asoció a un menor riesgo de PEG de talla (OR: 0,1, 95%IC: 0,0-0,6) y el de pescado azul grande con un mayor riesgo de PEG de peso (OR: 4,6, 95%IC: 1,4-15,4) con respecto al consumo más bajo.

## CONCLUSIONES

Una proporción no despreciable de mujeres, dos quintos de las mismas, consumían verdura por debajo de las recomendaciones propuestas por grupos de expertos. Un consumo bajo de verduras durante la gestación (primer y tercer trimestres) se ha asociado con efectos adversos sobre la antropometría al nacimiento (peso, talla o riesgo de PEG) en los recién nacidos de la cohorte.

Los niveles de exposición prenatal a mercurio encontrados en esta población son elevados y se relacionan principalmente con el consumo de pescado. Una gran proporción de recién nacidos superan la dosis de referencia establecida por la Agencia de Protección Ambiental americana (US. EPA), siendo comparables a los de comunidades con gran consumo de pescado como Taiwán y Japón.

La exposición prenatal a mercurio en los recién nacidos de la cohorte se ha asociado a efectos adversos en el peso al nacer y en el riesgo de PEG para talla. El papel del pescado en el peso, talla o en el riesgo de PEG depende del tipo de pescado consumido. El consumo de pescado azul grande durante el embarazo representa un riesgo de efectos adversos en el crecimiento intrauterino independiente de su contenido en mercurio debido probablemente a su contenido en otros contaminantes persistentes.





---

## INTRODUCCIÓN

---

### 1. EMBARAZO, ALIMENTACION Y MEDIO AMBIENTE

Somos culpables de muchos errores y muchas faltas. Pero nuestro peor crimen es el abandono de la infancia, descuidando la fuente de la vida. Muchas de las cosas que necesitamos pueden esperar. El niño no puede. Ahora es el momento en que sus huesos se están formando, su sangre se está haciendo y sus sentidos se están desarrollando. A él no podemos contestarle "Mañana". *Su nombre es "Hoy"*

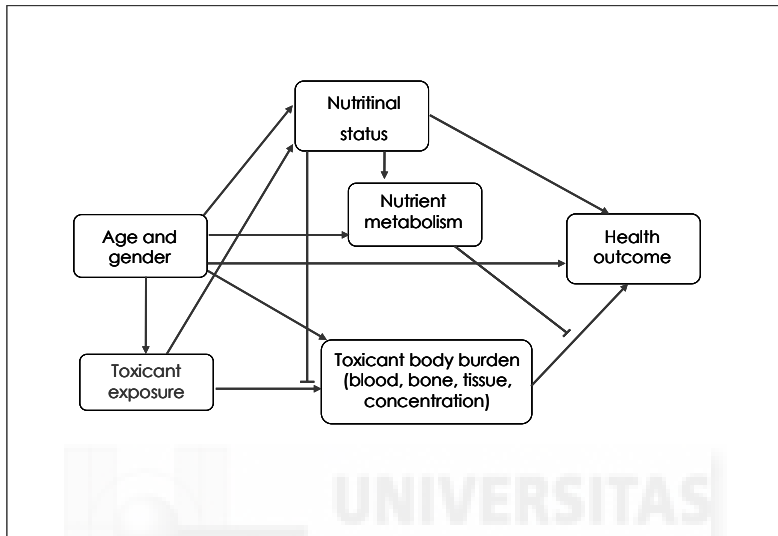
Gabriela Mistral. Premio Nobel de Literatura, 1945

Los *niños no son pequeños adultos*, sus cuerpos están en constante crecimiento, sus órganos y funciones desarrollándose, por tanto inmaduros, lo que les hace especialmente vulnerables al medio ambiente. Los periodos de mayor vulnerabilidad son el periodo periconcepcional, embrionario/fetal y la primera infancia. Una exposición a contaminantes químicos y/o un déficit nutricional, que actúe durante el periodo periconcepcional o embrionario/fetal puede producir, dependiendo de su intensidad, momento y naturaleza, cambios en la estructura o en la función de los órganos y producir alteraciones en el crecimiento, en el neurodesarrollo, en el riesgo de aparición de alergias, etc. (Olsen, 2000), e incluso aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades en la edad adulta, esto último es lo que se conoce como el origen fetal de las enfermedades (Harding, 2001;Barker, 2007). Es posible que tanto el estado nutricional previo de la mujer embarazada como el aporte de nutrientes al embrión/feto jueguen un papel importante en el desarrollo fetal a través de la modificación de la susceptibilidad a sustancias químicas medioambientales (Kordas et al., 2007). La complejidad de la interrelación entre la exposición a químicos medioambientales y el estado nutricional/nutrientes viene reflejada en la figura 1. La carga genética supone un pequeño porcentaje del riesgo de desarrollar enfermedad, ya que la expresión de los genes viene modulada por factores medioambientales ligados a la contaminación, a la nutrición, al estilo de vida y a los factores sociales (Willet, 2002;Romieu et al., 2004;van den Hazel et al., 2006), de ahí la importancia de estudiar los factores prenatales modificables que tendrán

influencia tanto a corto como a largo plazo en el crecimiento y desarrollo del niño.

**Figura 1. Un modelo de interacción entre nutrientes y contaminantes químicos**

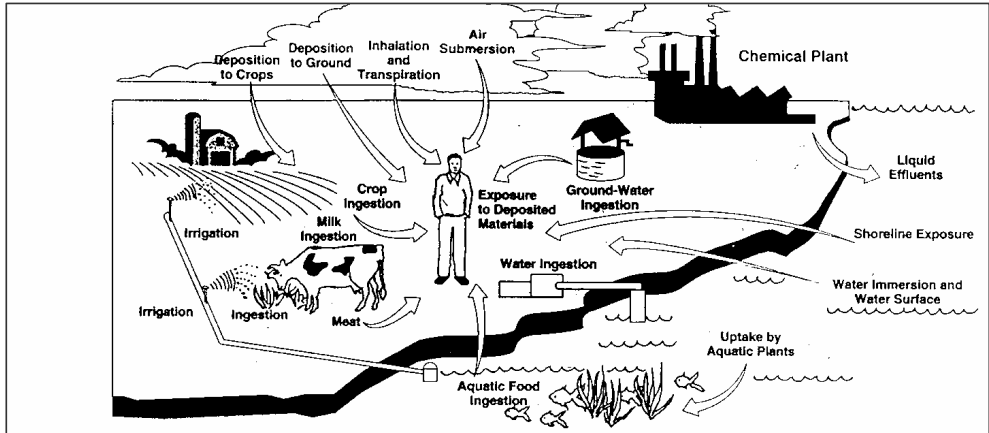
(Kordas et al., 2007)



La alimentación es uno de los principales determinantes de salud (Hung et al., 2004;Liu, 2003). Una adecuada nutrición es importante en cualquier etapa de la vida, adquiriendo especial relevancia, como hemos visto, durante la etapa preconcepcional, gestación y primeros años de la infancia. En poblaciones aparentemente con un buen estado nutricional, sin déficits en cuanto al balance energético-proteico, se han relacionado factores dietéticos, como el ácido fólico, los ácidos grasos omega 3, las vitaminas antioxidantes, durante el periodo preconcepcional y la gestación con malformaciones congénitas, parto pretérmino, retardo de crecimiento intrauterino y patologías maternas como preeclampsia y diabetes gestacional (Scholl and Johnson, 2000;Olsen and Secher, 2002;Roberts et al., 2003;Sharma et al., 2003;Zhang et al., 2004;Decsi and Koletzko, 2005;Knudsen et al., 2008). La ingesta de micronutrientes específicos, así como el estado previo de las reservas maternas, durante el embarazo y la lactancia ha de verse como un proceso continuo de vital importancia para el correcto crecimiento y desarrollo fetal e infantil (Allen, 2005).

Los alimentos constituyen por otra parte una de las vías principales de exposición humana a tóxicos medioambientales (figura 2) (Ribas-Fitó, 2003). Como observamos en la figura 2, una gran parte de la contaminación del aire, agua y suelo se canaliza a través de la contaminación de la cadena alimentaria como paso previo a la contaminación humana. Así pues nos encontramos con una doble vertiente en lo a los alimentos se refiere. Por una parte son necesarios por su aporte en macro y micronutrientes, algunos de ellos esenciales para un correcto desarrollo fetal, y por otra parte se convierten en fuente de contaminantes químicos con efectos potencialmente deletéreos para la salud especialmente para el organismo en desarrollo. Un ejemplo de alimento controvertido actualmente y en continuo debate tanto en la salud del adulto como en la salud perinatal es el pescado (Mozaffarian and Rimm, 2006). El mercurio, cuya principal fuente es el consumo de pescado, se ha relacionado en el adulto con procesos cardiovasculares (Guallar et al., 2002) y en la salud perinatal con potenciales efectos adversos de la exposición prenatal sobre el neurodesarrollo del niño (Oken and Bellinger, 2008). El pescado es por otra parte una buena fuente de proteínas, ácidos grasos poliinsaturados (entre los que destaca el ácido docosahexaenoico (DHA), uno de los principales ácidos grasos omega 3 de cadena larga), yodo, vitamina D y E, por lo que la controversia radica sobre las posibles recomendaciones de consumo en grupos vulnerables para lograr un equilibrio en el riesgo/beneficio. El pescado es a su vez un ejemplo de debate que ha pasado a la sociedad civil, como lo muestra la noticia publicada en el periódico el País (*El País, martes 21 de noviembre de 2006, p.46*) con motivo de un estudio llevado a cabo por la Universidad Rovira i Virgili, en la que se presentaba una calculadora, el programa Ribepeix disponible en la web, del aporte de contaminantes y nutrientes provenientes del pescado según el tipo y su frecuencia de consumo teniendo en cuenta el sexo y el peso de la persona para la que se calcula, con el fin de ayudar a optimizar el beneficio obtenido por el consumo de pescado (Domingo et al., 2007b). El papel del consumo de pescado durante el embarazo en el crecimiento fetal se tratará en detalle más adelante.

**Figura 2. Principales rutas de exposición a contaminantes ambientales** (Ribas-Fitó, 2003)



Un crecimiento fetal subóptimo se ha relacionado con un mayor riesgo de mortalidad fetal, neonatal e infantil, mayor riesgo de morbilidad neonatal (hipoglucemia, hipocalcemia, policitemia), un crecimiento posnatal inadecuado (Fall et al., 2003;Kramer, 2003) y un menor desarrollo neuroconductual en la infancia (Morris et al., 1998;Richards et al., 2002). Un retraso del crecimiento intrauterino se ha relacionado también con un incremento del riesgo de enfermedades crónicas del adulto (enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico) (Barker, 1999;Rich-Edwards et al., 2005).

La identificación de factores ambientales determinantes de salud y enfermedad en épocas tempranas de la vida, como es la etapa prenatal, ofrece la posibilidad de adoptar medidas preventivas así como desarrollar políticas de salud pública y programas de intervención precoces dirigidas a la mujer embarazada para mejorar el crecimiento y el desarrollo fetal, posibilitando un aumento en la salud de la población, tanto a corto como a largo plazo.

## 2. INGESTA DE FRUTAS Y VERDURAS DURANTE EL EMBARAZO Y CRECIMIENTO FETAL

*"La postura mayoritaria, siguiendo las enseñanzas de Aristóteles, define a la hembra gestante como el receptáculo pasivo del embrión. Sin embargo los herederos de Hipócrates consideraron que el cuerpo de la mujer tenía un papel más activo en la conformación del hijo: además de alojarlo, lo modelaría conjuntando, a este fin, el poder del semen masculino con la fuerza de los alimentos que iría ingiriendo durante la gestación"*

Teresa Moure. Fragmento de *Hierba mora*

El consumo de frutas y verduras se ha asociado a una disminución del riesgo cardiovascular y de algunas formas de cáncer (Drewnowski et al., 1997; Hung et al., 2004). Dichos efectos se han atribuido al contenido en vitamina C, E y carotenoides, nutrientes antioxidantes que juegan un importante papel en la defensa contra los radicales libres y combaten el estrés oxidativo. Cuando nos encontramos con un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad antioxidante del organismo para neutralizarlos se produce el estrés oxidativo, proceso que se ha implicado en la etiología de enfermedades crónicas como el cáncer, la patología cardiovascular, las cataratas, las maculopatías y el proceso de envejecimiento en general (Mayne, 2003). La similitud entre los procesos cardiovasculares del adulto y las alteraciones vasculares que se producen en la preclampsia y en el retraso del crecimiento intrauterino ha llevado a relacionar factores comunes entre ambas entidades entre los que se encuentran los factores dietéticos, destacando los antioxidantes, por su papel contra el estrés oxidativo celular (Roberts et al., 2003).

La gestación en sí misma es un estado que produce oxidación, hallándose los biomarcadores de estrés oxidativo aumentados (Connors and Merrill, 2004). La deficiencia de nutrientes antioxidantes y el estrés oxidativo se han asociado a un incremento del riesgo de desarrollar patologías de la gestación y por lo tanto de afectar el crecimiento fetal. Los mayores niveles plasmáticos de vitamina C y E también se han asociado con un incremento de la talla y/o del peso al nacimiento (Lee et al., 2004), aunque los resultados son inconsistentes (Ghebremeskel et al., 1994) o considerados de poca relevancia clínica

(Mathews et al., 2004). Los carotenoides, pigmentos liposolubles sintetizados por las plantas, están presentes en frutas y verduras. Los carotenoides con actividad provitamina A ( $\alpha$  caroteno, el  $\beta$  caroteno y la criptoxantina), se transforman en retinol en el epitelio intestinal; la luteína y el licopeno no tienen actividad provitamina A pero se les ha atribuido propiedades antioxidantes. La ingesta de alimentos ricos en carotenoides (naranjas, zanahorias y tomate) influye en los niveles maternos circulantes y se correlaciona con los niveles en sangre de cordón (Yeum et al., 1998). En un estudio de suplementación, los carotenoides se han relacionado con una disminución del riesgo de preeclampsia y una menor incidencia de retraso de crecimiento intrauterino en el grupo suplementado (Sharma et al., 2003).

A pesar de que los estudios observacionales y de suplementación sugieren un papel positivo de los micronutrientes antioxidantes en el crecimiento intrauterino, los resultados son inconsistentes. Uno de los principales inconvenientes de utilizar micronutrientes específicos para estudiar la relación es que no se tienen en consideración otros posibles componentes bioactivos de las plantas (fitoquímicos) que están adquiriendo especial consideración por su posible papel en patología cardiovascular (Liu, 2003). Otro de los inconvenientes es la dependencia de las tablas de composición de alimentos para poder estimar el aporte de micronutrientes específicos provenientes de las plantas, que han variado en el curso del tiempo y que pueden ser en parte causa de la inconsistencia de resultados en los diferentes estudios. Las tablas van actualizándose, de hecho se han ido incorporando fitoquímicos como las isoflavonas, pero parece difícil que puedan tener en consideración todos los componentes de las plantas. En un estudio en mujeres adultas en China, sobre la relación entre el consumo de frutas y verduras y el riesgo de desarrollar diabetes, el efecto beneficioso de las verduras se observó incluso cuando en el modelo se incluían los biomarcadores sanguíneos de vitamina C y carotenoides, lo que sugiere un efecto independiente de esos nutrientes probablemente debido a otros componentes fitoquímicos (Villegas et al., 2008). Además hay que tener en cuenta la acción aditiva y sinérgica de la combinación de los diferentes fitoquímicos presentes en los alimentos y en la combinación de los mismos (Liu, 2003). La utilización de los alimentos o grupos de alimentos para estudiar la relación de las frutas y verduras en el crecimiento

intrauterino, aunque no exento de sesgos potenciales (Fraser and Shavlik, 2004), tiene la ventaja de tomar en consideración todos los componentes bioactivos de las plantas así como de ser de mayor utilidad en cuanto a recomendaciones de salud pública en las poblaciones estudiadas.

El ácido fólico administrado durante el periodo periconcepcional disminuye el riesgo de aparición de defectos del tubo neural así como de recurrencias en embarazos posteriores (Tamura and Picciano, 2006). Por otra parte su aporte debe ser mantenido durante toda la gestación para disminuir el riesgo de otros efectos adversos como parto pretérmino, bajo peso al nacimiento y retardo de crecimiento intrauterino por ingesta dietética inadecuada (Scholl et al., 1996; Scholl and Johnson, 2000; Lindblad et al., 2005), aunque el papel de la suplementación en dichos efectos no está del todo elucidado (Charles et al., 2005). El folato sólo puede obtenerse a partir de la dieta, sobre todo a partir de verduras de hoja verde, la deficiencia de folato puede deberse a una baja ingesta o a un aumento de las necesidades en presencia de un polimorfismo genético (Shelnutt et al., 2003). Uno de los posibles mecanismos en el papel de ácido fólico en el crecimiento fetal es el acumulo de homocisteína como marcador del déficit de fólico (Tamura and Picciano, 2006); en un estudio con mujeres japonesas, niveles elevados de homocisteína en el tercer trimestre se relacionaron con un menor peso al nacimiento (Takimoto et al., 2007).

Dos estudios en poblaciones de mujeres embarazadas muy diferentes, una de la India (Rao et al., 2001) y otra de Dinamarca (Mikkelsen et al., 2006), han encontrado una asociación positiva entre el consumo de frutas y verduras durante el embarazo y el peso al nacimiento. En el estudio danés se encontró mayor asociación para las frutas mientras que en el de la India se encontró mayor asociación con las verduras, en este último se estudió también la relación con la talla al nacimiento pero no hubo asociación. En ninguno de los dos estudios se evaluó el riesgo de retardo de crecimiento intrauterino.

Las recomendaciones de ingesta para frutas y verduras aumentan durante el periodo de la gestación. La Sociedad Española de Nutrición Comunitaria en su "Guía de la alimentación saludable" recomienda de 2 a 4 raciones de verduras y hortalizas al día en mujeres embarazadas (tabla 1). Como puntualiza Ortega et al (Ortega, 2001), sin el consumo de 4-5 porciones al día de verduras difícilmente puede conseguirse la ingesta diaria recomendada de



600 µg de ácido fólico durante el embarazo. De hecho 600 µg/día son cifras difícilmente alcanzables por ingesta en población europea o americana según varios estudios descriptivos de dieta en embarazadas (Rogers and Emmett, 1998;Erkkola et al., 1998;Giddens et al., 2000).

**Tabla 1. Recomendaciones de ingesta durante el embarazo**

GRUPO DE ALIMENTOS	MUJER ADULTA	EMBARAZADA	MUJER LACTANTE	PRINCIPALES ALIMENTOS
<b>Farináceos</b>	3-6	4-5	4-5	Pan, pasta, arroz, legumbres, cereales, cereales integrales, patatas
<b>Verduras y Hortalizas</b>	2-3	2-4	2-4	Gran variedad según el mercado. Incluir ensaladas variadas
<b>Frutas</b>	2	2-3	2-3	Gran variedad según estaciones
<b>Lácteos</b>	2	3-4	4-6	Leche, yogur y quesos
<b>Alimentos protéicos</b>	1-2	2	2	Carnes, aves, pescados, huevos. Legumbres y frutos secos
<b>Grasas de adición</b>	3-6	3-6	3-6	Preferentemente aceite de oliva y/o semillas
<b>Agua: red, mineral. Infusiones, bebidas sin alcohol</b>	4-8	4-8	4-8 vasos	Agua de red, minerales, infusiones y bebidas con poco azúcar y sin alcohol

Fuente: Guía de la alimentación saludable. SENC. 2004

### 3. INGESTA DE PESCADO DURANTE EL EMBARAZO Y CRECIMIENTO FETAL

La mayoría de la flota bacaladera repostada en Saint-Pierre, en Saint John's o en Nueva Escocia. Yo estuve allí algún tiempo en un bou que se atrevía un poco más allá, hacia el estrecho de Davis, en los límites del Círculo Polar Artico. Hicimos una escala allí, en Godthab.

¿Sólo una parada?

Sólo una parada, sí.

Entonces, ¿la mujer de Godthab existió? ¿Era una esquimal?

*Era Inuit. Ellos dicen Inuit. Significa persona. Esquimal es comedor de carne cruda. Inuit es persona.*

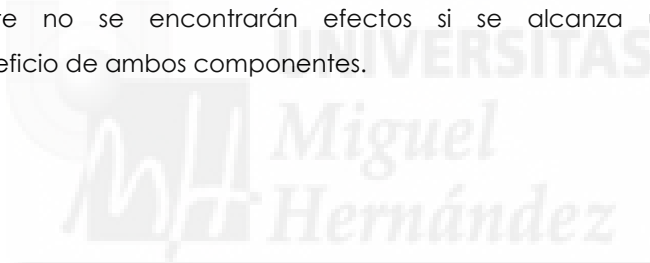
Manuel Rivas. Fragmento de *Los libros arden mal*

Estudios ecológicos en las islas Faroe, Islandia y otros países nórdicos han sugerido un mayor peso al nacimiento en comunidades con elevada ingesta de pescado (Olsen et al., 1995; Thorsdottir et al., 2004). El posible mecanismo sería el aporte de los ácidos grasos omega 3, lo que aumentaría la razón de prostaciclina:tromboxano, reduciendo la viscosidad y mejorando el flujo placentario (Olsen et al., 1990) o mediante la prolongación de la gestación debido a la interferencia con prostaglandinas que intervienen en el proceso del parto (Olsen et al., 1993).

La asociación del consumo de pescado con las medidas antropométricas al nacimiento y el retardo de crecimiento intrauterino utilizando el pescado como indicador tanto de los nutrientes beneficiosos como de los contaminantes, ha sido estudiada en tres cohortes de mujeres embarazadas y sus bebés que están en marcha en la actualidad en Europa y en EEUU. La cohorte ALSPAC en el sudoeste de Inglaterra (Rogers et al., 2004) encuentra un efecto beneficioso sobre el crecimiento fetal en las mujeres con mayor consumo de pescado con respecto a las de menor consumo, mientras que la cohorte americana (proyecto VIVA) en Massachussets y la danesa (National Danish Birth Cohort) encuentran un efecto negativo entre el mayor consumo de pescado y el peso al nacimiento o un aumento en el riesgo de retardo del crecimiento intrauterino (Oken et al., 2004; Halldorsson et al., 2007). Es interesante constatar que la cohorte danesa estudia los efectos por tipo de pescado (graso vs. magro) y encuentra los efectos adversos sólo en el caso de

consumo de pescado graso. En una cohorte de mujeres embarazadas en la Bretaña francesa (cohorte PELAGIE) se ha descrito recientemente un efecto negativo en las mujeres que tenían un elevado consumo de crustáceos de gran tamaño, siendo la primera cohorte que publica un efecto negativo del marisco (Guldner et al., 2007).

Los resultados aparentemente inconsistentes de esas cohortes en poblaciones con un moderado consumo de pescado subrayan la importancia de incorporar el tipo de pescado consumido cuando se quiera evaluar la asociación entre consumo de pescado y crecimiento fetal, ya que dependiendo del contenido en mercurio junto con otros posibles contaminantes (bifenilos policlorados (PCB), dioxinas, polibromados retardantes de llama, etc.) y del contenido en nutrientes, especialmente de DHA, en un determinado tipo de pescado así como de la frecuencia de consumo del mismo se podrán producir efectos beneficiosos, negativos o simplemente no se encontrarán efectos si se alcanza un equilibrio riesgo/beneficio de ambos componentes.



#### 4. EXPOSICIÓN PRENATAL A MERCURIO Y CRECIMIENTO FETAL

##### a. El mercurio

*"Mercury (Hg), also called QUICKSILVER, chemical element, liquid metal of Group IIb, or the zinc group, of the periodic table. Mercury was known to the ancient Chinese and Hindus, and has been found in an Egyptian tomb of about 1500 BC."*

(Encyclopædia Britannica, 1998)

El mercurio es un metal pesado que forma parte de los compuestos tóxicos persistentes, de gran ubicuidad y conocida neurotoxicidad sobre todo para el cerebro en desarrollo. Conocido desde la antigüedad y utilizado con fines terapéuticos en China, Egipto, Grecia y Roma, los signos tóxicos de la intoxicación a mercurio ya fueron descritos en los esclavos que trabajaban en las minas de Almadén (Ciudad Real) en la época de los romanos (23-79 AD) (Sanfeliu et al., 2003; Health and Environment Alliance, 2007) siendo en el siglo XVIII cuando se describe la intoxicación a mercurio como enfermedad profesional padecida por los trabajadores expuestos (Sanfeliu et al., 2003). En la literatura también ha sido descrita la utilización del mercurio como veneno en Hamlet, el príncipe de Dinamarca (Acto I, escena 5 (1600)) de William Shakespeare y los signos neurológicos de intoxicación profesional en los sombrereros, debida a la utilización de un derivado mercurial en el proceso de limpieza de los sombreros de piel de castor, han sido gráficamente descritos en el personaje "del sombrerero loco" por Lewis Carroll en Alicia en el país de las maravillas (capítulo 7 "A Mad Tea Party").

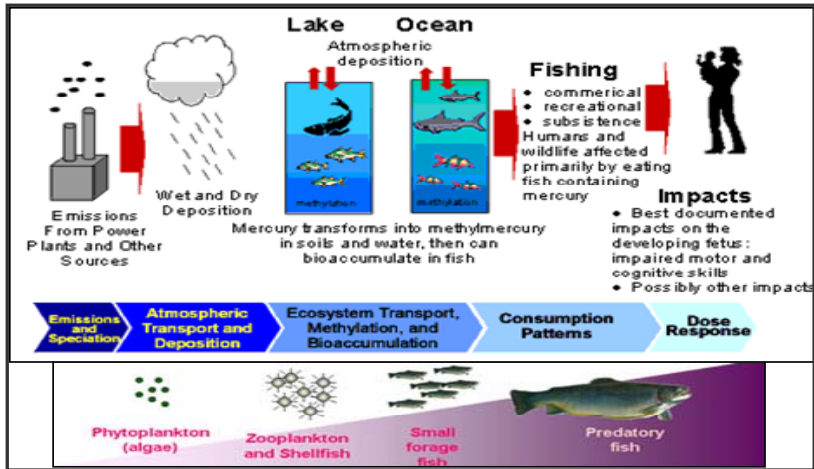
El mercurio es el único metal que es líquido en su forma elemental a temperatura ambiente; se produce de forma natural en la corteza terrestre aunque aproximadamente la mitad de las emisiones son de origen antropogénico debidas principalmente a las centrales de producción de electricidad alimentadas con carbón, residuos fósiles, la incineración de residuos, su utilización en la producción cloro álcali, y otras actividades industriales. Está presente en termómetros, barómetros, baterías y equipos eléctricos (termostatos), etc. En la tabla 2 se muestran los diferentes tipos de mercurio (US Environmental Protection Agency, 2007; Houston, 2007).

**Tabla 2. Tipos de mercurio**

MERCURIO	PROCEDENCIA	DONDE SE ENCUENTRA
<b>1. Elemental o metálico (Hg<sup>0</sup>)</b>	Metal brillante plateado, líquido a temperatura ambiente. Es el que se descarga a la atmósfera en los procesos naturales (volcanes)	Termómetros, Esfingomanómetros Amalgamas dentales Uso místico (santería)
<b>2. Inorgánico (Hg<sup>+2</sup>)</b>	El elemental combinado con otros elementos produciendo las sales mercuriales.  Polvo blanco o cristal excepto el cinabrio (forma en la que se extrae de las minas) que es de color rojo que vira al negro en contacto con el aire	Cremas blanqueadoras de la piel Antisépticos, desinfectantes y productos médicos diversos; fungicidas (todos ellos prohibidos actualmente) Medicinas tradicionales
<b>3. Orgánico</b>	En combinación con carbono	
Metilmercurio (CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup> )		Peces y mamíferos acuáticos
Etilmercurio (CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup> )		Timerosal, conservante de algunas vacunas

El mercurio que se emite a la atmósfera se deposita en la superficie de la tierra, al entrar en contacto con superficies acuáticas se transforma en un tipo de mercurio orgánico, el metilmercurio, por acción de los microorganismos (bacterias y hongos). De esta forma entra en la cadena alimentaria marina, donde se produce un proceso de acumulación y biomagnificación en peces y mamíferos marinos (figura 3) (US Environmental Protection Agency, 2007). El metilmercurio es absorbido por los peces al comer organismos acuáticos y peces más pequeños, desde el plankton hasta peces de diversos tamaños, acumulándose en el tejido muscular de los mismos (Dovydaitis, 2008). Los grandes depredadores marinos, entre los que se encuentran el pez espada y en menor grado el atún, constituyen el final de la cadena acuática.

**Figura 3. Proceso de acumulación y biomagnificación del metilmercurio en la cadena alimentaria**



Fuente: US. EPA

El metilmercurio del pescado se absorbe con facilidad a través del tracto gastrointestinal después de ser ingerido y se convierte en un complejo al unirse con la cisteína, por lo que es reconocido como un aminoácido esencial y, en lugar de ser eliminado rápidamente, es transportado a través de la placenta y la barrera hemato-encefálica (Dovydaitis, 2008). La toxicidad del metilmercurio se ha relacionado con la inhibición de los sistemas antioxidantes y la producción de radicales libres (National Research Council, 2000). El metilmercurio es el compuesto más neurotóxico de todos los compuestos mercuriales, siendo el que en la actualidad representa un mayor riesgo potencial de neurotoxicidad para el feto en desarrollo (World Health Organization and United Nations Environment Programme, 2008).

### *b. Exposición prenatal a mercurio*

Desgraciadamente es la historia la que ha evidenciado la vulnerabilidad fetal debido a varios episodios de envenenamientos masivos producidos durante el siglo XX. Desde 1953 a 1968 se producen en la bahía de Minamata, Japón, vertidos de compuestos mercuriales inorgánicos procedentes de la fábrica de plásticos Chisso Hiryo Company, con posterior metilación de esos compuestos a metilmercurio por los microorganismos presentes en el agua y su paso a la

cadena alimentaria. Los primeros casos de la llamada enfermedad de Minamata se declararon en 1956 y se relacionaron casi enseguida con el consumo de pescado, siendo en 1960 cuando se identificó el metilmercurio como el responsable de la enfermedad (Wilcox et al., 2008). Aunque los adultos padecieron sintomatología neurológica, algunos de ellos de forma severa, fueron los niños nacidos de las madres intoxicadas los que presentaron los trastornos neurológicos más graves. En algunos casos presentaron sintomatología neurológica grave incluso en ausencia de signos clínicos en las propias madres, lo que demostró por primera vez la especial vulnerabilidad fetal por exposición prenatal debida a la transferencia placentaria del metilmercurio (Davidson et al., 2006). En 1971 se lleva a cabo un estudio epidemiológico poblacional transversal para estudiar los efectos de Minamata, cuyos resultados acaban de publicarse después de 35 años de retraso (Yorifuji et al., 2008; Wilcox et al., 2008). La llamada enfermedad de Minamata mostró también un periodo de latencia de semanas a meses entre la exposición y la aparición de los síntomas dependiendo del nivel y duración de la exposición así como la susceptibilidad individual en el desarrollo de la enfermedad (Sanfeliu et al., 2003). En 1972 se produce otro accidente en Irak tras la ingesta de pan elaborado con grano contaminado por el metilmercurio que había sido utilizado como funguicida y no estaba destinado a consumo humano. La exposición duró varios meses y el estudio epidemiológico permitió caracterizar el brote así como identificar un gradiente dosis respuesta entre exposición a metilmercurio y signos neurológicos (Sanfeliu et al., 2003; Yorifuji et al., 2008).

Posteriormente a esos episodios, tres estudios epidemiológicos prospectivos de cohorte en comunidades con un alto consumo de pescado (Nueva Zelanda, Oceanía; Islas Faroe, Dinamarca, Atlántico Norte; Islas Seychelles, Océano Indico) han evaluado el efecto sobre el neurodesarrollo de la exposición prenatal a niveles de mercurio inferiores a los que se dieron de forma accidental. En las Islas Faroe, a parte del pescado, se consumen derivados de mamíferos marinos con gran contenido en metilmercurio y otro tipo de contaminantes como los PCB. En las Islas Seychelles, donde la contaminación principal del pescado es por mercurio, las mujeres, en el momento de constitución de la cohorte, consumían una media de pescado de dos veces al

día. Mientras que en las dos primeras comunidades, Nueva Zelanda y las Islas Faroe, se han descrito efectos adversos sobre el neurodesarrollo infantil (en la áreas de atención, memoria del lenguaje verbal, función espacial visual y motora), efectos que se han mantenido a lo largo de los años de seguimiento de los niños (Grandjean et al., 1997; Crump et al., 1998; Budtz-Jorgensen et al., 2007), en la cohorte de Seychelles no se han encontrado hasta la actualidad efectos adversos en los niños de la cohorte (Myers and Davidson, 2000; Davidson et al., 2008). A pesar de la aparente discrepancia entre los estudios, los resultados hallados en todos ellos encuentran pendientes de dosis-respuesta inversas y similares aunque sin alcanzar la significación ( $p$ -valores  $>0.05$ ) en las Islas Seychelles (Oken and Bellinger, 2008). En un análisis cuantitativo con los resultados de las tres cohortes, Cohen et al han estimado que una exposición prenatal a metilmercurio suficiente para incrementar la concentración de mercurio de 1  $\mu\text{g/g}$  en el pelo de la madre se asociaría a una disminución del coeficiente de inteligencia en unos 0,7 puntos (Cohen et al., 2005).

Los resultados de estos tres estudios han servido de base a la Environmental Protection Agency (US EPA) americana en el año 2001 para establecer un nivel de referencia para el metilmercurio (RfD). La RfD representa la dosis diaria de exposición a mercurio durante toda la vida de una persona para la cual no se apreciaría un efecto deletéreo sobre la salud personal ni reproductiva y correspondería a una ingesta diaria de metilmercurio de 0,1  $\mu\text{g/Kg}$  de peso corporal. Esta dosis se deriva a partir de la concentración de metilmercurio en sangre de cordón correspondiente al límite inferior del intervalo de confianza de la concentración para la cual se ha encontrado un efecto adverso sobre el desarrollo neuroconductual infantil (evaluado a partir de una prueba neurológica, el "*Boston naming test*") en la cohorte de las Islas Faroe (nivel de 58  $\mu\text{g/L}$  en sangre total en cordón), después de aplicarle un factor de incertidumbre de 10 (debido a diferencias en toxicinética entre las personas). Así pues, el nivel de exposición de 5,8  $\mu\text{g/L}$  en sangre de cordón es el nivel propuesto que no conviene sobrepasar y cuyo equivalente si el mercurio se mide en el pelo es de 1 ppm (Mahaffey, 2005; US Environmental Protection Agency, 2007). Otras agencias han estimado también la dosis de riesgo y han sido menos restrictivas. La "US Agency for Toxic Substances and Disease



Registry" (ATSDR) ha estimado el nivel mínimo de riesgo a una ingesta diaria de metilmercurio de 0,3 µg/Kg de peso corporal (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007). Más recientemente, la "Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants (JECFA), comité dependiente de la OMS y la FAO, ha estimado una dosis semanal tolerable provisional de metilmercurio de 1,6 µg/Kg de peso corporal (equivalente a 0,23 µg/Kg de peso corporal al día) (United Nations Environment Programme, 2007). Las diferencias entre los tres organismos se deben principalmente a los factores de incertidumbre aplicados para derivar las dosis de referencia (Oken and Bellinger, 2008).

En comunidades con un consumo de pescado más bajo que en las tres cohortes mencionadas, el pescado sigue siendo la principal vía de exposición no ocupacional a mercurio, existiendo una correlación positiva entre la ingesta de pescado y los niveles de mercurio en sangre (Hightower and Moore, 2003; Bjornberg et al., 2005). El consumo materno de pescado durante el embarazo y su transporte al embrión/feto a través de la placenta es la fuente principal de exposición a mercurio en épocas tempranas de la vida, existiendo un paso preferencial a través de la placenta, lo que hace que se acumule en el compartimento fetal y los niveles detectados en sangre fetal sean superiores a los de sangre materna (Grandjean et al., 1997; Bjornberg et al., 2003; Sakamoto et al., 2004; Unuvar et al., 2007; Sakamoto et al., 2008).

Se ha estimado la vida media del mercurio en unos 50 días (20-70 días) (Sanfeliu et al., 2003), sin embargo en un estudio americano en grandes consumidores de pescado por razones de dieta saludable, la reducción de los niveles de mercurio en sangre por debajo de los 5 µg/L sólo se consiguió después de aproximadamente unas 41 semanas de reducir o eliminar la ingesta de pescado de la dieta, lo que sugiere una acumulación del metilmercurio en el organismo, sobre todo en poblaciones con ingestas elevadas (Hightower and Moore, 2003). Un cierto grado de acumulación podría explicar el hecho de que la edad y el país de origen han sido factores asociados a la exposición durante la etapa prenatal en diversos estudios (Bjerregaard and Hansen, 2000; Fok et al., 2007; Xue et al., 2007) (Lederman et al., 2008), aunque diferencias en los sistemas de detoxificación individuales

pueden jugar también un papel en la acumulación del metilmercurio (National Research Council, 2000;Canel et al., 2006).

En España no se conocen los niveles poblacionales de mercurio en población general ni vulnerable debido a la ausencia de datos de biomonitorización, sin embargo los estudios epidemiológicos en los que se ha medido el mercurio en cualquier zona geográfica de España así como en cualquier tipo de población, embarazadas, niños o adultos, encuentran siempre niveles elevados respecto a otras poblaciones europeas o respecto a la RfD recomendada (Soria et al., 1992;Batista et al., 1996;Guallar et al., 2002;Montuori et al., 2006). Recientemente en un estudio realizado con una muestra de 252 mujeres de varios países del mundo realizada por el grupo "Health and Environment Alliance" en el la que se midieron niveles de mercurio en pelo, las 9 muestras de pelo en mujeres españolas presentaron claramente los niveles más altos con una media de 2,18 ppm (Health and Environment Alliance, 2007). A pesar de que el mar Mediterráneo es conocido por ser rico en depósitos de cinabrio y sus peces por contener niveles de metilmercurio 3 a 4 veces superiores con respecto a las mismas especies en el Atlántico (Renzoni et al., 1998;Evans et al., 2005), llama igualmente la atención la falta tanto de datos poblacionales de biomonitorización como epidemiológicos de exposición y de efectos en la salud fetal e infantil en los países de la cuenca mediterránea (Ramon and Ballester, 2008) (anexo 1). Entre los estudios que existen en el Mediterráneo sobre niveles de exposición prenatal o en niños, los estudios llevados a cabo en España o Grecia dan niveles altos de exposición (Montuori et al., 2006;Gibicar et al., 2006), mientras que un estudio reciente en Ankara, Turquía, describe niveles bajos de exposición prenatal en una población con bajo consumo de pescado (Unuvar et al., 2007).

Con el objetivo de limitar la ingesta diaria de mercurio por consumo de productos pesqueros para que no sobrepase la dosis diaria máxima recomendada de 0,1  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso al día, se ha limitado el contenido de mercurio en peces y mariscos utilizados con fines comerciales para consumo. El Diario Oficial de la Unión Europea del (1881/2006) por el que se han regulado en España dichos niveles establece un límite de 0,5 mg/Kg de peso fresco para algunos productos de la pesca y carne de pescado y de 1,0 mg/Kg de peso

fresco para algunos pescados entre los que se encuentran el pez espada y el atún. Sin embargo el aporte de metilmercurio dependerá no sólo del tipo de pescado y su contenido en mercurio sino de la frecuencia de consumo y del tamaño de la porción consumida (Domingo et al., 2007a). Incluso se ha sugerido que la ingesta de una sola ración de pescado con gran contenido en mercurio durante un periodo crítico del embarazo, como el periodo embrionario, puede poner a riesgo al feto en desarrollo (Koletzko et al., 2007;Herreros et al., 2008). La situación local tendrá pues una gran importancia a la hora de valorar una posible intervención para disminuir la exposición prenatal a mercurio.

### *c. Mercurio y crecimiento fetal*

Hasta la actualidad no hay ningún estudio que haya mostrado un efecto adverso del mercurio sobre el crecimiento fetal. Aunque un estudio en Groenlandia sugirió un menor peso al nacimiento a mayores niveles de mercurio (Foldspang and Hansen, 1990), fue posteriormente desmentido tras realizar un nuevo análisis de los datos (Bjerregaard and Hansen, 2000). En 2001, Grandjean et al lo estudian en las Islas Faroe, no encontrando ningún efecto negativo a pesar de los elevados niveles de mercurio descritos en sus recién nacidos (Grandjean et al., 2001). Recientemente en la cohorte formada después del atentado de las torres gemelas el 21/09/01 en Nueva York, con niveles de exposición en sangre de cordón de 4,3 µg/L de mediana y el 32,1% de los recién nacidos con niveles por encima de 5,8 µg/L, no se ha encontrado ningún efecto del mercurio sobre el peso ni la talla al nacimiento (Lederman et al., 2008).

El pescado, además de ser la principal fuente de ingesta de metilmercurio, también lo es para los PCB, compuestos tóxicos persistentes que se acumulan en el tejido graso de los peces, que también se han asociado negativamente con el crecimiento fetal (Fein et al., 1984;Patandin et al., 1998;Rylander et al., 1998;Sagiv et al., 2007). La cohorte danesa complementa el anterior estudio de la asociación negativa entre el consumo de pescado graso durante el embarazo y crecimiento fetal (Halldorsson et al., 2007), incorporando la evaluación de la exposición prenatal a PCB plasmáticos en una submuestra de

100 mujeres, encontrando una relación negativa entre los PCB, cuyos niveles se correlacionan con la ingesta de pescado, el peso al nacimiento y el peso de la placenta (Halldorsson et al., 2008). Mercurio y PCB, ingeridos ambos principalmente por el consumo de pescado, podrían interactuar conjuntamente en su efecto potencial sobre el crecimiento fetal, hecho que ha sido descrito en experimentación animal en cuanto al neurodesarrollo (Fischer et al., 2008).

El metilmercurio actúa de una forma inversa a los omega 3 de cadena larga sobre la producción de prostaciclina y tromboxano, aumentando por lo tanto la viscosidad sanguínea, la agregación plaquetaria y disminuyendo el flujo placentario (Houston, 2007) y ha sido relacionado con un incremento del riesgo de parto pretérmino en un estudio (Xue et al., 2007). Por otra parte, el metilmercurio produce una inhibición de los sistemas antioxidantes y aumenta la producción de radicales libres, mecanismos que como hemos visto se han relacionado también con efectos adversos sobre el crecimiento fetal. Aunque no ha sido descrito un efecto negativo sobre el crecimiento fetal existe una plausibilidad biológica a través de los mecanismos descritos.

#### *d. Recomendaciones de consumo de pescado en población vulnerable*

El pescado es considerado en general un alimento saludable, recomendándose su consumo al menos dos veces por semana (Mozaffarian and Rimm, 2006). En la mujer embarazada se recomienda de una a dos veces por semana para alcanzar una ingesta de DHA de al menos 200 mg/día para asegurar un aporte correcto al feto en desarrollo (Koletzko et al., 2007). Sin embargo, como hemos ido viendo, el pescado es uno de los alimentos a debate por su contenido en contaminantes, por lo que algunos países han desarrollado recomendaciones de consumo de pescado en mujeres en edad de procrear, embarazadas y niños, con el objetivo de proteger al feto y al niño de un potencial efecto adverso del metilmercurio sobre el neurodesarrollo. Sólo el metilmercurio, debido a su neurotoxicidad, es contemplado en dichas recomendaciones.

La variabilidad de los diferentes tipos de pescado, tanto en nutrientes como en contaminantes, hace que la elección del tipo de pescado consumido por la

población vulnerable sea actualmente una de las medidas propuestas para disminuir su exposición a metilmercurio a corto plazo (Mahaffey et al., 2004), aunque existe una gran incertidumbre sobre las repercusiones en salud de tales medidas (Crepet et al., 2005;Gochfeld and Burger, 2005). La regulación del contenido de mercurio en los productos pesqueros de consumo no es una medida suficiente para evitar la exposición de grupos vulnerables a corto plazo ya que, por ejemplo, el consumo de una vez a la semana de un depredador como el pez espada, con gran contenido en mercurio, bastaría para sobrepasar los límites tolerables por la FDA y la JECFA (Gochfeld and Burger, 2005;Domingo et al., 2007a).

En Estados Unidos se establecieron por primera vez las recomendaciones para grupos vulnerables en 2001 y el folleto emitido en 2004 por la U.S. EPA sigue estando vigente (US Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration, 2004) (anexo 2). Otros países han adoptado este tipo de medidas, Canadá (Health Canada, 2002), Gran Bretaña (FSA, 2003), Irlanda (FSAI, 2004), Australia y Nueva Zelanda (FSANZ, 2004). En Europa, la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en 2004 emite un comunicado sobre este tipo de recomendaciones para la Unión Europea (European Food Safety Authority, 2004), sin embargo la adopción de estas medidas está pendiente en la mayoría de los países miembros (Verger et al., 2007). En Francia por ejemplo, las recomendaciones han sido colgadas en la web de la agencia alimentaria francesa (AFSSA, 2002, 2004), sin que se les haya dado difusión entre los profesionales sanitarios ni el público en general (Verger et al., 2007). En España la Agencia Española de Seguridad Alimentaria (AESAN) emitió en 2004 dos comunicados de prensa referentes a la directiva europea pero no ha tenido continuidad ni se han emitido recomendaciones concretas al respecto para personal sanitario ni el público en general (Agencia Española de Seguridad Alimentaria, 2004). Otros países han emitido recomendaciones según las condiciones locales de pesca deportiva o comercial, como los países del Báltico o la zona de los grandes lagos en USA (Bjornberg et al., 2003;US Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration, 2004).

## 5. EL PROYECTO INFANCIA Y MEDIO AMBIENTE

En el año 2003 se constituye una red temática colaborativa entre diversos grupos de investigación epidemiológica y básica con el fin de estudiar el papel de diversos factores de contaminación medioambiental y de la alimentación en el crecimiento y desarrollo fetal e infantil. El proyecto Infancia y Medio Ambiente (INMA) se configura como un estudio multicéntrico de cohorte de base poblacional que se encuadra dentro de las prioridades de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Unión Europea (estrategia europea SCALE y VII programa marco). INMA se compone de 7 cohortes, 3 existentes antes de la creación de la red INMA (Flix-Ribera d'Ebre, Granada y Menorca) y 4 creadas de novo (Valencia, Sabadell, Asturias y Gipuzkoa). Los objetivos generales planteados para el proyecto INMA (Ramon et al., 2005; Ribas-Fito et al., 2006) (anexos 3 y 4) son:

1. Compartir metodologías y conocimientos entre los diferentes grupos que estudian los efectos del medio ambiente y la dieta en la salud infantil.
2. Describir el nivel de contaminación individual y la carga de exposición durante la gestación y la primera infancia.
3. Describir los patrones de alimentación y la ingesta individual de nutrientes durante la gestación y la primera infancia.
4. Evaluar los efectos de la exposición pre y postnatal a contaminantes y nutrientes en el desarrollo fetal e infantil.
5. Evaluar la interacción entre factores genéticos, nutricionales y tóxicos en el desarrollo fetal e infantil.

