

Traducción no-oficial del artículo:

Exposure to common-use pesticides, manganese, lead, and **thyroid** function among pregnant women from the Infants' Environmental Health (ISA) study, Costa Rica.

Corrales Vargas A,<sup>a</sup> Peñaloza Castañeda J,<sup>a</sup> Rietz Liljedahl E,<sup>b</sup> Mora AM,<sup>a,c</sup> Menezes-Filho JA,<sup>d</sup> Smith DR,<sup>e</sup> Mergler D,<sup>f</sup> Reich B,<sup>g,h</sup> Giffin A,<sup>g,h</sup> Hoppin JA,<sup>h,i</sup> Lindh CH,<sup>b</sup> van Wendel de Joode B.<sup>a,\*</sup>

Sci Total Environ. 2021 Oct 28:151288. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151288. Online ahead of print.PMID: 34756903

**Exposición a plaguicidas de uso común, manganeso, plomo, y función tiroidea en mujeres embarazadas del estudio Infantes y Salud Ambiental (ISA), Costa Rica**

Corrales Vargas A,<sup>a</sup> Peñaloza Castañeda J,<sup>a</sup> Rietz Liljedahl E,<sup>b</sup> Mora AM,<sup>a,c</sup> Menezes-Filho JA,<sup>d</sup> Smith DR,<sup>e</sup> Mergler D,<sup>f</sup> Reich B,<sup>g,h</sup> Giffin A,<sup>g,h</sup> Hoppin JA,<sup>h,i</sup> Lindh CH,<sup>b</sup> van Wendel de Joode B.<sup>a,\*</sup>

Sci Total Environ. 2021 Oct 28:151288. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151288. Online ahead of print.PMID: 34756903

<sup>a</sup> Programa Infantes y Salud Ambiental (ISA), Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica

<sup>b</sup> Division of Occupational and Environmental Medicine, Institute of Laboratory Medicine, Lund University, SE-221 85 Lund, Sweden

<sup>c</sup> Center for Environmental Research and Children's Health (CERCH), University of California at Berkeley, United States

<sup>d</sup> Laboratory of Toxicology, College of Pharmacy, Federal University of Bahia, Av. Barão de Jeremoabo s/n Campus Universitário de Ondina, 40170-115 Salvador, Bahia, Brazil

<sup>e</sup> Microbiology and Environmental Toxicology, University of California, Santa Cruz, 1156 High Street, Santa Cruz, CA 95064, United States

<sup>f</sup> Centre de recherche interdisciplinaire sur le bien-être, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE), Université du Québec à Montréal, Montreal, Canada

<sup>g</sup> Department of Statistics, North Carolina State University, United States

<sup>h</sup> Center for Human Health and the Environment, North Carolina State University, United States

<sup>i</sup> Department of Biological Sciences, North Carolina State University, United States

\* Autor para dirigir correspondencia: Programa Infantes y Salud Ambiental (ISA) Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, P.O. Box 86-3000, Heredia, Costa Rica. E-mail address: [berendina.vanwendel.dejoode@una.cr](mailto:berendina.vanwendel.dejoode@una.cr) (B. vanWendel de Joode).

**Exposición a plaguicidas de uso común, manganeso, plomo, y función tiroidea entre mujeres embarazadas del Estudio Infantes y Salud Ambiental, Costa Rica**

Andrea Corrales Vargas,<sup>1</sup> Jorge Peñaloza Castañeda,<sup>1</sup> Emelie Rietz Liljedahl,<sup>2</sup> Ana María Mora,<sup>1,3</sup> Jose Antonio Menezes-Filho,<sup>4</sup> Donald R. Smith,<sup>5</sup> Donna Mergler,<sup>6</sup> Brian Reich,<sup>7</sup> Andrew Giffin,<sup>7</sup> Jane A Hoppin,<sup>8</sup> Christian H Lindh<sup>2</sup>, Berna van Wendel de Joode<sup>1\*</sup>

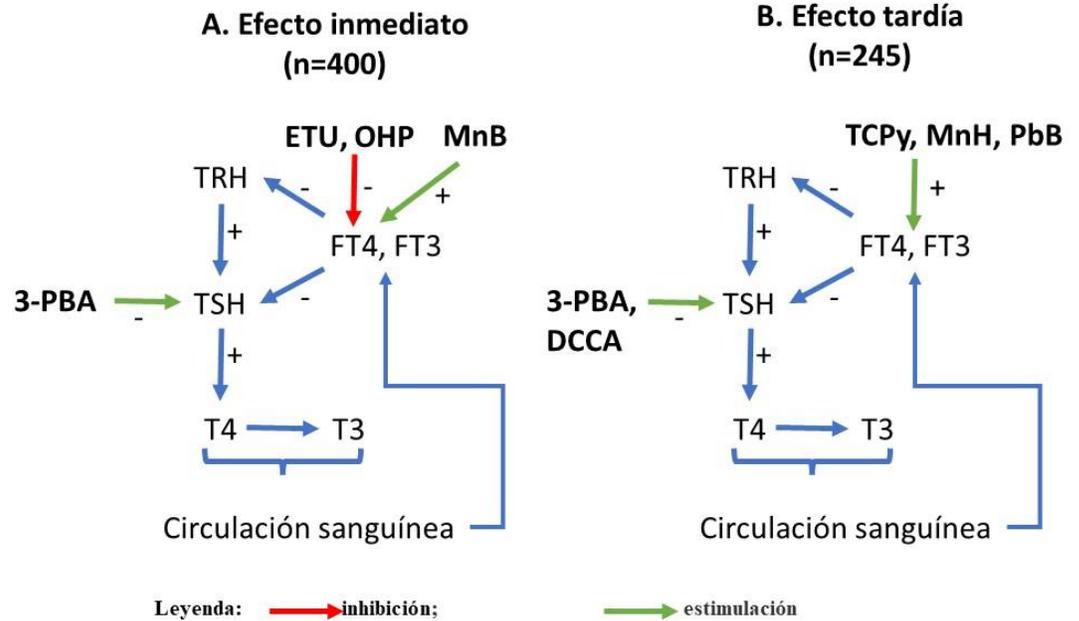
1. Programa Infantes y Salud Ambiental (ISA), Instituto Regional en Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica
2. División de Medicina Ocupacional y Ambiental, Instituto de Laboratorio de Medicina, Universidad de Lund, SE-221 85 Lund, Suecia
3. Centro de Investigación Ambiental y Salud Infantil (CERCH), Universidad de California en Berkeley, Estados Unidos.
4. Laboratorio de Toxicología, Colegio de Farmacia, Universidad Federal de Bahia, Av. Barão de Jeremoabo s/n Campus Universitário de Ondina, 40170-115 Salvador, Bahia, Brazil
5. Microbiología y Toxicología Ambiental, Universidad de California, Santa Cruz, 1156 High Street, Santa Cruz, California 95064, Estados Unidos
6. Centro de Investigación Interdisciplinario sobre Bienestar, Salud, Sociedad y Medio Ambiente (CINBIOSE), Universidad de Quebec en Montreal, Montreal, Canadá
7. [Departamento de Estadística, Universidad Estatal Carolina del Norte, Estados Unidos](#)
8. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos

\*Autor para correspondenciar: Berna van Wendel de Joode (PhD), Programa Infantes y Salud Ambiental (ISA), Instituto Regional en Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, P.O. Box 86-3000 Heredia, Costa Rica.

**Puntos destacados**

- Los plaguicidas y los metales pueden alterar la función tiroidea.
- Se han realizado pocos estudios sobre mujeres embarazadas de comunidades agrícolas.
- Los fungicidas mancozeb y pirimetanil posiblemente inhiben las hormonas tiroideas de las mujeres embarazadas participantes de la cohorte ISA.
- El clorpirifos, los piretroides sintéticos, el manganeso y el plomo posiblemente producen un efecto similar al hipertiroidismo.
- Algunos de los plaguicidas parecían tener un efecto inmediato, y otros un efecto tardío.

**Resumen gráfico**



**Abbreviations:** TRH, hormona liberadora de tirotropina; TSH, hormona estimulante de la tiroides; FT4, tiroxina libre; FT3, triyodotironina libre; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; ETU, etilentiourea; OHP, hidroxipirimetani; Mn, manganeso; MnB, manganeso en sangre; MnH, manganeso en cabello; PbB, plomo en sangre.

## Resumen

**Antecedentes:** Los plaguicidas y metales podrían alterar la función tiroidea, la cual es clave para el desarrollo cerebral del feto.

**Objetivos:** Evaluar si la exposición a plaguicidas de uso común, plomo y exceso de manganeso alteran las concentraciones de tiroxina libre (FT4), triiodotironina libre (FT3), hormona estimulante de la tiroides (TSH) en mujeres embarazadas del estudio Infantes y Salud Ambiental (ISA).

**Métodos:** Al momento de la inclusión de las mujeres (n=400), determinamos las concentraciones urinarias, corregidas por gravedad específica, de los metabolitos ( $\mu\text{g/L}$ ) de los plaguicidas etilentiourea (ETU), pirimetanil, tiabendazol, clorpirifos, piretroides sintéticos, y 2,4-D. También medimos las concentraciones de manganeso en el pelo (MnH) ( $\mu\text{g/g}$ ) y en la sangre (MnB) ( $\mu\text{g/l}$ ), así como plomo en la sangre (PbB) ( $\mu\text{g/l}$ ). Para detectar un efecto tanto inmediato como tardío en la homeostasis de la tiroides, determinamos la TSH, FT4 y FT3 en suero obtenido en la misma visita (n=400) y alrededor de diez semanas después (n=245). Evaluamos las asociaciones entre las exposiciones y TSH, FT4, y FT3, con modelos de regresión lineal y aditivos generalizados, regresión lineal multivariante Bayesiana y regresión Bayesiana por máquinas del kernel (Bayesian kernel machine regression-BKMR).

**Resultados:** Las mujeres con concentraciones urinarias de ETU y del metabolito de pirimetanil más altos, tenían niveles de FT4 más bajos:  $\beta = -0.79$  (95%CI= -1.51, -0.08) y  $\beta = -0.29$  (95%CI = -0.62, -0.03), respectivamente, para cada aumento de diez veces de exposición. El MnB estaba asociado positivamente con FT4 ( $\beta = 0.04$  (95%CI = 0.00, 0.07 por aumento de 1  $\mu\text{g/L}$ ), y las mujeres con altas concentraciones de metabolitos urinarios de piretroides tuvieron niveles inferiores de TSH (efectos no lineales). Para el análisis del efecto tardío, los metabolitos de piretroides, clorpirifos, así como MnH y PbB estuvieron asociados con una disminución de TSH o aumento de FT4 y/o FT3.

**Discusión:** El mancozeb (ETU) y el pirimetanil posiblemente inhiben la secreción FT4 (efecto tipo hipotiroidismo), mientras que el clorpirifos, piretroides MnB, MnH, PbB y Mn mostraron efectos tipo hipertiroidismo. Algunos efectos de la homeostasis tiroidea parecen ser inmediatos (mancozeb (ETU), pirimetanil, MnB), mientras que otros tardíos (clorpirifos, MnH, PbB) o ambos (piretroides), posiblemente reflejando diferentes mecanismos de acción.



## **Introducción**

La homeostasis tiroidea materna durante el embarazo, con concentraciones óptimas de tiroxina libre (FT4), triiodotironina (FT3) y hormona estimulante de la tiroides en suero, es esencial para el desarrollo cerebral del feto (Boas et al. 2012; Jansen et al. 2019). Niveles reducidos de FT4 al inicio del embarazo se han asociado con coeficientes intelectuales inferiores en varias cohortes de nacimiento (Levie et al., 2018). La función tiroidea es regulada por un sistema de retroalimentación complejo de hormonas circulando a niveles del hipotálamo y la pituitaria (Figura 1) (Boas et al., 2012). Alteraciones en estas concentraciones hormonales entre otras cosas, puede reflejar una función tiroidea hiperactiva (hipertiroidismo), caracterizadas por bajo TSH, alto FT4 y/o FT3, mientras una función tiroidea hipoactiva (hipotiroidismo) es reflejada por TSH alto, bajo FT4 y/o FT3 (Dayan, 2001).

Los químicos ambientales pueden alterar la función tiroidea en una variedad de formas incluyendo: 1) en la propia glándula al interferir con los receptores de TSH o la síntesis de hormonas tiroideas; 2) alterar el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo; 3) modifica la unión entre las proteínas transportadoras de hormonas tiroideas; 4) inducción de enzimas hepáticas llevando a un aumento en la inactivación y luego a la excreción de hormonas tiroideas del cuerpo, y 5) aumentar o disminuir la expresión de los genes que regulan las hormonas tiroideas (Boas et al. 2012; Du et al. 2010; Goldner et al. 2013; Hernández et al. 2020; Maranghi et al. 2013). Por ejemplo, un aumento en las concentraciones de plomo en la sangre (PbB) en mujeres de China y Kosovo han sido asociados con el aumento de TSH, una disminución de FT4 y el aumento de anticuerpos de peroxidasa tiroidea (TPO) (Kahn et al. 2014; Nie et al. 2017), sin embargo, los mecanismos subyacentes a cargo son poco entendidos. La exposición a plaguicidas también es de preocupación dado que 2 millones de plaguicidas son usados anualmente, pero los efectos de los plaguicidas de uso común sobre la función tiroidea de mujeres embarazadas han sido poco estudiados (Leemans et al. 2019; Sharma et al. 2019; Zhang et al. 2013).

Globalmente, uno de los plaguicidas más utilizados es el fungicida etileno-bis-ditiocarbamato (EBDC), mancozeb, registrado para su uso en más de 120 países (Gullino et al., 2010). En Costa Rica, el mancozeb es aplicado semanalmente con aeronaves ligeras en cultivos de bananos con propósitos de exportación (Bravo et al. 2013). Las formulaciones de EBDC están frecuentemente contaminadas con su metabolito

etilentiourea (ETU) (EPA Oficina de Programas de Plaguicidas 2005). Se piensa que la presunta toxicidad del EBDC en la tiroides en humanos es causada por ETU; ratas expuestas a ETU mostraron hipotiroidismo reflejado por la disminución del T4 (Axelstad et al. 2011) y el aumento de TSH (Maranghi et al., 2013). Estudios en trabajadores también mostraron efectos tipo hipotiroidismo, dado que trabajadores en manufactura de hule expuestos a ETU tuvieron una disminución del T4 (Smith 1984), y trabajadores en agricultores expuestos a EBDC tuvieron un aumento en concentraciones de TSH en suero (Panganiban et al., 2004; Steenland et al., 1997). El mancozeb contiene 20% (w/w) de manganeso (Mn), un elemento esencial que en exceso puede ser tóxico (FAO 1980; Mora et al. 2018). Memon et al. (2015) encontró que las concentraciones promedio más altas y bajas de Mn en suero en mujeres adultas estaban asociadas con hiper- e hipotiroidismo respectivamente. Sin embargo, ningún estudio reportado el efecto del ETU y el manganeso juntos en la función tiroidea.

Además del mancozeb, otros fungicidas son utilizados en la producción de banano que también pueden influenciar la homeostasis tiroidea. El fungicida anilino pirimidina pirimetanil es ampliamente aplicado en agricultura y aplicado de forma aérea en los cultivos de bananos (Córdoba Gamboa et al., 2020). Las ratas y ratones expuestos (sub) crónicamente al pirimetanil mostraron un aumento en las concentraciones de TSH y una disminución de T4 en suero (Brucker-Davis et al., 2011; Hurley et al., 1998). El tiabendazol es generalmente utilizado como un fungicida antes de la siembra y después de la cosecha (Ekman et al., 2013) y aplicado después de la cosecha de bananos (Córdoba Gamboa et al., 2020). Las ratas expuestas al fungicida tiabendazol mostraron alteraciones en las hormonas tiroideas, el volumen de la tiroides, y en la formación de adenomas de células foliculares tiroideas (EFSA, 2014; US-EPA, 2002).

