

**EXPOSICION A PLAGUICIDAS**  
**ORGANOFOSFORADOS Y CRECIMIENTO FETAL**



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

Departamento de Medicina Legal, Toxicología y Antropología Física

Programa de Doctorado de Medicina Clínica y Salud Pública

Directores: Antonio Hernández Jerez y Marina Lacasaña Navarro

**Tesis Doctoral**

**María José Giménez Asensio**

**Granada 2023**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: María José Giménez Asensio  
ISBN: 978-84-1195-140-1  
URI: <https://hdl.handle.net/10481/89276>

Parte de los resultados de esta Tesis Doctoral han sido publicados en la revista internacional Environmental Research. 2023 Sep 1;232:116410. DOI: 10.1016/j.envres.2023.116410.

**Effect of prenatal exposure to organophosphates and pyrethroid pesticides on neonatal anthropometric measures and gestational age**

María José Gimenez-Asensio<sup>1,2,3</sup>, Antonio F. Hernandez<sup>3,4,5</sup>, Desire Romero-Molina<sup>3,6</sup>, Beatriz Gonzalez-Alzaga<sup>1,2,3,5</sup>, Octavio Pérez-Luzardo<sup>7,8</sup>, Luis Alberto Henríquez-Hernández<sup>7,8</sup>, Luis D. Boada<sup>7,8</sup>, Helena García-Cortés<sup>1,3</sup>, Inmaculada Lopez-Flores<sup>3,9</sup>, María Dolores Sanchez-Piedra<sup>10</sup>, Clemente Aguilar-Garduño<sup>1</sup>, Marina Lacasaña<sup>1,3,5,11</sup>

<sup>1</sup> Andalusian School of Public Health, Granada, Spain

<sup>2</sup> Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía oriental (FIBAO), Granada, Spain

<sup>3</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria, ibs.GRANADA. Granada, Spain.

<sup>4</sup> Department of Legal Medicine and Toxicology, University of Granada School of Medicine, Granada, Spain.

<sup>5</sup> CIBER Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain.

<sup>6</sup> Statistics and Operations Research Department, Faculty of Sciences, University of Granada, Granada, Spain

<sup>7</sup> Research Institute of Biomedical and Health Sciences (IUIBS), Clinical Sciences Department, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria, Spain

<sup>8</sup> Spanish Biomedical Research Center in Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBn), Madrid, Spain

<sup>9</sup> Department of Genetics, Faculty of Sciences, University of Granada, Granada, Spain

<sup>10</sup> Gynaecology and Obstetrics Care Unit, Poniente University Hospital, El Ejido, Almeria, Spain

<sup>11</sup> Andalusian Health and Environment Observatory (OSMAN), Granada, Spain

## ABSTRACT

Several studies have examined the association between prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides and their impact on foetal growth and newborn anthropometry; however, the available evidence is limited and inconclusive. This study examined whether prenatal organophosphate and pyrethroid pesticide exposure was associated with anthropometric measures at birth (weight, length, head circumference), ponderal index, gestational age, and prematurity in 537 mother-child pairs. These were randomly selected from the 800 pairs participating in the prospective birth cohort GENEIDA (Genetics, early life environmental exposures and infant development in Andalusia). Six non-specific organophosphate metabolites (dialkylphosphates, DAPs), one metabolite relatively specific to chlorpyrifos (3,5,6-trichloro-2-pyridinol, TCPy) and a common metabolite to several pyrethroids (3-phenoxybenzoic acid, 3-PBA) were measured in maternal urine from the 1st and 3rd pregnancy trimesters. Information on anthropometric measures at birth, gestational age and prematurity was retrieved from medical records. The sum on a molar basis of DAPs with methyl ( $\Sigma$ DMs) and ethyl ( $\Sigma$ DEs) moieties and the sum of the 6 DAPs metabolites ( $\Sigma$ DAPs) was calculated for both trimesters of pregnancy. High urinary levels of dimethyl phosphate (DMP) during the 3<sup>rd</sup> trimester were associated with a decrease in birth weight ( $\beta = -0.24$ ; 95% CI: -0.41; -0.06) and birth length ( $\beta = -0.20$ ; 95% CI: -0.41; 0.02). Likewise,  $\Sigma$ DMs during 3rd trimester were near-significantly associated with decreased birth weight ( $\beta = -0.18$ ; 95% CI: -0.37; 0.01). In turn, increased urinary TCPy during 1<sup>st</sup> trimester was associated with a decreased head circumference ( $\beta = -0.31$ ; 95% CI: -0.57; -0.06). Finally, an increase in 3-PBA in the 1<sup>st</sup> trimester was associated with a decreased gestational age ( $\beta = -0.36$ ; 95% CI: -0.65 -0.08), whereas increased 3-PBA at 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> trimester was associated with prematurity. These results indicate that prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides could affect normal foetal growth, shorten gestational age and alter anthropometric measures at birth.

**Keywords:** prospective birth cohort, birth anthropometry, gestational age, ponderal index, prematurity, organophosphate pesticides, pyrethroid pesticides.

## **1. Introduction**

Optimal foetal development is achieved through a complex process in which cell growth and division takes place and leads to a newborn that fully expresses its genetic potential. This process is regulated by genetic, maternal and placental factors, which enable normal foetal development. The alteration of any one of these factors could interfere with the normal process of foetal growth (Sacks et al., 2004). Maternal factors include the environment to which the mother is exposed during gestation (i.e. alcohol consumption, smoking, stress, exposure to chemical environmental contaminants, etc.), maternal illnesses during pregnancy (i.e. diabetes, hypertension or viral illnesses), and maternal under- or over nutrition. All these factors are not only capable of limiting foetal growth, but may also impair foetal development which could contribute to the emergence of pathologies during adult life (Padmanabhan et al., 2016). According to some studies, genetic factors are implicated in 30 to 50% of cases of delayed foetal growth, while environmental factors are implicated in the rest. Nonetheless, the interaction between genetic and environmental factors may also contribute to alterations in foetal growth (Schettler et al., 1999).

Birth weight is an important indicator of health during the perinatal stage and throughout life. Foetuses with abnormal growth present a higher risk of perinatal morbidity and mortality (Kamai et al., 2019).). Some studies suggest that both low and high birthweight increase the risk of dysfunction in the short-, medium- and long-term and subsequently lead to some of the main health issues seen throughout the world, such as, diabetes, obesity, hypertension, cardiovascular diseases, autoimmune diseases, neurodevelopmental issues and neurodegenerative disorders (Pinos et al., 2021). In Andalusia (South Spain), 36.8% of all infant deaths occurring in 2018 were due to issues originating during the perinatal period, including disorders emerging during the period of gestation and foetal growth, delayed foetal growth, foetal malnutrition, extreme immaturity, and extremely low birthweight (Children's Observatory in Andalusia. 2019).

Pesticides are among the environmental contaminants associated with a higher risk of low birth weight or intrauterine growth retardation (Windham et al., 2008). Almeria (South-East corner of Spain) is a province with high agricultural activity, and Western Almeria presents the largest surface area for greenhouse cultivation in the province. According to the Andalusian Ministry of Agriculture, 7,539.38 tonnes of pesticides were used in the province in 2019. This is equivalent to 46.56% of overall annual consumption in Andalusia (Ministry of Agriculture, Livestock, Fisheries and Sustainable Development., 2019).

Organophosphate pesticides along with pyrethroid insecticides are widely used throughout the world in agriculture and for pest control in the domestic setting. Further, pyrethroids have been replacing the more toxic organophosphorus compounds due to their lower toxicity (Shafer et al., 2005). Little is known about the potential short- and long-term effects of prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides on the foetus. This is considered to be of high importance due to the capacity of these substances to cross the placental barrier, as observed in various studies in which these metabolites have been found in cord blood, placental biopsies, amniotic fluid or meconium (Personne et al., 2021; Koutroulakis et al., 2014; Whyatt et al., 2009; Perera et al., 2003; Bradman et al., 2003).

Various studies have observed that exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides before and during pregnancy negatively impacts foetal growth and increases the risk of giving birth to children with a low birth weight (Naksen et al., 2015; Zhang et al., 2014; Rauch et al., 2012; Hanke et al., 2003), decreases the length of newborns (Whyatt et al., 2004), shortens gestational length (Rauch et al., 2012; Wang et al., 2012; Eskenazi et al., 2004) and reduces head circumference (Berkowitz et al., 2004).

To the best of our knowledge, few studies have addressed the association between exposure to organophosphate pesticides and foetal growth measured through birth anthropometry and gestational age, and existing evidence is inconclusive. Inconsistency across studies is mainly

related to the methodological approach used by the studies, such as assessment of exposure at different time windows during the pregnancy, treatment of left-censored data, different study populations (geographical origin, ethnicity, sex distribution) and adjustment of statistical models by different confounders, among others.

The main aim of the present study was to analyse the association between exposure to organophosphate pesticides, as measured through its 6 non-specific urinary metabolites (dialkylphosphates (DAPs)), a relatively specific metabolite of chlorpyrifos (3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy)), and a non-specific metabolite of pyrethroids (3-phenoxybenzoic acid (3-PBA)) with anthropometry at birth.

## **2. Materials and Methods**

### *2.1. Design, study sample and study population*

The sample size was initially calculated for the current study using GPower software. We considered information reported in Eskenazi et al. (2004), where a significant association between prenatal exposure to DAPs and head circumference at birth was observed ( $\beta=0.32$ ;  $p\text{-value}=0.03$ ). The sample size required to replicate this beta coefficient, for an  $\alpha=0.05$  and  $\text{power}=0.9$ , and the same number of predictors, was, as minimum,  $n=536$ . On this basis, the study was conducted on a sub-sample of 537 mother-child pairs randomly selected from 800 pairs participating in the prospective birth cohort GENEIDA (Genetics, early life environmental exposures and infant development in Andalusia) [<https://www.easp.es/web/geneida/>].

Participating pregnant women were recruited from Hospital El Poniente (El Ejido, Almeria), which is the reference hospital of the district in which the study population

resided. Data gathering was initiated in April 2014 and continued until November 2017. Participating women were recruited at first trimester of pregnancy. Their first routine appointment within the Obstetrics Service was capitalised on for recruitment. Pregnant women were followed-up in this Service throughout their entire pregnancy up until delivery. Exclusion criteria restricted participation in the present study to women who were under 16 years of age, pregnant with twins, had become pregnant via in vitro fertilisation techniques (IVF), suffered from a chronic illness prior to pregnancy (e.g., hypo- or hyperthyroidism, diabetes, cancer at any site, lung, kidney and liver diseases, heart disease, among others) and being under medical treatment, planned to give birth outside of the hospital or had language barriers.

## *2.2. Determination of Organophosphate metabolites (DAPs, TCPy) and pyrethroid (3-PBA) metabolites*

During hospital appointments at the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> pregnancy trimesters (13,2 and 35,9 gestational weeks on average, respectively), first morning urine samples were collected at home using sterile polypropylene containers and taken to the hospital the same day as their morning appointment. Once obtained, samples were aliquoted into 5 mL tubes and stored at -80° C until analysis.

A total of six dialkylphosphate metabolites were analysed: dimethyl phosphate (DMP), dimethyl thiophosphate (DMTP), dimethyl dithiophosphate (DMDTP), diethyl phosphate (DEP), diethyl thiophosphate (DETP), diethyl dithiophosphate (DEDTP), 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy; a metabolite of chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl and triclopyr) and 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA; a common metabolite of several pyrethroids).

### *2.2.1. Sample preparation and instrumental analysis*



Urine samples were shipped on dry ice to the Toxicology Unit (University Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), Canary Islands, Spain) for subsequent analyses. Upon arrival, urine samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. Samples were thawed at  $4^{\circ}\text{C}$ , homogenized, and centrifuged before the analysis.

The extraction consisted of a Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged & Safe (QuEChERS)-based method optimized and validated in ULPGC laboratory. Briefly, 2 mL of urine and 100  $\mu\text{L}$  of  $\beta$ -glucuronidase were added into a 15 mL centrifuge tube, mixed, and allowed to incubate at  $37^{\circ}\text{C}$  overnight. Then, samples were vortexed and centrifuged at 4200 rpm x  $5^{\circ}\text{C}$  for 5 min in a 5804 R Eppendorf centrifuge (Eppendorf, Hamburg, Germany). The supernatant was decanted into a new tube and 2 mL of ACN-2% formic acid (FA) was added and shaken for 1 min. Next, 1.2 g  $\text{MgSO}_4$  and 0.3 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  were added, shaken vigorously for 1 min, and centrifuged again at the same parameters. The extract was subjected to a clean-up process with 50 mg C18 and 300 mg  $\text{MgSO}_4$ , energetically shaken for 1 min, and centrifuged as the previous step. The supernatant was then filtered through 0.22  $\mu\text{m}$  Chromafil® PET filters (Macherey-Nagel, Düren, Germany), and 1 mL was evaporated at  $35^{\circ}\text{C}$  for 2:30 h using a vacuum concentrator RVC 2-25 CD plus (Christ, Germany). Finally, it was reconstituted with 100  $\mu\text{L}$  of a MeOH: Water (10:90) solution and transferred to a chromatography amber glass vial.

Samples were analysed by LC-MS/MS on an Agilent 1290 UHPLC coupled to an Agilent 6460 mass spectrometer. The chromatographic separations were performed using a Poroshell 120 EC-C18 2.1 x 100 mm, 2.7  $\mu\text{m}$  with a Poroshell Guard pre-column of the same characteristics and a length of 2.1 x 5mm (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid in water (A), and methanol (B). A binary gradient using mobile phases A and B was programmed as follows: 0 - 2 min, 10% B; 2 - 4 min, 20% B; 4 - 8 min, 40% B; 8 - 10 min, 50% B; 10 - 12 min, 60% B; 12 - 14.20 min, 80% B; 14.20 - 16 min, 100% B; 16 - 18 min, 10%B. The flow rate was set at 0.3 mL/min. The injection volume was 10  $\mu\text{L}$ . The column oven temperature was set at  $40^{\circ}\text{C}$ . Total run time was 18 min. MS/MS analyses were

performed using the Agilent Jet Stream Electrospray Ionization Source (AJS-ESI) in positive ionization and dynamic multiple reaction monitoring (dMRM) mode. Nitrogen provided by Zefiro 40 nitrogen generator (F-DGSi, Evry, France) was used as drying and desolvation gas. Nitrogen 6.0 (99.9999% purity, Linde, Dublin, Ireland) was used as collision gas.

Limits of detection (LOD) were as follows: 0.15 µg/L for DMP, DMTP, and DMDTP, and 0.10 µg/L for DEP, DETP, DEDTP, TCPy and 3-PBA.

Creatinine concentrations were determined by Jaffe method (Jaffe et al., 1886).

### *2.3. Anthropometric measurements and gestational age*

Anthropometric measures at birth (weight, length, head circumference) and gestational age were obtained from the hospital's clinical records. Prematurity was established from gestational age (delivery <37 weeks of gestation). Further, the ponderal index was calculated using the following formula: (birthweight (grams) x 100)/(length (cm))<sup>3</sup> (Komaroff, 2017). Gestational age was estimated from the date of the last menstrual period (DLP). To gauge this, pregnant women were asked to recall this date during their visit to the obstetrician during the 1st trimester of pregnancy (self-reported DLP). Following this, the obstetrician estimated operational DLP via ultrasound according to measurement of foetal crown-rump length (CRL). For cases in which self-reported DLP and that obtained by ultrasound differed by more than 7 days, the value determined by the ultrasound was selected for use.

Specific z-scores for weight, length and head circumference at birth were calculated. To this end, standardised foetal growth charts and newborn growth charts were used adjusted according to gestational age and infant sex, as calculated in the INTERGROWTH-21<sup>ST</sup> project (Villar et al., 2014).

Newborns were classified as a function of gestational age as either premature (born alive prior to 37 weeks of gestation) and full term (born alive between 37 and 42 weeks of gestation).

#### *2.4. Data collection*

All female participants were administered two questionnaires during their clinic appointments scheduled at the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> trimester of pregnancy. The first gathered information on: a) demographic data and socioeconomic characteristics, b) working life and occupational exposure, c) exposure at home and living environment, d) obstetric history, and e) prior illnesses and drug use. The second questionnaire was a food frequency questionnaire based in a previously validated questionnaire for Spanish population (Vioque et al., 2013) and adapted for Andalusian population. This questionnaire has been validated within our study population (Hinojosa-Nogueira et al., 2021) and is composed of a list of 119 foods and nine options pertaining to consumption frequency. This questionnaire was also made up of items around alcohol consumption habits, vitamin supplementation and the preparation and cooking of foodstuffs.

Questionnaires administered in the 1<sup>st</sup> trimester of pregnancy collected information on the 6 months prior to pregnancy and up until the time of data collection, while questionnaires applied in the 3<sup>rd</sup> trimester gathered information from the time of administration during the 1<sup>st</sup> trimester (general and FFQ) up until administration during the 3<sup>rd</sup> trimester.

In addition to the information collected via the questionnaires, participants' clinical history was accessed in order to gather information on illnesses and obstetric complications due to pregnancy and labour.

#### *2.5. Statistical analysis*

Sociodemographic characteristics of the study population are described according to mean and standard deviation, in the case of continuous variables, and absolute (n value) and relative (%) frequencies, in the case of categorical variables.

The sum of urinary concentrations of the six dialkylphosphate metabolites ( $\Sigma$ DAPs) was calculated at the 1st and 3rd trimesters of pregnancy. Concentrations below the LOD were imputed by assigning random values that followed a uniform distribution between 0 and LOD. All metabolite concentrations were then converted to molar concentrations (nmol/L) using their respective molecular weights to improve their fit to a normal distribution (Eskenazi, 2004). Then, summary of the 6 dialkylphosphates ( $\Sigma$ DAPs) and of the metabolites with methyl ( $\Sigma$ DMs) and ethyl ( $\Sigma$ DEs) moieties were calculated for the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> trimester of pregnancy. Finally, metabolite concentrations were adjusted for creatinine levels (nmol/g creatinine).

The arithmetic and geometric mean and percentiles (50, 75 and 95) were calculated for concentrations pertaining to each dialkylphosphate metabolite,  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs,  $\Sigma$ DEs, TCPy and 3-PBA during the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> trimester of pregnancy. However, only data above the LOD was reported.

Bivariate and multivariate generalized linear models (GLM) were performed to evaluate the effect of prenatal exposure to OP pesticides and pyrethroids on birth outcomes, taking as dependent variables the specific z-scores (calculated for anthropometric measures at birth), ponderal index, gestational age and prematurity, and as independent variables the concentration of individual dialkylphosphate metabolites (dichotomised as a function of LOD),  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DEs,  $\Sigma$ DMs, as well as TCPy and 3-PBA levels (also dichotomised as a function of LOD) in the mother's urine collected at first and third trimester of pregnancy. Generalized estimating equation (GEE) was used to analyse the association between repeated measures of prenatal exposure and birth outcomes (Sánchez et al., 2011). Sex-stratified analysis were conducted if the results for the interaction term "exposure  $\times$  sex" were statistically significant in order to identify sex-specific

effects. For an accurate estimation of the exposure, creatinine levels were handled as an adjusting variable in the multivariate models instead of correcting urine metabolite concentrations by creatinine levels, according to previous evidence (Mage et al., 2004).

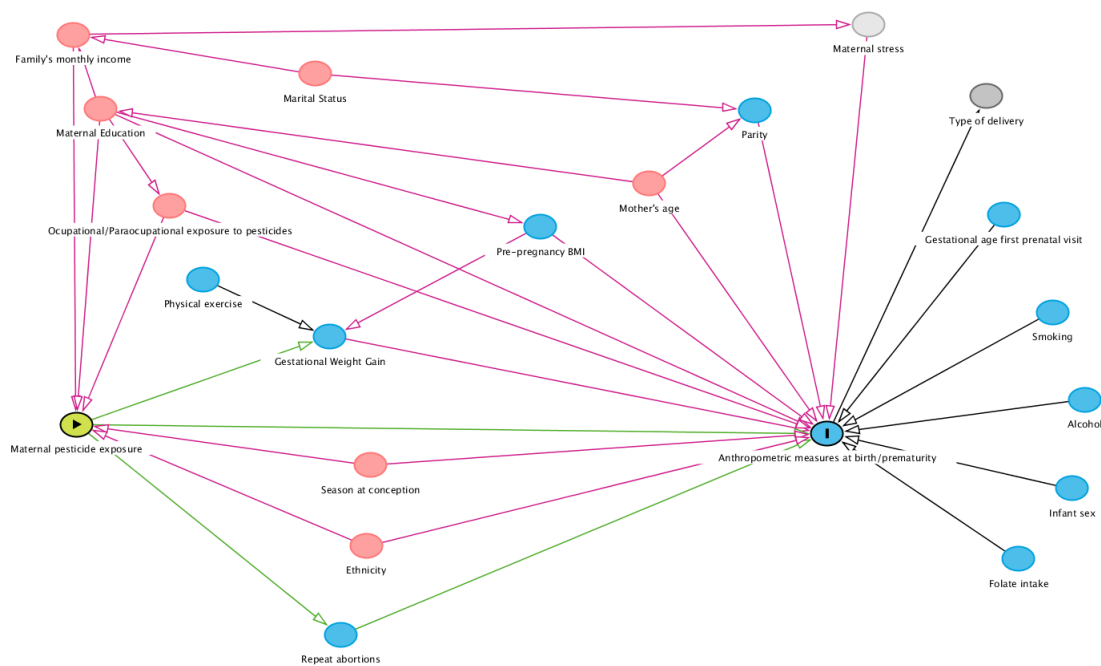
Potential confounders were identified based on the findings of previous studies that evaluated the association between exposure to organophosphate and/or pyrethroid pesticides and the outcomes of interest (anthropometry at birth, ponderal index, gestational age and prematurity), alongside the biological plausibility of these associations. The following confounders and covariates were taken into account to adjust the multivariate models: mother's age (continuous), marital status (married or stable partner, single, separated or divorced, widowed, others), mother's highest educational attainment (primary school, secondary school and university studies), body mass index (BMI), ethnicity (European whites and others), family's monthly income (<€1000, €1000-2000, €2001-3000 and >€3000), BMI prior to pregnancy (continuous), weight gain during pregnancy (continuous), smoking (did not smoke, smoked during the 1st trimester, smoked during pregnancy), alcohol consumption during pregnancy (continuous; g/day), second hand smoke (yes/no), physical exercise (yes/no), occupational/para-occupational exposure to pesticides (yes/no), , week of gestation at first obstetrician appointment (continuous), total folate intake during pregnancy (a continuous variable calculated as supplemental folic acid +0.6 \* folate intake from food  $\mu\text{g/day}$ ), parity (0: primiparous,  $\geq 1$  multiparous), repeat abortions (yes/no), type of delivery (caesarean section, assisted vaginal delivery, spontaneous vaginal delivery) and season of conception (winter, spring, summer, autumn). Complications during pregnancy (preeclampsia, gestational diabetes and/or hypertension) were not considered when fitting the models due to their role as mediators through a causal pathway between exposure to organophosphates and anthropometry at birth. This was done to avoid potential bias in observed associations (Wilcox et al., 2011).

Models were adjusted for a minimal sufficient set of confounders identified a priori using a directed acyclic graph [DAG] (DAGitty software v3.0) (Figure 1). Two covariates (weight gain

and maternal smoking during pregnancy) were also used to adjust models as they modified significantly  $\beta$  coefficients by at least a 10%.

Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . All statistical analyses were performed using IBM SPSS statistics v. 21 and R software.

**Figure 1.** Direct acyclic graph reporting the potential relationship between the exposure and effect variables and covariates.



Red circles: confounding variables. Blue circles: covariates (causality associated with health outcomes). Light grey circle: variable not available in our study. Dark grey circle: descendant variable.

### 3. Results

Table 1 presents characteristics pertaining to all the mothers and newborns offspring participating in the present study. The mean age of the mothers was 31 years, 94.8% of participants were of European white ethnicity and only 26.4% had undertaken university studies, and 62.4% had a family's monthly income below 2000 €. The majority of women did not smoke during gestation

(82.1%) and 40.1% were occupationally or para-occupationally exposed to pesticides during pregnancy. Mother's average BMI prior to pregnancy was 24.18 kg/m<sup>2</sup> and average weight gain during pregnancy was 11.25 kg.

With regards to newborns, the majority were male (53.3%), and the average weight and length at birth was 3302.72 g and 50.65 cm, respectively. The mean of gestational age was 39.82 weeks and only 2.8% of infants were born prematurely.

**Table 1. Main characteristics of mother-child pairs of the GENEIDA birth cohort (n=537).**

<b>Characteristic</b>	<b>No. (%), mean ± SD</b>
<b>Maternal characteristics</b>	
<b>Maternal age</b>	31.26 ± 4.76
<b>Maternal ethnicity</b>	
White	509 (94.8%)
Others	28 (5.2%)
<b>Marital status</b>	
Married or stable partner	506 (94.2%)
Single	26 (4.8%)
Separated or divorced	2 (0.4%)
Widowed	1 (0.2%)
Others	2 (0.4%)
<b>Family's monthly income</b>	
<1000	87 (16.2%)
1000-2000	248 (46.2%)
2001-3000	160 (29.8%)
>3000	42 (7.8%)
<b>Education</b>	
Primary education	261 (48.6%)
Secondary education	134 (25.0%)
Higher education	142 (26.4%)
<b>Occupational/Para-occupational exposure to pesticides during pregnancy</b>	
Yes	217 (40.4%)

No	320 (59.6%)
<b>Season of conception</b>	
Winter	133 (24.7%)
Spring	146 (27.0%)
Summer	124 (23.0%)
Autumn	136 (25.3%)
<b>Maternal Smoking</b>	
Non-smoker	441 (82.1%)
Smoker (only 1st trimester)	23 (4.3%)
Smoker during pregnancy	73 (13.6%)
<b>Pregnancy Weight gain (Kg)</b>	11.25 ± 5.61
<b>Infant characteristics</b>	
<b>Infant sex</b>	
Male	286 (53.3%)
Female	251 (46.7%)
<b>Gestational age (weeks)</b>	39.82 ± 1.35
<b>Birth weight (g)</b>	3302.72 ± 446.07
<b>Birth length (cm)</b>	50.65 ± 2.11
<b>Head circumference (cm)</b>	33.75 ± 1.54
<b>Ponderal index</b>	2.54 ± 0.25
<b>Prematurity</b>	
Yes	15 (2.8%)
No	522 (97.2%)

---

Mean urine concentrations and percentiles (50, 75 and 95) of six dialkylphosphates metabolites,  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs and  $\Sigma$ DEs, TCPy and 3-PBA during the first and third trimesters of pregnancy are shown in table 2. The concentrations of these metabolites are presented as  $\mu\text{g/L}$ ,  $\mu\text{g/g}$  creatinine,  $\text{nmol/L}$  and  $\text{nmol/g}$  creatinine to enable comparison with other studies. Geometric means for urine levels of DMP,  $\Sigma$ DAPs and  $\Sigma$ DMs during the 1<sup>st</sup> trimester were 1.70, 6.23 and 10.27  $\text{nmol/L}$  (1.87, 6.82 and 11.26  $\text{nmol/g}$  creatinine), respectively. The corresponding concentrations for the 3<sup>rd</sup> trimester were 2.05, 7.12 and 10.84  $\text{nmol/L}$  (2.71, 9.41 and 14.33  $\text{nmol/g}$  creatinine), respectively.



**Table 2. Concentrations of dialkylphosphate metabolites, 3-PBA and TCPy, in maternal urine samples from the first (n=529) and third trimester (n=503) of pregnancy in the GENEIDA cohort.**

Pesticide metabolites	First trimester								Third trimester							
	%<LOD	Mean	GM	Min>LOD	P50	P75	P95	Max.	%<LOD	Mean	GM	Min>LOD	P50	P75	P95	Max.
DMP (µg/L)	48.8	0.49	0.21	0.30	0.32	0.89	1.40	1.54	48.8	0.54	0.26	0.30	0.44	0.96	1.42	1.54
DMTP (µg/L)	63.1	0.50	<	0.16	<	0.58	1.87	11.54	63.1	0.56	<	0.19	<	0.61	2.17	19.46
DMDTP (µg/L)	78.3	0.40	<	0.32	<	<	1.93	11.68	78.3	0.41	<	0.35	<	<	2.27	15.21
DEP (µg/L)	86.2	0.42	<	0.23	<	<	3.02	8.93	86.2	0.46	<	0.39	<	<	2.32	13.23
DETP (µg/L)	78.1	0.52	<	0.18	<	<	2.45	25.32	78.1	0.24	<	0.43	<	<	1.32	8.17
DEDTP (µg/L)	92.6	0.11	<	0.36	<	<	0.67	1.49	92.6	0.11	<	0.32	<	<	0.43	5.92
3-PBA (µg/L)	79.4	0.33	<	0.25	<	<	1.36	33.14	79.4	0.21	<	0.37	<	<	1.28	6.77
TCPy (µg/L)	77.7	0.25	<	0.11	<	<	1.18	11.47	77.7	0.22	<	0.11	<	<	1.13	11.69
DMP (µg/g creatinine)	48.8	0.69	0.24	0.30	0.31	0.89	2.51	8.06	48.8	0.92	0.34	0.53	0.55	1.38	2.90	10.48
DMTP (µg/g creatinine)	63.1	0.56	<	0.27	<	0.56	2.53	18.90	63.1	0.81	<	0.44	<	0.79	3.42	20.14
DMDTP (µg/g creatinine)	78.3	0.51	<	0.40	<	<	2.25	18.31	78.3	0.64	<	0.27	<	<	3.62	29.76
DEP (µg/g creatinine)	86.2	0.60	<	0.38	<	<	3.64	29.94	86.2	0.76	<	1.81	<	<	4.25	18.48
DETP (µg/g creatinine)	78.1	0.82	<	0.42	<	<	3.42	49.89	78.1	0.31	<	0.14	<	<	1.37	11.61
DEDTP (µg/g creatinine)	92.6	0.17	<	0.41	<	<	0.59	15.10	92.6	0.17	<	0.27	<	<	0.54	6.67
3-PBA (µg/g creatinine)	79.4	0.42	<	0.30	<	<	1.55	47.34	79.4	0.29	<	0.17	<	<	1.60	7.67
TCPy (µg/g creatinine)	77.7	0.28	<	0.21	<	<	1.15	12.70	77.7	0.29	<	0.17	<	<	1.36	10.26
DMP (nmol/L)	48.8	3.85	1.70	2.38	2.54	7.06	11.11	12.22	44.3	4.29	2.05	2.38	3.49	7.62	11.25	12.22
DMTP (nmol/L)	63.1	3.52	<	1.13	<	4.08	13.16	81.21	52.9	3.91	<	1.34	<	4.29	15.27	136.95
DMDTP (nmol/L)	78.3	3.17	<	2.54	<	<	15.31	92.67	84.1	3.27	<	2.78	<	<	18.01	120.67
DEP (nmol/L)	86.2	2.73	<	1.49	<	<	19.56	57.92	76.1	2.97	<	2.53	<	<	8.56	85.82
DETP (nmol/L)	78.1	3.05	<	1.06	<	<	14.39	148.7	90.5	1.38	<	2.53	<	<	13.61	47.98
DEDTP (nmol/L)	92.6	0.60	<	1.93	<	<	3.59	7.97	94.4	0.6	<	1.71	<	<	2.29	31.78
ΣDAP (nmol/L)	28.9	10.54	6.23	1.27	6.43	12.10	27.17	129.29	20.9	11.46	7.12	1.34	7.22	12.14	32.83	267.86
ΣDE (nmol/L)	67.3	6.37	<	1.49	<	6.06	27.81	180.91	67.4	4.95	<	2.29	<	4.33	21.73	97.07
ΣDM (nmol/L)	22.1	16.91	10.27	1.27	9.68	18.73	57.40	188.68	14.7	16.42	10.84	1.34	9.44	16.75	45.77	268.83
3-PBA (nmol/L)	79.4	1.54	<	1.17	<	<	6.33	154.70	86.1	0.96	<	1.73	<	<	5.97	31.6
TCPy (nmol/L)	77.7	1.26	<	0.55	<	<	5.95	57.80	82.3	1.10	<	0.55	<	<	5.68	58.91

DMP (nmol/g creatinine)	48.8	5.46	1.87	1.25	2.49	7.10	19.92	63.95	44.3	7.27	2.71	2.00	4.38	10.96	23.08	83.11
DMTP (nmol/g creatinine)	63.1	3.97	<	0.57	<	3.96	17.83	133.00	52.9	5.68	<	1.07	<	5.56	24.09	141.77
DMDTP (nmol/g creatinine)	78.3	4.01	<	1.23	<	<	17.89	145.23	84.1	5.08	<	2.89	<	<	28.73	236.13
DEP (nmol/g creatinine)	86.2	3.90	<	0.60	<	<	23.62	194.22	76.1	4.96	<	1.89	<	<	27.58	119.86
DETP (nmol/g creatinine)	78.1	4.82	<	0.89	<	<	20.07	292.98	90.5	1.85	<	2.06	<	<	8.06	68.16
DEDTP (nmol/g creatinine)	92.6	0.92	<	1.15	<	<	3.16	80.81	94.4	0.90	<	1.06	<	<	2.89	35.67
ΣDAPs (nmol/g creatinine)	28.9	13.45	6.82	0.75	7.95	15.91	43.97	322.27	20.9	18.02	9.41	1.62	10.50	21.60	57.94	392.41
ΣDEs (nmol/g creatinine)	67.3	9.64	<	0.82	<	6.32	53.17	490.27	67.4	7.71	<	2.26	<	7.08	39.81	147.65
ΣDMs (nmol/g creatinine)	22.1	23.09	11.26	1.17	11.59	25.08	85.14	498.96	14.7	25.73	14.33	2.75	15.70	30.84	78.79	397.54
3-PBA (nmol/g creatinine)	79.4	1.95	<	0.54	<	<	7.26	221.00	86.1	1.36	<	1.14	<	<	7.47	35.80
TCPy (nmol/g creatinine)	77.7	1.41	<	0.26	<	<	5.79	64.01	82.3	1.48	<	0.61	<	<	6.85	51.73

LOD: Limit of detection (0.15 µg/L for DMP, DMTP, and DMDTP; 0.10 µg/L for DEP, DETP, DEDTP, TCPy and 3-PBA)

GM: Geometric mean

Min>LOD: minimum value detected above LOD

% < LOD percentage below LOD

\*ΣDAPs= ΣDEs + ΣDMs; ΣDMs= DMP + DMTP + DMDTP; ΣDEs= DEP + DETP + DEDTP.

Table 3 presents results of the association between anthropometric measures at birth, gestational age and prematurity and  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs and  $\Sigma$ DEs urine levels during pregnancy. Birth weight was found to be near-significantly and inversely associated with urine  $\Sigma$ DMs concentration during the third trimester ( $\beta = -0.18$ ; 95% CI: -0.37; 0.01). Prenatal  $\Sigma$ DEs exposure during the 3rd trimester of pregnancy was marginally associated with higher length at birth ( $\beta = 0.15$ ; 95% CI: -0.02;0.32). GEE models revealed that increased  $\Sigma$ DAP levels were significantly associated with a smaller head circumference in boys ( $\beta = -0.32$ ; 95% CI: -0.62; -0.01) but not in girls. No significant associations were observed between  $\Sigma$ DAPs in the 1<sup>st</sup> trimester of pregnancy and anthropometric measurements at birth, as well as between  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs and  $\Sigma$ DEs and gestational age and prematurity.

**Table 3. Associations between prenatal concentration of dialkylphosphates in maternal urine (Log<sub>10</sub>) and anthropometry at birth, gestational age and prematurity.**

Variables	Metabolites	1 <sup>st</sup> trimester <sup>#</sup> (n=529)			3 <sup>rd</sup> trimester <sup>#</sup> (n= 503)			All pregnancy <sup>##</sup> (n= 494)			Sex- interaction term <sup>##</sup>	All pregnancy <sup>##</sup> models-boys			All pregnancy <sup>##</sup> models-girls		
		$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value
Z-Weight <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.11	(-0.29; 0.06)	0.209	-0.07	(-0.28; 0.14)	0.523	-0.12	(-0.29; 0.06)	0.189	0.460						
	$\Sigma$ DMs	-0.08	(-0.24; 0.09)	0.369	-0.18	(-0.37; 0.01)	0.067	-0.07	(-0.23; 0.10)	0.428	0.520						
	$\Sigma$ DEs	-0.05	(-0.18; 0.08)	0.469	0.09	(-0.06; 0.23)	0.225	-0.06	(-0.19; 0.07)	0.337	0.802						
Z-Length <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.14	(-0.36; 0.07)	0.190	0.05	(-0.20; 0.31)	0.689	-0.15	(-0.35; 0.05)	0.150	0.035	-0.12	(-0.38; 0.15)	0.388	-0.19	(-0.49; 0.11)	0.215
	$\Sigma$ DMs	-0.15	(-0.35; 0.05)	0.146	-0.06	(-0.29; 0.17)	0.612	-0.13	(-0.32; 0.06)	0.177	0.062	-0.04	(-0.30; 0.21)	0.740	-0.22	(-0.49; 0.05)	0.115
	$\Sigma$ DEs	-0.04	(-0.20; 0.12)	0.588	0.15	(-0.02; 0.32)	0.089	-0.06	(-0.21; 0.09)	0.454	0.086	-0.12	(-0.31; 0.07)	0.216	-0.01	(-0.25; 0.22)	0.901
Z-HC <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.08	(-0.32; 0.16)	0.498	0.20	(-0.10; 0.49)	0.188	-0.10	(-0.34; 0.14)	0.417	0.071	-0.32	(-0.62; -0.01)	0.046	0.14	(-0.20; 0.49)	0.411
	$\Sigma$ DMs	-0.07	(-0.30; 0.16)	0.546	0.21	(-0.06; 0.48)	0.123	-0.09	(-0.31; 0.13)	0.437	0.105						
	$\Sigma$ DEs	-0.03	(-0.21; 0.15)	0.738	0.04	(-0.16; 0.23)	0.725	-0.04	(-0.22; 0.13)	0.621	0.017	-0.15	(-0.37; 0.08)	0.203	0.11	(-0.15; 0.37)	0.394
Ponderal Index <sup>b</sup>	$\Sigma$ DAPs	0.01	(-0.04; 0.05)	0.831	-0.03	(-0.09; 0.02)	0.265	0.00	(-0.05; 0.05)	0.975	0.282						
	$\Sigma$ DMs	0.02	(-0.03; 0.06)	0.486	-0.04	(-0.09; 0.02)	0.190	0.01	(-0.03; 0.05)	0.690	0.210						
	$\Sigma$ DEs	0.00	(-0.04; 0.04)	0.965	-0.01	(-0.05; 0.02)	0.471	0.00	(-0.04; 0.03)	0.844	0.826						
Gestational Age <sup>b</sup>	$\Sigma$ DAPs	0.10	(-0.16; 0.37)	0.451	0.03	(-0.26; 0.33)	0.818	-0.01	(-0.24; 0.22)	0.925	0.602						
	$\Sigma$ DMs	0.00	(-0.25; 0.25)	0.978	0.02	(-0.25; 0.29)	0.876	-0.11	(-0.32; 0.11)	0.326	0.436						
	$\Sigma$ DEs	0.11	(-0.09; 0.31)	0.267	-0.02	(-0.22; 0.18)	0.861	0.09	(-0.08; 0.26)	0.308	0.584						
Prematurity <sup>b*</sup>	$\Sigma$ DAPs	0.45	(0.12; 1.56)	0.208	0.20	(0.02; 1.78)	0.154	0.96	(0.27; 3.39)	0.955	0.477						
	$\Sigma$ DMs	0.68	(0.22; 2.19)	0.515	0.42	(0.06; 3.02)	0.378	1.70	(0.48; 5.95)	0.408	0.275						
	$\Sigma$ DEs	0.76	(0.25; 1.90)	0.587	0.54	(0.08; 2.27)	0.448	0.98	(0.40; 2.39)	0.964	0.880						

# Generalized lineal model (GLM)

## Generalized estimating equation (GEE model)

a) Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.

b) Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), infant sex, maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.

\* Coefficient of association is odds ratio

Table 4 presents adjusted models exploring the associations between anthropometric measures at birth, gestational age, prematurity and urinary concentrations of each individual diethyl metabolite (DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, DMDTP). Urinary levels of DEP above the LOD during the third trimester of pregnancy were significantly associated with a greater birth weight ( $\beta=0.19$ ; 95% CI: 0.00; 0.38). However, the GEE model showed a near significant association between DEP and a smaller birth weight. Moreover, the GEE model showed that DETP levels above LOD were near-significantly associated with a decreased length at birth in boys ( $\beta= -0.27$ ; 95% CI: -0.54; 0.01).

Urinary concentrations of DMP > LOD during the third trimester gave birth to babies with decreased birth weight ( $\beta=-0.24$ ; 95% CI: -0.41; -0.06). Moreover, DMP > LOD during 3rd trimester was near-significantly associated with decreased birth length ( $\beta= -0.20$ ; 95% CI: -0.41;0.02). Likewise, mothers with urinary concentration of DMTP > LOD during the third trimester of pregnancy gave birth to babies with larger head circumference at birth ( $\beta=0.22$ ; 95% CI: 0.00; 0.44). In contrast, no significant association was found between urine concentrations of each individual dimethyl alkyl phosphate metabolite during the first trimester of pregnancy and anthropometric measures at birth. GEE model showed that DMTP levels above the LOD were associated with a significantly increased risk of prematurity in girls (OR= 17.08; 95% CI: 1.51; 193.41)

**Table 4. Associations between prenatal concentration of individual dialkylphosphate metabolites (above vs. below the LOD) in maternal urine and anthropometry at birth, gestational age and prematurity.**

Variables	Metabolites	1 <sup>st</sup> trimester <sup>#</sup> (n=529)			3 <sup>rd</sup> trimester <sup>#</sup> (n= 503)			All pregnancy <sup>##</sup> (n= 494)			Sex- interaction term <sup>##</sup>	All pregnancy <sup>##</sup> models-boys			All pregnancy <sup>##</sup> models-girls		
		$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value
<b>Z-Weight<sup>a</sup></b>	DMP	-0.07	(-0.23; 0.09)	0.371	-0.24	(-0.41; -0.06)	0.007	-0.07	(-0.23; 0.09)	0.373	0.990						
	DMTP	-0.06	(-0.22; 0.10)	0.482	-0.01	(-0.17; 0.15)	0.928	-0.08	(-0.24; 0.08)	0.358	0.191						
	DMDTP	0.02	(-0.17; 0.21)	0.816	-0.12	(-0.33; 0.10)	0.290	0.00	(-0.18; 0.18)	0.982	0.947						
	DEP	-0.16	(-0.38; 0.07)	0.176	0.19	(0.00; 0.38)	0.046	-0.20	(-0.42; 0.02)	0.068	0.675						
	DETP	-0.02	(-0.21; 0.18)	0.876	0.08	(-0.19; 0.35)	0.549	-0.04	(-0.23; 0.15)	0.706	0.305						
	DEDTP	0.09	(-0.21; 0.39)	0.561	0.08	(-0.26; 0.43)	0.645	0.13	(-0.13; 0.40)	0.320	0.906						
<b>Z-Length<sup>a</sup></b>	DMP	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.524	-0.20	(-0.41; 0.02)	0.069	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.512	0.031	-0.06	(-0.31; 0.20)	0.653	-0.10	(-0.39; 0.18)	0.479
	DMTP	0.01	(-0.19; 0.21)	0.922	0.05	(-0.14; 0.25)	0.599	-0.02	(-0.21; 0.18)	0.854	0.078	-0.09	(-0.34; 0.16)	0.480	0.10	(-0.20; 0.39)	0.530
	DMDTP	-0.06	(-0.29; 0.17)	0.610	-0.04	(-0.31; 0.22)	0.746	-0.06	(-0.26; 0.14)	0.544	0.987						
	DEP	-0.08	(-0.35; 0.19)	0.557	0.15	(-0.08; 0.38)	0.202	-0.11	(-0.35; 0.12)	0.341	0.079	-0.18	(-0.47; 0.11)	0.226	-0.07	(-0.44; 0.31)	0.725
	DETP	-0.04	(-0.27; 0.19)	0.713	0.25	(-0.08; 0.58)	0.136	-0.09	(-0.30; 0.13)	0.430	0.033	-0.27	(-0.54; 0.01)	0.057	0.05	(-0.27; 0.38)	0.749
	DEDTP	0.02	(-0.34; 0.37)	0.930	0.12	(-0.29; 0.54)	0.563	0.12	(-0.21; 0.44)	0.485	0.841						
<b>Z-HC<sup>a</sup></b>	DMP	-0.08	(-0.29; 0.13)	0.465	-0.01	(-0.25; 0.23)	0.924	-0.09	(-0.31; 0.12)	0.399	0.416						
	DMTP	-0.07	(-0.29; 0.15)	0.511	0.22	(0.00; 0.44)	0.048	-0.11	(-0.33; 0.11)	0.314	0.575						
	DMDTP	0.02	(-0.23; 0.28)	0.861	-0.06	(-0.36; 0.24)	0.701	-0.02	(-0.28; 0.23)	0.869	0.098	-0.10	(-0.43; 0.23)	0.544	0.08	(-0.30; 0.46)	0.687
	DEP	-0.06	(-0.37; 0.25)	0.707	0.15	(-0.11; 0.41)	0.257	-0.04	(-0.34; 0.25)	0.774	0.022	-0.12	(-0.49; 0.25)	0.509	0.11	(-0.33; 0.55)	0.633
	DETP	-0.03	(-0.29; 0.22)	0.792	0.07	(-0.30; 0.44)	0.715	-0.06	(-0.32; 0.20)	0.641	0.012	-0.24	(-0.58; 0.09)	0.155	0.14	(-0.25; 0.53)	0.483
	DEDTP	-0.14	(-0.54; 0.27)	0.501	0.20	(-0.28; 0.67)	0.413	-0.09	(-0.51; 0.33)	0.670	0.307						
<b>Ponderal Index<sup>b</sup></b>	DMP	-0.01	(-0.05; 0.03)	0.725	-0.02	(-0.07; 0.03)	0.467	-0.01	(-0.05; 0.03)	0.677	0.384						
	DMTP	-0.02	(-0.06; 0.03)	0.420	-0.01	(-0.06; 0.03)	0.567	-0.02	(-0.06; 0.02)	0.359	0.143						
	DMDTP	0.03	(-0.03; 0.08)	0.323	-0.02	(-0.08; 0.04)	0.424	0.01	(-0.04; 0.06)	0.606	0.072	-0.01	(-0.08; 0.06)	0.779	0.04	(-0.03; 0.10)	0.255
	DEP	-0.03	(-0.09; 0.03)	0.353	0.02	(-0.03; 0.07)	0.513	-0.04	(-0.09; 0.01)	0.153	0.812						
	DETP	0.01	(-0.04; 0.06)	0.711	-0.04	(-0.11; 0.04)	0.330	0.01	(-0.04; 0.07)	0.617	0.459						
	DEDTP	0.04	(-0.04; 0.12)	0.376	-0.01	(-0.10; 0.09)	0.897	0.02	(-0.04; 0.08)	0.536	0.211						
<b>Gestational Age<sup>b</sup></b>	DMP	-0.03	(-0.27; 0.20)	0.770	0.19	(-0.06; 0.43)	0.133	-0.07	(-0.28; 0.15)	0.540	0.160						
	DMTP	-0.08	(-0.32; 0.17)	0.536	-0.08	(-0.31; 0.14)	0.472	-0.13	(-0.36; 0.11)	0.296	0.186						

	DMDTP	0.10	(-0.18; 0.38)	0.497	-0.19	(-0.49; 0.11)	0.211	0.00	(-0.27; 0.27)	0.996	0.896						
	DEP	0.10	(-0.24; 0.44)	0.562	-0.06	(-0.33; 0.20)	0.639	0.00	(-0.31; 0.32)	0.989	0.926						
	DETP	0.01	(-0.27; 0.30)	0.932	0.19	(-0.19; 0.57)	0.321	0.04	(-0.24; 0.32)	0.763	0.542						
	DEDTP	0.38	(-0.06; 0.82)	0.090	0.09	(-0.39; 0.57)	0.719	0.31	(-0.07; 0.69)	0.114	0.226						
	DMP	0.99	(0.33; 2.99)	0.978	1.02	(0.20; 6.22)	0.982	1.32	(0.30; 5.68)	0.713	0.037	2.83	(0.27; 29.10)	0.382	0.14	(0.02; 1.05)	0.055
	DMTP	0.95	(0.28; 2.80)	0.924	0.94	(0.18; 4.30)	0.939	3.11	(0.61; 15.78)	0.171	0.054	1.45	(0.22; 9.68)	0.703	17.08	(1.51; 193.41)	0.022
<b>Prematurity<sup>b*</sup></b>	DMDTP	0.84	(0.18; 2.83)	0.799	0.76	(0.04; 5.22)	0.813	1.25	(0.25; 6.22)	0.787	0.672						
	DEP	0.41	(0.02; 2.21)	0.400	0.41	(0.02; 2.67)	0.423	1.00	(0.11; 9.43)	1.000	0.661						
	DETP	1.36	(0.36; 4.24)	0.614	-	-	-	1.41	(0.26; 7.62)	0.688	0.742						
	DEDTP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.985						

# Generalized lineal model (GLM)

## Generalized estimating equation (GEE model)

- Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.
- Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), infant sex, maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.