Las mujeres son reclutadas en el primer trimestre de gestación, seguidas durante el embarazo y se mantiene el seguimiento de sus niños hasta los cuatro años. Los factores de exposición/susceptibilidad así como los efectos estudiados y los instrumentos utilizados para su medición se muestran en la tabla 3. La constitución de varias cohortes de base poblacional en distintas zonas geográficas del territorio español ha ofrecido la oportunidad de estudiar con profundidad algunos factores prenatales que tienen influencia en el desarrollo y la salud fetal e infantil. Este estudio es de gran relevancia ya que

es el primero en España de carácter multicéntrico utilizando una metodología común, con un número aproximado de 4000 niños seguidos longitudinalmente y disponiendo de mediciones ambientales así como de mediciones de dosis interna de los contaminantes más prevalentes y de nutrientes relevantes.

**Tabla 3. Exposiciones y efectos estudiados en INMA y los instrumentos utilizados para su evaluación**

EXPOSICIÓN/ SUSCEPTIBILIDAD	EFFECTOS	EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN Y EFECTOS
<b>Contaminación ambiental</b>	Pre-eclampsia	Cuestionarios
Atmosférica	Crecimiento pre y posnatal	Determinaciones biológicas
Agua	Desarrollo neuroconductual	Mediciones ambientales
Alimentos	Alergias/Asma/Infecciones	Sistemas de información ambiental, sistemas de información geográfica (SIG)
<b>Condiciones Sociolaborales</b>	Desarrollo endocrino y sexual	Exploraciones clínicas
<b>Factores sociodemográficos</b>		Registros sanitarios hospitalarios
<b>Compuestos tóxicos persistentes (dosis interna)</b>		
Compuestos organoclorados		
Metales (plomo, mercurio)		
<b>Dieta (alimentos, nutrientes)</b>		
<b>Genética (polimorfismos)</b>		

Los datos de evaluación nutricional así como la evaluación de la exposición prenatal a mercurio en la cohorte de Valencia y el estudio de su relación con el crecimiento fetal en las mujeres del estudio constituyen el trabajo de investigación que se presenta en esta tesis y han respondido a una parte de los objetivos INMA.

---

## JUSTIFICACION

---

La identificación de factores prenatales que influyen en el crecimiento y desarrollo fetal es importante ya que permite actuar desde etapas tempranas de la vida en la prevención de trastornos prevalentes del crecimiento y del desarrollo neuroconductual en la infancia e incluso en la prevención de patología cardiovascular en la edad adulta. La mejor forma de estudiar los determinantes prenatales es mediante estudios de cohorte en mujeres embarazadas y el seguimiento de los niños durante años; sin embargo en España hay pocos estudios que aborden esta temática de una forma amplia, concretamente no existe ningún estudio de este tipo en la Comunidad Valenciana. El proyecto INMA ha permitido caracterizar la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo para las que existe una recomendación de ingesta diaria debido a la importancia de su consumo en la salud, aunque es poco conocido su papel sobre el crecimiento fetal. Por otra parte, ha ofrecido una oportunidad única de profundizar en algunos factores de exposición medioambiental, entre los que se encuentra la exposición prenatal a mercurio y de estudiar su relación con la ingesta de distintos tipos de pescado al mismo tiempo que ha permitido estudiar la relación de ambos factores, mercurio y pescado, sobre el crecimiento fetal.

El estudio de la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo, en una comunidad con gran variedad de las mismas así como una gran disponibilidad, es importante para evaluar si las mujeres están cumpliendo las recomendaciones de consumo y si su consumo puede tener repercusión sobre el crecimiento fetal. El hecho de que existan sólo dos estudios de estas características, uno en Dinamarca y otro en la India, le concede el valor añadido de aportar datos a la escasa información existente.

La exposición crónica a mercurio, principalmente a través del consumo de pescado, es reconocida como un riesgo potencial para el neurodesarrollo fetal e infantil, por lo que es considerada una prioridad el minimizar su exposición prenatal, lo que ha dado lugar en algunos países a recomendaciones sobre el consumo de pescado en mujeres gestantes. La exposición a mercurio en población general española es desconocida ya que no existen programas vigentes de biomonitorización para este tóxico; sin



embargo los pocos estudios epidemiológicos disponibles en algunos grupos de población han revelado niveles de exposición elevados con respecto a niveles de referencia o con respecto a otras poblaciones europeas, indistintamente de que el estudio esté basado en sujetos adultos, niños o mujeres embarazadas así como de la localización geográfica. Es importante pues evaluar el nivel de exposición en embarazadas en distintas localizaciones geográficas del estado Español.

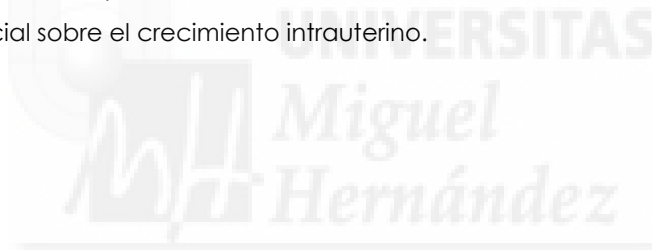
Las recomendaciones de consumo de pescado se basan actualmente sólo en el efecto sobre el neurodesarrollo de la exposición prenatal a mercurio, sin tener en cuenta su efecto potencial sobre el crecimiento fetal; sin embargo un crecimiento fetal subóptimo se ha relacionado también con trastornos posteriores del neurodesarrollo, siendo a la vez considerado un factor de riesgo para la patología cardiovascular del adulto, por lo que es relevante evaluar la asociación entre el consumo de distintos tipos de pescado así como de la exposición prenatal a mercurio y el crecimiento fetal. Pocos estudios han abordado el tema estudiando distintos tipos de pescado. A parte de la importancia de estos hallazgos sobre la población de estudio, en el ámbito internacional, este estudio aporta datos de interés sobre el controvertido tema del consumo de pescado durante el embarazo, ya que los estudios disponibles en cohortes europeas y en una cohorte norteamericana son inconsistentes.

## HIPOTESIS

---

### **HIPOTESIS GENERALES**

1. Una ingesta adecuada de frutas y verduras durante el embarazo tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento intrauterino por su aporte en ácido fólico, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos.
2. Una ingesta adecuada de pescado con contenido bajo en mercurio durante el embarazo tiene un efecto beneficioso sobre el crecimiento intrauterino.
3. El consumo de pescado azul de gran tamaño durante el embarazo se asocia a la exposición prenatal a mercurio debido a su contenido en este metal.
4. Una exposición prenatal a dosis elevadas de mercurio tiene un efecto perjudicial sobre el crecimiento intrauterino.





## OBJETIVOS

---

### OBJETIVOS GENERALES

1. Evaluar los efectos de la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo sobre el crecimiento intrauterino en la cohorte INMA Valencia, 2004-2006.
2. Determinar la exposición prenatal a mercurio y la dosis interna de este tóxico en los recién nacidos y su relación con el consumo de pescado durante el embarazo, así como evaluar el efecto de los distintos tipos de pescado y del mercurio sobre el crecimiento intrauterino en la cohorte INMA Valencia, 2004-2006.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar la asociación de la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo con las medidas antropométricas al nacimiento (peso y talla ajustados por edad gestacional) y con el riesgo de pequeño para edad gestacional (peso y talla <10º percentil).
2. Describir el nivel de exposición prenatal a mercurio medido en sangre de cordón y su asociación con distintos tipos de pescado consumidos durante el embarazo, teniendo en cuenta otras variables socio-demográficas y de estilo de vida relacionadas con la exposición a mercurio.
3. Evaluar la asociación de la ingesta de los distintos tipos de pescado durante el tercer trimestre de embarazo con las medidas antropométricas al nacimiento (peso y talla ajustados por edad gestacional) y con el riesgo de pequeño para edad gestacional (peso y talla <10º percentil), controlando por el efecto de la exposición prenatal a mercurio.



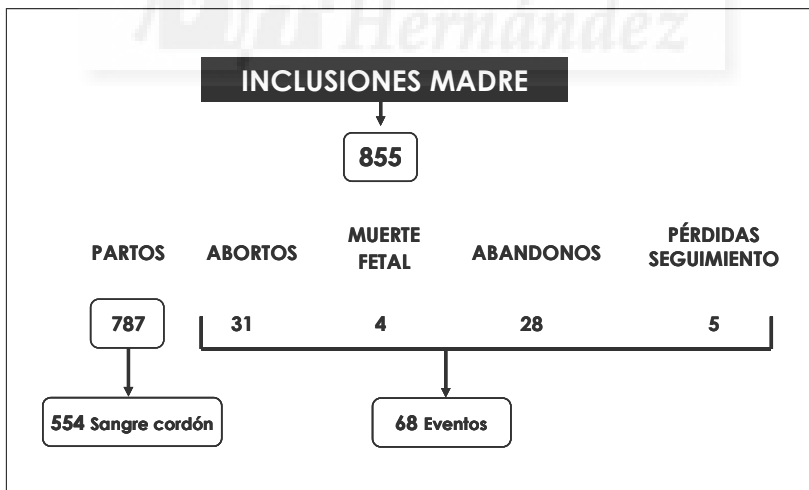
## METODOLOGIA Y RESULTADOS

*La intuición es el mejor instrumento de un cineasta; de cualquiera, por otra parte.  
Es el pensamiento y la sensación combinados.*

David Lynch, cineasta

Entre febrero de 2004 y junio de 2005, se reclutaron 855 mujeres por el proyecto INMA Valencia durante su primer trimestre de gestación. En el proyecto piloto llevado a cabo en octubre de 2003, se reclutaron 15 mujeres que han sido incluidas en el estudio. La tasa de participación de las mujeres fue del 54%. Entre mayo de 2004 y febrero de 2006 se incluyeron en el estudio 787 recién nacidos de las mujeres participantes. En la figura 5 se ve la evolución de la cohorte inicial y la disponibilidad de sangre de cordón en los recién nacidos incluidos ya que por motivos logísticos sólo pudo recogerse aproximadamente un 56% de la sangre de cordón. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital la Fe donde se llevó a cabo el reclutamiento y el seguimiento de la cohorte.

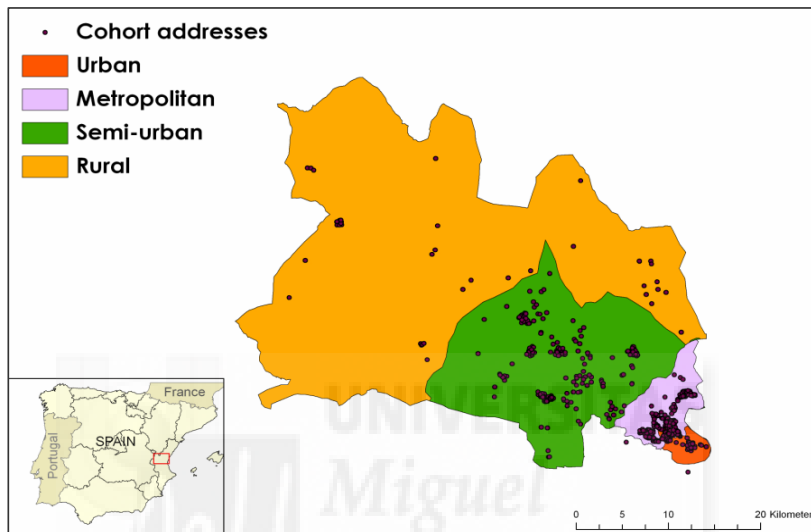
**Figura 5. Esquema de la población de estudio, cohorte INMA Valencia**



El área de estudio corresponde a los departamentos de salud 5 y 6 (actuales 6, 7) de la Comunidad Valenciana (figura 6), con una representación urbana, metropolitana, semi-urbana y rural. El área 5 se compone de 34 municipios y el área 6 de la ciudad de Valencia, en total comprende una población de unos

288.580 habitantes. La actividad económica de la zona está constituida por sectores de servicios, industria, construcción y agricultura (secano y regadío). El 65% de las embarazadas del área de estudio realizan el seguimiento de su embarazo en el hospital público de referencia.

**Figura 6. Mapa de la zona de estudio. Distribución de los nacimientos de la cohorte INMA Valencia 2004-6**



Diseño: estudio de cohorte, las mujeres fueron seguidas desde el momento de la inclusión (entre 10-13 semanas de gestación) hasta el nacimiento de los niños. Se realizaron dos entrevistas personales con encuestador entrenado, la primera en el momento de inclusión y la segunda en el tercer trimestre de la gestación (entre 28-32 semanas) donde se recogieron los factores socio-demográficos, la dieta, los estilos de vida de las mujeres y la exposición a factores medioambientales. Se midió el mercurio en sangre de cordón de los recién nacidos. Se recogió la antropometría al nacimiento, peso y talla en el momento del parto, y la historia del parto de los registros hospitalarios. El resumen de seguimiento realizado que se ha utilizado en el trabajo de esta tesis se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Diseño del estudio

	PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN	TERCER TRIMESTRE DE GESTACIÓN	NACIMIENTO
<b>Cuestionarios</b>	General. Factores socio-demográficos, obstétricos, clínicos y estilo de vida Cuestionario de frecuencia alimentos nº 1	Estilos de vida (tabaquismo) Historia y exposiciones ambientales y laborales Cuestionario de frecuencia alimentos nº 2	—
<b>Exploraciones</b>	—	—	Antropometría: peso y talla
<b>Marcadores biológicos</b>	—	—	Sangre de cordón
<b>Registro hospitalario</b>	—	Peso de la mujer durante dos trimestres	Historia de parto

La evaluación de la ingesta dietética se realizó mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos semicuantitativo, es decir, considerando porciones estándar, de tipo Harvard (Willett et al., 1985) adaptado y validado en población adulta de la Comunidad Valenciana (Vioque, 2006), aunque no ha sido validado en la población de estudio. El cuestionario consta de 100 ítems entre comida y bebida, con 10 ítems de fruta, 12 de verduras y 11 de pescado. Debido a que el mayor contenido de mercurio se da en los grandes depredadores como el pez espada y el atún, comúnmente consumidos en nuestra comunidad, éstos pescados fueron separados en un ítem para poder evaluar su papel en la exposición a mercurio (anexo 5).

La evaluación de la exposición prenatal a mercurio se realizó mediante la medición de mercurio total en sangre total de cordón. La sangre se tomó en un tubo EDTA, se mezcló por inversión (sin agitar) y se mantuvo a 4° hasta su posterior separación en alícuotas que se congelaron a -80° hasta el momento de su análisis. Análisis de la muestra: 100 µl de la muestra de sangre se depositan en una navicilla que se introduce en un tubo de combustión con catalizador por el que circula una corriente de oxígeno. En estas condiciones, el mercurio presente se transforma en mercurio metálico volátil que es arrastrado por la corriente de gas a una amalgama fría en la que queda atrapado y se concentra. Un calentamiento posterior de la amalgama libera el mercurio que es determinado por absorción atómica. Los análisis se realizan por triplicado (por duplicado cuando el tamaño de muestra no permite la tercera réplica). Equipo empleado: AMA-254 (Altec / Leco).



En el momento de nacer, las matronas de la sala de parto midieron a los niños. Se recogió posteriormente el peso en gramos y la talla en centímetros de los registros hospitalarios, obtenidos de ficheros informáticos del hospital. Para el análisis estadístico se utilizaron el peso y la talla en continuo estandarizados para la edad gestacional por el método de los residuos y el peso y la talla como variables dicotómicas, considerándose pequeño para la edad gestacional si el peso o la talla se encontraban por debajo del 10º percentil según las tablas por sexo y edad gestacional de Carrascosa (Carrascosa et al., 2004).

Los factores socio-demográficos y las covariables que podrían estar relacionadas con la ingesta dietética, la exposición a mercurio así como con la antropometría al nacimiento fueron recogidas mediante un cuestionario administrado en el primer y tercer trimestre de la gestación. Las variables consideradas en los análisis han sido las siguientes: edad de la madre, talla de la madre y del padre, peso preconcepcional, índice de masa corporal preconcepcional, ganancia de peso durante la gestación, paridad, nivel de educación, situación laboral en el primer trimestre de la gestación, nivel sociolaboral, país de origen, cohabita con el padre del bebé, hábito tabáquico, consumo de alcohol y cafeína, zona de residencia, estación del año en la fecha de la última regla y sexo del niño.

A continuación se presentan los 3 artículos científicos que constituyen el trabajo de esta tesis. En la tabla 5 se presentan las publicaciones junto con el objetivo principal de cada uno de ellas.

**Tabla 5. Publicaciones que constituyen el trabajo de la tesis**

AUTORES, TÍTULO, REVISTA	OBJETIVO
<p><b>1. Ramón R, et al.</b></p> <p>Vegetable but not fruit intake during pregnancy is associated with newborn anthropometric measures. <i>J Nutr</i> 2009; 139(3):561-567</p>	<p>Describir la ingesta de frutas y verduras durante el embarazo y evaluar su asociación con las medidas antropométricas del recién nacido y el riesgo de pequeño para edad gestacional de peso y talla.</p>
<p><b>2. Ramón R, et al.</b></p> <p>Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain. <i>Science of The Total Environment</i> 2008; 392:69-78.</p>	<p>Evaluar la exposición prenatal a mercurio y su relación con el consumo de pescado durante el embarazo.</p>
<p><b>3. Ramón R, et al.</b></p> <p>Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. <i>American Journal of Clinical Nutrition</i>. Submitted on 17 April, 2009.</p>	<p>Describir la ingesta de los distintos tipos de pescado durante el embarazo y evaluar su asociación con las medidas antropométricas del recién nacido y el riesgo de pequeño para edad gestacional de peso y talla, teniendo en cuenta el efecto del mercurio.</p>

---

**ARTICULO 1:** Ramon R, Ballester F, Iniguez C, Rebagliato M, Murcia M, Esplugues A, Marco A, Garcia de la Hera M, Vioque J. Vegetable but not fruit intake during pregnancy is associated with newborn anthropometric measures. J Nutr 2009; 139(3):561-567.

---

## Vegetable but Not Fruit Intake during Pregnancy Is Associated with Newborn Anthropometric Measures<sup>1,2</sup>

Rosa Ramón,<sup>3,4</sup> Ferran Ballester,<sup>3,4\*</sup> Carmen Iñiguez,<sup>3,4</sup> Marisa Rebagliato,<sup>3,5</sup> Mario Murcia,<sup>3,4</sup> Ana Esplugues,<sup>3,4</sup> Alfredo Marco,<sup>3,6</sup> Manuela García de la Hera,<sup>3,5</sup> and Jesús Vioque<sup>3,5</sup>

<sup>3</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública, 08003 Barcelona, Spain; <sup>4</sup>Escuela Valenciana de Estudios para la Salud, Conselleria de Sanidad, 46017 Valencia, Spain; <sup>5</sup>Departamento de Salud Pública, Universidad Miguel Hernández, 03203 Elche-Alicante, Spain; and <sup>6</sup>Hospital La Fe, 46009 Valencia, Spain

### Abstract

We examined the relationship between consumption of fruit and vegetables during pregnancy and anthropometric measures at birth in a general population mother-infant cohort in Valencia, Spain. A total of 787 infants born between May 2004 and February 2006 were included. Fruit and vegetable consumption during pregnancy was assessed by a FFQ administered using an in-person interview. We used multiple linear regression to assess associations between fruit and vegetable intake (in quintiles) and birth weight and length adjusted for sex and gestational age, and logistic regression to assess being small for gestational age (SGA) in weight and SGA in length, defined as adjusted birth weight or length below the 10th percentile. A linear relationship was found between vegetable consumption and having a SGA (weight) and SGA (length) baby. Women in the lowest quintile of vegetable intake during the first trimester had a higher odds of having a SGA (weight) baby than women in the highest quintile [odds ratio (OR), 3.7; 95% CI: 1.5–8.9; *P*-trend < 0.001] and had a higher odds of having an SGA (length) baby in the third trimester (OR, 5.5; 95% CI: 1.7–17.7; *P*-trend = 0.04) in multivariate analysis. We found a nonmonotonic relationship between adjusted birth weight and length and vegetable consumption during the first trimester; newborns in the 2 lowest quintiles of intake had a significantly lower weight and length than those in the 4th quintile. There was no association between fruit consumption and birth outcomes. Our findings indicate that vegetable consumption throughout pregnancy may have a beneficial effect on fetal growth. *J. Nutr.* 139: 561–567, 2009.

### Introduction

In recent years, a large body of evidence has accumulated regarding the role of the mother's diet during pregnancy in different birth outcomes such as birth defects, gestational length, and fetal growth (1–3). Suboptimal fetal growth has been associated with poor cognitive and neurological development (4–6), as well as with the risk of chronic diseases later in life (7). Nutritional factors during pregnancy have also been related to health in later stages of life such as infancy and adulthood (8), thus emphasizing the importance of pregnant women's diet in ensuring fetal development and maternal health as well as in reducing infant disorders and the risk of chronic diseases in adults (9).

One of the relevant nutritional factors during pregnancy is the intake of specific micronutrients such as folate, vitamin C, and carotenoids. These are plentiful in fruit and vegetables and have been associated with increased birth size within the full birth weight and birth length range in developed countries, where undernutrition is uncommon (10,11). Focusing on consumption of fruit and vegetables instead of the known specific micronutrients provided by them will enable other possible bioactive constituents of plants, such as phytochemicals, to be considered and will be valuable for nutritional counseling purposes. To our knowledge, only 2 studies, in very different populations of pregnant women, one from a rural area in India and the other in the general population in Denmark, have assessed the association of the intake of fruit and vegetables as a food group with birth size (12,13). Both studies found a small significant increase in birth weight with higher consumption of fruit and vegetables after adjustment for covariates.

In this study, our aim was to assess the association between fruit and vegetable consumption during pregnancy and anthropometric measures at birth in a general population mother-infant cohort in Valencia, Spain. We hypothesized that increased intake of fruit and vegetables would promote fetal growth.

<sup>1</sup> Supported by the Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176), Ministerio Sanidad y Consumo (FIS 03/1615, FIS 04/1112, FIS 04/1509, FIS 05/1052, FIS 05/1133, FIS 06/1213, FIS 07/0314), Ministerio Educación y Ciencia (SAF2002-03509).

<sup>2</sup> Author disclosures: R. Ramón, F. Ballester, C. Iñiguez, M. Rebagliato, M. Murcia, A. Esplugues, A. Marco, M. García de la Hera, and J. Vioque, no conflicts of interest.

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: ballester\_fer@gva.es.

0022-3166/08 \$8.00 © 2009 American Society for Nutrition.

Manuscript received July 7, 2008. Initial review completed August 16, 2008. Revision accepted December 21, 2008.

First published online January 21, 2009; doi:10.3945/jn.108.095596.

## Materials and Methods

**Population and study design.** As part of a multicentre project [Infancia y Medio Ambiente (INMA)]<sup>7</sup> that aims to study the role of diet and environmental factors in fetal and infant health and development in different geographical areas of Spain, we set up a population-based birth cohort in a geographically defined area of the Valencian Community. Details about the research protocol have been published elsewhere (14).

Briefly, women from the study area who attended the first trimester prenatal population-based screening program for congenital malformations at the reference hospital (Hospital La Fe de Valencia) were eligible if they fulfilled the inclusion criteria (at least 16 y old, singleton pregnancy, inclusion visit at 10–13 wk, no assisted conception, no chronic hypertension, delivery foreseen at the reference hospital, and no communication handicap). From February 2004 to June 2005, 840 of the 1563 eligible women were included in the study after they signed the informed consent form (participation rate 54%). Fifteen women were recruited in October 2003 when a pilot study was conducted and they are also included in the analysis. Between inclusion in the study and delivery, 31 women had an abortion, 4 had a fetal death, 28 withdrew, and 5 were lost to follow up, leaving 787 pregnant women who delivered a live infant for the final analysis. Deliveries took place between May 2004 and February 2006. The Hospital La Fe Ethics Committee approved the research protocol.

**Assessment of fruit and vegetable intake.** A semiquantitative FFQ was used to assess the usual dietary intake of 100 food items and beverages during the first and third trimesters. Participants were asked to report the frequency of consumption of 10 fruit items (oranges; orange juice; bananas; apples or pears; peaches, nectarines, or apricots; watermelon or melon; grapes; prunes or plums; kiwis; and olives) and 12 vegetable items (spinach; cabbage, cauliflower or broccoli; lettuce or endive; tomatoes; onions; carrots or squash; green beans; eggplant, zucchini, or cucumber; green, red, or yellow peppers; artichokes; asparagus; and garlic) during 2 different periods: the first trimester (10–13 wk) and third trimester (28–32 wk). The first FFQ collected information on average consumption of each item since the last menstrual period (LMP) and was given at 10–13 wk in 91.7% of the cases; the second FFQ was given at 28–32 wk in 84% of the cases and collected information on consumption during the period that had elapsed since the first FFQ was administered.

The 100-item FFQ is an expanded version of a previous 93-item FFQ similar to the Harvard questionnaire (15), which we validated and developed for an adult Spanish population in Valencia with a high proportion of women (16,17). Although the 100-item FFQ has not been validated in the pregnant women in our study, the validity and reproducibility of the 93-item FFQ was satisfactory when comparing the FFQ with 4 1-wk dietary records. The mean correlation coefficients for 1-y validity and reproducibility of nutrient intakes were 0.47 and 0.40, respectively (18).

Participants in our study were asked how often, on average, they had consumed each food item during the relevant study period. Standard units or serving sizes were specified for each food item in the FFQ. The questionnaire had 9 possible responses, ranging from “never or less than once per month” to “six or more times per day.” The response for each food item was converted into average daily intake for each individual participant. The average daily intakes for each fruit and vegetable were added to give the total fruit and vegetable intake. Total energy intake was calculated from macronutrient and alcohol values, primarily obtained from food composition tables of the USDA (19). Caffeine (mg/d) and alcohol (g/d) intakes were assessed in the FFQ with specific items for coffee, nonalcoholic beverages, and other foods containing caffeine, wine, beer, and liquors, together with standard portions for all the items.

**Birth data ascertainment.** Information on anthropometric measures at birth was obtained from the hospital delivery logs and medical records.

Birth weight was measured by the midwife that attended the birth, whereas birth length was measured by a nurse when the newborn arrived in the hospital ward during the first 12 h. Gestational age was established on the basis of the date of the LMP self-reported by the mothers. An early ultrasound of the crown-rump length was also available and used for gestational dating when the difference from the LMP was  $\geq 7$  d. In 12.5% of the women, gestational age was estimated by ultrasound measurement.

Outcome variables were standardized birth weight (in g) and birth length (in cm) and small weight or length for gestational age. Birth weight and length were standardized for sex and gestational age (BWGA and BLGA) using the residual method. We defined small weight or length for gestational age (SGA) as a BWGA or BLGA below the 10th percentile based on growth reference charts standardized for both sex and gestational age for the Spanish population (20). Neither SGA (weight) nor SGA (length) could be defined for 1 newborn, because she was born very preterm and there was no value for her gestational age (23 wk) on the percentile charts.

**Other covariates and confounding factors.** Potential confounding factors were selected from previously reported determinants of fetal growth in the biomedical literature. Information on sociodemographic and other potential confounding factors was collected during an interview at entry into the study and at the 3rd trimester using a structured questionnaire. BMI was calculated by dividing the self-reported weight before pregnancy in kg by the square of the height in meters. Total gestational weight gain was calculated as the product of gestational length in weeks and weekly maternal weight gain. The latter was previously adjusted for the last available gestational age to avoid the nonlinearity of weight gain during pregnancy. Both BMI and weight gain were further classified following the Institute of Medicine guidelines (21). Active prenatal smoking was defined as smoking at least 1 cigarette per day during 3rd trimester. Socioeconomic status was defined in 3 occupational categories according to current or most recent occupation, and for 12 women who were always housewives, according to the husband's occupation using a widely used Spanish adaptation of the British classification system (22). Social class I included managerial and senior technical staff and freelance professionals; class II included intermediate occupations and managers in commerce; class III included skilled nonmanual workers; class IV included skilled and partly skilled manual workers; and class V included unskilled manual workers. We used 3 categories (I+II, III, IV+V) in our analysis.

**Statistical analysis.** We performed bivariate analysis to determine parental and infant characteristics associated with birth outcomes. Results are expressed as percentages or means  $\pm$  SD in the text and tables for descriptive purposes. Unpaired Student's *t* tests and 1-factor ANOVA were used to compare the means of continuous variables and  $\chi^2$  tests for categorical variables. Spearman correlation was used to estimate the correlation of fruit and vegetable intake between the 1st and 3rd trimesters. For continuous variables, we also checked for the shape of the relationship using graphical smoothing techniques (loess) (23). Height of both parents showed a linear relationship and was therefore included as a continuous variable in the models. The rest of the continuous variables were categorized to account for nonlinear associations. The loess fit for our explanatory variables, i.e. fruit and vegetable intake, gave a nonmonotonic shape for their relationship with anthropometric measures, especially in the case of fruit intake. Therefore, we examined the associations between birth outcomes and dietary exposure variables using quintiles of fruit and vegetable intake. Multiple linear regression was used to estimate the independent associations between continuous birth outcomes (BWGA and BLGA) and quintiles of fruit/vegetable intake adjusting for covariates. We included the fruit and vegetable variables in quintiles together with all the potential confounding factors in the same model. We then checked the change in  $R^2$  for each covariate or confounding factor manually and retained it if it was related to the outcome ( $P < 0.20$ ). We included maternal age and energy intake in quintiles in all models irrespective of their significance; we included energy intake in the models due to the correlation between food intake and energy intake (24). We also performed a sensitivity analysis using the fruit and vegetable intake variables adjusted for energy intake (24).

<sup>7</sup> Abbreviations used: BWGA, birth weight adjusted for gestational age and sex; BLGA, birth length adjusted for gestational age and sex; INMA, Infancia y Medio Ambiente; LMP, last menstrual period; LRT, likelihood ratio test; OR, odds ratio; SGA, small for gestational age.

For continuous outcome variables, when comparing differences among quintiles, using a different category reference than the one presented in the tables, results are expressed as means  $\pm$  SEM in the text. For dichotomous birth outcomes (SGA), we used logistic regression analysis following the same strategy as for continuous data, using the likelihood ratio test (LRT) for exclusion or inclusion of covariates.  $P < 0.05$  for the estimate of the effect was considered significant.

It has been reported that the association of fruit and vegetable intake during pregnancy with anthropometric measures at birth are stronger among lean women (12,13). It has also been reported that pregnant women who smoke may have lower plasma levels of antioxidant vitamins than do nonsmokers (25). Therefore, we investigated the possibility of effect modification with respect to prepregnancy weight and smoking

status. The interaction terms were not significant for either prepregnancy weight or for smoking ( $P > 0.05$ ).

We performed bivariate and multiple linear regression using the SPSS statistical software package, version 15 for Windows and logistic regression using the STATA version 9 statistical software package (Stata).

**Results**

Mean maternal age was 30 y and ranged from 16 to 43 y. Fifty-five percent were primiparous. Approximately 11% of the women were from abroad. A large proportion of women (23%) smoked during pregnancy (Table 1). Furthermore, 67% of the

**TABLE 1** Characteristics associated with birth outcomes among 787 pregnant women from INMA-Valencia cohort, 2004–2006<sup>1</sup>

Characteristics	%	Birth weight <sup>2</sup>	SGA for weight	Birth length <sup>2</sup>	SGA for length
Maternal age, y		<i>g</i>		<i>cm</i>	
<25	11	3237 $\pm$ 415*	10.6	50.2 $\pm$ 1.6	7.1
25–29	35	3301 $\pm$ 416	11.6	50.5 $\pm$ 1.9	6.2
30–34	38	3329 $\pm$ 442	13.6	50.6 $\pm$ 2.0	6.3
$\geq 35$	16	3424 $\pm$ 436	6.4	50.7 $\pm$ 1.7	2.4
Prepregnancy weight, kg					
<50	7	3077 $\pm$ 393*	25.9*	49.9 $\pm$ 2.1*	12.1*
50–59	40	3264 $\pm$ 383	11.8	50.3 $\pm$ 1.7	7.7
60–69	30	3395 $\pm$ 416	8.1	50.8 $\pm$ 1.9	3.0
70–79	13	3423 $\pm$ 480	9.4	50.9 $\pm$ 1.9	2.8
$\geq 80$	9	3409 $\pm$ 520	12.2	50.7 $\pm$ 1.9	5.4
Gestational weight gain, <sup>3</sup> %					
Under	24	3234 $\pm$ 441*	18.0*	50.3 $\pm$ 2.0*	9.5
Within	36	3319 $\pm$ 390	9.4	50.5 $\pm$ 1.8	4.2
Over	38	3381 $\pm$ 457	9.6	50.7 $\pm$ 1.8	5.0
Parity, %					
0	55	3253 $\pm$ 422*	14.7*	50.4 $\pm$ 1.8*	6.7
$\geq 1$	45	3412 $\pm$ 428	7.4	50.7 $\pm$ 1.9	4.5
Socioeconomic status, %					
I+II	16	3406 $\pm$ 409*	9.8	50.7 $\pm$ 1.7	4.9
III	24	3275 $\pm$ 427	11.3	50.4 $\pm$ 1.8	7.0
IV+V	61	3322 $\pm$ 437	11.9	50.6 $\pm$ 1.9	5.5
Country of origin, %					
Spain	88	3311 $\pm$ 431*	12.1	50.5 $\pm$ 1.9	5.8
Latin American	8	3496 $\pm$ 396	3.3	51.0 $\pm$ 1.8	6.7
Europe	3	3233 $\pm$ 435	14.8	50.3 $\pm$ 1.7	3.7
Others	3	3192 $\pm$ 464	18.2	50.5 $\pm$ 1.9	0.0
Smoking during pregnancy, %					
No	76	3369 $\pm$ 423*	9.7*	50.7 $\pm$ 1.8*	4.3*
Yes	23	3173 $\pm$ 431	17.9	49.9 $\pm$ 1.9	10.6
Infant sex, %					
Boys	53	3392 $\pm$ 446*	12.0	50.9 $\pm$ 1.9*	5.3
Girls	47	3248 $\pm$ 402	10.8	50.1 $\pm$ 1.7	6.2
First trimester alcohol intake, g/d					
0	69	3324 $\pm$ 433	10.5*	50.5 $\pm$ 1.8	5.5
0 to <1	20	3362 $\pm$ 432	9.6	50.6 $\pm$ 1.8	7.1
$\geq 1$	10	3257 $\pm$ 416	21.0	50.5 $\pm$ 1.8	4.9
First trimester caffeine intake, mg/d					
0 to $\leq 100$	72	3330 $\pm$ 413	10.8	50.6 $\pm$ 1.8	5.3
>100 to <200	20	3331 $\pm$ 452	12.3	50.6 $\pm$ 2.0	7.7
$\geq 200$	7	3254 $\pm$ 532	15.3	50.1 $\pm$ 1.7	5.1
Maternal height, cm		11.01 $\pm$ 2.39*	0.96*	0.04 $\pm$ 0.01*	0.94*
Paternal height, cm		7.04 $\pm$ 2.39*	0.97	0.02 $\pm$ 0.01*	0.96*

<sup>1</sup> Values are means  $\pm$  SD or % and for parental height  $\beta$  coefficients  $\pm$  SEM or OR. \* $P < 0.05$  (ANOVA test or chi-square test for continuous or categorical characteristics, respectively).

<sup>2</sup> Birth weight and length adjusted for sex and gestational age.

<sup>3</sup> Categories according to 1990 Institute of Medicine guidelines (21).

mothers had completed secondary education and, at the end of the first trimester of gestation, 62% were employed. Prepregnancy BMI was between 19.8 and 26.0 in 61% of the mothers and 24% of them were overweight or obese. The majority of women lived in metropolitan or semiurban areas (49 and 36%, respectively).

The birth weight for the study population was  $3227 \pm 527$  g and birth length was  $50.1 \pm 2.5$  cm. Overall, 11.5% of the newborns were SGA (weight) and 5.7% SGA (length). For bivariate analysis (Table 1), older mothers, mothers who had a prepregnancy weight between 60 and 79 kg, those who were taller, and those who were of Latin American origin had infants with a higher BWGA and a lower proportion of SGA (weight). A similar relationship existed in the case of taller fathers. Primiparous mothers with weight gain under the recommendations, those who smoked, and those who consumed  $\geq 1$  g/d of alcohol during the first trimester had infants with a lower mean birth weight and a higher proportion of SGA (weight). Type of residence was not associated with infant birth weight, but women from rural settings had a lower proportion of SGA (weight) infants. Similar associations were found for length, BLGA, and SGA (length) infants, except that there were no differences by country of origin or consumption of alcohol during the first trimester.

The daily intake of fruit and vegetables in this study population was  $293.0 \pm 216.1$  and  $213.3 \pm 121.0$  g/d, respectively. The correlation between the first and third trimesters of fruit and vegetable intake was 0.43 and 0.55, respectively (Spearman correlation;  $P < 0.01$ ; 2-sided) among participants who answered both FFQ ( $n = 775$ ). Mean intake of vegetables did not differ in the 2 trimesters (mean  $2.0 \pm 4.4$  g,  $P = 0.65$ ), whereas there was a difference of  $-25.5 \pm 8.9$  g ( $P < 0.001$ ) between first and third trimester fruit intake.

The daily intake and range per quintile of fruit and vegetable consumption during the first trimester according to birth outcomes is shown (Table 2). For bivariate analysis, increasing consumption of vegetables was associated with higher BWGA and BLGA, although mean weight and length in the highest quintile were somewhat lower than in the 4th quintile. There was a lower proportion of SGA (weight) infants per category

increment. In the case of birth length, the highest proportion of SGA (length) was in the first quintile of vegetable consumption, whereas the smallest was in the third. There was no clear pattern with regard to increasing fruit consumption and birth weight, length, or SGA (weight), although the highest proportion of SGA (length) was in the lowest quintile.

During the first trimester, younger women were in the lower categories of fruit and vegetable consumption. A smaller proportion of mothers from rural settings were in the lowest quintile of vegetable consumption (data not shown).

In the adjusted analysis, a nonmonotonic relationship was observed between vegetable consumption during the first trimester and BWGA (Table 3). None of the categories significantly differed with respect to the highest quintile, but there were differences with the 4th. Newborns of mothers in the first and 2nd quintiles of vegetable consumption weighed  $118.3 \pm 47.2$  g ( $P = 0.01$ ) and  $133.2 \pm 45.8$  g ( $P < 0.01$ ), respectively, less than newborns of mothers in the 4th quintile. Fruit consumption had no clear pattern and was only marginally significant ( $P = 0.08$ ). For the third trimester we found a similar association, with only the newborns of mothers in the first quintile of vegetable consumption weighing  $122.2 \pm 47.1$  g ( $P = 0.10$ ) less than newborns of mothers in the 4th quintile. Additionally, we explored the association using fruit and vegetable variables adjusted for energy intake (data not shown). Newborns of mothers in the first ( $148.2 \pm 46.6$  g) and 2nd ( $132.5 \pm 45.1$  g) quintiles of vegetable consumption weighed less ( $P < 0.01$ ) than newborns of mothers in the 4th quintile. Concerning BLGA, we found a similar pattern to that found for weight, with the first and 2nd quintiles of vegetable intake differing from the 4th quintile, although the difference was only marginally significant (LRT  $P = 0.05$  for both trimesters) (Table 3).

After adjustment for covariates and with vegetable and fruit intake in the same model, women in the 1st and 2nd quintiles of vegetable consumption had a significantly higher odds of having an SGA (weight) baby than women in the highest quintile [adjusted odds ratio (OR) 3.7, 95% CI: 1.5–8.9; and 3.0, 95% CI: 1.2–7.0, respectively] with a linear relationship ( $P$ -trend  $< 0.001$ ) (Table 4). Fruit consumption was not associated with SGA infants. In the third trimester of pregnancy, only women in

**TABLE 2** Birth outcomes according to fruit and vegetable consumption during first trimester of gestation (bivariate analysis) in pregnant women from INMA-Valencia cohort, 2004–2006<sup>1</sup>

Quintiles	Daily intake	Range	n	Birth weight <sup>2</sup>	SGA for weight	Birth length <sup>2</sup>	SGA for length
Vegetable		<i>g/d</i>		<i>g</i>	%	<i>cm</i>	%
Q1	72.8	0.0–114.0	156	3230 ± 438	18.6	50.2 ± 1.9	10.3
Q2	143.0	114.5–170.0	157	3279 ± 435	14.1	50.4 ± 2.0	7.1
Q3	197.9	170.2–224.3	156	3314 ± 408	9.6	50.7 ± 1.6	1.9
Q4	258.3	224.4–299.4	157	3423 ± 425	7.6	50.8 ± 1.8	4.5
Q5	394.7	299.4–948.8	156	3377 ± 426	7.1	50.6 ± 1.7	5.1
<i>P</i>				<0.001	0.01	0.01	0.02
Fruit							
Q1	85.0	3.4–137.9	156	3236 ± 401	15.4	50.2 ± 1.8	9.6
Q2	173.3	137.9–209.3	157	3355 ± 438	8.9	50.7 ± 1.8	4.5
Q3	244.7	210.4–278.7	156	3288 ± 433	13.5	50.4 ± 1.9	6.5
Q4	338.4	279.4–418.6	157	3401 ± 424	6.4	50.7 ± 1.8	5.1
Q5	622.4	421.5–2456.9	156	3344 ± 444	12.8	50.6 ± 1.7	3.2
<i>P</i>				0.01	0.07	0.12	0.16

<sup>1</sup> Values are means  $\pm$  SD or percentages. *P*-values from ANOVA or chi-square test for continuous or categorical characteristics, respectively.

<sup>2</sup> Birth weight and birth length adjusted for gestational age and sex.

**TABLE 3** Associations between consumption of fruit and vegetables by pregnant women and continuous birth outcomes: multivariate analysis from INMA-Valencia cohort, 2004–2006<sup>1</sup>

Quintiles	n	Δ Birth weight <sup>2,3</sup>		n	Δ Birth length <sup>2,4</sup>	
		β	95% CI		β	95% CI
First trimester dietary data						
Vegetable						
Q1	154	-55.5	-150.3–39.3	154	-0.1	-0.6–0.3
Q2	153	-70.5	-162.0–21.1	153	-0.1	-0.6–0.3
Q3	155	-27.2	-118.3–64.0	155	0.2	-0.2–0.6
Q4	152	62.8	-26.9–152.4	154	0.4	0.0–0.8
Q5	148	Referent		150	Referent	
P		0.04			0.05	
Fruit						
Q1	155	-57.2	-150.3–35.9	155	-0.3	-0.7–0.1
Q2	152	53.5	-37.6–144.7	151	0.2	-0.2–0.6
Q3	154	-26.0	-116.2–64.2	155	-0.1	-0.5–0.3
Q4	151	45.8	-43.7–135.4	154	0.0	-0.4–0.4
Q5	150	Referent		151	Referent	
P		0.08			0.15	
3rd trimester dietary data						
Vegetable						
Q1	156	-74.3	-170.5–21.9	156	-0.3	-0.7–0.1
Q2	152	1.6	-91.7–94.8	153	0.0	-0.4–0.4
Q3	155	34.1	-57.3–125.4	153	0.3	-0.1–0.7
Q4	151	47.9	-42.9–138.7	151	0.2	-0.2–0.6
Q5	153	Referent		153	Referent	
P		0.09			0.05	
Fruit						
Q1	156	-3.2	-101.3–95.0	156	0.2	-0.3–0.6
Q2	155	4.7	-89.3–98.6	155	0.0	-0.4–0.4
Q3	154	22.3	-69.5–114.1	153	0.3	-0.1–0
Q4	152	36.0	-56.4–128.4	151	-0.1	-0.5–0.3
Q5	150	Referent		151	Referent	
P		0.90			0.85	

<sup>1</sup> Values are β coefficients and 95% CI. P from change in R<sup>2</sup>.  
<sup>2</sup> Birth weight and birth length adjusted for gestational age and sex.  
<sup>3</sup> Adjusted for energy intake (in quintiles), maternal age, maternal prepregnancy weight, maternal height, paternal height, weight gain, parity, smoking during pregnancy, caffeine intake during the 3rd trimester, working at first trimester, country of origin, and sex of the infant.  
<sup>4</sup> Adjusted for energy intake (in quintiles), maternal age and height, paternal height, weight gain, parity, smoking during pregnancy, caffeine intake during first trimester, working during first trimester, socioeconomic status, and sex of the infant.

the 1st quintile of vegetable consumption had higher odds of having an SGA (weight) infant than women in the 5th quintile (adjusted OR 2.1; 95% CI: 1.0–4.7) (Table 4). Additionally, we modeled the association using fruit and vegetable variables adjusted for energy intake (data not shown). An increased risk for the first quintile of vegetable intake [(adjusted OR 3.1; 95% CI: 1.4, 6.9); P = 0.01] and a marginally increased risk for the second quintile [(adjusted OR 1.9; 95% CI: 0.8, 4.2); P = 0.12] were also found for vegetable intake during the first trimester with respect to SGA (weight) infants (P-trend < 0.001).