Los insecticidas y herbicidas también pueden alterar la función tiroidea, pero las evidencias de estudios epidemiológicos es poca e inconclusa. La exposición a los insecticidas clorpirifos entre hombres adultos ha sido asociada con la inhibición y con mujeres adultas con la estimulación de la función tiroidea (Fortenberry et al., 2012; Meeker et al., 2006). En Costa Rica, los clorpirifos son utilizados en las bolsas para proteger los bananos de insectos durante el crecimiento (van Wendel de Joode et al., 2012). Los insecticidas piretroides sintéticos, utilizados comúnmente tanto en agricultura como en ambientes hogareños, pueden alterar la función tiroidea al unirse a los receptores hormonales debido a la similitud de sus estructuras químicas como fue medido en su habilidad de unirse a los receptores de hormonas tiroideas (Du et al. 2010). Finalmente, el herbicida 2,4-D es utilizado como controlador de hierbas de hoja ancha en pastos y algunas

veces en campos de fútbol. Knopp (1994) no reportó efectos sobre T4, T3 y TSH en trabajadores de fabricas expuestos a 2,4-D, pero no se presentaron las asociaciones específicas. Los resultados de estudios en animales mostraron que ratas y ovejas expuestas a 2,4-D tuvieron un T3 y T4 menor (Kobal et al., 2000; Rawlings et al., 1998).

El estudio Infantes y Salud Ambiental (ISA) es un estudio comunitario tipo cohorte de nacimiento ubicada en un área de cultivo de banano en el Norte del Caribe de Costa Rica, diseñada para evaluar los efectos de la exposición a plaguicidas y el exceso de manganeso en la salud de infantes y mujeres (Mora et al. 2014, 2015, 2020, 2018; van Wendel de Joode et al. 2014, 2016). La población de estudio está expuesta a plaguicidas utilizados en agricultura, control de vectores y en los hogares; al manganeso por el mancozeb y por fuentes naturales; y para niveles muy bajos de plomo (probablemente de pintura vieja y tuberías de agua) (Cuadro S1). En este estudio, evaluamos si la exposición a plaguicidas de uso común, manganeso y plomo estaba asociada con las concentraciones hormonales de TSH, FT4 y FT3 en suero en mujeres embarazadas de la cohorte de nacimiento de ISA.

## **Materiales y Métodos**

### *Población de estudio*

Entre marzo del 2010 y junio del 2011, incluimos 451 mujeres mayores de 15 años de edad con una edad gestacional menor a 33 semanas, que vivían en el cantón de Matina, Limón Costa Rica (van Wendel de Joode et al., 2014). Todas las mujeres dieron un consentimiento informado antes de participar. Para mujeres menores de 18 años, su representante legal también dio el consentimiento informado. Todas las actividades del estudio fueron aprobadas por el Comité Ético Científico de la Universidad Nacional en Costa Rica (CECUNA-11-2009). Obtuvimos tanto la muestra de orina como de sangre de las mujeres durante la inclusión o poco después. Para este estudio, incluimos 400 de las 451 (89%) mujeres embarazadas que tuvieran información de concentraciones de metabolitos de exposición y de TSH, FT4 y FT3 en suero. Excluimos dos mujeres con hipotiroidismo confirmado por un médico. Para 245 de las 400 mujeres, obtuvimos una segunda muestra de sangre alrededor de diez semanas después de la primera muestra (promedio 10.7 semanas, DE=4.1)

### *Entrevistas maternas, edad gestacional e índice de masa corporal antes del embarazo*

La recolección de datos durante el embarazo, post-parto y al año de edad se ha descrito en detalle previamente (van Wendel de Joode et al. 2014; Mora et al. 2015, 2018). Obtuvimos información sobre variables sociodemográficas y ocupacionales, uso de plaguicida en el trabajo y el hogar, historia médica, y hábitos de estilo de vida, entre otros. Calculamos la edad gestacional (GA) utilizando la información del primer día del último periodo menstrual, ultrasonido (>14 semanas de gestación) o registros médicos (Mora et al., 2015). Adicionalmente, para seis mujeres utilizamos la información de la medida de la altura de la sínfisis púbica. Calculamos el índice de masa corporal (IMC) antes del embarazo con el peso en kilogramos / (altura en metros)<sup>2</sup>, utilizando el peso materno antes del embarazo (si estuviera disponible) o el peso en la primera visita de cuidado prenatal (si era <14 semanas de gestación) obtenido de los registros médicos, y la altura medida por los entrevistadores del estudio.

#### *Muestreo y análisis de hormonas tiroideas*

Se midió el TSH, FT3 y FT4 en suero obtenido de muestras de sangre entera, recolectada en tubos de 9 ml de vidrio Vacuette® con activador de coágulos en suero. Dejamos la sangre coagular y luego centrifugar a 1000 X unidades gravitacionales (g), y separamos el suero siguiendo el procedimiento estandarizado (WHO 2012). Luego almacenamos las muestras a -20°C hasta enviarla a Suecia (Departamento de Química Clínica, Hospital Universitario de Malmö, Malmö, Suecia). Analizamos TSH, FT4 y FT3 con un inmunoensayo competitivo de dos pasos de electroquimioluminiscencia (ECLIA, por sus siglas en inglés), utilizando los analizadores de inmunoensayo Elecsys y Cobas-e (Cobas® 2017 TSH, FT3, FT4 Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Los límites de detección (LD) fueron: TSH = 0.005 mIU/L, FT4 = 0.5 pmol/L y FT3 = 0.6 pmol/L.

#### *Muestreo y Análisis de metabolitos de plaguicidas urinarios*

Las muestras de orina fueron recolectadas y almacenadas como se ha descrito previamente (van Wendel de Joode et al., 2014). Para analizar las muestras de orina para los metabolitos de plaguicidas, utilizamos un espectrómetro de masas de cromatografía líquida bidimensional (LC/MS/MS; UFLCRX; Shimadzu Corporation, Kioto, Japón) con triple cuadrupolo y trampa lineal de iones QTRAP 5500; AB Sciex, Foster City, CA. USA) (Mora et al. 2020; Norén et al. 2020). Medimos los siguientes metabolitos de plaguicidas específicos (Cuadro Suplementario TS1): ETU para mancozeb, hidroxipirimetanil (OHP) para pirimetanil, 5-hidroxitiabendazol (OHT) para tiabendazol, 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCPy) para clorpirifos y 2,4-D para 2,4-D (Ekman et al., 2014, 2013; Faniband et al., 2019). También analizamos dos metabolitos no específicos

para piretroides sintéticos: 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano ácido carboxílico (DCCA), entre otros para, cipermetrina-alfa, deltametrina, ciflutrina-beta, cihalotrina-lambda, y permetrina; y ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA), entre otros para, cipermetrina-alfa, ciflutrina-beta y permetrina. El laboratorio de la Universidad de Lund es parte de un programa control de inter-laboratorios para TCP y 3-PBA (Erlangen, Alemania). Todas las concentraciones de ETU, TCPy, y 3PBA estuvieron por encima del límite de detección (LD); OHP, OHT y DCCA fueron detectados en 87%, 66% y 99%, respectivamente. Las concentraciones de metabolitos de plaguicidas en la orina que estuvieron por debajo de los LD pero encima del LD/2 se imputaron con el valor indicado por el equipo analítico; las muestras por debajo de LOD/2 se fijaron a LOD/2. La gravedad específica (kg/l) (sg) de cada muestra de orina fue medida con un refractómetro manual y las concentraciones de metabolitos de plaguicidas fueron ajustadas por dilución por:  $M_{sg} = M * [(1.017 - 1)/(SG - 1)]$ , donde  $M_{sg}$  es la concentración de metabolitos corregida por gravedad específica ( $\mu\text{g/L}$ ),  $M$  es la concentración del metabolito observado ( $\mu\text{g/L}$ ),  $SG$  es la gravedad específica de la muestra de orina, y 1.017 kg/L es la gravedad específica promedio para todas las muestras de orina incluidas en este estudio (n=400).

#### *Muestreo y análisis de manganeso en el pelo*

Las muestras de pelo (~20–30 hebras) fueron tomadas de la región occipital, cortando a 2mm del cuero cabelludo, almacenadas en bolsas plásticas a temperatura ambiente (20-25°C) y enviadas a la Universidad Federal de Bahía, Brasil para su análisis (Mora et al., 2014). Brevemente, el centímetro más cercano al cuero cabelludo fue analizado, dado a que representa a las últimas tres semanas de exceso de Mn. El Mn fue medido utilizando espectrometría atómica electrotermica con corrección de fondo de Zeeman (GTA-120; Varian, Inc. (Menezes-Filho et al., 2009). Las muestras por debajo del LD (0.1  $\mu\text{g g}$  n=2) fueron fijadas a LOD/2.

#### *Muestreo y análisis de manganeso y plomo en la sangre*

Las muestras de sangre venosa se recolectaron en tubos libres de metal EDTA (ref. número 454036, Greiner Bio-One Vacuette, Monroe, NC), fueron congeladas a -20°C hasta su envío a la Universidad de California, Santa Cruz, para su análisis (Mora et al., 2014). Las muestras fueron analizadas por Mn y Pb con una espectrometría de masas de alta resolución con plasma acoplado inductivamente (Finnigan XR ICP-MS)

(Smith et al. 2007). Todas las muestras tenían Mn ( $>0.003 \mu\text{g/L}$ ) y Pb ( $>0.0016 \mu\text{g/L}$ ) detectado (Mora et al., 2018).

### *Análisis estadístico*

Utilizamos análisis descriptivos y gráficos de distribución para explorar todas las variables. Probamos si las variables continuas siguieron una distribución normal (Shapiro–Wilk W-test). Dado que las concentraciones de metabolitos de plaguicidas en la orina, manganeso en el pelo, PbB y TSH siguieron una distribución log normal, utilizamos concentraciones transformadas a log 10 en los análisis estadísticos. Evaluamos las asociaciones entre biomarcadores de exposición, covariables, TSH, FT4, FT3 con pruebas de Chi-cuadrado de Pearson para medidas categóricas, prueba de t-Student, prueba de diferencia significativa honesta de Tukey (Tukey's Honest Significant Difference test), coeficiente de correlación de Spearman, y corrimos análisis de regresión bivariado.

Basándonos en la literatura, identificamos las siguientes posibles variables confusoras y predictores conocidos de las concentraciones de hormonas tiroideas y TSH en suero durante el embarazo: edad gestacional durante el muestreo (semanas); edad materna (años); más que educación primaria (sí/no); paridad ( $0/\geq 1$ ); IMC antes del embarazo ( $\text{peso}/(\text{altura})^2$ ); ingreso familiar (debajo/sobre la línea de pobreza); trabajo agrícola materno (sí/no); trabajo agrícola paterno (sí/no); fumado (sí/no); cotinina detectada en muestras de orina (sí/no); consumo de pescado (sí/no); café (sí/no); suplementos vitamínicos (sí/no); y vómito durante el embarazo resultando en la pérdida de peso, o requiriendo hospitalización o hidratación intravenosa (sí/no). Variables con valores faltantes ( $<10\%$ ) fueron imputados aleatoriamente seleccionando una variable del subconjunto de observaciones con valores conocidos de la covariable: edad gestacional durante el muestreo ( $n=4$ ), paridad ( $n=6$ ), ingreso familiar ( $n=9$ ), y vómito ( $n=4$ ). Para 31 mujeres, faltaba la información del peso antes del embarazo y generamos el valor esperado de esta variable por medio de un modelo de regresión incluyendo peso materno cuando los niños tenían un año de edad y la paridad ( $0/\geq 1$ ) ( $R^2=0.84$ ) para 17 de las mujeres. Para las 14 mujeres restantes, que no contaban con la información del peso durante la visita al año de edad, generamos el valor del peso esperado antes del embarazo por un modelo de regresión incluyendo educación y edad materna al incluirse ( $R^2=0.12$ ).

Corrimos modelos de regresión lineal múltiple para evaluar asociaciones transversales entre los metabolitos urinarios de plaguicidas, MnH, MnB o PbB y TSH, FT4 y FT4 ( $n=400$ ). Para evaluar un efecto

aditivo de los plaguicidas, calculamos la suma de los valores de 3-PBA y DCCA (ambos metabolitos de piretroides) así como el ETU y OHP (ambos fungicidas). Incluimos la edad materna como variable *a priori*, también incluimos la edad gestacional a la hora del muestreo, cotinina (detectada si/no), IMC antes del embarazo y vómito severo durante el embarazo, dado que estos cambiaban la beta estimada del efecto con 10% o más. Utilizamos la prueba de Rosner para identificar valores extremos de los metabolitos, TSH, FT4 y FT3 y posteriormente los excluimos del análisis dado que el efecto de estimaciones de la beta cambió más de 10% en la mayoría de los modelos. Para el MnB calculamos el porcentaje de diferencia en la concentración de TSH asociado con una 1-unidad de aumento de la concentración de MnB mientras que las demás variables en el modelo se mantuvieron constantes, por  $[10^{(\beta)} - 1] \times 100$  (Halvorsen and Palmquist, 1980). Adicionalmente, para la exposición de los metabolitos que fueron transformados a log<sub>10</sub>, calculamos el % de cambio en TSH por cada aumento de 10% de concentración de metabolito de exposición por  $[(1.10^{\beta}) - 1] \times 100$  (UCLA: Statistical Consulting Group. 2020 (en línea). También estimamos el cambio en FT4 o FT3 para cada 1-unidad de aumento en MnB; mientras que, para los demás metabolitos de exposición, las  $\beta$  estimadas reflejan el cambio en FT4 o FT3 para cada aumento de 10 veces en exposición. Adicionalmente, para detectar un posible efecto de exposición tardío, volvimos a correr los modelos utilizando como resultado las concentraciones de la segunda muestra de hormona tiroidea o TSH y la primera medida de exposición como predictor de efecto (n=245). Como análisis de sensibilidad, para ser capaces de comparar los resultados del análisis transversal y los efectos tardíos para las mismas mujeres, también volvimos a correr todos los análisis transversales limitados a mujeres con una segunda muestra de TSH, FT4, o FT3 (n=245). Para todos los modelos de regresión lineal, probamos los modelos residuales por normalidad (prueba Shapiro-Wilk), autocorrelación (Durbin-Watson) y multicolinealidad (factores de inflación de varianza).

Exploramos las asociaciones no lineales con modelos aditivos generalizados (GAM) ajustados por covariables con términos de "splines" de suavizado con penalizaciones ("penalized spline smooth terms") para exposición continua (restringida a un máximo de 4 nudos) y gráficos explorados visualmente. Consideramos los modelos de regresión lineal si los grados de libertad estimados (edf) >2 y el valor-GAM < 0.05.

Finalmente, examinamos dos tipos de modelos que incluyeron todos los metabolitos simultáneamente. Primero implementamos una regresión lineal multivariada Bayesiana que emplea una búsqueda

estocástica para la selección de variables (George and McCulloch 1993). Este modelo examina los efectos aditivos de todas las exposiciones en la respuesta, mientras asigna probabilidades a cada variable que es incluido en el modelo verdadero. También exploramos una relación exposición-respuesta más general utilizando una regresión Bayesiana por máquinas del kernel (Bayesian kernel machine regression-BKMR), la cual puede acomodar la interacción y los efectos no lineales (Bobb et al., 2018). Para los modelos lineales estas probabilidades son recuperadas utilizando la prioridad “spike-and-slab” estándar, donde las distribuciones previas están escaladas a la respuesta y las variables predictivas que son escaladas a priori (George and McCulloch 1993). Los detalles computacionales son proporcionados en el material suplementario (Text S1). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con R (versión 3.5.3; R Development Core Team).