\* Coefficient of association is odds ratio

Table 5 depicts the adjusted models exploring the associations of anthropometric measures at birth, gestational age, and prematurity with maternal urinary concentrations of TCPy and 3-PBA metabolites. TCPy levels above the LOD in the third trimester were near-significantly associated with increased birth length ( $\beta=0.23$ ; 95% CI: -0.02; 0.49). Moreover, urine levels of TCPy above the LOD in the first trimester were significantly associated with decreased head circumference at birth, ( $\beta=-0.31$ ; 95% CI: -0.57; -0.06). GEE models confirmed this finding, which was limited only to boys ( $\beta= -0.55$ ; 95%CI: -0.85; -0.25).

With respect to the metabolite 3-PBA, levels above the LOD in the first trimester of pregnancy were significantly associated a reduced gestational age ( $\beta=-0.36$ ; 95% CI: -0.65; -0.08). Besides, urine concentrations of 3-PBA above the LOD in first and third trimester of pregnancy were significantly and near-significantly associated, respectively, with an increased risk of prematurity (OR= 6.98; 95% CI: 2.32; 22.82 and OR= 4.30; 95% CI: 0.74; 21.58), respectively. A significantly increased risk of prematurity was also observed with the GEE analysis (OR= 8.93; 95% CI: 1.62; 49.23).



**Table 5. Associations between prenatal concentrations of 3-PBA and TCPy in maternal urine (above vs. below the LOD) and anthropometry at birth, gestational age and prematurity.**

Variables	Metabolites	1 <sup>st</sup> trimester <sup>#</sup> (n=529)			3 <sup>rd</sup> trimester <sup>#</sup> (n= 503)			All pregnancy <sup>##</sup> (n= 494)			Sex- interaction term <sup>##</sup>	All pregnancy <sup>##</sup> models-boys			All pregnancy <sup>##</sup> models-girls		
		$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value		p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)	p-value	$\beta_{adj}$	(95% CI)
<b>Z-Weight<sup>a</sup></b>	3-PBA	0.00	(-0.20; 0.19)	0.963	0.04	(-0.19; 0.27)	0.753	0.06	(-0.13; 0.25)	0.527	0.183						
	TCPy	-0.06	(-0.25; 0.12)	0.501	0.08	(-0.13; 0.29)	0.469	-0.08	(-0.27; 0.10)	0.382	0.753						
<b>Z-Length<sup>a</sup></b>	3-PBA	-0.06	(-0.30; 0.17)	0.588	-0.03	(-0.30; 0.25)	0.840	-0.01	(-0.25; 0.23)	0.947	0.491						
	TCPy	0.01	(-0.22; 0.24)	0.924	0.23	(-0.02; 0.49)	0.068	-0.03	(-0.27; 0.21)	0.799	0.194						
<b>Z-HC<sup>a</sup></b>	3-PBA	0.02	(-0.24; 0.29)	0.864	0.19	(-0.12; 0.51)	0.228	0.07	(-0.21; 0.35)	0.616	0.238						
	TCPy	-0.31	(-0.57; -0.06)	0.016	0.08	(-0.20; 0.37)	0.565	-0.34	(-0.59; -0.08)	0.010	0.044	-0.55	(-0.85; -0.25)	0.000	-0.08	(-0.50; 0.35)	0.723
<b>Ponderal Index<sup>b</sup></b>	3-PBA	-0.01	(-0.06; 0.04)	0.688	0.01	(-0.06; 0.07)	0.825	0.01	(-0.04; 0.06)	0.778	0.204						
	TCPy	-0.02	(-0.07; 0.04)	0.543	-0.04	(-0.09; 0.02)	0.217	-0.01	(-0.07; 0.04)	0.609	0.508						
<b>Gestational age<sup>b</sup></b>	3-PBA	-0.36	(-0.65; -0.08)	0.013	-0.18	(-0.49; 0.14)	0.280	-0.26	(-0.58; 0.06)	0.117	0.595						
	TCPy	0.11	(-0.17; 0.39)	0.428	-0.01	(-0.31; 0.28)	0.920	0.11	(-0.13; 0.36)	0.367	0.621						
<b>Prematurity<sup>b*</sup></b>	3-PBA	6.98	(2.32; 22.82)	0.001	4.30	(0.74; 21.58)	0.080	8.93	(1.62; 49.23)	0.012	0.998						
	TCPy	0.26	(0.01; 1.35)	0.201	0.88	(0.04; 6.42)	0.914	-	--	-	-						

# Generalized lineal model (GLM)

## Generalized estimating equation (GEE model)

- a) Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.
- b) Models adjusted for creatinine levels (mg/dl), infant sex, maternal age, ethnicity, marital status, family's monthly income, maternal education, exposure to pesticides via a secondary activity, season of conception, weight gain during pregnancy and smoking.

\* Coefficient of association is odds ratio

#### 4. DISCUSSION

The main aim of the present study was to examine the association between exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides (using maternal urine level of diverse metabolites as biomarkers of exposure) and foetal growth, as measured via birth anthropometry and gestational age at birth in the GENEIDA birth cohort. Overall, exposure to organophosphate pesticides during pregnancy was associated with altered anthropometric measures at birth, and prenatal exposure to pyrethroids with a decreased gestational age and a greater risk of preterm delivery.

The comparison of the results of our study with those from similar studies is summarized in Table 6. In particular, our study found that increased prenatal levels of sum of dimethyl metabolites levels of  $\Sigma$ DMs and DMP metabolite in the 3rd trimester were associated with decreased birth weight and increased DMP metabolite with decreased birth length. In contrast, longitudinal analysis over pregnancy showed that increased levels of DEP were associated with decreased birth weight and DETP with decreased birth length in boys. On the other hand, TCPy levels during 1st trimester was associated with a decreased head circumference and also in the longitudinal analysis over pregnancy (only in boys), while 3-PBA was associated with a shortened gestational length and with an increased risk of prematurity.

Similar results, and in the same direction, were found by Woods et al. (2017) and Rauch et al. (2012) for birth weight; however, conflicting findings were reported by other studies which reported an association between increased levels of diethyl metabolites and decreased birth weight (Huang et al., 2017; Wolf et al., 2007 and Naksen et al., 2015). As for birth length, Eskenazi et al. (2004) found a direct association with dimethyl metabolites whereas Huang et al. (2017) found an inverse association with diethyl metabolites, though this study measured pesticide metabolites in the second trimester of pregnancy.

In relation to head circumference our study found an inverse association with  $\Sigma$ DAPs in boys. Similar results were found in other studies where they also found an inverse associations of head circumference with dimethyl metabolites (Naksen et al., 2015) and with diethyl metabolites

(Naksen et al., 2015 and Liu et al., 2016). By contrast, Dalsager et al. (2018) found a direct association with diethyl metabolites, and Eskenazi et al. (2004) with both dimethyl and diethyl metabolites. Regarding TCPy and head circumference, our results are in agreement with Balalian et al. (2021), as in both cases an inverse association was found. More controversial findings were observed for 3-PBA as our study found no association with head circumference, while Huang et al. (2017) found an inverse association with 3-PBA measured at the third trimester and Zhang et al. (2014) a direct association but in the first trimester.

Regarding gestational age, the few studies that addressed this outcome also showed conflicting results. Our study was the only that found an inverse association of gestational age with 3-PBA and a direct association with prematurity. In contrast, Eskenazi et al. (2004) found an inverse association with dimethyl metabolites, Wang et al. (2012) an inverse association but with diethyl metabolites and Nuseir et al. (2021) an inverse association with DEDTP.

All these findings suggest that OP metabolites, to some extent, may alter anthropometric measures at birth, but the specific measure and the direction of the effect are not consistent across studies. The main factors underlying these conflicting results may be related to the timing of gestation at which urine samples were collected, the different approaches used for the identification and quantification of pesticide metabolites, the different populations studied, sex, ethnicity, and the variables (confounders) used to adjust the regression models, among others.

Overall, the present study indicates that exposure to OP metabolites, particularly in the 3<sup>rd</sup> trimester of gestation, may affect the weight, length and brain circumference at birth, particularly in boys. The decreased brain circumference may be related to the insecticide chlorpyrifos as the relatively specific metabolite TCPy was also significantly associated with a smaller brain circumference. Likewise, this is despite the fact that both chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl, and the herbicide triclopyr render TCPy as a common metabolite and they were approved for agricultural use in the European Union at the time maternal urine samples were collected. As head circumference at birth has long been considered a sensitive marker of neurodevelopment, our

findings reinforce previous concerns with organophosphates in general and chlorpyrifos in particular. Furthermore, the present study did not find any significant associations pertaining to gestational age, apart from that regarding the metabolite 3-PBA, though two dimethyl metabolites (DMP and DMTP) were found to be associated with a higher risk of prematurity in girls. Nevertheless, these findings should be carefully interpreted because of the reduced number of cases.

**Table 6. Summary of the main results found by studies assessing the association between prenatal exposure to organophosphates and pyrethroids (based on maternal urinary levels) and anthropometric outcomes at birth, and gestational age.**

Authors (year)	Study design	Location	Exposure	Effect
<b>Birth weight (BW)</b>				
This study	GENEIDA cohort	Almería (Spain)	↑ $\Sigma$ DMs (3T) ↑ DMP (3T) ↑ DEP (3T) ↑ DEP (AP)	↓ BW* ↓ BW ↑ BW ↓ BW*
Woods et al. (2017)	HOME study	Cincinnati (Ohio)	↑ $\Sigma$ DMs (AP) ↑ $\Sigma$ DEs (AP)	↓ BW (NS) ↑ BW (NS)
Huang et al. (2017)	Cohort	Taipei (Taiwan)	↑ DEP (2T)	↓ BW
Wolff et al. (2007)	Mount Sinai	New York (EEUU)	↑ $\Sigma$ DEs ↑ $\Sigma$ DEs	↓ BW (NS) ↓ Ponderal index (NS)
Rauch et al. (2012)	HOME study	Cincinnati (Ohio)	↑ $\Sigma$ DAPs (AP) ↑ $\Sigma$ DMs (AP)	↓ BW (black newborns)
Naksen et al. (2015)	SAWASDEE study	Chiang Mai (Thailand)	↑ $\Sigma$ DEs (early pregnancy) ↑ $\Sigma$ DAPs (early pregnancy)	↓ BW (when maternal PON1 ↓) ↓ BW (when maternal PON1 ↓)
Dalsager et al. (2018)	Odense Child Cohort (OCC)	Odense (Denmark)	↑ TCPy (2nd tertile)	↓ BW (♂)
Zhang et al. (2014)	Cohort	Tokyo (Japan)	↑ 3-PBA (1T)	↑ BW
Jaacks et al. (2019)	Cohort	Bangladesh	3-PBA $\geq$ LOD	↑ SGA

---

**Birth length (BL)**

This study	GENEIDA Cohort	Almería (Spain)	↑ $\Sigma$ DEs (3T)	↑ BL*
			↑ DETP (AP)	↓ BL (♂)*
			↑ DMP (3T)	↓ BL*
			↑ TCPy (3T)	↑ BL*
Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ $\Sigma$ DMs (AP)	↑ BL
			↑ $\Sigma$ DAPs (AP)	↑ BL
Huang et al. (2017)	Cohort	Taipei (Taiwan)	↑ $\Sigma$ DEs (2T)	↓ BL
			↑ DEP (2T)	↓ BL

---

**Head circumference (HC)**

This study	GENEIDA Cohort	Almería (Spain)	↑ $\Sigma$ DAPs (AP)	↓ HC (♂)
			↑ DMTP (3T)	↑ HC
			↑ TCPy (1T)	↓ HC
			↑ TCPy (AP)	↓ HC (♂)
Khoshhali et al. (2020)	Meta-analysis (19 studies included)		↑ $\Sigma$ DAPs (average)	↑ HC
Dalsager et al. (2018)	Odense Child Cohort (OCC)	Odense (Denmark)	↑ $\Sigma$ DEs (2T)	↑ HC (♂)
Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ $\Sigma$ DEs (AP)	↑ HC
			↑ $\Sigma$ DMs (AP)	↑ HC
			↑ $\Sigma$ DAPs (AP)	↑ HC
Liu et al. (2016)	Study	Sheyang County (Jiangsu)	↑ $\Sigma$ DEs (BD) delivery)	↓ HC
			↑ $\Sigma$ DAPs (BD)	↓ HC
Naksen et al. (2015)	SAWASDEE study	Chiang Mai (Thailand)	↑ $\Sigma$ DEs (EP and LP)	↓ HC (maternal PON1 ↓)
			↑ $\Sigma$ DMs (EP)	↓ HC (maternal PON1 ↓)
			↑ $\Sigma$ DAPs (EP and LP)	↓ HC maternal PON1 ↓)
Wolff et al. (2007)	Mount Sinai	New York (EEUU)	↑ $\Sigma$ DAPs (3T)	↓ HC (NS)
Balalian et al. (2021)	S/H cohort and TDID Study	New York (EEUU)	↑ TCPy (TDID study: first half pregnancy; S/H cohort: 3t)	↓ HC (♂)
Huang et al. (2017)	Cohort	Taipei (Taiwan)	↑3-PBA (3T)	↓HC

Zhang et al. (2014)	Cohort	Tokyo (Japan)	↑ 3-PBA (1T)	↑ HC
---------------------	--------	---------------	--------------	------

---

**Gestational age (GA)**

This study	GENEIDA Cohort	Almería (Spain)	↑ 3-PBA (1T) ↑ 3-PBA (1T, AP) ↑ 3-PBA (3T)	↓ GA ↑ Prematurity ↑ Prematurity*
Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ ΣDMs (AP)	↓ GA
Wang et al. (2012)	Study	Shanghai (China)	↑ DEP (BD)	↓ GA (♀)
Nuseir et al. (2021)	Study	Jordan	↑ DEDTP(3T)	↓ GA

---

AP: All pregnancy; 1T: First trimester of pregnancy; 2T; Second trimester of pregnancy ;3T: Third trimester of pregnancy; BD: Before delivery; EP: Early pregnancy; LP: Late pregnancy;  
\* Near-significant association; NS: non-significant association

When comparing the urinary concentrations of the pesticide metabolites of the GENEIDA cohort with those reported by other studies, ours found generally lower metabolite levels than those reported for other populations. The highest urine metabolite concentrations have been found in two cohorts conducted in China (Huang et al., 2017; Wang et al., 2012). In the USA, the highest concentrations were reported for the CHAMACOS (Salinas Valley) and Columbia (New York) cohorts, with the latter showing lower metabolite concentrations (Harley et al., 2016). In Europe, the highest reported concentrations pertain to the Generation R cohort (Rotterdam) and the Odense Child Cohort (Denmark) (Ferguson et al., 2019; Dalsager et al., 2018).

The higher concentrations reported in China may indicate a greater use of organophosphate pesticides in agriculture or other settings, either due to a lack of strict regulations or because these are not enforced. Further, a high level of residues can be found in commonly consumed raw foods (Shen et al., 2002). Each year in Taiwan, more than 18,065 tonnes of pesticides are used, with 24% of these being organophosphates (Huang et al., 2017). Differences existed between the levels reported in the different cohorts from the USA, which may be due to the type of population under study. In the CHAMACOS cohort, participants were agricultural workers and, therefore, a

mixture of exposures existed at both an occupational and a residential level, in addition to dietary exposure. In the case of the Columbia cohort, participants came from the urban low-income population, meaning that exposure could have been residential or dietary (Harley et al., 2016).

In countries such as Spain, where the present research is based, organophosphate pesticide use has been reduced due to legislation and the implementation of biological control for fighting pests. Despite this, the population may still be exposed to these substances, not only at an occupational or para-occupational level, but, also, via other routes such as through the consumption of contaminated water, direct contact with the environment or as a result of residential use (Lu et al., 2008; Julien et al., 2008). This being said, maternal urine concentrations in European populations (Generation R) were higher than in the present study. The Netherlands may have a higher level of exposure due to the higher consumption of fruit or greater application of pesticides in farming (Ferguson et al., 2019).

The inconsistency seen across studies may be due to differences in the time at which urine samples were collected during gestation, the number of samples collected, different patterns of organophosphate pesticide use in the different geographical regions under study and the confounding variables included in the multivariate models. Co-exposure to other chemical substances, including other pesticides, may also interfere with embryo-foetal development and these exposures may vary across populations.

With regards to the time at which the samples were collected, and in contrast to other studies, in the GENEIDA cohort a urine sample was collected in the first and third trimesters of pregnancy. In the CHAMACOS and HOME cohorts, two urine samples were also collected, yet both were gathered during the second trimester (13.9 w/g and 26.5 w/g, and 15.9 w/g and 26 w/g, respectively). In contrast, other studies only collected a single urine sample during pregnancy. For example, in the case of the Columbia and Mount Sinai cohorts, both collected samples during the third trimester of pregnancy. Collecting two urine samples at different time-points of the pregnancy (1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> trimester), provides a more refined measurement of the exposure to the

target compounds throughout the period of organogenesis, which represents an important strength of this study conducted in the GENEIDA cohort.

Another possible explanation for inconsistencies among study findings may pertain to differences in the ethnicity of the population under study. In the present study, the majority of the population was of white ethnicity, whilst in other studies most participants were Latin American or Afro-American. According to prior research, race may be associated with exposure to organophosphate pesticides, birth outcomes and PON1 (paraoxonase-1) genetic polymorphisms (Rauch et al., 2012; Whyatt et al., 2004). PON1 is a hydrolytic enzyme with a wide range of substrates, including the oxon (active metabolites) of organophosphate compounds (Furlong et al., 2020).

The present study also has some limitations including the fact that only a single measure was made of the urine concentrations of the metabolites of interest during the first and third trimester of pregnancy. The use of urine concentrations at specific time-points as a means to evaluating levels of non-persistent pesticides such as organophosphates and pyrethroids, may fail to fully represent exposure throughout the whole of pregnancy. This is due to the rapid metabolism and excretion of these compounds. Because of their short half-life, urine levels can vary throughout any given day or hour and, further, present considerable intra-individual variability over time. The use of serial measurements during each trimester of pregnancy would improve the accuracy of exposure assessment.

Another limitation is that urinary DAPs metabolites reflect not only direct exposure to toxic parent OP compounds but, also, to preformed metabolites in the environment. That is, the parent OP compounds can be broken down in the environment into DAPs, resulting in direct exposure to DAPs instead of OPs. Therefore, attributing all DAPs found in urine to direct exposure to OP would overestimate the true exposure, as it is uncertain to what degree total urine DAPs metabolite concentrations reflect actual exposure to OPs or to the less toxic DAPs metabolites (Quiros-Alcalá et al., 2012).



Despite these limitations, the use of urine DAPs levels as indicators of exposure to OP pesticides is likely the most used measure of exposure to this family of pesticides.

Another strength of the present study is that, due to it being a prospective cohort, participant recruitment was undertaken from the very beginning of pregnancy (average 13 weeks of gestation). This favoured the collection of urine samples and the gathering of data that was relevant to the study and enabled this to be carried out with a participant follow-up that covered all of pregnancy until delivery. Further, it can be stated that the present study is the first longitudinal study in Spain to have evaluated the effect of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides on foetal growth assessed through anthropometric measurements at birth.

## **5. CONCLUSIONS**

This study shows that prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides might affect normal foetal growth and alter anthropometric measures at birth and gestational age, which may be an early indicator of impaired maturational processes during childhood. This, in turn, may have implications for the health of individuals throughout life. In addition, our study highlights the sexual dimorphism in vulnerability to prenatal stressors. Due to the scarcity of evidence at the time of writing and the inconsistency of available data, further study is urged in order to verify the outcomes reported here or shed new light on observed differences.