SGA (length) infants and maternal vegetable consumption (Table 4) were linearly associated and of higher magnitude for vegetable intake during the third trimester than during the first, with women in the first quintile having a higher odds of having an SGA (length) infant than women in the highest quintile [(adjusted OR 5.5; 95% CI: 1.7–17.7), P = 0.01] (P-trend < 0.01). When vegetable intake was adjusted for energy intake, the magnitude of the association was lower, with only the first

**TABLE 4** Associations between consumption of fruit and vegetables by pregnant women and dichotomous birth outcomes: multivariate analysis from INMA-Valencia cohort, 2004–2006<sup>1</sup>

Quintiles	n	SGA for birth weight <sup>2</sup>		n	SGA for birth length <sup>3</sup>	
		OR	95% CI		OR	95% CI
First trimester dietary data						
Vegetable						
Q1	152	3.7	1.5–8.9	152	1.6	0.6–4.5
Q2	153	3.0	1.2–7.0	152	1.9	0.7–5.3
Q3	155	1.7	0.7–4.3	155	0.3	0.1–1.3
Q4	152	1.0	0.4–2.7	152	0.8	0.2–2.3
Q5	148	1		148	1	
P		<0.001			0.03	
Fruit						
Q1	153	1.0	0.5–2.2	153	2.6	0.8–8.1
Q2	152	0.5	0.2–1.2	151	1.2	0.3–4.4
Q3	154	1.2	0.6–2.5	154	2.0	0.6–6.6
Q4	151	0.5	0.2–1.1	151	1.9	0.5–6.5
Q5	150	1		150	1	
P		0.08			0.41	
Third trimester dietary data						
Vegetable						
Q1	152	2.1	1.0–4.7	155	5.5	1.7–17.7
Q2	153	1.3	0.6–2.8	151	1.9	0.6–6.5
Q3	155	0.6	0.2–1.4	154	1.4	0.4–5.1
Q4	152	0.7	0.3–1.6	151	1.8	0.6–6.1
Q5	148	1		153	1	
P		0.01			0.02	
Fruit						
Q1	153	0.5	0.2–1.1	156	0.3	0.1–1.0
Q2	152	0.8	0.4–1.8	155	0.9	0.3–2.5
Q3	154	0.8	0.4–1.7	154	0.5	0.2–1.5
Q4	151	0.7	0.3–1.5	150	0.8	0.3–2.4
Q5	150	1		149	1	
P		0.44			0.20	

<sup>1</sup> Values are adjusted OR and 95% CI. P from LRT.  
<sup>2</sup> Adjusted for energy intake (in quintiles), maternal age, maternal prepregnancy weight, maternal height, weight gain, parity, smoking during pregnancy, alcohol consumption during first trimester, caffeine consumption during the 3rd trimester, working at first trimester, country of origin, and residence.  
<sup>3</sup> Adjusted for energy intake (in quintiles), maternal age, maternal prepregnancy weight, maternal and paternal height, weight gain, education, smoking during pregnancy, and season at LMP.

quintile showing a difference in odds from the fifth quintile [(adjusted OR 2.7; 95% CI: 1.0–7.6), P = 0.05] (P-trend = 0.04).

**Discussion**

In this cohort study of pregnant women in Spain, lower intake of vegetables was associated with an increased risk of having an SGA (weight and length) baby. This risk increase occurred mainly in vegetable intake during the first trimester for weight and during the third trimester for length. Moreover, lower intake of vegetables was associated with decreased BWGA and BLGA. Fruit intake was not associated with either risk of SGA or with BWGA and BLGA.

Fruit and vegetable consumption was previously found to be positively associated with birth weight in 2 cohorts of pregnant women, one from India and another from Denmark (12,13). The 2 studies showed a small, but consistent and significant,

increment in birth weight of ~6 g per category increment in consumption of green leafy vegetables, after adjustment for covariates, in the Danish study for consumption in quintiles and of 19 g for 3 categories of consumption in the Indian study. The association for fruit was stronger in the Danish study, with a significant increase in birth weight of 10.7 g per quintile. However, in our study we found no association with fruit intake, but an association of vegetable intake with BWGA and BLGA. There was a 63-g difference in birth weight and 0.37 cm in birth length in women in the 4th quintile with respect to the 2 lowest quintiles of consumption. Birth length was only reported in the Indian study, which did not find a significant effect (12). We cannot compare our results with the above mentioned studies, with respect to the risk of having a baby SGA, as they did not report the effects on SGA outcomes. Taken together, our findings suggest that low vegetable consumption may affect the lower tail of the birth weight and length distribution rather than the whole distribution, although we also observed some effect on the whole distribution. Although we could not analyze our data by specific food groups, green leafy vegetables (lettuce or endive, spinach, artichokes) represented almost one-third (27.6%) of the total vegetable consumption in our study population, whereas cruciferous vegetables (cauliflower or broccoli) represented 3.6% and other kinds of vegetables represented 68.6%.

An association between intake of folate, as well as of antioxidants, supplied by fruit and vegetables, and birth outcomes has been reported. In a cohort of pregnant women in Boston (11), no relationship was found between folate or vitamin C intake and birth size, whereas a study in the UK (10) found an increase in birth weight, with a 100-g difference between the lowest and highest tertiles of vitamin C intake, although this difference was reduced after adjustment for other covariates and was considered negligible by the authors. Additionally, some studies have investigated the association between micronutrient status and birth size. For example, a study in Korea reported an increase in birth weight and length with increasing serum concentrations of vitamin C (26). Nevertheless, 2 other studies did not find a significant effect when investigating circulating concentrations of folate or carotenoids (27,28). The apparent lack of association between intake or circulating concentrations of folate or antioxidants and birth size in some studies could be explained by the fact that other unmeasured bioconstituents present in fruit and vegetables could be responsible for their potential benefit. This has been suggested by some studies using fruit and vegetable intake as well as circulating concentrations, which found a benefit of fruit or vegetable intake that persisted even after adjustment for some related biomarkers (12,29).

Like any observational study, this study has limitations as well as strengths. The low participation rate, 54%, may make our results difficult to generalize. In addition, participation bias may not be ruled out if the decision to participate is correlated with maternal conditions that in turn are associated with the risk factor and the outcome under study. We compared participants and nonparticipants regarding sociodemographic characteristics and no significant differences were found except for working status, with a higher proportion of working women among participants (30). Because this variable was not related to either fruit and vegetable consumption or to the birth outcomes under study, it is unlikely that this selection bias could have exerted a significant impact on our results.

It is also possible that fruit and vegetable consumption was related to a healthier lifestyle. In our study, few factors were related to vegetable consumption; younger mothers were more likely to consume fewer vegetables and mothers living in rural

areas were more likely to consume more vegetables. Moreover, our region is a horticultural area and fruit and vegetables are widely available and consumed, although we can not completely rule out confounding by unmeasured factors. To address potential problems arising from the dietary intake assessment, we used a FFQ, which is particularly appropriate in studies with a large sample size to assess long term food and nutrient intake. However, it is possible for some type of misclassification to exist.

Our study has many strengths. As a result of the nature of the study design, data were prospectively and accurately collected by trained interviewers, which we consider a positive aspect. Information on all the identified and potential confounding factors was gathered and used in the analysis. We also estimated dietary intake at 2 points during pregnancy, covering the period up to the third trimester. There were few participants lost to follow-up (4%) from inclusion of mothers to delivery, assuring the internal validity of the study. Moreover, the effects persisted after adjustment for the important confounding factors and other important determinants of birth size.

According to our findings, a nonnegligible proportion of women in our study population did not achieve the minimum daily recommended intake of vegetable, ~200 g/d (31), and this was associated with less favorable birth outcomes in our study. It would be desirable, from a public health point of view, to reinforce preconceptional as well as prenatal nutritional counseling, in the context of healthier habits, to encourage pregnant women to eat adequate daily amounts of vegetables (apart from potatoes) in accordance with current recommendations.

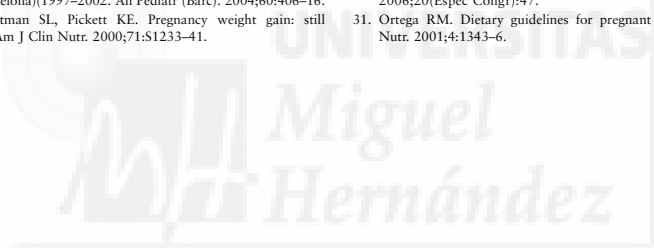
In conclusion, our study adds insight to the limited data on the association between fruit and vegetable intake and fetal growth. Higher intake of vegetables during pregnancy was associated with higher birth weight and length as well as with a decreased risk of having an SGA (weight or length) baby.

## Literature Cited

- Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:S1295-303.
- Bartley KA, Underwood BA, Deckelbaum RJ. A life cycle micronutrient perspective for women's health. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:S1188-93.
- Allen LH. Multiple micronutrients in pregnancy and lactation: an overview. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:S1206-12.
- Morris SS, Victora CG, Barros FC, Halpern R, Menezes AM, Cesar JA, Horta BL, Tomasi E. Length and ponderal index at birth: associations with mortality, hospitalizations, development and post-natal growth in Brazilian infants. *Int J Epidemiol.* 1998;27:242-7.
- Richards M, Hardy R, Kuh D, Wadsworth ME. Birthweight, postnatal growth and cognitive function in a national UK birth cohort. *Int J Epidemiol.* 2002;31:342-8.
- Merialdi M, Carroli G, Villar J, Abalos E, Gulmezoglu AM, Kulier R, De Onis M. Nutritional interventions during pregnancy for the prevention or treatment of impaired fetal growth: an overview of randomized controlled trials. *J Nutr.* 2003;133:S1626-31.
- Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261:412-7.
- Harding JE. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiol.* 2001;30:15-23.
- Wu G, Bazer FW, Cudd TA, Meininger CJ, Spencer TE. Maternal nutrition and fetal development. *J Nutr.* 2004;134:2169-72.
- Mathews F, Yudkin P, Neil A. Influence of maternal nutrition on outcome of pregnancy: prospective cohort study. *BMJ.* 1999;319:339-43.
- Lagiou P, Mucci L, Tamimi R, Kuper H, Lagiou A, Hsieh CC, Trichopoulos D. Micronutrient intake during pregnancy in relation to birth size. *Eur J Nutr.* 2005;44:52-9.
- Rao S, Yajnik CS, Kanade A, Fall CH, Margrets BM, Jackson AA, Shier R, Joshi S, Rege S, et al. Intake of micronutrient-rich foods in rural



- Indian mothers is associated with the size of their babies at birth: Pune Maternal Nutrition Study. *J Nutr.* 2001;131:1217-24.
13. Mikkelsen TB, Osler M, Orozova-Bekkevold I, Knudsen VK, Olsen SF. Association between fruit and vegetable consumption and birth weight: a prospective study among 43,585 Danish women. *Scand J Public Health.* 2006;34:616-22.
  14. Ribas-Fito N, Ramon R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N, Posada M, Rebagliato M, Tardon A, et al. Child health and the environment: the INMA Spanish Study. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2006;20:403-10.
  15. Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, Hennekens CH, Speizer FE. Reproducibility and validity of a semi-quantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol.* 1985;122: 51-65.
  16. Vioque J, Gonzalez L, Vicente MC, Garcia M, Vicente S. Validación de un cuestionario de frecuencia alimentaria (CFA): resultados preliminares. *Gac Sanit.* 1991;26:37-8.
  17. Vioque J, Gonzalez L. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev.* 1991;1:19-20.
  18. Vioque J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética. In: Serra Majem L, Aranceta Bartrina J, editors. *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones.* Barcelona: Masson-Elsevier; 1995. p. 132-6.
  19. USDA Agricultural Research Service. USDA national nutrient database for standard reference, release 20. Nutrient Data Laboratory Home Page. 2007 [cited 2008 30 May]. Available from: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/hdl>.
  20. Carrascosa A, Yeste D, Copil A, Almar J, Salcedo S, Gussinye M. Anthropometric growth patterns of preterm and full-term newborns (24-42 weeks' gestational age) at the Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron (Barcelona)(1997-2002). *An Pediatr (Barc).* 2004;60:406-16.
  21. Abrams B, Altman SL, Pickett KE. Pregnancy weight gain: still controversial. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:S1233-41.
  22. Domingo-Salvany A, Regidor E, Alonso J, Alvarez-Dardet C. Proposal for a social class measure. Working Group of the Spanish Society of Epidemiology and the Spanish Society of Family and Community Medicine. *Aten Primaria.* 2000;25:350-63.
  23. Hastie TJ, Tibshirani RJ. Generalized additive models. London: Chapman and Hall; 1990.
  24. Willet W. Nutritional epidemiology. New York: Oxford University Press; 1998.
  25. Drewnowski A, Rock CL, Henderson SA, Shore AB, Fischler C, Galan P, Preziosi P, Hercberg S. Serum beta-carotene and vitamin C as biomarkers of vegetable and fruit intakes in a community-based sample of French adults. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:1796-802.
  26. Lee BE, Hong YC, Lee KH, Kim YJ, Kim WK, Chang NS, Park EA, Park HS, Hann HJ. Influence of maternal serum levels of vitamins C and E during the second trimester on birth weight and length. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58:1365-71.
  27. Mathews F, Youngman L, Neil A. Maternal circulating nutrient concentrations in pregnancy: implications for birth and placental weights of term infants. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:103-10.
  28. Masters ET, Jedrychowski W, Schleicher RL, Tsai WY, Tu YH, Camann D, Tang D, Perera FP. Relation between prenatal lipid-soluble micro-nutrient status, environmental pollutant exposure, and birth outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:1139-45.
  29. Villegas R, Shu XO, Gao YT, Yang G, Elasy T, Li H, Zheng W. Vegetable but not fruit consumption reduces the risk of type 2 diabetes in Chinese women. *J Nutr.* 2008;138:574-80.
  30. Rodriguez MP, Romero-Aliaga E, Perez-Aliaga S, Quiles A, Ramón R, Rebagliato M, Esplugues A, Cases A, Andreu M. Análisis descriptivo de la participación y comparación de las inclusiones y rechazos en la cohorte de embarazo INMA-Valencia. *Gac Sanit.* 2006;20(Espec Congr):47.
  31. Ortega RM. Dietary guidelines for pregnant women. *Public Health Nutr.* 2001;4:1343-6.



---

**ARTICULO 2:** Ramon R, Murcia M, Ballester F, Rebagliato M, Lacasana M, Vioque J et al. Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain. *Sci Total Environ* 2008; 392(1):69-78.

---



available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



[www.elsevier.com/locate/scitotenv](http://www.elsevier.com/locate/scitotenv)



## Prenatal exposure to mercury in a prospective mother–infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain

Rosa Ramón<sup>a,c,\*</sup>, Mario Murcia<sup>a,b,c</sup>, Ferran Ballester<sup>a,b</sup>, Marisa Rebagliato<sup>a,c</sup>, Marina Lacasaña<sup>d</sup>, Jesús Vioque<sup>a,c</sup>, Sabrina Llop<sup>a,b</sup>, Ascensión Amurrio<sup>e</sup>, Xabier Aguinagalde<sup>e</sup>, Alfredo Marco<sup>a,f</sup>, Gemma León<sup>c</sup>, Jesús Ibarluzea<sup>a,g</sup>, Núria Ribas-Fitó<sup>a,h</sup>

<sup>a</sup>CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain

<sup>b</sup>Valencian School of Health Studies (EVES), Conselleria de Sanidad, Juan de Garay 21, 46017 Valencia, Spain

<sup>c</sup>Department of Public Health, Universidad Miguel Hernandez (UMH), Crta. Nacional Alicante, Valencia N-332, Km 87, 03550 San Juan de Alicante, Spain

<sup>d</sup>Escuela Andaluza de Salud Pública, Campus Universitario de Cartuja, Cuesta del Observatorio 4, 18080 Granada, Spain

<sup>e</sup>Laboratorio de Salud Pública de Alava, Santiago 11, 01002 Vitoria Gasteiz, Spain

<sup>f</sup>Hospital Universitari La Fe, Avda Campanar 21, 46015 Valencia, Spain

<sup>g</sup>Subdirección de Salud Pública de Guipúzcoa, Avda Navarra 4, 20013 Donostia, San Sebastián, Spain

<sup>h</sup>Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Doctor Aiguader 80, 08003 Barcelona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 13 July 2007

Received in revised form

9 November 2007

Accepted 19 November 2007

Available online 26 December 2007

#### Keywords:

Newborn

Prenatal exposure

Pregnancy

Mercury

Cord blood

Fish

### ABSTRACT

**Background:** Mercury (Hg) is a ubiquitous pollutant that negatively affects fetal and child neurodevelopment at accidental high-dose exposure. Some studies indicate that Mediterranean populations could be at risk of prenatal exposure to mercury through fish consumption.

**Objectives:** To assess the prenatal exposure to total mercury (T-Hg), both inorganic and organic, in newborns by analyzing the T-Hg concentration in cord blood, and to evaluate the role of maternal fish consumption in this exposure.

**Methods:** In the context of a multi-center project (INMA project), a prospective birth cohort was set up in Valencia, Spain, from 2005 to 2006. A total of 253 newborns were included in this study. We compared cord blood T-Hg concentration by levels of fish intake assessed by a food frequency questionnaire completed at 28–32 weeks of gestation. Maternal covariates were obtained through a questionnaire.

**Results:** The geometric mean of T-Hg at birth was 9.9 µg/L (95% CI: 9.0, 10.8). Seventy five percent of cord blood samples were above the estimated level assumed to be without appreciable harm (5.8 µg/L). Women who consumed a portion of large oily fish, lean fish, or mixed fried fish two or more times per week had mean cord blood levels 1.6, 1.4 and 1.3 times higher, respectively, than those who rarely or never consumed fish. Other factors such as the mother's age, country of origin, smoking and season of delivery were also significantly and independently associated with cord blood T-Hg concentrations.

\* Corresponding author. Escuela Valenciana de Estudios para la Salud (EVES), C/ Juan de Garay, 21, 46017 Valencia, Spain. Tel.: +34 96 386 62 43; fax: +34 96 386 73 62.

E-mail address: [ramon\\_rosbon@gva.es](mailto:ramon_rosbon@gva.es) (R. Ramón).

Conclusions: Newborns from a Mediterranean area presented elevated levels of T-Hg in cord blood. Higher concentrations of T-Hg were related to maternal fish intake, particularly in the case of large oily fish species.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Mercury (Hg) is a naturally occurring metal that is widespread in the environment. Anthropogenic sources from industry, combustion of fossil fuels, and mining activities contribute to the atmospheric burden and to the pollutant spreading to parts of the ecosystem where it was not found previously (International Programme on Chemical Safety, 1991; Ontario Public Health Association, 2004). Hg exists in several forms, as elemental mercury (e.g. dental amalgam), as inorganic compounds when combined with other elements (e.g. skin-lightening creams) or as organic compounds when combined with carbon (Centers for Disease Control and Prevention, 2005). Hg is transformed into methylmercury (MeHg), its most toxic, organic form, by microscopic organisms when atmospheric Hg is deposited on contaminated soils or water surfaces. In this form, it is capable of bioaccumulation in the marine food chain (Sanfeliu et al., 2003). The most common route of human exposure to mercury is through the consumption of fish contaminated with MeHg (International Programme on Chemical Safety, 1991; Centers for Disease Control and Prevention, 2005; US Environmental Protection Agency, 2007).

The toxic effects of MeHg became evident after episodes of accidental poisoning in Japan and Iraq due to the consumption of highly contaminated fish and grain. Its neurotoxic effects were seen in adults and the children of poisoned mothers, the latter being more seriously affected due to the vulnerability of the developing brain (Myers and Davidson, 2000; Weiss, 2000; Grandjean and Landrigan, 2006). In two communities with a high fish and sea mammals intake, such as the Republic of Seychelles and the Faroe Islands, the effects of prenatal exposure to MeHg on fetal and child neurodevelopment and behavior were found to be inconsistent. While in the Seychelles study no detrimental effects on children's cognitive functions have been found to date, except for one adverse association among 48 neurodevelopmental endpoints (Myers et al., 2003; Davidson et al., 2006), neuropsychological impairments in memory, attention, language, and to a lesser extent, visuospatial perception and motor functions have been noted in exposed children in the Faroes (Grandjean et al., 1997).

Data from the above cohorts together with data from a New Zealand cohort study (Crump et al., 1998) provided the basis for the National Research Council's and US EPA's 2001 validation of a Reference Dose (RfD), an estimate of a daily exposure where no appreciable risk of deleterious effects during a lifetime would occur, for MeHg intake of 0.1 µg/kg of body weight per day (National Research Council, 2000; US Environmental Protection Agency, 2007). This level was derived after applying an uncertainty factor of 10 to the lower 95% confidence limit for which significant neuropsychological effects in the offspring have been observed (58 µg/L in whole cord blood) (US Environmental Protection Agency, 2007). This level would correspond to a mercury concentration

of 5.8 µg/L in whole cord blood (Centers for Disease Control and Prevention, 2004). However, other agencies have recommended regulatory levels that are significantly less stringent than EPA's reference dose. The Agency for Toxic Substances and Disease Registry has established a daily intake of MeHg of 0.3 µg/kg of body weight per day as the Minimal Risk Levels (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007). The Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) revised in 2003 and confirmed in 2006 the recommendation for a safe mercury intake from food to a level of 1.6 µg/kg of body weight per week (0.22 µg/kg per day) (United Nations Environment Programme, 2007).

Besides the debate on safe exposure levels, from a public health perspective what remains to be elucidated is whether lower prenatal exposures than in the three mentioned cohorts, i.e. in communities with lower fish intake or less contaminated fish, may cause subtle adverse neurodevelopmental effects in fetus and children (Davidson et al., 2006; Daniels et al., 2004; Oken et al., 2005; Jedrychowski et al., 2006). In addition, the effects of prenatal Hg exposure on preterm birth have also been described recently (Xue et al., 2007).

Spain is a country with a relatively high consumption of fish in some regions (Amiano et al., 2001; Welch et al., 2002) and has been ranked as the second largest consumer of fish in the world behind Japan (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2007). It has been reported that the Mediterranean basin contains important cinnabar deposits and that fish at the top of the marine food chain have a higher mercury content than the fish found elsewhere (Renzi et al., 1998). In the 1980s, the WHO Regional Office for Europe initiated an evaluation of exposure to Hg as part of the Programme for Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean sea (MED POL). The results showed a wide range of hair Hg levels in pregnant women and fishermen with particularly high levels in a study of fishermen's families along the Dalmatian coast (Buzina et al., 1995). A more recent pilot study in Greece showed mean total hair Hg concentrations of above 1 ppm in pregnant women from several islands of the Eastern Aegean region (Gibicar et al., 2006). In a study conducted in eight European countries and Israel, evaluating the benefits-risks of fish consumption on myocardial infarction, the Spanish centers showed the highest levels of mercury measured in toenails (Guallar et al., 2002). In two studies in Spanish children, one showed that children in the highest fish intake groups had mercury levels in hair higher than 1 ppm (Batista et al., 1996) and the other found that in 31% of children in a region near an electrochemical factory, the level in hair was above 1 ppm (Montuori et al., 2006).

The aim of the present study is to assess the degree of prenatal exposure to mercury by measuring the total mercury levels in cord blood of a prospective mother-infant cohort in Valencia, Spain, and to evaluate the role of fish consumption and other factors in this exposure.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Population

The INMA — Infancia y Medio Ambiente (Environment and Childhood) project is a multi-center prospective Spanish cohort which aims to study the role of the most prevalent environmental pollutants and diet on fetal and child growth and development. In this study we present data from the Valencia birth cohort. Details of the multi-center INMA project and sampling procedures have been described elsewhere (Ribas-Fito et al., 2006). Briefly, pregnant women from one area in the Valencian Community, on the Mediterranean Coast in Spain, who attended the first trimester prenatal population-based screening program for congenital malformations at the reference hospital, were invited to participate providing they fulfilled the inclusion criteria (at least 16 years old, singleton pregnancy, inclusion visit at 10–13 weeks, no assisted conception, no chronic hypertension, delivery foreseen at the reference hospital, and no communication handicap). Women were recruited in a consecutive manner during their first trimester of pregnancy (10–13 weeks). Eligible pregnant women who agreed to participate signed an informed consent form. The Hospital Ethics Committee approved the research protocol.

Of the 1578 eligible women, 855 agreed to participate (54%). Participants were of similar age to non-participants but they were more likely to work at the time of the proposal. Between recruitment of the mothers and delivery, 31 women had an abortion, 4 a fetal death, 28 withdrew and 5 were lost to follow up, giving a total of 787 infants born between August 2005 and February 2006. For logistic reasons and limited budget resources, the Hg analysis determinations were restricted to the first consecutive 255 newborns out of the 550 with available cord blood; maternal characteristics of the subsample were comparable to those of the rest of the cohort. The only differences between newborns with cord blood samples and those without were more advanced gestation and less frequency of still birth or fetal death in previous pregnancies when cord blood was available.

### 2.2. Study variables

A semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) of 100 food items was administered twice, once in the first visit (10–13 weeks) after recruitment and again during their third trimester (28–32 weeks), to assess usual dietary intake during pregnancy. Participants in our study were asked how often, on average, they had consumed each item type over the past 3–4 months. The FFQ was a modified version of the Harvard questionnaire that was previously validated and adapted for adult Spanish populations (Willett et al., 1985; Vioque and Gonzalez, 1991; Vioque, 2006). The FFQ had nine possible responses, ranging from “never or less than once per month” to “six or more per day”, and included eleven questions about fish intake (mixed fried fish, lean fish, large oily fish, small oily fish, canned tuna fish, canned sardine or mackerel, dry or smoked fish), processed fish, and three items for shellfish and cephalopods. A commonly used serving size was specified for

each food item in the FFQ. The response to each fish food item was converted to average daily intake in grams for each individual participant. The average daily intakes for each fish item were then added up to compute the total fish intake. For the purpose of this study, we used data from the FFQ obtained in the third trimester of pregnancy, the closest to the date of delivery.

Information on socio-demographic characteristics, occupational history, and life-style was obtained through two questionnaires completed in the first and third trimester. The covariates studied were maternal age, pre-pregnancy body mass index (BMI), birth order, sex of baby, gestational age, country of origin, educational level, social class, maternal smoking status, maternal dental fillings, type of residence, and season of delivery. All questionnaires were administered by trained interviewers.

Whole blood samples were collected using venipuncture of cord vessels before the placenta was delivered. Samples were processed, separated into aliquots of 1 mL and then frozen to  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. One aliquot was used to analyze total mercury (T-Hg) by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrometry using a single-purpose LECO AMA-254 analyzer. Replicate analyses were made for each sample and the limit of determination (LOD) of the procedure was  $2.0\ \mu\text{g/L}$ . There was enough blood in 253 of the 255 samples to allow analysis of mercury. All analyses were carried out in the Public Health Laboratory of Alava (Basque Country, Spain). Total mercury in whole cord blood, as a measure of inorganic and organic mercury, was used to evaluate mercury exposure. According to the National Center for Health Statistics (Mahaffey, 2005), as total blood mercury concentrations rise, the proportion of MeHg increases. Specifically, when total blood mercury levels were above  $4\ \mu\text{g/L}$ , MeHg accounted for approximately 90% of total mercury (Mahaffey, 2005), and it has been considered as an appropriate estimator of MeHg (Fok et al., 2007).

### 2.3. Statistical analysis

We calculated the geometric mean and percentiles for descriptive purposes. For further analysis the dependent variable T-Hg was log-transformed to improve normality which was assessed with the Shapiro-Wilk test. The mean and its 95% confidence interval were back-transformed to obtain the geometric mean of cord blood T-Hg levels and its 95% confidence interval. Graphical loess techniques were applied to evaluate the shape of the relationship between fish consumption and log T-Hg levels to better capture distances from linearity (Hastie and Tibshirani, 1990).

In univariate analysis, differences in log T-Hg levels between sub-groups for maternal characteristics as well as for the three groups of seafood (total fish, shellfish/cephalopods and processed fish) were tested using an ANOVA model. Homogeneity of variances was assessed by Levene's test, using the Welch robust analysis of variance when needed. The analysis of covariance was done to compare means in different variables controlling for differences in covariates. The significance level for inclusion of covariates was  $p < 0.1$ . Variables associated with log T-Hg levels on univariate analysis, were further simultaneously adjusted for. Those factors which remained significant were included in the final

multi-covariate model, which compared T-Hg levels by fish-consumption categories controlling for differences in significant maternal characteristics and for the other fish groups. Analyses of the model assumptions (linearity, normality, homoscedasticity, independence of the residuals, absence of outliers, and multi-collinearity among the independent variables) were performed. All *p*-values were two-tailed.

In order to impute values to the samples below the LOD, taking into account that only 4 measurements were below as well as the shape of the distribution of T-Hg levels, we used the approach  $LOD/\sqrt{2}$  as has been used in the U.S. National Reports on Human Exposure to Environmental Chemicals (Centers for Disease Control and Prevention, 2005). Statistical analysis was done with the Statistical Package for Social Sciences version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and S-PLUS 2000 statistical package (MathSoft Inc., Seattle, WA, USA).

### 3. Results

Total mercury (T-Hg) was detected and quantified in 249 of the 253 samples (98%). The geometric mean cord blood concentration of T-Hg for the study population was 9.9  $\mu\text{g/L}$  (95%CI: 9.0, 10.8) with an inter-quartile range from 5.8 to 18  $\mu\text{g/L}$ , and a median of 10  $\mu\text{g/L}$ . Seventy five percent of the samples exceeded a T-Hg concentration of 5.8  $\mu\text{g/L}$ , and 15% had concentrations above 22  $\mu\text{g/L}$ . The mean daily intake of total seafood during the second and third trimester was 67 g/day, with 45% of the women consuming more than 60 g/day and 15% more than 100 g/day. Only three women reported consuming seafood less than once per month or not at all. Regarding total seafood consumption, lean fish and canned light tuna fish were the most frequently consumed (24.9% and

20.0% respectively), followed by large oily fish (14.3%), and mixed fried fish (13.8%) (data not shown). The relationship between  $\log(\text{T-Hg})$  and total fish consumption was explored by means of a loess fit (Fig. 1). A linear relationship was observed although the curve smooths out above a level of fish intake of 100 g/day. This helped us to define the categories of total fish consumption used in the analysis.

Table 1 shows the geometric mean concentrations of T-Hg in cord blood by maternal characteristics. On univariate analysis, the concentration of T-Hg in cord blood significantly increased with maternal age and level of education. Concentrations were higher in Spanish women and those with metallic dental amalgams, and lower in women that smoked during pregnancy and gave birth in winter. Concerning mean concentrations of T-Hg in cord blood by maternal seafood consumption (Table 2), women consuming larger amounts of fish had significantly higher levels of cord blood T-Hg. This was not the case for shellfish and cephalopods or for processed fish, the consumption of which is negligible in this population.

On multivariate analysis, the maternal characteristics that remained significant after being simultaneously adjusted for total fish consumption and for all other covariates (Table 3) were the mother's age, country of origin, educational level, smoking during third trimester of pregnancy, and season of delivery. Maternal dental fillings were not longer significant when adjusted for the above covariates. Women who reported consuming more than 90 g of total fish per day had mean cord blood levels over two-fold higher than women who rarely or never consumed fish. Table 4 presents the unadjusted and adjusted mean concentration of T-Hg in cord blood by consumption of each fish group. In the adjusted model, women who reported eating a portion of large oily fish, lean

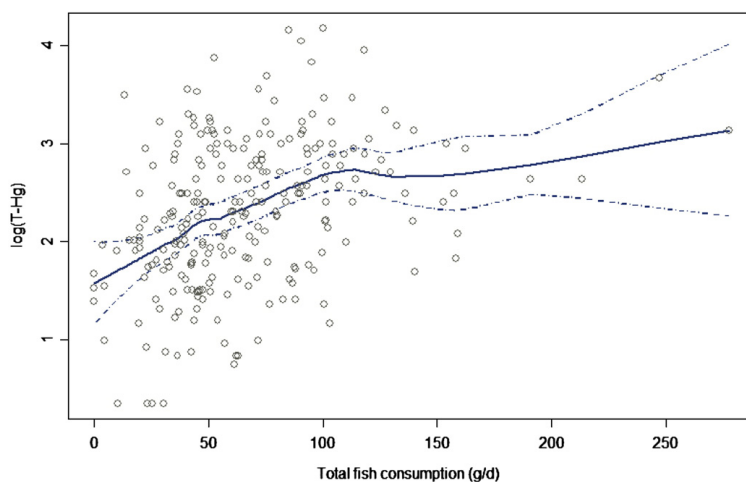


Fig. 1 – Association between  $\log(\text{T-Hg})$  and total fish consumption: loess fit and 95% confidence interval (tricube weight function, one degree local polynomial fit, fitting 50% nearest neighbors).

fish, or mixed fried fish two or more times per week had mean cord blood levels 1.6, 1.4 and 1.3 times higher, respectively, than women who rarely or never consumed fish.

Educational level lost its significance when T-Hg was adjusted for large oily fish because mothers with a higher

**Table 1 – Total cord blood mercury levels ( $\mu\text{g/L}$ ) by maternal characteristics, INMA — Valencia cohort, 2004–6<sup>a</sup>**

Maternal characteristics	% (n)	GM	95% CI	p-value
Age				<0.01
<25	11.5 (29)	8.0	(6.1–10.4)	
25–29	34.0 (86)	8.6	(7.3–10.0)	
30–34	42.3 (107)	10.8	(9.4–12.5)	*
≥35	12.3 (31)	13.1	(10.1–17.0)	*
Country of origin				<0.01
Spain	88.5 (224)	10.4	(9.4–11.5)	
Latin American	8.7 (22)	7.1	(5.2–9.7)	*
Rest of Europe	2.8 (7)	5.3	(3.0–9.2)	*
Pre-pregnancy BMI				0.62
Underweight (BMI < 18.5)	6.4 (16)	8.0	(5.5–11.6)	
Healthy (18.5 ≤ BMI < 25)	65.3 (164)	10.2	(9.1–11.5)	
Overweight (25 ≤ BMI < 30)	19.1 (48)	9.5	(7.6–11.7)	
Obese (BMI ≥ 30)	9.2 (23)	9.7	(7.1–13.2)	
Parity				0.16
1	56.9 (144)	10.4	(9.2–11.7)	
2	34.0 (86)	9.8	(8.4–11.5)	
≥3	9.1 (23)	7.5	(5.5–10.2)	
Gestational weeks				0.89
≤38	19.0 (48)	10.0	(8.1–12.4)	
39	29.0 (73)	10.0	(8.4–11.9)	
40	29.8 (75)	10.2	(8.5–12.1)	
≥41	22.2 (56)	9.2	(7.5–11.2)	
Educational level				<0.01
Up to primary school	36.0 (91)	8.0	(6.9–9.3)	
Secondary school	41.1 (104)	11.2	(9.7–12.9)	*
University degree	22.9 (58)	11.0	(9.1–13.3)	*
Area of residence				0.31
Urban	8.8 (22)	8.5	(6.2–11.7)	
Metropolitan	51.4 (128)	9.8	(8.6–11.1)	
Semi-urban	35.3 (88)	10.0	(8.6–11.7)	
Rural	4.4 (11)	14.3	(9.2–22.4)	
Smoked during pregnancy				0.01
No	74.9 (188)	10.6	(9.6–11.8)	
Yes	25.1 (63)	8.2	(6.8–9.8)	*
Mercury dental fillings				<0.01
No	44.7 (113)	8.5	(7.4–9.8)	
Yes	55.3 (140)	11.1	(9.8–12.5)	*
Occupational exposure to Hg				0.32
No	98.4 (247)	9.9	(9.0–10.9)	
Yes	1.6 (4)	14.4	(6.9–30.1)	
Child's sex				0.77
Male	53.4 (135)	9.7	(8.6–11.1)	
Female	46.6 (118)	10.0	(8.7–11.5)	
Season of delivery				<0.01
Winter	35.6 (90)	7.7	(6.6–8.9)	
Spring	8.3 (21)	12.7	(9.3–17.3)	*
Summer	7.9 (20)	13.7	(9.9–18.9)	*
Autumn	48.2 (122)	10.8	(9.5–12.3)	*
Total	100.0 (253)	9.9	(9.0–10.8)	

GM: geometric mean.

\* p < 0.05 for test of difference in means with the first category as referent.

<sup>a</sup> ANOVA for means comparison of log-transformed Hg levels and back-transformed.

**Table 2 – Total cord blood mercury levels ( $\mu\text{g/L}$ ) by seafood, INMA — Valencia cohort, 2004–6<sup>a</sup>**

Seafood consumption	% (n)	GM	95% CI	p-value
Total fish				<0.01
0–30 g/day	19.9 (50)	6.3	(5.2–7.6)	
31–40 g/day	21.5 (54)	8.9	(7.4–10.7)	*
41–60 g/day	20.7 (52)	9.4	(7.8–11.4)	*
61–90 g/day	20.3 (51)	12.3	(10.2–14.9)	*
>90 g/day	17.5 (44)	16.1	(13.1–19.7)	*
Shellfish and cephalopods				0.32
0–15 g/day	83.7 (210)	9.8	(8.8–10.8)	
>15 g/day	16.3 (41)	11.1	(8.8–13.9)	
Processed fish				0.66
0–10 g/day	95.2 (239)	10.0	(9.1–11.0)	
>10 g/day	4.8 (12)	9.1	(5.9–13.9)	
Total <sup>b</sup>	100.0 (251)	10.0	(9.1–10.9)	

GM: geometric mean.

\* p < 0.05 for test of difference in means with the first category as referent.

<sup>a</sup> ANOVA for means comparison of log-transformed Hg levels and back-transformed.

<sup>b</sup> Missing data on fish consumption for two women.

**Table 3 – Adjusted total cord blood mercury levels (geometric mean and 95% CI, in  $\mu\text{g/L}$ ) according to fish consumption and maternal characteristics, INMA — Valencia cohort, 2004–6<sup>a</sup>**

Maternal characteristics	GM	95% CI	p-value
Total fish consumption			<0.001
0–30 g/day	6.7	(5.6–8.0)	
31–40 g/day	8.6	(7.3–10.2)	*
41–60 g/day	10.0	(8.4–11.9)	**
61–90 g/day	11.5	(9.7–13.8)	**
>90 g/day	15.6	(12.9–18.9)	**
Country of origin			<0.001
Spain	10.6	(9.7–11.5)	
Latin American	6.4	(4.9–8.4)	**
Rest of Europe	5.9	(3.6–9.5)	*
Educational level			0.019
Up to primary school	8.5	(7.5–9.8)	
Secondary school	11.0	(9.7–12.4)	*
University degree	10.6	(8.9–12.5)	*
Smoked during pregnancy			0.026
No	10.5	(9.6–11.5)	
Yes	8.5	(7.2–10.0)	*
Season of delivery			<0.001
Winter	8.2	(7.2–9.4)	
Spring	14.2	(10.8–18.7)	**
Summer	12.6	(9.5–16.8)	**
Autumn	10.4	(9.3–11.7)	**
Age	2.1% <sup>b</sup>	(0.1%–4.1%)	0.038

GM: geometric mean.

\* p < 0.05 for test of difference in means with the first category as referent.

\*\* p < 0.01 for test of difference in means with the first category as referent.

<sup>a</sup> Total cord blood mercury levels (mean and 95% CI) simultaneously adjusted for all other variables in the table.

<sup>b</sup> Percentage change in adjusted geometric means associated with increasing age in 1 year.



**Table 4 – Unadjusted and adjusted cord blood mercury levels (µg/L) according to frequency of consumption of different types of fish, INMA – Valencia cohort, 2004–6**

Fish consumption	%	(n)	Unadjusted geometric means <sup>a</sup>		Adjusted geometric means <sup>b</sup>	
			GM	95% CI	GM	95% CI
Large oily fish: tuna, swordfish, bonito						
Rarely/never	40.6	(102)	7.2	(6.3–8.3)	8.0	(7.0–9.1)
1–3 portions per month	19.1	(48)	9.6	(7.9–11.7)*	9.6	(7.9–11.7)
1 portion per week	31.5	(79)	13.5	(11.6–15.7)*	12.7	(11.0–14.7)*
≥2 portions per week	8.8	(22)	15.8	(11.8–21.1)*	12.7	(9.5–16.9)*
Lean fish: hake, sole, gilthead						
Rarely/never	25.1	(63)	6.8	(5.7–8.2)	8.5	(7.1–10.0)
1–3 portions per month	17.9	(45)	9.3	(7.6–11.5)*	9.8	(8.0–12.0)
1 portion per week	33.1	(83)	11.1	(9.5–12.9)*	10.2	(8.8–11.8)
≥2 portions per week	23.9	(60)	13.4	(11.2–16.1)*	11.6	(9.7–13.8)*
Oily fish: mackerel, sardines, anchovy, salmon						
Rarely/never	53.0	(133)	8.8	(7.8–10.0)	9.7	(8.7–10.9)
1–3 portions per month	28.7	(72)	11.6	(9.7–13.7)*	11.2	(9.6–13.1)
≥1 portions per week	18.3	(46)	11.3	(9.1–14.0)	8.9	(7.3–10.8)
Fish fried and mixed						
Rarely/never	49.8	(125)	10.1	(8.9–11.6)	10.0	(8.9–11.2)
1–3 portions per month	18.7	(47)	8.1	(6.5–10.0)	8.3	(6.8–10.1)
1 portion per week	19.5	(49)	9.8	(7.9–12.1)	9.9	(8.3–11.9)
≥2 portions per week	12.0	(30)	13.1	(10.1–17.1)	13.3	(10.5–16.9)*
Canned light tuna fish						
Rarely/never	12.7	(32)	7.4	(5.7–9.6)	9.0	(7.2–11.3)
1–3 portions per month	23.9	(60)	9.0	(7.5–10.9)	9.1	(7.7–10.7)
1 portion per week	37.1	(93)	11.1	(9.6–12.9)*	10.3	(9.0–11.7)
≥2 portions per week	26.3	(66)	10.8	(9.0–12.9)*	10.9	(9.3–12.8)
Canned sardines or mackerel						
Rarely/never	82.1	(206)	9.6	(8.7–10.6)	9.8	(9.0–10.7)
≥1 portions per month	17.9	(45)	11.7	(9.4–14.6)	10.7	(8.8–12.9)
Smoked fish: anchovy, cod, salmon						
Rarely/never	79.7	(200)	9.6	(8.6–10.6)	9.8	(8.9–10.7)
≥1 portions per month	20.3	(51)	11.6	(9.4–14.2)	10.8	(9.0–13.0)
Total <sup>c</sup>	100.0	(251)	10.0	(9.1–10.9)		

GM: geometric mean.

\*  $p < 0.05$  for test of difference in means with the lowest category as referent.

<sup>a</sup> ANOVA for means comparison of log-transformed Hg levels and next back-transformed to obtain the adjusted geometric means for T-Hg levels.

<sup>b</sup> Log(T-Hg) means simultaneously adjusted for age, country of birth, season of delivery, educational level, smoking, and for all other fish groups in the table.

<sup>c</sup> Missing data on fish consumption for two women.

level of education were greater consumers of this type of fish. No other food group (chicken, vegetables, fruits, eggs, etc.) were associated with mercury levels (data not shown).

#### 4. Discussion

Newborns from the Valencia birth cohort presented elevated levels of cord blood T-Hg. A high proportion of them (75%) exceeded the US EPA recommended level of 5.8 µg/L (US Environmental Protection Agency, 2007; Centers for Disease Control and Prevention, 2004). Even if we consider that the US EPA level of 5.8 µg/L refers to MeHg, 70% of newborns in our cohort had MeHg levels above the recommended level.

Women with the highest fish intake during the third trimester of pregnancy presented the highest concentrations of T-Hg in cord blood. Regarding group of fish, large oily fish, lean fish, and mixed fried fish consumption was significantly associated with T-Hg levels. This relationship showed different shape among fish groups. While a steady increasing trend was observed for lean fish, a pronounced step appeared for big fatty fish consumption. Moreover, the mother's age, country of origin, smoking during third trimester of pregnancy, and season of delivery were also independently associated with mercury levels.

In our study, as in others (Hsu et al., 2007; Bjornberg et al., 2003; Sato et al., 2006; Fok et al., 2007), maternal fish consumption was the main factor that increased fetal mercury levels. We compared the observed cord blood mercury levels with those from other populations, as well as the percentage that exceeded the level of 5.8 µg/L, as shown in Table 5. In the present study, with a T-Hg geometric mean of 9.9 µg/L, cord blood levels were comparable to those reported in other heavily fish-eating communities like Japan (Sakamoto et al., 2007), Taiwan (Hsu et al., 2007), and Hong Kong (Fok et al., 2007). In our cohort, the mean total daily seafood consumption was 67 g. In the study in Japan, consumption of fish was not reported, however in a cohort of Japanese pregnant women, settled up between 2001 and 2003, a mean daily seafood intake of 48.1 g was reported (Miyake et al., 2006). In Taiwan, the mean consumption of fish was approximately 3 times per week, and the mean daily total seafood intake in the Hong Kong cohort was 66 g/day. On the other hand, mean cord blood mercury levels in our cohort are much higher than those encountered in other studies in Europe. The mean Hg concentration was 18-fold times higher than in a birth cohort from Poland where the mother's mean daily fish intake was 21.4 g/day (Jedrychowski et al., 2006), and almost 8-fold those of Swedish women, according to their median values (1.3 µg/L vs 10 µg/L), with a mean daily fish intake of 25 g/day (Bjornberg et al., 2003). Our results contrast with those of a recent birth cohort study conducted in Istanbul (Turkey) where they found much lower levels of mercury, with only 23.8% of pregnant women consuming fish once or twice a week (Unuvar et al., 2007). Our study also shows higher levels of T-Hg than those observed in two studies in Canada, one in Southern Canada (Rhainds et al., 1999), and the other in an Inuit population from Artic Canada (Butler et al., 2006). However, the concentrations of T-Hg in our newborns are lower than those reported in other heavily exposed populations in the Faroe



**Table 5 – Comparative total mercury concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) in cord blood in different populations and periods**

Author (publication year)	Country	Study year	n	GM ( $\mu\text{g/L}$ )	Range	>5.8 $\mu\text{g/L}$ (%)
Soria et al. (1992)	Spain	–	24	6.4 <sup>a</sup>	2.0–15.1	>50
Grandjean et al. (1997)	The Faroes	1986–7	894	22.9 <sup>b</sup>	13.4–41.3 <sup>c</sup>	>75
Rhainds et al. (1999)	Southern Canada	1993–5	1108	1.0	0.9–1.0	0
Stewerwald et al. (2000)	The Faroes	1994–5	182	20.4	11.8–40.0 <sup>c</sup>	>75
Bjerregaard and Hansen (2000)	Disco Bay Greenland	1994–6	178	25.3	2.4–181	>50
Muckle et al. (2001a,b)	Northern Canada	1995–01	130	18.5	12.0–27.2 <sup>c</sup>	>75
Bjornberg et al. (2003)	Sweden	1996–9	131	1.3 <sup>b,d</sup>	0.1–5.7	0
Sakamoto et al. (2007)	Japan	1996	116	9.8	6.96–13.6 <sup>c</sup>	>75
Butler et al. (2006)	Arctic Canada (all samples)	1994–9	402	2.7	ND–75.8	25
	Arctic Canada (Inuit)	1994–9	169	6.9	0.4–75.8	56
Fok et al. (2007)	Hong Kong	2000–01	1057	8.8 <sup>d</sup>	6.3–12.3 <sup>c</sup>	78.4
Jedrychowski et al. (2006)	Poland	2001–3	233	0.8	0.1–5.0 <sup>c</sup>	0
Sato et al. (2006)	Hawaii	2004–5	188	4.8 <sup>a</sup>	0–20	28.3
Hsu et al. (2007)	Taiwan	2004–5	65	9.2	3.8–28	89
Unuvar et al. (2007)	Turkey	2004–6	143	0.5	0–2.3	0
Present study (2007)	Spain	2004–6	253	9.9	5.8–18 <sup>c</sup>	75

GM: geometric mean.  
<sup>a</sup> Arithmetic mean.  
<sup>b</sup> Methylmercury.  
<sup>c</sup> Inter-quartile range.  
<sup>d</sup> Median.