## **Resultados**

Las 400 mujeres que dieron muestras eran jóvenes, la mayoría tenía solo la escuela primaria, y el 60% vivía bajo la línea de pobreza en Costa Rica (Cuadro 1). Pocas mujeres (8%) trabajaban en agricultura durante el embarazo, mientras que el 60% de sus parejas trabajaba mayormente en plantaciones de banano. Alrededor de un cuarto de las mujeres vivían <50 metros de las plantaciones de banano. Todas las concentraciones de metabolitos de plaguicidas en orina, MnH y PbB estaban desviadas a la derecha, solo el MnB estaba distribuido normalmente (Cuadro 2). En general, solo el DCCA y el 3-PBA, los cuales son metabolitos parcialmente de los mismos piretroides, estaban correlacionados ( $r=0.80$ ). Los demás metabolitos no estaban correlacionados o estaban débilmente correlacionados ( $r \leq 0.30$ ) (Cuadro S2). Las medianas de las concentraciones de metabolitos de plaguicidas en la orina más altas fueron observadas para ETU, seguido por TCPy, DCCA y 3-PBA (Cuadro S3). El OHT mostró las concentraciones de la mediana más bajas, pero las mujeres trabajando en agricultura ( $n=33.8\%$ ) de las cuales la mayoría trabajaban en empacadoras de plantaciones de banano ( $n=30$  de  $33$ ,  $7.5\%$ ), tenían OHT considerablemente más alto comparado con mujeres que no: media geométrica (MG)  $95\%CI = 0.65$  ( $0.28, 1.54$ ) versus GM,  $95\%CI = 0.09$  ( $0.07, 0.11$ )  $\mu\text{g/L}$  respectivamente.

Como se esperaba, las mujeres que donaron su muestra durante el primer trimestre de embarazo tenían un TSH más bajo y un FT4 y FT3 más alto comparado con mujeres con muestras en el segundo o tercer trimestre (Cuadro 3). Alrededor del 20% de las mujeres tenían TSH fuera de los rangos de referencia

específicos por trimestre de las pruebas tiroideas Elecsys y la Asociación Americana de Tiroides, mientras que solo el 6% de las mujeres tenían FT4 más alto de lo esperado y las concentraciones de FT3 estaban dentro del rango normal (Roche©, 2009). Además, en los análisis bivariados, las mujeres que trabajaban en agricultura durante el embarazo tenían un FT4 más bajo (Cuadro S4) y tendieron a ser más bajas incluso al ajustarlo por edad, edad gestacional al momento del muestreo, cotinina, IMC antes del embarazo y vómito severo durante el embarazo:  $\beta = -0.69$ ; 95% CI = -1.44; 0.05. Las mujeres con FT4 más bajo también tenían IMCs más altos, eran mayores, habían tenido hijos previamente, y consumían pescado. El TSH bajo estaba asociado con detección de cotinina. El FT3 más alto estaba asociado con un aumento de IMC y vómito severo.

Con respecto al análisis transversal de la exposición de plaguicidas y la función tiroidea, el TSH y FT3 no estuvieron influenciados por ninguno de los fungicidas (Figura 2<sup>A-C</sup> y Cuadro S5). Sin embargo, para FT4, encontramos que mujeres con ETU más alto tenía un FT4 más bajo ( $\beta = -0.79$ ; 95% CI = -1.51, -0.08;  $R^2 = 0.25$ ) por cada aumento de 10 veces en el ETU urinario. Asimismo, para el fungicida pirimetanil, encontramos que concentraciones más altas de OHP estaban asociadas con FT4 más bajo ( $\beta = -0.29$ ; 95% CI = -0.62, 0.03;  $R^2 = 0.25$ ). La suma de ETU y OHP mostró una asociación más fuerte ( $\beta = -0.96$ ; 95% CI = -1.65, -0.27;  $R^2 = 0.26$ ) que el ETU o el OHP por si solos, sugiriendo un efecto aditivo. El metabolito tiabendazol (OHT) no estaba asociado con FT4. No observamos efectos no lineales o efectos tardíos por exposición a fungicidas (Figura 3<sup>A-C</sup>, Cuadro S6).

Para insecticidas, la exposición a clorpirifos no explicó ninguna de las hormonas tiroideas en el análisis transversal (Figura 2<sup>A-C</sup>, Cuadro S5), sin embargo, el aumento de exposición a clorpirifos (TCPy) estaba asociado tanto con FT4 y FT3 en suero más alto obtenido diez semanas después de la exposición:  $\beta = 0.75$ ; 95% CI = -0.03, 1.53;  $R^2 = 0.09$ ) y  $\beta = 0.30$ ; 95%CI: 0.09, 0.52;  $R^2 = 0.12$ ), respectivamente, por cada aumento de diez veces en TCPy (Figura 3<sup>B,C</sup>, Cuadro S6). Además, los resultados tanto transversales y de efecto tardío mostraron un aumento en la exposición de piretroides (3-PBA, DCCA, and 3PBA+DCCA) con la asociación no lineal a TSH más bajo (Figura 4). El herbicida 2,4-D no mostró asociaciones con ninguna hormona tiroidea, ni TSH para todos los análisis.

En cuanto a los metales, los resultados del análisis transversal mostraron que las mujeres con concentraciones de MnB más altas tenían tanto FT4 ( $\beta = 0.04$ ; 95% CI = 0.00, 0.07;  $R^2 = 0.24$ ) como FT3 ( $\beta$

= 0.01; 95% CI = 0.00, 0.02;  $R^2 = 0.24$ ) más alto, respectivamente (Cuadro S5), y no se observaron efectos tardíos (Cuadro S5). En contraste, el MnH estaba asociado con un efecto positivo tardío observado para FT3 ( $\beta$  por aumento de 10-veces = 0.16; 95% CI = 0.03, 0.28, (Cuadro S6), pero no en el análisis transversal ( $\beta$  por aumento de 10 veces = 0.08; 95% CI = -0.04, 0.19) (Figura 2<sup>C</sup>, Cuadro S5). Finalmente, para plomo, las mujeres con las concentraciones más altas de plomo tenían FT4 más alto tanto en el análisis transversal como el análisis tardío (Figura 2<sup>B</sup> y 3<sup>B</sup>, Cuadro S5 y S6), pero no observamos ninguna asociación para TSH y FT3.

En general, los resultados del análisis transversal de metabolitos de exposición y FT4, FT3, y TSH para todas las mujeres (n=400) y el efecto de análisis tardío (n=245) fueron similares, aunque las estimaciones fueron atenuados por el tamaño de muestra más pequeño (Cuadro S7). Las estimaciones de las regresiones lineales multivariadas Bayesianas con selección de variables por búsqueda estocástica que incluyeron todas las exposiciones se muestran en el Cuadro 8. Los efectos del tamaño en estos modelos de exposición múltiple fueron en general pequeños. No obstante, consistentes con los modelos de exposición simple, mujeres con ETU+OHP más altos tenían concentraciones de FT4 en suero más bajas [ $\beta = -0.14$  (95%CI= -0.45, 0.02)] y mujeres con PbB más alto tenían FT4 ligeramente más altos [ $\beta = 0.09$  (95% intervalo confiable -0.18, 0.71)]. El Cuadro S9 muestra la inclusión de probabilidades posteriores para todas las variables tanto en los modelos de regresión lineal multivariada Bayesiana con selección de variables por búsqueda estocástica, así como los modelos de regresión Bayesiana por máquina de núcleos (Bayesian kernel machine regression-BKMR). Con respecto a los modelos lineales multivariados Bayesianos, los resultados en general coincidieron con los resultados de los modelos de regresión lineal de exposición simple (Figura 2A-C y Cuadro S5); observamos las probabilidades más altas de inclusión en el modelo FT4 para (ETU+OHP), MnB, y PbB con inclusión de probabilidades de 62%, 62%, y 50% respectivamente. Esto indica evidencia moderada de relaciones con FT4, después de ajustarlo para otras exposiciones. Las probabilidades posteriores de inclusión para las regresiones Bayesianas por máquinas de kernel (Bayesian kernel machine regression-BKMR) eran consistentemente más pequeñas que las de las regresiones lineales; todas las probabilidades estaban entre 1-35% (Cuadro S8). Esto muestra que el modelo BKMR no mejoró el ajuste de los datos, por lo tanto, nuestro análisis de mezcla dependió de las estimaciones de las regresiones lineales multivariadas Bayesianas con selección de variables por búsqueda estocástica.

## **Discusión**

Los resultados del estudio mostraron que la exposición a fungicidas, insecticidas, manganeso, y plomo estaban asociados con cambios en las concentraciones de hormonas tiroideas en mujeres embarazadas del estudio ISA, especialmente FT4. En el análisis transversal, observamos FT4 más bajos con un aumento en la exposición de mancozeb/ETU y pirimetanil, y aumento de FT4 en mujeres con aumento de MnB y PbB. En el subconjunto de las mujeres con la segunda muestra de suero, el FT3 aumento entre mujeres con mayor exposición a clorpirifos y mayor MnH al momento de la inclusión, estos fueron efectos tardíos, alrededor de diez semanas luego de que la exposición fue medida. Consistentemente, las concentraciones de TSH más bajas fueron observada en mujeres con exposición alta a piretroides tanto en los análisis transversales como en los análisis de efecto tardío; estas asociaciones no son lineales.

Los valores más bajos de FT4 observados en el presente estudio en mujeres embarazadas con ETU urinario elevado, coincide con estudios en humanos previos que reportan efectos similares al hipotiroidismo en relación con exposiciones de ETU y EDBC. Los trabajadores de una fábrica de hule, expuestos a ETU, tenían un T4 más bajo que los trabajadores no expuestos (Smith 1984), y trabajadores agrícolas mexicanos y filipinos expuestos a EDBC tenían aumentos en las concentraciones de TSH en suero Steenland et al. 1997; Panganiban et al. 2004). Smith et al. (1984) reportó una disminución de T4 entre los trabajadores expuestos a ETU durante las actividades de producción de hule, comparado con trabajadores con exposiciones más bajas, pero solo un trabajador tenía el TSH alterado. Steenland et al. (1997) y Panganiban et al. (2004) reportaron un aumento de TSH, pero no una disminución de T4, en trabajadores agrícolas expuestos a EDBC. Adicionalmente, un estudio transversal entre los residentes de granjas de Brasil encontró que los hombres, pero no las mujeres con más días de exposición a EDBC durante su vida, tenía un aumento de TSH y disminución de FT4 (Piccoli et al., 2016). En contraste, los resultados del estudio transversal entre hombres adolescentes españoles (Freire et al., 2021) no mostraron ninguna asociación para ETU urinaria con TSH, FT4, y T3 total, pero sus concentraciones medianas de ETU eran alrededor de seis veces menores que las observadas en las mujeres embarazadas de este estudio [0.5 versus 2.9 µg/g de creatinina (van Wendel de Joode et al., 2014), respectivamente]. Finalmente, las esposas de aplicadores de plaguicidas expuestos a fungicidas de EDBC tenían un riesgo aumentado de tanto hipo- como hipertiroidismo (Goldner et al. 2010; Shrestha et al. 2018). El efecto inhibitorio del mancozeb y el ETU en la función tiroidea puede darse por la interferencia de la absorción activa de yodo mediado por del simportador de sodio/yodo (NIS) y por lo tanto interfiere directamente con la síntesis de hormonas tiroideas (Hallinger et al., 2017; Hurley

et al., 1998; Kackar et al., 1997). Esta hipótesis es apoyada por los resultados de un estudio en trabajadores expuestos a mancozeb en Italia donde el aumento de la excreción urinaria de yodo ( $> 250 \mu\text{g/L}$ ) fue observado más frecuentemente en trabajadores con mayor exposición (ETU urinario  $> 20 \mu\text{g L}$ ) (Medda et al., 2017). El efecto observado en nuestro estudio pareciera inmediato dado que se observó solo en el análisis transversal; sin embargo, este hallazgo puede ser de relevancia biológica dado a que aún con cambios pequeños en la homeostasis tiroidea pueden afectar el desarrollo neurológico fetal (Boas et al., 2012).

Con respecto a los demás fungicidas, nuestros resultados de concentraciones más altas del metabolito de pirimetanil asociado con una disminución de FT4 en el análisis transversal, aunque no estadísticamente significativo, en parte coincide con los resultados de estudios en ratas expuestas a pirimetanil que tenían menor T4 en suero (Hurley et al. 1998). El pirimetanil es pensado que causa la inducción de la enzima hepática llevando a un aumento de la inactivación y luego excreción de las hormonas tiroideas del cuerpo (Hernández et al., 2020). La asociación más fuerte de la suma de concentraciones de ETU y OHP sugieren un efecto aditivo cuando es expuesta tanto a mancozeb/ETU y pirimetanil. Asimismo, en nuestro estudio, los metabolitos del fungicida tiabendazol en la orina no explicaron la función tiroidea, aunque estudios en ratas expuestas a tiabendazol reportaron la alteración de hormonas tiroideas y del volumen de la tiroides, en parte de estos estudios, también se observó la formación de adenomas de células foliculares tiroideas (US-EPA, 2002; EFSA, 2014). Una posible explicación para esta diferencia es que las mujeres participando en la cohorte de ISA generalmente tenían baja exposición a tiabendazol, excepto del 8% de mujeres que trabajaban en agricultura, principalmente plantaciones de banano (7.5 de 8%). El tiabendazol es utilizado como fungicida post-cosecha, antes del empaque para su envío; ya que no es fumigado por vía aérea, la exposición a tiabendazol es principalmente ocupacional. Las mujeres trabajando en agricultura durante el embarazo tenían concentraciones de metabolito de tiabendazol en orina con alrededor de 10 veces más altas que mujeres que no tenían esta condición e interesantemente, las mujeres que trabajaban en agricultura durante el embarazo también tendieron a tener un menor FT4; posiblemente exposiciones de tiabendazol más altas inhiben las hormonas tiroideas, pero dado a que pocas mujeres tenían esta exposición relativamente alta de tiabendazol puede que hayamos tenido poco poder para observar este efecto en todas las mujeres ( $n=400$ ), o posiblemente las mujeres fueron expuestas a otros plaguicidas que no medimos pero son utilizados en plantas empacadoras, por ejemplo imazalil. Las mujeres embarazadas

que trabajaban en agricultura también tenían concentraciones de ETU más altas (van Wendel de Joode et al., 2014).