## References

- Balalian AA, Liu X, Herbstman JB, Daniel S, Whyatt R, Rauh V, Calafat AM, Wapner R, Factor-Litvak P. Prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and size at birth in urban pregnant women. *Environ Res.* 2021; 201:111539. doi: 10.1016/j.envres.2021.111539.
- Berkowitz GS, Wetmur JG, Birman-Deych E, Obel J, Lapinski RH, Godbold JH, Holzman IR, Wolff MS. In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference. *Environ Health Perspect.* 2004; 112(3):388-91. doi: 10.1289/ehp.6414.
- Bradman A, Barr DB, Claus Henn BG, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect.* 2003; 111(14):1779-82. doi: 10.1289/ehp.6259.
- Children's Observatory in Andalusia. Demography. OIA 2019 Report. State of Childhood and Adolescence in Andalusia; Notebook No. 1. Junta de Andalucia. Ministry of Equality, social policies and conciliation. Children's Observatory in Andalusia. Andalusian School of Public Health. [on-line]. Available in: [https://www.observatoriodelainfancia.es/OIA/esp/documentos\\_ficha.aspx?id=589](https://www.observatoriodelainfancia.es/OIA/esp/documentos_ficha.aspx?id=589)
- 1
- Dalsager L, Christensen LE, Kongsholm MG, Kyhl HB, Nielsen F, Schoeters G, Jensen TK, Andersen HR. Associations of maternal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides and the herbicide 2,4-D with birth outcomes and anogenital distance at 3 months in the Odense Child Cohort. *Reprod Toxicol.* 2018; 76:53-62. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.12.008.
- Ding G, Cui C, Chen L, Gao Y, Zhou Y, Shi R, Tian Y. Prenatal exposure to pyrethroid insecticides and birth outcomes in Rural Northern China. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2015; 25(3):264-70. doi: 10.1038/jes.2014.86.
- Eskenazi B, Harley K, Bradman A, Weltzien E, Jewell NP, Barr DB, Furlong CE, Holland NT. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ Health Perspect.* 2004; 112(10):1116-24. doi: 10.1289/ehp.6789.
- Ferguson KK, van den Dries MA, Gaillard R, Pronk A, Spaan S, Tiemeier H, Jaddoe VWV. Organophosphate Pesticide Exposure in Pregnancy in Association with

- Ultrasound and Delivery Measures of Fetal Growth. *Environ Health Perspect.* 2019; 127(8):87005. doi: 10.1289/EHP4858.
- Furlong CE, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lulis AJ, Alleva E, Costa LG. Genetic and temporal determinants of pesticide sensitivity: role of paraoxonase (PON1). *Neurotoxicology.* 2000;21(1-2):91-100. PMID: 10794389.
- Hanke W, Romitti P, Fuortes L, Sobala W, Mikulski M. The use of pesticides in a Polish rural population and its effect on birth weight. *Int Arch Occup Environ Health.* 2003; 76(8):614-20. doi: 10.1007/s00420-003-0471-4.
- Harley KG, Huen K, Aguilar Schall R, Holland NT, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B. Association of organophosphate pesticide exposure and paraoxonase with birth outcome in Mexican-American women. *PloS One.* 2011; 6(8):e23923. doi: 10.1371/journal.pone.0023923.
- Harley KG, Engel SM, Vedar MG, Eskenazi B, Whyatt RM, Lanphear BP, Bradman A, Rauh VA, Yolton K, Hornung RW, Wetmur JG, Chen J, Holland NT, Barr DB, Perera FP, Wolff MS. Prenatal Exposure to Organophosphorous Pesticides and Fetal Growth: Pooled Results from Four Longitudinal Birth Cohort Studies. *Environ Health Perspect.* 2016; 124(7):1084-92. doi: 10.1289/ehp.1409362.
- Hinojosa-Nogueira D, Romero-Molina D, Giménez-Asensio MJ, Gonzalez-Alzaga B, López-Flores I, Cueva SP, Rufián-Henares JÁ, Hernández AF, Lacasaña M. Validity and Reproducibility of a Food Frequency Questionnaire to Assess Nutrients Intake of Pregnant Women in the South-East of Spain. *Nutrients.* 2021;13(9):3032. doi: 10.3390/nu13093032.
- Hoffman K, Stapleton HM, Lorenzo A, Butt CM, Adair L, Herring AH, Daniels JL. Prenatal exposure to organophosphates and associations with birthweight and gestational length. *Environ Int.* 2018; 116:248-254. doi: 10.1016/j.envint.2018.04.016.
- Huang YF, Pan WC, Tsai YA, Chang CH, Chen PJ, Shao YS, Tsai MS, Hou JW, Lu CA, Chen ML. Concurrent exposures to nonylphenol, bisphenol A, phthalates, and organophosphate pesticides on birth outcomes: A cohort study in Taipei, Taiwan. *Sci Total Environ.* 2017; 31;607-608:1126-1135. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.092.
- Jaacks LM, Diao N, Calafat AM, Ospina M, Mazumdar M, Ibne Hasan MOS, Wright R, Quamruzzaman Q, Christiani DC. Association of prenatal pesticide exposures with

- adverse pregnancy outcomes and stunting in rural Bangladesh. *Environ Int.* 2019; 133(Pt B):105243. doi: 10.1016/j.envint.2019.105243.
- Jaffe M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Physiol. Chem.* 1886; 10(5): 391-400. <https://doi.org/10.1515/bchml.1886.10.5.391>
- Julien R, Adamkiewicz G, Levy JI, Bennett D, Nishioka M, Spengler JD. Pesticide loadings of select organophosphate and pyrethroid pesticides in urban public housing. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2008; 18(2):167-74. doi: 10.1038/sj.jes.7500576.
- Kamai EM, McElrath TF, Ferguson KK. Fetal growth in environmental epidemiology: mechanisms, limitations, and a review of associations with biomarkers of non-persistent chemical exposures during pregnancy. *Environ Health.* 2019; 8;18(1):43. doi: 10.1186/s12940-019-0480-8. PMID: 31068204; PMCID: PMC6505101.
- Khoshhali M, Davoodi S, Ebrahimpour K, Shoshtari-Yeganeh B, Kelishadi R. The association between maternal exposure to organophosphate pesticides and neonatal anthropometric measures: A systematic review and meta-analysis. *J Res Med Sci.* 2020; 24;25:79. doi: 10.4103/jrms.JRMS\_919\_19.
- Komaroff M. Historical review of developing body weight indices: meaning and purpose. *Adv Obes Weight Manag Control.* 2017; 6(6):184-192. DOI: [10.15406/aowmc.2017.06.00177](https://doi.org/10.15406/aowmc.2017.06.00177)
- Koutroulakis D, Sifakis S, Tzatzarakis MN, Alegakis AK, Theodoropoulou E, Kavvalakis MP, Kappou D, Tsatsakis AM. Dialkyl phosphates in amniotic fluid as a biomarker of fetal exposure to organophosphates in Crete, Greece; association with fetal growth. *Reprod Toxicol.* 2014; 46:98-105. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.03.010.
- Liu P, Wu C, Chang X, Qi X, Zheng M, Zhou Z. Adverse Associations of both Prenatal and Postnatal Exposure to Organophosphorous Pesticides with Infant Neurodevelopment in an Agricultural Area of Jiangsu Province, China. *Environ Health Perspect.* 2016; 124(10):1637-1643. doi: 10.1289/EHP196.
- Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller LA. Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect.* 2008; 116(4):537-42. doi: 10.1289/ehp.10912.
- Mage DT, Allen RH, Gondy G, Smith W, Barr DB, Needham LL. Estimating pesticide dose from urinary pesticide concentration data by creatinine correction in the Third

- National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES-III). *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2004;14(6):457-65. doi: 10.1038/sj.jea.7500343.
- Ministry of Agriculture, Livestock, Fisheries and Sustainable Development. Consumption of phytosanitary products by province. Year 2019. Environment Report. In: Statistical Yearbook of Andalusia, primary sector. Institute of Statistics and Cartography of Andalusia [on-line], [cited November 18, 2022]. Available in: <https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/anuario/actualizaciones/anuarioActualizacionCap.htm>
- Naksen W, Prapamontol T, Mangklabruks A, Chantara S, Thavornnyutikarn P, Srinual N, Panuwet P, Ryan PB, Riederer AM, Barr DB. Associations of maternal organophosphate pesticide exposure and PON1 activity with birth outcomes in SAWASDEE birth cohort, Thailand. *Environ Res.* 2015;142:288-96. doi: 10.1016/j.envres.2015.06.035.
- Nuseir KQ, Tahaineh L, Al-Mehaisen LM, Al-Kuran O, Ayoub NM, Mukattash TL, Al-Rawi N. Organophosphate pesticide exposure prenatally influence on pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021; 31:1-14. doi: 10.1080/14767058.2020.1869719.
- Padmanabhan V, Cardoso RC, Puttabyatappa M. Developmental Programming, a Pathway to Disease. *Endocrinology* 2016; 157(4):1328-40. doi: 10.1210/en.2016-1003.
- Perera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, Bernert T, Garfinkel R, Tu YH, Diaz D, Dietrich J, Whyatt RM. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environ Health Perspect.* 2003; 111(2):201-5. doi:10.1289/ehp.5742.
- Personne S, Brochot C, Marcelo P, Corona A, Desmots S, Robidel F, Lecomte A, Bach V, Zeman F. Evaluation of Placental Transfer and Tissue Distribution of *cis*- and *Trans*-Permethrin in Pregnant Rats and Fetuses Using a Physiological-Based Pharmacokinetic Model. *Front Pediatr.* 2021;9:730383. doi: 10.3389/fped.2021.730383.
- Pinos H, Carrillo B, Merchán A, Biosca-Brull J, Pérez-Fernández C, Colomina MT, Sánchez-Santed F, Martín-Sánchez F, Collado P, Arias JL, Conejo NM. Relationship between Prenatal or Postnatal Exposure to Pesticides and Obesity: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(13):7170. doi: 10.3390/ijerph18137170.

- Quirós-Alcalá L, Bradman A, Smith K, Weerasekera G, Odetokun M, Barr DB, Nishioka M, Castorina R, Hubbard AE, Nicas M, Hammond SK, McKone TE, Eskenazi B. Organophosphorous pesticide breakdown products in house dust and children's urine. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2012; 22(6):559-68. doi: 10.1038/jes.2012.46.
- Rauch SA, Braun JM, Barr DB, Calafat AM, Khoury J, Montesano AM, Yolton K, Lanphear BP. Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. *Environ Health Perspect.* 2012; 120(7):1055-60. doi: 10.1289/ehp.1104615.
- Sacks DA. Determinants of fetal growth. *Curr Diab Rep.* 2004; 4(4):281-7. doi: 10.1007/s11892-004-0080-y.
- Sánchez, B.N., Hu, H., Litman, H.J., Téllez-Rojo, M.M., 2011. Statistical Methods to Study Timing of Vulnerability with Sparsely Sampled Data on Environmental Toxicants. *Environ Health Perspect* 119 (3), 409-4015.
- Schettler, T., Solomon, G.M., Valenti, M., and Huddle, A. (1999) *Generations at risk: reproductive health and the environment*, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, England.
- Shafer TJ, Meyer DA, Crofton KM. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(2):123-36. doi: 10.1289/ehp.7254.
- Shen GX, Ke FY, Zhang JQ. Investigation and evaluation of the contents of pollutants in greenhouse vegetables in Shanghai (Chinese). *Shanghai Environmental Sciences.* 2002; 21:475-7.
- Suwannakul B, Sapbamrer R, Wiwattanadittakul N, Hongsibsong S. Prenatal organophosphate exposure can cause adverse birth outcomes to humans. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021; 28(33):45064-45074. doi: 10.1007/s11356-021-13974-8.
- Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, Lambert A, Papageorghiou AT, Carvalho M, Jaffer YA, Gravett MG, Purwar M, Frederick IO, Noble AJ, Pang R, Barros FC, Chumlea C, Bhutta ZA, Kennedy SH; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st). International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet.* 2014; 6;384(9946):857-68. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60932-6.

- Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Gimenez-Monzó D, García-de-la-Hera M, Granado F, Young IS, Ramón R, Ballester F, Murcia M, Rebagliato M, Iñiguez C; INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutr J*. 2013;12:26. doi: 10.1186/1475-2891-12-26.
- Wang P, Tian Y, Wang XJ, Gao Y, Shi R, Wang GQ, Hu GH, Shen XM. Organophosphate pesticide exposure and perinatal outcomes in Shanghai, China. *Environ Int*. 2012; 42:100-4. doi: 10.1016/j.envint.2011.04.015.
- Whyatt RM, Rauh V, Barr DB, Camann DE, Andrews HF, Garfinkel R, Hoepner LA, Diaz D, Dietrich J, Reyes A, Tang D, Kinney PL, Perera FP. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ Health Perspect*. 2004;112(10):1125-32. doi: 10.1289/ehp.6641.
- Whyatt RM, Garfinkel R, Hoepner LA, Andrews H, Holmes D, Williams MK, Reyes A, Diaz D, Perera FP, Camann DE, Barr DB. A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ Health Perspect*. 2009;117(4):559-67. doi: 10.1289/ehp.0800041.
- Wilcox AJ, Weinberg CR, Basso O. On the pitfalls of adjusting for gestational age at birth. *Am J Epidemiol*. 2011; 1;174(9):1062-8. doi: 10.1093/aje/kwr230.
- Windham G, Fenster L. Environmental contaminants and pregnancy outcomes. *Fertil Steril*. 2008; 89(2 Suppl):e111-6; discussion e117. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.12.041.
- Wolff MS, Engel S, Berkowitz G, Teitelbaum S, Siskind J, Barr DB, Wetmur J. Prenatal pesticide and PCB exposures and birth outcomes. *Pediatr Res*. 2007; 62(4):450. doi: 10.1203/pdr.0b013e31802d77f0.
- Woods MM, Lanphear BP, Braun JM, McCandless LC. Gestational exposure to endocrine disrupting chemicals in relation to infant birth weight: a Bayesian analysis of the HOME Study. *Environ Health*. 2017; 27;16(1):115. doi: 10.1186/s12940-017-0332-3.
- Xu Q, Zhu B, Dong X, Li S, Song X, Xiao X, Zhang C, Lv Y, Zhang X, Li Y. Pyrethroid pesticide exposure during early pregnancy and birth outcomes in southwest China: a birth cohort study. *J Toxicol Sci*. 2020; 45(5):281-291. doi: 10.2131/jts.45.281.
- Zhang J, Yoshinaga J, Hisada A, Shiraishi H, Shimodaira K, Okai T, Koyama M, Watanabe N, Suzuki E, Shirakawa M, Noda Y, Komine Y, Arika N, Kato N. Prenatal pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of

neonates. Sci Total Environ. 2014; 1;488-489:275-9. doi:  
10.1016/j.scitotenv.2014.04.104.

### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### **Acknowledgments**

We gratefully acknowledge the contribution of Health care staff of the Poniente University Hospital, and children and parents, without whom this study would not be possible.

This work is part of the thesis of María José Gimenez Asensio to obtain the PhD in the Clinic Medicine and Public Health program at the University of Granada.

### **Funding**

This publication was made possible by research supported by the Institute of Health Carlos III (grants: PI18/01156; PI17/00638; PI13/01559), including the European Regional Development Fund (FEDER). Regional Health Council of Andalusia (Spain) (grants: PI-0243-2019; PI-0508-2016; PI-0205-2016).



## **AGRADECIMIENTOS**

Detrás de este trabajo hay un gran equipo de profesionales, que son una parte fundamental del mismo y sin ellos no hubiera sido posible conseguirlo. Por ello, siento un inmenso agradecimiento por su esfuerzo, dedicación y confianza.

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. Antonio F. Hernández Jerez por su labor como tutor y director de tesis. Le agradezco profundamente que me aceptara para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Durante la cual, ha puesto no solo sus conocimientos y experiencia a mi disposición, sino también su apoyo y motivación durante todo el proceso.

También quiero agradecer a mi directora de tesis, la Dra. Marina Lacasaña por darme la oportunidad de iniciarme en el mundo de la investigación, formando parte de la cohorte GENEIDA. Una oportunidad única, que me ha servido para crecer tanto a nivel profesional como personal. Gracias por tu exigencia, cariño y gran entusiasmo por la investigación, el cual me has transmitido durante todo el camino.

A la Dra. Desirée Romero, por su ayuda y paciencia infinita. Gracias no solo por resolver mis dudas, sino por tu interés en mi aprendizaje y adquisición de nuevos conocimientos. Gracias por hacer lo difícil un poco más fácil.

A mis compañeros de la Escuela Andaluza salud Pública, en especial a Beatriz por su experiencia, sus consejos y ayuda. Pero sobre todo, por estar ahí siempre que la he necesitado.

No me puedo olvidar del personal del servicio de Puérperas y Obstetricia del hospital Universitario Poniente (Almería), que sin su participación y colaboración no hubiera sido posible realizar este trabajo.

Por último y no menos importante a mi familia. A mis padres y a mi hermana, por estar siempre apoyándome tanto en los buenos momentos como en los no tan buenos. Gracias por vuestro apoyo incondicional, amor y también porque no decirlo por vuestra paciencia en momentos difíciles. Siempre animándome y motivándome a continuar y seguir mi camino.

... GRACIAS A TODOS...

## Financiación:

Esta tesis doctoral ha sido financiada a través del Instituto de Salud Carlos III, Proyectos de Investigación en Salud (FIS: PI13/01559, PI17/01650), el Centro de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PS-0205-2016, PS-0508-2016, PI-0243-2019) y El Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).



## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

**3-PBA:** Acido 3-fenoxibenzoico

**Ach:** Acetilcolina

**AChE:** Acetilcolinesterasa

**AGA:** Normal para edad gestacional

**BPN:** Bajo peso al nacer

**CA:** Circunferencia abdominal

**CC:** Circunferencia de la cabeza

**CRL:** Longitud céfalo-caudal

**DAG:** gráfico acíclico dirigido

**DAPs:** Diaquilfosfatos

**DBP:** Diámetro biparietal

**DEC:** Disruptores endocrinos

**DEP:** Dietilfosfato

**DETP:** Dietiltiofosfato

**DEDTP:** Dietilditiofosfato

**DMP:** Dimetilfosfato

**dMRM:** monitorización dinámica de reacciones múltiples.

**DMTP:** Dimetiltiofosfato

**DMDTP:** Dimetilditiofosfato

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

**FCA:** Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

**FIV:** Fecundación in vitro.

**FUR:** Fecha de la última regla.

**GEE:** Ecuación de estimación generalizada.

**GENEIDA:** Genética, exposición ambientales en la vida temprana y desarrollo infantil en Andalucía.

**GLM:** Modelos lineales generalizados.

**IMC:** Índice de masa corporal.

**IGF-2:** Factor de crecimiento similar a la insulina II.

**LF:** Longitud del Fémur.

**LGA:** grande para edad gestacional.

**LOD:** Limite de detección.

**MG:** Media geométrica.

**MPI:** Manejo integrado de plagas.

**NICHHD:** Instituto Nacional para la Salud y el Desarrollo Infantil de EEUU.

**OF:** Organofosforados.

**OFE:** Esteres de organofosforados

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PFE:** Peso fetal estimado.

**PON1:** Paraoxonasa-1

**QuEChERS:** Rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro.

**sg:** semanas de gestación.

**SGA:** Pequeño para edad gestacional.

**TCPy:** 3,5,6 tricloro-2-piridinol

**TN:** Translucencia nual.

## **INDICE**

---

1.	<b>RESUMEN</b> .....	50
2.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	53
2.1.	Plaguicidas.....	54
2.2.	Evolución del uso de los plaguicidas y su consumo actual.....	57
2.3.	Características del Poniente almeriense (zona de estudio).....	61
2.4.	Evaluación de la exposición a insecticidas organofosforados y piretroides.....	63
2.5.	Exposición a insecticidas organofosforados y población de riesgo.....	70
2.6.	Crecimiento fetal: Introducción.....	72
2.7.	Crecimiento fetal y exposición a organofosforados y piretroides.....	74
2.8.	Evaluación del crecimiento fetal.....	78
2.9.	Justificación del estudio.....	85
3.	<b>OBJETIVOS Y HIPÓTESIS</b> .....	87
3.1.	Hipótesis.....	88
3.2.	Objetivos.....	88
3.2.1.	Objetivo general.....	88
3.2.2.	Objetivos específicos.....	89
4.	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	90
4.1.	Diseño.....	91
4.1.1.	Población de estudio.....	91

4.1.2. Reclutamiento y selección de participantes.....	91
4.1.3. Tamaño muestral.....	93
4.2. Variables de estudio.....	93
4.2.1. Crecimiento fetal (medidas antropométricas al nacer y biometrías fetales seriadas) y edad gestacional.....	94
4.2.2. Evaluación de la exposición prenatal a plaguicidas no persistentes.....	99
4.2.3. Recogida de información a través de cuestionarios.....	102
4.2.4. Análisis estadístico.....	105
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>111</b>
5.1. Características de la población de estudio.....	112
5.2. Niveles de exposición prenatal a plaguicidas no persistentes: organofosforados y piretroides.....	115
5.3. Evaluación de la asociación entre la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides y las mediciones antropométricas al nacer, índice ponderal, edad gestacional y prematuridad.....	119
5.3.1. Análisis bivariante.....	119
5.3.2. Análisis Multivariante.....	126
5.4. Evaluación de los efectos de la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides sobre los parámetros biométricos fetales.....	135



5.4.1.	Resultados de la evaluación ecográfica de la biometría y crecimiento fetal.....	135
5.4.2.	Exposición prenatal a plaguicidas organofosforados y piretroides y parámetros biométricos fetales: Análisis bivariante.....	142
5.4.3.	Exposición prenatal a plaguicidas organofosforados y piretroides y parámetros biométricos fetales: Análisis multivariante.....	152
5.4.4.	Análisis longitudinal (modelos GEE) entre las exposiciones a plaguicidas organofosforados y piretroides durante el embarazo y las biometrías fetales a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.....	163
6.	<b>DISCUSIÓN.....</b>	168
6.1.	Antropometría al nacer.....	169
6.2.	Comparación de niveles urinarios de metabolitos de plaguicidas con otros estudios.....	175
6.3.	Crecimiento fetal.....	177
6.4.	Posibles mecanismos etiológicos implicados.....	181
6.5.	Limitaciones del presente estudio.....	182
7.	<b>CONCLUSIONES.....</b>	186
8.	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	188

## **RESUMEN**

---

## 1. RESUMEN

**Antecedentes:** Son escasos los estudios que han evaluado el efecto de la exposición prenatal a insecticidas organofosforados y piretroides sobre el crecimiento fetal. Estudios epidemiológicos previos han mostrado que la exposición a estos compuestos puede afectar el crecimiento normal del feto y asociarse con efectos adversos al nacer. Las alteraciones en el crecimiento fetal normal pueden contribuir al desarrollo de patologías durante la infancia y la vida adulta

**Objetivo:** Evaluar la asociación entre la exposición prenatal a plaguicidas no persistentes (insecticidas OPs y piretroides) y la antropometría al nacer y crecimiento fetal medido a través de ecografías seriadas, en binomios madre-hijo/a residentes en la comarca del poniente almeriense.

**Material y métodos:** El presente estudio se ha realizado en el marco de la Cohorte de nacimiento prospectiva GENEIDA (Genetics, early life environmental exposures and infant development in Andalusia). Se seleccionaron al azar 537 binomios madre-hijo de los 800 que participaron en dicha cohorte. Se analizaron 6 metabolitos inespecíficos de diaquilfosfatos (DAPs), un metabolito específico del clorpirifos ((3,5,6-tricloro-2-piridinol, TCPY) y un metabolito común para varios piretroides (ácido 3-fenoxibenzoico, 3-PBA) medidos en orina materna de primer y tercer trimestre de embarazo. Las muestras se analizaron mediante cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) en un equipo de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento, que permite la separación e identificación de mezclas complejas. La evolución del crecimiento fetal se evaluó a través de las biometrías fetales realizadas a través de ecografías seriadas durante el embarazo, las medidas antropométricas de los recién

nacidos (peso, talla, circunferencia de la cabeza) y edad gestacional se obtuvieron de los registros clínicos hospitalarios. El tamaño a las 12, 20 y 34 semanas de gestación se estimó mediante modelos lineales mixto para cada parámetro biométrico (DBP, CC, CA, LF, PFE). Para ello, se usaron las ecografías realizadas durante el embarazo junto a las variables de ajuste. Se calculó la suma sobre una base molar de DAPs con radicales metilo ( $\Sigma$ DMs) y etilo ( $\Sigma$ DEs) y la suma de los 6 metabolitos DAPs ( $\Sigma$ DAPs) para ambos trimestres del embarazo. Se construyeron modelos lineales generalizados (GLM) bivariados y multivariados. Asimismo, se utilizaron modelos de ecuación de estimación generalizada (GEE) para analizar la asociación entre las medidas repetidas durante el embarazo de la exposición prenatal a los diferentes metabolitos de plaguicidas y los parámetros de crecimiento fetal. Se realizó un análisis estratificado por sexo en el caso de que el término de interacción "exposición  $\times$  sexo" en los modelos multivariantes fuera estadísticamente significativo, con objeto de identificar los efectos específicos del sexo. La significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ . Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS statistics v. 21 y R.