Islands, Disco Bay in Greenland and in an Inuit population from Northern Quebec with a traditionally high intake of fish and sea mammals, (Grandjean et al., 1997; Stewerwald et al., 2000; Bjerregaard and Hansen, 2000; Muckle et al., 2001a,b). To our knowledge, there is only one study conducted in Spain in 1992 evaluating prenatal exposure of mercury in cord blood. They found a mean total cord blood mercury level of 6.43  $\mu\text{g/L}$  in 24 pregnant women (Soria et al., 1992). Concerning levels above 5.8  $\mu\text{g/L}$ , our results were among the group of studies with the highest percentages exceeding this level (Table 5). Nevertheless, when comparing mercury levels across studies in different periods one must take into account possible changes in mercury exposure over time which could be attributed to changes in traditional diets or changes in concentrations of Hg in fish or sea mammals, as has been described by Butler and cols in Arctic Canada (Butler et al., 2006).

Older mothers and those of Spanish origin had higher T-Hg cord levels after adjustment for fish consumption and other related factors. Other studies have also observed a relationship with older age or ethnicity (Bjerregaard and Hansen, 2000; Fok et al., 2007; Xue et al., 2007). Although some unmeasured confounding cannot be excluded, the results suggest that some kind of accumulation over time may account for higher levels in older mothers in a population with a regular intake of mercury due to fish consumption. The half-life of MeHg has been described to be approximately 50 days (20–70 days) in the body (Sanfeliu et al., 2003), nevertheless in a study of high-end consumers of fish in the US, it took approximately 41 weeks for their levels to fall below 5  $\mu\text{g/L}$  after they reduced or stopped their fish consumption (Hightower and Moore, 2003). A longer persistence of MeHg in the body may account for the higher levels in mothers of Spanish origin than in mothers from other countries; although some differences in the type of fish consumed not detected by the FFQ (i. e. fish groups instead of individual species) can not be ruled out. Mothers who smoked had lower T-Hg cord blood levels and, although they consumed less fish than non-smokers, the effect

remained significant after adjustment for fish consumption. Fok et al. (2007) also reported lower levels in smokers but the effect was no longer significant when they adjusted for other factors. The underlying mechanisms are unclear; however, activation of some detoxification systems that might also protect the fetus to a certain extent from other toxicants has been reported in the placenta of smokers (Sanfeliu et al., 2003; Kantola et al., 2004). T-Hg cord blood levels were higher in women that delivered in spring and summer time. This finding may in part reflect changes in fish consumption during the period not recorded by the FFQ (i.e. from the time the FFQ was administered to delivery). Seasonal variations in the potential for methylation in superficial sediments in lakes and rivers have been described, with there being the greatest potential during summer time and in warmer waters (Korthals and Winfrey, 1987; Evans et al., 2005; Weis and Ashley, 2007). Apart from fish, we did not find any other food group related to mercury levels, although chicken has been implicated in other studies due to animal feeding practices with fish meal (Bjornberg et al., 2003).

Other factors that may account for the variability of mercury levels in our population could be inter-individual differences in kinetics or detoxification systems (Canuel et al., 2006) and also in diet, given the interaction between mercury and specific micronutrients (e.g., wheat bran and vitamin E are considered protective against MeHg toxicity) (National Research Council, 2000).

In addition, fish is also the major source of essential fatty acids like omega 3 and other nutrients such as vitamin E and selenium. In epidemiological studies, maternal fish intake during pregnancy, as well as the concentration of omega 3 in cord blood, has shown beneficial effects on neurodevelopment and visual function in children when fish intake is moderate and not highly contaminated (Williams et al., 2001; Daniels et al., 2004; Oken et al., 2005). It would therefore be very important to elucidate the risks-benefits of fish consumption in exposed populations.

Fish intake was estimated by means of a semi-quantitative food frequency questionnaire. Even though the FFQ has been validated and is especially useful for evaluating long term food and nutrient intake in large populations, it has its own limitations when evaluating dietary intake (Willett et al., 1985). Fish-consumption data has been reported to be reliable in angler populations (Li et al., 2005), although it is also known that an over-reporting occurs as the number of food items increases, e.g. recording different types of fish, and that some misclassification is also likely to occur (Bjornberg et al., 2005). However, even if some kind of misclassification occurred it would most probably be non-differential because the Hg exposure status was unknown when the FFQ was filled in. Another potential limitation of the study is the low participation rate, although this could affect the generalizability of the study results, the low percentage of loss to follow up (3.9%) assures the internal validity of the results. Finally, it does not seem that the results could be affected by differences between women with and without cord blood samples, since the only two differences encountered (weeks of gestation and history of still birth or fetal death) were not related to cord blood levels.

The fish-consumption recommendation in vulnerable groups have been debated by the European and Spanish food safety authorities, nevertheless specific guidelines for pregnant women have not yet been implemented in Spain (Agencia Española de Seguridad Alimentaria, 2007; European Commission, 2007). Regardless of the type of fish actually consumed in the category of "large oily fish" (swordfish, albacore or Atlantic bonito), 15.8% of women reported consuming more than one serving per week, which is not recommended by the US EPA or the Food and Drug Administration (US Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration, 2007). A recent study (Falco et al., 2006) conducted in Catalonia, another Mediterranean coastal area of Spain, showed that swordfish had the highest concentrations of mercury (1.59–2.22 µg/g fresh weight) followed by tuna (0.38–0.58 µg/g), hake (0.12–0.29 µg/g), and red mullet (0.14–0.36 µg/g). These are commonly consumed fishes and have medium to high levels of Hg. Moreover, the Hg levels encountered in swordfish exceeded the limits established by the European Union (Falco et al., 2006; Domingo et al., 2007). In our study area, the consumption of swordfish is quite common, it is often offered on economical restaurant menus, school menus, and it is also commonly seen in fish markets.

In summary, our study constitutes a baseline assessment of the population exposure to mercury levels for further monitoring in a region where, to our knowledge, there is no previous data on prenatal mercury exposure. We identified a high proportion of newborns at levels of exposure that could pose a risk of subtle adverse effects on neurodevelopment. Such subtle deviations from normality may have a meaningful impact not at individual but rather at the population level, shifting the distribution towards a range that yields a greater proportion of children with sub-optimal neurodevelopment, as described for childhood lead exposure (Davis and Grant, 2003). The elevated levels found could in part be explained by the consumption of swordfish, albacore/bonito and lean fish and should reopen the fish-consumption

debate in vulnerable populations in our community. What it is even more challenging is how to deal with such recommendations without reducing benefits from fish consumption. One recent study evaluating the impact of health information on fish consumption among childbearing age women in France reveals the difficulty for retaining the group of fish to be avoided (Verger et al., 2007). At the same time continued monitoring of the Hg levels of the more frequently consumed fish as well as their origin is advisable. Finally, our exposure levels should be compared with those of the rest of INMA cohorts and the role of this exposure in fetal and child growth and neurodevelopment evaluated, taking into account possible interactions with other toxicants and nutrients, as foreseen in the INMA project.

### Acknowledgments

We thank all the mothers and babies who participated in the study for their generous collaboration. We also thank the gynecologists and birth attendants who collaborated in the cord blood collection, as well as the hospital's data processing department for helping us with data linkage.

This study was funded by grants from the Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176), Ministerio Sanidad y Consumo (FIS 03/1615, FIS 04/1112, FIS 04/1509, FIS 05/1052), Ministerio Educación y Ciencia (SAF2002-03508).

### REFERENCES

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Nota informativa de la AESA sobre mercurio y metil-mercurio en productos pesqueros. Available: <http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp> [accessed 19 June 2007].
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Minimal risk levels (MRLs) for hazardous substances. Available: <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.html> [accessed 2 November 2007].
- Amiano P, Dorronsoro M, de Renobales M, Ruiz de Gordeoa JC, Irigoien I, European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Very-long-chain omega-3 fatty acids as markers for habitual fish intake in a population consuming mainly lean fish: the EPIC cohort of Gipuzkoa. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:827–32.
- Batista J, Schuhmacher M, Domingo JL, Corbella J. Mercury in hair for a child population from Tarragona Province, Spain. *Sci Total Environ* 1996;193:143–8.
- Bjerregaard P, Hansen JC. Organochlorines and heavy metals in pregnant women from the Disko Bay area in Greenland. *Sci Total Environ* 2000;245:195–202.
- Bjornberg KA, Vahter M, Petersson-Grawe K, Glynn A, Cnattingius S, Darnerud PO, et al. Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: influence of fish consumption. *Environ Health Perspect* 2003;111:637–41.
- Bjornberg KA, Vahter M, Grawe KP, Berglund M. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci Total Environ* 2005;341:45–52.
- Butler WJ, Houseman J, Seddon I, McMullen E, Tofflemire K, Mills C, et al. Maternal and umbilical cord blood levels of mercury, lead, cadmium, and essential trace elements in Arctic Canada. *Environ Res* 2006;100:295–318.
- Buzina R, Stegnar P, Buzina-Suboticanec K, Horvat M, Petric I, Farley TM. Dietary mercury intake and human exposure in an Adriatic population. *Sci Total Environ* 1995;170:199–208.

- Canuel R, de Grosbois SB, Atikesse L, Lucotte M, Arp P, Ritchie C, et al. New evidence on variations of human body burden of methylmercury from fish consumption. *Environ Health Perspect* 2006;114:302–6.
- Centers for Disease Control and Prevention. Blood mercury levels in young children and childbearing-aged women—United States, 1999–2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004;53:1018–20.
- Centers for Disease Control and Prevention. Data sources and data analysis. Centers for disease control and prevention. Third national report on human exposure to environmental chemicals. Atlanta (GA): CDC; 2005. p. 7–9.
- Crump KS, Kjellstrom T, Shipp AM, Silvers A, Stewart A. Influence of prenatal mercury exposure upon scholastic and psychological test performance: benchmark analysis of a New Zealand cohort. *Risk Anal* 1998;18:701–13.
- Daniels JL, Longnecker MP, Rowland AS, Golding J. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology* 2004;15:394–402.
- Davidson PW, Myers GJ, Weiss B, Shamlaye CF, Cox C. Prenatal methyl mercury exposure from fish consumption and child development: a review of evidence and perspectives from the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology* 2006;27:1106–9.
- Davis JM, Grant LD. [Establishing lead in air and water standards in the United States of America] Experiencias de la instauracion de normas relativas al contenido de plomo en aire y el agua, en los Estados Unidos de America. *Salud Publica Mex* 2003;45(Suppl 2): S237–43.
- Domingo JL, Bocio A, Falco G, Llobet JM. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 2007;230:219–26.
- European Commission. Health and Consumer Protection Directorate-General. Information note: methyl mercury in fish and fishery products. Available: [http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/information\\_note\\_mercury\\_fish\\_12-05-04.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/information_note_mercury_fish_12-05-04.pdf) [accessed 19 June 2007].
- Evans MS, Lockhart WL, Doetzel L, Low G, Muir D, Kidd K, et al. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie River Basin: the role of physical, chemical, and biological factors. *Sci Total Environ* 2005;351:352: 479–500.
- Falco G, Llobet JM, Bocio A, Domingo JL. Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. *J Agric Food Chem* 2006;54:6106–12.
- Fok TF, Lam HS, Ng PC, Yip AS, Sin NC, Chan IH, Gu GJ, et al. Fetal methylmercury exposure as measured by cord blood mercury concentrations in a mother–infant cohort in Hong Kong. *Environ Int* 2007;33:84–92.
- Gibicar D, Horvat M, Nakou S, Sarafidou J, Yager J. Pilot study of intrauterine exposure to methylmercury in Eastern Aegean islands, Greece. *Sci Total Environ* 2006;367:586–95.
- Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 2006;368:2167–78.
- Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, et al. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997;19:417–28.
- Gualler E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P, Bode P, Aro A, Gomez-Aracena J, et al. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;347:1747–54.
- Hastie TJ, Tibshirani RJ. Generalized additive models. London: Chapman and Hall; 1990.
- Hightower JM, Moore D. Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environ Health Perspect* 2003;111:604–8.
- Hsu CS, Liu PL, Chien LC, Chou SY, Han BC. Mercury concentration and fish consumption in Taiwanese pregnant women. *BJOG* 2007;114:81–5.
- International Programme on Chemical Safety. Methylmercury. Environmental health criteria 101. Geneva: World Health Organization; 1991.
- Jedrychowski W, Jankowski J, Flak E, Skarupa A, Mroz E, Sochacka-Tatara E, et al. Effects of prenatal exposure to mercury on cognitive and psychomotor function in one-year-old infants: epidemiologic cohort study in Poland. *Ann Epidemiol* 2006;16:439–47.
- Kantola M, Purkunen R, Kroger P, Tooming A, Juravskaja J, Pasanen M, et al. Selenium in pregnancy: is selenium an active defective ion against environmental chemical stress? *Environ Res* 2004;96:51–61.
- Korthals ET, Winfrey MR. Seasonal and spatial variations in mercury methylation and demethylation in an oligotrophic lake. *Appl Environ Microbiol* 1987;53:2397–404.
- Li Q, Vena JE, Swanson MK. Reliability of sport fish consumption in the New York State Angler cohort study. *Environ Res* 2005;97:142–8.
- Mahaffey KR. Mercury exposure: medical and public health issues. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2005;116:127–53.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. Available: <http://www.msc.es/ciudadanos/proteccionSalud/infancia/alimentacion/tema1.htm> [accessed 13 March 2007].
- Miyake Y, Sasaki S, Yokoyama T, Tanaka K, Ohya Y, Fukushima W, et al. Risk of postpartum depression in relation to dietary fish and fat intake in Japan: the Osaka Maternal and Child Health Study. *Psychol Med* 2006;36:1727–35.
- Montuori P, Jover E, Diez S, Ribas-Fito N, Sunyer J, Triassi M, et al. Mercury speciation in the hair of pre-school children living near a chlor-alkali plant. *Sci Total Environ* 2006;369:51–8.
- Muckle G, Ayotte P, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL. Determinants of polychlorinated biphenyls and methylmercury exposure in Inuit women of childbearing age. *Environ Health Perspect* 2001a;109:957–63.
- Muckle G, Ayotte P, Dewailly EE, Jacobson SW, Jacobson JL. Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. *Environ Health Perspect* 2001b;109:1291–9.
- Myers G, Davidson P. Does methylmercury have a role in causing developmental disabilities in children? *Environ Health Perspect* 2000;108:413–20.
- Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Palumbo D, Cermichiar E, et al. Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet* 2003;361:1686–92.
- National Research Council. Toxicological effects of methylmercury. Executive summary; 2000.
- Oken E, Wright RO, Kleinman KP, Bellinger D, Amarasingwardena CJ, Hu H, et al. Maternal fish consumption, hair mercury, and infant cognition in a U.S. Cohort. *Environ Health Perspect* 2005;113:1376–80.
- Ontario Public Health Association. Position of fish consumption, with respect to methylmercury content, by pregnant women, women of childbearing age and young children. Toronto: Ontario Public Health Association; 2004.
- Renzone A, Zino F, Franchi E. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ Res* 1998;77:68–72.
- Rhainds M, Levallois P, Dewailly E, Ayotte P. Lead, mercury, and organochlorine compound levels in cord blood in Quebec, Canada. *Arch Environ Health* 1999;54:40–7.
- Ribas-Fito N, Ramon R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N, et al. Child health and the environment: the INMA Spanish study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006;20:403–10.
- Sakamoto M, Kaneoka T, Murata K, Nakai K, Satoh H, Akagi H. Correlations between mercury concentrations in umbilical cord tissue and other biomarkers of fetal exposure to methylmercury in the Japanese population. *Environ Res* 2007;103:106–11.
- Sanfeliu C, Sebastia J, Cristofol R, Rodriguez-Farre E. Neurotoxicity of organomercurial compounds. *Neurotox Res* 2003;5:283–305.

- Sato RL, Li GG, Shaha S. Antepartum seafood consumption and mercury levels in newborn cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1683–8.
- Soria ML, Sanz P, Martínez D, Lopez-Artiguez M, Garrido R, Grilo A, et al. Total mercury and methylmercury in hair, maternal and umbilical blood, and placenta from women in the Seville area. *Bull Environ Contam Toxicol* 1992;48:494–501.
- Stewerwald U, Weibe P, Jorgensen PJ, Bjerve KS, Brock JW, Heinzow B, et al. Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *J Pediatr* 2000;136:599–605.
- Unuvar E, Ahmadov H, Kiziler AR, Aydemir B, Toprak S, Ulker V, et al. Mercury levels in cord blood and meconium of healthy newborns and venous blood of their mothers: clinical, prospective cohort study. *Sci Total Environ* 2007;374:60–70.
- United Nations Environment Programme. Mercury programme. Available: <http://www.chem.unep.ch/mercury/Report/JECFA-PTWI.htm> [accessed 2 November 2007].
- US Environmental Protection Agency. Mercury. Human exposure. Available: <http://www.epa.gov/mercury/exposure.htm> [accessed 13 March 2007].
- US Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration. What you need to know about mercury in fish and shellfish. Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/admehg3.html> [accessed 13 March 2007].
- Verger P, Houdart S, Marette S, Roosen J, Blanchemanche S. Impact of a risk-benefit advisory on fish consumption and dietary exposure to methylmercury in France. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007;48:259–69.
- Vioque J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética. In: Serra Majem L, Aranceta Bartrina J, editors. *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones*. Barcelona: Masson-Elsevier; 2006. p. 199–210.
- Vioque J, Gonzalez L. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev* 1991;1:19–20.
- Weis P, Ashley JT. Contaminants in fish of the Hackensack Meadowslands, New Jersey: size, sex, and seasonal relationships as related to health risks. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007;52:80–9.
- Weiss B. Vulnerability of children and the developing brain to neurotoxic hazards. *Environ Health Perspect* 2000;108(Suppl 3):375–81.
- Welch AA, Lund E, Amiano P, Dorronsoro M, Brustad M, Kumle M, et al. Variability of fish consumption within the 10 European countries participating in the European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Public Health Nutr* 2002;5:1273–85.
- Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985;122:51–65.
- Williams C, Birch E, Emmett P, Northstone K. Stereoacuity at age 3.5 y in children born full-term is associated with prenatal and postnatal dietary factors: a report from a population-based cohort study 1–3. *Am J Clin Nutr* 2001;73:316–22.
- Xue F, Holzman C, Rahbar MH, Trosko K, Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Perspect* 2007;115:42–7.





---

**ARTICULO 3:** Rosa Ramón, Ferran Ballester, Xabier Aguinagalde, Ascensión Amurrio, Jesús Vioque, Marina Lacasaña, Marisa Rebagliato, Mario Murcia, Carmen Iñiguez. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. Submitted to Am J Clinical Nutr on 17 April, 2009.

---



**Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain<sup>1-3</sup>**

Rosa Ramón, Ferran Ballester, Xabier Aguinagalde, Ascensión Amurrio, Jesús Vioque, Marina Lacasaña, Marisa Rebagliato, Mario Murcia, Carmen Iñiguez

<sup>1</sup>From the CIBER en Epidemiología y Salud Pública, CIBERESP, Spain (RR, FB, JV, ML, MR, MM, and CI); Escuela Valenciana de Estudios para la Salud, EVES, Conselleria de Sanidad (RR, FB, ML, MM, CI); Centro Superior de Investigación en Salud Pública, CSISP (FB, MM, CI); Laboratorio de Salud Pública de Alava (XA, AA); Departamento de Salud Pública, Universidad Miguel Hernandez, Elche-Alicante, Spain (JV, MR).

<sup>2</sup>Supported by the Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176), Ministerio Sanidad y Consumo (FIS 03/1615, FIS 04/1112, FIS 04/1509, FIS 05/1052, FIS 05/1133, FIS 06/1213, FIS 07/0314), Ministerio Educación y Ciencia (SAF2002-03508).

<sup>3</sup>Address correspondence to Rosa Ramón, Dirección General de Salud Pública, Conselleria de Sanitat, Servicio de Salud Infantil y de la Mujer, Avda de Cataluña 21, 46020-Valencia, Spain. Tel.: +34 96 192 57 36. FAX: +34 96 192 57 45. E-mail: [rosa\\_rosbon@gva.es](mailto:rosa_rosbon@gva.es).

Running head: Fish consumption, mercury exposure, and birth size



1 **Background:** Birth size has been related to maternal fish intake, although the  
2 associations are far from consistent. Few studies have addressed these issues using data  
3 on the type of fish consumed and prenatal mercury exposure.

4 **Objective:** To assess the association of consumption of different types of fish and  
5 prenatal mercury exposure with birth weight, length, and with small for gestational age  
6 (SGA) newborns.

7 **Design:** Cord blood total mercury (T-Hg) was measured in 554 newborns in the  
8 Valencia INMA population based cohort born from 2004 to 2006. Multiple linear  
9 regression and logistic regression were used to analyze continuous or dichotomous birth  
10 outcomes respectively.

11 **Results:** When cord blood T-Hg and types of fish intake were simultaneously adjusted  
12 for together with covariates, newborns in the highest quartile of T-Hg weighed 143.7 g  
13 less (95%CI: -251.8, -35.6) and had higher odds of being SGA for length (OR: 5.3,  
14 95%CI: 1.2, 23.9) than those in the lowest quartile. Mothers consuming  $\geq 2$  portions/wk  
15 of canned tuna had newborns weighing 116.4 g more (95%CI: 2.8, 230.0) than those  
16 rarely/never consuming this type of fish. Consumption of  $\geq 2$  portions/wk of lean fish  
17 was associated with a lower risk of being SGA for length (OR: 0.1, 95%CI: 0.0, 0.6)  
18 and the same consumption of large oily fish with a higher risk of being SGA for weight  
19 (OR: 4.6, 95%CI: 1.4, 15.4) than were the lowest intakes.

20 **Conclusions:** The role played by fish in fetal growth depends on the amount and type of  
21 fish consumed. Findings on the relation between mercury and anthropometric measures  
22 deserve further investigation in other settings.

23

24 **Key words:** Fish, fetal growth, mercury, newborn, pregnancy

---

## 25 INTRODUCTION

26 Fish consumption during pregnancy has been associated with positive and negative  
27 effects on reproductive outcomes and remains a matter of debate (1). Fish is the main  
28 source of omega 3 fatty acids, essential for fetal visual and neurological development.  
29 Consumption of at least one to two servings of fish per week is recommended to  
30 provide about 200 mg per day of the long chain marine omega 3 essential fatty acids,  
31 mainly docosahexaenoic acid (DHA) as part of a healthy diet for pregnant women (2).  
32 Omega 3 fatty acids are involved in placental flow and the process of parturition and  
33 their intake during pregnancy has been related to fetal growth and longer gestation (3).  
34 However, fish is also the main route of exposure to pollutants such as mercury and  
35 polychlorinated biphenyls concentrations (PCB) that mainly accumulate in large  
36 predators. Therefore, in some countries pregnant women are advised to limit the amount  
37 and select the type of fish they eat (4,5). These recommendations are intended to  
38 provide enough DHA to the fetus while protecting the developing nervous system from  
39 mercury neurotoxicity (6).  
40  
41 Both positive (7) and inverse associations (8) between fish consumption and birth size  
42 have been found in observational studies in communities with moderate fish  
43 consumption. One study considered the type of fish and found an inverse association  
44 between fatty fish but not lean fish and fetal growth (9). Studies of the association  
45 between mercury exposure and birth size have so far found no effect (10-12). Sub-  
46 optimal fetal growth has been adversely associated with further neurodevelopment in  
47 childhood (13,14) and even with an increased risk of chronic diseases in adulthood such  
48 as metabolic syndrome (15).

50 As part of a prospective multicenter Spanish study, the INMA project, the purpose of  
51 the present study was to examine the effect of the different types of fish consumed in  
52 late pregnancy on prenatal mercury exposure and to assess the association of the type of  
53 fish consumed and corresponding mercury exposure with anthropometric measures at  
54 birth in infants in the INMA Valencia cohort.



## 55 MATERIALS AND METHODS

### 56 Population and study design

57 Singleton liveborn babies of mothers enrolled in the INMA Valencia cohort and born in  
58 the Hospital La Fe of Valencia were selected. Of the 787 babies born from May 2004 to  
59 February 2006, a total of 554 for whom samples of cord blood were available were  
60 included in this study. The mother's recruitment and follow up procedures have been  
61 described previously (16). The mothers completed a detailed questionnaire about socio-  
62 demographic characteristics and life style variables, and a food frequency questionnaire  
63 (FFQ). The questionnaires were administered by in-person interviews. The mothers  
64 signed an informed consent form. The study was approved by the Hospital ethical  
65 committee.

### 67 Exposure assessment

68 Fish intake was assessed by means of a semiquantitative FFQ of 100 items. The FFQ  
69 had nine possible responses, ranging from "never or less than once per month" to "six  
70 or more per day", and included seven questions about fish intake (mixed fried fish, lean  
71 fish, large oily fish, small oily fish, canned tuna fish, canned sardine or mackerel, dry or  
72 smoked fish). A commonly used serving size was specified for each food item in the  
73 FFQ. The response to each fish item was converted to average daily intake in grams; the  
74 average daily intakes for each fish item were then added up to compute the total fish  
75 intake. The FFQ was a modified version of the Harvard questionnaire that was  
76 previously adapted and validated in adult Spanish populations (17-19).  
77 For analysis, we used the dietary data from the third trimester FFQ that covered the  
78 average consumption during the second, and part of the third trimester, up to wk 28-32.

79 The fish groups to be considered in the analysis were chosen according to their  
80 frequency of consumption in the cohort as well as following the US. Environmental  
81 Protection Agency recommendations' of fish consumption during pregnancy (4).  
82 Moreover the chosen fish groups chosen were the ones that showed the most robust  
83 relationship with the birth outcomes. These fish groups were: canned tuna; lean fish  
84 (hake, sole, and gilthead); large oily fish (swordfish, bonito, fresh tuna), and other fish  
85 items (sum of mixed fried fish, small oily fish, canned sardine or mackerel, dry or  
86 smoked fish). Canned tuna was considered separately as is currently a matter of debate  
87 due to its content in mercury (20-22). Each fish group was categorized according to its  
88 frequency of consumption (rarely/never, 1-3/mo, 1/wk,  $\geq 2$ /wk).

89

90 The total mercury (T-Hg) concentration in cord blood was determined by atomic  
91 absorption spectrometry with thermal decomposition and amalgamation, using a single  
92 purpose mercury analyzer AMA-254 by Altec/LECO. Replicate analyses of 100  $\mu$ l of  
93 cord blood were made for each sample and the limit of determination of the procedure  
94 was 2.0  $\mu$ g/L. For internal quality control of the analytical method, certified standard  
95 samples of whole blood (Seronom TM Elements, Norway) were used. For  
96 measurements below the limit of determination we used  $LOD/\sqrt{2}$  to impute a value. We  
97 used total mercury as a reliably measure of methylmercury since it has been reported  
98 that when total mercury concentrations rise, i.e. above 4  $\mu$ g/L, methylmercury accounts  
99 for approximately 90% of total mercury (23).

100

#### 101 **Birth outcomes**

102 Anthropometric measures at birth were obtained from the hospital delivery records.

103 Gestational age was established on the basis of the date of the last menstrual period

104 (LMP) self-reported by the mothers. However, in the case of discrepancy between LMP  
105 and an early ultrasound measurement of 7 or more days, the latter was used to determine  
106 gestational age. This occurred in 12.5 % of the cases. Birth weight (in grams) and birth  
107 length (in cm) were adjusted for gestational age in each sex group using the residuals  
108 method. Newborns having birth weight and length below the 10<sup>th</sup> percentile according  
109 to Spanish population reference growth charts for sex and gestational age (24) were  
110 classified as SGA for weight or length.

111

### 112 **Covariates**

113 Covariates were categorized as follows: age (<25, 25-29, 30-34, ≥35 years), pre-  
114 pregnancy weight (<50, 50-59, 60-69, ≥70 kg), gestational weight gain according to the  
115 IOM guidelines (low, normal, high) (25), parity (0, ≥1), education (up to primary school,  
116 secondary school, university), employment (employed, unemployed), socio-  
117 occupational status (high, intermediate, low), country of origin (Spanish vs. others),  
118 residence (urban, metropolitan, semi-urban, rural), season of conception (spring,  
119 summer, autumn, winter), smoking at 28-32 wk (yes, no), mean vegetable intake (in  
120 quintiles), mean energy intake (in quintiles), mean caffeine intake ( $0 \leq 100$ ,  $>100 < 200$ ,  
121  $\geq 200$  mg/d), and mean alcohol intake (0, 0-1, >1 g/d). Parental heights variables were  
122 used in the continuous form (cm).

123

### 124 **STATISTICAL ANALYSIS**

125 Unpaired Student's *t*-tests and one-factor ANOVA were used to compare the means of  
126 continuous variables and  $\chi^2$ -tests for categorical variables. We performed analysis of  
127 covariance to compare means of T-Hg according to the frequency of one type of fish  
128 consumption, controlling for differences in covariates as well as the other fish groups

129 considered in the analysis. T-Hg was log-transformed to improve normality. Multiple  
130 linear regression was used to analyze continuous birth outcomes and logistic regression  
131 to analyze dichotomous birth outcomes. Covariates considered in the analysis were the  
132 infant or maternal characteristics related to cord blood mercury concentrations or to  
133 maternal fish consumption. We also considered the parental characteristics previously  
134 found to be associated with the birth outcomes in our cohort in a study assessing the  
135 relation between intake of fruit and vegetables and anthropometric measures at birth, as  
136 covariates (26). We fitted the models using a backward regression; cord blood mercury  
137 concentrations (in quartiles) and the fish groups were included in the same model  
138 together with all the covariates. A covariate was retained in the model if it was related  
139 to the outcome using a likelihood test ratio with a significance level of  $<0.1$ , with the  
140 exception of maternal age and energy intake, which were forced to enter into the models.  
141 The estimates of the effect were considered significant when  $P < 0.05$ .  
142  
143 Statistical analysis was performed with the SPSS statistical software package for  
144 Windows, version 15 or STATA statistical software package version 9. All tests were  
145 two-sided.

146

147

148 **RESULTS**

149 Newborns with available cord blood samples weighed 61.4 g more (*t*-test  $P=0.07$ ) and  
150 were 0.3 cm taller (*t*-test  $P=0.07$ ) than those without samples. There were no differences  
151 as regards the frequency of SGA weight or length. Mothers with and without samples  
152 had similar total fish intake (*t*-test  $P=0.72$ ). Mean birth weight of the study population  
153 was 3273 g (SD: 487) and birth length was 50.3 cm (SD: 2.2). Overall, 10.5 percent of  
154 the newborns were SGA for weight and 5.4 percent SGA for length. Parental  
155 characteristics associated with birth outcomes have been fully described in a previous  
156 study (26). Concerning maternal characteristics and fish consumption, older mothers  
157 were more likely to be in the higher quintiles of fish consumption, and mothers who  
158 conceived in spring (i.e. gave birth in winter) less likely (data not shown). The rest of  
159 the maternal characteristics were not related to fish consumption.

160

161 T-Hg was detected in cord blood in 96 percent of the cases. The geometric mean  
162 concentration of T-Hg was 9.4  $\mu\text{g/L}$  (95%CI: 8.8, 10.2), 72 percent of newborns had  
163 concentrations above 5.8  $\mu\text{g/L}$ , the current reference dose used by the US. EPA (27).  
164 The mean daily fish consumption was 65 g/d. Lean fish was the most frequently  
165 consumed (30 percent of the total fish consumption), followed by canned tuna (22.5  
166 percent) and large oily fish (17 percent). Only 1.6 percent of mothers never or rarely  
167 consumed fish (less than once a month). On multivariate analysis (**Table 1**), higher T-  
168 Hg concentrations in cord blood were associated with maternal consumption of  
169 particular types of fish. Increasing intake of tuna can, lean fish and large oily fish by  
170 pregnant women contributed to increasing concentrations of T-Hg in cord blood. Older  
171 mothers, mothers who completed secondary school education, mothers of Spanish  
172 origin, and those who conceived in autumn or winter had higher mercury concentrations.



173 The variable “maternal metallic dental fillings” lost its statistical significance when  
174 adjusted simultaneously for the fish groups and other covariates (data not shown),  
175 therefore it was eliminated from the analysis. The results were of similar magnitude and  
176 in the same direction as in a previous study with a subsample of the study population  
177 (28).

178

179 On multivariate analysis, adjusted birth weight decreased with increasing T-Hg  
180 exposure (**Table 2**). Newborns in the highest quartile cord blood of T-Hg weighed on  
181 average 143.7 g less (95%CI: -251.8, -35.6) than those in the first quartile; the  
182 association was also negative for the other two quartiles. The mothers who reported  
183 consuming two or more servings of canned tuna per week delivered newborns that  
184 weighed on average 116.4 g more (95% CI: 2.8, 230.0) than those of women who rarely  
185 or never consumed canned tuna. The consumption of two or more portions of lean fish  
186 per week was associated with 46.4 g increase in birth weight (95%CI: -63.7, 156.6)  
187 whereas the intake of two or more portions of large oily fish per week decreased the  
188 mean birth weight by 69.9 g (95% CI: -202.9, 63.1) although the associations were not  
189 significant. A marginal association was found between prenatal T-Hg exposure and  
190 adjusted birth length, whereas none of the fish groups were associated with adjusted  
191 birth length (**Table 3**).

192

193 Prenatal exposure to T-Hg was not associated with the risk of being SGA for weight  
194 (**Table 4**). Women in the highest category of canned tuna consumption had a  
195 significantly lower risk of having a SGA for weight baby than did those in the lowest  
196 category (OR 0.3; 95%CI: 0.1, 0.8). Mothers who consumed lean fish two or more  
197 times per week had a decrease in risk of SGA for weight babies as compared to those

198 who consumed lean fish rarely or never (OR: 0.3; 95%CI: 0.1, 1.0), although this  
199 association was only marginally significant. Women consuming two or more portions of  
200 large oily fish per week had a significantly higher risk of SGA for weight than those  
201 consuming rarely or never (OR: 4.6; 95%CI: 1.4, 15.4).

202

203 Women in the second and fourth quartile of T-Hg exposure had an increased likelihood  
204 of having an SGA for length baby, with an OR of 4.0 (95%CI: 1.1, 15.0) and 5.3  
205 (95%CI: 1.2, 23.9) respectively (**Table 5**). Consumption of canned tuna was associated  
206 with a decreased risk of SGA for length, with an OR of 0.3 (95%CI: 0.1, 1.1) for  
207 women consuming two or more portions per week. Women consuming two or more  
208 portions of lean fish per week had a decreased risk of having an SGA for length baby  
209 with respect to those who never or rarely consumed lean fish (OR: 0.1, 95%CI: 0.0, 0.6).  
210 No association was found between large oily fish and SGA for length.

211 **DISCUSSION**

212 In this cohort of pregnant women in Spain, prenatal exposure to T-Hg and the mother's  
213 consumption of large oily fish were adversely associated with some birth outcomes,  
214 whereas consumption of canned tuna and lean fish was positively associated. Higher  
215 cord blood concentrations of T-Hg were associated with reduced birth weight and, to a  
216 lesser extent, with reduced birth length. Higher T-Hg was also associated with an  
217 increased risk of being born SGA for length but not SGA for weight. Higher  
218 consumption of canned tuna by mothers was associated with higher birth weight. Higher  
219 consumption of lean fish was associated with a decreased risk of SGA for weight and  
220 length, whereas higher consumption of large oily fish was associated with an increased  
221 risk of SGA for weight. We assessed all the associations simultaneously adjusting for T-  
222 Hg exposure and the most frequently consumed fish, and taking into account other  
223 covariates as well as the sum of the other fish consumed.

224

225 In a cohort of pregnant women in south west England a decreased risk of intrauterine  
226 growth retardation (defined as birth weight adjusted for gestational age below the 10<sup>th</sup>  
227 percentile) with increased fish intake (lean and oily fish) was found, with an OR of 1.85  
228 (1.44 to 2.38), for women in the lowest category of fish consumption compared to  
229 women in the highest (7); mean daily fish intake was 32.8 g/d. Nevertheless, in a study  
230 of pregnant women in the USA (8), an inverse association was found between seafood  
231 consumption, assessed at the first and second trimester, and birth weight and fetal  
232 growth z-value, although it was statistically significant only for the first trimester intake;  
233 no effect was found on the risk of being born SGA. In our study, although no effect was  
234 found for total fish (data not shown), we did find some significant effects on adjusted  
235 birth weight and on the risk of being SGA for weight or length when we considered

236 specific fish groups instead of total fish consumption. In Denmark (9), women  
237 consuming more than 60 grams of fatty fish per day (the highest category) had a higher  
238 risk of having babies with a birth weight below the 10<sup>th</sup> percentile than did those whose  
239 fish consumption was below 5 g per day (the lowest category); a small decrease in mean  
240 birth weight was also observed. This inverse association was explained by consumption  
241 of fatty fish (salmon, herring, mackerel, trout and Greenland halibut). We found large  
242 oily fish (swordfish, bonito and fresh tuna) to be adversely associated with some birth  
243 outcomes, whereas small oily fish (mackerel, anchovy, salmon, and sardine) was not  
244 (data not shown). In our study population large oily fish was the third type of fish most  
245 consumed (17 percent of the total). The negative estimates persisted even when adjusted  
246 for T-Hg exposure, probably due to other unmeasured pollutants such as organochlorine  
247 compounds that accumulate in the fat tissues of large fishes and have been related to  
248 reduced fetal growth in some studies (29,30). In a recent paper by Halldorsson et al in  
249 the Danish Birth Cohort, they found an inverse association between maternal plasma  
250 PCB concentrations and fetal growth (31), and supported their previous finding of the  
251 adverse association between fatty fish intake and fetal growth (9). The differences found  
252 between lean and large oily fish as regards birth outcomes in our study are probably due  
253 to the balance between beneficial nutrients, mainly DHA, and pollutants present in each  
254 meal intake (32,33). The aforementioned birth cohorts did not control for mercury and  
255 type of fish in their analysis and this lack of adjustment may be responsible for the  
256 inconsistencies found in their results.

257

258 To the best of our knowledge, no study has found an adverse impact of mercury on birth  
259 outcomes. It was suggested by Foldspang and Hansen in 1990 (34) but later refuted  
260 when data were reanalyzed (10). All the studies that have investigated mercury

261 exposure to date were conducted in communities with a very high fish consumption,  
262 although they did not adjust for specific types of fish in the analysis (10-12). A recent  
263 paper on the effects of the World Trade Center disaster on pregnant women, with  
264 median cord blood concentrations of T-Hg of 4.3 µg/L and 32 percent of newborns with  
265 concentrations above 5.8 µg/L, did not find a significant association with newborn size  
266 (35); however, the authors did not consider consumption of different types of fishes  
267 either.

268

269 The long chain omega 3 fatty acids provided by fish may promote fetal growth by  
270 raising the ratio of active prostaglandins to thromboxanes, thus reducing blood viscosity  
271 by inhibition of platelet aggregation and producing dilatation of placental blood vessels  
272 (3,36). On the other hand, methylmercury has the opposite effects on platelet  
273 aggregation and thromboxane production (37,38) and it has been related to preterm birth  
274 in one study (39). Methylmercury also produces inhibition of the antioxidants systems  
275 and stimulate the production of free radicals (40) which in turn can adversely affect fetal  
276 growth (41). Fish also provides other nutrients, such as iodine or proteins that are  
277 beneficial for growth and development. It is therefore reasonable to presume that  
278 depending on the type and amount of fish consumed and its content in nutrients and  
279 toxicants, the health effect of a given type of fish will vary. Although not yet described  
280 in any other study, there is a plausible mechanism by which mercury may affect fetal  
281 growth.

282

283 There was a consistency between unadjusted and adjusted results, although the effects  
284 of T-Hg and the types of fishes emerged when they were adjusted for each other as well  
285 as for covariates for some birth outcomes. The most dramatic effect of adjustment was

286 seen for large oily fish and SGA for weight and for T-Hg and SGA for length.  
287 Regarding large oily fish and SGA for birth, the variables responsible for the change in  
288 the estimate were the other fish types (OR: 3.5; 95%CI: 1.3, 9.6) or vegetable intake  
289 (OR: 2.8; 95%CI: 1.1, 6.8). For T-Hg and SGA for length, the adjustment for fish types  
290 raised the OR to 2.9 (95%CI: 0.8, 10.1) but the change in the estimate was seen when  
291 the rest of covariates were included in the model.

292

293 Our study has many strengths. Data were collected prospectively and detailed  
294 information was obtained by in-person interviews. Information regarding fish intake  
295 was collected in a manner that allowed us to separate the effects of large oily fish and  
296 small oily fish, as it is known that big predators (swordfish and tuna) contain more  
297 mercury due to accumulation and biomagnification (42). We also included a biomarker  
298 of mercury exposure, allowing us to separate the effect of this pollutant from those of  
299 the beneficial nutrients contained in fish.

300

301 However, our study also has some limitations. Our sample size was limited by the  
302 availability of cord blood samples, and in dichotomous outcomes we must be cautious  
303 when interpreting the magnitude of the estimates due to the large confidence intervals,  
304 although the direction of the association was corroborated by the continuous outcomes.  
305 Neither can we disregard some unmeasured confounders, although fish consumption did  
306 not appear to be related to maternal characteristics or habits, except for age and season  
307 of conception. Moreover, at the time of this analysis we did not have results for other  
308 chemical exposures such as PCB that have also been associated with birth size. Diet was  
309 evaluated by means of a FFQ that has been validated in an adult population in the study

310 area; however, it has not been validated in the study population (18). It is possible that  
311 there may be some misclassification of fish types, but if so, it should be non-differential.  
312  
313 Findings from this study suggest that maternal fish consumption plays a different role in  
314 fetal growth depending on the amount and type of fish consumed. The potential effects  
315 on fetal growth should be taken into account when recommending fish consumption to  
316 pregnant women or those of childbearing age. The inverse association between prenatal  
317 mercury exposure and birth size and the underlying biologic mechanisms warrant  
318 further investigation.



The authors' responsibilities were as follows—RR: supervised data collection, conducted data analysis, and prepared the manuscript; FB: assisted with data analysis and manuscript preparation; XA and AA: analyzed blood samples and assisted with manuscript preparation; JV: developed the food frequency questionnaire and assisted with manuscript preparation; ML and MR: supervised data collection and assisted with manuscript preparation; MM and CI: helped with data analysis and assisted with manuscript preparation.

None of the authors declared a conflict of interest.





## REFERENCES

1. Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA* 2006; 296:1885-99.
2. Koletzko B, Cetin I, Brenna JT. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr* 2007; 98:873-7.
3. Olsen SF, Grandjean P, Weihe P, Videro T. Frequency of seafood intake in pregnancy as a determinant of birth weight: evidence for a dose dependent relationship. *J Epidemiol Community Health* 1993; 47:436-40.
4. US Environmental Protection Agency, Food and Drug Administration. What You Need to Know About Mercury in Fish and Shellfish. 2004. Internet: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/admehg3.html> (accessed 13 March 2007).
5. Verger P, Houdart S, Marette S, Roosen J, Blanchemanche S. Impact of a risk-benefit advisory on fish consumption and dietary exposure to methylmercury in France. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007; 48:259-69.
6. Oken E, Bellinger DC. Fish consumption, methylmercury and child neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr* 2008; 20:178-83.
7. Rogers I, Emmett P, Ness A, Golding J. Maternal fish intake in late pregnancy and the frequency of low birth weight and intrauterine growth retardation in a cohort of British infants. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58:486-92.
8. Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. *Am J Epidemiol* 2004; 160:774-83.

9. Halldorsson TI, Meltzer H, Thorsdottir I, Knudsen V, Olsen S. Is High Consumption of Fatty Fish during Pregnancy a Risk Factor for Fetal Growth Retardation? A Study of 44,824 Danish Pregnant Women. *Am J Epidemiol* 2007; 166:687-96.
10. Bjerregaard P, Hansen JC. Organochlorines and heavy metals in pregnant women from the Disko Bay area in Greenland. *Sci Total Environ* 2000; 245:195-202.
11. Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. Birthweight in a fishing community: significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 2001; 30:1272-8.
12. Lucas M, Dewailly E, Muckle G et al. Gestational age and birth weight in relation to n-3 fatty acids among Inuit (Canada). *Lipids* 2004; 39:617-26.
13. Richards M, Hardy R, Kuh D, Wadsworth ME. Birthweight, postnatal growth and cognitive function in a national UK birth cohort. *Int J Epidemiol* 2002; 31:342-8.
14. Morris SS, Victora CG, Barros FC et al. Length and ponderal index at birth: associations with mortality, hospitalizations, development and post-natal growth in Brazilian infants. *Int J Epidemiol* 1998; 27:242-7.
15. Chen W, Srinivasan SR, Berenson GS. Influence of birth weight on white blood cell count in biracial (black-white) children, adolescents, and young adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol* 2009; 169:214-8.
16. Ribas-Fito N, Ramon R, Ballester F et al. Child health and the environment: the INMA Spanish Study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006; 20:403-10.

17. Willet W. Nutritional epidemiology. New York: NY: Oxford University Press, 1998.
18. Vioque J, Gonzalez L. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev* 1991; 1:19-20.
19. Vioque J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética [In Spanish]. In: Serra Majem L, Aranceta Bartrina J, editors. *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones*. 2nd edition. Barcelona: Masson-Elsevier, 2006: 199-210.
20. Burger J, Gochfeld M. Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation. *Environ Res* 2004; 96:239-49.
21. Stephenson J. FDA warns on mercury in tuna. *JAMA* 2004; 291:171.
22. Mercury in tuna: new safety concerns. *Consum Rep* 2006; 71:20-1.
23. Mahaffey KR, Clickner RP, Bodurow CC. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000. *Environ Health Perspect* 2004; 112:562-70.
24. Carrascosa A, Yeste D, Copil A, Almar J, Salcedo S, Gussinye M. [Anthropometric growth patterns of preterm and full-term newborns (24-42 weeks' gestational age) at the Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron (Barcelona)(1997-2002)]. *An Pediatr (Barc )* 2004; 60:406-16.
25. Abrams B, Altman SL, Pickett KE. Pregnancy weight gain: still controversial. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1233S-41S.