En cuanto a los insecticidas, nuestros hallazgos del metabolito de clorpirifos TCPy asociado con FT3 más alto, medido aproximadamente diez semanas después, sugiere un efecto estimulador tiroideo tardío de clorpirifos en la función tiroidea, mientras que nuestro análisis transversal no mostró ninguna asociación. Los resultados de estudios transversales en hombres y mujeres de la población general fueron inconclusos; algunos sugirieron efectos estimuladores en FT4 y TSH, mientras que otros sugirieron efectos inhibitorios o asociaciones nulas (Meeker et al. 2009; NHANES 1999-2002; Fortenberry et al 2012; Suárez et al., 2021). Ninguno de estos estudios se han dirigido a los efectos tardíos en mujeres embarazadas. Adicionalmente, para la exposición de insecticidas piretroides sintéticos, observamos consistentemente concentraciones menores de TSH más bajas en mujeres con exposiciones más altas de piretroides (estas asociaciones fueron no lineales). Un estudio de cohorte en Tokio no observó efectos de exposición a piretroides sobre la función tiroidea en mujeres embarazadas o neonatos, sin embargo, los niveles de exposición (mediana=0.36 µg/l) fueron alrededor de la mitad de bajo (Zhang et al. 2013) comparado a los niveles observados en nuestro estudio (mediana=0.69 µg/l). Asimismo, nuestros hallazgos contrastan con los resultados del estudio de la cohorte de nacimiento de Suráfrica en donde las concentraciones maternas de metabolitos de piretroides en la orina durante el embarazo estaban asociadas con el aumento de TSH en recién nacidos (Chevrier et al., 2019). Estos hallazgos diferentes se pueden dar porque Chevrier et al. (2019) midieron TSH en recién nacidos (mediana 8 días postparto) mientras que nosotros medimos TSH en mujeres embarazadas. Además, nuestras asociaciones fueron no lineales, mientras que Chevrier et al. reportaron asociaciones lineales luego de transformar tanto los metabolitos de piretroides como TSH a la escala log 10. Los niveles de exposición de piretroides en el estudio de Chevrier et al. y el nuestro estudio fueron similares. Los piretroides tienen estructuras similares a las hormonas tiroideas T3 y T4 por lo que puede alterar homeostasis tiroidea, causando modificaciones en la unión de las proteínas tiroideas transportadoras e interfiriendo con los caminos de señales de hormonas tiroideas (Du et al. 2010; Zhang et al. 2013; Hernández et al., 2020); pero estos efectos pueden ser diferentes para exposiciones altas y bajas de piretroides, y no lineales. Nuestros hallazgos de exposición a piretroides siendo asociados con efectos similares al hipertiroidismo, coinciden con los resultados de un estudio reciente en ratas Sprague-Dawley

y las células tiroideas de ratas que indican hipertiroidismo inducido por el piretroide cipermetrina (Ha et al., 2021).

Observamos asociaciones nulas para el herbicida 2,4-D lo cual es consistente con un pequeño estudio en 21 hombres y 18 mujeres trabajadoras en plantas de producción de herbicidas para quienes no se reportaron anomalías notables en la función tiroidea durante un periodo de cinco años, sin embargo, las asociaciones del 2,4-D urinario con T4, T3, y TSH no fueron presentadas (Knopp 1994). En nuestro estudio, las concentraciones 2,4-D fueron relativamente bajas, aunque frecuentemente detectada.

El manganeso es un elemento esencial y tanto la falta como exceso de Mn pueden afectar la homeostasis tiroidea, aunque el mecanismo es desconocido (Memon et al. 2015). En nuestro estudio, el manganeso parece que tiene un efecto estimulador en la función tiroidea dado a que MnB estaba asociada con un aumento FT4 y FT3, y MnH con un aumento de FT3 (efecto tardío); pero no observamos resultados consistentes para Mn tanto en sangre como en pelo. MnB y MnH reflejan medidas de Mn, y no estaban correlacionadas ( $r=-0.04$ , Cuadro S2). MnB, siendo el Mn un elemento esencial, es homeostáticamente regulado por diferentes sistemas en el cuerpo, mientras que MnH es pensado para que refleje el exceso de Mn durante las últimas tres semanas (Mora et al., 2018). Además, aunque tanto el ETU y el Mn son metabolitos del mancozeb, encontramos resultados opuestos para el ETU y el Mn, por lo que es posible que sus mecanismos de acción tiendan a diferir. En nuestro estudio, el exceso de manganeso puede ocurrir de tomar agua de pozo conteniendo Mn y el manganeso de la exposición al mancozeb aplicada con aeronaves ligeras (Mora et al., 2014; van Wendel de Joode et al., 2016). El aumento de FT3 con MnH coincide parcialmente con los resultados de estudios previos. Memon et al. (2015) encontró que las mujeres en Paquistán con hipertiroidismos tenían un promedio más alto de concentraciones de Mn en suero comparado con mujeres con función tiroidea normal, mientras que mujeres con hipotiroidismo tenían promedios de concentraciones de Mn en suero.

De acuerdo con nuestros resultados, el PbB también podría estimular la función tiroidea dado que las mujeres con concentraciones más altas de PbB tenían FT4 más alto tanto en el análisis transversal como en el efecto tardío. Los niveles de PbB en nuestra población fueron bajos (mediana=7, p90=12), similar a las mujeres de la Encuesta para la Evaluación de la Salud y Nutrición Nacional (NAHNES) en 2003-2004: mediana=6 p95=18  $\mu\text{g/l}$  (Woodruff et al., 2011). Similar a este estudio, los resultados del análisis de

NAHNES en 2007-2010 entre mujeres mostraron que con el aumento en PbB estaba asociado con un aumento en FT4, pero no asociado con TSH o FT3 (Luo y Hendryx, 2014). En contraste, los resultados de un estudio con mujeres embarazadas de Kosovo (promedio PbB=200 ± 70 µg/L) mostró un PbB más alto asociado con concentraciones de FT4 más bajas (Kahn et al. 2014), y un estudio en China (mediana PbB=38, p25-75=25-55 µg/l) (Nie et al. 2017) encontró un PbB más alto asociado con un aumento de TSH, disminución de FT4 y un aumento en los anticuerpos de la peroxidasa tiroidea (anticuerpos TPO). Sin embargo, las concentraciones de PbB en estos estudios fueron de 6 a 30 veces más altas que las concentraciones medidas en nuestro estudio. El mecanismo de acción exacto en la función tiroidea es desconocido (ATSDR 2019), sin embargo, PB puede interferir con 5'-deiodinasa causando un desequilibrio en el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo, reflejado en un aumento del T4 en suero (Erfurth et al. 1987; Gustafson et al. 1989).

Este estudio tiene algunas limitaciones. Primero, el tiempo de respuesta de las hormonas tiroideas y el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo a las exposiciones ambientales en mujeres embarazadas es desconocido; por ejemplo, luego de una reducción de FT4 por la inhibición de peroxidasa tiroidea no es claro cuando las concentraciones de TSH se modificarán (Giray et al., 2010). Segundo, la mayoría de los estudios previos corresponden a trabajadores expuestos, voluntarios saludables y algunas veces diferentes métodos fueron utilizados para evaluar las exposiciones y efectos en la función tiroidea (Hartfort-Nielsen et al. 2011), limitando las comparaciones con estos. Tercero, solo obtuvimos una segunda muestra de la función tiroidea para una submuestra de las mujeres, no permitiendo una comparación directa entre los análisis transversales y de efecto tardío. Cuarto, mientras realizábamos múltiples comparaciones, algunas asociaciones pudieron ser encontradas por casualidad. Sin embargo, dado que los modelos incluidos en la exposición múltiple encontraron resultados similares a los modelos que incluyeron un metabolito de exposición a la vez, esto es poco probable. Por último, algunos estudios han incluido el yodo como una variable confusora porque la deficiencia de yodo afecta la función tiroidea (Giray et al. 2010; Zhang et al. 2013). Sin embargo, las mujeres en nuestro estudio no se esperan que tengan deficiencia de yodo porque la sal para consumo ha sido yodada desde hace algunas décadas en Costa Rica (UNICEF 2013).

Una fortaleza de nuestro estudio es que fuimos capaces a ajustar por un gran rango de confusores potenciales y nuestro tamaño de muestra fue más grande que la mayoría de los estudios en concentraciones de metabolitos de plaguicidas y la función tiroidea publicados hasta el momento (Smith

1984, Knopp 1994; Zhang et al. 2013; Khan et al. 2014). Utilizamos el biomonitoreo para medir la exposición para contaminantes que nos proveyeron con medidas de exposición que reflejan la absorción de todas las rutas de exposición (Fenske, 2005). Para nuestro conocimiento, este es uno de los primeros estudios con mujeres embarazadas para evaluar los efectos de los plaguicidas y metales en la función tiroidea.

## **Conclusiones**

Los resultados de este estudio muestran que la exposición a los fungicidas mancozeb, y/o su metabolito ETU, pirimetanil, y posiblemente tiabendazol durante el embarazo, estaban asociados con una inhibición a FT4, un efecto inhibitorio de la tiroides. En cambio, la exposición a clorpirifos, piretroides, plomo y exceso de manganeso, pareció estimular la función tiroidea, dado que observamos un aumento en el FT4, FT3, o una disminución en el TSH. La mayoría de las asociaciones fueron observadas para el FT4, e investigaciones futuras son necesarias para entender los mecanismos biológicos subyacentes que podrían explicar nuestros hallazgos.

Aunque los cambios en FT4, FT3 y TSH estuvieron en su mayoría dentro de los rangos clínicos, nuestros hallazgos son de preocupación dado a que incluso cambios sutiles en la función tiroidea de las mujeres embarazadas pueden afectar el desarrollo fetal y el desarrollo del infante durante la etapa temprana (Escobar et al. 2004; Hartford-Nielsen et al. 2011; Zhang et al. 2013). Siguiendo el principio precaución, recomendamos implementar medidas para reducir la exposición a plaguicidas, plomo, y exceso de manganeso.

## **Declaración de conflictos de interés**

Los autores declaran no tener conflictos de interés financieros actuales o potenciales.

## **Agradecimientos**

Estamos agradecidos con los participantes del estudio por participar y el equipo de campo de ISA, particularmente a Leonel Córdoba Gamboa, Juan Camilo Cano Cano y Claudia Hernández, por la recolección de datos. Este trabajo fue financiado por las siguientes subvenciones: PO1 105296-001 Centro de investigación de Desarrollo Internacional (IDRC); 6807-05-2011/7300127 Salud de Canadá (Health Canada); 2010-1211, 2009–2070, y 2014-01095 Consejo de Investigación Sueco Formas (Swedish Research Council Formas); RD 83451301 de la Agencia de protección Ambiental de Estados Unidos (U.S. EPA); D43 ES018745,

P01 ES009605, y R01 ES015572 del Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental (NIEHS); R024 ES028526 de NIEHS. Este trabajo también fue apoyado por la facultad medica de la Universidad de Lund Suecia.

## Referencias

- Axelstad, M., Boberg, J., Nellemann, C., Kiersgaard, M., Jacobsen, P.R., Christiansen, S., Hougaard, K.S., Hass, U., 2011.
- Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol. Sci.* 120, 439–446. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr006>
- Boas, M., Feldt-Rasmussen, U., Main, K.M., 2012. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Mol. Cell. Endocrinol* 355, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.09.005>
- Bobb, J.F., Claus Henn, B., Valeri, L., Coull, B.A., 2018. Statistical software for analyzing the health effects of multiple concurrent exposures via Bayesian kernel machine regression. *Environ. Heal. A Glob. Access Sci. Source* 17, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0413-y>
- Brucker-Davis, F., Ferrari, P., Boda-Buccino, M., Wagner-Mahler, K., Pacini, P., Gal, J., Azuar, P., Fenichel, P., 2011. Cord blood thyroid tests in boys born with and without cryptorchidism: Correlations with birth parameters and in utero xenobiotics exposure. *Thyroid* 21, 1133–1141. <https://doi.org/10.1089/thy.2010.0459>
- Chevrier, J., Rauch, S., Obida, M., Crause, M., Bornman, R., Eskenazi, B., 2019. Sex and poverty modify associations between maternal peripartum concentrations of DDT/E and pyrethroid metabolites and thyroid hormone levels in neonates participating in the VHEMBE study, South Africa. *Environ. Int.* 131, 104958. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104958>
- Córdoba Gamboa, L., Solano Diaz, K., Ruepert, C., van Wendel de Joode, B., 2020. Passive monitoring techniques to evaluate environmental pesticide exposure: Results from the Infant's Environmental Health study (ISA). *Environ. Res.* 184, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109243>
- Dayan, C.M., 2001. Interpretation of thyroid function tests. *Lancet* 357, 619–624. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04060-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04060-5)

- Du, G., Shen, O., Sun, H., Fei, J., Lu, C., Song, L., Xia, Y., Wang, S., Wang, X., 2010. Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays. *Toxicol. Sci.* 116, 58–66. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq120>
- Edward I, G., McCulloch, R.E., 1993. Variable Selection Via Gibbs Sampling. *J. Am. Stat. Assoc.* 88, 881–889. EFSA, 2014. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance thiabendazole. *EFSA J.* 12, 1–57. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3880>
- Ekman, E., Faniband, M.H., Littorin, M., Maxe, M., Jönsson, B.A.G., Lindh, C.H., 2014. Determination of 5-hydroxythiabendazole in human urine as a biomarker of exposure to thiabendazole using LC/MS/MS. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 973, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.10.003>
- Ekman, E., Maxe, M., Littorin, M., Jönsson, B.A.G., Lindh, C.H., 2013. High-throughput method for the analysis of ethylenethiourea with direct injection of hydrolysed urine using online on-column extraction liquid chromatography and triple quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 934, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.06.035>
- Epa, U., of Pesticide Programs, O., 2005. Reregistration Eligibility Decision (RED) for Mancozeb (EBDC).
- Faniband, M., Ekman, E., Littorin, M., Maxe, M., Larsson, E., Lindh, C.H., 2019. Biomarkers of Exposure to Pyrimethanil After Controlled Human Experiments. *J. Anal. Toxicol.* 43, 277–283. <https://doi.org/10.1093/jat/bky091>
- Fenske, R.A., 2005. State-of-the-art measurement of agricultural pesticide exposures. *Scand. J. Work. Environ. Health* 31 Suppl 1, 65–67.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1980. MANCOZEB complex of zinc and maneb containing 20% Mn and 2.5% Zn, FAO TENTATIVE SPECIFICATIONS FOR PLANT PROTECTION PRODUCTS. Rome.
- Fortenberry, G.Z., Hu, H., Turyk, M., Barr, D.B., Meeker, J.D., 2012. Association between urinary 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol, a metabolite of chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl, and serum T4 and TSH in NHANES 1999–2002. *Sci. Total Environ.* 424, 351–355. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.02.039>
- Freire, C., Suárez, B., Vela-Soria, F., Castiello, F., Reina-Pérez, I., Andersen, H.R., Olea, N., Fernández, M.F., 2021. Urinary metabolites of non-persistent pesticides and serum hormones in Spanish adolescent males. *Environ. Res.* 197, 111016. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111016>

- Giray. ađlayan A. Erkekođlu P. Hincal F. 2010. Fenvalerate exposure alters thyroi hormone status in seleniumand/or iodine-deficient rats. Biol. Trace Elem. Res. 135, 233–241. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8506-7>
- Goldner, W.S., Sandler, D.P., Yu, F., Hoppin, J.A., Kamel, F., Levan, T.D., 2010. Pesticide use and thyroid disease among women in the agricultural health study. Am. J. Epidemiol. 171, 455–464. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp404>
- Goldner, W.S., Sandler, D.P., Yu, F., Shostrom, V., Hoppin, J.A., Kamel, F., Levan, T.D., 2013. Hypothyroidism and Pesticide Use among Male Private Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. J. Occup. Environ. Med. 55, 1171–1178. <https://doi.org/10.1097/JOM.0b013e31829b290b>
- Gullino, M.L., Tinivella, F., Garibaldi, A., Kemmitt, G.M., Bacci, L., Sheppard, B., 2010. Mancozeb: Past, Present, and Future. Plant Dis. 94, 1076–1087. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-9-1076>
- Ha, M., Huang, X., Li, L., Lu, D., Liu, C., 2021. PK  $\alpha$  me iate y the PI3K Akt-FOXA1 cascade facilitates cypermethrininduced hyperthyroidism. Sci. Total Environ. 757, 143727. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143727>
- Hallinger, D.R., Murr, A.S., Buckalew, A.R., Simmons, S.O., Stoker, T.E., Laws, S.C., 2017. Development of a screening approach to detect thyroid disrupting chemicals that inhibit the human sodium iodide symporter (NIS). Toxicol. Vitro. 40, 66–78. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.12.006>
- Halvorsen, R., Palmquist, R., 1980. American Economic Association The Interpretation of Dummy Variables in Semilogarithmic Equations. Source Am. Econ. Rev. 70, 474–475.
- Hernández, A.F., Bennekou, S.H., Hart, A., Mohimont, L., Wolterink, G., 2020. Mechanisms underlying disruptive effects of pesticides on the thyroid function. Curr. Opin. Toxicol. 19, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.10.003>
- Hurley, P.M., Hill, R.N., Whiting, R.J., 1998. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. Environ. Health Perspect. 106, 437–445. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106437>
- Jansen, T.A., Korevaar, T.I.M., Mulder, T.A., White, T., Muetzel, R.L., Peeters, R.P., Tiemeier, H., 2019. Maternal thyroid function during pregnancy and child brain morphology: a time window-specific analysis of a prospective cohort.
- Lancet Diabetes Endocrinol. 7, 629–637. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30153-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30153-6)