**Resultados:** En el caso de los DAPs, se observó que un aumento del metabolito dimetilfosfato (DMP) en orina de la madre durante el 3er trimestre del embarazo se asoció a una disminución del peso y la talla al nacer. Del mismo modo, el  $\Sigma$ DMs durante el 3er trimestre se asoció con una disminución del peso al nacer. En cuanto al perímetro cefálico, un aumento del metabolito TCPy urinario durante el 1er trimestre y a lo largo del embarazo se asoció a una disminución del mismo, siendo este efecto significativo en niños y no en niñas. Por último, un aumento del metabolito 3-PBA en el 3er trimestre se asoció a una disminución de la edad gestacional, mientras que un aumento de 3-PBA del 1er y 3er trimestre se asoció a prematuridad. En general, los resultados de las ecografías

seriadas muestran una asociación entre los niveles de biomarcadores de exposición a insecticidas OPs y piretroides en orina materna con un aumento de las diferentes biometrías fetales, independientemente de la edad gestacional a la que se evaluaron, con excepción de la LF (longitud del fémur), que disminuyó sólo con TCPy y la circunferencia abdominal (CA), que mostraron resultados contradictorios. No obstante, el análisis longitudinal de medidas repetidas sí mostró resultados consistentes con aumento de la CA tanto con los metabolitos dimetilos como dietilos, aunque no siempre los hallazgos fueron estadísticamente significativos.

**Conclusiones:** Estos resultados evidencian que la exposición prenatal a insecticidas organofosforados y piretroides puede afectar el crecimiento fetal normal, acortar la edad gestacional y alterar los parámetros antropométricos al nacimiento.

## **INTRODUCCIÓN**

---

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 Plaguicidas**

Durante décadas, los plaguicidas han sido ampliamente utilizados en el ámbito agrícola, pero su uso se ha extendido a otras áreas, como la salud pública, para la prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores. Esto ha llevado a un aumento considerable en su uso, con millones de toneladas vendidas a nivel mundial (Hernandez et al., 2017).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés), los plaguicidas se definen como sustancias o mezclas destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo vectores de enfermedades humanas o animales, así como especies no deseadas de plantas o animales que causan daño duradero o interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos, productos agrícolas de consumo, madera, forraje animal y productos para el control de insectos, arácnidos y otras plagas corporales (FAO, 1986).

Debido a la aparición de plagas resistentes, la falta de selectividad y la alta toxicidad de los plaguicidas, tanto para las plagas como para otras especies, ha surgido la necesidad de reemplazar estos compuestos por otros más eficientes, menos estables y dañinos para el ecosistema. Esto ha dado lugar a los plaguicidas no persistentes que han sustituido gradualmente a lo largo de años a los persistentes (especialmente, los plaguicidas organoclorados). En la Unión Europea (UE), los compuestos que son persistentes (no se descomponen en el medio ambiente), bioacumulativos (presentes en concentraciones cada vez mayores) y tóxicos se consideran que tienen propiedades indeseables y, por tanto, su uso está prohibido. Así, el apartado 3.7.2 del Anexo II del Reglamento (CE) nº

1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre de 2009, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios establece que “Solo se aprobará una sustancia activa, protector o sinergista si no se considera una sustancia persistente, bioacumulativa y tóxica (PBT)”.

Los compuestos organofosforados (OP, como habitualmente se conocen por sus siglas en inglés) son un grupo heterogéneo de compuestos que han sido utilizados como insecticidas, herbicidas e incluso como gases de guerra desde hace años. Su uso principal se centra en la agricultura (principalmente como insecticidas y, en menor medida, herbicidas) para el control de plagas y enfermedades en los cultivos, y aunque su uso actual es menor, siguen siendo la opción más efectiva para la protección de las cosechas y el rendimiento de los cultivos (Kazemi et al., 2012).

Otro grupo de plaguicidas no persistentes son los piretroides, que se utilizan principalmente como insecticidas. Los piretroides son compuestos sintéticos derivados de las piretrinas (insecticidas naturales presentes en los crisantemos) y que, a diferencia de sus predecesores, han sido modificados para ser más estables a la luz solar y al calor, lo que les confiere una mayor estabilidad ambiental. Estos insecticidas han ido reemplazando a los OPs debido a su alta efectividad y menor toxicidad. Su uso se ha extendido tanto en la agricultura, para el control de plagas, como en el ámbito doméstico, en productos como champús para mascotas y repelentes de insectos, y en el ámbito personal como champús pediculicidas.<sup>1</sup>

La penetración de estos compuestos en el organismo ocurre a través de diferentes vías de absorción. La vía inhalatoria o respiratoria permite la entrada de partículas en suspensión

---

<sup>1</sup> Un mismo compuesto (plaguicida) puede considerarse como producto fitosanitario (utilizado en agricultura) o como biocida (uso ambiental, en la industria alimentaria, higiene personal, desinfectantes). En ambos casos, la normativa que regula su uso es diferente.



o depositadas en hojas, suelo y frutas que sean inhalables (es decir, cuyo diámetro aerodinámico sea inferior a 10  $\mu\text{m}$ ). La vía digestiva o gastrointestinal es otra fuente de entrada de estas sustancias a través de la ingesta de alimentos o agua contaminados o que presentan residuos tras haber sido tratados con plaguicidas. Por último, la vía cutánea es la vía más común de exposición ocupacional en la población expuesta. Estas sustancias pueden penetrar a través de la piel intacta debido a su alta liposolubilidad, aunque factores como altas temperaturas, humedad ambiental y presencia de soluciones de continuidad de la piel pueden aumentar su absorción (Badii et al., 2008; Pore et al., 2011).

Una vez que los plaguicidas penetran en el organismo, se distribuyen principalmente en el hígado y los riñones, donde alcanzan concentraciones más elevadas. Esta distribución está estrechamente relacionada con la vía de absorción y las características fisicoquímicas específicas de cada compuesto.

Los plaguicidas son excretados rápidamente, en su mayoría a través de la orina y las heces. Sin embargo, aquellos que sean más liposolubles pueden quedar depositados en tejido graso y nervioso. Posteriormente, estos depósitos pueden ser liberados y movilizados en el organismo (Obiols, 1999).

El principal mecanismo de acción conocido de los insecticidas OPs es su capacidad para inhibir la acetilcolinesterasa (AChE). La AChE es una enzima que se encuentra presente en la mayoría de los seres vivos y es uno de los neurotransmisores más importantes, ya que participa en la transmisión del impulso nervioso en las sinapsis colinérgicas y unión neuromuscular. Cuando un éster OP activo interviene en el proceso, se produce la inactivación de la AChE, perdiendo su capacidad para hidrolizar la acetilcolina, la cual se acumula y alcanza altas concentraciones que provocan una estimulación sostenida de las

neuronas postsinápticas (en el sistema nervioso central y periférico) y de las fibras musculares (Fukuto et al., 1990).

Estudios sugieren la presencia de otros mecanismos no colinérgicos, como el estrés oxidativo, la neuroinflamación y la inhibición de la acetilpeptidasa. Estas vías podrían ser más sensibles a la exposición a compuestos OPs y otros compuestos que la inactivación de la AChE, lo que sugiere la aparición de toxicidad en personas expuestas crónicamente a bajas concentraciones (Terry, 2012).

El efecto tóxico de los piretroides es diferente al de los compuestos OPs anticolinesterásicos, ya que ejercen su acción tóxica sobre los canales de sodio dependientes del voltaje a nivel de la membrana celular. Modifican su cinética de apertura permitiendo que el  $\text{Na}^+$  continúe entrando en las neuronas, persistiendo así la despolarización y dando lugar a una mayor excitabilidad neuronal (Roberts et al., 2012).

La exposición humana a los piretroides ha aumentado debido a su uso generalizado. Actualmente existe un mayor interés en las exposiciones a los piretroides y los efectos que pueden tener en la salud de la población. Estudios sugieren que, aunque son menos tóxicos que sus predecesores, pueden producir efectos tóxicos en personas expuestas crónicamente a dosis bajas de exposición (Burns et al., 2018).

## **2.2 Evolución del uso de los plaguicidas y su consumo actual**

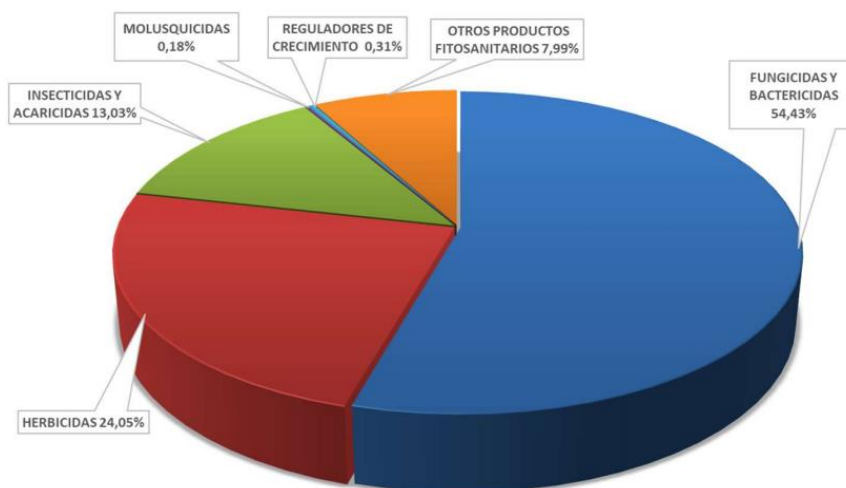
Durante décadas, se han usado y comercializado grandes cantidades de insecticidas a nivel global. España es uno de los principales consumidores de estos compuestos debido a la gran extensión de superficie dedicada a la producción agrícola, especialmente en la zona sur del país. Según los datos de la encuesta de comercialización de productos

fitosanitarios publicada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en 2020 se comercializaron 76.024 toneladas de estas sustancias. De toda esta cantidad, 8.381 correspondieron a insecticidas, lo que representa el 11% del total y un aumento de 569 toneladas con respecto al año 2019 (Tabla 1 y Figura 1). Estos datos se obtuvieron y clasificaron según el Anexo III del Reglamento (CE) 2017/269 del Parlamento Europeo y del Consejo, que regula las estadísticas de plaguicidas y modifica el Reglamento (CE) 1185/2009, en lo que respecta a la lista de sustancias activas.

**Tabla 1.** Toneladas comercializadas de los principales grupos de sustancias activas en 2020 y 2021

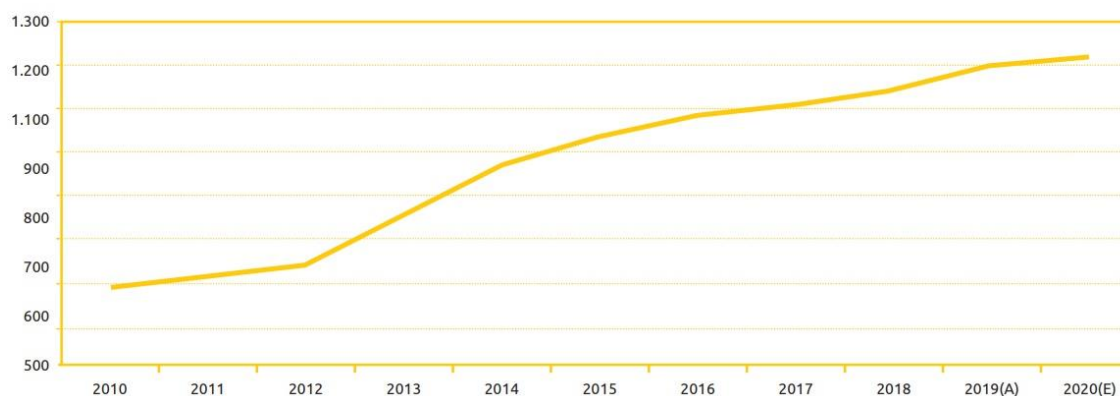
<b>Sustancias Activas</b>	<b>Cantidades (Toneladas) *</b>	
	<b>2020</b>	<b>2021</b>
Fungicidas y bactericidas	37,950	41,613
Herbicidas	20,199	18,388
Insecticidas	8381	9,961
Reguladores del crecimiento	191	240
Molusquicidas y otros	9494	6246
<b>TOTAL</b>	<b>76,024</b>	<b>75,448</b>

\*Fuente: [Encuesta de comercialización de productos fitosanitarios, 2021](#). Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación.



**Figura 1.** Distribución de las principales sustancias activas por grupos según la Encuesta de Comercialización de Productos Fitosanitarios 2021 (Fuente: Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación [https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/resultadoscomercializacionfitosanitarios2021\\_tcm30-647550.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/resultadoscomercializacionfitosanitarios2021_tcm30-647550.pdf))

En España, se ha observado un incremento en el consumo de fitosanitarios en términos de millones de euros a partir de 2012, pasando de 700 millones en 2011 a 1.300 millones en 2020. Se estima que los resultados de consumo y comercialización de 2021 llegarán a alcanzar los 1.400 millones de euros anuales, lo que representa el doble de consumo de fitosanitarios en comparación con 2011 (Figura 2).



**Figura 2.** Evolución del consumo de fitosanitarios (millones de euros) en España. Periodo 2011-2020 (A): avance; E: estimación) Fuente: Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. (<https://www.mapa.gob.es/estadistica/pags/anuario/2021/CAPITULOS%20PDF/AE21-C09.pdf>)

La Tabla 2 muestra la cantidad (toneladas) de cada categoría de sustancias activas que se comercializaron en 2021. Ese año, se comercializaron 167 toneladas de insecticidas a base de piretroides y 2 toneladas de insecticidas OPs. La categoría de "otros insecticidas" fue la más comercializada, con un total de 7.978 toneladas. Dado que algunas sustancias se clasifican de manera confidencial, no es posible determinar qué tipos de insecticidas se incluyen en esta categoría.

**Tabla 2.** Cantidad por categoría de sustancia activa comercializadas en 2020 y 2021\*

<b>Insecticidas y acaricidas</b>	<b>Toneladas (2020)</b>	<b>Toneladas (2021)</b>
Insecticidas piretroides	167	174
Insecticidas Organofosforados	2	186
Insecticidas Biológicos - Botánicos	216	218
Insecticidas Acaricidas	18	38
Otros insecticidas	7978	9345
<b>Total insecticidas</b>	<b>8381</b>	<b>9961</b>

\* Fuente: Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación (<https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/estadisticas-medios-produccion/fitosanitarios.aspx>)

En Andalucía, el consumo de insecticidas, acaricidas y nematocidas en 2020 fue de 8.565,90 toneladas (Tabla 3). La provincia de Almería fue la que registró el mayor consumo de insecticidas, con 3.094,99 toneladas, lo que equivale al 36,13% del consumo total de insecticidas, acaricidas y nematocidas en Andalucía en 2020. A continuación, se encuentra Sevilla, con 1.674,16 toneladas, y Cádiz, con 1.189,64 toneladas. Almería ha

experimentado una disminución considerable en el consumo de estas sustancias en 2020, esto puede ser debido a la introducción de la lucha biológica para impedir o reducir los daños causados a los cultivos por plagas o al tipo de clasificación de estas sustancias que se lleva a cabo en Andalucía. Si comparamos el consumo en 2020 con respecto al 2010, podemos observar una reducción del mismo de 1.397,96 toneladas menos que en 2010. Mientras que el resto de las provincias han mantenido un consumo más o menos estable, con aumentos o descensos menos significativos.

No se pudo obtener información específica sobre el consumo de OPs en Andalucía debido a su clasificación y a la falta de disponibilidad de datos.

**Tabla 3.** Consumo de insecticidas, acaricidas y nematocidas en Andalucía por provincias 2010-2020

<i>PROVINCIA</i>	<i>2020</i>	<i>2019</i>	<i>2018</i>	<i>2017</i>	<i>2016</i>	<i>2015</i>	<i>2014</i>	<i>2013</i>	<i>2012</i>	<i>2011</i>	<i>2010</i>
<i>Almería</i>	3.094,99	7.539,38	7.043,42	6.854,41	5.705,83	6.059,66	5.625,71	5.769,60	5.654,65	4.594,55	4.492,95
<i>Cádiz</i>	1.189,64	1.703,18	1.392,53	1.497,55	1.150,01	1.179,27	969,12	876,50	715,75	728,78	966,37
<i>Córdoba</i>	575,26	778,19	652,08	754,71	756,57	657,28	746,40	598,88	592,27	665,29	564,23
<i>Granada</i>	478,92	566,39	384,22	501,65	397,78	505,53	434,54	295,51	324,89	320,85	576,38
<i>Huelva</i>	1.018,94	2.546,88	2.267,54	2.401,48	2.287,61	2.159,84	2.837,33	2.748,51	2.798,71	2.491,27	2.428,29
<i>Jaén</i>	294,43	388,57	299,19	298,27	373,74	374,14	352,90	351,87	303,87	356,61	445,32
<i>Málaga</i>	239,55	510,79	405,13	633,74	567,60	565,49	456,03	448,08	334,34	381,96	363,98
<i>Sevilla</i>	1.674,16	2.158,13	1.816,99	2.033,78	1.619,69	1.418,25	1.542,04	1.254,80	1.094,71	1.211,75	1.202,80
<b><i>Total Andalucía</i></b>	<b>8.565,90</b>	<b>16191,51</b>	<b>14261,09</b>	<b>14975,59</b>	<b>12858,83</b>	<b>12919,46</b>	<b>12964,07</b>	<b>12343,75</b>	<b>11819,19</b>	<b>10751,06</b>	<b>11040,32</b>

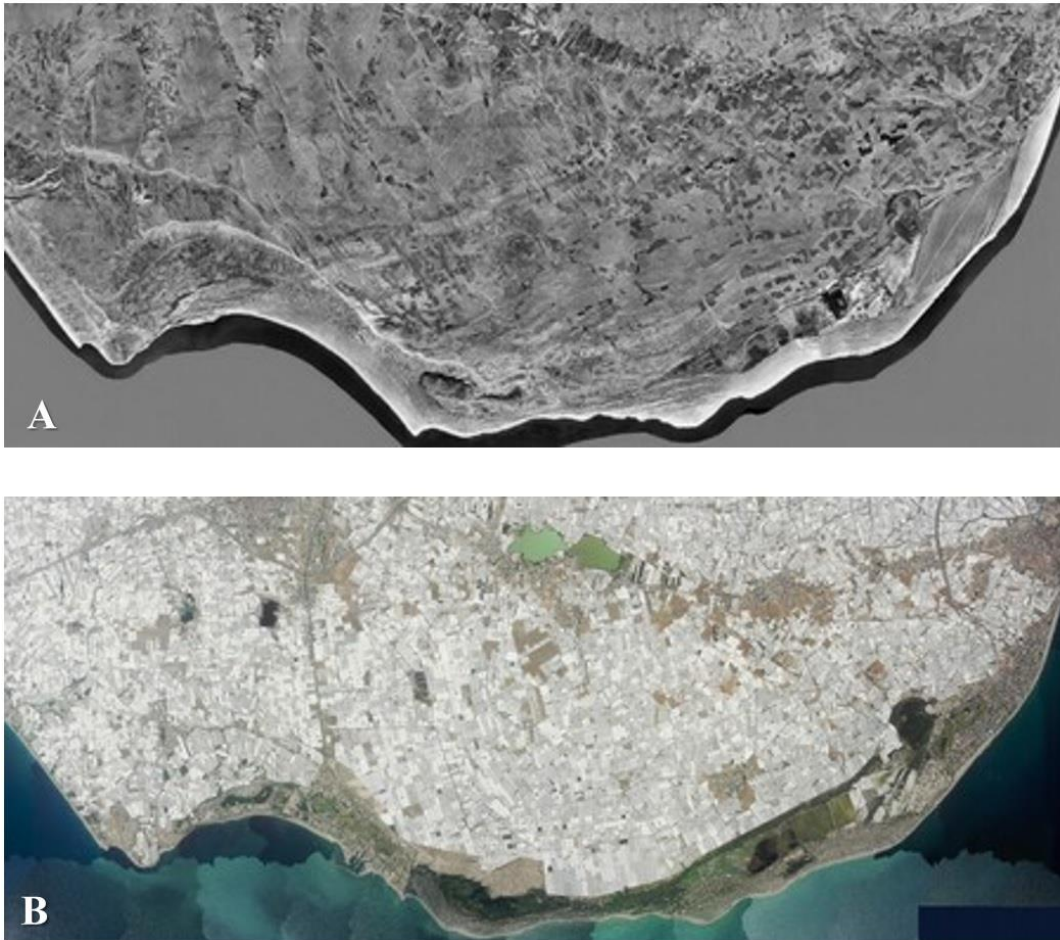
\* Fuente: Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo sostenible. Informe de medio ambiente (<https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/badea/repositorio/nodos/60003.xls>).

### 2.3 Características del Poniente almeriense (zona de estudio)

El Poniente Almeriense es una comarca situada en la parte suroccidental de la provincia de Almería. Está compuesta por 9 municipios (Adra, Berja, Dalías, El Ejido, Enix, Felix, La Mojонера, Roquetas de Mar y Vícar). Esta comarca se halla delimitada por la comarca de la Alpujarra de Granada al noreste, por el macizo montañoso de sierra de Gádor al norte, por Almería capital al oeste y el mar Mediterráneo por el sur. El clima de la zona es semiárido, con temperaturas típicas del litoral mediterráneo con inviernos suaves y veranos calurosos. El índice pluviométrico está entorno a los 250 mm y la insolación anual supera las 2800 horas. Todas estas características han propiciado una expansión de la agricultura intensiva, mediante uso de invernaderos bajo plástico para mantenimiento de la producción todo el año. Se trata de una extensión tan grande de invernaderos que ha recibido el nombre de mar de plástico por el aspecto que tiene a través de imagen por satélite.

La comarca de Poniente Almeriense se ha convertido en una de las comarcas agrarias del litoral con más superficie de regadío y con mayor producción hortofrutícola. Entre la producción principal prevalece el cultivo de hortalizas (tomates, pepinos, pimientos y habichuelas entre otros) y en menor proporción frutas como el melón y la sandía. Debido a la alta producción y especialización de este tipo de agricultura y al rendimiento de los cultivos, esta comarca se ha convertido en un exponente en la comercialización y exportación de productos tanto a nivel nacional como internacional, respondiendo así a las demandas de los distintos tipos de mercados, lo que ha hecho que también se le conozca como “la huerta de Europa”.

En la Figura 3 se puede observar la evolución de la superficie de tierra del Campo de Dalías dedicado a agricultura intensiva bajo plástico a lo largo de 60 años.



**Figura 3.** Campo de Dalías (Almería) en una imagen del Vuelo Americano de 1956-1957 (A) y en una imagen de Plan Nacional de Ortofotografía Aérea (PNOA) de 2019 (B).