26. Ramon R, Ballester F, Iniguez C et al. Vegetable but not fruit intake during pregnancy is associated with newborn anthropometric measures. *J Nutr* 2009; 139:561-7.
27. Mahaffey KR. Mercury exposure: medical and public health issues. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2005; 116:127-53.
28. Ramon R, Murcia M, Ballester F et al. Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain. *Sci Total Environ* 2008; 392:69-78.
29. Ribas-Fito N, Sala M, Cardo E et al. Association of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds with anthropometric measures at birth. *Pediatr Res* 2002; 52:163-7.
30. Sagiv SK, Tolbert PE, Altshul LM, Korrick SA. Organochlorine exposure during pregnancy and infant size at birth. *Epidemiology* 2007; 18:120-9.
31. Halldorsson TI, Thorsdottir I, Meltzer HM, Nielsen F, Olsen SF. Linking exposure to polychlorinated biphenyls with fatty fish consumption and reduced fetal growth among Danish pregnant women: a cause for concern? *Am J Epidemiol* 2008; 168:958-65.
32. Domingo JL, Bocio A, Falco G, Llobet JM. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 2007; 230:219-26.
33. Herreros MA, Inigo-Nunez S, Sanchez-Perez E, Encinas T, Gonzalez-Bulnes A. Contribution of fish consumption to heavy metals exposure in women of

- childbearing age from a Mediterranean country (Spain). *Food Chem Toxicol* 2008; 46:1591-5.
34. Foldspang A, Hansen JC. Dietary intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth weight among newborns in Greenland. *Am J Epidemiol* 1990; 132:310-7.
35. Lederman SA, Jones RL, Caldwell KL et al. Relation between cord blood mercury levels and early child development in a World Trade Center cohort. *Environ Health Perspect* 2008; 116:1085-91.
36. Olsen SF, Olsen J, Frische G. Does fish consumption during pregnancy increase fetal growth? A study of the size of the newborn, placental weight and gestational age in relation to fish consumption during pregnancy. *Int J Epidemiol* 1990; 19:971-7.
37. Houston MC. The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern Ther Health Med* 2007; 13:S128-S133.
38. Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P et al. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002; 347:1747-54.
39. Xue F, Holzman C, Rahbar MH, Trosko K, Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Perspect* 2007; 115:42-7.
40. Dovydaitis T. Fish consumption during pregnancy: an overview of the risks and benefits. *J Midwifery Womens Health* 2008; 53:325-30.

41. Roberts JM, Balk JL, Bodnar LM, Belizan JM, Bergel E, Martinez A. Nutrient Involvement in Preeclampsia. *J Nutr* 2003; 133:1684S-92S.
42. US Environmental Protection Agency. Mercury. Human Exposure. 2007. Internet: <http://www.epa.gov/mercury/exposure.htm> (accessed 22 December 2008).



**TABLE 1**

Adjusted<sup>1</sup> total mean cord blood mercury concentration according to frequency of intake of the most frequently consumed fish groups by pregnant women and maternal characteristics, INMA-Valencia Cohort, Spain, 2004-2006.

	n	GM <sup>2</sup> (µg/L)	95%CI	P <sup>3</sup> Value
<b>Canned tuna</b>				
Rarely/never	82	7.5	6.4, 8.7	<0.001
1-3/month	134	9.5	8.4, 10.8	
1/week	197	9.6	8.6, 10.6	
≥2 week	135	11.4	10.1, 12.9	
<b>Lean fish: hake, sole, gilthead</b>				
Rarely/never	130	8.0	7.0, 9.1	<0.01
1-3/month	105	9.4	8.1, 10.8	
1/week	183	9.7	8.7, 10.8	
≥2 week	130	11.7	10.2, 13.3	
<b>Oily fish: swordfish, fresh tuna, bonito</b>				
Rarely/never	225	7.3	6.6, 8.0	<0.001
1-3/month	109	9.7	8.4, 11.2	
1/week	162	13.0	11.6, 14.6	
≥2 week	52	12.3	10.0, 15.3	
<b>Maternal age (years)</b>				
<25	60	8.5	7.1, 10.2	0.10
25-29	185	8.9	8.0, 9.9	
30-34	211	10.3	9.3, 11.4	
≥35	92	10.3	8.9, 12.0	
<b>Educational level</b>				
Up to primary school	190	8.4	7.6, 9.3	0.01
Secondary school	226	10.6	9.6, 11.6	

University degree	132	9.9	8.7, 11.3	
Country of origin				
Spain	486	10.1	9.5, 10.8	<0.001
Others	62	6.2	5.2, 7.5	
Smoked at 28-32 wk				
No	427	9.8	9.2, 10.5	0.13
Yes	121	8.8	7.7, 10.0	
Season of last menstrual period				
Winter	179	10.2	9.2, 11.4	0.04
Spring	136	8.5	7.5, 9.6	
Summer	107	9.0	7.8, 10.3	
Autumn	126	10.6	9.3, 12.0	

<sup>1</sup>Mean mercury values simultaneously adjusted for all other variables shown in the table as well as for the sum of other fish consumed.  $R^2$  of the model was 0.26.

<sup>2</sup>GM, geometric mean.

<sup>3</sup>P value from ANOVA.



**TABLE 2**

Associations<sup>1</sup> between cord blood total mercury and fish consumption by pregnant women with birth weight<sup>2</sup>: unadjusted and adjusted analysis from INMA-Valencia cohort, Spain, 2004-2006.

	Unadjusted			Adjusted <sup>3</sup>		
	n	$\beta^4$	95% CI	n	$\beta^4$	95% CI
<b>Total mercury (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>						
Quartile 1	138	Referent		131	Referent	
Quartile 2	138	-87.4	-189.0, 14.3	133	-100.3	-200.2, -0.5
Quartile 3	145	-39.8	-140.3, 60.6	144	-76.7	-179.2, 25.8
Quartile 4	133	-92.9	-195.5, 9.7	131	-143.7	-251.8, -35.6
$P^5$		0.24			0.05	
<b>Fish (portions)</b>						
<b>Canned tuna</b>						
Rarely/never	82	Referent		81	Referent	
1-3/month	135	16.2	-102.2, 135.0	135	10.7	-100.6, 121.9
1/week	198	36.9	-74.5, 148.2	191	34.5	-69.9, 139.0
$\geq 2$ week	135	65.6	-53.1, 184.3	132	116.4	2.8, 230.0
$P^5$		0.69			0.11	
<b>Lean fish: hake, sole, gilthead</b>						
Rarely/never	131	Referent		126	Referent	
1-3/month	105	19.2	-91.8, 130.1	104	15.2	-95.7, 123.0
1/week	184	11.1	-85.8, 107.9	181	-26.9	-123.7, 69.8
$\geq 2$ week	130	75.7	-29.2, 180.5	128	46.4	-63.7, 156.6
$P^5$		0.49			0.49	
<b>Oily fish: swordfish, fresh tuna, bonito</b>						
Rarely/never	227	Referent		219	Referent	
1-3/month	109	-5.6	-104.5, 93.3	109	28.3	-70.9, 127.5
1/week	162	-9.0	-96.3, 78.4	160	42.9	-46.3, 132.1

---

$\geq 2$ week	52	-36.4	-166.9, 94.1	51	-69.9	-202.9, 63.1
	$P^5$	0.96			0.37	

---

<sup>1</sup>Multiple linear regression was used to assess the associations

<sup>2</sup>Birth weight adjusted for gestational age.

<sup>3</sup>Estimates of effect were simultaneously adjusted for all other variables shown in the table as well as for the sum of the other fish consumed, vegetable intake, energy intake, maternal age, pre-pregnancy weight, paternal height, gestational weight gain, sex of the infant, parity, and smoking status

<sup>4</sup> $\beta$  = regression coefficient.

<sup>5</sup> $P$  value from likelihood ratio test.



**TABLE 3**

Associations<sup>1</sup> between cord blood total mercury and fish consumption by pregnant women with birth length<sup>2</sup>: unadjusted and adjusted analysis from INMA-Valencia cohort, Spain, 2004-2006.

	Unadjusted			Adjusted <sup>3</sup>		
	n	$\beta^4$	95% CI	n	$\beta^4$	95% CI
<b>Total mercury (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>						
Quartile 1	138	Referent		132	Referent	
Quartile 2	138	-0.47	-0.91, -0.03,	136	-0.44	-0.89, 0.01
Quartile 3	145	0.08	-0.35, 0.52,	145	0.07	-0.40, 0.54
Quartile 4	133	-0.34	-0.79, 0.10,	130	-0.31	-0.81, 0.19
	$P^5$	0.04			0.05	
<b>Fish (portions)</b>						
<b>Canned tuna</b>						
Rarely/never	82	Referent		81	Referent	
1-3/month	135	0.31	-0.20, 0.83	134	0.26	-0.25, 0.77
1/week	198	0.27	-0.21, 0.75	194	0.26	-0.21, 0.73
$\geq 2$ week	122	0.19	-0.34, 0.71	121	0.27	-0.25, 0.78
	$P^5$	0.80			0.68	
<b>Lean fish: hake, sole, gilthead</b>						
Rarely/never	131	Referent		128	Referent	
1-3/month	105	0.17	-0.31, 0.65	104	0.17	-0.33, 0.67
1/week	184	0.09	-0.34, 0.51	182	0.06	-0.37, 0.50
$\geq 2$ week	130	0.24	-0.22, 0.69	129	0.25	-0.24, 0.75
	$P^5$	0.75			0.71	
<b>Oily fish: swordfish, fresh tuna, bonito</b>						
Rarely/never	227	Referent		222	Referent	
1-3/month	109	0.04	-0.38, 0.47	109	0.11	-0.34, 0.56

1/week	162	-0.19	-0.57, 0.19	161	-0.16	-0.56, 0.25
≥2 week	52	-0.26	-0.82, 0.31	51	-0.40	-1.01, 0.21
$P^5$		0.59			0.39	

<sup>1</sup>Multiple linear regression was used to assess the associations.

<sup>2</sup>Birth length adjusted for gestational age.

<sup>3</sup>Estimates of effect were simultaneously adjusted for all other variables shown in the table as well as for the sum of the other fish consumed, vegetable intake, energy intake, maternal age, parental heights, employment status, education, country of origin, sex of infant, parity, and smoking status

<sup>4</sup> $\beta$  = regression coefficient.

<sup>5</sup> $P$  value from likelihood ratio test.



**TABLE 4**

Associations<sup>1</sup> between cord blood total mercury and fish consumption by pregnant women and small for gestational age for weight: unadjusted and adjusted analysis from INMA-Valencia cohort, Spain, 2004-2006.

Exposure	Unadjusted			Adjusted <sup>2</sup>		
	n	OR <sup>3</sup>	95% CI	n	OR <sup>3</sup>	95% CI
<b>Total mercury (µg/L)</b>						
Quartile 1	138	1		132	1	
Quartile 2	138	1.2	0.5, 2.6	133	1.0	0.4, 2.7
Quartile 3	145	1.3	0.6, 2.7	144	1.5	0.6, 3.9
Quartile 4	133	1.0	0.5, 2.3	131	1.5	0.5, 4.3
	<i>P</i> <sup>4</sup>	0.92			0.82	
<b>Fish (portions)</b>						
<b>Canned tuna</b>						
Rarely/never	82	1		81	1	
1-3/month	135	0.6	0.3, 1.2	135	0.6	0.2, 1.4
1/week	198	0.4	0.2, 0.9	192	0.4	0.2, 1.1
≥2 week	135	0.4	0.2, 0.9	132	0.3	0.1, 0.8
	<i>P</i> <sup>4</sup>	0.10			0.10	
<b>Lean fish: hake, sole, gilthead</b>						
Never/once a week	131	1		127	1	
1-3/month	105	0.8	0.4, 1.9	104	1.0	0.4, 2.7
1/week	184	1.0	0.5, 1.9	181	1.2	0.5, 2.9
≥2 week	130	0.5	0.2, 1.3	128	0.3	0.1, 1.0
	<i>P</i> <sup>4</sup>	0.43			0.09	
<b>Oily fish: swordfish, fresh tuna, bonito</b>						
Never/once a week	227	1		220	1	
1-3/month	109	0.9	0.4, 2.0	109	0.8	0.3, 1.9
1/week	162	1.0	0.5, 1.9	160	0.7	0.3, 1.7

---

$\geq 2$ week	52	1.9	0.8, 4.3	51	4.6	1.4, 15.4
	$P^4$	0.47			0.03	

---

<sup>1</sup>Logistic regression was used to assess the associations.

<sup>2</sup>Estimates of effect were simultaneously adjusted for all other variables shown in the table as well as for the other fish consumed, vegetable intake, energy intake, maternal age, pre-pregnancy weight, weight gain, parity, and smoking status.

<sup>3</sup>OR, Odds Ratio.

<sup>4</sup> $P$  value from likelihood ratio test.



**TABLE 5**

Associations<sup>1</sup> between cord blood total mercury and fish consumption by pregnant women and small for gestational age for length: unadjusted and adjusted analysis from INMA-Valencia cohort, Spain, 2004-2006.

Exposure	Unadjusted			Adjusted <sup>2</sup>		
	n	OR <sup>3</sup>	95% CI	n	OR <sup>3</sup>	95% CI
<b>Total mercury (µg/L)</b>						
Quartile 1	138	1		133	1	
Quartile 2	138	2.3	0.8, 6.8	136	4.0	1.1, 15.0
Quartile 3	145	1.0	0.3, 3.4	145	1.5	0.3, 7.0
Quartile 4	133	1.9	0.6, 5.9	131	5.3	1.2, 23.9
<i>P</i> <sup>4</sup>		0.24			0.03	
<b>Fish (portions)</b>						
<b>Canned tuna</b>						
Rarely/never	82	1		81	1	
1-3/month	135	0.5	0.2, 1.5	135	0.2	0.1, 0.9
1/week	198	0.5	0.2, 1.4	195	0.3	0.1, 1.2
>=2 week	135	0.7	0.2, 1.9	134	0.3	0.1, 1.1
<i>P</i> <sup>4</sup>		0.58			0.14	
<b>Lean fish: hake, sole, gilthead</b>						
Never/once a week	131	1		129	1	
1-3/month	105	0.3	0.1, 1.2	104	0.5	0.1, 2.2
1/week	184	1.0	0.4, 2.2	183	1.0	0.3, 2.8
>=2 week	130	0.1	0.0, 0.7	129	0.1	0.0, 0.6
<i>P</i> <sup>4</sup>		<0.01			0.01	
<b>Oily fish: swordfish, fresh tuna, bonito</b>						
Never/once a week	227	1		224	1	
1-3/month	109	1.0	0.4, 2.9	109	1.3	0.4, 4.5
1/week	162	1.2	0.5, 2.8	161	1.0	0.3, 3.1

---

>=2 week	52	0.7	0.2, 3.3	51	1.9	0.3, 13.7
	<i>P</i> <sup>4</sup>	0.93			0.92	

---

<sup>1</sup>Logistic regression was used to assess the associations.

<sup>2</sup>Estimates of effect were simultaneously adjusted for all other variables shown in the table as well as for the other fish consumed, vegetable intake, energy intake, maternal age, parental heights, season at last menstrual period, and smoking status

<sup>3</sup>OR, Odds Ratio.

<sup>4</sup>*P* value from likelihood ratio test.







---

## DISCUSION

---

### 1. SOBRE LA INGESTA DE FRUTAS Y VERDURAS DURANTE EL EMBARAZO Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO FETAL.

El área de estudio y, en general toda la Comunidad Valenciana, se caracteriza por su tradición hortofrutícola, con una amplia variedad de frutas y verduras disponibles durante todo el año. Sin embargo se desconoce si las embarazadas están siguiendo las recomendaciones de consumo de dos a cuatro raciones de hortalizas y verduras y de dos a tres de frutas (SENC, 2004). Nuestro estudio ha puesto de manifiesto que una proporción no despreciable de la población (dos quintos de la misma) no consumía los mínimos requeridos de ingesta de verduras, a la vez que un bajo consumo se relacionaba con efectos adversos del crecimiento fetal medidos mediante la antropometría, peso y talla al nacimiento. Las mujeres con consumo en el primer y segundo quintil de verduras, es decir con un consumo inferior a unos 200 gramos al día, tuvieron recién nacidos con menor peso y presentaron un mayor riesgo de tener un bebé pequeño para la edad gestacional de peso y talla. No se encontró asociación con la ingesta de frutas, aunque una proporción importante de mujeres no cumplían tampoco las recomendaciones.

El consumo de verduras es necesario para lograr un aporte en micronutrientes como el ácido fólico, los antioxidantes como la vitaminas C, E, y otros componentes bioactivos (entre los que se encuentran los fitoquímicos) durante toda la gestación. En el caso del ácido fólico, los mínimos requeridos de 600 mgr/d durante el embarazo son difícilmente alcanzables mediante la ingesta, como se muestra en algunos estudios en poblaciones europeas (Rogers and Emmett, 1998; Erkkola et al., 1998), ya que se requeriría el consumo mínimo de 4 a 5 raciones diarias de verduras (Ortega, 2001), por lo que el ácido fólico en forma de suplemento dietético suele recomendarse desde el periodo preconcepcional y durante el primer trimestre (Scholl and Johnson, 2000). Sin embargo un estudio reciente en Finlandia ha puesto de manifiesto que no se cumplían bien las recomendaciones de toma de suplementos ya que las embarazadas tomaban suplementos que no son necesarios e incluso peligrosos, como la vitamina A, principalmente a través de multivitamínicos, mientras que los recomendados se tomaban de forma insuficiente y fuera del

periodo recomendado (Arkkola et al., 2006). En nuestro estudio también se han encontrado resultados similares a los de Finlandia (datos no publicados); la toma de suplementos no ha seguido las recomendaciones vigentes de la Conselleria de Sanitat (0,4 mg de ácido fólico desde un mes antes de la gestación y durante el primer trimestre en mujeres sin riesgo; 30 mg/día de Fe<sup>3</sup> a partir del segundo trimestre) en una proporción importante de mujeres. Además, la masiva utilización de preparados multivitamínicos o la prescripción en ocasiones de otras formas de ácido fólico como el levofolinato, que no están incluidos en el protocolo, hace que una no despreciable proporción de mujeres alcancen niveles muy elevados de ácido fólico, cuyos posibles efectos perniciosos no están del todo establecidos; nuestros hallazgos corroboran los publicados por Martínez-Frías para las distintas comunidades autónomas (Martínez-Frías, 2007). Todo ello refuerza la importancia del consejo nutricional a la embarazada, tanto en cuanto a dieta como a suplementación, con identificación de las mujeres a riesgo (Fowles and Gabrielson, 2005). Las dosis recomendadas de vitamina C y E son más fácilmente alcanzables a través de la dieta habitual de la mujer embarazada y no se han referido deficiencias en las poblaciones anteriormente descritas; para los carotenoides no existe recomendación diaria de ingesta aunque son considerados de gran importancia para el sistema antioxidante. La utilización de la ingesta de frutas y verduras en este estudio, en lugar de los micronutrientes y fitoquímicos que proporcionan, ha permitido tener en cuenta todos sus componentes al evaluar su asociación con el crecimiento fetal y nos ha permitido identificar una parte importante de la población que necesita ser identificada para ser provista del adecuado consejo nutricional.

Existe poca evidencia científica sobre el efecto de la ingesta de frutas y verduras en el crecimiento fetal. El presente estudio aporta información a los dos publicados hasta el momento, en la India y Dinamarca (Rao et al., 2001; Mikkelsen et al., 2006), siendo el nuestro el primero en evaluar y observar un efecto inverso entre el consumo verduras sobre el riesgo de pequeño para edad gestacional, para peso y talla, de suficiente magnitud como para ser considerado relevante desde el punto de vista de salud pública. El efecto se ha observado con datos de ingesta dietética desde el inicio de la gestación hasta el tercer trimestre de la gestación, reforzando la relevancia de un aporte

adecuado durante toda la gestación (Allen, 2005). El déficit de fólico periconcepcional y durante el primer trimestre se ha asociado fundamentalmente con el riesgo de defecto neural, sin embargo su aporte a lo largo de la gestación hasta el tercer trimestre es importante para un crecimiento fetal óptimo (Lindblad et al., 2005; Takimoto et al., 2007) por lo que el aporte de verduras, principalmente de hoja verde por su contenido en fólico, es importante en todos los trimestres de la gestación. La falta de relación del crecimiento fetal con la ingesta de fruta en nuestro estudio no tiene una explicación clara ya que en principio las frutas aportan cantidades importantes de vitaminas antioxidantes aunque no aportan ácido fólico. La falta de efecto de las frutas respecto a las verduras se ha descrito también recientemente en un estudio en China sobre el efecto del consumo de frutas y verduras y el riesgo de desarrollar diabetes en mujeres adultas (Villegas et al., 2008), así como en un estudio sobre consumo de frutas y verduras y riesgo de enfermedad crónica del adulto en el que aunque la ingesta de ambas tuvo un modesto efecto protector cardiovascular, la principal disminución de riesgo se observó para las verduras de hoja verde (Hung et al., 2004).

A parte de su efecto sobre el crecimiento fetal, una ingesta de frutas y verduras durante el embarazo se ha relacionado también con efectos a largo plazo, por ejemplo, una ingesta baja durante la gestación se ha asociado al riesgo de desarrollar sibilantes y asma en el niño (Warner, 2004; Martindale et al., 2005) e incluso se ha asociado a un incremento del riesgo de padecer retinoblastoma esporádico (Orjuela et al., 2005).

## 2. SOBRE LA EXPOSICION PRENATAL A MERCURIO.

El mercurio es considerado como una amenaza para las personas, los ecosistemas y la vida animal, debido a su gran toxicidad y ubicuidad en el medio ambiente a escala mundial (European Commission, 2005). Por todo ello, su utilización está siendo regulada en la Unión Europea ya que es la principal productora y exportadora de mercurio del mundo, seguida de Estados Unidos. España ha sido el principal productor y exportador dentro de Europa debido a los grandes depósitos existentes en las minas de Almadén, ya conocidos desde la época de los romanos (Health and Environment Alliance, 2007), aunque su

explotación fue parada en 2003 como medida de control. En la actualidad existe una reconversión en la industria cloro-álcali para eliminar la utilización del mercurio en su proceso, lo que ha dado lugar a un problema añadido debido a los excedentes de mercurio del que ya disponían en esta industria, ya que éstos son vendidos principalmente a los países en desarrollo donde se utilizan en la explotación artesanal de las minas de oro, exponiendo diariamente a mujeres embarazadas y niños que trabajan sin protección alguna en las mismas, a parte de ser una fuente de emisión al medioambiente perpetuando el ciclo del mercurio. Debido a ello, la Unión Europea se ha planteado la necesidad de regular y prohibir su venta, aunque debido a la magnitud del problema, toneladas existentes de mercurio, llevará mucho tiempo hasta que pueda reducirse y controlarse su venta y utilización (European Commission, 2006). Además, su masiva utilización en amalgamas dentales, equipos médicos, etc., teniendo en cuenta que la principal emisión del mercurio es la combustión del carbón y en menor medida las incineraciones, hace muy difícil prever una reducción en el medio ambiente importante a corto plazo. En diciembre de 2008, la Comisión Europea ha emitido un informe sobre la necesidad de reducir la utilización del mercurio y el coste que esto supondría (European Commission, 2008). Suecia ha decidido prohibir todo lo que contenga mercurio en sus productos, incluyendo las amalgamas dentales, desde enero 2008 (<http://www.env-health.org:80/a/3206>).

En esta cohorte se ha detectado mercurio total en el 98% de los recién nacidos con sangre de cordón disponible (70% de los nacidos vivos). Una proporción elevada de recién nacidos (75%) superan la dosis de referencia recomendada US. EPA de 5,8 µg/L, lo que supone un riesgo potencial sobre el neurodesarrollo (Mahaffey, 2005; Trasande et al., 2005). Se ha utilizado el mercurio total como biomarcador de la exposición, ya que aunque los efectos tóxicos del mercurio se deben fundamentalmente a la forma orgánica o metilmercurio, cuando los niveles de mercurio en sangre son elevados, por encima de 4 µg/L, más del 90% del mercurio total corresponde a metilmercurio (Mahaffey, 2004). En lo sucesivo, cuando hagamos referencia a la exposición a mercurio en esta cohorte se empleará el término mercurio como sinónimo de mercurio total.

Los niveles hallados en sangre de cordón son comparables con los de comunidades con gran consumo de pescado como Japón, Hong Kong y Taiwán (Sakamoto et al., 2004; Fok et al., 2007; Hsu et al., 2007). En la actualidad existen cohortes en Europa y en EEUU con niveles de exposición a mercurio más bajos que los encontrados en este estudio, del orden de 0,5 ppm de media en pelo de mujeres embarazadas con 10% por encima de 1,2 ppm en el proyecto VIVA (Oken et al., 2005) y una media de 0,8 µg/L en sangre de cordón con un máximo de 5 µg/L en la cohorte de Krakovia (Jedrychowski et al., 2006), que han encontrado efectos adversos de la exposición prenatal a mercurio en el neurodesarrollo infantil (Jedrychowski et al., 2007; Oken and Bellinger, 2008). En concreto, ningún niño de la cohorte de Krakovia superó los 5,8 µg/L. Estos hallazgos sugieren que no existe un dintel conocido de seguridad para la exposición prenatal a mercurio, hecho que se ha publicado recientemente en el caso del plomo, cuyos efectos adversos en el neurodesarrollo a niveles de exposición infantil por debajo de los considerados de referencia han sido descritos, siendo dichos efectos incluso de mayor magnitud que los descritos a niveles por encima de los de referencia (Canfield et al., 2003), lo que refuerza la precaución al interpretar las dosis de referencia para contaminantes, ya que "lo normal" debería ser la ausencia de exposición.

Los niveles de mercurio en sangre de cordón se han correlacionado con la ingesta de pescado en las madres de la cohorte. Los grandes depredadores como el pez espada/emperador, el atún fresco y el bonito son consumidos regularmente, una o más porciones a la semana, en una proporción importante de las mujeres, siendo los que más se relacionaban con los niveles de mercurio total en sangre de cordón, aunque el blanco y el atún en lata también contribuían de manera significativa. Otros factores que se asocian normalmente a la exposición a mercurio, que también se han asociado en este estudio, son la edad de la madre y el país de origen, reflejando ambos factores un grado de acumulación pues aunque está descrito que la vida media del mercurio en el organismo es de unos 50 días, un aporte continuado a partir de la ingesta de pescado superaría la capacidad del organismo para eliminar el mercurio (Hightower and Moore, 2003). El país de origen o el origen étnico de la población relacionado con los hábitos dietéticos también se ha

asociado con los niveles de mercurio en otras poblaciones (Bjornberg et al., 2005; Hightower et al., 2006).

A parte de los estudios epidemiológicos como el nuestro que dan una idea del estado de la situación en cuanto a la exposición en una determinada población así como de sus factores asociados, es importante contar con estudios poblacionales de exposición a través de la biomonitorización para poder estudiar también la evolución temporal de exposición y del impacto de las medidas que se tomen en caso necesario (Porta et al., 2008). Conocer los niveles de exposición de la población será pues de gran importancia a la hora de valorar la exposición local al mercurio y sus potenciales consecuencias sobre la salud y el desarrollo, así como las medidas que puedan adoptarse a corto y medio plazo para una población determinada. Sin embargo existen pocos datos de biomonitorización poblacional de este metal en España, aunque los estudios disponibles en los que se ha medido, en cualquier tipo de población y de localización geográfica, han encontrado niveles por encima de los recomendados, lo que refuerza la necesidad de establecer sistemas de biomonitorización en población general, como preconiza la OMS. Existe un mandato-encomienda de gestión del Ministerio de Medio Ambiente al ISCIII (BOE 11/08/2007, nº 192) para realizar un estudio de biomonitorización sobre varios compuestos tóxicos en población española. Entre los compuestos a estudio se encuentra el mercurio. La primera fase del estudio debe proporcionar un informe a finales de 2010.

Otra forma de medir la exposición a mercurio en una población es estimando la ingesta a partir del consumo de pescado y de su contenido en mercurio (Domingo et al., 2007a). Sin embargo esta evaluación de la exposición necesita datos que reflejen el consumo de pescado de la población con precisión, las porciones consumidas y el contenido de mercurio en los pescados más comúnmente consumidos, incluidos los grandes depredadores si es el caso. Además en el caso de la exposición prenatal, se debería conocer el consumo específico de las mujeres embarazadas. Por ello, en ocasiones, las estimaciones obtenidas con estos métodos no se corresponden con los niveles de biomarcadores. Otra limitación se deriva de que las conclusiones se toman para el conjunto de la población, sin tener en cuenta la distribución de la exposición, ni las recomendaciones para grupos más vulnerable. En la

---

Comunidad Valenciana en una estimación reciente obtenida por dicho procedimiento se ha considerado que no hay riesgo de sobrepasar la ingesta semanal recomendada de mercurio (Yusa et al., 2009).

### 3. SOBRE EL CONSUMO DE PESCADO DURANTE EL EMBARAZO, LA EXPOSICION PRENATAL A MERCURIO Y EL CRECIMIENTO FETAL

Debido al consumo importante de pescado en la población de mujeres embarazadas de la cohorte, incluido el de los grandes depredadores, y de los niveles elevados encontrados de exposición prenatal a mercurio total en los recién nacidos, es de gran relevancia estudiar los potenciales efectos sobre el crecimiento fetal en esta cohorte. El crecimiento fetal es de los primeros resultados en salud reproductiva en el que se reflejan los determinantes prenatales tanto nutricionales como de exposición a contaminantes, siendo un crecimiento fetal óptimo fundamental para el posterior crecimiento y desarrollo neuroconductual del niño (Morris et al., 1998; Richards et al., 2002).

En este estudio se ha observado un efecto adverso de la exposición prenatal a mercurio sobre el peso y, en menor medida, sobre la talla al nacimiento. Un mayor nivel de exposición prenatal a mercurio se ha asociado así mismo con un mayor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional para talla pero no para peso. Un mayor consumo de atún en lata se ha asociado a mayor peso al nacimiento. Un mayor consumo de pescado blanco se ha asociado con un menor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional para peso y talla, mientras que un mayor consumo de pescado azul grande se ha asociado a un mayor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional para peso.

Los hallazgos del presente estudio han añadido información a los estudios existentes en las cohortes actualmente en marcha tanto en Europa como en EEUU (Rogers et al., 2004; Oken et al., 2004; Halldorsson et al., 2007), que están aportando datos relevantes tanto sobre determinantes medioambientales como sobre dieta en la etapa prenatal y cuyos resultados sobre el efecto del consumo del pescado en el crecimiento fetal son inconsistentes. Con los resultados del presente trabajo, se ha puesto de manifiesto la relevancia de estudiar el tipo de pescado cuando se estudia la relación con el crecimiento



fetal, ya que cuando se utilizó el pescado total, en modelos ajustados por mercurio y covariables, no se observó ningún efecto del pescado sobre el peso y talla al nacimiento ni sobre el riesgo de pequeño para edad gestacional. En los modelos sin ajustar tampoco se observó efecto para el pescado total ni los distintos grupos de pescado ni para el mercurio. Los efectos de los tres grupos de pescado más consumidos (atún en lata, pescado blanco y azul grande) se observaron cuando fueron ajustados por el mercurio y las covariables relacionadas tanto con las variables de exposición como con la variable resultado. Lo mismo sucedió con el mercurio, su efecto se observó al ser ajustado por los distintos tipos de pescado y las covariables. Sólo un primer ajuste por las covariables hizo aparecer los efectos tanto para los distintos tipos de pescado como para el mercurio, cada uno considerado en modelos por separado, y cuando además se ajustó simultáneamente entre ellos se observó un aumento en la magnitud de dichos efectos.

Los hallazgos sobre los efectos según el tipo de pescado consumido son relevantes desde el punto de vista de la Salud Pública. El atún en lata, actualmente a debate en cuanto a su restricción durante el embarazo (Burger and Gochfeld, 2004; Stephenson, 2004; Consumer, 2006), y el pescado blanco se relacionaron positivamente con algunas de las medidas al nacimiento de peso, talla o con un menor riesgo de pequeño para edad gestacional. En cambio, el pescado azul grande correspondiente a grandes depredadores consumidos frecuentemente por las madres de la cohorte, se relacionó con un mayor riesgo de tener un recién nacido pequeño para la edad gestacional para peso independientemente de la exposición a mercurio, por lo que otros contaminantes que se acumulan también en este tipo de pescado, y que no estaban disponibles en la cohorte INMA en el momento de realizar este trabajo, han tenido probablemente un papel en el efecto negativo. Este hecho ha sido constatado en la cohorte danesa en la que se encontró un efecto negativo del pescado graso sobre el crecimiento fetal asociado a la exposición a los PCB que se acumulan en la grasa del pescado (Halldorsson et al., 2008).

En este trabajo es la primera vez, según nuestra revisión de la bibliografía, que se pone de manifiesto un efecto adverso de la exposición prenatal a mercurio sobre el crecimiento fetal. Aunque indudablemente este hallazgo necesita

más investigación y confirmación, es importante tenerlo en cuenta, junto con los hallazgos de los efectos de los distintos tipos de pescado, a la hora de valorar posibles intervenciones para reducir la exposición a corto plazo en la población diana, entre las que se encuentra la recomendación de consumo de pescado durante el embarazo, ya que un crecimiento fetal óptimo es fundamental para el desarrollo posterior del niño. Además será muy importante evaluar la repercusión de esta exposición prenatal a mercurio en el crecimiento y desarrollo neuroconductual posterior de los niños de la cohorte teniendo en cuenta los efectos que ya ha tenido el mercurio sobre el crecimiento fetal.

Por otra parte, la ingesta de pescado o los niveles de omega 3, principalmente de DHA, durante el embarazo se han relacionado por sí mismos, es decir sin mediación del crecimiento fetal, con efectos a largo plazo sobre la salud infantil. A parte de los estudios de exposición prenatal a mercurio y sus efectos sobre el desarrollo neuroconductual posterior que hemos visto en el apartado de la exposición prenatal a mercurio, en un estudio de suplementación con aceite de pescado en embarazadas, aunque no se observó efecto sobre el crecimiento fetal, los niños de las madres suplementadas mostraron un mejor desarrollo cognitivo a los 4 años (Helland et al., 2003). Los niveles de DHA en sangre materna durante el embarazo también se han relacionado con un mejor desarrollo de la atención en la infancia (Colombo et al., 2004) y los de DHA en sangre de cordón con una mejor maduración visual a las 50 y 60 semanas de vida (Malcolm et al., 2003); sin embargo otros estudios no han encontrado efectos entre el DHA en sangre de cordón y el desarrollo neuroconductual posterior (Ghys et al., 2002; Bakker et al., 2003). Aunque los estudios mencionados hacen referencia más bien a la parte positiva del pescado, es decir el DHA aportado por el mismo, la inconsistencia de los resultados se debe probablemente al equilibrio entre nutrientes beneficiosos y contaminantes, al provenir ambos de la misma fuente (Sakamoto et al., 2004). Además la ingesta de pescado durante el embarazo se ha relacionado con un menor riesgo de desarrollar eczema, atopía y sibilantes en la infancia (Dunstan and Prescott, 2005; Romieu et al., 2007).

Finalmente, una reflexión sobre el considerable retraso en el estudio de las repercusiones del mercurio sobre la salud fetal e infantil desde que se conocen

sus potenciales efectos sobre el neurodesarrollo. Desde que se reconoce la vulnerabilidad fetal a la exposición a mercurio en el accidente de Japón (años 50), se estudian los potenciales efectos en comunidades con gran consumo de pescado en las cohortes de Nueva Zelanda, Islas Faroe, Islas Seychelles (finales años 80, principio de los 90), se implementa un programa en el Mediterráneo en los años 80 para evaluar la exposición y posibles efectos, hasta que empieza a producirse evidencia científica en comunidades con bajo o moderado consumo de pescado, a partir de 2004, han transcurrido más de 40 años. El principal reto para la epidemiología en todos esos años ha sido estudiar la sutilidad de los efectos producidos por la exposición crónica a dosis bajas de compuestos con conocida neurotoxicidad, es decir pequeñas desviaciones de la normalidad que sin embargo tienen una repercusión poblacional como ya ha sido evidenciado en el caso del plomo (Davis and Grant, 2003) con un considerable retraso desde que se describieron sus efectos adversos, retraso que ha vuelto a repetirse en el caso del mercurio. La exposición crónica a dosis bajas de contaminantes ambientales de conocida neurotoxicidad pueden ser los causantes del aumento que se está produciendo en los últimos años de los trastornos del neurodesarrollo y del comportamiento del niño, lo que Grandjean y Landrigan han llamado *la epidemia silenciosa* (Grandjean and Landrigan, 2006).

#### 4. SOBRE LAS LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Como en cualquier estudio epidemiológico, para evaluar la validez de un estudio de cohorte es preciso evaluar el papel de los sesgos, del azar y de los factores de confusión como posibles explicaciones alternativas a los resultados encontrados (Hennekens and Buring, 1987).

La baja tasa de participación en el estudio, del 54%, podría afectar a la generalización de los resultados al resto de la población diana, sobre todo si las características de las mujeres que no participan son diferentes de las incluidas en el estudio. Sólo se pudieron comparar algunos datos sociodemográficos ya que al rechazar la participación no se disponía de mayor información para esas mujeres (Rodríguez et al., 2006). Las mujeres que aceptaron tenían una edad similar a las que rechazaron pero trabajaban en

una mayor proporción. Debido a las características del estudio, con un seguimiento reglado en varias ocasiones durante el embarazo y el seguimiento posterior del niño, es posible que las mujeres que trabajaban tuvieran una mayor independencia para realizar el seguimiento y tomar una decisión sin contar con la pareja. Respecto al posible sesgo de no participación, este tendría lugar si la no participación estuviera relacionada tanto con el factor de exposición como con otros factores que afectasen al resultado en salud estudiado. En este estudio la variable trabajar durante el embarazo no se relacionó con el consumo de verduras ni con el de pescado; es más, pocos factores sociodemográficos (la edad, la estación en el momento de la concepción y la residencia rural) se relacionaron con la ingesta de los alimentos estudiados. La edad se relacionó con una menor consumo de verduras y de pescado, pero como hemos visto la edad era similar tanto en las madres que aceptaron como en las que rechazaron la participación. Por otra parte sólo hubo un 4% de pérdidas de seguimiento entre el reclutamiento de las madres y el parto lo que asegura la validez interna del estudio.

Para la evaluación del consumo de alimentos se utilizó un cuestionario de frecuencia alimentaria que, aunque es especialmente apropiado para muestras grandes y evaluación de ingesta a largo plazo, está sujeto a posible mala clasificación sobre todo cuando se aumenta el número de ítems relacionado con un grupo de alimentos. Sin embargo, el tipo de mala clasificación en un estudio de cohorte suele ser no diferencial debido a que el resultado en salud no es conocido cuando se mide la exposición, por cuestionario o mediante biomarcador, teniendo como consecuencia una estimación más baja del verdadero efecto. Por otra parte, las muestras de mercurio se analizaron en un laboratorio de referencia que desconocía cualquier característica de los niños analizados o de sus madres, como el consumo de pescado. La toma de muestra sólo pudo ser realizada aproximadamente en un 60% de los recién nacidos debido a la dificultad logística propia del parto, sin embargo no hubo diferencias entre las madres ni los recién nacidos de los que disponían de muestra respecto de los que no respecto a los factores de exposición o a las variables dependientes. Las medidas antropométricas del recién nacido fueron tomadas por las enfermeras del hospital con los mismos aparatos de medición para todos y

desconociendo los factores de exposición, por lo que en caso de existir mala clasificación ésta será no diferencial.

Los efectos hallados en el riesgo de pequeño para edad gestacional de peso y talla para el bajo consumo tanto de verduras como de algunos pescados son de una magnitud mayor de la que suele ser descrita en estudios epidemiológicos similares; sin embargo la amplitud de los intervalos de confianza indican un tamaño muestral pequeño por categoría de consumo, por lo que una mala clasificación de algún recién nacido en alguna de las categorías de consumo, aún siendo no diferencial, podrían dar lugar a resultados diferentes. La similitud de los efectos encontrados para el riesgo de pequeño para edad gestacional con el peso y la talla ajustados en escala continua corroboran sin embargo los resultados. Por otra parte, no ha sido posible el estudio de la relación entre el consumo de los distintos tipos de verduras y las variables resultado debido a la falta de potencia, por lo que el estudio conjunto con los datos de las otras cohortes del proyecto INMA en el futuro aportará un valor añadido para el estudio tanto de los factores nutricionales como medioambientales al aumentar el tamaño de la muestra.

Por último, los factores de confusión se han medido mediante cuestionarios estructurados administrados a las mujeres por entrevistador entrenado pero, aunque se han estudiado muchas variables, no podemos descartar la existencia de confusores no medidos.

## 5. SOBRE LAS IMPLICACIONES EN SALUD PUBLICA DEL ESTUDIO

Los hallazgos de los trabajos que componen esta tesis tienen relevancia desde el punto de vista de la Salud Pública. El estudio del consumo de frutas y verduras durante el embarazo ha identificado una proporción considerable de mujeres que necesitarían ser identificadas por el sistema de salud y recibir un consejo nutricional apropiado durante el seguimiento de su embarazo para que su consumo se adecue a las recomendaciones actuales. Los hallazgos de este estudio refuerzan las pruebas de que un consumo frecuente de verduras (al menos un plato principal al día) es necesario para reducir el riesgo de retraso de crecimiento fetal.

Los niveles de mercurio observados en la población de estudio son elevados, con una proporción muy elevada de recién nacidos con niveles por encima de los recomendados por la agencia de protección del medio ambiente de EEUU (US EPA). Desde la Salud Pública debe tenerse en cuenta que en este estudio se han hallado efectos de la exposición a mercurio en el crecimiento fetal, peso y talla, con las consiguientes repercusiones para el posterior desarrollo del niño. Por otra parte, no se puede obviar que los niveles encontrados son superiores a los niveles descritos en algunas cohortes que están encontrando efectos adversos en el neurodesarrollo infantil (Oken and Bellinger, 2008), por lo que los niveles en la población de estudio pueden tener repercusiones potenciales sobre el neurodesarrollo posterior. Aunque para generalizar estos hallazgos a la población diana e incluso a la población de la Comunidad Valenciana tengamos que ser prudentes, como ya hemos visto en las limitaciones, no parece probable se haya sesgado la muestra del estudio hasta el punto de que estos datos no sirvan como una primera estimación de la situación de exposición a mercurio, al menos en el área de estudio, donde esta exposición era desconocida hasta ahora. Prácticamente todos los estudios realizados en España en distintas poblaciones y localizaciones geográficas corroboran nuestros hallazgos ya que han hallado siempre niveles elevados (Ramon and Ballester, 2008). Una de las implicaciones desde el punto de vista de Salud Pública es que parece necesario el confirmar estos datos mediante biomonitorización, de al menos las poblaciones vulnerables (embarazadas y niños), lo que permitiría también hacer comparaciones temporales en el futuro. Por otra parte, las medidas inmediatas para disminuir la exposición deberían de pasar por un debate sobre el consumo de pescado en población vulnerable, teniendo en cuenta las condiciones locales de consumo de pescado ya que éste se ha identificado como la principal vía, aunque no la única, responsable de los niveles prenatales de mercurio.

Desde un punto de vista global es necesario que se tomen las medidas necesarias para evitar la emisión de este metal al medio ambiente, a parte del control de la explotación de las minas, la reconversión de la industria y el control de la incineración de residuos, la aplicación estricta de la prohibición de venta de los excedentes de mercurio a países en desarrollo es una medida necesaria para evitar de esta forma que se cierre un ciclo en el que se ven al

final afectadas también las poblaciones más desfavorecidas del planeta (European Commission, 2006).



---

## CONCLUSIONES

---

### Sobre el estado de la pregunta de investigación

1. Existe poca evidencia científica sobre el papel de la ingesta de fruta y verdura durante el embarazo y el crecimiento fetal.
2. Hasta la actualidad ningún estudio había demostrado una asociación negativa entre la exposición prenatal al mercurio y el crecimiento fetal. El hallazgo en este estudio necesita investigación posterior.

### Sobre el consumo de frutas y verduras y su efecto en el crecimiento fetal

3. Una proporción importante de mujeres, aproximadamente el 40%, consumen verduras por debajo de las recomendaciones vigentes de 3-4 porciones al día.
4. El bajo consumo de verduras durante el embarazo se ha asociado negativamente al peso y la talla de los recién nacidos y a un aumento del riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional de peso y talla.
5. El bajo consumo de frutas no se ha asociado con crecimiento fetal.

### Sobre la exposición prenatal al mercurio y su efecto en el crecimiento fetal

6. Las concentraciones de mercurio total medido en sangre de cordón son elevados, el 72% de los recién nacidos superan los niveles recomendados por la US. EPA. Los niveles hallados son más elevados que los descritos en otras cohortes europeas y americanas, siendo similares a los descritos en poblaciones con elevado consumo de pescado como Japón, Taiwán y Hong Kong.
7. Las concentraciones de mercurio en el momento del nacimiento se han asociado con una disminución del peso y la talla del recién nacido y con un mayor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional para talla.



Sobre el consumo de pescado durante el embarazo y su efecto en el crecimiento fetal

8. Los tres grupos de pescado más consumidos fueron el blanco, el atún en lata y el pescado azul graso de gran tamaño. El pez espada y el atún fresco, pescados cuyo consumo se limita en algunos países, constituyeron el 17% del consumo total.
9. El consumo de pescado blanco y de atún en lata se ha asociado positivamente con el peso o talla al nacimiento y con un menor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional de peso.
10. El consumo de pescado graso grande (pez espada o atún fresco) se ha asociado a un mayor riesgo de tener un bebé pequeño para edad gestacional para peso, independientemente del contenido en mercurio.