- Kackar, R., Srivastava, M.K., Raizada, R.B., 1997. Studies on rat thyroid after oral administration of mancozeb: Morphological and biochemical evaluations. *J. Appl. Toxicol.* 17, 369–375. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1263\(199711/12\)17:6<369::AID-JAT449>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1263(199711/12)17:6<369::AID-JAT449>3.0.CO;2-Q)
- Kahn, L.G., Liu, X., Rajovic, B., Popovac, D., Oberfield, S., Graziano, J.H., Factor-Litvak, P., 2014. Blood lead concentration and thyroid function during pregnancy: Results from the yugoslavia prospective study of environmental lead exposure. *Environ. Health Perspect.* 122, 1134–1140. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307669>
- Knopp, D., 1994. Assessment of exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the chemical industry: Results of a five year biological monitoring study. *Occup. Environ. Med.* 51, 152–159. <https://doi.org/10.1136/oem.51.3.152>
- Kobal, S., Cebulj-Kadunc, N., Cestnik, V., 2000. Serum T3 and T4 concentrations in the adult rats treated with herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Pflugers Arch.* 440, R171--2.
- Leemans, M., Couderq, S., Demeneix, B., Fini, J.B., 2019. Pesticides With Potential Thyroid Hormone-Disrupting Effects: A Review of Recent Data. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00743>
- Luo, J., Hendryx, M., 2014. Relationship between blood cadmium, lead, and serum thyroid measures in US adults – The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2010. *Int. J. Environ. Health Res.* 24, 125–136. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.800962>
- Maranghi, F., De Angelis, S., Tassinari, R., Chiarotti, F., Lorenzetti, S., Moracci, G., Marcoccia, D., Gilardi, E., Di Virgilio, A., Eusepi, A., Mantovani, A., Olivieri, A., 2013. Reproductive toxicity and thyroid effects in Sprague Dawley rats exposed to low doses of ethylenethiourea. *Food Chem. Toxicol.* 59, 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.048>
- Medda, E., Santini, F., De Angelis, S., Franzellin, F., Fiumalbi, C., Perico, A., Gilardi, E., Mechi, M.T., Marsili, A., Citroni, A., Leandri, A., Mantovani, A., Vitti, P., Olivieri, A., 2017. Iodine nutritional status and thyroid effects of exposure to ethylenebisdithiocarbamates. *Environ. Res.* 154, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.12.019>

- Meeker, J.D., Barr, D.B., Hauser, R., 2006. Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. *Reprod. Toxicol.* 22, 437–442. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.02.005>
- Memon, N.S., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Baig, J.A., Sahito, O.M., Baloch, S., Waris, M., 2015. Correlation of manganese with thyroid function in females having hypo- and hyperthyroid disorders. *Biol. Trace Elem. Res.* 167, 165–171. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0277-8>
- Menezes-Filho, J.A., Bouchard, M., Sarcinelli, P. de N., Moreira, J.C., 2009. Manganese exposure and the neuropsychological effect on children and adolescents: a review. *Rev. Panam. Salud Pública* 26, 541–548. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892009001200010>
- Mora, A.M., Córdoba, L., Cano, J.C., Hernandez-Bonilla, D., Pardo, L., Schnaas, L., Smith, D.R., Menezes-Filho, J.A., Mergler, D., Lindh, C.H., Eskenazi, B., de Joode, B. van W., 2018. Prenatal mancozeb exposure, excess manganese, and neuro development at 1 year of age in the infants' environmental health (ISA) study. *Environ. Health Perspect.* 126. <https://doi.org/10.1289/EHP1955>
- Mora, A.M., Hoppin, J.A., Córdoba, L., Cano, J.C., Soto-Martínez, M., Eskenazi, B., Lindh, C.H., van Wendel de Joode, B., 2020. Prenatal pesticide exposure and respiratory health outcomes in the first year of life: Results from the infants' Environmental Health (ISA) study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 225, 113474. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113474>
- Mora, A.M., van Wendel de Joode, B., Mergler, D., Córdoba, L., Cano, C., Quesada, R., Smith, D.R., Menezes-Filho, J.A., Eskenazi, B., 2015. Maternal blood and hair manganese concentrations, fetal growth, and length of gestation in the ISA cohort in Costa Rica. *Environ. Res.* 136. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.10.011>
- Mora, A.M., Van Wendel De Joode, B., Mergler, D., Córdoba, L., Cano, C., Quesada, R., Smith, D.R., Menezes-Filho, J.A., Lundh, T., Lindh, C.H., Bradman, A., Eskenazi, B., 2014. Blood and hair manganese concentrations in pregnant women from the Infants' Environmental Health Study (ISA) in Costa Rica. *Environ. Sci. Technol.* 48. <https://doi.org/10.1021/es404279r>
- Nie, X., Chen, Yi, Chen, Yingchao, Chen, C., Han, B., Li, Q., Zhu, C., Xia, F., Zhai, H., Wang, N., Lu, Y., 2017. Lead and cadmium exposure, higher thyroid antibodies and thyroid dysfunction in Chinese women. *Environ. Pollut.* 230, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.052>

- Norén, E., Lindh, C., Rylander, L., Glynn, A., Axelsson, J., Littorin, M., Faniband, M., Larsson, E., Nielsen, C., 2020. Concentrations and temporal trends in pesticide biomarkers in urine of Swedish adolescents, 2000–2017. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 30, 756–767. <https://doi.org/10.1038/s41370-020-0212-8>
- Panganiban, L.R., Cortes-Maramba, N., Dioquino, C., Suplido, M.L., Ho, H., Francisco-Rivera, A., Manglicmot-Yabes, A., 2004. Correlation between blood ethylenethiourea and thyroid gland disorders among banana plantation workers in the Philippines. *Environ. Health Perspect.* 112, 42–45. <https://doi.org/10.1289/ehp.6499>
- Piccoli, C., Cremonese, C., Koifman, R.J., Koifman, S., Freire, C., 2016. Pesticide exposure and thyroid function in an agricultural population in Brazil. *Environ. Res.* 151, 389–398. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.011>
- Rawlings, N.C., Cook, S.J., Waldbillig, D., 1998. Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part A* 54, 21–36. <https://doi.org/10.1080/009841098159006>
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G.P.S., Handa, N., Kohli, S.K., Yadav, P., Bali, A.S., Parihar, R.D., Dar, O.I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., Thukral, A.K., 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Appl. Sci.* 1, 1446. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
- Shrestha, S., Parks, C.G., Goldner, W.S., Kamel, F., Umbach, D.M., Ward, M.H., Lerro, C.C., Koutros, S., Hofmann, J.N., Beane Freeman, L.E., Sandler, D.P., 2018. Pesticide use and incident hypothyroidism in pesticide applicators in the agricultural health study. *Environ. Health Perspect.* 126, 1–11. <https://doi.org/10.1289/EHP3194>
- Smith, D.M., 1984. Ethylene thiourea: Thyroid function in two groups of exposed workers. *Br. J. Ind. Med.* 41, 362–366. <https://doi.org/10.1136/oem.41.3.362>
- Steenland, K., Cedillo, L., Tucker, J., Hines, C., Sorensen, K., Deddens, J., Cruz, V., 1997. Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethylenebis(dithiocarbamate) (EBDC) fungicides in Mexico. *Environ. Health Perspect.* 105, 1126–1130. <https://doi.org/10.1289/ehp.971051126>

- Suárez, B., Vela-Soria, F., Castiello, F., Olivas-Martinez, A., Acuña-Castroviejo, D., Gómez-Vida, J., Olea, N., Fernández, M.F., Freire, C., 2021. Organophosphate pesticide exposure, hormone levels, and interaction with PON1 polymorphisms in male adolescents. *Sci. Total Environ.* 769, 144563. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144563>
- UCLA: Statistical Consulting Group. 2020 (online), n.d. FAQ How do I interpret a regression model when some variables are log.
- UNICEF (Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia), 2013. Yodación de sal en Costa Rica una experiencia d. San José, Costa Rica.
- US-EPA, 2002. Reregistration Eligibility Decision ( RED ) THIABENDAZOLE.
- Van Wendel De Joode, B., Barbeau, B., Bouchard, M.F., Mora, A.M., Skytt, Å., Córdoba, L., Quesada, R., Lundh, T., Lindh, C.H., Mergler, D., 2016. Manganese concentrations in drinking water from villages near banana plantations with aerial mancozeb spraying in Costa Rica: Results from the Infants' Environmental Health Study (ISA). *Environ. Pollut.* 215. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.015>
- van Wendel de Joode, B., Barraza, D., Ruepert, C., Mora, A.M., Córdoba, L., Öberg, M., Wesseling, C., Mergler, D., Lindh, C.H., 2012. Indigenous children living nearby plantations with chlorpyrifos-treated bags have elevated 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy) urinary concentrations. *Environ. Res.* 117. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.04.006>
- van Wendel de Joode, B., Mora, A., Córdoba, L., Cano, J., Quesada, R., Faniband, M., Wesseling, C., Ruepert, C., Öberg, M., Eskenazi, B., Mergler, D., Lindh, C., 2014. Aerial Application of Mancozeb and Urinary Ethylene Thiourea (ETU) concentrations among Pregnant Women in Costa Rica: The Infants' Environmental Health Study (ISA). *Environ. Health Perspect.* 122, 1321–1328. <https://doi.org/10.1289/ehp.122-a321>
- Woodruff, T.J., Zota, A.R., Schwartz, J.M., 2011. Environmental chemicals in pregnant women in the United States: NHANES 2003- 2004. *Environ. Health Perspect.* 119, 878–885. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002727>
- Zhang, J., Hisada, A., Yoshinaga, J., Shiraishi, H., Shimodaira, K., Okai, T., Noda, Y., Shirakawa, M., Kato, N., 2013. Exposure to pyrethroids insecticides and serum levels of thyroid-related measures in pregnant women. *Environ. Res.* 127, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2013.10.001>

**Figuras**

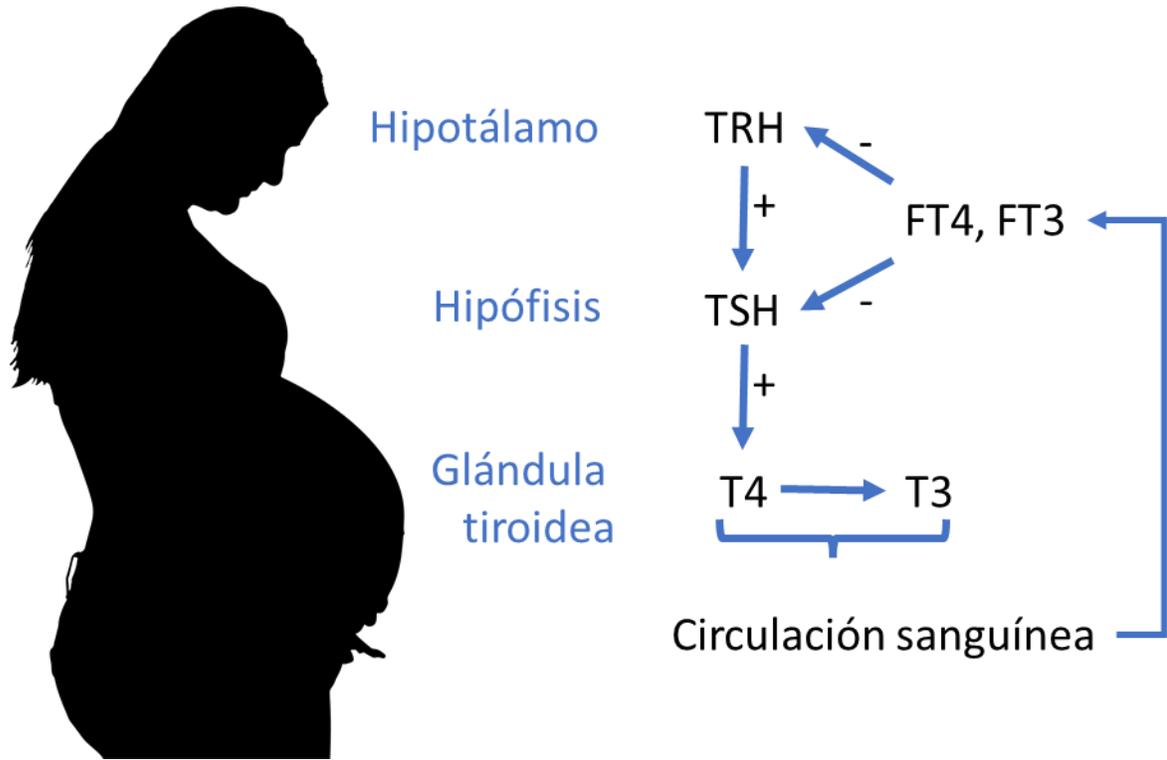


Figura 1. Mecanismos de regulación de la homeostasis de la hormona tiroidea en el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo.

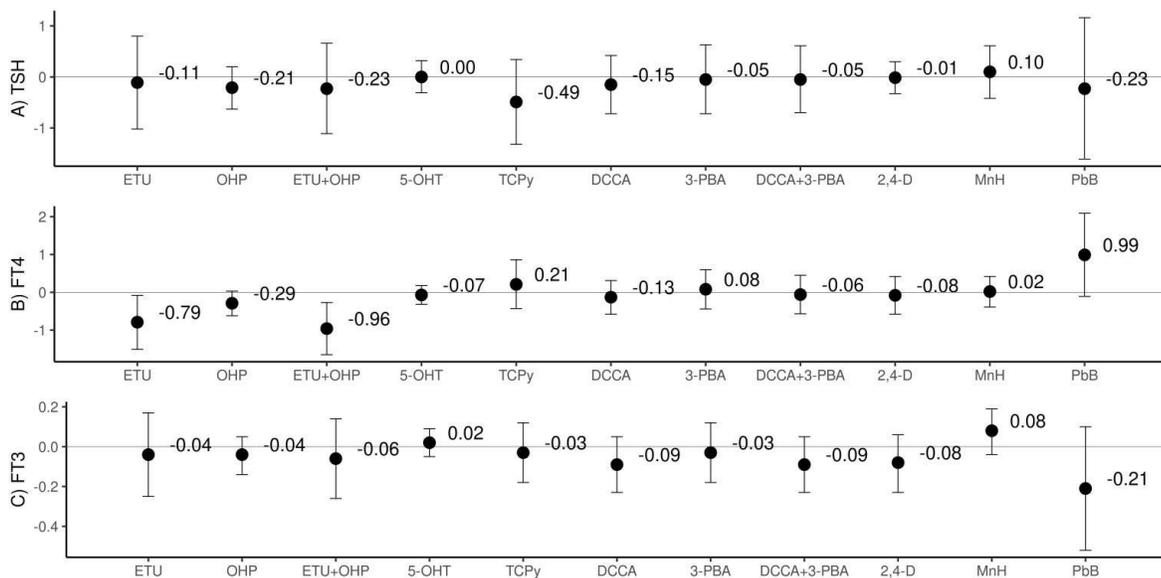


Figura 2<sup>A-C</sup>. Coeficientes de beta ajustados<sup>a</sup> con intervalos de confianza al 95% estimados de los modelos de regresión lineal de los biomarcadores de exposición de las mujeres embarazadas con las hormonas tiroideas y TSH, excluyendo los valores extremos, de la cohorte de ISA (n=400). <sup>a</sup>Ajustados por la edad de las mujeres (años), edad gestacional (semanas), detección de cotinina (si/no), IMC antes del embarazo (kg/m<sup>2</sup>), y vómito severo durante el embarazo (si/no).