#### **2.4 Evaluación de la exposición a insecticidas organofosforados y piretroides**

La creciente preocupación por los posibles efectos de los insecticidas OPs y piretroides en el ecosistema y la salud de la población ha llevado a la necesidad de identificar de forma fiable las fuentes y niveles de exposición a estas sustancias (Fernández et al., 2020).

La principal vía de exposición a plaguicidas en la población general es la dieta. Los residuos de plaguicidas, incluidos los OPs y los piretroides, se detectan con frecuencia en las verduras y frutas que se venden en los mercados. Por ejemplo, en el informe de monitorización de residuos de plaguicidas correspondiente al programa coordinado de la



UE del año 2015 (cuando estaba en marcha el reclutamiento de mujeres embarazadas en la cohorte GENEIDA), se encontraron residuos de los siguientes OPs en frutas y verduras<sup>2</sup>: clorpirifos (8437/347/12), metil-clorpirifós (8742/94/3) y fentió (6598/1/2); así como también de algunos piretroides: bifentrin (8394/174/0), cipermetrin (8085/118/3) y lambda-cihalotrin (6838/43/2). Llama la atención que el malatión, uno de los OPs más utilizados y aún permitido en la UE, no se encontró en ninguna de las 7796 muestras analizadas (EFSA, 2017). Además de la exposición a través de la dieta, también es posible la exposición ambiental como consecuencia de la presencia de residuos de OPs y piretroides en el agua y el suelo.

La monitorización ambiental, que implica la detección de sustancias químicas en el aire, suelo, agua y alimentos, proporciona información sobre las concentraciones de plaguicidas y sus metabolitos a los que está expuesta la población. A pesar de que esta información es útil para identificar fuentes de exposición y establecer medidas para reducir las emisiones, por sí sola no es suficiente para conocer la dosis real de exposición de la población. Por tanto, la monitorización biológica constituye una herramienta complementaria para tales fines (Budnik et al. 2009).

La monitorización biológica (también conocida como biomonitorización), consiste en la recogida de muestras biológicas para analizar las concentraciones de contaminantes, metabolitos o parámetros específicos de efectos biológicos no adversos. Su objetivo es evaluar la exposición y el riesgo para la salud de los individuos expuestos, comparando los datos observados con niveles de referencia y tomando medidas correctivas si es

---

<sup>2</sup> Los números entre paréntesis indican el número de muestras por debajo del límite de cuantificación (LOQ) / por encima del LOQ pero por debajo del límite máximo de residuos (LMR) permitido / y por encima del LMR. Los plaguicidas seleccionados para esta información son aquellos que se cuantificaron en al menos el 1% de las muestras de frutas y verduras o que superaron el LMR en al menos el 0.02% de las muestras analizadas (EFSA, 2017).

necesario (Kapka-Skrzypczak et al. 2011). Inicialmente utilizado en medicina laboral para proteger la salud de los trabajadores expuestos, su uso se ha extendido a la población general para evaluar el riesgo para la salud de las personas que viven cerca de fuentes de exposición. La información que proporciona la biomonitorización permite estimar la dosis real absorbida en el organismo y su riesgo para la salud humana (Angerer et al. 2007). Por tanto, constituye la principal herramienta para evaluar la exposición, prevenir problemas de salud e identificar grupos de población de riesgo, ya que integra todas las posibles vías de absorción, así como las posibles fuentes de exposición (Kapka-Skrzypczak et al., 2011).

Las diferentes matrices biológicas, como la orina, sangre, pelo, uñas y saliva, nos permiten determinar la exposición interna a los contaminantes y obtener evaluaciones de riesgo más precisas. Para ser una matriz biológica adecuada, debe ser fácil de obtener, proporcionar suficiente cantidad de muestra para el análisis y causar pocas molestias o riesgos para la salud de la persona. La orina es ampliamente utilizada como matriz biológica para el control de la exposición a OPs y piretroides debido a su facilidad de recolección, obtención de un mayor volumen de muestra y baja molestia para el individuo, no poniendo en riesgo su salud (Bradman et al. 2005).

Después de la hidrólisis en el organismo, se obtienen dos tipos de metabolitos de los OPs: los metabolitos inespecíficos, como los dialquifosfatos (DAPs), que proporcionan información general sobre la exposición, pero no permiten identificar el compuesto específico al que se estuvo expuesto, y los metabolitos específicos, como el p-nitrofenol y el tricloropiridinol, que son indicadores relativamente específicos de exposición a determinados insecticidas OPs (paratión y clorpirifós/metil-clorpirifós, respectivamente). Los DAPs están formados por 6 metabolitos diferentes: dimetilfosfato (DMP),

dimetiltiofosfato (DMTP), dimetilditiofosfato (DMDTP), dietilfosfato (DEP), dietiltiofosfato (DETP) y dietilditiofosfato (DEDTP). Estos metabolitos se dividen en dos grupos principales: los que contienen grupos dimetilo (DMs) o dietilo (DEs). Los DMs derivan de insecticidas OP sustituido con O,O-dimetilo, como metil-azinfos, metil-clorpirifós, dimetoato, malatión y fosmet, entre otros, mientras que los metabolitos que contienen DEs derivan de insecticidas OP sustituidos con O,O-etilo, como clorpirifos, diazinón, paratión, entre otros (Figuroa et al., 2015). Todos estos metabolitos se originan durante el metabolismo (y también por degradación ambiental) de los compuestos OP originales, al sufrir hidrólisis o clivaje oxidativo el grupo fosfórico del OP original (Nigg and Knaak, 2000).

La Tabla 4 muestra los plaguicidas OPs registrados por la EPA y sus seis metabolitos dialquilfosfatos (DAPs).

**Tabla 4.** Plaguicidas OPs registrados por la EPA y sus potenciales metabolitos dialquil fosfatos (DAPs).

Plaguicida	DMT	DMTP	DMDTP	DEP	DETP	DEDTP
Azinfos-metilo	X	X	X			
Cloretoxifos				X	X	
Clorpirifós				X	X	
Metil-clorpirifós	X	X				
Cumafos				X	X	
Diclorvos (DDVP)	X					
Diazinon				X	X	
Dicrotofos	X					
Dimetoato	X	X	X			
Disulfoton				X	X	X

Etion				X	X	X
Fenitrothion	X	X				
Fention	X	X				
Malathion	X	X	X			
Metidathion	X	X	X			
Metil-parathion	X	X				
Naled	X					
Oxidemeton metilo	X	X				
Parathion				X	X	
Forato				X	X	X
Fosmet	X	X	X			
Piridimifos metilo	X	X				
Sulfotep				X	X	
Temefos	X	X				
Terbufos				X	X	X
Tetraclorvinfos	X					
Triclorfon	X					

Fuente: [https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_01\\_02/l26pp\\_b\\_met\\_organophosphates.pdf](https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_01_02/l26pp_b_met_organophosphates.pdf)

En el caso de los piretroides, tras su absorción se metabolizan rápidamente mediante hidrólisis del enlace éster y posterior oxidación mediada por CYP450 a ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA, por sus siglas en inglés). El 3-PBA es el metabolito común de varios piretroides (permetrina, cipermetrina, deltametrina, cihalotrina y esfenvalerato) y se utiliza como biomarcador urinario para monitorizar la exposición a estos compuestos tanto a nivel ocupacional como ambiental. La orina es la muestra preferida sobre la sangre para el control biológico de la exposición a piretroides debido a su rápido metabolismo y eliminación (Saillenfait et al., 2015). La evaluación de la exposición a insecticidas OPs y piretroides mediante la medición de sus metabolitos en orina proporciona información

sobre la exposición reciente del individuo, ya que estos metabolitos son rápidamente eliminados del organismo en un período de 4 a 72 horas después de la exposición (Fernández et al., 2020).

Una limitación del uso de metabolitos DAPs en orina como biomarcadores de exposición es que reflejan tanto la exposición a metabolitos preformados en el ambiente como a los plaguicidas OP originales (tóxicos). De hecho, más del 70% de las concentraciones de metabolitos DAP en orina pueden atribuirse a la exposición a los metabolitos preformados en el medio ambiente (Barr et al., 2011). Además, al utilizar muestras puntuales, estas pueden no ser representativas de la exposición habitual del individuo. Esto se debe a las diferencias en los perfiles metabólicos urinarios entre escenarios de exposición y entre las personas dentro de cada escenario de exposición (Perrier et al., 2016). También existen diferencias en la variabilidad de detección de concentraciones urinarias de metabolitos de OPs entre individuos e intraindividuo, especialmente en muestras recogidas de forma puntual o de primera hora de la mañana. Por lo tanto, la muestra de elección sería la orina de primera hora de la mañana, ya que es más estable y representa con mayor precisión la exposición diaria total (Kissel et al., 2005).

La sangre sería, en principio, la muestra más idónea para evaluar la exposición a estos compuestos. Las principales ventajas de esta matriz son que las mediciones proporcionan datos específicos del compuesto original al que se ha estado expuesto, sin necesidad de medir metabolitos. Además, proporciona una estimación de la concentración que se ha alcanzado en el órgano diana y no requiere correcciones por dilución, ya que el volumen de sangre no varía sustancialmente con la ingesta de agua u otros factores. Sin embargo, también presenta inconvenientes, como que la recolección de muestras de sangre es una técnica invasiva y más compleja en comparación a la orina. Además, los volúmenes

obtenidos son generalmente más pequeños que en el caso de las muestras de orina. La variabilidad intraindividuo también es un factor a considerar, ya que una muestra puntual en un momento dado durante el día puede no reflejar los niveles internos en otro momento. Además, las concentraciones de plaguicidas en sangre suelen ser más bajas en comparación con las concentraciones de sus metabolitos en orina, debido a la corta vida media de los compuestos en sangre (Barr et al., 2006; Wessels et al., 2003). Estas limitaciones hacen que la sangre no sea la matriz más utilizada para determinar la exposición a insecticidas OPs y piretroides.

Otros estudios han utilizado matrices biológicas alternativas, como el cabello y el meconio (Bielawski et al., 2005; Hernández et al., 2019; Tsatsakis et al., 2012). El cabello permite la medición a largo plazo, ya que los compuestos quedan depositados en el tallo y proporciona una evaluación de la exposición crónica y acumulativa a OPs tanto en poblaciones expuestas como en la población general (Hernández et al., 2019). Entre las ventajas del cabello se encuentran que no sufre metabolismo ni excreción en el organismo, es fácil de recoger por personal no sanitario y tiene un bajo costo de muestreo, así como facilidad de transporte y almacenamiento (Lehmann et al., 2018). El meconio, por su parte, es la primera evacuación intestinal del recién nacido y se forma a partir de diferentes sustancias, como el líquido amniótico ingerido, células, bilis y otros materiales. Con esta matriz, es posible obtener información sobre los niveles de exposición del feto desde los últimos trimestres del embarazo hasta el nacimiento (Whyatt et al., 2001).

Por último, la placenta también es una matriz biológica de gran utilidad, ya que los compuestos xenobióticos pueden interferir en su función a través de diversos mecanismos, como el transporte de nutrientes y productos de desecho, así como la producción y liberación de hormonas, entre otros (Magnarelli, 2015). Estos eventos en el

ambiente intrauterino se reflejan en la placenta debido a la posible acumulación de estas sustancias. Sin embargo, la recogida de una muestra representativa de la placenta presenta dificultades, ya que la determinación de biomarcadores puede variar dependiendo de la ubicación o porción de la placenta donde se realice la biopsia. Además, otro gran inconveniente es que los OPs se metabolizan y excretan rápidamente, lo que impide la recolección inmediata de la muestra después de la exposición (Magnarelli et al., 2015).

### **2.5 Exposición a insecticidas organofosforados y población de riesgo**

En los últimos años, ha habido un creciente interés en conocer los efectos de los plaguicidas OPs en la salud de la población expuesta. Inicialmente, se enfocó en los efectos en la salud de los trabajadores agrícolas expuestos crónicamente a altas dosis. Sin embargo, actualmente existe una mayor preocupación por la población expuesta a dosis bajas, como aquellos que viven cerca de áreas donde se aplican estos plaguicidas o que consumen alimentos que contienen residuos de los mismos. Aunque estas dosis se consideran no tóxicas y de poca importancia, podrían representar un factor de riesgo para la salud (Hertz-Picciotto et al., 2018).

Dentro de la población expuesta a estos compuestos, las mujeres embarazadas y los fetos se consideran especialmente vulnerables a los efectos producidos por los insecticidas OPs (Cecchi et al., 2012). Durante el embarazo, las mujeres presentan características especiales que las hacen más susceptibles a la exposición a sustancias químicas. Durante este periodo, hay un aumento en la frecuencia respiratoria, lo que conlleva una mayor absorción de sustancias inhaladas. Además, se produce un retraso en el vaciamiento gástrico y una disminución de la motilidad intestinal, lo que puede aumentar la absorción de sustancias presentes en la dieta. Asimismo, se observa un aumento en el volumen

plasmático y en el agua corporal total, lo que diluye la concentración de sustancias químicas en la sangre. También se produce una acumulación de grasa corporal, lo que favorece la retención de estas sustancias en el tejido adiposo de todo el organismo. Cuando estos depósitos se movilizan, las sustancias químicas pasan circulan a la sangre y pueden atravesar la barrera placentaria, llegando al feto (Moya et al., 2014; Suwannakul et al., 2021).

Numerosos estudios han encontrado la presencia de metabolitos de plaguicidas OPs en muestras de sangre del cordón umbilical, biopsias de placenta y líquido amniótico (Bradman et al., 2003; Perera et al., 2003; Whyatt et al., 2009; Koutroulakis et al., 2014). La vida prenatal es una fase crítica en el desarrollo humano y es especialmente vulnerable a los contaminantes ambientales. La exposición temprana del feto a estos contaminantes puede aumentar el riesgo de efectos adversos para la salud a corto, medio y largo plazo. Esto se basa en la hipótesis de la programación fetal de los "orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad" propuesta por el Dr. Barker. Según esta teoría, ciertos factores pueden alterar el crecimiento y desarrollo fetal, provocando alteraciones permanentes en los órganos y sistemas. Estas alteraciones aumentan el riesgo de enfermedades en la infancia, adolescencia y vida adulta, como síndromes metabólicos, anomalías del crecimiento, alteraciones inmunológicas, cognitivas y problemas cardiovasculares, no solo para el individuo expuesto, sino también para su descendencia (Heindel et al., 2015). Los estudios epidemiológicos del Dr. Barker revelaron que los niños nacidos con bajo peso al nacer tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes y síndromes metabólicos en la vida adulta (Barker, 2000).

Se considera que los primeros 1000 días de vida biológica, desde la concepción hasta los dos años de edad, son una etapa crucial en la programación de la susceptibilidad a



enfermedades no transmisibles en etapas posteriores de la vida. Durante este periodo, la exposición a sustancias químicas y otros agentes estresantes ocurre durante la formación de órganos y sistemas corporales (Kobayashi et al., 2022).

Los insecticidas OPs pueden interrumpir los procesos normales de desarrollo, alterando permanentemente la estructura, metabolismo y fisiología del organismo (Vrijheid et al., 2016). Esta vulnerabilidad se debe a que el sistema inmunológico y los mecanismos de detoxificación del feto aún están en desarrollo. Además, la barrera hematoencefálica del feto es todavía inmadura. En conjunto, el feto presenta una concentración de sustancias químicas por peso más alta que la madre, lo que afecta el desarrollo de los órganos fetales (Vizcaino et al., 2014; Suwannakul et al., 2021).

## **2.6 Crecimiento fetal: introducción**

El crecimiento intrauterino es un proceso complejo que conduce a la formación de un organismo pluricelular con órganos y sistemas a partir de una sola célula. Este proceso consta de dos etapas principales. La primera, llamada embriogénesis, ocurre desde la tercera semana de gestación hasta la duodécima. Durante esta etapa, se forman los primeros órganos y sistemas, preparando al feto para el período fetal. En esta etapa, se produce la maduración funcional necesaria para su supervivencia fuera del útero (Carrascosa et al., 2003). Mientras que el sistema cardiovascular, pulmonar y endocrino alcanzan la madurez en esta etapa, otros como el sistema nervioso, inmunológico, digestivo y renal aún no han alcanzado su completo desarrollo y continúan madurando durante el período postnatal (Tan et al., 2020; Mulkey et al., 2021; Ygberg et al., 2012).

El ritmo de crecimiento fetal varía a lo largo de los trimestres del embarazo. Durante el primer trimestre, se produce un aumento de aproximadamente 5 gramos por día hasta las 15 semanas de gestación. En el segundo trimestre, la ganancia de peso diaria es de alrededor de 10 gramos hasta las 20 semanas, y luego aumenta a 30-35 gramos por día hasta las 32-34 semanas (tercer trimestre), momento en el que el crecimiento disminuye significativamente (Lin et al., 1998).

El crecimiento fetal "óptimo" es el resultado de múltiples factores, incluyendo el potencial genético, la nutrición materna, el metabolismo materno, los factores endocrinos y la perfusión y función de la placenta (Roland et al., 2012). Los factores genéticos contribuyen entre un 30 y un 50% a la variación del peso al nacer, mientras que el resto se debe a factores ambientales (Schettler et al., 1999). En la actualidad, se han identificado numerosos factores de riesgo que pueden inducir alteraciones en el crecimiento fetal "normal", clasificados como factores maternos, fetales y placentarios.

Los factores maternos tienen una influencia significativa en el desarrollo del feto debido a la plasticidad del organismo en desarrollo, que le permite adaptarse al ambiente en respuesta a diferentes factores estresantes. Sin embargo, estas adaptaciones pueden perturbar el desarrollo de órganos y sistemas y a la aparición de enfermedades en fases posteriores de la vida. Los factores maternos abarcan el entorno materno, los hábitos y estilos de vida y los problemas de salud de la madre. Aspectos sociodemográficos como la edad materna avanzada y un bajo nivel socioeconómico también se han asociado con retraso en el crecimiento fetal. Por su parte, el bajo peso materno antes del embarazo, el escaso aumento de peso durante el embarazo o la deficiencia en la ingesta de nutrientes, la presencia de enfermedades crónicas maternas (como diabetes mellitus, hipertensión crónica y enfermedades autoinmunes), complicaciones durante el embarazo (como

preeclampsia y diabetes gestacional, o infecciones), el consumo de drogas (tabaco, alcohol, estupefacientes), el uso de medicamentos durante el embarazo y la exposición a contaminantes ambientales, como los insecticidas, también aumentan el riesgo de retraso del crecimiento fetal (Mayer et al., 2013; Padmanabhan et al., 2016).

El crecimiento fetal está influenciado por la función de la placenta. Durante la vida intrauterina, la placenta cumple funciones respiratorias, hepáticas y renales para el feto. Para desempeñar adecuadamente su función, la placenta debe haber experimentado un desarrollo anatómico y funcional óptimo para satisfacer las necesidades del feto. Las alteraciones en la vascularización placentaria pueden reducir el flujo sanguíneo entre la madre y el feto, lo que puede dar lugar a una disminución del suministro de oxígeno y nutrientes al feto. Además, problemas como la placenta previa, la inserción velamentosa del cordón umbilical y la vasa previa pueden provocar un crecimiento fetal anormalmente bajo (Mayer et al., 2013; Sacks et al., 2004).

Entre los factores fetales asociados con la restricción del crecimiento fetal se encuentran las aneuploidías, trastornos genéticos como el síndrome de Down y algunas trisomías (Mayer et al., 2013).

Todos estos factores pueden limitar no solo el crecimiento fetal, sino también dar lugar a anomalías en el desarrollo fetal que pueden contribuir a la aparición de patologías en la vida adulta (Padmanabhan et al., 2016).

### **2.7 Crecimiento fetal y exposición a organofosforados y piretroides**

Entre los contaminantes ambientales asociados con un mayor riesgo de bajo peso al nacer o retraso en el crecimiento fetal se encuentran el humo del tabaco, el monóxido de

carbono, los disolventes orgánicos, los subproductos de la cloración del agua y los insecticidas, específicamente los OPs y piretroides (Windham et al., 2008).

La exposición a estos agentes químicos durante el embarazo puede tener diferentes consecuencias dependiendo del momento en que ocurra. Exposiciones a altas dosis en el primer trimestre pueden acabar en aborto o muerte fetal, mientras que la exposición después del primer trimestre puede dar lugar a anomalías estructurales menores pero aún afectar el crecimiento y desarrollo en los últimos dos trimestres (Goldman et al., 2017).

Varios estudios han investigado los efectos de la exposición prenatal a insecticidas OPs y piretroides sobre el crecimiento fetal y la evolución del embarazo. Estas investigaciones sugieren que estas exposiciones pueden afectar el crecimiento normal del feto y estar asociada con efectos adversos al nacer. Se ha observado una menor duración de la gestación, disminución o aumento de peso, reducción de la talla y disminución del perímetro cefálico (Rauch et al., 2012; Wang et al., 2012; Naksen et al., 2015; Hanke et al., 2003; Whyatt et al., 2004; Berkowitz et al., 2004). Las alteraciones en el crecimiento fetal normal se han relacionado también con otros efectos adversos en salud tanto en la infancia (Miller et al. 2016) como en la vida posterior (Barker 2006).

Estudios realizados en población agrícola han observado que el uso convencional de plaguicidas se asocia con una mayor incidencia de abortos espontáneos y prematuridad en comparación con prácticas de gestión integrada de plagas (Crisostomo et al., 2002). Además, la exposición materna a estos compuestos durante el embarazo se ha asociado con una menor duración de la gestación y un menor peso al nacer en comparación con los niños de madres no expuestas (Dabrowski et al., 2003).

En poblaciones de mujeres africanas y dominicanas en Harlem, se encontró una asociación entre los niveles de clorpirifós en el plasma del cordón umbilical y una

disminución en el peso y la talla del recién nacido. Otro estudio en Nueva York no encontró asociación entre un metabolito urinario relativamente específico de clorpirifós (el tricloropiridinol, TCPy por sus siglas en inglés) y las medidas de crecimiento fetal, pero se observó una relación inversa entre el perímetro cefálico y las concentraciones de ese metabolito en madres con baja actividad de la enzima paraxonasa-1 (PON1) (Whyatt et al., 2004; Berkowitz et al., 2004).

Otros estudios han obtenido resultados contradictorios ya que no encontraron asociaciones entre los insecticidas OPs y el crecimiento fetal (Harley et al., 2011; Wang et al., 2012; Hoffman et al., 2018; Suwannakul et al., 2021; Jaacks et al., 2019). En cuanto a los piretroides, se ha observado una asociación negativa con el peso al nacer en madres expuestas durante el primer y segundo trimestre, así como una asociación directa con el perímetro cefálico en otro estudio (Hanke et al., 2003; Zhang et al., 2014). Sin embargo, algunos estudios no han encontrado asociaciones entre los piretroides y el crecimiento fetal (Berkowitz et al., 2004; Chevrier et al., 2019), por lo que la evidencia actual es inconcluyente.

Los mecanismos mediante los cuales la exposición a dosis bajas de insecticidas OPs produce toxicidad difieren de su principal acción de inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), ya que estas exposiciones ocurren a concentraciones inferiores al umbral de inhibición de la misma. Aunque se conocen poco estos mecanismos no colinérgicos, se cree que podrían producir cambios en la expresión génica que no se manifiestan al nacer, pero que aumentan el riesgo de enfermedades en etapas posteriores de la vida (Androutsopoulos et al., 2013). Algunas de estas perturbaciones podrían ocurrir a través de la vía materna, placentaria o fetal.