## RECOMENDACIONES

1. La identificación de mujeres con un consumo bajo de fruta y verdura y un consejo dietético en el marco de una alimentación adecuada durante el embarazo deberían ser incorporados a la práctica clínica debido a la gran importancia de la alimentación durante el embarazo y el desarrollo fetal e infantil.
2. Creemos justificado recomendar que desde las administraciones sanitarias y las sociedades científicas se avance en un debate que concluya con unas recomendaciones consensuadas sobre consumo de pescado durante el embarazo. Las distintas estrategias para disminuir el riesgo de exposición a mercurio deberían considerar los hábitos locales de consumo de pescado, el contenido de mercurio en el mismo así como la identificación de las mujeres a riesgo de exposición prenatal a mercurio.
3. Sería recomendable establecer un programa de vigilancia sanitaria de los alimentos que asegurara el control del contenido de mercurio del pescado que llega a los puntos de distribución de alimentos, evitando que se

comercialice el pescado que supere los límites contemplados en la legislación.

4. El efecto de la exposición prenatal a mercurio debería tenerse en cuenta en las recomendaciones de consumo de pescado a las mujeres embarazadas.
5. El estudio en la cohorte INMA de la asociación de la exposición prenatal a mercurio y del consumo de pescado materno durante el embarazo con el neurodesarrollo infantil permitirá añadir información al riesgo potencial de la exposición prenatal a mercurio.





---

**ANEXO 1:** Ramon R, Ballester F. Prevention of early in life mercury exposures: no more unnecessary delays. J Epidemiol Community Health 2008; 62(5):378-379.

---



## Prevention of early in life mercury exposures: no more unnecessary delays

Rosa Ramón and Ferran Ballester

*J. Epidemiol. Community Health* 2008;62:378-379  
doi:10.1136/jech.2007.064444

---

Updated information and services can be found at:  
<http://jech.bmj.com/cgi/content/full/62/5/378>

---

*These include:*

### References

This article cites 10 articles, 2 of which can be accessed free at:  
<http://jech.bmj.com/cgi/content/full/62/5/378#BIBL>

### Rapid responses

You can respond to this article at:  
<http://jech.bmj.com/cgi/eletter-submit/62/5/378>

### Email alerting service

Receive free email alerts when new articles cite this article - sign up in the box at the top right corner of the article

---

### Notes



## Prevention of early in life mercury exposures: no more unnecessary delays

"Take some more tea", the March Hare said to Alice, very earnestly.  
 "I've had nothing yet", Alice replied in an offended tone, "so I can't take more".  
 "You mean you can't take *less*", said the Hatter: "it's very easy to take *more* than nothing"  
*Alice in Wonderland.* Lewis Carroll

Known since the 19th century, the adverse neurological effects of mercury experienced by the felt-hat workers called "the madness of hatters" were graphically described in chapter 7, "A Mad Tea-Party" by Lewis Carroll. Mercury and its compounds are now considered a threat to human beings, ecosystems and wildlife owing to their high toxicity and persistence in the environment. For this reason, the European Commission presented its Community Mercury Strategy, a global action plan to address mercury pollution in 2005.<sup>1</sup>

Fish consumption is the main source of human exposure to methylmercury in developed countries. Methylmercury crosses both the placental barrier and the blood-brain barrier, potentially affecting neurological development even before birth. Exposure of pregnant women, women of child-bearing age, and children is therefore of greatest concern. A variety of prevalent neurobehavioural disorders in children have been linked to exposure to environmental pollutants during development—some pollutants such as methylmercury being better characterised than others—and are therefore preventable if environments are made safer. These disorders constitute what has been called the "silent pandemic" by Grandjean and Landrigan,<sup>2</sup> and are a real burden for families and for society.

There has been concern about mercury exposure in Mediterranean populations for decades. This led the World Health Organization (WHO-UNEP) in the 1980s to implement a programme (MED POL) to assess human exposure to and potential health effects of mercury.<sup>3</sup> Results showed a wide range of exposure, with particularly high levels in some regions and islands and in some populations such as fishermen and their families, as well as a correlation between seafood consumption and mercury levels.

The existence of a considerable gap between these first results and the scarcity of subsequent studies in Mediterranean populations is noteworthy. The few recent studies performed in the Mediterranean showed high levels of exposure to mercury in Spanish children<sup>4</sup> and in pregnant Greek women<sup>5</sup>; whereas a low level of prenatal exposure has been reported in Istanbul, Turkey.<sup>6</sup> Studies on potential health impacts of such exposures, especially concerning prenatal exposure and reproductive outcomes, are even more scarce bearing in mind that the results from the three cohorts (the Faeroe Islands, the Seychelles Islands and New Zealand) that raised concern about adverse health effects of prenatal exposure through maternal fish consumption date from the late 1980s. Some preliminary results on adverse outcomes have been published in Italy.<sup>7</sup>

To protect the fetus and young children from mercury exposure, the US Food and Drug Administration has developed guidelines of fish consumption during pregnancy and early childhood.<sup>8</sup> The European Food and Safety Authority has also

issued recommendations to the member states (not all the states have adopted them and the versions in those that have vary as does their diffusion).<sup>9,10</sup> In Spain, although it has been debated, recommendations have not yet been implemented.<sup>11</sup>

Local circumstances such as population fish consumption, mercury content of the more frequently consumed fish and biomonitoring of mercury exposure in vulnerable populations should guide such decisions. For example, some studies reveal that in Spain, swordfish has mercury levels several times higher than those of the other commonly eaten fish. Moreover, the few available studies measuring mercury levels in Spanish populations show that high levels are found wherever measured.<sup>4,12–15</sup> On the other hand, the possible public health impact of such advice on fish consumption behaviour should always be evaluated in order not to diminish potential health benefits from important nutrients also contained in fish.

Thus, clear and accurate information on mercury exposure and related fish consumption must be provided to women, health professionals and also to the general population. Above all, information for pregnant women, in the context of nutritional counselling during pregnancy, seems crucial since they have the ultimate responsibility for their children. In Spain, as in other Mediterranean countries, this issue needs to be urgently addressed.

Disclaimer: The opinions and conclusions expressed here are those of the authors and are not necessarily shared by their institutions.

Rosa Ramón,<sup>1,2</sup> Ferran Ballester<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain; <sup>2</sup> Department of Public Health, Universitat Miguel Hernandez (UMH); <sup>3</sup> Valencian School of Health Studies (EVES)

**Correspondence to:** Rosa Ramón, CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), and Department of Public Health, Universitat Miguel Hernandez (UMH), Spain, Escuela Valenciana de Estudios para la Salud (EVES), Juan de Garay 21, 46017 Valencia, Spain; [ramon\\_rosbon@gva.es](mailto:ramon_rosbon@gva.es)

**Competing interests:** None.

Disclaimer: The opinions and conclusions expressed here are those of the authors and are not necessarily shared by their institutions.

*J Epidemiol Community Health* 2008;**62**:378–379. doi:10.1136/jech.2007.064444

### REFERENCES

1. **European Commission.** *Communication from the Commission to the Council and the European Parliament on community strategy concerning mercury.* SEC (2005) 101. Brussels: European Community, 2005.
2. **Grandjean P, Landrigan PJ.** Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 2006;**368**:2167–78.
3. **International Programme on Chemical Safety.** Methylmercury. *Environ Health Criteria* 101. Geneva: World Health Organization, 1991.
4. **Montuori P, Jover E, Diez S, et al.** Mercury speciation in the hair of pre-school children living near a chlor-alkali plant. *Sci Total Environ* 2006;**369**:51–8.
5. **Gibcar D, Horvat M, Nakou S, et al.** Pilot study of intrauterine exposure to methylmercury in Eastern Aegean islands, Greece. *Sci Total Environ* 2006;**367**:586–95.
6. **Unuvar E, Ahmadov H, Kiziler AR, et al.** Mercury levels in cord blood and meconium of healthy newborns and venous blood of their mothers: clinical, prospective cohort study. *Sci Total Environ* 2007;**374**:60–70.
7. **Barbone F, Valent F, Pisa F, et al.** Prenatal low-level methyl mercury exposure and child development in an Italian coastal area. *Seychelles Med Dent J* 2004;**7**:149–53.
8. **US Environmental Protection Agency, Food and Drug Administration.** *What you need to know about mercury in fish and shellfish.* Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 2004.
9. **Verger P, Houdart S, Marette S, et al.** Impact of a risk-benefit advisory on fish consumption and dietary exposure to methylmercury in France. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007;**48**:259–69.
10. **Maycock BJ, Benford DJ.** Risk assessment of dietary exposure to methylmercury in fish in the UK. *Hum Exp Toxicol* 2007;**26**:185–90.
11. **Agencia Española de Seguridad Alimentaria.** *Nota informativa de la AESA sobre mercurio y metil-mercurio en productos pesqueros.* Available from <http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp> [accessed 19 June 2007].

12. **Guallar E**, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P, *et al*. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;**347**:1747–54.
13. **Soria ML**, Sanz P, Martínez D, *et al*. Total mercury and methylmercury in hair, maternal and umbilical blood, and placenta from women in the Seville area. *Bull Environ Contam Toxicol* 1992;**48**:494–501.
14. **Batista J**, Schuhmacher M, Domingo JL, *et al*. Mercury in hair for a child population from Tarragona Province, Spain. *Sci Total Environ* 1996;**193**:143–8.
15. **Jensen GK**, Ruzickova K. *Halting the child brain drain. Why we need to tackle global mercury contamination*. Brussels: Health and Environment Alliance and Health Care Without Harm, 2007.

### BMJ Careers online re-launches

BMJ Careers online has re-launched to give you an even better online experience. You'll still find our online services such as jobs, courses and careers advice, but now they're even easier to navigate and quicker to find.

New features include:

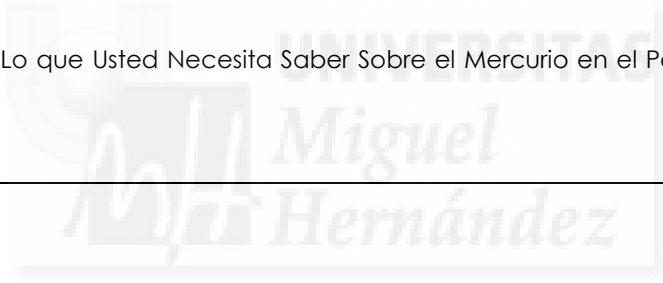
- ▶ Job alerts – you tell us how often you want to hear from us with either daily or weekly alerts
- ▶ Refined keyword searching making it easier to find exactly what you want
- ▶ Contextual display – when you search for articles or courses we'll automatically display job adverts relevant to your search
- ▶ Recruiter logos linked directly to their organisation homepage – find out more about the company before you apply
- ▶ RSS feeds now even easier to set up

Visit [careers.bmj.com](http://careers.bmj.com) to find out more.

---

**ANEXO 2:** Lo que Usted Necesita Saber Sobre el Mercurio en el Pescado y los Mariscos.

---





## HECHOS

El pescado y el marisco son una parte importante de una dieta saludable. El pescado y el marisco contienen proteínas de alta calidad y otros nutrientes esenciales que son bajos en grasas saturadas y contienen ácidos grasos omega-3. Una dieta bien equilibrada que incluya pescados y mariscos variados puede contribuir a la salud cardíaca, y al crecimiento y desarrollo adecuado de los niños. Por tanto, las mujeres y los niños pequeños en particular deben incluir pescados o mariscos en sus dietas debido a sus muchos beneficios nutricionales.

Sin embargo, casi todos los pescados y mariscos contienen algunos rastros de mercurio. Para muchas personas, el riesgo del mercurio proveniente del pescado y del marisco no es una preocupación de salud. No obstante, algunos pescados y mariscos contienen altos niveles de mercurio que pueden perjudicar a los fetos o el sistema nervioso en vías de desarrollo de un niño pequeño. Los riesgos del mercurio en el pescado y el marisco dependen de la cantidad de pescado y marisco que se coma, y de los niveles del mercurio en el pescado y el marisco. Por lo tanto, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) aconsejan a las mujeres en edad fértil, a las mujeres embarazadas, a las madres lactantes y a los niños pequeños que eviten comer algunos tipos de pescado, y que coman pescados y mariscos bajos en mercurio.

Para más información sobre los riesgos del mercurio en el pescado y los mariscos, llame a la línea de información gratuita de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE.UU. en el **1-888-SAFEFOOD** o visite el [sitio Web de la FDA sobre la seguridad de los alimentos](#).

Para más información sobre la seguridad de los pescados y mariscos capturados localmente visite el [sitio Web de la EPA para ver los avisos de pesca](#) o comuníquese con el departamento de salud local de su estado. Para más información en inglés sobre las acciones de la EPA para controlar el mercurio, visite el [sitio Web sobre mercurio de la EPA](#).



# Lo que Usted Necesita Saber Sobre el Mercurio en el Pescado y los Mariscos

## *Aviso de la EPA y la FDA de 2004 para:*

Las mujeres en edad fértil,  
las mujeres embarazadas,  
las madres lactantes y  
los niños pequeños



## 3 Consejos de Seguridad

**1.** No coma carne de tiburón, pez espada, caballa (King Mackerel) o lofolátilo (Tilefish) porque contienen altos niveles de mercurio.

**A**l seguir estas tres recomendaciones al seleccionar y comer el pescado o marisco, las mujeres y los niños recibirán los beneficios de comer pescado y mariscos, y podrán confiar en que habrán reducido su exposición a los efectos dañinos del mercurio.

**2.** Puede comer hasta 12 onzas (dos comidas promedio) a la semana de diferentes pescados o mariscos que sean bajos en mercurio.

- Cinco de los pescados que se comen con mayor frecuencia que son bajos en mercurio son los camarones, el atún enlatado claro, el salmón, el gado (pollock) y el pez gato.
- Otro pescado que se come comúnmente es el atún albacora (blanco) que tiene más mercurio que el atún enlatado claro. Por lo tanto, cuando escoja sus dos alimentos de pescado y mariscos, puede comer hasta seis onzas (una comida promedio) de atún albacora por semana.

**3.** Consulte los avisos locales sobre la seguridad del pescado capturado por sus familiares y amigos en los lagos, ríos y áreas costeras locales. Si no hay ninguna información disponible, puede comer por semana hasta seis onzas (una comida promedio) de pescado de sus aguas locales, pero no consuma ningún otro tipo de pescado durante la semana.

Siga estas recomendaciones cuando alimente a sus hijos pequeños con pescado o mariscos, pero sírvale porciones menores.

Visite el sitio Web sobre la seguridad de los alimentos de la Administración de Alimentos y Medicamentos [www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov) o el sitio Web del aviso sobre el pescado de la Agencia de Protección Ambiental [www.epa.gov/ost/fish](http://www.epa.gov/ost/fish) para consultar la lista de niveles de mercurio en el pescado.

## Preguntas frecuentes sobre el mercurio en el pescado y los mariscos:



### ¿Qué es el mercurio y el mercurio metílico?

El mercurio se genera naturalmente en el medio ambiente y también puede ser emitido al aire por medio de la contaminación industrial. El mercurio cae del aire y se acumula en corrientes fluviales y océanos, y se convierte en mercurio metílico en el agua. Éste es el tipo de mercurio que puede ser dañino para los fetos y niños pequeños. Los peces absorben el mercurio metílico, que se acumula en sus cuerpos, a medida que se alimentan en dichas aguas. Algunas variedades de pescados y mariscos acumulan más mercurio metílico que otras, dependiendo de cómo se alimenten. Esto hace que los niveles de mercurio varíen.

### Soy una mujer en edad fértil, pero no estoy embarazada, ¿por qué tengo que estar preocupada por el mercurio metílico?

Si usted come regularmente pescado con niveles elevados de mercurio metílico, éste puede acumularse en sus vías sanguíneas con el paso del tiempo. El mercurio metílico se elimina naturalmente del cuerpo, pero puede tomar un año para que los niveles bajen dramáticamente. Por lo que el mercurio puede estar presente en las mujeres antes de que queden embarazadas. Ésta es la razón por la cual las mujeres que estén tratando de quedarse en estado también deben evitar comer algunos tipos de pescado.

### ¿Hay mercurio metílico en todos los pescados y mariscos?

Casi todos los pescados y mariscos contienen rastros de mercurio metílico. Sin embargo, los peces de mayor tamaño que hayan vivido más tiempo tienen niveles más altos de mercurio metílico porque han tenido más tiempo para acumularlo. Estos peces grandes [pez espada, tiburón, caballa (King Mackerel) y lofolátilo (Tilefish)] representan un riesgo mayor. Otros tipos de pescados y mariscos pueden ser ingeridos en las cantidades recomendadas por la FDA y la EPA.

#### Nota:

Si tiene alguna pregunta o piensa que ha estado expuesto a grandes cantidades de mercurio metílico, consulte con su doctor o proveedor de atención médica inmediatamente.

### Yo no veo el pescado que suelo comer identificado en el aviso. ¿Qué debo hacer?

Si desea más información sobre los niveles en los varios tipos de pescados que come, consulte el [sitio Web de la FDA para la seguridad de los alimentos](#) o el [sitio Web de la EPA para los avisos relacionados con el pescado](#).

### ¿Qué ocurre con los pescados procesados en "palitos de pescado" (fish sticks) y los sándwiches de comida rápida?

Los "fish sticks" y los sándwiches de comida rápida comúnmente están hechos con pescados bajos en mercurio.

### Los consejos sobre el atún enlatado están delineados en el aviso, pero ¿qué se aconseja para las rodajas de atún?

Debido a que las rodajas de atún generalmente contienen niveles más altos de mercurio que el atún claro enlatado, cuando escoja dos alimentos de pescado y marisco, puede comer hasta seis onzas (una comida regular) de rodajas de atún por semana.

### ¿Qué pasa si comemos más de la cantidad recomendada de pescado y marisco en una semana?

El consumo de pescado que se realiza en una semana no modifica considerablemente el nivel de mercurio metílico en el cuerpo. Si come mucho pescado en una semana, debe reducir la cantidad durante una o dos semanas después. Sólo asegúrese de que coma el promedio de la cantidad recomendada cada semana.

### ¿Dónde puedo conseguir información sobre la seguridad del pescado capturado de manera recreativa por familiares y amistades?

Antes de pescar, consulte el folleto de regulaciones sobre la pesca para obtener información sobre el pescado capturado de manera recreativa. También puede ponerse en contacto con su departamento de salud local para obtener información sobre los avisos locales. Debe consultar los avisos locales debido a que algunos tipos de pescados y mariscos capturados en sus aguas locales pueden tener niveles mayores o menores a los niveles promedios de mercurio. Esto depende de los niveles de mercurio en el agua donde los pescados han sido capturados. Aquellos pescados que tienen niveles mucho más bajos pueden comerse con mayor frecuencia y en cantidades mayores.





---

**ANEXO 3:** Ramon R, Ballester F, Rebagliato M, Ribas N, Torrent M, Fernandez M et al. [The Environment and Childhood Research Network ("INMA" network): study protocol]. Rev Esp Salud Pública 2005; 79(2):203-220.

---

## COLABORACIÓN ESPECIAL

## LA RED DE INVESTIGACIÓN «INFANCIA Y MEDIO AMBIENTE» (RED INMA): PROTOCOLO DE ESTUDIO

**Rosa Ramón (1), Ferràn Ballester (2), Marisa Rebagliato (1), Núria Ribas (3), Maties Torrent (4), Marieta Fernández (5), María Sala (3), Adonina Tardón (6), Alfredo Marco (7), Manuel Posada (8), Joan Grimalt (9) y Jordi Sunyer (3) en nombre de la Red INMA\***

- (1) Departamento de Salud Pública- Universidad Miguel Hernández. Alicante  
 (2) Escuela Valenciana de Estudios en Salud (EVES) - Conselleria de Sanidad-Generalitat Valenciana (CS-GV). Valencia  
 (3) Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM). Barcelona  
 (4) Àrea de Salut de Menorca - Institut Balear de Salut. Maó  
 (5) Hospital Universitario San Cecilio - Servicio Andaluz de Salud. Granada  
 (6) Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias. Oviedo  
 (7) Hospital Universitario La Fe - CS-GV. Valencia  
 (8) Instituto de Investigación de Enfermedades Raras - ISCIII. Madrid  
 (9) Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals - CSIC. Barcelona  
 \* composición completa de la Red INMA al final del artículo.

## RESUMEN

Cada vez existe mayor evidencia de la influencia de la dieta y de la exposición a dosis bajas de tóxicos durante la etapa prenatal y primera infancia sobre la salud y el bienestar en etapas posteriores de la vida. Siguiendo las recomendaciones de la OMS y de la Unión Europea en el año 2003 se constituyó la Red de Investigación Cooperativa Infancia y Medio Ambiente para estudiar los efectos del medio ambiente y la dieta en el desarrollo fetal e infantil en diversas zonas geográficas en España. La Red integra diversos grupos multidisciplinares de investigación y está constituida por seis cohortes, tres preexistentes y tres de novo, que seguirán de forma prospectiva a 3.600 mujeres embarazadas, desde el inicio del embarazo hasta los 4-6 años del niño. Los objetivos generales de la red son: (1) Describir la exposición individual a tóxicos ambientales durante la gestación y la primera infancia. (2) Evaluar los efectos de la exposición a tóxicos y de la dieta en el desarrollo fetal e infantil. (3) Evaluar la interacción entre factores tóxicos, nutricionales y genéticos en el desarrollo fetal e infantil. El seguimiento se realiza en cada trimestre de la gestación, al nacimiento, al año y hasta los cuatro o seis años del niño. La información se recoge mediante cuestionarios, datos clínicos, exploración física, ecografías, biomarcadores y mediciones ambientales. En este trabajo se presentan las características generales de la red y se describe la situación actual de cada una de las cohortes.

**Palabras clave:** Infancia. Medio ambiente. Dieta. Estudio de cohortes. Embarazo. Efectos Tardíos de la exposición prenatal. Prevención. Nutrición prenatal.

Correspondencia:

Rosa Ramón.

Calle 508, nº 18

La Canyada (Paterna)

46182 Valencia

Correo electrónico: rramon@umh.es

## ABSTRACT

### The Environment and Childhood Research Network («INMA» Network): Study Protocol

Increasingly greater evidence exists as to the influence which diet and exposure to low doses of toxic substances during the prenatal stage and early childhood has on health and well-being throughout later stages of life. Following the WHO and European Union recommendations in 2003, the Cooperative Environment and Childhood Research Network was set up to study the effects of the environment and diet on fetal and early childhood development in different geographical areas of Spain. This Network integrates different multidisciplinary research groups and is comprised of six cohorts - three pre-existing and three de novo - which will follow up prospectively 3,600 pregnant women, from the start of pregnancy up to age 4-6 years of the child. This network's general objectives are: (1) To describe individual exposure to toxic substances in the environment during gestation and early childhood. (2) To evaluate the effects of exposure to toxic substances and diet on fetal and early childhood development. (3) To evaluate the interaction among toxic, nutritional and genetic factors in fetal and early childhood development. The follow-up is done every three months during gestation, at birth, at age one and up to age four or six. The information is gathered by means of questionnaires, clinical data, physical examinations, echographs, biomarkers and environmental measurements. The general characteristics of the network and a description of the current situation of each one of the cohorts are provided in this study.

**Key words:** Childhood. Environment. Diet. Cohort Studies. Pregnancy. Prenatal exposure delayed effects. Prevention. Prenatal nutrition.

## DESCRIPCIÓN GENERAL

### Antecedentes

Desde el momento de la concepción del ser humano, los insultos químicos del medio ambiente pueden afectar el desarrollo fetal y determinar la estructuración de los sistemas y su función. Este impacto no termina con el nacimiento, no sólo para los sistemas no estructurados al nacer, tales como el sistema neurológico, el inmunitario o el sexual, sino también para sistemas cuyo crecimiento puede verse modificado por las exposiciones ambientales, como es el caso de la función respiratoria. La disrupción hormonal constituye una de las vías a través de las cuales el medio ambiente interviene en estos procesos. La dieta, tanto de la madre durante la gestación y la lactancia como la del niño durante la primera infancia, constituye uno de los mecanismos fundamentales a través del cual el medio ambiente puede afectar el desarrollo fetal e infantil desde una doble vertiente: ingesta de alimentos y agua como portadores de tóxicos ambientales y alérgenos; y dieta como vehículo de agentes protectores frente a los insultos ambientales, como ocurre en el caso de los nutrientes antioxidantes.

En la declaración de Bangkok en marzo de 2002 la OMS declaraba la prioridad de estudiar de forma multicéntrica y en centros de excelencia los efectos de la exposición a dosis bajas de contaminantes en el desarrollo de los niños desde la etapa prenatal a la adolescencia<sup>1</sup>. En junio de 2004 los ministros de Salud y Medio Ambiente de la Región Europea de la OMS firmaron un Plan de Acción de Salud Infantil y Medio Ambiente en el que se marcan objetivos para la reducción de la mortalidad y la morbilidad por enfermedades relacionadas con la contaminación ambiental, con especial atención al embarazo, la infancia y la adolescencia<sup>2</sup>. En dicho plan se reconoce la necesidad de la colaboración internacional y de la investigación.

Por otra parte el *Convenio de Estocolmo*, recientemente ratificado por España, menciona el compromiso de los firmantes para realizar tareas de investigación sobre los niveles ambientales y de dosis interna de xenobióticos en la población general<sup>3</sup>. La Unión Europea en el *VI Programa Marco de Investigación* plantea como área prioritaria (1.1.5 Food Quality and Safety)<sup>4</sup> la investigación de la influencia de los alimentos y factores ambientales en la salud de grupos específicos, tales como los niños, mediante el estudio de complejas interacciones entre las exposiciones ambientales, la ingesta de alimentos y factores metabólicos, inmunitarios y genéticos.

Más recientemente la Unión Europea ha puesto en marcha una estrategia para reducir las enfermedades relacionadas con factores ambientales, con especial atención a los grupos más vulnerables de la sociedad, en particular a la infancia<sup>5</sup>. La nueva estrategia de medio ambiente y salud incorpora un planteamiento a largo plazo. El objetivo global de la estrategia es reducir las enfermedades causadas por los factores medioambientales en Europa. Para lograr dicho objetivo se reconoce la necesidad de ampliar los conocimientos sobre los problemas sanitarios vinculados con la degradación del medio ambiente, con el fin de prevenir las nuevas amenazas a la salud derivadas de la contaminación ambiental. La estrategia recibe la denominación de SCALE, correspondiente al acrónimo en inglés de los cinco elementos clave en los que descansa (Science, Children, Awareness, Legal instrument, Evaluation). La estrategia se aplicará en varios ciclos. El primero, correspondiente al período 2004-2010, se centrará en cuatro efectos sobre la salud: a) las enfermedades respiratorias infantiles, el asma, las alergias; b) los trastornos del desarrollo neurológico; c) el cáncer infantil; y d) los efectos de perturbación endocrina.

La red de investigación cooperativa Infancia y Medio Ambiente (Red INMA)

Figura 1

Logo del Proyecto INMA



## Infancia y Medio Ambiente

(logo en figura 1) se constituye en el 2003 para estudiar los efectos del medio ambiente y la dieta en el desarrollo fetal e infantil en diversas zonas geográficas en España. La Red integra diversos grupos de investigación (figura 2) con amplia experiencia en el campo de la contaminación ambiental y la nutrición y está formada por 6 cohortes, 3 creadas *de novo* y 3 preexistentes (tabla 1) que seguirán a unas 3.600 mujeres embarazadas y sus recién nacidos. La Red se basa en la experiencia adquirida por las cohortes de Ribera d'Ebre y Menorca que han estudiado el efecto de los compuestos organoclorados y metales pesados sobre el desarrollo neuroconductual del niño, y los efectos de la contaminación atmosférica y del interior de las casas en el desarrollo de alergia y asma. La cohorte de Granada aporta su experiencia en el estudio de los efectos de los disruptores endocrinos sobre el desarrollo sexual, y la de Valencia ha generado las hipótesis nutricionales, como el efecto de nutrientes antioxidantes en el desarrollo de la preeclampsia y retardo del crecimiento intrauterino, el efecto de los ácidos grasos esenciales en el desarrollo fetal e infantil, y la interacción entre contaminantes y nutrientes. Durante el primer año de la constitución de la Red INMA se realizó un esfuerzo conjunto para el desarrollo de un protocolo de estudio que integrara la experiencia de las cohortes ya existentes con el planteamiento de nuevas hipó-

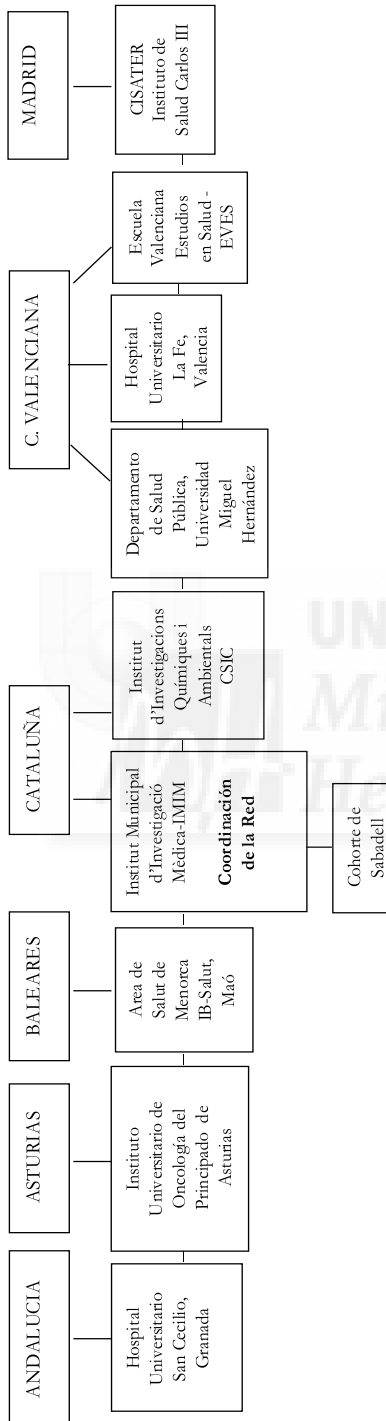
tesis y métodos de medición, lo cual permite una evaluación más exhaustiva e integral de diferentes exposiciones ambientales sobre el desarrollo fetal e infantil. Este protocolo se está actualmente implementando en las cohortes constituidas *de novo* (Asturias, Sabadell y Valencia) y dirigiendo el seguimiento y la explotación de los biobancos y bases de datos de las cohortes ya existentes (Granada, Menorca y Ribera d'Ebre).

La descripción pormenorizada de las áreas de investigación desarrolladas dentro de la Red INMA ya ha sido descrita<sup>6</sup>. El objetivo de este artículo es presentar las características generales de la red y describir la situación actual de cada una de las cohortes implicadas.

### Estado actual del tema

La exposición pre y posnatal a contaminantes ambientales tiene efectos reproductivos tanto al nacimiento (retardo de crecimiento intrauterino, prematuridad, alteraciones del desarrollo neurológico) como sobre la salud en etapas posteriores de la vida, incluyendo morbilidad en la edad adulta por cáncer, asma y alergia, enfermedades cardiovasculares, alteraciones cognitivas, etc. De la misma forma la dieta y la nutrición durante la etapa fetal y primera infancia es

Figura 2  
Grupos por Comunidades Autónomas





**Tabla 1**  
Cohortes en INMA

Población	Años de inclusión	Número		
		previsto de niños	4 años	6 años
Ribera d'Ebre	1997/99	100	2001/03	2003-2005
Menorca	1997/98	500	2001/02	2004
Granada	2001/02	700	2005/06	-
Valencia	2003/05	1.000	2007/2009	-
Sabadell	2004/05	800	2008/2009	-
Asturias	2004/05	500	2008/2009	-
<b>Total</b>		<b>3.600</b>		

fundamental para el correcto desarrollo infantil así como para la salud posterior. Es lo que se conoce como el origen fetal de las enfermedades<sup>7,8</sup>.

La exposición a contaminantes ambientales a través del aire, suelo, agua y alimentos es universal. Los niños son especialmente vulnerables ya que sus mecanismos de desintoxicación no están completamente desarrollados y sus órganos están en formación. Además están más expuestos que los adultos, un niño menor de 5 años consume de tres a cuatro veces más comida y bebe más agua y zumos que un adulto por unidad de peso corporal. Se ha estimado que el 50% de la exposición a pesticidas a lo largo de la vida tiene lugar en los primeros 5 años<sup>9</sup>. Por otro lado poco se conoce sobre la susceptibilidad individual a ciertos químicos, lo que hace necesario estudios que integren la interacción gen-ambiente.

Los compuestos orgánicos persistentes (COPs), incluyendo los compuestos organoclorados y algunos metales (plomo, metilmercurio), se ingieren principalmente por el consumo de alimentos grasos como el pescado y la carne. Los COPs se han relacionado con retardo de crecimiento intrauterino, pre-

maturidad, con el ritmo de crecimiento posnatal y con alteraciones menores del desarrollo neuroconductual<sup>10-12</sup>. Algunas de estas sustancias químicas son capaces de alterar la homeostasis hormonal, por lo que se les conoce como disruptores endocrinos (DE). El desequilibrio hormonal provocado por los DE tanto en las fases de desarrollo embrionario y fetal como en la primera infancia podría contribuir a la etiopatogenia de trastornos funcionales y orgánicos identificados como factores de riesgo para enfermedades de aparición tardía. La asociación entre alteraciones de la maduración genital masculina (criptorquidia e hipospadias) con alteraciones de la función testicular (calidad del semen) y cáncer de testículo o de menarquia precoz con cáncer de mama son un buen ejemplo de la hipótesis de exposición temprana con consecuencias posteriores<sup>13-15</sup>. La contaminación atmosférica (partículas y gases) se ha asociado con un incremento de la mortalidad infantil y con problemas de salud como asma y alergia<sup>16</sup>. Sobre su asociación con trastornos reproductivos existe menor evidencia científica<sup>17</sup>. Los productos de desinfección del agua de bebida, trihalometanos, también se han relacionado con malformaciones congénitas y retardo de crecimiento intrauterino<sup>18</sup>.

Existe cada vez una mayor evidencia sobre la influencia de la dieta durante el embarazo y los primeros meses de vida en el desarrollo fetal e infantil y la salud posterior del niño. Nutrientes como los ácidos grasos esenciales, los folatos y las sustancias antioxidantes se han implicado en el crecimiento intrauterino<sup>19</sup>, el desarrollo del síndrome clínico de la preeclampsia<sup>20</sup> y en patologías infantiles como el asma<sup>21,22</sup> y trastornos menores del desarrollo neuroconductual<sup>23</sup>. Hay estudios que relacionan la ingesta de pescado (rico en el ácido graso esencial omega 3) durante el embarazo y el desarrollo neuroconductual posterior<sup>24,25</sup>. Por otra parte el pescado es la principal fuente de organoclorados y de metil-mercurio, lo que ha dado lugar a recomendaciones dietéticas para evitar la toxicidad en grupos vulnerables, como las mujeres embarazadas y los niños, dificultando el mensaje de salud pública a la población a la que va destinada, ya que se aconseja el consumo de pescado pero evitando ciertas especies<sup>26,27</sup>. Es importante pues evaluar cómo interaccionan los nutrientes en los mecanismos tóxicos de los contaminantes.

Caracterizar las vías de exposición y los niveles individuales a los contaminantes ambientales más habituales con efectos sobre la salud permitirá caracterizar y monitorizar los niveles en población general en diversas zonas geográficas. El estudio conjunto de la predisposición genética, la exposición ambiental y la nutrición, junto con el contexto social, familiar y los estilos de vida, permitirá identificar factores protectores y de riesgo de la salud y la enfermedad y desarrollar medidas preventivas adecuadas.

### Objetivos generales

1. Compartir metodologías y conocimientos entre los diferentes grupos que estudian los efectos del medio ambiente y la dieta en la salud infantil.
2. Describir el nivel de contaminación individual y la carga de exposición durante la gestación y la primera infancia.
3. Describir los patrones alimentarios y la ingesta individual de nutrientes durante la gestación y la primera infancia.
4. Evaluar los efectos de la exposición pre y postnatal a contaminantes y nutrientes en el desarrollo fetal e infantil.
5. Evaluar las interacciones entre factores genéticos, nutricionales y tóxicos en el desarrollo fetal e infantil.

### PROTOCOLO DEL ESTUDIO

#### Diseño

Estudio prospectivo de cohortes, de base poblacional para relacionar los efectos de la exposición durante la gestación y la primera infancia en el desarrollo y la salud desde la etapa fetal hasta la adolescencia y edad adulta.

Las características generales de las cohortes son:

- (1) Muestra representativa de mujeres embarazadas en un área geográfica definida.
- (2) Recogida de datos mediante cuestionarios, biomarcadores de muestras biológicas y muestras ambientales para medir la exposición.
- (3) El estudio es observacional con la mínima intervención posible sobre el normal seguimiento de las mujeres embarazadas y sus recién nacidos.
- (4) Toda la información es confidencial, no pudiendo relacionarse los datos de identificación personal con los datos obtenidos mediante los cuestionarios.

## Sujetos de estudio

En las cohortes INMA creadas *de novo* (Asturias, Sabadell y Valencia) la población de estudio está constituida por una muestra consecutiva de mujeres embarazadas de la población general que residen en las áreas de estudio y que cumplen los siguientes criterios de inclusión: (1) Tener al menos 16 años cumplidos; (2) Estar en la semana 10-13 de gestación; (3) Embarazo no gemelar; (4) Intención de continuar el seguimiento y dar a luz en los centros de referencia correspondientes; (5) No tener ningún impedimento para la comunicación y (6) No padecer enfermedad crónica previa al embarazo. En las cohortes existentes la captación se realizó bien durante el embarazo (Menorca), o durante el ingreso por parto (Granada y Ribera d'Ebre).

A todas las mujeres elegibles se les da información verbal y escrita sobre el proyecto, y son incluidas después de haber firmado un consentimiento informado. Después del nacimiento se presenta y firma, en su caso, el consentimiento informado para el seguimiento del niño.

## Seguimiento

En las cohortes *de novo* el seguimiento empieza en el primer trimestre de la gestación, realizándose mediciones repetidas en el segundo y tercer trimestre, en el recién nacido y en el niño al año, a los 4 y a los 6 años. En las cohortes ya existentes se está realizando el seguimiento desde el nacimiento hasta los 6 años de vida del niño.

## Principales exposiciones y efectos estudiados

Se describen a continuación las exposiciones y efectos que se están estudiando de forma íntegra en las cohortes iniciadas *de novo* dentro de la Red INMA.

## Exposiciones:

- Compuestos orgánicos persistentes (COPs): compuestos organoclorados, policromados, polibromados, ftalatos, fenoles y polifenoles.
- Metales pesados: plomo, arsénico y metilmercurio.
- Contaminantes ambientales en aire: partículas en suspensión, y su composición incluyendo los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), compuestos orgánicos volátiles (COVs), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), ozono y la exposición pasiva al humo del tabaco.
- Contaminantes en agua: productos de desinfección como los trihalometanos, nitratos.
- Disruptores endocrinos mediante marcadores de carga hormonal total.
- Dieta y nutrientes como sustancias antioxidantes, folatos y ácidos grasos esenciales. Marcadores de estrés oxidativo y capacidad antioxidante total.
- Determinantes genéticos.
- Determinantes sociales: incluyen la educación y la situación laboral de los padres y la psicoafectividad padre-niño.

## Efectos:

- Reproductivos: retardo de crecimiento intrauterino, prematuridad y pre-eclampsia.
- Función tiroidea del recién nacido y del niño.
- Desarrollo neuroconductual.
- Crecimiento posnatal.

- Desarrollo sexual.
- Asma y atopia infantil.

### Recogida de datos

Los datos recogidos provienen de varias fuentes (en la tabla 2 se muestra la medición de la exposición y del efecto según el instrumento y el momento temporal de la medición):

**Cuestionarios:** semiestructurados y administrados mediante entrevista por personal entrenado. En las cohortes *de novo* se realizan en dos momentos de la gestación: en el primer trimestre (cuestionario general y cuestionario de frecuencia alimentaria (CFA) nº 1) y en el tercer trimestre (cuestionario ambiental y de estilo de vida, laboral y CFA nº 2). Se realizan asimismo cuestionarios específicos al año y 4 años de la vida del niño (tabla 2) sobre dieta, exposiciones ambientales, síntomas respiratorios y de alergia, y desarrollo neuroconductual y psicoafectivo).

**Muestras biológicas:** biomarcadores para la medición de contaminantes y nutrientes. Constitución de un banco de sangre (de la madre y del niño en sangre de cordón) para el posterior estudio de determinantes genéticos.

Mediciones a realizar según la muestra biológica:

- Sangre (suero o plasma) de la madre semana 10-13: COPs, nutrientes.
- Orina de la madre semana 10-13 y 28-32: hidroxipireno (metabolito marcador de los HAP) y marcadores de estrés oxidativo (F2 isoprostanos).
- Uña de la madre semana 10-13: arsénico.
- Placenta: disruptores endocrinos mediante carga estrogénica.

- Sangre de cordón: COPs, ácidos grasos esenciales.
- Pelo del niño: metil-mercurio.
- Sangre (suero o plasma) del niño a los 4 años: COPs, nutrientes, hormonas tiroideas, IgE específicas.
- Orina del niño a los 4 años: hidroxipireno.

### Mediciones ambientales:

#### *Aire*

- Aire en ambiente exterior.
- Datos de las Redes de Vigilancia de la Calidad del Aire: partículas, NO<sub>2</sub>, dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO), ozono.
- Niveles de partículas y su composición (incluyendo HAP), mediciones 'ad hoc' utilizando captadores propios.
- Niveles de COVs, NO<sub>2</sub> y ozono mediante el uso de captadores pasivos que se sitúan en los puntos de un enrejado espacial.

#### *Aire interior:*

- Niveles de COVs y NO<sub>2</sub> (en una submuestra de las casas).
- Niveles de alergenos en polvo (en una submuestra de las casas).
- Niveles de exposición personal a COVs en una submuestra de las mujeres.

#### *Agua*

- Datos de los sistemas de Vigilancia de Calidad del Agua (nitratos).
- Niveles de trihalometanos en una muestra de las casas según número y

**Tabla 2**  
Medición de la exposición y del efecto según el instrumento y el momento temporal de la medición

	Período Prenatal			Período Postnatal		
	12 semanas	20 semanas	32 semanas	Nacimiento	1 año	4 años
<b>Marcadores biológicos</b>	Sangre Uña Orina		Orina	Sangre de cordón Placenta <sup>1</sup> Pelo Meconio <sup>1</sup> Leche materna <sup>1</sup>		Sangre Orina Uña Pelo
<b>Cuestionarios</b>	Cuestionario General (factores sociodemográficos, obstétricos, clínicos, estilos de vida) Cuestionario de frecuencia alimentaria		Cuestionario general Cuestionario de frecuencia alimentaria Exposiciones químicas y estilos de vida Cuestionario laboral		Dieta Síntomas respiratorios y de alergia Exposiciones químicas y estilos de vida Cuestionario de Psicoafectividad	Dieta Síntomas respiratorios y de alergia Exposiciones químicas y estilos de vida Competencia social Hiperactividad
<b>Exploraciones</b>	Ecografía	Ecografía	Ecografía	Antropometría Desarrollo sexual Neurodesarrollo	Antropometría Desarrollo sexual Neurodesarrollo	Antropometría Desarrollo sexual Neurodesarrollo
<b>Mediciones ambientales</b>	Aire (exterior) Agua de la red		Aire (exterior, interior, <sup>1</sup> personal <sup>1</sup> ) Agua de la red		Aire (exterior, interior) Agua de la red	

<sup>1</sup> En una submuestra

Tabla 3  
Mediciones ambientales en las cohortes<sup>1</sup>

	Menorca	Granada	Valencia	Sabadell	Asturias
<b>Aire</b>					
• <i>Interior</i>					
Momento de la medición	Primer trimestre de vida del niño	En una submuestra de la población	Semana 32 de la gestación	Semana 32 de la gestación	Semana 32 de la gestación
Contaminantes	NO <sub>2</sub> , polvo para determinación alérgenos	NO <sub>2</sub> , COVs,	NO <sub>2</sub> , COVs,	NO <sub>2</sub> , COVs,	NO <sub>2</sub> , COVs,
n° de casas <sup>2</sup>	480		80-90	40	40
• <i>Exterior</i>					
Campañas					
Contaminantes y n° de puntos <sup>2</sup>		1	5 (1 por trimestre)	1	1
		NO <sub>2</sub> , COVs, Enrejado: 78 puntos	NO <sub>2</sub> , COVs, O <sub>3</sub> (solo verano) Enrejado 93 puntos	NO <sub>2</sub> , COVs, Enrejado: 30-40 puntos	NO <sub>2</sub> , COVs, Enrejado: 40-50 puntos
			PM <sub>10</sub> , 4 puntos PM <sub>2.5</sub> , HAP: 6 puntos		
<b>Agua</b>		2	3	2	2
Campañas					
Contaminantes n° de puntos <sup>2</sup>		Trihalometanos 20-30	Trihalometanos 80-90	Trihalometanos 30-40	Trihalometanos 40-50

características de los abastecimientos de agua de bebida.

Los datos de las mediciones ambientales de aire y agua servirán para construir Sistemas de Información Geográfica (GIS) de asignación espacial de niveles de contaminantes. En la tabla 3 se indican las mediciones ambientales ya realizadas y las previstas en las cohortes donde ya se ha comenzado la medición de la exposición ambiental.

**Revisión de historias clínicas y registros sanitarios:** los datos del parto y de las complicaciones durante el embarazo y el período neonatal se recogen de las historias clínicas del hospital de referencia y de las cartillas de embarazo. Se registran así mismo los resultados del cribado neonatal de hipotiroidismo.

**Medidas ecográficas seriadas:** el crecimiento intrauterino se evalúa mediante los parámetros biométricos (diámetro biparietal, circunferencia cefálica, circunferencia abdominal, longitud de fémur) medidos en las ecografías que de forma rutinaria se realizan a la 12, 20, 32 y 38 semanas de gestación como parte del programa de cuidados prenatales. Los ecografistas implicados en el estudio realizan previamente al inicio de la recogida de datos una fase de consenso y entrenamiento en los criterios de medición ecográfica utilizados. En la cohorte de Valencia se ha llevado a cabo un estudio de repetibilidad de las mediciones correspondientes a la semana 12 de gestación, obteniéndose una buena concordancia tanto intra como interobservador.

**Evaluación neuroconductual:** Escala de Dubowitz en el recién nacido, escala de Bayley al año de vida, y escala de McCarthy, cuestionario de Hiperactividad y de Competencia Social a los 4 años.