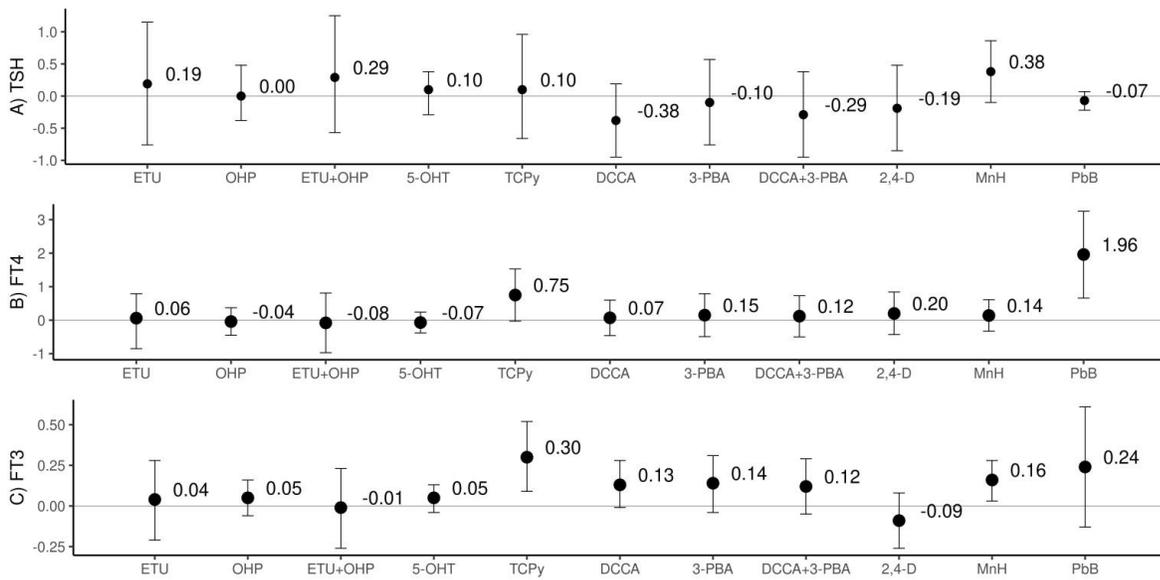


Figura 2<sup>A-C</sup>. Coeficientes de beta ajustados<sup>a</sup> con intervalos de confianza al 95% estimados de los modelos de regresión lineal de los biomarcadores de exposición de las mujeres embarazadas con las hormonas tiroideas y TSH medidas alrededor de 10 semanas después de la exposición, excluyendo los valores extremos a priori, de la cohorte de ISA (n=245). <sup>a</sup>Ajustados por la edad de las mujeres (años), edad gestacional (semanas), detección de cotinina (si/no), IMC antes del embarazo (kg/m<sup>2</sup>), y vómito severo durante el embarazo (si/no).

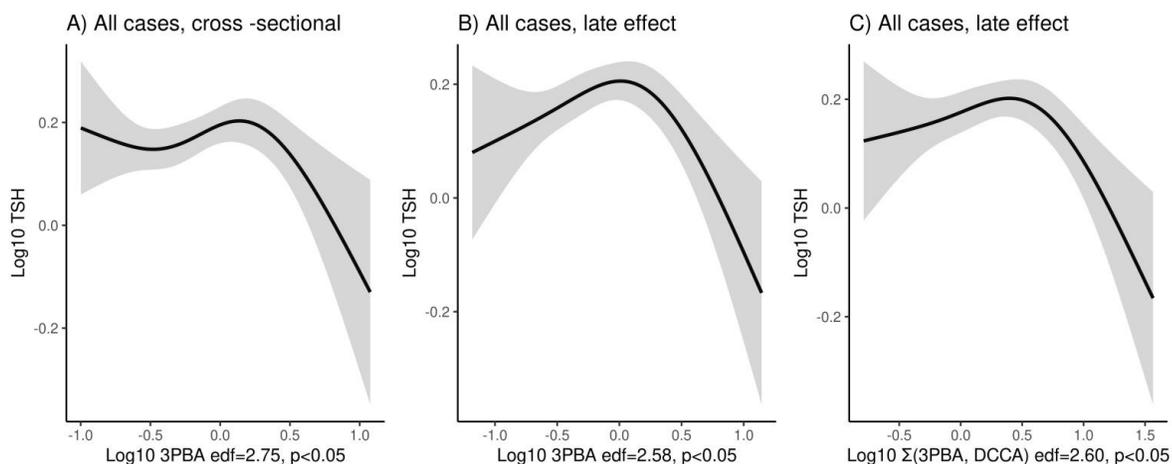


Figura 4. Asociaciones suavizadas no lineales ajustadas significativas ( $edf \geq 2$   $p < 0.05$ ) para exposición prenatal de metabolitos con hormonas tiroideas y TSH, excluyendo los valores extremos *a priori*, del estudio de la cohorte de ISA. Abreviaciones: TSH, hormona estimulante de la tiroides; FT4, tiroxina libre; FT3, triiodotironina; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico, 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; Mn, manganeso; MnB, manganeso en la sangre; MnH, manganeso en el pelo.

## Cuadros

**Cuadro 1.** Características de mujeres embarazadas del estudio de la cohorte de nacimiento de ISA con al menos una muestra de suero (n=400), durante la inclusión 2010-2011.

Variable	Valor	n (%)
Trimestre de embarazo durante la inclusión <sup>a,b</sup>	Primero	95 (24%)
	Segundo	213 (54%)
	Tercero	88 (22%)
Edad materna al momento de la inclusión (años) <sup>a</sup>	<18	72 (18%)
	18-24	192 (48%)
	25-29	69 (17%)
	>=30	67 (17%)
IMC antes del embarazo (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a,d</sup>	Bajo peso: <18,5	13 (3%)
	Normal: 18,5-24,9	196 (49%)
	Sobrepeso: 25,0-29-9	106 (27%)
	Obesa: 30 o más	85 (21%)
Paridad (≥1) <sup>b</sup>		247 (63%)
Casada/Viviendo como casada		305 (76%)
Ingreso familiar debajo de la línea de pobreza <sup>b</sup>		235 (60%)
Mujer trabaja en agricultura <sup>c</sup>		33 (8%)
Pareja trabaja en agricultura <sup>d</sup>		233 (60%)
Vómito severo durante el embarazo		58 (15%)
Fumado durante el embarazo		15 (4%)
Cotina detectada en orina durante el embarazo (>1 µg/l)		42 (10%)
Consumo de pescado durante el embarazo		264 (66%)
Consumo de café durante el embarazo		288 (72%)
Consumo de suplemento vitamínico durante el embarazo		90 (22%)
Distancia residencial a las plantaciones de banano durante la inscripción <50 metros		102 (26%)

Abreviaciones: n, número de participantes; GM, media geométrica; GSD, desviación estándar geométrica; SD, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal.

<sup>a</sup> Modelada como una variable continua en los modelos de regresión lineal.

<sup>b</sup> Valores faltantes para: edad gestacional durante el muestreo n=4; paridad n=8; ingreso familiar n=9 y n=22 completados con información obtenida cuando los niños tenían 1 y 5 años, vómito severo n=4, IMC antes del embarazo n=31.

<sup>c</sup> De las cuales 7.5% (n=30) en las plantaciones de banano

<sup>d</sup> Para 11 mujeres solteras y 1 mujer casada la información del trabajo de la pareja estaba faltando

**Cuadro 2.** Distribución de los biomarcadores de exposición de las mujeres embarazadas obtenidos en la misma visita que la primera muestra de suero, estudio ISA (n=400).

Metabolito ( $\mu\text{g/l}$ ) <sup>a</sup>	N	Min	p10	p25	p50	p75	p90	Max
ETU	400	0.58	1.60	2.14	3.08	4.70	7.39	251
OHP	400	0.02	0.06	0.16	0.41	0.95	2.16	946
OHT	400	0.01	0.01	0.03	0.07	0.28	1.49	491
TCPy	400	0.28	0.72	1.04	1.60	2.40	4.08	50.0
DCCA	400	0.06	0.30	0.57	1.09	2.04	3.83	45.8
3-PBA	400	0.07	0.24	0.38	0.69	1.25	2.12	32.6
2,4-D	400	0.04	0.12	0.17	0.28	0.45	1.04	39.7
Mn pelo ( $\mu\text{g/g}$ ) <sup>b</sup>	384	0.05	0.45	0.86	1.62	3.49	7.87	53.2
Mn sangre ( $\mu\text{g/l}$ ) <sup>c</sup>	344	8.94	15.1	19.4	23.4	27.4	31.1	50.6
Pb sangre ( $\mu\text{g/l}$ ) <sup>c</sup>	344	2.03	4.11	5.17	6.66	9.08	12.11	34.3

Abreviaciones: ETU, etilentiourea; OHP, *hidroxi-pirimetani*; OHT, *5-hidroxitiabendazol*; TCPy, *3,5,6-tricloro-piridinol*; DCCA, *ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico*; 3-PBA, *ácido 3-fenoxibenzoico*; 2,4-D, *ácido 2,4-diclorofenoxiacético*; Mn, *manganeso*; Pb, *plomo*.

<sup>a</sup> A menos que se indique lo contrario, concentraciones de metabolitos en la orina (ETU, OHP, 5-OH-TBZ, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) fueron corregidos por gravedad específica; todos los metabolitos menos MnB, que tenía distribución normal, siguieron una distribución log normal.

<sup>b</sup> Los datos estaban disponibles para una submuestra de 384 mujeres

<sup>c</sup> Los datos estaban disponibles para una submuestra de 344 mujeres

**Cuadro 3.** Distribución de las concentraciones de TSH, FT4 y FT3 de mujeres embarazadas en su primera muestra de suero obtenida durante el embarazo, estudio de cohorte de nacimiento ISA.

Hormona	Trimestre	N	Promedio	DE	Min	P10	P25	P50	P75	P90	Max	Referencia Elecsys <sup>a</sup>
<b>TSH (mIU/L)</b>	Todos	400	1.67	1.01	0.01	0.64	1.06	1.47	2.08	2.93	7.66	
	I	96	1.48	1.19	0.02	0.35	0.77	1.26	1.85	2.67	7.66	0.33 – 4.59
	II	216	1.73	0.90	0.01	0.74	1.10	1.53	2.14	3.16	4.50	0.35 – 4.10
	III	88	1.75	1.06	0.01	0.74	1.12	1.63	2.08	2.82	6.08	0.21 – 3.15
<b>T4 libre (pmol/l)</b>	Todos	400	14.4	2.37	8.81	11.8	13.0	14.1	15.7	17.2	26.0	
	I	96	15.8	2.34	10.0	13.4	14.0	15.6	17.2	18.4	22.4	12.1 – 19.6
	II	216	14.3	2.03	8.81	12.0	13.0	14.0	15.3	16.7	26.0	9.63 – 17.0
	III	88	13.1	1.94	9.00	10.6	11.9	13.0	14.4	15.6	17.9	8.39 – 15.6
<b>T3 libre (pmol/l)</b>	Todos	400	4.68	0.61	3.28	3.96	4.29	4.60	5.06	5.44	7.10	
	I	96	5.03	0.57	3.28	4.38	4.65	5.05	5.31	5.61	6.72	3.78 – 5.97
	II	216	4.62	0.60	3.28	3.97	4.20	4.55	4.95	5.30	7.10	3.21 - 5.45
	III	88	4.43	0.51	3.32	3.80	4.09	4.47	4.71	5.07	5.87	3.09 - 5.03

Abreviaciones: n, número de muestras; Min, mínimo; Max, máximo; DE, desviación estándar; TSH, hormona tiroidea estimulante

<sup>a</sup> Valores de referencia específicos para trimestre de las pruebas tiroideas Elecsys Alemania (Roche, 2009)

## Material Suplementario

**Cuadro S1.** Descripción de los metabolitos de plaguicidas en la orina, manganeso y plomo medidos en mujeres embarazadas (n=400) del estudio de cohorte de nacimiento ISA con al menos una muestra de hormonas tiroideas (adaptadas de Mora et al. 2020).

Grupo	Uso	Familia Química	Agente	Metabolito	Matriz	Límite de detección (LD)
Fungicidas	Banana, aplicación aérea	Ditiocarbamatos	Mancozeb	Etientiourea (ETU)	Orina	0.083 µg/L
		Anilinopirimidinas	Pirimetanil	Hidroxi-pirimetanil (OHP)	Orina	0.057 µg/L
	Banana, después de la cosecha	Benzimidazoles	Tiabendazol	5-hidroxiabendazol (OHT)	Orina	0.026 µg/L
Insecticidas	Bolsas tratadas para bananos	Insecticidas organofosforados	Clorpirifos	3,5,6-tricloro-piridinol (TCPy)	Orina	0.054 µg/L
	Control de vectores/ uso residencial	Piretroides sintéticos	Ej. Permetrina, cipermetrina, ciflutrina	Ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico (DCCA)	Orina	0.039 µg/L
			I.e. Permetrina, cipermetrina, deltametrina, aletrina, resmetrina, fenvalerato	Ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA)	Orina	0.028 µg/L
Herbicidas	Pastos, arroz, para combatir hoja ancha	Ácido diclorofenoxiacético	2,4-D	2,4-D	Orina	0.02 µg/L
Metales	Elemento natural que puede contaminar el agua para consumo, mancozeb	Manganeso (Mn)	Mn	Mn	Pelo	0.01 µg/g
				Mn	Sangre	0.003 µg/L

Pintura vieja y tuberías de agua

Plomo

Plomo

Pb

Sangre

0.0016 µg/L

**Texto S1. Detalles computacionales para el análisis de mezclas:**

Las regresiones multivariadas sobre las variables confusoras  $X_i$  y las variables de exposición  $Z_i$  con la búsqueda estocástica para selección de variables que se muestran en el Cuadro S8 usan el estándar previo de “spike and slab” como se describe a continuación (George EI y McCulloch 1993):

$$Y_i \sim \text{Normal}([Z_i, X_i](\beta^Z, \beta^X)^T, \sigma^2)$$

$$\beta_j^X \sim \text{Normal}(0, 100) \quad \beta_j^Z = \nu_j \cdot \delta_j$$

$$\nu_j \sim \text{Bernoulli}(.5)$$

$$\delta_j \sim \text{Normal}(0, \sigma \delta^2)$$

$$\sigma^2 \sim \text{GammaInverso}(.01, .01)$$

$$r \sim \text{GammaInverso}(a, b)$$

$$\sigma \delta^2 = r \cdot \sigma^2$$

Para cada modelo,  $a$  y  $b$  se eligen *a priori* de manera que el modelo  $R^2$  tenga una distribución aproximadamente uniforme. Ambos tratamientos y covariables están estandarizados de antemano a la media cero y varianza uno cuando se estiman las probabilidades de inclusión posteriores; sin embargo, los tratamientos y las covariables se dejan sin escalar para el reporte de los efectos de estimaciones. La estimación se llevó a cabo utilizando JAGS e implementada en R (Plummer 2003; R Core Team 2014). Se utilizó una corrida (burn-in) de 30 000 iteraciones, seguido de un total de 150 000 iteraciones para las estimaciones finales, las cuales se reducen en un factor de 10. Se corren dos cadenas independientes para cada modelo. La convergencia fue evaluada y verificada con gráficos de trazo.