Los plaguicidas no persistentes podrían actuar sobre la madre al afectar la disponibilidad de micronutrientes como la vitamina D y los antioxidantes. Estos plaguicidas podrían alterar el metabolismo normal al interferir con la actividad de las enzimas del citocromo P450 o con el eje endocrino de la vitamina D (Kamai et al., 2019).

Otros posibles mecanismos invocados son el estrés oxidativo y la inflamación. Tanto los OPs como los piretroides se han asociado con estrés oxidativo e inflamación en estudios realizados en animales y humanos, lo que podría originar una restricción del crecimiento y cambios en las funciones metabólicas y vitales de las células (Shelton et al., 2012).

El mecanismo que se considera más plausible para los efectos de los insecticidas OPs y piretroides en el crecimiento fetal es la alteración endocrina. Estos compuestos son conocidos como disruptores endocrinos debido a su capacidad para interferir en la actividad hormonal, especialmente de las hormonas tiroideas, que son esenciales para el crecimiento y desarrollo normal del feto, así como para otras regulaciones endocrinas. Estos plaguicidas actúan de manera indirecta sobre la biodisponibilidad y eficacia de otras hormonas y factores de crecimiento que influyen en el desarrollo fetal normal, como las catecolaminas y los factores de crecimiento similares a la insulina (Forhead et al., 2014).

Los efectos que estos plaguicidas pueden tener en el sistema endocrino materno también pueden manifestarse en el sistema endocrino del feto, que es más sensible a los efectos tóxicos de estos compuestos y pueden afectar al crecimiento. Se han encontrado asociaciones entre la exposición prenatal a contaminantes no persistentes y alteraciones en los niveles de hormonas en sangre del cordón umbilical (Kamai et al., 2019; Street et al., 2020).

A nivel de la placenta, los insecticidas OPs y piretroides pueden actuar directamente sobre la vascularización placentaria, ya que pueden atravesar la barrera placentaria. Esto puede

disminuir el suministro de nutrientes al feto, lo que se considera una de las principales causas de restricción del crecimiento fetal. Además, la producción de hormonas por parte de la placenta, que son necesarias para el crecimiento fetal y la viabilidad del embarazo, también podría verse afectada por estos plaguicidas (Kamai et al. 2019).

Además, estos plaguicidas pueden ocasionar alteraciones epigenéticas al alterar la metilación de genes y la modificación de histonas, que afectan la transcripción y expresión de genes. Los factores ambientales pueden interferir en la impronta de IGF-2 (Factor de crecimiento similar a la insulina II), que desempeña un papel importante en el crecimiento temprano y el desarrollo de órganos y tejidos durante la vida fetal (Kamai et al., 2019; Granada et al., 2006).

## **2.8 Evaluación del crecimiento fetal**

El crecimiento fetal desempeña un papel importante en la salud, ya que alteraciones del mismo sirven como indicadores de un crecimiento fetal adverso y como predictores del crecimiento postnatal (Kobayashi et al., 2022). Durante décadas, el peso al nacer se ha utilizado como medida cuantitativa para determinar un crecimiento óptimo del individuo (Deter et al., 2018).

Existen varios métodos para clasificar el peso al nacer, siendo el más común la utilización de percentiles. Los recién nacidos cuyo peso al nacer se sitúa por debajo del percentil 10 para la edad gestacional se clasifican como pequeños para la edad gestacional (SGA, por sus siglas en inglés), aquellos entre el percentil 10 y 90 como apropiados para la edad gestacional (AGA), y los que están por encima del percentil 90 como grandes para la edad gestacional (LGA) (Battaglia et al., 1967). Esta clasificación ha permitido establecer

asociaciones entre el tamaño del recién nacido y el parto prematuro con la mortalidad neonatal (Monier et al., 2017). El parto prematuro (el que se produce antes de las 37 semanas de gestación) es un efecto adverso que se considera tanto la principal causa de muerte en el primer mes de vida como una de las principales causas de problemas de salud a largo plazo (Windham et al., 2008).

Esta clasificación se basa en la edad gestacional en el momento del parto, que se obtiene a partir de la fecha de la última regla (FUR), y que permite determinar no solo la edad gestacional sino también la fecha probable de parto. Es fundamental obtener una edad gestacional precisa, ya que sirve como base para el diagnóstico de alteraciones en el crecimiento fetal y se compara con el peso fetal o peso al nacer de otros fetos de la misma edad gestacional utilizando curvas de crecimiento. Otra forma de calcular la edad gestacional es mediante ecografías (ver más adelante).

En una gestación normal, cuya duración media es de 40 semanas, el peso al nacer promedio es de 3500 g y la longitud promedio es de 50 cm. Existen diferencias de tamaño entre los sexos, siendo las niñas en general más pequeñas en términos de peso y longitud que los niños, con una diferencia de aproximadamente 150 g en el peso y 0.65 cm en la longitud (Carrascosa et al., 2003).

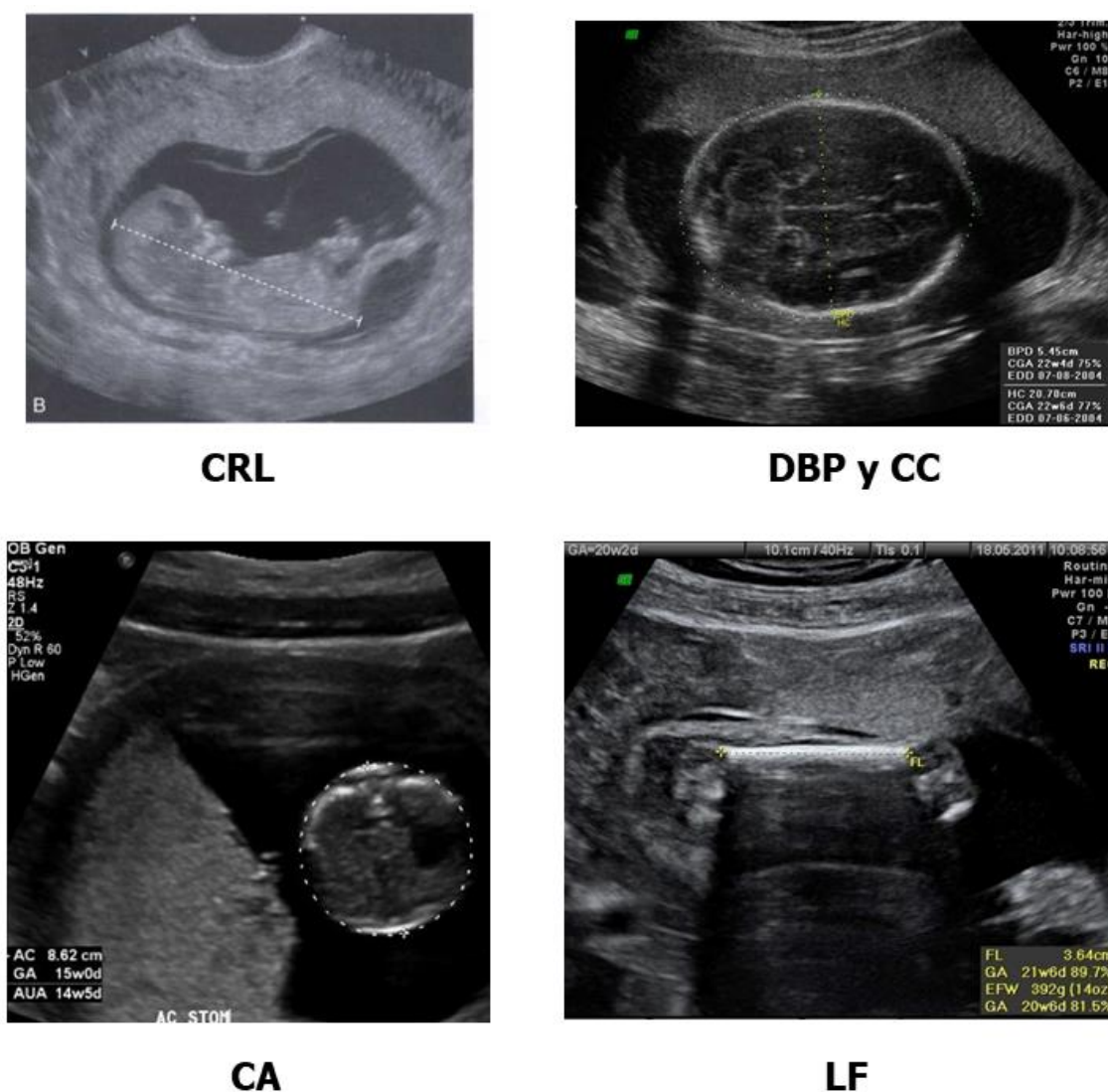
Otra forma de clasificar a los recién nacidos es mediante el bajo peso al nacer (BPN), que se define como un peso inferior a 2500 gramos y la macrosomía con un peso superior a 4000 gramos o más. Estos índices tienen la ventaja de ser fáciles de medir y presentan una fuerte correlación con efectos adversos perinatales (Mayer et al., 2013). Se ha observado que la mortalidad durante el primer año de vida en los recién nacidos a término con un peso inferior a 2500 gramos es 40 veces mayor que en los recién nacidos con peso normal (Windham et al., 2008).



Gracias a los avances en la atención obstétrica, se han introducido técnicas no invasivas como la ecografía para obtener parámetros de crecimiento a lo largo del embarazo y no solo en el momento del parto. Para ello, se realizan biometrías seriadas en diferentes etapas de la gestación que, junto con la antropometría al nacer, permiten evaluar los parámetros de crecimiento y las trayectorias de crecimiento en los diferentes trimestres del embarazo. Esto proporciona información útil sobre el crecimiento fetal y mejora la predicción de los bebés con bajo peso o alteraciones en el crecimiento (Salomon et al., 2019). Al realizar biometrías fetales mediante ultrasonidos en lugar de solo tomar medidas después del parto, se reducen los errores de medición y se puede evaluar el crecimiento a lo largo de todo el embarazo, no solo en un momento puntual. Desde el punto de vista de la investigación, también permite evaluar los períodos de mayor vulnerabilidad fetal, conocidos como "ventanas temporales", en los que el feto es más sensible a las perturbaciones ambientales y cómo cada parámetro biométrico se ve afectado (Kamai et al., 2019).

La biometría se ha convertido en una herramienta esencial para la evaluación del tamaño fetal, aumentando la detección del retraso del crecimiento fetal y la identificación de aquellos casos con mayor riesgo de morbilidad neonatal (Kiserud et al., 2017). La SEGO (Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología) recomienda en sus protocolos realizar de forma sistemática 3 ecografías durante la gestación, una en cada trimestre del embarazo, más concretamente, la primera en la semana 10-14, la segunda en las semanas 16-18 y la tercera en las semanas 32-34 (González-González et al., 2009). La biometría fetal consiste en la medición de los segmentos anatómicos del feto mediante ultrasonografía. Se pueden tomar diversas medidas, pero las más comunes son la longitud craneocaudal (CRL, por sus siglas en inglés "*crown rump length*"), diámetro biparietal

(DBP), circunferencia de la cabeza (CC) o perímetro cefálico, circunferencia abdominal (CA) y longitud del fémur (LF) (Figura 4).



**Figura 4.** Principales medidas antropométricas fetales obtenidas por ecografía (CRL: longitud craneocaudal, DBP: diámetro biparietal, CC: circunferencia de la cabeza, CA: circunferencia abdominal, LF: longitud del fémur) (Fuente: radiopedia.org para DBP, CC, CA y LF; Proyecto Infancia y Medio Ambiente -INMA- para CRL).

Estas medidas son la base de muchas fórmulas para estimar y calcular el peso fetal. El mejor control se hace con mediciones seriadas a las semanas 24, 28, 32 y 36 de amenorrea. En la tabla 5 se presentan los valores de los parámetros ecográficos más habituales en diferentes semanas de gestación (González-González et al., 2009).

**Tabla 5.** Principales medidas antropométricas fetales durante la gestación

<b>Amenorrea (semanas)</b>	<b>DBP (mm)</b>	<b>LF (mm)</b>	<b>CC (mm)</b>	<b>CA (mm)</b>
20	45	30	175	150
24	58	40	225	188
28	70	50	560	240
32	81	59	295	280
36	88	68	320	320
40	94	72	355	365

La CRL es crucial para determinar la edad gestacional en el primer trimestre del embarazo, entre las 8 y las 14 semanas de gestación (O'Gorman et al., 2018). Esta medida se toma desde la parte superior de la cabeza hasta el coxis (Salomon et al., 2019), tiene un margen de error de entre 3 y 5 días, dependiendo de la edad gestacional de la mujer, y aumenta aproximadamente 10 mm por semana de gestación (Arduini et al., 2009).

El DBP es el diámetro máximo de una sección transversal del cráneo a nivel de las eminencias parietales. Es una medida altamente precisa en el primer y segundo trimestre de embarazo y muestra un crecimiento lineal de 3 mm por semana desde las 14 hasta las 28 semanas de gestación, y de 2 mm por semana hasta el término del embarazo.

La CC se mide en el mismo nivel que el DBP y representa el perímetro exterior del cráneo fetal. Experimenta un crecimiento aproximado de 14 mm por semana entre las 14 y las 17 semanas de gestación, para luego reducirse a 5 mm hasta el término del embarazo. La CC se utiliza como sustituto del DBP para determinar la edad gestacional cuando el DBP supera los 84 mm o cuando el embarazo está en una etapa avanzada (segundo trimestre).

La CA es la longitud del perímetro exterior del abdomen fetal, medida en una vista transversal a nivel de la porción intrahepática de la vena umbilical. La CA muestra un crecimiento lineal con una media de 11 a 12 mm por semana hasta el término del embarazo.

La LF mide la porción osificada del fémur desde la diáfisis hasta la metáfisis (Žaliūnas et al., 2017; Arduini et al., 2009).

Como se ha mencionado anteriormente, la CRL es la medida más precisa para determinar la edad gestacional en el primer trimestre. En el segundo, el DBP, la CC y la CA permiten estimar la edad gestacional y una fecha estimada de parto (<https://radiopaedia.org/articles/biparietal-diameter>). Estos parámetros biométricos también se utilizan para estimar el peso fetal en diferentes etapas del embarazo, lo cual se conoce como peso fetal estimado (PFE). Existen varias fórmulas para calcular el PFE, siendo la más común la de Hadlock et al. (1984):

$$\begin{aligned} \text{Log}_{10} \text{PFE} = & 1,4787 (0,003343 * CA * LF) + (0,001837 * DBP^2) + (0,0458 * CA) \\ & + (0,158 * LF) \end{aligned}$$

Se considera que esta fórmula es la más precisa para determinar el tamaño fetal, y a medida que se incluyen más parámetros biométricos en la fórmula, se reduce el margen de error. Los errores absolutos medios asociados con estas fórmulas son aproximadamente del 10% (O'Gorman et al., 2018), lo que mejora la precisión ecográfica y proporciona estimaciones más exactas del peso fetal.

El PFE obtenido en cada biometría se compara con las curvas de crecimiento fetal para determinar si el feto tiene un tamaño adecuado para su edad gestacional. Las tablas de crecimiento fetal se han utilizado en la práctica clínica para monitorizar el crecimiento

fetal, neonatal e infantil. Sin embargo, las tablas de crecimiento tempranas tienden a incluir la mayoría de los nacimientos en la población, aunque se produzcan en condiciones de crecimiento subóptimas y con efectos adversos en el nacimiento. Estas tablas se conocen como "descriptivas" o de "referencia" porque describen cómo crecen realmente los fetos en una población o grupos de poblaciones.

En la actualidad, han surgido nuevas tablas de crecimiento, como las elaboradas por el proyecto Intergrowth 21<sup>st</sup> de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Instituto Nacional de Salud y Desarrollo Infantil de los Estados Unidos (NICHD, por sus siglas en inglés). Estas nuevas tablas se basan en poblaciones sanas con embarazos de bajo riesgo y se conocen como tablas "prescriptivas" o "estándares". Su objetivo es mostrar cómo debería ser el crecimiento "normal" de los fetos en lugar de cómo crecen realmente. Al reflejar un crecimiento fetal óptimo, estas tablas se consideran más efectivas para monitorizar el crecimiento fetal y detectar alteraciones en el mismo.

Sin embargo, existe cierta controversia sobre qué tipo de tablas de crecimiento se deben utilizar en la práctica clínica. Algunos estudios han demostrado que las variables maternas tienen un impacto significativo en el peso fetal y que las curvas personalizadas son más precisas que los estándares para detectar los fetos que realmente son pequeños para su edad gestacional (Gardosi et al., 1997; Kase et al., 2012; Gardosi et al., 2014). Sin embargo, otros estudios no han encontrado ventajas significativas en el uso de estas curvas personalizadas (Smith et al., 2014). Actualmente, persisten las discrepancias sobre cuáles curvas son más adecuadas para utilizar en la práctica clínica (Ghi et al., 2016).

La evaluación del crecimiento fetal y sus desviaciones es una tarea compleja. El uso de las herramientas disponibles es fundamental para diagnosticar y detectar precozmente los fetos con alto riesgo de efectos adversos al nacimiento, lo que a su vez puede contribuir

a reducir los partos prematuros y el bajo peso al nacer. Es esencial utilizar enfoques multidimensionales, como la biometría y las curvas de crecimiento, para obtener una evaluación integral del crecimiento fetal y brindar una atención obstétrica óptima (Wanyonyi et al 2018).

## **2.9 Justificación del estudio**

En Andalucía hasta el momento, no se han realizado estudios que evalúen el efecto potencial de la exposición a plaguicidas no persistentes (organofosforados y piretroides) sobre el crecimiento fetal. Estudios en diversas partes del mundo, han observado que la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides antes y durante el embarazo influye de manera negativa en el crecimiento del feto y aumentan el riesgo de tener hijos con bajo peso al nacer (Naksen W, 2015) (Rauch SA, 2012) (Hanke W, 2003) (Zhang J, 2014), disminución de la talla del recién nacido (Whyatt RM R. V., 2004), acortamiento de la duración de la gestación (Rauch SA, 2012) (Eskenazi B, 2004) (Wang P, 2012) y disminución de la circunferencia de la cabeza (Berkowitz GS, 2004).

Almería es la provincia de Andalucía con mayor consumo de plaguicidas anual (tn). En 2020, el 36,13% del total de consumo de insecticidas y nematocidas de Andalucía tuvo lugar en Almería. Esta provincia presenta una gran actividad agrícola, sobre todo en la comarca del poniente Almeriense, la cual presenta la mayor superficie de cultivo bajo plástico a nivel nacional.

A pesar de ser una zona con mayor riesgo de exposición tanto a nivel ocupacional como ambiental a este tipo de productos, los efectos que puede ocasionar sobre la salud de los colectivos más vulnerables (mujeres embarazadas y el feto), que por sus características

tienen mayor riesgo de exposición a estas sustancias, son poco conocidos. En particular, la información sobre los posibles efectos a corto y largo plazo de la exposición prenatal a los plaguicidas organofosforados es limitada. En Andalucía, del total de muertes infantiles producidas en 2018, el 36,8% fueron debidas a afecciones originadas en el periodo perinatal, entre las que se encuentran trastornos en la duración de la gestación y crecimiento fetal, retardo del crecimiento fetal, desnutrición fetal, inmadurez extrema y peso extremadamente bajo al nacer (Ruiz Benitez, 2019). Hasta el momento, los estudios realizados para evaluar la asociación entre la exposición a plaguicidas organofosforados y crecimiento fetal son insuficientes y la evidencia existente no es concluyente. Los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis Doctoral podrían servir para arrojar luz sobre estudios epidemiológicos previos con hallazgos ambiguos sobre esta relación. Mejorando así, la comprensión acerca de las consecuencias para la salud de las exposiciones a bajas dosis sobre la salud y los posibles problemas más adelante en la vida.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---



### **3. Hipótesis y objetivos**

#### **3.1 Hipótesis**

El uso de plaguicidas no persistentes (organofosforados y piretroides), aunque desde hace décadas se ha venido utilizando en la agricultura, en la actualidad su uso se ha extendió al ámbito doméstico. Las personas en general pueden estar expuestos a estas sustancias a través del ambiente o la dieta, lo que ha generado preocupación por el efecto que estas exposiciones pueden causar en la salud de la población y en especial en las personas más vulnerables como las mujeres embarazadas y el feto. La Comarca del Poniente Almeriense es la zona de Almería con mayor consumo de plaguicidas y hectáreas de cultivo bajo plástico, siendo el riesgo para la salud mayor en poblaciones con una actividad agrícola intensiva. Estudios sugieren que la exposición prenatal a plaguicidas organofosforados y piretroides pueden afectar al crecimiento fetal normal, alterando los parámetros antropométricos al nacer, acortando la edad gestacional y la prematuridad. Estos efectos pueden tener consecuencias negativas para la salud del individuo a corto, medio y largo plazo. La hipótesis de este estudio sugiere que existe una asociación negativa entre la exposición prenatal a plaguicidas organofosforados y piretroides y la antropometría al nacer, la edad gestacional y la prematuridad. Además se observan diferencias de efecto de los compuestos entre niños y niñas.

#### **3.2 Objetivos**

##### **3.2.1 Objetivo General**

Evaluar la asociación entre la exposición prenatal a plaguicidas no persistentes (insecticidas OPs y piretroides) y la antropometría al nacer y crecimiento fetal medido a través de ecografías seriadas, en binomios madre-hijo/a residentes en la comarca del poniente almeriense

**3.2.2 Objetivos específicos:**

- a) Evaluar la exposición a insecticidas OPs y piretroides mediante la determinación de sus metabolitos más comunes en orina materna (DAPs para OPs en general y TCPy como metabolito relativamente específico de clorpirifós; y 3-PBA, un metabolito inespecífico de varios piretroides)
- b) Evaluar el crecimiento fetal a lo largo del embarazo mediante biometrías fetales (ecografías) seriadas a las gestantes a las 12, 20 y 34 semanas de gestación en medio hospitalario.
- c) Evaluar la antropometría al nacer mediante la medición del peso, talla y perímetro cefálico del neonato en medio hospitalario.
- d) Determinar la edad gestacional de los recién nacidos y establecer la subcategoría de recién nacidos prematuros
- e) Evaluar la asociación de los niveles en orina de insecticidas OPs y piretroides durante la etapa prenatal (primer y tercer trimestre) y la antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.
- f) Evaluar la asociación de los niveles en orina insecticidas OPs y piretroides durante la etapa prenatal (primer y tercer trimestre) y las biometrías seriadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.
- g) Evaluar la diferencia por sexo en los objetivos e y f

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 Diseño**

El estudio se ha realizado en el marco de la Cohorte prospectiva de nacimiento prospectiva GENEIDA (*Genetics, Environmental Exposures and Infant Development in Andalusia*)

#### **4.1.1 Población de estudio**

Binomios madre-hijo/a. Mujeres que asistieron al programa de seguimiento del embarazo en el Hospital Universitario Poniente (El Ejido, Almería), durante el periodo 2014-2017 y asistidas en el momento del parto en dicho hospital.

#### **4.1.2 Reclutamiento y selección de participantes**

El reclutamiento de las mujeres embarazadas se realizó en el hospital de referencia del Distrito Sanitario Poniente, Hospital Universitario Poniente (HUP), el cual da cobertura de servicio a 14 municipios (Adra, Alcolea, Bayárcal, Berja, Dalías, El Ejido, Enix, Felix, Fondón, Laujar de Andarax, La Mojonera, Paterna del Río, Roquetas de Mar y Vícar) pertenecientes a 5 zonas básicas de salud (Adra, Berja, Roquetas de Mar, Vícar y el Ejido)<sup>3</sup>. En total se reclutaron 800 mujeres durante el primer trimestre del embarazo, en el periodo 2014-2017.