## LAS COHORTES

Las tres cohortes incluidas en la Red INMA que ya se habían iniciado con anterior-

idad a la constitución de la Red (Ribera d'Ebre, Menorca y Granada) estaban orientadas originariamente a áreas específicas dentro del estudio de la toxicología del desarrollo, en concreto al asma (Menorca), al desarrollo neuroconductual (Ribera de l'Ebre), y la disrupción endocrina (Granada). La inclusión de estas cohortes en la Red ha permitido ampliar sus objetivos para adaptarse, en la medida de lo posible, al protocolo general desarrollado dentro de la Red INMA en el primer año de su constitución, protocolo que sirve de base a las tres cohortes desarrolladas *de novo* (Asturias, Sabadell y Valencia). En esta sección se describe brevemente las características y situación actual de cada una de las cohortes implicadas en la Red INMA.

### a) Cohortes INMA ya existentes

#### *Cohorte de Ribera del Ebre*

Con el objetivo de medir la transferencia transplacentaria y mediante la lactancia del hexaclorobenceno (HCB) y los efectos sobre el desarrollo neuroconductual, se construyó una cohorte con todos los recién nacidos del pueblo de Flix y de 5 pueblos colindantes, entre marzo de 1997 y diciembre del 1999. Este estudio se justificaba por los altos niveles encontrados en dichas poblaciones y la falta de estudios específicos del HCB en recién nacidos. Se incorporaron 94 de los 118 nacimientos de toda el área pero se dispuso de la información de embarazo, parto y sangre de cordón umbilical de otros 8 niños (en total 102). En el momento de nacer los niños ya presentaron niveles detectables de HCB; p,p'DDE y PCBs en suero de cordón. La correlación entre los niveles en sangre materna en el momento del parto y sangre de cordón fue del 0,88. Todo ello sugirió que existía un paso de HCB, PCBs y otros organoclorados a través de la barrera placentaria. A las 8 semanas de vida dichos niveles incrementaron en función de si el niño había tenido o no lactancia materna. De todas formas, a pesar de que los niños con lactancia mater-



na presentaron una exposición mucho mayor sus puntuaciones en los tests de Griffiths y Bayley (que miden el desarrollo mental y psicomotor) fueron superiores a las de los niños que hicieron lactancia artificial.

### *Cohorte de Menorca*

La cohorte de Menorca se inició en el año 1997 como parte del proyecto europeo AMICS sobre factores de riesgo de asma en la infancia, en el que también participan otras cohortes de Ashford (Reino Unido), Barcelona y Munich (Alemania). Globalmente la cohorte AMICS recoge unos 2.000 niños, cubriendo un amplio espectro de exposiciones.

La cohorte se ha constituido tomando como referencia la población general de la isla que a principios de 1998 era de 69.070 habitantes. Las actividades económicas principales son en el sector del turismo, la industria del calzado y bisutería y la agricultura-ganadería.

La población de estudio son las mujeres embarazadas de la isla que durante el periodo de estudio acudieron a control prenatal tanto en la sanidad pública como en la privada y cumplían los criterios de inclusión. Entre septiembre de 1997 y diciembre de 1998 se incluyeron en Menorca un total de 492 niños recién nacidos, de los cuales ya se habían recogido datos a sus madres durante el embarazo. De ellos 470 (95,5%) mantenían el seguimiento a los 4 años. El seguimiento a los 6 años finalizará en el primer trimestre del 2005. Los datos recogidos incluyen: cuestionarios durante el embarazo y anualmente después del parto referidos a exposiciones, incluyendo tabaquismo pasivo, y a síntomas respiratorios y de alergia; recogida de muestras de polvo (para estudio de alérgenos) y aire (para cuantificación de los niveles de NO<sub>2</sub>) en el domicilio; recogida de muestras biológicas y constitución de un banco de muestras biológicas (sangre de la

madre y el padre, sangre de cordón y sangre a los 4 años); y pruebas complementarias a los 6 años y medio (*peak flow* y *prick test*).

Dado el gran número de datos recogidos, incluyendo las muestras de sangre de cordón congeladas, una vez constituida la cohorte y seguida hasta los tres años se ampliaron los objetivos iniciales del estudio para medir el impacto de la exposición a contaminantes ambientales, especialmente organoclorados y metales, en el desarrollo neuroconductual de los niños a los cuatro años utilizando el mismo protocolo de la cohorte de Flix. El desarrollo neuroconductual a los 4 años fue medido mediante el test de McCarthy aplicado por psicólogos específicamente entrenados. También se utilizó la Escala California de Competencia Social, cuya evaluación realizó el profesor de cada uno de los niños participantes y un cuestionario sobre atención y conducta (Criterios para el diagnóstico del trastorno de déficit de atención con hiperactividad según el DSM-IV) que contestaron paralelamente profesores y madres.

### *Cohorte de Granada*

En octubre del 2000 comenzó en el Hospital Universitario San Cecilio de Granada la formación de una cohorte de mujeres embarazadas con objeto de estudiar la prevalencia de malformaciones del tracto génito-urinario masculino de los recién nacidos. Con este motivo se han seleccionado cerca de 700 mujeres que dieron a luz hijos varones entre los que se detectaron 50 casos de criptorquidia y/o hipospadias. Esta cohorte de recién nacidos varones ha anidado un estudio de casos y controles, que definitivamente incluyó los 50 casos detectados con malformación del tracto genitourinario y 125 controles apareados. El apareamiento se estableció siguiendo los criterios de paridad, semana de gestación y fecha de nacimiento. El objetivo fundamental de este estudio es evaluar la asociación entre la exposición crónica de la madre a disruptores endocrinos y la frecuen-



cia de malformación urogenital en su descendencia, estimando la fuerza de la asociación con diversos indicadores de exposición categorizados en los siguientes grupos: a) exposición profesional, b) exposición a través de aire, agua y alimentos, c) exposición cosmética y farmacológica.

En la cohorte de 700 recién nacidos, integrada dentro de la Red INMA, en los que el estudio de la exposición materno-infantil ocupa un lugar primordial, se entronca en la exposición embrionaria, fetal y primera infancia y se continúa en el estudio del entorno común de madre e hijo. Los efectos sobre el desarrollo del niño están siendo evaluados tanto en el aspecto funcional, como orgánico y psicoafectivo.

En lo que respecta a la medida de la exposición se ha pretendido hacer un acercamiento global a la estimación de exposición en la que los factores ambientales estudiados van desde el análisis de contaminantes atmosféricos locales, domiciliarios y personales, a la exposición alimentaria, el agua de bebida y el análisis de contaminantes químicos. El análisis biológico con marcadores tipo carga hormonal total (efecto hormonal del conjunto de los contaminantes bioacumulados en las muestras biológicas) se sitúa en el centro de la aproximación conceptual a exposición. La identificación dirigida de los compuestos químicos responsables de las actividades hormonales identificadas siguen en orden de actuación a la primera aproximación, pero ésta se ve siempre limitada por la presunción *a priori* de su presencia medioambiental. Por esta razón pesticidas organoclorados y bifenilos policlorados ocupan un lugar destacado dada su presencia medioambiental reconocida. Además, otros compuestos químicos entre los que se encuentran componentes y aditivos de plásticos, monómeros de resinas sintéticas, detergentes, retardadores de la llama o compuestos resistentes al calor, se encuentran entre los candidatos identificados para contribuir a la exposición hormonal ambiental.

Siguiendo el protocolo propuesto por los investigadores de la Red INMA para la cohorte de Granada, la evaluación de la contaminación atmosférica se está realizando mediante las siguientes mediciones:

1. Contaminación Atmosférica Exterior:
  - i) mediante la medida con captadores pasivos móviles, de los niveles de NO<sub>2</sub>, COVs y O<sub>3</sub> colocados en 52 pueblos de la provincia de Granada y 26 puntos de Granada capital (seleccionados de las direcciones habituales de las madres incluidas en el estudio) y colocados durante una semana en dos campañas anuales; ii) mediante la medida de los niveles medios diarios y promedio mensual de contaminantes atmosféricos exteriores (partículas, CO, SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>) obtenidos en las tres estaciones de la Red de Vigilancia y Control de la Calidad del Aire ubicados en la capital Granadina.
2. Contaminación Atmosférica Interior:
  - i) mediante la medida de los niveles de contaminación para NO<sub>2</sub> y COVs en el interior de las viviendas en una submuestra de la cohorte y ii) mediante cuestionario administrado por entrevista personal, las variables relevantes en cuanto a exposición en el interior de la casa: humedad, calefacción, cocina, ventilación, número de personas habitantes, número de fumadores, lugares que el niño habita, etc.

## b) Cohortes INMA *de novo*

### *Cohorte de Valencia*

Es una cohorte *de novo* que se inicia en el año 2003. La zona de estudio la constituye el Área de Salud 5 (34 municipios) más una zona de salud del Área 6 (ciudad de Valencia) de la provincia de Valencia, con una población total de 288.580 habitantes y con representación urbana, semiurbana y rural.

La actividad económica de la zona está constituida por los sectores de servicios, industria, construcción y agricultura (regadío y secano). Está prevista la inclusión y seguimiento de 1.000 mujeres embarazadas seleccionadas a partir de la población general del área de estudio desde el primer trimestre del embarazo hasta el parto, y a sus hijos desde el nacimiento hasta el final del cuarto año de vida. Las mujeres son seleccionadas por muestreo consecutivo de entre todas las del área de estudio que acuden al cribado poblacional del síndrome de Down que se realiza entre las semanas 10-13 de gestación en el hospital la Fe, de referencia para el área, y que cumplen los criterios de inclusión. El 65% de la embarazadas del área de estudio realizan el seguimiento de su embarazo en el hospital. Todas las mujeres elegibles son identificadas por el personal del equipo, y una vez verificados los criterios de inclusión se realiza la proposición de participar y la inclusión después de la obtención del consentimiento informado. El seguimiento se realiza en el hospital la Fe donde las mujeres embarazadas de la zona realizan un mínimo de tres visitas para control obstétrico y ecográfico en las semanas 10-13, 20 y 28-32 de gestación y también para dar a luz. El seguimiento del niño se realiza en el hospital por pediatras del proyecto, con exploraciones y visitas de seguimiento al nacimiento, al año y a los 4 años (tabla 2).

Estado de la cohorte: se inició el reclutamiento con un estudio piloto en octubre de 2003 para poner a prueba el circuito. Tras las modificaciones pertinentes del protocolo del proyecto se inició el reclutamiento en febrero de 2004. En diciembre de 2004 había un total de 604 mujeres incluidas, 225 partos y 8 pérdidas de seguimiento (abandonos más pérdidas de seguimiento antes del parto).

La evaluación de la exposición a la contaminación atmosférica se realiza siguiendo el protocolo expuesto para la cohorte de Granada. Además en el estudio de Valencia durante la etapa prenatal se lleva a cabo un

estudio específico que incluye mediciones durante un mes de cada trimestre de reclutamiento de mujeres embarazadas. En cada mes de muestreo (campana) se miden: a) los niveles de partículas y su composición (incluyendo HAP, metales, aniones y carbón orgánico) en 4 puntos representativos del área a estudio; b) los niveles ambientales de NO<sub>2</sub>, COVs y ozono (este último sólo en verano); c) los niveles, dentro y fuera de una submuestra de casas de NO<sub>2</sub>, COVs; y d) los niveles de exposición personal de las mujeres de la misma submuestra.

En cuanto a las mediciones de trihalometanos en el agua se ha llevado a cabo un estudio piloto en 20 puntos del área y están previstas dos campañas de toma de muestras durante el año 2005.

#### Cohorte de Sabadell

Es una cohorte *de novo* que se inicia en el año 2004. Sabadell es una ciudad media de unos 187.000 habitantes, industrial, sobre todo en el sector textil y de la metalurgia, que ha modernizado su economía con los servicios, sin exposiciones específicas, representando un ambiente promedio de los ciudadanos del sur de Europa, lo que ofrece una buena oportunidad para crear una cohorte de individuos desde su gestación.

Está prevista la inclusión y seguimiento de 500 mujeres embarazadas de la población general de Sabadell desde el primer trimestre hasta el parto y de sus hijos desde el nacimiento hasta el final del primer año de vida.

Los sujetos de estudio son mujeres embarazadas de la población general que residen en Sabadell y acuden a control prenatal al Centro de Atención Primaria (CAP) de Sant Félix, con intención de dar a luz en el hospital de referencia de la ciudad (Hospital de Sabadell, Corporación Sanitaria Parc Taulí) y cumplan los criterios de inclusión. El reclutamiento se realiza por enfermeras de

INMA en el Centro de Atención Primaria de Salud de Sant Félix, que centraliza los controles ecográficos del primer y tercer trimestre de todas las embarazadas de Sabadell. Estas mujeres han recibido previamente información del estudio por parte de sus comadronas en sus ambulatorios de referencia. La ecografía del segundo trimestre se realiza en el Hospital de Sabadell. El 82% de las embarazadas de esta ciudad realizan el seguimiento de su embarazo en estos dos centros.

Todo el seguimiento se llevará a cabo en el Hospital de Sabadell y en el CAP Sant Félix, donde se realizará una visita por trimestre, el parto en el hospital y el seguimiento del niño en ambos centros, realizándose las mediciones referidas en el protocolo descrito (tabla 2).

Estado de la cohorte: se inició el reclutamiento de mujeres embarazadas en julio del 2004 a modo de estudio piloto para poner a prueba todo el circuito. A noviembre de 2004, se habían incluido en el estudio 155 mujeres embarazadas, con un ritmo de inclusión de 1,7 mujeres/día. El 59% han realizado ya la ecografía del segundo trimestre.

#### *Cohorte de Asturias*

Es una cohorte que se inicia en el 2004. El área de estudio es la de Avilés, donde se producen unos mil partos al año y la contaminación medio ambiental es importante. Se trata del área sanitaria III con una población de 165.201 habitantes, que tiene como hospital de referencia el Hospital San Agustín de Avilés. La actividad económica se basa en la industria, principalmente la metalúrgica y de fundición, y en menor proporción en la industria química, alimentaria y de productos plásticos. Está prevista la inclusión y seguimiento de 500 mujeres embarazadas de la población general del área III desde el primer trimestre hasta el parto y de sus hijos desde el

nacimiento hasta el final del primer año de vida. Se realizará una selección consecutiva de las mujeres embarazadas que acudan a su primera visita de control prenatal al servicio de obstetricia del Hospital San Agustín o del centro de salud de las Vegas, Avilés y cumplan los criterios de inclusión. Todas las embarazadas que acuden a su primera visita prenatal en los citados centros son orientadas al equipo investigador INMA donde se realiza la proposición de participar. El 80 % de las embarazadas del área realizan su seguimiento en estos centros. Todo el seguimiento del embarazo y parto de la cohorte se realizará en el Hospital San Agustín de Avilés.

Estado de la cohorte: se inicia la selección de mujeres embarazadas en septiembre de 2004, después de realizar el estudio piloto previo para testar y comprobar el funcionamiento del circuito. A fecha de diciembre de 2004 se habían identificado 122 mujeres embarazadas en la consulta de la matrona y de obstetricia como posibles candidatas para participar en el estudio, de las cuales un total de 52 se han incluido en la cohorte. De las restantes, 22 están pendientes de cita para ser informadas sobre INMA, 16 no son elegibles por varias razones (2 no pertenecer al área III, 1 embarazo gemelar, 3 abortos, 10 pasan de la semana 12 antes de poder hablar con ella) y 32 mujeres no aceptan participar.

#### PRESENTE DE LA RED Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La Red INMA la forman grupos de investigadores españoles que provienen del campo de la epidemiología, la toxicología, la investigación básica y la clínica. El interés por el estudio de los riesgos ambientales y la dieta sobre la salud, en especial su posible influencia en etapas tempranas de la vida, y las posibilidades que su conocimiento puede aportar al desarrollo de medidas preventivas adecuadas es el elemento fundamental de funcionamiento de la Red. La mayor parte de los grupos habían colaborado anteriormente en

otros proyectos. En la actualidad se está en proceso de incorporación de tres nuevos grupos que trabajan, respectivamente, en: investigación genética y salud, investigación sobre el metabolismo y significado clínico de los ácidos grasos, y evaluación de biomarcadores de exposición, susceptibilidad y efecto en la etapa perinatal y en la infancia.

Los primeros resultados de la Red INMA permitirán una aproximación al conocimiento de la situación en cuanto a niveles de exposición individual y ambiental a compuestos tóxicos de los que se conoce muy poco en nuestro país<sup>28</sup>. La recogida y almacenamiento de muestras biológicas va a permitir la creación de un banco de muestras para la biomonitorización en diversas áreas geográficas. Dicho banco de muestras posibilitará determinaciones complementarias y la comprobación de nuevas hipótesis en el futuro.

A lo anterior se une la proyección internacional de la Red INMA. Desde su creación la Red ha participado en foros y grupos de trabajo en el ámbito europeo. Los componentes del grupo del Instituto Carlos III participan activamente en el diseño de Planes Nacionales de Salud Ambiental en colaboración con la Organización Mundial de la Salud y miembros de la Red colaboran en la estrategia SCALE de la Unión Europea<sup>5</sup>.

Como un valor fundamental en la Red INMA se considera una responsabilidad de los investigadores la adecuada comunicación de resultados del estudio. Por ello se pretende informar a los participantes voluntarios (mujeres embarazadas, padres de los niños) y a la población general, a través de reuniones, boletines periódicos y la página web de la Red<sup>29</sup>. Asimismo es un compromiso reconocido la publicación de los resultados del estudio en la prensa científica, al tiempo que se proporciona información útil en Medio Ambiente y Salud Infantil a los profesionales de la salud, del medio ambiente y a los políticos y gestores.

A corto plazo la Red centra sus esfuerzos en la elaboración del protocolo del primer año de vida para las cohortes *de novo*, la realización de un plan de publicaciones, la creación de grupos de trabajo estables y el análisis de los datos disponibles, tanto de los resultados de las cohortes preexistentes. A medio plazo, en una perspectiva de 2-3 años, los esfuerzos se dirigirán a la elaboración del protocolo de los 4 años para las cohortes *de novo*, a desarrollar estudios de neurofisiología en las cohortes preexistentes, al inicio de los análisis descriptivos de las cohortes nuevas y a la incorporación de nuevas cohortes. También se deben estrechar y optimizar las colaboraciones internacionales, tanto desde un punto de vista de participación en grupos de trabajo, como de incorporación a estudios de cohortes de ámbito internacional.

El futuro de la Red es esperanzador, como queremos que sea el de nuestros niños y niñas. Esperamos que el ambiente en el que vivan y los nutrientes de la dieta sean excelentes para ellos y ellas, como esperamos apoyo y recursos para poder seguir avanzando en el estudio de los determinantes medioambientales de la salud infantil y en la promoción de estrategias de intervención apropiadas.

## AGRADECIMIENTOS

A todas las mujeres, a sus parejas y a los niños y niñas que están participando en el estudio INMA, y las matronas, los obstetras y los pediatras por su generosa cooperación.

La Red no se hubiera podido poner en marcha sin el apoyo económico del Instituto de Salud Carlos III (G03/176). El Estudio INMA ha recibido también ayudas de «Fundació La Caixa» para la cohorte de Ribera d'Ebre (97/009-00 and 00/077-00); de la Comisión de la Unión Europea (QLK4-1999-01422) para la cohorte de Granada; del «Fondo de Investigación Sanitaria» (FIS 031615), del Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF 2002-03508), de la Generalitat

Valenciana, Conselleria d'Empresa, Universitat i Ciència (g03/136) para la cohorte de Valencia; del «Fondo de Investigación Sanitaria» (97/0588 y 00/0021-02) y de la Comisión de la Unión Europea (QLK4-2000-00263) para la cohorte de Menorca.

### La Red INMA está formada por:

*Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM). Barcelona:* Jordi Sunyer, Mar Álvarez, Carlos Ferrer, Marcelo Hansen, Jordi Julvez, Raquel García, Manolis Kogevinas, Laura Muñoz, Gemma Perelló, Miquel Porta, Gemma Revuelta, Núria Ribas-Fitó, Vladimir de Semir, Cristina Villanueva; *cohorte Asturias:* Adonina Tardón, Esteban Ezama, Purificación Gil, Patricia González-Arriaga, M<sup>a</sup> Felicitas López-Cima, David Oterino; *cohorte Sabadell:* María Sala, Ramon Espel, Montse Abella, Águeda Rodríguez, Yolanda Canet, Carles Foradada, Pepi Rivera, Carme Figaró, Mònica Domingo, Joan Badia, Silvia Fochs, Belén Farrés, Anna Sánchez, Montse Grau.

*Hospital Universitario La Fe – CS-GV. Valencia:* Alfredo Marco, Josep Ferris, Jose A Ortega, Elena Crehuá, Esther Apolinar, Genma León, Sandra Pérez.

*Escuela Valenciana de Estudios en Salud (EVES) – CS-GV. Valencia:* Ferrán Ballesster, Carmen Iñiguez, Maria Andreu, Ana Esplugues, Francisco García, Marina Lacaña, Alicia Moreno, Santiago Pérez Hoyos, M Paz Rodríguez, Ana M García García.

*Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals - CSIC. Barcelona:* Joan Grimalt, Josep M Bayona, Daniel Carrizo, Sergi Díez, Esther Marco, Paolo Montuori.

*Hospital Universitario San Cecilio – SAS-UGR. Granada:* Nicolás Olea, Cristina Campoy, Marieta Fernández, Margarita Jiménez, M Teresa Salvatierra, Fátima Olea.

*Instituto de Investigación de Enfermedades Raras – ISCIII. Madrid, Spain:* Manuel Posada, Rosalía Fernández-Patier, Ignacio Abaitua, Saul García Dos Santos, M Concepción Martín.

*Departamento de Salud Pública– UMH. Alicante:* Marisa Rebagliato, Laura Asensio, Francisco Bolúmar, Sabrina Llop, Francisco Martín, Amparo Quiles, Joan Quiles, Rosa Ramón, Elena Romero, Jesús Vioque.

*Àrea de Salut de Menorca - IB-Salut. Maó:* Maties Torrent, Maria Victoria Iturriaga Sorarrain.

### BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. The Bangkok Statement: A pledge to promote the protection of Children's Environmental Health. Disponible en: <http://www.who.int/docstore/peh/ceh/Bangkok/bangkokstatement.htm>
2. World Health Organization. Regional Office for Europe. Children's Health and Environment Action Plan for Europe (CEHAPE). Disponible en: [http://www.euro.who.int/eprise/main/WHO/Progs/CHE/Policy/20020724\\_2](http://www.euro.who.int/eprise/main/WHO/Progs/CHE/Policy/20020724_2)
3. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. Disponible en: [http://www.pops.int/documents/convtext/convtext\\_sp.pdf](http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_sp.pdf)
4. Community Research & Development Information System. Food Quality and Safety. Disponible en: <http://www.cordis.lu/food/home.html>
5. European Union. European Environment and Health Strategy. Disponible en: [http://europa.eu.int/comm/environment/health/strat\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/environment/health/strat_en.htm)
6. The INMA Study Group. Environment and Child's Health: The INMA Spanish Study. Paediatr Perinat Epidemiol (en prensa).
7. Barker DJ. The long-term outcome of retarded fetal growth. Schweiz Med Wochenschr 1999; 129:189-96.
8. Kogevinas M, Andersen AM, Olsen J. Collaboration is needed to co-ordinate European birth cohort studies. Int J Epidemiol 2004; 33:1172-3.



9. Weiss B, Amler S, Amler RW. Pesticides. *Pediatrics* 2004; 113(Suppl 4):1030-6.
10. Ribas-Fito N, Sala M, Kogevinas M, Sunyer J. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and neurological development in children: a systematic review. *J Epidemiol Community Health* 2001; 55:537-46.
11. Torres-Arreola L, Gertrud Berkowitz M, Torres L, Lopez M, Cebrian M, Uribe M et al. Preterm birth in relation to maternal organochlorine serum levels. *Ann Epidemiol* 2003; 13:158-62.
12. Patandin S, Koopman-Esseboom C, de Ridder MA, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on birth size and growth in Dutch children. *Pediatr Res* 1998; 44:538-45.
13. Ibarluzea JJ, Fernández MF, Santa-Marina L, Olea-Serrano MF, Rivas AM, Aurrekoetxea JJ et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004; 15:591-600.
14. Olea N, Fernández MF, Araque P, Olea-Serrano F. [Perspectivas en disrupción endocrina. *Gac Sanit* 2002; 16:250-6.
15. García-Rodríguez J, García-Martín M, Noguera-Ocaña M, de Dios Luna-del-Castillo J, Espigares García M, Olea N et al. Exposure to pesticides and cryptorchidism: geographical evidence of a possible association. *Environ Health Perspect*. 1996; 104:1090-5
16. Rumchev K, Spickett J, Bulsara M, Phillips M, Stick S. Association of domestic exposure to volatile organic compounds with asthma in young children. *Thorax* 2004; 59:746-751.
17. Lacasaña M, Esplugues A, Ballester F. Exposure to ambient air pollution and prenatal and early childhood health effects. *Eur J Epidemiol* 2005; 20:183-99.
18. Wright JM, Schwartz J, Dockery DW. The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environ Health Perspect* 2004; 112(8):920-5.
19. Hornstra G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:126s-129s.
20. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet* 1999; 354(9181):788-9.
21. Hubbard R, Fogarty A. The developing story of antioxidants and asthma. *Thorax* 2004; 59(1):3-4.
22. Romieu I, Sienra-Monge JJ, Ramírez-Aguilar M, Tellez-Rojo MM, Moreno-Macías H, Reyes-Ruiz NI et al. Antioxidant supplementation and lung functions among children with asthma exposed to high levels of air pollutants. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166(5):703-9.
23. Ward PE. Potential diagnostic aids for abnormal fatty acid metabolism in a range of neurodevelopmental disorders. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2000; 63(1-2):65-8.
24. Daniels JL, Longnecker MP, Rowland AS, Golding J. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology* 2004; 15(4):394-402.
25. Williams C, Birch E, Emmett P, Northstone K. Stereoacuity at age 3.5 y in children born full-term is associated with prenatal and postnatal dietary factors: a report from a population-based cohort study 1-3. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:316-22.
26. Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Nota de prensa 18/03/04: La EFSA evalúa el riesgo del mercurio en el pescado y hace recomendaciones a los grupos vulnerables sobre su ingesta. Disponible en: [www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp](http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp).
27. Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Nota de prensa 17/06/04: Nota informativa sobre mercurio y metilmercurio en productos pesqueros. Disponible en: [www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp](http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp).
28. Porta M, Kogevinas M, Zumeta E, Sunyer J, Ribas-Fito N, Ruiz L et al. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española: el rompecabezas sin piezas y la protección de la salud pública. *Gac Sanit* 2002; 16:257-66.
29. Infancia y Medio Ambiente. Disponible en <http://www.infanciaymedioambiente.org/>



---

**ANEXO 4:** Ribas-Fito N, Ramon R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N et al. Child health and the environment: the INMA Spanish Study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006; 20(5):403-410.

---



# Child health and the environment: the INMA Spanish Study

Núria Ribas-Fitó<sup>a</sup>, Rosa Ramón<sup>d</sup>, Ferran Ballester<sup>e</sup>, Joan Grimalt<sup>b</sup>, Alfredo Marco<sup>f</sup>, Nicolás Olea<sup>g</sup>, Manuel Posada<sup>h</sup>, Marisa Rebagliato<sup>d</sup>, Adonina Tardón<sup>i</sup>, Maties Torrent<sup>i</sup>, Jordi Sunyer<sup>a,c</sup> on behalf of the INMA Study Group

<sup>a</sup>Institut Municipal d'Investigació Mèdica, <sup>b</sup>Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals, and <sup>c</sup>Universitat Pompeu Fabra, Barcelona,

<sup>d</sup>Departamento de Salud Pública, Universidad de Alicante, Alicante, <sup>e</sup>Escola Valenciana d'Estudis en Salut-CS-GV and <sup>f</sup>Hospital Universitario La Fe-CS-GV, Valencia, <sup>g</sup>Hospital Universitario San Cecilio – SAS-UGR, Granada, <sup>h</sup>Instituto de Investigación de Enfermedades Raras-ISCIII, Madrid,

<sup>i</sup>Universidad de Oviedo, Oviedo, and <sup>j</sup>Àrea de Salut de Menorca – IB-Salut, Maó, Spain

## Summary

### Correspondence:

Dr Núria Ribas-Fitó,  
Respiratory and  
Environmental Health  
Research Unit, Institut  
Municipal d'Investigació  
Mèdica, C. Dr Aiguader, 80,  
08003 Barcelona, Spain.  
E-mail: nribas@mim.es

Ribas-Fitó N, Ramón R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N, Posada M, Rebagliato M, Tardón A, Torrent M, Sunyer J on behalf of the INMA Study Group. Child health and the environment: the INMA Spanish study. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 2006; **20**: 403–410.

The INMA (Infancia y Medio Ambiente [Environment and Childhood]) is a population-based cohort study in different Spanish cities, that focuses on prenatal environmental exposures and growth, development and health from early fetal life until childhood. The study focuses on five primary areas of research: (1) growth and physical development; (2) behavioural and cognitive development; (3) asthma and allergies; (4) sexual and reproductive development; and (5) environmental exposure pathways. The general aims of the project are: (1) to describe the degree of individual prenatal exposure to environmental pollutants, and the internal dose of chemicals during pregnancy, at birth and during childhood in Spain; (2) to evaluate the impact of the exposure to different contaminants on fetal and infant growth, health and development; (3) to evaluate the role of diet on fetal and infant growth, health and development; and (4) to evaluate the interaction between persistent pollutants, nutrients and genetic determinants on fetal and infant growth, health and development.

Extensive assessments will be carried out on 3100 pregnant women and children. Data will be collected by physical examinations, questionnaires, interviews, ultrasound and biological samples. Pregnant women are being assessed at 12, 20 and 32 weeks of gestation to collect information about environmental exposures and fetal growth. The children will be followed until the age of 4 years.

**Keywords:** longitudinal cohort study, prenatal exposures, pollution, diet, genetics, study design, biological samples, childhood growth, child development, endocrine disruptors.

## General description

The INMA – Infancia y Medio Ambiente (Environment and Childhood) is a network of research groups in Spain that built up a project aiming to study the role of the most important environmental pollutants in air, water and diet during pregnancy and early in life and their effects on child growth and development.

## Scope of research

The INMA project will follow up a population sample of around 3100 pregnant mothers and newborns. New and existing cohorts of pregnant women will be incorporated from eight different Spanish regions (Table 1). The follow-up will continue until at least 2010, and, if resources are available, until 2020.

Genetic factors and nutritional, environmental and psychosocial exposures in the prenatal and postnatal periods will be evaluated. Outcomes will include prenatal and birth health events, growth, neurodevelopment, behavioural functioning, immunity and endocrine disruption. The results of these studies will become available within the next few years, and will help to assess pregnant women and childhood exposure as well as other health determinants in several areas of Spain and its immediate and later impacts on human health.

### **Rationale**

The physical, social and intellectual development of children from conception to the end of adolescence requires an environment that is both protected and protective of their health. A growing number of diseases in children are linked to unsafe environments. Prenatal and early life exposures, including diet, are associated with child health and human development and predispose to late adult effects. Thus, the INMA project is based on three main rationales.

First, exposure to environmental pollutants through air, water and food is worldwide. Children are especially vulnerable to its effects as they are not just little adults, they are still growing, and their immune system and detoxification mechanisms are not fully developed. Children are then more vulnerable than adults to environmental exposures. Persistent pollutants like organochlorine compounds (OC) and some metals have been related to impaired intrauterine growth, prematurity, postnatal growth and neurodevelopment and minor behavioural disorders.<sup>1-5</sup> Air pollutants e.g. particulates have been associated with infant mortality and with child health problems such as asthma and allergies.<sup>6,7</sup>

Less epidemiological evidence exists about fetal damage, especially fetal growth, and there is a need for further evidence.<sup>8</sup> Also, chemical products in the water, namely disinfection by-products, have been associated with reproductive and child health outcomes;<sup>9,10</sup> this warrants further research to establish the validity of the findings and, if so, develop effective preventive strategies. Little is known about the individual susceptibility to certain chemicals, and further studies integrating gene-environment interactions are needed.

Second, there is growing evidence of the importance of nutrition during pregnancy and the first months of

life on fetal and infant growth and development, as well as on lifelong health and well-being. Specifically, intake of essential fatty acids (omega 3, omega 6) during pregnancy and early postnatal life is involved in fetal and infant growth, neurodevelopment and visual function.<sup>11,12</sup> Fish intake and supplementation with fish oil during pregnancy has also been associated with better postnatal neurodevelopment.<sup>13-15</sup> Moreover, low plasma levels of antioxidants and oxidative stress have been involved in pre-eclampsia and intrauterine growth retardation,<sup>16-18</sup> and it has been suggested that antioxidants in children have a protective influence on the risk of asthma.<sup>19,20</sup>

Third, some pollutants and nutrients have the same ingestion route. Fish, the principal source of omega 3, is also carrier of OCs and methyl-mercury. Breast feeding, the sole form of nutrition during the first month of life among breast feeders, carries both nutrients and pollutants. Although the mechanisms of toxicity for OCs are not well understood, the suggested underlying metabolic and hormonal mechanisms in neurotoxicity are also in the pathway of clinical effects due to deficiency of some essential fatty acids.<sup>21,22</sup> It remains to be elucidated whether nutrients can counteract the pollutants' negative effects on health.

To characterise individual exposure levels during pregnancy and childhood, to identify the role of diet and other associated risk factors on reproductive outcomes and child health, and to understand the interactions between multiple factors and susceptibility will contribute to early identification of environmental risks and to the development of protective and preventive strategies.

### **Aims**

The general aims of the project are:

- 1 To describe the degree of individual prenatal exposure to environmental pollutants, and the internal dose of chemicals during pregnancy, at birth and during childhood in Spain;
- 2 To evaluate the impact of the exposures to different contaminants on fetal and infant growth, health and development; and
- 3 To evaluate the role of diet on fetal and infant growth, health and development; and
- 4 To evaluate the interaction between persistent pollutants, nutrients and genetic variants on fetal and infant growth, health and development.

## Design

### Overview

The INMA Study is a prospective population-based cohort study concerned with the effects of pre- and postnatal environmental exposures on growth, development and health from early fetal life until young adulthood.

Investigations are carried out in pregnant women and children. Pregnant women are assessed at 12, 20 and 32 weeks of gestation to collect information about environmental exposures and fetal growth. Children will be assessed at birth, at the age of 1 year and at the age of 4 years.

### Study cohorts (Table 1)

The INMA is based on experience acquired by groups studying the cohorts of Ribera d'Ebre ( $n = 102$ ), which evaluated the relation between organochlorines and methyl-mercury exposure and neurological development, Menorca ( $n = 482$ ), which studied the relation between allergy, development and asthma with air pollution, and Granada ( $n = 668$ ), which studied the incidence of infant reproductive health disorders in relation to potential environmental exposures.

Based on experience from these previous studies, a new research protocol was developed based on the work of different working groups: exposures, effects and design. The new cohorts have been designed to evaluate the impact of environmental exposures and diet on children's health: Valencia ( $n = 1000$ ), Sabadell ( $n = 800$ ), Asturias ( $n = 500$ ), Madrid ( $n = 50$ ) and the Basque Country ( $n = 800$ ).

### Enrolment

Midwives and obstetricians give eligible participants oral information about the study and hand out an information package to the pregnant women in the 12th week. After the visit, all eligible pregnant women who visit the public health centre of each area have an interview with INMA staff to obtain additional information; they are then enrolled in the study. The inclusion criteria of the mothers are: (a) to belong to the study area (specific in each cohort), (b) to be at least 16 years old, (c) to have a singleton pregnancy, (d) to have their first prenatal visit (10–13 weeks of gesta-

Table 1. INMA cohorts

Population	Inclusion year	Target number of infants	4 years
Old cohorts			
Ribera de l'Ebre	1997/99	102	2001/03
Menorca	1997/98	482	2002
Granada	2001/02	668	2005/06
New cohorts			
Valencia	2003/04	1000	2007
Asturias	2004/06	500	2008
Sabadell	2004/06	800	2008
Madrid	2005	50	2009
Basque Country	2005/06	800	2009

tion) in the main public hospital or health centre of the area, (e) to not have followed any programme of assisted reproduction, (f) to wish to deliver in the reference hospital, and (g) to have no communication problems. A characteristic of these areas is that a vast majority of the population attend the public health sector.

### Informed consent

The study has been approved by the Ethical Committee of the Institut Municipal d'Investigacio Medica and by the Ethical Committees of the hospitals involved in the study. Pregnant women receive written and oral information about the study. Participants are asked for their written informed consent twice: once for their participation in the prenatal visits and the other time for the inclusion of their child into the follow-up study.

### Data collection

A list of all assessments planned until the age of 4 years is shown in Tables 2 and 3. More detailed information on the INMA protocols is available upon request.

Information is collected using a variety of sources. Some general considerations about measurement tools are: questionnaires are administered in an interview format by trained interviewers; for biological samples, total blood, plasma and serum samples are divided in small aliquots and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ , urine and placentas are stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until delivery to the specialised laboratories.

**Table 2.** Main exposures and determinants assessed in the new INMA (*n* = 3300)

	Prenatal period			Postnatal period		
	12 weeks	20 weeks	32 weeks	Birth	1 year	4 years
<b>Exposures</b>						
PAHs, ozone, VOCs and NO <sub>2</sub>	Outdoor		Outdoor Indoor (VOCs, NO <sub>2</sub> ) <sup>a</sup> Questionnaire		Questionnaire GIS	Questionnaire GIS
Particulates					Personal	
Hydroxypyrene	Maternal urine					Child urine
Trihalomethanes	Outdoor		Indoor <sup>a</sup> Questionnaire		Questionnaire	Questionnaire
Organochlorines, polybrominated diphenyl ethers, phthalates, phenols	Maternal serum		Questionnaire	Cord serum Meconium <sup>b</sup>		Child serum
Other endocrine disrupters			Questionnaire	Placenta		
Lead				Cord blood		Child blood
Arsenic	Maternal nail					Child nail
Mercury				Newborn hair		Child hair
Maternal occupation			Questionnaire			
<b>Other determinants</b>						
Diet	Questionnaire		Questionnaire		Questionnaire	Questionnaire
Antioxidants	Maternal serum			Maternal milk <sup>c</sup>		Child serum
Folate	Maternal serum					
Oxidative stress markers	Maternal serum Maternal urine		Maternal urine		Child urine	
Fatty acids	Maternal plasma			Maternal milk <sup>c</sup> Cord blood Cord blood		Child plasma
Genetic study	Maternal blood					
Parental psychopathology					Questionnaire	

<sup>a</sup>In subsamples.

<sup>b</sup>Only in the Valencia cohort.

<sup>c</sup>Only in the Sabadell cohort.

GIS, Geographic Information System; PAH, polycyclic aromatic hydrocarbon; VOC, volatile organic compound.

The amount of venous maternal blood to be taken is 20 mL at 12 weeks of gestation, 15 mL from the newborn (cord blood) and 10 mL at the age of 4 years. DNA will be extracted from blood with ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA). A 100 mL urine sample is collected from the mother at 12 weeks' gestation and the child at the age of 4 years. A nail sample is collected from mothers at 12 weeks' gestation and from children at the age of 4 years. Hair samples will be obtained at birth and at the age of 4 years. Placentas will be collected from one out of five women. Breast milk (20 mL) will be taken at the end of the first feeding on the third day after delivery and will be stored at -80°C.

### Assessment of determinants (Table 2)

Air pollution:

- Questionnaire: assessment of the exposures to traffic and environmental tobacco smoke during pregnancy (28–32 weeks) and at the ages of 1 and 4 years through a questionnaire.
- Biological samples: measurement of hydroxypyrene in urine in a subsample of pregnant women (at 10–12 weeks of gestation), and children at the age of 4 years.
- Measurement of the environment: measurement of volatile organic compounds (VOCs), and NO<sub>2</sub> in

©2006 The Authors

Journal Compilation ©2006 Blackwell Publishing Ltd. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 20, 403–410

**Table 3.** Main outcomes to be assessed in the new INMA cohorts (*n* = 3300)

	Prenatal period			Postnatal period		
	12 weeks	20 weeks	32 weeks	Birth	1 year	4 years
Intrauterine growth	Ultrasound	Ultrasound	Ultrasound			
Sexual development				Physical examination	Physical examination	Physical examination
Postnatal growth				Physical examination	Physical examination	Physical examination
Neurodevelopment				Dubowitz test	Bayley scales	McCarthy scales Hyperactivity, social competence
Thyroid hormones	Maternal serum			TSH screening		Child serum
Asthma/atopy	Maternal serum				Questionnaire Physical examination	Child serum Questionnaire

TSH, thyroid stimulating hormone.

outdoor and indoor samples. Measurement of particulates, polycyclic aromatic hydrocarbons, ozone and other pollutants in outdoor samples. Measurement of particulates, VOCs, NO<sub>2</sub> and ozone in air quality registries. Measurement of personal exposure to particulates in children aged 1 year. Prediction of individual exposures through the Geographic Information System.

Water pollution:

- Questionnaires: water consumption during pregnancy and childhood using a questionnaire at 28–32 weeks of gestation and at the ages of 1 and 4 years. Measurement of the environment: trihalomethanes and other disinfection by-products in water of a subsample of residences.

Persistent and semi-persistent pollutants:

- Questionnaires: exposure during pregnancy and childhood using a questionnaire at 28–32 weeks of gestation and at the ages of 1 and 4 years.
- Biological samples: measurement of OCs, polybrominated diphenyl ethers, phthalates and phenols in maternal serum at 12 weeks of gestation, cord serum and child serum at the age of 4 years. Arsenic in maternal and child nails at the age of 4 years. Lead (in child serum) and methyl-mercury (in child hair) at birth and at the age of 4 years. Measurement of different endocrine disrupters with oestrogenic activity in placentas.

Diet determinants:

- Questionnaires: maternal diet assessment by a food frequency questionnaire at two point interviews (10–13 and 28–32 weeks of gestation). Infant and

child diet assessment by a breast-feeding questionnaire at the age of 1 year and a food frequency questionnaire at the age of 4 years.

- Biological samples: measurement of fatty acids, vitamins C and E, and folate in maternal serum, fatty acids in cord blood, vitamins E and C in breast milk, and measurement of fatty acids and vitamins at the age of 4 years.

Other determinants:

- Oxidative stress (as underlying mechanism): measurement of lipid hydroperoxides in maternal serum (12 weeks' gestation) and F2 isoprostanes in urine at 12 and 32 weeks' gestation, and child urine at the age of 1 year.
- Questionnaires: sociodemographic data, relevant data about biological father, medical and obstetric history, family history of allergies, use of drugs and vaccinations during pregnancy, complications of the current pregnancy at 12 and 32 weeks of gestation.
- Genetic determinants: total blood will be stored to measure genetic determinants for the different outcomes in the future.
- Parental psychopathology: mental health of both parents and maternal and paternal attachment to the infant measured using a questionnaire at the age of 1 year.

### Assessment of outcomes (Table 3)

Reproductive outcomes:

- Intrauterine growth measured by fetal biometry assessed longitudinally by ultrasound scans at 12,

20 and 32 weeks' gestation in all women. The measurements will include femur length, head circumference, biparietal diameter and abdominal circumference.

- Anthropometric measures at birth (length, weight, head circumference and abdominal circumference) obtained by clinical examination.
- Preterm delivery and pre-eclampsia: information based on clinical records.

Postnatal growth and sexual development:

- Child growth: height and weight examination at the ages of 1 and 4 years. Clinical records of height and weight every 6 months.
- Sexual development: clinical examination performed by INMA researchers with a standardised protocol at birth, at the age of 1 year and at the age of 4 years.

Neurodevelopment:

- Neurodevelopment: Dubowitz test at birth; mental and psychomotor measurement at the ages of 1 and 4 years with the Bayley Scales of Infant Development and the McCarthy Scales respectively. Measurement of child hyperactivity (based on the DSM-IV) and social competence (California Preschool Social Competence Scales) through a questionnaire administered to the teachers at the age of 4 years.
- Thyroid status: measurement of thyroid stimulating hormone (TSH) at birth, and of free-T4, TSH and total-T3 at the age of 4 years.

Asthma and atopy:

- Measurement of specific IgE in maternal serum during pregnancy to assess maternal atopy.
- Assessment of asthma symptoms through questionnaire.

Atopy: physical dermal examination at the age of 1 year and measurement of total IgE at the age of 4 years.

### **Data quality, control and management**

The INMA field staff such as interviewers, laboratory technicians and project paediatricians have been specifically trained for the project. All measurements have been tested for inter- and intra-reproducibility.

An electronic database has been prepared to monitor the cohort in order to facilitate the follow-up and to minimise the loss to follow-up. Information regarding maternal identification, inclusion number, information required for the follow-up (such as enrolment date,

date of last menstrual period or expected date of delivery), and the calendar for the visits and the sampling procedures is collected by the INMA staff. Some information is also gathered on refusals in order to compare basic sociodemographic characteristics between both groups.

Confidentiality is guaranteed by keeping the monitoring data file separated from the questionnaire information and the biological samples.

### **Communication**

The INMA Study aims to guarantee helpful communication to the participants of the INMA by collective meetings and periodic bulletins, to communicate the results to the general population through the web page and other sources, to guarantee that INMA data are published in the scientific press, and to provide useful information to health professionals, health officers and politicians.

### **Acknowledgements**

We are grateful to all the mothers, their partners and the children who are taking part in the INMA Study, and to the midwives, obstetricians and paediatricians for their co-operation and help in recruitment and following up of the cohorts.

This study could not have been undertaken without the financial support of the 'Instituto de Salud Carlos III' (G03/176) and 'RCESP' (C03/09). This study has also been supported in part by the 'Fundació "La Caixa"' for the Ribera d'Ebre cohort (97/009-00 and 00/077-00), the 'Fondo de Investigación Sanitaria' for the Valencia cohort (FIS 031615), the Menorca cohort (97/0588 and 00/0021-02), Asturias cohort (PI04-2018) and other PI04-1436, PI041509, PI041705, PI041666, PI041931, PI 04/2646, and the European Union Commission (QLK4-1999-01422) and Junta de Andalucía SAS (202/04) for the Granada cohort, and the Menorca cohort (QLK4-2000-00263).