Las regresiones Bayesianas por máquina de núcleos (Bayesian kernel machine regressions-BKMR) que se exploraron utilizan el paquete de R “bkmr” (Bobb et al 2018), el cual estima el modelo:

$$Y_i = h(Z_{i1}, \dots, Z_{iM}) + X_i^T \beta^X + \epsilon_i,$$

donde  $h()$  es una función general de exposición  $Z_j$ ,  $Y$  es la respuesta, y  $X$  es la matriz de covariables, con el error  $\epsilon$  asumido como  $N(0, \sigma^2)$ . Tanto los tratamientos como las respuestas se estandarizaron de antemano a la media cero y una varianza de uno. Por la generalidad de la forma de  $h()$ , se utilizaron las prioridades predeterminadas sugeridas por defecto por el paquete bkmr y se corrieron 150,000 iteraciones.

Bobb, J. F., Henn, B. C., Valeri, L., & Coull, B. A. (2018). Statistical software for analyzing the health effects of multiple concurrent exposures via Bayesian kernel machine regression. *Environmental Health*, 17(1), 1-10.

George, Edward I. and Robert E. McCulloch (1993). "Variable Selection Via Gibbs Sampling." *Journal of the American Statistical Association*. Vol. 88, No. 423 (Sep., 1993), pp. 881-889.

Plummer, M. (2003, March). JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. In *Proceedings of the 3rd international workshop on distributed statistical computing* (Vol. 124, No. 125.10, pp. 1-10).

R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

**Cuadro S2.** Coeficientes de correlación de Spearman r de los biomarcadores de exposición de las mujeres obtenidos en la misma visita que la primera muestra de hormonas tiroideas y TSH, estudio ISA (n=400).

	ETU	OHP	Σ(ETU, OHP)	5-OHT	TCPy	DCCA	3-PBA	Σ(DCCA, 3-PBA)	2,4-D	MnH	MnB	PbB
ETU		0.22	0.90	0.13	0.28	0.17	0.13	0.16	0.13	0.18	-0.14	-0.06
OHP			0.52	0.13	0.22	0.18	0.08	0.15	0.08	0.08	-0.05	-0.02
Σ(ETU, OHP)				0.18	0.30	0.20	0.13	0.18	0.14	0.15	-0.14	-0.04
5-OHT					0.13	0.06	0.05	0.05	-0.09	0.01	-0.02	-0.06
TCPy						0.30	0.28	0.31	0.09	0.16	0.01	0.07
DCCA							0.80	0.97	0.11	-0.02	0.02	0.02
3-PBA								0.92	0.09	-0.03	0.03	-0.01
Σ(DCCA, 3-PBA)									0.11	-0.02	0.02	0.00
2,4-D										0.08	0.09	0.10
MnH											-0.04	0.02
MnB												0.09

Abreviaciones: ETU, etilentiourea; OHP, hidroxipirimetanol; 5-OHT, 5-hidroxitiabendazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; 2,4-D, ácido 2,4-diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Concentraciones en µg/L excepto MnH (µg/g), ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D fueron corregidos por gravedad específica.

**Cuadro S3.** Distribución de los biomarcadores de exposición de las mujeres embarazadas obtenidos en la misma visita que la primera muestra de suero por trimestre, estudio ISA (n=400).

Metabolito (µg/L) <sup>a</sup>	Trimestre	n	Media	DE	Min	p10	p25	p50	p75	p90	Max
ETU	I	96	4.52	4.95	0.58	1.45	1.88	2.71	5.24	8.42	31.1
	II	216	3.73	2.38	0.88	1.78	2.18	3.03	4.49	6.46	19.1
	III	88	7.33	26.6	1.08	1.64	2.19	3.45	5.05	8.93	25.1
OHP	I	96	10.4	96.5	0.02	0.03	0.09	0.26	0.56	1.53	946
	II	216	3.01	25.8	0.02	0.08	0.17	0.44	1.10	2.46	377
	III	88	0.98	1.33	0.06	0.09	0.23	0.51	1.26	2.15	9.23
OHT	I	96	0.34	0.69	0.01	0.01	0.03	0.06	0.26	1.13	4.52
	II	216	4.84	37.5	0.01	0.01	0.02	0.07	0.30	1.69	491
	III	88	1.62	7.50	0.01	0.02	0.03	0.06	0.25	1.68	55.2
TCPy	I	96	2.18	3.24	0.28	0.60	0.87	1.35	2.18	3.48	24.3
	II	216	2.43	4.10	0.42	0.75	1.06	1.62	2.41	3.89	50.0
	III	88	3.17	5.51	0.41	0.89	1.31	1.78	2.89	4.37	41.9
DCCA	I	96	2.09	3.57	0.06	0.29	0.54	0.94	1.83	4.25	22.8
	II	216	1.72	3.37	0.06	0.28	0.58	1.09	1.88	3.30	45.8
	III	88	1.96	1.81	0.11	0.38	0.67	1.44	2.43	4.15	8.55
3-PBA	I	96	1.37	2.26	0.07	0.26	0.42	0.67	1.32	2.66	13.9
	II	216	1.04	2.28	0.10	0.23	0.35	0.68	1.17	1.76	32.6
	III	88	1.21	1.22	0.17	0.28	0.41	0.75	1.68	2.74	6.49
2,4-D	I	96	0.44	0.54	0.04	0.10	0.15	0.28	0.48	1.02	3.50
	II	216	0.56	1.09	0.06	0.12	0.17	0.27	0.39	1.04	8.63
	III	88	1.05	4.30	0.09	0.16	0.21	0.31	0.50	0.89	39.7
Pelo Mn (µg/g)	I	96	3.05	5.85	0.11	0.45	0.84	1.58	3.32	5.90	53.2
	II	210	2.91	4.35	0.05	0.41	0.85	1.61	3.02	6.50	39.2
	III	78	4.73	6.59	0.28	0.70	0.97	1.90	5.20	12.9	34.5
Sangre Mn	I	87	22.5	6.50	10.8	13.4	17.8	22.5	25.8	32.0	36.9
	II	191	23.1	5.54	9.41	15.7	19.4	23.6	27.3	29.5	39.4
	III	66	26.5	8.78	8.94	18.1	21.2	24.2	30.3	39.3	50.6
Sangre Pb	I	87	7.69	4.31	2.03	3.77	5.05	6.21	9.68	13.1	26.3

Exposure to common-use pesticides, manganese, lead, and thyroid function among pregnant women from the Infants' Environmental Health Study (ISA). Corrales Vargas et al., In press. Traducción no-oficial realizada por: MSc Corrales Vargas

II	191	7.64	3.76	2.45	4.29	5.42	6.71	8.93	11.6	34.3
III	66	7.52	3.54	2.95	4.23	4.91	6.89	9.03	10.8	19.8

Abreviaturas: n, número de muestras u observaciones; ETU, etilentiourea; OHP, 4-hidroxi pirimetanil; OHT, 5-hidroxiabendazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-2-piridinol; DCCA, ácido 3- (2,2-diclorovinil) -2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; 2,4-D, Ácido 2,4-D diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Concentraciones en µg/L excepto que se indique lo contrario, las concentraciones de metabolitos urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) fueron corregidos por gravedad específica.

**Cuadro S4.** Resultados de los modelos de regresión lineal bivariado separados de las concentraciones de hormonas tiroideas (TSH, FT4, FT3) explicadas por variables en mujeres embarazadas del estudio de cohorte de nacimiento ISA con al menos una muestra de suero (n=400), estimaciones  $\beta$  con  $p < 0.05$  impresas en **negrita**.

Variable	N	% Cambio en $\beta$ TSH mIU/L <sup>a</sup>	Cambio en $\beta$ FT4 (pmol/L)	Cambio en $\beta$ FT3 (pmol/L)
Edad gestacional (semanas)	400	<b>1.14 (0.18, 2.11)</b>	<b>-0.12 (-0.14, -0.09)</b>	<b>-0.03 (-0.04, -0.02)</b>
Edad maternal (años)	400	0.64 (-0.56, 1.85)	<b>-0.08 (-0.12, -0.05)</b>	0.00 (-0.01, 0.01)
Educación (>6 años)	400	5.43 (-9.47, 22.8)	0.14 (-0.31, 0.59)	0.00 (-0.12, 0.12)
Paridad ( $\geq 1$ )	392	-9.89 (-23.2, 5.72)	<b>-0.51 (-0.98, -0.05)</b>	-0.01 (-0.14, 0.12)
Estatus marital (casada/viviendo como casada)	400	-5.22 (-20.7, 13.4)	-0.45 (-0.98, 0.07)	-0.03 (-0.17, 0.11)
IMC antes del embarazo (kg/m <sup>2</sup> )	400	0.57 (-0.59, 1.74)	-0.03 (-0.07, 0.00)	<b>0.02 (0.01, 0.03)</b>
Ingreso familiar (por encima de la línea de pobreza)	391	-13.0 (-28.8, 6.30)	0.16 (-0.43, 0.74)	-0.06 (-0.21, 0.10)
Trabajo materno en agricultura actual	400	20.7 (-8.49, 59.1)	<b>-1.21 (-2.01, -0.40)</b>	0.01 (-0.21, 0.23)
Trabajo paterno en agricultura actual	387	15.0 (-1.27, 34.0)	-0.33 (-0.78, 0.13)	-0.06 (-0.18, 0.07)
Vómito severo durante el embarazo	400	0.74 (-18.62, 24.7)	-0.20 (-0.82, 0.43)	0.16 (-0.01, 0.33)
Fumado durante el embarazo	400	-14.4 (-42.7, 27.8)	-0.02 (-1.2, 1.16)	0.09 (-0.23, 0.40)
Cotina urinaria >1 $\mu\text{g/L}$	400	<b>-43.2 (-55.4, -27.6)</b>	0.36 (-0.37, 1.09)	0.18 (-0.02, 0.37)
Consumo de pescado (si)	400	5.49 (-10.2, 23.9)	<b>-0.51 (-0.98, -0.04)</b>	-0.03 (-0.16, 0.10)
Consumo de café (si)	400	-12.9 (-26.4, 3.18)	-0.10 (-0.60, 0.40)	-0.01 (-0.15, 0.12)
Consumo de suplemento vitamínico (si)	400	2.84 (-14.3, 23.4)	-0.16 (-0.69, 0.38)	0.04 (-0.11, 0.18)
Distancia de la plantación de banano	400	-9.50 (-24.0, 7.77)	0.25 (-0.27, 0.76)	-0.04 (-0.18, 0.10)

**Cuadro S5.** Resultados de modelos de regresión lineal ajustados<sup>a</sup> de biomarcadores de exposición con los niveles de hormona tiroidea en mujeres embarazadas del estudio de ISA obtenidos durante la inclusión o poco después (n=400) (análisis transversal), excluyendo los valores extremos *a priori*, las estimaciones  $\beta$  con  $p < 0.05$  impresas en **negrita**, asociaciones no lineales  $edf \geq 2$  y  $p < 0.05$  marcadas con 'e'.

Metabolito $\mu\text{g/L}$ <sup>b</sup>	TSH (mIU/L)			FT4 (pmol/L)			FT3 (pmol/L)		
	N	% Cambio en $\beta$ (IC) <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>
ETU	392	-0.11 (-1.02, 0.80)	0.04	398	<b>-0.79</b> <b>(-1.51, -0.08)</b>	0.25	398	-0.04 (-0.25, 0.17)	0.18
OHP	391	-0.21 (-0.63, 0.20)	0.04	397	-0.29 (-0.62, 0.03)	0.25	397	-0.04 (-0.14, 0.05)	0.18
$\Sigma$ (ETU, OHP)	390	-0.23 (-1.11, 0.66)	0.04	396	<b>-0.96</b> <b>(-1.65, -0.27)</b>	0.26	396	-0.06 (-0.26, 0.14)	0.18
5-OHT	390	0.00 (-0.31, 0.32)	0.04	396	-0.07 (-0.32, 0.18)	0.24	396	0.02 (-0.05, 0.09)	0.18
TCPy	388	-0.49 (-1.32, 0.34)	0.04	394	0.21 (-0.43, 0.86)	0.25	394	0.10 (-0.08, 0.29)	0.18
DCCA	393	-0.15 (-0.72, 0.42)	0.04	399	-0.13 (-0.58, 0.31)	0.24	399	-0.09 (-0.21, 0.04)	0.19
3-PBA	392	-0.05 (-0.72, 0.63) <sup>e</sup>	0.04	398	0.08 (-0.44, 0.60)	0.24	398	-0.03 (-0.18, 0.12)	0.18
$\Sigma$ (DCCA, 3-PBA)	392	-0.05 (-0.70, 0.61)	0.04	398	-0.06 (-0.57, 0.45)	0.24	398	-0.09 (-0.23, 0.05)	0.19
2,4-D	392	0.11 (-0.53, 0.75)	0.04	398	-0.08 (-0.58, 0.42)	0.25	398	-0.08 (-0.23, 0.06)	0.18
Pelo Mn ( $\mu\text{g/g}$ )	377	0.10 (-0.42, 0.61)	0.05	383	0.02 (-0.39, 0.42)	0.22	383	0.08 (-0.04, 0.19)	0.19
Sangre Mn	336	0.04 (-0.96, 1.05)	0.05	341	<b>0.04</b> <b>(0.00, 0.07)</b>	0.24	341	0.01 (0.00, 0.02)	0.19
Sangre Pb	338	-0.23 (-1.61, 1.16)	0.05	343	0.99 (-0.11, 2.09)	0.23	343	-0.21 (-0.52, 0.10)	0.19

Abreviaturas: TSH, hormona estimulante de la tiroides; n, número de muestras u observaciones;  $\beta$ , valor beta; IC: intervalo de confianza; R<sup>2</sup>, variabilidad explicada; edf, grados de libertad estimados; ETU, etilentiourea; OHP, hidroxipirimetanol; 5-OHT, 5-hidroxitiabendazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-2-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, 3-fenoxibenzoico; Ácido 2,4-D, diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Ajustado por edad de la mujer (continua, años), edad gestacional (continua, semanas), detección de cotinina (sí/no), IMC previo al embarazo ( $\text{kg/m}^2$ ) (continuo) y vómitos severos durante el embarazo (sí/no). Los datos faltantes se imputaron con un valor aleatorio del conjunto de datos para la edad gestacional en el momento del muestreo (n=4) y vómitos severos (n=4), mientras que los valores faltantes de IMC antes del embarazo

(kg/m<sup>2</sup>), n=31 fueron imputados por predecir valores a partir de un modelo de regresión lineal (ver la sección de análisis estadístico).

<sup>b</sup> Concentraciones en µg/L a menos que se indique lo contrario, las concentraciones de metabolitos urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) se corrigieron por gravedad específica.

<sup>c</sup> Las estimaciones de beta reflejan el % de cambio en TSH por cada aumento del 10% en el metabolito de exposición, excepto de MnB donde β refleja el % de cambio en TSH por cada unidad de aumento en MnB.