The INMA Study Group are:

BARCELONA: Institut Municipal d'Investigació Mèdica (Jordi Sunyer, Mar Álvarez, Belen Farrés, Carlos Ferrer, Sílvia Fochs, Marcelo Hansen, Jordi Julvez, Raquel Garcia, Manolis Kogevinas, Laura Muñoz, Gemma Perelló, Miquel Porta, Núria Ribas-Fitó, Anna Sánchez, Cristina Villanueva) Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals (Joan O. Grimalt, Josep M Bayona, Daniel Carrizo, Sergi Díez, Esther Marco, Paolo



Montuori) Universitat Pompeu Fabra (Vladimir de Semir, Gemma Revuelta), Universitat de Barcelona (M.Carmen López-Sabater, Ana Isabel Castellote, Susana Morera, Isabel Bondía), Centre de Regulació Genòmica (Rafael de Cid, Xavier Estivill); SABADELL: Ajuntament de Sabadell (Maria Sala), Hospital de Sabadell (Águeda Rodríguez, Yolanda Canet, Carles Foradada, Pepi Rivera, Carme Figaró, Mònica Domingo, Joan Badia, Montse Grau), Atenció Primària-ICS (Ramon Espel, Montse Abella). ASTURIAS: Universidad de Oviedo (Adonina Tardón, Esteban Ezama, Purificación Gil, Patricia González-Arriaga, M<sup>a</sup> Felicitas López-Cima, David Oterino, Antonio Menéndez-Piñón), Hospital San Agustín de Avilés: Concepción Solares, Carlos Pérez, Santiago Pintado, Isabel López Carrascosa, José I Suárez Tomás, María Etelvina Suárez, María Ángeles Sánchez García. VALENCIA: Hospital Universitario La Fe (Alfredo Marco, Josep Ferris, Juan A Ortega, Esther Apolinar, Elena Crehuá, Gemma León), Escola Valenciana d'Estudis en Salut (Ferran Ballester, Carmen Iñiguez, M Paz Rodríguez, Maria Andreu, Ana Esplugues, Francisco García, Sabrina Llop, Marina Lacasaña, Alicia Moreno, Santiago Pérez-Hoyos, Ana M García); ALICANTE: Universidad Miguel Hernández (Marisa Rebagliato, Laura Asensio, Francisco Bolúmar, Francisco Martín, Sandra Pérez, Amparo Quiles, Joan Quiles, Rosa Ramón, Elena Romero, Jesús Vioque); GRANADA: Hospital Universitario San Cecilio (Nicolás Olea, Cristina Campoy, Marieta Fernández, Margarita Jiménez, M Teresa Salvatierra, Fátima Olea); MADRID Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (Manuel Posada, Ignacio Abaitua), Centro Nacional de Salud Ambiental (Rosalia Fernández-Patier, Saul García Dos Santos, María Concepción Martín-Arribas) Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. (Ángel Asensio, Jenaro Astray, Margot Cisneros, José F. García, Elisa Gil, Andrés Iriso, Mercedes Martínez, Concha de Paz, Ana M<sup>a</sup> Pérez-Meixeira, Amparo de Santos, Juan Carlos Sanz), Hospital Ramón y Cajal (José Miguel García-Sagredo, América de León Rodríguez), Centro Nacional de Epidemiología. ISCIII (Nuria Aragonés, Gonzalo López-Abente, Beatriz Pérez-Gómez, Marina Pollán), Instituto de Química Orgánica. CSIC (Mario Fernández y María José González). MENORCA: Àrea de Salut de Menorca (Maties Torrent, María Victoria Iturriaga Sorraín); GUIPÚZCOA: Subdirección de Salud Pública de Guipúzcoa (Jesús M<sup>a</sup> Ibarluzea, Mikel Basterretxea, M<sup>a</sup> Dolores Martínez, Mikel Ayerdi), Hospital de Zumarraga (Lionor Arranz, Elizabeth Blarduni), Labo-

ratorio de Salud Pública de Vizcaya Mercedes Espada, Jon Iñaki Álvarez, Agurtzane Manrique), Laboratorio de Salud Pública de Álava (Xabier Aginagalde).

## References

- 1 Vreugdenhil HJ, Van Zanten GA, Brocaar MP, Mulder PG, Weisglas-Kuperus N. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and breast feeding: opposing effects on auditory P300 latencies in 9-year-old Dutch children. *Developmental Medicine and Child Neurology* 2004; **46**:398–405.
- 2 Jacobson JL, Jacobson SW. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *Journal of Pediatrics* 2003; **143**:780–788.
- 3 Ribas-Fito N, Cardo E, Sala M, Eulalia de Muga M, Mazon C, Verdu A, et al. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics* 2003; **111**(5 Part 1): e580–585.
- 4 Weisskopf MG, Anderson HA, Hanrahan LP, Kanarek MS, Falk CM, Steenport DM, et al. Maternal exposure to Great Lakes sport-caught fish and dichlorodiphenyl dichloroethylene, but not polychlorinated biphenyls, is associated with reduced birth weight. *Environmental Research* 2005; **97**:148–161.
- 5 Counter SA, Buchanan LH. Mercury exposure in children: a review. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2004; **198**:209–230.
- 6 Rumchev K, Spickett J, Bulsara M, Phillips M, Stick S. Association of domestic exposure to volatile organic compounds with asthma in young children. *Thorax* 2004; **59**:746–751.
- 7 Lin M, Chen Y, Villeneuve PJ, Burnett RT, Lemyre L, Hertzman C, et al. Gaseous air pollutants and asthma hospitalization of children with low household income in Vancouver, British Columbia, Canada. *American Journal of Epidemiology* 2004; **159**:294–303.
- 8 Lacasaña M, Esplugues A, Ballester F. Exposure to ambient air pollution and prenatal and early childhood health effects. *European Journal of Epidemiology* 2005; **20**:183–199.
- 9 Wright JM, Schwartz J, Dockery DW. The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environmental Health Perspectives* 2004; **112**:920–925.
- 10 Nieuwenhuijsen MJ, Northstone K, Golding J, ALSPAC Study Team. Swimming and birth weight. *Epidemiology* 2002; **13**:725–728.
- 11 Hornstra G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; **71**(5 Suppl.):1262S–1269S.
- 12 Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatric Research* 1998; **44**:201–209.
- 13 Williams C, Birch EE, Emmett PM, Northstone K, Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team. Stereoacuity at age 3.5 y in children born full-term is associated with prenatal and postnatal dietary factors: a report from a population-based cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition* 2001; **73**:316–322.

- 14 Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics* 2003; **111**:e39–44.
- 15 Daniels JL, Longnecker MP, Rowland AS, Golding J, ALSPAC Study Team. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology* 2004; **15**:394–402.
- 16 Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1999; **222**:222–235.
- 17 Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet* 1999; **354**:788–789.
- 18 Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, Briley A, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, *et al.* Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2002; **187**:777–784.
- 19 Hubbard R, Fogarty A. The developing story of antioxidants and asthma. *Thorax* 2004; **59**:3–4.
- 20 Romieu I, Sierra-Monge JJ, Ramirez-Aguilar M, Tellez-Rojo MM, Moreno-Macias H, Reyes-Ruiz NI, *et al.* Antioxidant supplementation and lung functions among children with asthma exposed to high levels of air pollutants. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 2002; **166**:703–709.
- 21 Weiss B. Vulnerability of children and the developing brain to neurotoxic hazards. *Environmental Health Perspective* 2000; **108**:s375–s381.
- 22 Grandjean P, Weihe P. Arachidonic acid status during pregnancy is associated with polychlorinated biphenyl exposure. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003; **77**:715–719.



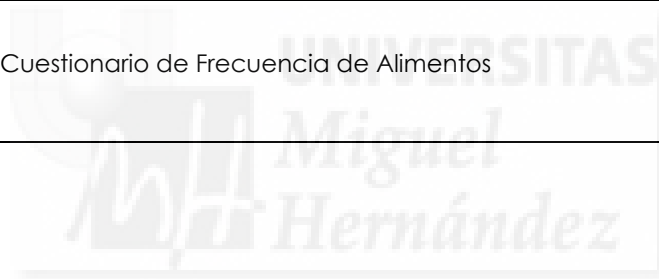




---

**ANEXO 5:** Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

---



**CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA Nº 1**

IDNUM | | | | |

Estimada Sra., esta parte de la encuesta es para conocer la dieta que ha seguido en los últimos meses desde que está embarazada. Con ello tratamos de averiguar el papel que puede jugar la dieta en relación al desarrollo de su embarazo y de su futuro hijo. Sus respuestas serán muy útiles, y por ello, le rogamos preste su máxima atención y colaboración. Cuando un alimento no se adapte plenamente a su consumo habitual, trate de aproximar su respuesta a las cantidades indicadas, con la ayuda de los ejemplos e indicaciones que se le den.

Para cada alimento, señalar cuantas veces como media ha tomado la cantidad que se indica durante los tres últimos meses. Debe tener en cuenta las veces que toma el alimento solo y cuando lo añade a otro alimento o plato. Por ejemplo, en el caso del huevo, considere cuando lo toma solo (Ej. frito o cocido) y cuando lo toma añadido o mezclado con otros platos. Si en estos tres meses ha venido comiendo una tortilla de 2 huevos cada 2 días, deberá marcar "1 por día". No debe considerar el huevo que va con los productos de bollería o dulces.

<b>I. LACTEOS</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
1. Leche entera (1 vaso o taza, 200 cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Leche semi-desnatada (1 vaso, 200cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3. Leche desnatada (1 vaso, 200cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
4. Leche condensada (1 cucharada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5. Nata o crema de leche (1 cucharada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6. Yogur entero (uno, 125 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
7. Yogur desnatado (uno, 125 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
9. Queso curado, semi-curado, o cremoso (un trozo, 50 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10. Natillas, flan, puding (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
11. Helados (1 cucurucho, vasito o bola)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
12. Huevos de gallina (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
13. Pollo CON piel (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
14. Pollo SIN piel (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
15. Carne de ternera, cerdo, cordero como plato principal (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
16. Carne de caza: conejo, codorniz, pato (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
17. Hígado de ternera, cerdo, pollo (1 plato, ración o pieza mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
18. Visceras: callos, sesos, mollejas ( 1 ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19. Embutidos: jamón, salchichón, salami, mortadela, (1 ración de unos 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20. Salchichas y similares (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
21. Patés, foie-gras (media ración, 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
22. Hamburguesa (una mediana, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
23. Tocino, beicon, panceta (2 tiras o lonchas, 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24. Pescado frito variado (1 plato mediano o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
25. Pescado hervido o plancha BLANCO: merluza, lenguado, dorada (1 plato o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
26. Pescado hervido o plancha AZUL: atún, emperador, bonito, (plato o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
27. Otros pescados azules: caballa, sardinas, boquerón/anchos, salmón	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28. Una lata pequeña de conserva de atún o bonito en aceite	1	2	3	4	5	6	7	8	9
29. Una lata pequeña de conserva de sardinas o caballa en aceite	1	2	3	4	5	6	7	8	9
30. Pescados en salazón y/o ahumados: anchos, bacalao, salmón (media ración, 50g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
31. Almejas, mejillones, ostras (1 ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
32. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1 ración o plato, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
33. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1 ración 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

**No olvidar marcar todas las casillas**

<b>III. VERDURAS, LEGUMBRES.</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
34. Espinacas o acelgas cocinadas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
35. Col, coliflor, brócolis cocinadas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
36. Lechuga, endibias, escarola (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37. Tomate (uno mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
38. Cebolla (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
39. Zanahoria, calabaza (una o plato pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
40. Judías verdes cocinadas (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
41. Berenjenas, calabacines, pepinos (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
42. Pimientos (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
43. Alcachofas (una ración o plato mediano, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
44. Espárragos (una ración o plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
45. Maíz hervido (plato o lata pequeña, 82 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pintas o blancas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>IV. FRUTAS</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
47. Naranjas, mandarinas (Una)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
48. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño, 125 cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
49. Plátano (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
50. Manzana, pera (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
51. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
52. Sandía, melón (1 tajada o cala, mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
53. Uvas (un racimo mediano o plato de postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
54. Prunas, ciruelas frescas/secas (una, 37 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55. Kiwi (una unidad)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
56. Aceitunas (un platito o tapa de unas 15 unidades pequeñas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
57. Frutos secos: almendras, cacahuets, piñones, avellanas (1 platito o bolsita, 30g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>V. PAN, CEREALES Y SIMILARES</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
58. Pan blanco (Una pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde, 60 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
59. Pan integral (Pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
60. Cereales desayuno (30 g en seco)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
61. Patatas fritas (1 ración o plato, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
62. Patatas cocidas, asadas (1 patata mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
63. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña, 25-30 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
64. Arroz cocinado (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
65. Pastas: espaguetis, fideos, macarrones y similares (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
66. Pizza (1 porción o ración, 200 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>VI. ACEITES, GRASAS Y DULCES</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
67. Aceite de oliva añadido en la mesa a ensalada, pan y a platos (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
68. Otros aceites vegetales (ídem): girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
69. Margarina añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
70. Mantequilla añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
71. Galletas tipo María (1 galleta)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
72. Galletas con chocolate (1 galleta doble)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
73. Bollería: croissant, donut, magdalena, bizcocho, tarta o similar (uno o porción)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
74. Chocolate, bombones y similares (1 barra o 2 bombones)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
75. Chocolate en polvo, cola-cao y similares (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

No olvidar marcar todas las casillas

<b>VII. BEBIDAS Y MISCELANEAS</b>	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
76. Vino tinto (1 vaso, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
77. Vino blanco o rosado (1 vaso, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
78. Jerez, vinos secos, vermú (copa, 50 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
79. Cerveza (una caña o botellín 1/5, 200 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
80. Cerveza sin alcohol (una caña o botellín 1/5, 200 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
81. Licores (20-25°): de frutas (manzana), de crema (Catalana, Bayleys) (1 copa, 50 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
82. Brandy, ginebra, ron, whisky, vodka, aguardientes 40° (1 copa, 50 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
83. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. coca-cola, fanta) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
84. Refrescos sin azúcar cola, naranja, limón (ej. coca-cola o pepsi light) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
85. Agua del grifo (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
86. Agua embotellada sin gas (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
87. Agua embotellada con gas (1 vaso, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
88. Zumos de frutas envasado (1 vaso o envase de 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
89. Café (1 taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
90. Café descafeinado (1 taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
91. Sopa o puré de verduras (un plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
92. Croquetas de pollo, jamón (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
93. Croquetas, palitos o delicias de pescado fritos (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
94. Mayonesa (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
95. Salsa de tomate (media taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
96. Ketchup ó catchup (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
97. Sal añadida a los platos en la mesa (1 pizca del salero o pellizco con dos dedos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
98. Ajo (1 diente)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
99. Mermeladas, miel (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
100. Azúcar (ej. en el café, postres, etc.) (1 cucharadita)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
<b>¿Consume algún otro alimento regularmente al menos una vez a la semana?</b>									
-----	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
-----	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

**No olvidar marcar todas las casillas**

**Consumo de suplementos vitamínicos o minerales. Referido a los 3 meses previos, desde que está embarazada hasta ahora. ¿Ha tomado suplementos de vitaminas o minerales?...**

Marca y presentación	Dosis semanal (comp/sem)	Fecha inicio (mes/año)	¿Sigue tomándolo?	Si no, fecha de finalización
a. Sal yodada	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
b. Leche con vit A+D	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
c. Leche rica en Calcio	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
d. Fibra/supl ricos en fibra	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
e. Multivitaminas	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
f. Acido fólico	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
g. Complejo A + E	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
h. Vitamina A	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
i. Vitamina E	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
j. Vitamina C	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
i. Hierro	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
j. Calcio	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
l. Complejo B	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
m. Zinc	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___
n. Otros Suplementos	-----	___/___/___	① Si ② No	___/___/___





## BIBLIOGRAFIA

Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Nota informativa de la AESA sobre mercurio y metil-mercurio en productos pesqueros. 2004. Disponible en: <http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp> [accessed 19 June 2007].

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Minimal Risk Levels (MRLs) for Hazardous Substances. 2007. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.html> [accessed 2 November 2007].

Allen LH. Multiple micronutrients in pregnancy and lactation: an overview. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 1206S-1212S.

Arkkola T, Uusitalo U, Pietikainen M, Metsala J, Kronberg-Kippila C, Erkkola M, Veijola R, Knip M, Virtanen SM, Ovaskainen ML. Dietary intake and use of dietary supplements in relation to demographic variables among pregnant Finnish women. *Br J Nutr* 2006; 96: 913-920.

Bakker E, Ghys A, Vles J, Dubas J, Blanco C, Hornstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids at birth and cognitive function at 7 y of age. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 89-95.

Barker DJ. The long-term outcome of retarded fetal growth. *Schweiz Med Wochenschr* 1999; 129: 189-196.

Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med* 2007; 261: 412-417.

Batista J, Schuhmacher M, Domingo JL, Corbella J. Mercury in hair for a child population from Tarragona Province, Spain. *Sci Total Environ* 1996; 193: 143-148.

Bjerregaard P, Hansen JC. Organochlorines and heavy metals in pregnant women from the Disko Bay area in Greenland. *Sci Total Environ* 2000; 245: 195-202.

Bjornberg KA, Vahter M, Grawe KP, Berglund M. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci Total Environ* 2005; 341: 45-52.



Bjornberg KA, Vahter M, Petersson-Grawe K, Glynn A, Cnattingius S, Darnerud PO, Atuma S, Aune M, Becker W, Berglund M. Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: influence of fish consumption. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 637-641.

Budtz-Jorgensen E, Grandjean P, Weihe P. Separation of risks and benefits of seafood intake. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 323-327.

Burger J, Gochfeld M. Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation. *Environ Res* 2004; 96: 239-249.

Canfield, R.L, Henderson C, Cory-Slechta D, Cox C, Jusko T, Lanphear B. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 µg per deciliter. *N Engl J Med* 2003; 348: 1517-1526.

Canuel R, de Grosbois SB, Atikesse L, Lucotte M, Arp P, Ritchie C, Mergler D, Chan HM, Amyot M, Anderson R. New evidence on variations of human body burden of methylmercury from fish consumption. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 302-306.

Carrascosa A, Yeste D, Copil A, Almar J, Salcedo S, Gussinye M. [Anthropometric growth patterns of preterm and full-term newborns (24-42 weeks' gestational age) at the Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron (Barcelona)(1997-2002)]. *An Pediatr (Barc )* 2004; 60: 406-416.

Charles DH, Ness AR, Campbell D, Smith GD, Whitley E, Hall MH. Folic acid supplements in pregnancy and birth outcome: re-analysis of a large randomised controlled trial and update of Cochrane review. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2005; 19: 112-124.

Cohen JT, Bellinger DC, Shaywitz BA. A quantitative analysis of prenatal methyl mercury exposure and cognitive development. *Am J Prev Med* 2005; 29: 353-365.

Colombo J, Kannass KN, Shaddy DJ, Kundurthi S, Maikranz JM, Anderson CJ, Blaga OM, Carlson SE. Maternal DHA and the development of attention in infancy and toddlerhood. *Child Dev* 2004; 75: 1254-1267.

Connors N, Merrill D. Antioxidants for prevention of preterm delivery. *Clin Obstet Gynecol* 2004; 47: 822-832.

Consumer. Mercury in tuna: new safety concerns. *Consum Rep* 2006; 71: 20-21.

Crepet A, Tressou J, Verger P, Leblanc JC. Management options to reduce exposure to methyl mercury through the consumption of fish and fishery products by the French population. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005; 42: 179-189.

Crump KS, Kjellstrom T, Shipp AM, Silvers A, Stewart A. Influence of prenatal mercury exposure upon scholastic and psychological test performance: benchmark analysis of a New Zealand cohort. *Risk Anal* 1998; 18: 701-713.

Davidson PW, Jean SR, Myers GJ, Hansen ON, Huang LS, Georger LA, Cox C, Thurston SW, Shamlaye CF, Clarkson TW. Association between prenatal exposure to methylmercury and visuospatial ability at 10.7 years in the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology* 2008; 29: 453-459.

Davidson PW, Myers GJ, Weiss B, Shamlaye CF, Cox C. Prenatal methyl mercury exposure from fish consumption and child development: a review of evidence and perspectives from the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology* 2006; 27: 1106-1109.

Davis JM, Grant LD. [Establishing lead in air and water standards in the United States of America]. *Experiencias de la instauración de normas relativas al contenido de plomo en aire y el agua, en los Estados Unidos de América. Salud Pública Mex* 2003; 45 Suppl 2: S237-S243.

Decsi T, Koletzko B. N-3 fatty acids and pregnancy outcomes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8: 161-166.

Domingo JL, Bocio A, Falco G, Llobet JM. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 2007a; 230: 219-226.

Domingo JL, Bocio A, Marti-Cid R, Llobet JM. Benefits and risks of fish consumption Part II. RIBEPEIX, a computer program to optimize the balance

between the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 2007b; 230: 227-233.

Dovydaitis T. Fish consumption during pregnancy: an overview of the risks and benefits. *J Midwifery Womens Health* 2008; 53: 325-330.

Drewnowski A, Rock CL, Henderson SA, Shore AB, Fischler C, Galan P, Preziosi P, Hercberg S. Serum beta-carotene and vitamin C as biomarkers of vegetable and fruit intakes in a community-based sample of French adults. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1796-1802.

Dunstan JA, Prescott SL. Does fish oil supplementation in pregnancy reduce the risk of allergic disease in infants? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 215-221.

Erkkola M, Karppinen M, Jarvinen A, Knip M, Virtanen SM. Folate, vitamin D, and iron intakes are low among pregnant Finnish women. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 742-748.

European Commission. Communication from the Commission to the Council and the European Parliament on community strategy concerning mercury. SEC (2005) 101. Brussels: European Community.

European Commission. Proposal for a regulation of the European parliament and the council on the banning of exports and the safe storage of metallic mercury. SEC (2006) 1369. Brussels: European Community.

European Commission. Options for reducing mercury use in products and applications, and the fate of mercury already circulating in society. Final Report. December 2008. Brussels: European Community.

European Food Safety Authority. La EFSA evalúa el riesgo del mercurio en el pescado y hace recomendaciones sobre su ingesta. 18-3-2004. Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Disponible en: (<http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp>).

Evans MS, Lockhart WL, Doetzel L, Low G, Muir D, Kidd K, Stephens G, Delaronde J. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie River Basin:

the role of physical, chemical, and biological factors. *Sci Total Environ* 2005; 351-352: 479-500.

Fall CH, Yajnik CS, Rao S, Davies AA, Brown N, Farrant HJ. Micronutrients and Fetal Growth. *J Nutr* 2003; 133: 1747S-1756S.

Fein GG, Jacobson JL, Jacobson SW, Schwartz PM, Dowler JK. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: effects on birth size and gestational age. *J Pediatr* 1984; 105: 315-320.

Fischer C, Fredriksson A, Eriksson P. Neonatal co-exposure to low doses of an ortho-PCB (PCB 153) and methyl mercury exacerbate defective developmental neurobehavior in mice. *Toxicology* 2008; 244: 157-165.

Fok TF, Lam HS, Ng PC, Yip AS, Sin NC, Chan IH, Gu GJ, So HK, Wong EM, Lam CW. Fetal methylmercury exposure as measured by cord blood mercury concentrations in a mother-infant cohort in Hong Kong. *Environ Int* 2007; 33: 84-92.

Foldspang A, Hansen JC. Dietary intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth weight among newborns in Greenland. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 310-317.

Fowles ER, Gabrielson M. First trimester predictors of diet and birth outcomes in low-income pregnant women. *J Community Health Nurs* 2005; 22: 117-130.

Fraser GE, Shavlik DJ. Correlations between estimated and true dietary intakes. *Ann Epidemiol* 2004; 14: 287-295.

Ghebremeskel K, Burns L, Burden TJ, Harbige L, Costeloe K, Powell JJ, Crawford M. Vitamin A and related essential nutrients in cord blood: relationships with anthropometric measurements at birth. *Early Hum Dev* 1994; 39: 177-188.

Ghys A, Bakker E, Hoenstra G, Van den Hout M. Red Blood cell and plasma phospholipid arachidonic and docosahexaenoic acid levels at birth and cognitive development at 4 years of age. *Early Hum Dev* 2002; 83-90.

Gibicar D, Horvat M, Nakou S, Sarafidou J, Yager J. Pilot study of intrauterine exposure to methylmercury in Eastern Aegean islands, Greece. *Sci Total Environ* 2006; 367: 586-595.

Giddens JB, Krug SK, Tsang RC, Guo S, Miodovnik M, Prada JA. Pregnant adolescent and adult women have similarly low intakes of selected nutrients. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 1334-1340.

Gochfeld M, Burger J. Good fish/bad fish: a composite benefit-risk by dose curve. *Neurotoxicology* 2005; 26: 511-520.

Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. Birthweight in a fishing community: significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 1272-1278.

Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 2006; 368: 2167-2178.

Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, Murata K, Sorensen N, Dahl R, Jorgensen PJ. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997; 19: 417-428.

Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P, Bode P, Aro A, Gomez-Aracena J, Kark JD, Riemersma RA, Martin-Moreno JM, Kok FJ. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002; 347: 1747-1754.

Guldner L, Monfort C, Rouget F, Garlantezec R, Cordier S. Maternal fish and shellfish intake and pregnancy outcomes: a prospective cohort study in Brittany, France. *Environ Health* 2007; 6: 33.

Halldorsson TI, Meltzer H, Thorsdottir I, Knudsen V, Olsen S. Is High Consumption of Fatty Fish during Pregnancy a Risk Factor for Fetal Growth Retardation? A Study of 44,824 Danish Pregnant Women. *Am J Epidemiol* 2007; 166: 687-696.

Halldorsson TI, Thorsdottir I, Meltzer HM, Nielsen F, Olsen SF. Linking exposure to polychlorinated biphenyls with fatty fish consumption and reduced fetal growth among Danish pregnant women: a cause for concern? *Am J Epidemiol* 2008; 168: 958-965.

Harding JE. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 15-23.

Health and Environment Alliance. Halting the child brain drain. Why we need to tackle global mercury contamination. 2007. Brussels: HCWH & HEAL. Disponible en: <http://www.env-health.org/r/145>.

Helland I, Smith L, Saarem K, Saugstad O, Drevon C. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatr* 2003; 111: 39-44.

Hennekens CH, Buring JE. *Epidemiology in medicine*. Boston/Toronto: Little, Brown and Company, 1987; 383 p.

Herreros MA, Inigo-Nunez S, Sanchez-Perez E, Encinas T, Gonzalez-Bulnes A. Contribution of fish consumption to heavy metals exposure in women of childbearing age from a Mediterranean country (Spain). *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1591-1595.

Hightower JM, Moore D. Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 604-608.

Hightower JM, O'Hare A, Hernandez GT. Blood mercury reporting in NHANES: identifying Asian, Pacific Islander, Native American, and multiracial groups. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 173-175.

Houston MC. The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Altern Ther Health Med* 2007; 13: S128-S133.

Hsu CS, Liu PL, Chien LC, Chou SY, Han BC. Mercury concentration and fish consumption in Taiwanese pregnant women. *BJOG* 2007; 114: 81-85.

Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1577-1584.

Jedrychowski W, Jankowski J, Flak E, Skarupa A, Mroz E, Sochacka-Tatara E, Lisowska-Miszczuk I, Szpanowska-Wohn A, Rauh V, Skolicki Z, Kaim I, Perera F.

Effects of prenatal exposure to mercury on cognitive and psychomotor function in one-year-old infants: epidemiologic cohort study in Poland. *Ann Epidemiol* 2006; 16: 439-447.

Jedrychowski W, Perera F, Rauh V, Flak E, Mroz E, Pac A, Skolicki Z, Kaim I. Fish intake during pregnancy and mercury level in cord and maternal blood at delivery: an environmental study in Poland. *Int J Occup Med Environ Health* 2007; 20: 31-37.

Knudsen VK, Orozova-Bekkevold IM, Mikkelsen TB, Wolff S, Olsen SF. Major dietary patterns in pregnancy and fetal growth. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 463-470.

Koletzko B, Cetin I, Brenna JT. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr* 2007; 98: 873-877.

Kordas K, Lonnerdal B, Stoltzfus RJ. Interactions between nutrition and environmental exposures: effects on health outcomes in women and children. *J Nutr* 2007; 137: 2794-2797.

Kramer MS. The epidemiology of adverse pregnancy outcomes: an overview. *J Nutr* 2003; 133: 1592S-1596S.

Lederman SA, Jones RL, Caldwell KL, Rauh V, Sheets SE, Tang D, Viswanathan S, Becker M, Stein JL, Wang RY, Perera FP. Relation between cord blood mercury levels and early child development in a World Trade Center cohort. *Environ Health Perspect* 2008; 116: 1085-1091.

Lee BE, Hong YC, Lee KH, Kim YJ, Kim WK, Chang NS, Park EA, Park HS, Hann HJ. Influence of maternal serum levels of vitamins C and E during the second trimester on birth weight and length. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 1365-1371.

Lindblad B, Zaman S, Malik A, Martin H, Ekstrom AM, Amu S, Holmgren A, Norman M. Folate, vitamin B12, and homocysteine levels in South Asian women with growth-retarded fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84: 1055-1061.

Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 517S-520S.

Mahaffey KR. Mercury exposure: medical and public health issues. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2005; 116: 127-153.

Mahaffey KR, Clickner RP, Bodurow CC. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 562-570.

Malcolm C, McCulloch, Montgomery C, Shepherd A, Weaver L. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2003; 88: f383-f390.

Martindale S, McNeill G, Devereux G, Campbell D, Russell G, Seaton A. Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 121-128.

Martinez-Frias ML. [Folic acid dose in the prevention of congenital defects]. *Med Clin (Barc )* 2007; 128: 609-616.

Mathews F, Youngman L, Neil A. Maternal circulating nutrient concentrations in pregnancy: implications for birth and placental weights of term infants. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 103-110.

Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133 Suppl 3: 933S-940S.

Mikkelsen TB, Osler M, Orozova-Bekkevold I, Knudsen VK, Olsen SF. Association between fruit and vegetable consumption and birth weight: a prospective study among 43,585 Danish women. *Scand J Public Health* 2006; 34: 616-622.

Montuori P, Jover E, Diez S, Ribas-Fito N, Sunyer J, Triassi M, Bayona JM. Mercury speciation in the hair of pre-school children living near a chlor-alkali plant. *Sci Total Environ* 2006; 369: 51-58.

Morris SS, Victora CG, Barros FC, Halpern R, Menezes AM, Cesar JA, Horta BL, Tomasi E. Length and ponderal index at birth: associations with mortality,



hospitalizations, development and post-natal growth in Brazilian infants. *Int J Epidemiol* 1998; 27: 242-247.

Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA* 2006; 296: 1885-1899.

Myers G, Davidson P. Does methylmercury have a role in causing developmental disabilities in children? *Environ Health Perspect* 2000; 108: 413-420.

National Research Council. Toxicological effects of methylmercury. Summary 2000. Disponible en: [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=9899](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=9899).

Oken E, Bellinger DC. Fish consumption, methylmercury and child neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr* 2008; 20: 178-183.

Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 774-783.

Oken E, Wright RO, Kleinman KP, Bellinger D, Amarasinghwardena CJ, Hu H, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Maternal fish consumption, hair mercury, and infant cognition in a U.S. Cohort. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 1376-1380.

Olsen J. Prenatal exposures and long-term health effects. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 76-81.

Olsen SF, Grandjean P, Weihe P, Videro T. Frequency of seafood intake in pregnancy as a determinant of birth weight: evidence for a dose dependent relationship. *J Epidemiol Community Health* 1993; 47: 436-440.

Olsen SF, Hansen HS, Secher NJ, Jensen B, Sandstrom B. Gestation length and birth weight in relation to intake of marine n-3 fatty acids. *Br J Nutr* 1995; 73: 397-404.

Olsen SF, Olsen J, Frische G. Does fish consumption during pregnancy increase fetal growth? A study of the size of the newborn, placental weight and

gestational age in relation to fish consumption during pregnancy. *Int J Epidemiol* 1990; 19: 971-977.

Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ* 2002; 324: 447.

Orjuela MA, Titievsky L, Liu X, Ramirez-Ortiz M, Ponce-Castaneda V, Lecona E, Molina E, Beaverson K, Abramson DH, Mueller NE. Fruit and vegetable intake during pregnancy and risk for development of sporadic retinoblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1433-1440.

Ortega RM. Dietary guidelines for pregnant women. *Public Health Nutr* 2001; 4: 1343-1346.

Patandin S, Koopman-Esseboom C, de Ridder MA, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on birth size and growth in Dutch children. *Pediatr Res* 1998; 44: 538-545.

Porta M, Puigdomenech E, Ballester F, Selva J, Ribas-Fito N, Llop S, Lopez T. Monitoring concentrations of persistent organic pollutants in the general population: the international experience. *Environ Int* 2008; 34: 546-561.

Ramon R, Ballester F. Prevention of early in life mercury exposures: no more unnecessary delays. *J Epidemiol Community Health* 2008; 62: 378-379.

Ramon R, Ballester F, Rebagliato M, Ribas N, Torrent M, Fernandez M, Sala M, Tardon A, Marco A, Posada M, Grimalt J, Sunyer J. [The Environment and Childhood Research Network ("INMA" network): study protocol]. *Rev Esp Salud Pública* 2005; 79: 203-220.

Rao S, Yajnik CS, Kanade A, Fall CH, Margetts BM, Jackson AA, Shier R, Joshi S, Rege S, Lubree H, Desai B. Intake of micronutrient-rich foods in rural Indian mothers is associated with the size of their babies at birth: Pune Maternal Nutrition Study. *J Nutr* 2001; 131: 1217-1224.

Renzoni A, Zino F, Franchi E. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ Res* 1998; 77: 68-72.

Ribas-Fito N. Exposició a compostos organoclorats i efectes sobre la salut infantil durant el primer any de vida. Tesis Med, Barcelona, 2003; p159.

Ribas-Fito N, Ramon R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N, Posada M, Rebagliato M, Tardon A, Torrent M, Sunyer J. Child health and the environment: the INMA Spanish Study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006; 20: 403-410.

Rich-Edwards JW, Kleinman K, Michels KB, Stampfer MJ, Manson JE, Rexrode KM, Hibert EN, Willett WC. Longitudinal study of birth weight and adult body mass index in predicting risk of coronary heart disease and stroke in women. *BMJ* 2005; 330: 1115.

Richards M, Hardy R, Kuh D, Wadsworth ME. Birthweight, postnatal growth and cognitive function in a national UK birth cohort. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 342-348.

Roberts JM, Balk JL, Bodnar LM, Belizan JM, Bergel E, Martinez A. Nutrient Involvement in Preeclampsia. *J Nutr* 2003; 133: 1684S-1692S.

Rodriguez MP, Romero-Aliaga E, Perez-Aliaga S, Quiles A, Ramón R, Rebagliato M, Esplugues A, Cases A, Andreu M. Análisis descriptivo de la participación y comparación de las inclusiones y rechazos en la cohorte de embarazo INMA-Valencia. *Gac Sanit* 2006; 20: 47.

Rogers I, Emmett P. Diet during pregnancy in a population of pregnant women in South West England. ALSPAC Study Team. *Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 246-250.

Rogers I, Emmett P, Ness A, Golding J. Maternal fish intake in late pregnancy and the frequency of low birth weight and intrauterine growth retardation in a cohort of British infants. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58: 486-492.

Romieu I, Sienra-Monge JJ, Ramirez-Aguilar M, Moreno-Macias H, Reyes-Ruiz NI, Estela dR-N, Hernandez-Avila M, London SJ. Genetic polymorphism of GSTM1 and antioxidant supplementation influence lung function in relation to ozone exposure in asthmatic children in Mexico City. *Thorax* 2004; 59: 8-10.

Romieu I, Torrent M, Garcia-Esteban R, Ferrer C, Ribas-Fito N, Anto JM, Sunyer J. Maternal fish intake during pregnancy and atopy and asthma in infancy. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 518-525.

Rylander L, Stromberg U, Dyremark E, Ostman C, Nilsson-Ehle P, Hagmar L. Polychlorinated biphenyls in blood plasma among Swedish female fish consumers in relation to low birth weight. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 493-502.

Sagiv SK, Tolbert PE, Altshul LM, Korrick SA. Organochlorine exposure during pregnancy and infant size at birth. *Epidemiology* 2007; 18: 120-129.

Sakamoto M, Kubota M, Liu XJ, Murata K, Nakai K, Satoh H. Maternal and fetal mercury and n-3 polyunsaturated fatty acids as a risk and benefit of fish consumption to fetus. *Environ Sci Technol* 2004; 38: 3860-3863.

Sakamoto M, Kubota M, Murata K, Nakai K, Sonoda I, Satoh H. Changes in mercury concentrations of segmental maternal hair during gestation and their correlations with other biomarkers of fetal exposure to methylmercury in the Japanese population. *Environ Res* 2008; 106: 270-276.

Sanfeliu C, Sebastia J, Cristofol R, Rodriguez-Farre E. Neurotoxicity of organomercurial compounds. *Neurotox Res* 2003; 5: 283-305.

Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo CS, Fischer RL. Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 520-525.

Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1295S-1303S.

SENC. Guía de la alimentación saludable. 2004. Disponible en: [http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/come\\_seguro\\_y\\_saludable/guia\\_alimentacion2.pdf](http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/come_seguro_y_saludable/guia_alimentacion2.pdf)

Sharma J, Kumar A, Kumar A, Malhotra M, Arora R, Prasad S, Batra S. Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in primigravidas. *Gynecol Obstet* 2003; 81: 257-263.

Shelnutt KP, Kauwell GP, Chapman CM, Gregory JF, III, Maneval DR, Browdy AA, Theriaque DW, Bailey LB. Folate status response to controlled folate intake is

affected by the methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T polymorphism in young women. *J Nutr* 2003; 133: 4107-4111.

Soria ML, Sanz P, Martinez D, Lopez-Artiguez M, Garrido R, Grilo A, Repetto M. Total mercury and methylmercury in hair, maternal and umbilical blood, and placenta from women in the Seville area. *Bull Environ Contam Toxicol* 1992; 48: 494-501.

Stephenson J. FDA warns on mercury in tuna. *JAMA* 2004; 291: 171.

Takimoto H, Mito N, Umegaki K, Ishiwaki A, Kusama K, Abe S, Yamawaki M, Fukuoka H, Ohta C, Yoshiike N. Relationship between dietary folate intakes, maternal plasma total homocysteine and B-vitamins during pregnancy and fetal growth in Japan. *Eur J Nutr* 2007; 46: 300-306.

Tamura T, Picciano MF. Folate and human reproduction. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 993-1016.

Thorsdottir I, Birgisdottir BE, Halldorsdottir S, Geirsson RT. Association of fish and fish liver oil intake in pregnancy with infant size at birth among women of normal weight before pregnancy in a fishing community. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 460-465.

Trasande L, Landrigan PJ, Schechter C. Public health and economic consequences of methyl mercury toxicity to the developing brain. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 590-596.

United Nations Environment Programme. Mercury programme. Disponible en: <http://www.chem.unep.ch/mercury/Report/JECFA-PTWI.htm>. 2007. [accessed 2 November 2007].

Unuvar E, Ahmadov H, Kiziler AR, Aydemir B, Toprak S, Ulker V, Ark C. Mercury levels in cord blood and meconium of healthy newborns and venous blood of their mothers: clinical, prospective cohort study. *Sci Total Environ* 2007; 374: 60-70.

US Environmental Protection Agency. Mercury. Human Exposure. Disponible en: <http://www.epa.gov/mercury/exposure.htm>. 2007. [accessed 22 December 2008].

US Environmental Protection Agency and Food and Drug Administration. What You Need to Know About Mercury in Fish and Shellfish. 2004. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/admehg3.html>.

van den Hazel P, Zuurbier M, Babisch W, Bartonova A, Bistrup ML, Bolte G, Busby C, Butter M, Ceccatelli S, Fucic A, Hanke W, Johansson C, Kohlhuber M, Leijts M, Lundqvist C, Moshammer H, Naginiene R, Preece A, Ronchetti R, Salines G, Saunders M, Schoeters G, Stilianakis N, ten Tusscher G, Koppe JG. Today's epidemics in children: possible relations to environmental pollution and suggested preventive measures. *Acta Paediatr Suppl* 2006; 95: 18-25.

Verger P, Houdart S, Marette S, Roosen J, Blanchemanche S. Impact of a risk-benefit advisory on fish consumption and dietary exposure to methylmercury in France. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007; 48: 259-269.

Villegas R, Shu XO, Gao YT, Yang G, Elasy T, Li H, Zheng W. Vegetable but not fruit consumption reduces the risk of type 2 diabetes in Chinese women. *J Nutr* 2008; 138: 574-580.

Vioque J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética [In Spanish]. In: Serra Majem L, Aranceta Bartrina J, editors. *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones* 2nd edition. Barcelona: Masson-Elsevier, 2006, pp. 199-210.

Warner JO. The early life origins of asthma and related allergic disorders. *Arch Dis Child* 2004; 89: 97-102.

Wilcox AJ, Savitz DA, Samet JM. A tale of two toxicants: lessons from Minamata and Liaoning. *Epidemiology* 2008; 19: 1-2.

Willet W. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. *Science* 2002; 296: 695-698.

Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, Hennekens CH, Speizer FE. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 51-65.

World Health Organization and United Nations Environment Programme. Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. 2008. p. 176.

Xue F, Holzman C, Rahbar MH, Trosko K, Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 42-47.

Yeum KJ, Ferland G, Patry J, Russell RM. Relationship of plasma carotenoids, retinol and tocopherols in mothers and newborn infants. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 442-447.

Yorifuji T, Tsuda T, Takao S, Harada M. Long-term exposure to methylmercury and neurologic signs in Minamata and neighboring communities. *Epidemiology* 2008; 19: 3-9.

Yusa V, Suelves T, Ruiz-Atienza L, Cervera ML, Benedito V, Pastor A. Monitoring programme on cadmium, lead and mercury in fish and seafood from Valencia, Spain: levels and estimated weekly intake. *Food Addit & Contamin* 2009; Advanced Access: May 13, 2008 (DOI: 10.1080/02652030701852075).

Zhang C, Williams MA, Sorensen TK, King IB, Kestin MM, Thompson ML, Leisenring WM, Dashow EE, Luthy DA. Maternal plasma ascorbic Acid (vitamin C) and risk of gestational diabetes mellitus. *Epidemiology* 2004; 15: 597-604.

## PAGINAS WEB CONSULTADAS

<http://www.dacp.org/viva/index.html>. Project VIVA

<http://www.ssi.dk/sw9314.asp>. Danish National Birth Cohort

<http://www.bristol.ac.uk/alspac/>. Cohort ALSPAC

<http://www.fmcs.urv.net/ribepeix/index.htm>. Programa Ribepeix

<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/admehg3.html>. What You Need to Know  
About Mercury in Fish and Shellfish 2004

<http://ec.europa.eu/environment/chemicals/mercury/index.htm>. Web Unión  
Europea

## AGENCIAS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

AFSSA: Agence Française de Sécurité des Aliments

FSA: UK Food Standards Agency

FSAI: Food Standards Authority of Ireland

FSANZ: Food Standards Australia New Zealand







## REFLEXION FINAL

...

*El corazón africano  
es como el sol,  
grande, rojo,  
una tela de seda de color sangre*

*El amanecer africano baila.  
Con el sol naciente  
se alzan los primeros sonidos,  
primero susurrantes, rumorosos,  
y luego, al final más y más fuertes.*

*Pero todavía es de noche.  
Y Sofía sueña ...*

Henning Mankell. El secreto del fuego

Mar, ¿por qué el autor del libro dice que Sofía es invencible? *Porque no se rinde.*

Así son muchas de las mujeres africanas, *invencibles*, soportan la adversidad con gran dignidad y son el soporte de sus familias, las que se ocupan y hacen salir adelante a sus hijos. Esas mujeres que sufren tasas de mortalidad materna entre 500-800 por cien mil, comparada con tasas de 6 por cien mil en Europa, cuando no se ven devastadas por el SIDA, países como Costa de Marfil con tasas del 20% en algunas zonas y una esperanza de vida que ha descendido a 45 años. Esas grandes olvidadas. Porque aunque África es mucho más que miseria, la probabilidad de supervivencia y de futuro de una niña que nace en una choza africana son infinitamente inferiores a una que nazca en una zona más rica. Sin embargo son mujeres fuertes y luchadoras, a las que quiero agradecerles todo lo que aprendí cuando decidí irme fuera de España a trabajar, en especial mi experiencia en Costa de Marfil, país en el que trabajé en la constitución de una cohorte de mujeres infectadas por el VIH en un programa para disminuir la transmisión materno-infantil del virus. Fue extraordinaria la experiencia de ver su implicación en la salud de sus bebés, como se adherían al proyecto, teniendo en cuenta que era una época en la que al principio no se disponía de tratamientos para el VIH y a las madres se les anunciaba una enfermedad mortal en la mayoría de los casos, a la que debían enfrentarse en soledad, debido a la estigmatización de la propia

enfermedad, pero eran conscientes de hacer todo lo posible por no transmitirles a sus recién nacidos la infección. *Nunca vi nada igual.*

No puedo tampoco dejar de recordar mi experiencia con los niños, recuerdo en especial un niño, entre tantos, llamado Mohamed, como el profeta, al que vi por primera vez en la espalda de su madre en el Hospital de Mandiana, Guinea Conakry. Esa imagen no hubiera tenido nada de particular si no fuera porque el niño debía de tener unos 10 años y se encontraba en la espalda de su madre porque sufría una gran desnutrición. Me acerqué a la madre y al niño cuyos ojos, grandes y negros, me miraron y expresaron un horror que no podré nunca olvidar. Una cara de terror me miraba y unos ojos negros me reflejaban la gran injusticia que padecen los que aún no han contribuido a los males de este mundo, los que aún son inocentes. Me aparté inmediatamente del niño para no asustarle más y después junto con el enfermero africano, Moussa Dialló, le explicamos a la madre lo que le pasaba al niño y lo que le íbamos a hacer. No sé que habrá sido de Mohamed después de tantos años, si no habrá sido uno de tantos cuyo futuro ha sido robado de entrada, pero unos días después de aquel episodio me acerqué al hospital a despedirme, era el final de mi estancia como médica coordinadora de Médecins Sans Frontières en el hospitalito de Mandiana, y quería despedirme de la gente y de las madres. Entonces volví a ver a Mohamed, todavía en la espalda de su madre, a distancia le miré pues no quería volver a asustarle, pero mi sorpresa fue que el niño no sólo no se asustó si no que me sonreía y que, cuando yo a mi vez me acerqué tan sorprendida y haciendo aspavientos de alegría, el niño más se reía, era una muestra de que iba mejor. Aunque como digo no sé que habrá sido después de Mohamed, compartí mi alegría con el resto de mamás y, aunque no hablaba apenas unas palabras de su idioma, entendieron perfectamente que me alegraba por el niño y fuimos al patio a hacer unas fotos que plasmaron aquellos ojos negros, inocentes.

A todas esas madres y niños dedico también este trabajo.