<sup>d</sup> Las estimaciones de beta reflejan el cambio en FT4 o FT3 por cada aumento de diez veces en el metabolito de exposición, excepto por MnB donde β refleja el cambio en FT4 o FT3 por cada unidad de aumento en MnB o PbB.

<sup>e</sup> GAM indicó no linealidad como edf ≥ 2 con p <0,05.

**Cuadro S6.** Resultados de modelos de regresión lineal ajustados<sup>a</sup> de la primera medida de biomarcadores de exposición prenatal de la población del estudio de ISA con la segunda medida de los niveles de las hormonas tiroideas durante el embarazo (n=245), reflejando un efecto de exposición tardío, excluyendo los valores extremos *a priori*; las estimaciones  $\beta$  con  $p < 0.05$  impresas en **negrita**, las asociaciones no lineares  $edf \geq 2$  y  $p < 0.05$  con marcadas con 'e'.

Metabolito ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>b</sup>	TSH (mIU/L)			FT4 (pmol/L)			FT3 (pmol/L)		
	N	% Cambio en $\beta$ (IC) <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>
ETU	243	0.19 (-0.76, 1.15)	0.02	244	0.06 (-0.85, 0.97)	0.07	244	0.04 (-0.21, 0.28)	0.09
OHP	242	0.00 (-0.38, 0.48)	0.02	243	-0.04 (-0.45, 0.37)	0.07	243	0.05 (-0.06, 0.16)	0.10
$\Sigma$ (ETU, OHP)	241	0.29 (-0.57, 1.25)	0.03	242	-0.08 (-0.97, 0.81)	0.07	242	-0.01 (-0.26, 0.23)	0.10
OHT	242	0.10 (-0.29, 0.38)	0.02	243	-0.07 (-0.38, 0.24)	0.07	243	0.05 (-0.04, 0.13)	0.10
TCPy	241	0.10 (-0.66, 0.96)	0.02	242	0.75 (-0.03, 1.53)	0.09	242	<b>0.30</b> <b>(0.09, 0.52)</b>	0.12
DCCA	244	-0.38 (-0.95, 0.19)	0.03	245	0.07 (-0.46, 0.60)	0.07	245	0.13 (-0.01, 0.28)	0.10
3-PBA	243	-0.10 (-0.76, 0.57) <sup>e</sup>	0.02	244	0.15 (-0.49, 0.79)	0.07	244	0.14 (-0.04, 0.31)	0.10
$\Sigma$ (DCCA, 3-PBA)	243	-0.29 (-0.95, 0.38) <sup>e</sup>	0.03	244	0.12 (-0.50, 0.73)	0.07	244	0.12 (-0.05, 0.29)	0.10
2,4-D	244	-0.19 (-0.85, 0.48)	0.03	245	0.20 (-0.43, 0.84)	0.07	245	-0.09 (-0.26, 0.08)	0.10
Pelo Mn ( $\mu\text{g/g}$ )	242	0.38 (-0.10, 0.86)	0.03	243	0.14 (-0.33, 0.61)	0.06	243	<b>0.16</b> <b>(0.03, 0.28)</b>	0.11
Sangre Mn	229	0.26 (-0.73, 1.27)	0.03	230	0.00 (-0.04, 0.04)	0.07	230	0.00 (-0.01, 0.01)	0.09
Sangre Pb	225	-0.07 (-0.22, 0.07)	0.04	226	<b>1.96</b> <b>(0.66, 3.25)</b>	0.11	226	0.24 (-0.13, 0.61)	0.10

Abreviaciones: TSH, hormona estimulante de la tiroides; n, número de muestras u observaciones;  $\beta$ , valor de beta; IC, intervalo de confianza; R<sup>2</sup>, variabilidad explicada; edf, grados de libertad estimados; ETU, etilentiourea; OHP, 4-hidroxi-pirimetaniil; OHT, 5-hidroxitiabenzazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; 2,4-D, ácido 2,4-diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Ajustados por la edad de la mujer (continua, años), edad gestacional (continua, semanas), detección de cotinina (si/no), IMC antes del embarazo (kg/m<sup>2</sup>) y vómito severo durante el embarazo (si/no).

<sup>b</sup> Concentraciones en µg/L a menos que se indique lo contrario, concentraciones de metabolito urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) fueron corregidos por gravedad específica.

<sup>c</sup> Las estimaciones beta reflejan el % cambio en TSH por cada 10% de aumento en el metabolito de exposición, excepto de MnB y PbB donde β reflejan el % cambio en TSH por cada unidad de aumento en MnB.

<sup>d</sup> Las estimaciones de beta reflejan los cambios en FT4 o FT3 por cada aumento de diez veces en la exposición de metabolitos, excepto por MnB donde β refleja el cambio en FT4 o FT3 por cada unidad de aumento en MnB.

<sup>e</sup> GAM indica la no linealidad como edf≥2 con p<0.05

**Cuadro S7.** Resultados de modelos de regresión lineal ajustados<sup>a</sup> de los biomarcadores de exposición con los niveles de hormona tiroidea en mujeres embarazadas del estudio ISA obtenido en la inclusión o poco después para mujeres que tenían una segunda muestra de suero (n=245) (análisis transversal), excluyendo los valores extremos *a priori*; las estimaciones  $\beta$  con  $p < 0.05$  en **negrita** las estimaciones de asociaciones no lineares  $edf \geq 2$  y  $p < 0.05$  marcadas con 'e'.

Metabolito ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>b</sup>	TSH (mIU/L)			FT4 (pmol/L)			FT3 (pmol/L)		
	N	% Cambio en $\beta$ (IC) <sup>c</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>	N	Cambio en $\beta$ (IC) <sup>d</sup>	R <sup>2</sup>
ETU	233	5.88 (-20.35, 40.75)	0.02	241	-0.59 (-1.49, 0.3)	0.20	243	-0.05 (-0.33, 0.23)	0.19
OHP	233	-4.96 (-16.1, 7.66)	0.02	241	-0.17 (-0.57, 0.22)	0.20	243	-0.02 (-0.14, 0.11)	0.19
$\Sigma$ (ETU, OHP)	232	1.65 (-22.5, 33.33)	0.02	240	-0.74 (-1.58, 0.11)	0.21	242	-0.04 (-0.31, 0.23)	0.19
OHT	233	4.94 (-4.39, 15.19)	0.02	241	-0.04 (-0.34, 0.26)	0.19	243	0.07 (-0.03, 0.16)	0.20
TCPy	232	16.91 (-8.19, 48.86)	0.02	240	0.40 (-0.35, 1.15)	0.19	242	0.10 (-0.13, 0.34)	0.19
DCCA	235	-3.4 (-18.19, 14.07)	0.02	243	0.12 (-0.39, 0.63)	0.19	245	-0.09 (-0.25, 0.07)	0.19
3-PBA	234	0.01 (-18.38, 22.53)	0.02	242	0.30 (-0.31, 0.92)	0.20	244	-0.01 (-0.2, 0.18)	0.19
$\Sigma$ (DCCA, 3-PBA)	234	0.70 (-17.15, 22.40)	0.02	242	0.21 (-0.39, 0.8)	0.19	244	-0.09 (-0.28, 0.09)	0.19
2,4-D	234	7.24 (-12.01, 30.7)	0.02	242	-0.27 (-0.9, 0.36)	0.19	244	-0.15 (-0.35, 0.05)	0.20
Pelo Mn ( $\mu\text{g/g}$ )	233	10.67 (-3.93, 27.5)	0.03	241	-0.44 (-0.89, 0.01)	0.19	243	0.04 (-0.1, 0.18)	0.20
Sangre Mn	220	-0.30 (-1.47, 0.89)	0.03	228	0.03 (-0.01, 0.07)	0.19	230	0.01 (0.00, 0.02)	0.20
Sangre Pb	215	1.13 (-1.33, 3.65)	0.04	222	0.01 (-0.07, 0.09)	0.21	224	-0.02 (-0.05, 0.00)	0.21

Abreviaciones: TSH, hormona estimulante de la tiroides; n, número de muestras u observaciones;  $\beta$ , valor de beta; IC, intervalo de confianza; R<sup>2</sup>, variabilidad explicada; edf, grados de libertad estimados; ETU, etilentiourea; OHP, 4-hidroxi-pirimetanol; OHT, 5-hidroxitiabenzodiazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3- fenoxibenzoico; 2,4-D, ácido 2,4-diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Ajustados por la edad de la mujer (continua, años), edad gestacional (continua, semanas), detección de cotinina (si/no), IMC antes del embarazo ( $\text{kg/m}^2$ ) (continua) y vómito severo durante el embarazo (si/no). Los datos faltantes se imputaron con un valor aleatorio del conjunto de datos para la edad gestacional al muestreo (n=4) y vómito severo (n=4), mientras que los valores faltantes para el IMC antes del embarazo ( $\text{kg/m}^2$ ), n=31

fueron imputadas al predecir los valores de un modelo de regresión lineal (ver la sección de análisis estadístico).

<sup>b</sup> Las concentraciones se presentan en  $\mu\text{g/L}$  a menos que se indique lo contrario, las concentraciones de metabolitos urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) donde se corrigió por gravedad específica.

<sup>c</sup> Las estimaciones de beta reflejan el % de cambio en TSH por cada aumento del 10% en el metabolito de exposición, excepto por MnB donde  $\beta$  refleja el % de cambio en TSH por cada unidad de aumento en MnB.

<sup>d</sup> Las estimaciones de beta reflejan el cambio en FT4 o FT3 por cada aumento de diez veces en los metabolitos de exposición, excepto por el MnB donde  $\beta$  refleja el cambio en FT4 o FT3 por cada unidad de aumento en MnB o PbB.

<sup>e</sup> GAM indicó no linealidad cuando  $\text{edf} \geq 2$  con  $p < 0.05$ .

**Cuadro S8.** Resultados de modelos multivariados de regresión lineal ajustados<sup>a</sup> con búsqueda estocástica de selección de variable de la primera medida de biomarcadores prenatales de exposición en la población del estudio de ISA con niveles de hormona tiroidea durante el embarazo, excluyendo los valores extremos *a priori*; las estimaciones  $\beta$  con  $p < 0.05$  impresas en **negrita**.

Metabolito $\mu\text{g/L}^b$	TSH (mIU/L) % Cambio en $\beta$ (CI) <sup>c</sup> n=315	FT4 (pmol/L) Cambio en $\beta$ (CI) <sup>d</sup> n=324	FT3 (pmol/L) Cambio en $\beta$ (CI) <sup>d</sup> n=324
$\Sigma$ (ETU, OHP)	-0.01 (-0.04, 0.01)	-0.14 (-0.45, 0.02)	-0.01 (-0.08, 0.02)
OHT	0.00 (-0.02, 0.03)	-0.01 (-0.19, 0.14)	0.01 (-0.03, 0.07)
TCPy	-0.01 (-0.06, 0.02)	0.05 (-0.18, 0.47)	0.02 (-0.04, 0.14)
$\Sigma$ (3-PBA, DCCA)	-0.00 (-0.02, 0.02)	0.01 (-0.13, 0.21)	-0.00 (-0.05, 0.04)
2,4-D	0.00 (-0.02, 0.04)	-0.04 (-0.37, 0.18)	-0.01 (-0.09, 0.06)
Pelo Mn ( $\mu\text{g/g}$ )	0.01 (-0.02, 0.04)	-0.01 (-0.25, 0.20)	0.01 (-0.04, 0.10)
Sangre Mn	0.00 (-0.00, 0.00)	0.02 (0.00, 0.07)	0.00 (0.00, 0.01)
Sangre Pb	0.00 (-0.03, 0.05)	0.09 (-0.18, 0.71)	-0.02 (-0.16, 0.06)

Abreviaciones: TSH, hormona estimulante de la tiroides; FT4, tiroxina libre; FT3, triiodotironina libre; n, número de muestras u observaciones;  $\beta$ , valor de beta; IC, intervalo de confianza; ETU, etilentiourea; OHP, 4-hidroxi-pirimetanol; OHT, 5-hidroxitiazolol; TCPy, 3,5,6-tricloro-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; 2,4-D, ácido 2,4-diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Ajustados por la edad de la mujer (continua, años), edad gestacional (continua, semanas), detección de cotinina (si/no), IMC antes del embarazo ( $\text{kg/m}^2$ ) y vómito severo durante el embarazo (si/no).

<sup>b</sup> Las concentraciones se presentan en  $\mu\text{g/L}$  a menos que se indique lo contrario, las concentraciones de metabolitos urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) se corrigieron por gravedad específica.

<sup>c</sup> Las estimaciones de beta reflejan el % de cambio en TSH por cada aumento del 10% en el metabolito de exposición, excepto del MnB donde  $\beta$  refleja el % de cambio en TSH por cada unidad de aumento en MnB.

<sup>d</sup> Las estimaciones beta reflejan el cambio en FT4 o FT3 por cada aumento de diez veces en el metabolito de exposición, excepto de MnB donde  $\beta$  refleja el cambio en FT4 o FT3 por cada unidad de aumento en MnB.

**Cuadro S9.** Probabilidades de inclusión posterior a partir de modelos de regresión multivariada Bayesiana ajustada<sup>a</sup> con búsqueda estocástica para selección de variables y modelos de regresión Bayesiana por máquina de núcleos (Bayesian kernel machine regression-BKMR) ajustados con selección de variables<sup>a</sup>, de biomarcadores prenatales de exposición en la población del estudio ISA con niveles de hormonas tiroideas durante el embarazo.

Metabolito (µg/L) <sup>b</sup>	TSH (mIU/L) (n=315)		FT4 (pmol/L) (n=324)		FT3 <sup>d</sup> (pmol/L) (n=324)	
	MR-SSVS	BKMR	MR-SSVS	BKMR	MR-SSVS	BKMR
Σ(ETU, OHP)	0.30	0.14	0.62	0.16	0.31	0.35
OHT	0.20	0.13	0.20	0.02	0.24	0.26
TCPy	0.28	0.17	0.31	0.07	0.34	0.35
Σ(DCCA, 3-PBA)	0.19	0.13	0.21	0.04	0.19	0.25
2,4-D	0.21	0.13	0.25	0.03	0.20	0.30
Pelo Mn (µg/g)	0.24	0.16	0.20	0.03	0.24	0.26
Sangre Mn	0.19	0.11	0.62	0.22	0.31	0.30
Sangre Pb	0.20	0.12	0.50	0.11	0.37	0.35

Abreviaturas: TSH, hormona estimulante de la tiroides; FT4, tiroxina libre; FT3, triyodotironina libre; n, número de muestras u observaciones; MR-SSVS, regresión multivariada con búsqueda estocástica para selección de variables; BKMR, regresión Bayesiana por máquina de núcleos (Bayesian kernel machine regression); β, valor beta; IC: intervalo de confianza; ETU, etilentiourea; OHP, 4-hidroxi-pirimetamil; OHT, 5-hidroxitiabendazol; TCPy, 3,5,6-tricloro-2-piridinol; DCCA, ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico; 3-PBA, ácido 3-fenoxibenzoico; 2,4-D, Ácido diclorofenoxiacético; Mn, manganeso; Pb, plomo.

<sup>a</sup> Ajustado por edad de la madre (continua, años), edad gestacional (continua, semanas), detección de cotinina (sí/no), IMC antes del embarazo (kg/m<sup>2</sup>) y vómitos severos durante el embarazo (sí/no).

<sup>b</sup> Concentraciones en µg/L a menos que se indique lo contrario, las concentraciones de metabolitos urinarios (ETU, OHP, OHT, TCPy, DCCA, 3-PBA, 2,4-D) se corrigieron por gravedad específica.