En octubre del 2013 se iniciaron las reuniones con los jefes del servicio de obstetricia y pediatría del HUP con el objeto de informales sobre los objetivos del estudio y la metodología a seguir para la captación de las mujeres y la realización de las ecografías

---

<sup>3</sup> [http://www.ephpo.es/hponiente/informacion\\_del\\_centro/area\\_influencia.php](http://www.ephpo.es/hponiente/informacion_del_centro/area_influencia.php)

seriadas durante el embarazo. Como paso previo, se realizó un estudio piloto en un total de 12 participantes.

En mayo del 2014 se inició la captación de las participantes, que se prolongó hasta noviembre de 2017. Las participantes fueron reclutadas en el marco del programa de seguimiento de mujeres embarazadas del HUP, aprovechando la primera visita que realizaban al Servicio de Obstetricia (12-13 semanas de gestación). Después de informarles sobre los objetivos del estudio, todas aquellas mujeres que aceptaron participar y cumplían los criterios de inclusión (y ninguno de los de exclusión) firmaron una hoja de consentimiento informado y se les informó sobre su derecho a abandonar en cualquier momento sin tener que dar explicaciones,

Los **criterios de elegibilidad** fueron los siguientes:

#### **Criterios de inclusión**

- a) Edad de la mujer (> 16 años)
- b) Primera visita al hospital entre la semana 12-13 de gestación
- c) Embarazo único (no gemelar)
- d) Embarazo natural (no resultado de técnicas de reproducción asistida).
- e) Tener previsto dar a luz en el HUP (para garantizar el seguimiento de la embarazada hasta el parto)

#### **Criterios de exclusión**

- a) Haber sido diagnosticada clínicamente de una enfermedad crónica previa al embarazo y estar bajo tratamiento médico (hipo o hipertiroidismo, cáncer, diabetes, enfermedades pulmonares, renales, hepáticas, cardíacas, etc.)

- b) Dificultad en la comprensión del idioma castellano (para evitar barreras idiomáticas a la hora de recoger información).

#### **4.1.3 Tamaño muestral**

El tamaño de la muestra para el presente estudio se calculó mediante el software GPower. El cálculo se basó en los resultados observados en el artículo Eskenazi et al. (2004), donde se observó una asociación significativa entre la exposición prenatal a DAPs y el perímetro cefálico al nacer ( $\beta= 0,32$ ;  $p= 0,03$ ). El tamaño de la muestra necesario para replicar este coeficiente  $\beta$  beta para un error  $\alpha=0,05$ , una potencia de 0,9, y el mismo número de predictores es, como mínimo,  $n=536$ . Sobre esta base, los análisis de este estudio se han realizado en una submuestra de 537 parejas madre-hijo seleccionadas aleatoriamente de entre los 800 binomios madre-hijo/a participantes en la cohorte GENEIDA con objeto de economizar recursos.

#### **4.2 Variables de estudio**

Se definieron las siguientes variables de estudio:

- a) Variables dependientes:
- Crecimiento fetal: evaluado a través de medidas antropométricas al nacer (peso, talla y perímetro cefálico) y biometrías fetales medidas mediante ecografías seriadas (DBP, CA, CC, LF, PFE).
  - Índice ponderal, edad gestacional y prematuridad (nacimiento que se produce antes de las 37 semanas de gestación),

**b) Variables independientes**

- Exposición a plaguicidas no persistentes, mediante la determinación de diferentes biomarcadores de exposición a plaguicidas en orina de la madre en el primer y trimestre de embarazo:
  - Seis DAPs (metabolitos inespecíficos de insecticidas organofosforados).
  - Tricloropiridinol (TCPy), un metabolito relativamente específico del clorpirifós, aunque también lo es de metil-clorpirifós y de triclopir (un herbicida no relacionado estructuralmente con los OPs)
  - Ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA), un metabolito inespecífico de algunos insecticidas piretroides.

**c) Variables confusoras y covariables**

- Se recogió información de diferentes variables confusoras y covariables a través de cuestionarios y de las historias clínicas

**4.2.1 Crecimiento fetal (medidas antropométricas al nacer y biometrías fetales seriadas) y edad gestacional**

El crecimiento fetal y edad gestacional se evaluaron a través de las medidas antropométricas al nacer y las biometrías fetales estimadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación a partir de diferentes ecografías seriadas a lo largo del embarazo, según se ha descrito previamente (Gaillard et al., 2014).

**a) Medidas antropométricas al nacer e índice ponderal**

Las medidas antropométricas de los recién nacidos (peso, talla y perímetro cefálico) se obtuvieron de los registros clínicos hospitalarios. Se calcularon las puntuaciones z-específicas<sup>4</sup> (z-score) de las mismas mediante la utilización de tablas estandarizadas de crecimiento fetal y del recién nacido ajustadas por edad gestacional y sexo, elaboradas en el proyecto INTERGROWTH-21<sup>st</sup> [Villar et al. 2014].

El índice ponderal se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice Ponderal (IP) del RN} = \frac{\text{Peso (g)}}{\text{talla (cm)}^3} \times 100$$

#### **b) Evaluación del crecimiento fetal a través biometrías fetales**

Se obtuvieron diferentes medidas biométricas del feto a través de ecografías seriadas realizadas por obstetras cualificados durante el seguimiento del embarazo, utilizando los ecógrafos modelo Toshiba Applio para las ecografías realizadas en el primer y tercer trimestre de embarazo y el modelo General Electric Voluson E8 para las ecografías del segundo trimestre de embarazo. Los parámetros biométricos recogidos en todas las ecografías realizadas durante el embarazo fueron: diámetro biparietal (DBP), circunferencia abdominal (CA), circunferencia de la cabeza (CC) y longitud del fémur (LF). Además, en la primera ecografía obstétrica se recogió la longitud céfalo-caudal (CRL) necesaria para determinar la edad gestacional del feto.

Aunque el número mínimo de ecografías realizadas durante el embarazo fue de 3, una en cada trimestre de embarazo, este número pudo variar en función de las características del

---

<sup>4</sup> Número de desviaciones típicas que un valor dado toma con respecto a la media de su muestra. Es una variable estandarizada o normalizada que se utiliza en estadística para comparar datos procedentes de diferentes muestras o poblaciones



embarazo y de la propia salud de la madre. En algunos casos se pudo realizar un seguimiento más exhaustivo, llegándose incluso hasta 11 ecografías a lo largo del embarazo.

Por lo tanto, a cada feto se le realizaron una serie de ecografías en diferentes edades gestacionales, no siendo el mismo para todos. Con objeto de armonizar el número de ecografías disponibles de cada feto para el análisis estadístico de los datos, se seleccionaron 3 ventanas temporales a lo largo del embarazo correspondientes a cada trimestre (12, 20 y 34 semanas de gestación) siguiendo la metodología descrita en estudios previos [Iñiguez et al. 2016]. Con la información disponible de las diferentes ecografías realizadas a cada embarazada se estimaron los parámetros biométricos de cada feto en dichas semanas de gestación, siguiendo la metodología que se describe a continuación.

En una primera fase se depuró la base de datos buscando valores anómalos de los diferentes parámetros biométricos, los cuales fueron revisados o eliminados por existir errores tipográficos. Una vez depurada, se ajustó un modelo lineal mixto para cada parámetro biométrico, con objeto de estimar cada uno de estos parámetros en función de la edad gestacional del feto (12, 20 y 34 semanas de gestación) utilizando los datos disponibles junto con una serie de variables de ajuste. Estas incluían sexo del recién nacido (V/M), edad de la madre en años (variable continua), edad de la madre categórica (<25, 25-29, 30-34, >34 años), peso de la madre previo al embarazo (continua), peso previo de la madre expresado en forma categórica (<55, 55-70, >70 kg), talla de la madre en cm (continua), talla de la madre categórica (<160, 160-165, >165 cm), índice de masa corporal (IMC) previo al embarazo (continua), IMC previo al embarazo expresado en forma categórica (<18.5, inferior a lo normal; 18.5-24.9, normal; 25-29.9, sobrepeso; y

>30 kg/m<sup>2</sup>, obesidad), LogIMC previo al embarazo, paridad (continua), paridad (primípara, variable dicotómica: sí o no), etnia de la madre (blanco, otros) y nacionalidad de la madre (española, otros).

Finalmente las variables de ajuste que quedaron en el modelo para cada parámetro biométrico fueron los siguientes:

- DBP se ajustó por paridad (primípara; si o no), talla de la madre categórica (<160, 160-165, >165 cm), IMC previo de la madre (LogIMC) y el sexo del recién nacido.
- CC se ajustó por peso previo de la madre (continua), paridad (primípara; si o no), edad de la madre (continua), sexo del recién nacido y talla de la madre categórica.
- CA se ajustó por IMC previo de la madre (LogIMC), sexo del recién nacido, paridad (primípara; si o no), edad de la madre categórica (<25, 25-29, 30-34, > 34 años), peso previo de la madre expresado en forma categórica (<55, 55-70, >70 kg) y talla de la madre expresado en forma categórica (<160, 160-165, >165 cm).
- LF se ajustó por IMC previo de la madre (LogIMC), paridad (primípara; si o no), etnia de la madre y peso previo de la madre expresado de forma continua.
- PFE se ajustó por peso previo de la madre expresado de forma continua, sexo del recién nacido, paridad (primípara; si o no), IMC previo al embarazo categórico (<18.5, inferior a lo normal; 18.5-24.9, normal; 25-29.9, sobrepeso; y >30 kg/m<sup>2</sup>, obesidad) y etnia de la madre.

A partir de los estos modelos mixtos ajustados se estimaron los valores de los parámetros biométricos de cada feto en las semanas 12, 20 y 34 de gestación. Estos valores están condicionados por la disponibilidad de los datos ecográficos más cercanos a dichas

semanas, pudiendo así armonizar la información para el análisis estadístico. Las estimaciones obtenidas se expresan directamente en forma de puntuaciones z-específicas.

El análisis estadístico se realizó con el software R, usando la función *gls* del paquete *nlme* para ajustar los modelos lineales mixtos.

**Análisis de fiabilidad biometrías en el primer trimestre de embarazo.**

Se realizó un análisis de fiabilidad de las mediciones de los parámetros biométricos a las 12 semanas de gestación realizados por 3 obstetras participantes en el proyecto sobre una muestra de 24 mujeres. En el estudio se evaluó la validez de las mediciones tomando como “Gold Standard” las mediciones de la supervisora, la concordancia entre observadores, y la reproducibilidad intra- observador.

El coeficiente de correlación intra-clase (CCI) en el análisis de validez de las mediciones fue superior a 0.70 para todos los parámetros biométricos para los 2 obstetras, siendo superior para CC y CA (entre 0.85 y 0.90) y algo menor para DBP y LF (entre 0.71 y 0.77).

El CCI inter-observador fue muy alto para CC y CA (0.81 y 0.86 respectivamente), y estuvo en torno a 0.60 para DBP y LF. El CCI intra-observador alcanzó valores superiores a 0.90 en la mayoría de las mediciones y tomó su menor valor en el caso de DBP (0.71).

### **c) Edad gestacional y prematuridad**

La edad gestacional se midió en semanas enteras a partir a partir del primer día de la fecha de la última regla (FUR). Esta información se obtuvo preguntando a la mujer durante la visita obstétrica de 1º trimestre de embarazo, aunque su fiabilidad depende del correcto recuerdo de la madre y de la regularidad de sus ciclos menstruales (Gaillard et al., 2014).

Posteriormente el ginecólogo estimó la FUR operacional en base al promedio de tres

imágenes satisfactorias de la CRL en la ecografía realizada entre los días 0 y 6 de la semana 12 de gestación (ver Figura 4 en Introducción). En aquellos casos en los que la FUR declarada por la madre y la operacional diferían en más de 7 días, se escogió la estimación ecográfica al ser considerada como la más correcta.

Se definió prematuridad en base a la edad gestacional, considerando prematuros a los recién nacidos antes de las 37 semanas de gestación y a término a los recién nacidos vivos entre las semanas 37 y las 42.

#### **4.2.2 Evaluación de la exposición prenatal a plaguicidas no persistentes**

La exposición prenatal a plaguicidas no persistentes se determinó mediante biomonitorización urinaria de biomarcadores de exposición. Estos consistían en metabolitos de insecticidas OPs y piretroides en muestras de orina recogidas en dos periodos del embarazo, primer trimestre (12-13 semanas de gestación) y tercer trimestre (36 semanas de gestación):

- Seis DAPs (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP y DEDTP), que son metabolitos no específicos de insecticidas OPs.
- 3,5,6-Tricloro-2-piridinol (TCPy), un metabolito relativamente específico del clorpirifos.
- Ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA), un metabolito inespecífico de piretroides.

Las mujeres participantes recogieron muestras de orina de primera hora de la mañana en su domicilio, tras haber recibido previamente instrucciones sobre cómo hacerlo. Se les entregó un kit de recogida de muestras compuesto por un recipiente estéril de

polipropileno y un protocolo impreso en papel por si surgía alguna duda, todo ello para que las muestras fueran recogidas en las condiciones óptimas de higiene, preservación y almacenamiento hasta su entrega en la visita. Posteriormente, las muestras de orina se alicuotaron en tubos de 5 ml y se guardaron en ultracongelador a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

Las muestras de orina se enviaron a la Unidad de Toxicología de la Universidad Las Palmas de Gran Canaria (Islas Canarias, España) para su posterior análisis. El envío se realizó utilizando contenedores de porexpan con hielo seco para evitar romper la cadena de frío. Una vez en destino, las muestras de orina se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Antes del análisis, las muestras de orina se descongelaron a  $4^{\circ}\text{C}$  y posteriormente se homogeneizaron y centrifugaron. La extracción consistió en un método rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged & Safe, QuEChERS por sus siglas en inglés) optimizado y validado en este laboratorio. Se trata de una técnica de preparación de muestras que simplifica enormemente el análisis de residuos de plaguicidas. Se añadieron 2 ml de orina y 100  $\mu\text{l}$  de  $\beta$ -glucuronidasa en un tubo de centrífuga de 15 ml, se mezclaron e incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  durante la noche. Al día siguiente las muestras se agitaron y centrifugaron a 4200 rpm x  $5^{\circ}\text{C}$  durante 5 min en una centrífuga Eppendorf 5804 R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y se añadieron 2 mL de acetonitrilo (ACN)-2% ácido fórmico (FA) y se agitó durante 1 min. A continuación, se añadieron 1,2 g de  $\text{MgSO}_4$  y 0,3 g de  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , se agitó vigorosamente durante 1 min y se volvió a centrifugar con los mismos parámetros. El extracto se sometió a un proceso de limpieza con 50 mg de C18 y 300 mg de  $\text{MgSO}_4$ , se agitó enérgicamente durante 1 min y se centrifugó como en el paso anterior. Posteriormente, el sobrenadante se filtró a través de filtros PET Chromafil® de 0,22  $\mu\text{m}$  (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) y se evaporó 1 ml a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 2:30 h utilizando un concentrador rotativo de vacío RVC 2-25 CD plus (Christ, Alemania).

Finalmente, el residuo se reconstituyó con 100  $\mu\text{L}$  de una solución de metanol (MeOH):Agua (10:90) y se transfirió a un vial de cromatografía de vidrio ámbar (Gimenez-Asensio et al., 2023).

Las muestras se analizaron mediante cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) en un equipo de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC) Agilent 1290 acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 6460, que permite la separación e identificación de mezclas complejas. Las separaciones cromatográficas se realizaron con una columna Poroshell 120 EC-C18 de 2,1 x 100 mm, 2,7  $\mu\text{m}$  equipada con una precolumna Poroshell Guard de las mismas características y una longitud de 2,1 x 5 mm (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EE. UU.). La fase móvil consistió en ácido fórmico al 0,1 % en agua (A) y metanol (B). Se programó un gradiente binario usando las fases móviles A y B de la siguiente manera: 0-2 min, 10% B; 2-4 min, 20% B; 4-8 min, 40% B; 8-10 min, 50% B; 10-12 min, 60% B; 12-14,20 min, 80% B; 14,20-16 min, 100% B; 16-18 min, 10% B. El flujo de la fase móvil fue de 0,3 ml/min y el volumen de inyección de 10  $\mu\text{L}$ . La temperatura del horno de la columna se ajustó a 40 °C. El tiempo total de análisis fue de 18 min. Los análisis de MS/MS se realizaron utilizando la fuente de ionización por electropulverización de chorro de Agilent (AJS-ESI) en modo de ionización positiva y monitorización dinámica de reacciones múltiples (dMRM). Como gas de secado y desolvatación se utilizó nitrógeno proporcionado por el generador de nitrógeno Zefiro 40 (F-DGSi, Evry, Francia). Se utilizó nitrógeno 6,0 (99,9999 % de pureza, Linde, Dublín, Irlanda) como gas de colisión (Gimenez-Asensio et al., 2023).

Las concentraciones urinarias de creatinina se determinaron por el método de Jaffé (Jaffé et al. 1886) en la unidad de biotecnología del HUP y los resultados se expresaron en mg/dl.

Finalmente, las concentraciones de metabolitos en orina se expresaron nmol/L,  $\mu\text{g/L}$ ,  $\mu\text{g/g}$  creatinina y nmol/g creatinina. Para los metabolitos dialquilfosfatos se calcularon los sumatorios de aquellos con radicales etilos ( $\Sigma\text{DEs}$ ), radicales metilos ( $\Sigma\text{DMs}$ ) y la sumatoria total de diaquilfosfatos ( $\Sigma\text{DAPs}$ ).

#### 4.2.3 Recogida de información a través de cuestionarios

En el primer y tercer trimestre de embarazo, aprovechando la visita programada de las mujeres al HUP, se administraron dos cuestionarios, uno general y otro de frecuencia de consumo de alimentos (FCA) con objeto de recoger información sobre diferentes variables de interés para el estudio. Los cuestionarios administrados en el primer trimestre de embarazo recogieron información referida a los 12 meses previos a la visita, y el del tercer trimestre recopiló información sobre los cambios referentes al periodo comprendido entre la visita del primer trimestre (<14 semanas) y el tercer trimestre de embarazo (36 semanas de gestación).

**a) Cuestionario general:** este cuestionario se recogió la siguiente información:

- Información sociodemográfica familiar: dirección familiar, situación familiar y número de residentes en el domicilio, ingresos mensuales, nivel de estudios de la madre, situación laboral de los padres en el momento de la entrevista,
- Ocupación de los padres: historia laboral, exposiciones a sustancias químicas en el lugar de trabajo y tiempo de exposición, ocupaciones secundarias relacionadas con la agricultura y aplicación de productos fitosanitarios, hábitos de higiene relacionados con la ocupación laboral.

- Antecedentes médicos de la madre durante los 12 meses previos al embarazo: diagnóstico de enfermedades y medicación, antecedentes alérgicos, consumo de fármacos.
- Antecedentes médicos: diagnóstico de enfermedades durante el embarazo, complicaciones durante el embarazo, antecedentes alérgicos, consumo de fármacos, visitas al dentista y diagnóstico de enfermedades infecciosas.
- Historia reproductiva de la mujer: número de embarazos, abortos, nacidos muertos, malformaciones congénitas, peso al nacer de cada uno de sus hijos, sexo de los recién nacidos, tipo de parto y duración de la lactancia (en meses). Historia familiar de complicaciones durante el embarazo, abortos, malformaciones congénitas. Uso de anticonceptivos orales.

Con relación al embarazo actual: uso de anticonceptivos (orales, inyectables o dispositivo intrauterino -DIU-), nº de visitas prenatales al centro de atención primaria y/o consulta de un ginecólogo privado, sintomatología del embarazo (vómitos, episodios febriles, aumento de vello).

- Consumo de tabaco: hábito tabáquico durante el embarazo y tabaquismo pasivo (convivencia con fumadores).
- Exposiciones ambientales y domésticas: características de la vivienda y reformas realizadas, frecuencia de limpieza y ventilación, contaminación acústica y atmosférica del vecindario, presencia de mascotas, jardín o huerto en la vivienda, uso de insecticidas u otros productos en la vivienda y contacto de la mujer con campos de cultivo y/o invernaderos (proximidad de la vivienda y pasear).



- Uso de productos de productos de cosmética e higiene personal: tipo de cosméticos y frecuencia de uso, tratamientos capilares y rutina de aseo.
- Actividad física y sedentarismo: horas de descanso, sedentarismo en el trabajo, tipo y duración de actividad física durante el tiempo libre.
- Peso y talla de la madre previo al embarazo.

#### **b) Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (FCA)**

Se utilizó un cuestionario de FCA para evaluar la dieta de las mujeres participantes en el estudio durante el primer y tercer trimestre de embarazo. Este cuestionario ha sido utilizado previamente en población española (Vioque et al., 2013) y posteriormente adaptado y validado en nuestra población de estudio (Hinojosa et al. 2021). El cuestionario está compuesto por una lista de 119 alimentos y nueve opciones de frecuencia de consumo (que van desde 'nunca o menos de una vez al mes' hasta 'seis o más al día'). Los alimentos se agrupan en las siguientes categorías: productos lácteos; carne, pescado y huevos; verdura; legumbres; frutas (incluyendo sus derivados y frutos secos); pan y cereales; aceites y grasas; bollería y pastelería; y mezclas (fritos, salsas, otros). El cuestionario se completa con ítems sobre hábitos de consumo de alcohol, suplementación de la dieta con complejos vitamínicos y hábitos de cocinado y elaboración de productos alimenticios. La información recogida en el primer trimestre de embarazo estaba referida al consumo de alimentos de las mujeres durante los últimos 12 meses, mientras que el cuestionario de 3º trimestre refleja el consumo de alimentos desde la visita del primer trimestre hasta las 36 semanas de gestación.

#### **c) Historias Clínicas**

A través de las historias clínicas se recogió información sobre el sexo de los niños, peso de la madre a las 36 semanas de gestación, complicaciones durante el embarazo, diagnóstico de diabetes gestacional y preeclamsia, e hipo e hipertiroidismo.

#### **4.2.4 Análisis estadístico**

##### **a) Análisis descriptivo**

El análisis descriptivo de las características de la población de estudio se realizó mediante el cálculo de frecuencias absolutas (valor de n) y relativas (%) para las variables categóricas y la media y desviación estándar para las variables continuas.

Para el análisis descriptivo de las concentraciones de metabolitos DAPs, los valores por debajo del LOD se imputaron asignando un valor aleatorio utilizando una distribución uniforme en el intervalo entre 0 y el LOD. Posteriormente, las concentraciones de los metabolitos DAPs se transformaron en concentraciones molares (nmol/L) utilizando sus respectivos pesos moleculares, con objeto de evitar errores debidos al peso molecular de los mismos (Eskenazi et al. 2004). A continuación, se calculó la suma de las concentraciones de los 6 metabolitos dialquifosfatos ( $\Sigma$ DAPs), así como, la suma de los metabolitos con radical metilo ( $\Sigma$ DMs) y etilo ( $\Sigma$ DEs), todo ello tanto para el primer y tercer trimestres del embarazo. Finalmente, las concentraciones de metabolitos se ajustaron por niveles de creatinina (nmol/g de creatinina). La medición de los sumatorios de DAPs, DEs y DMs es un enfoque común para cuantificar la exposición total a OPs (Barr et al., 2004).

Se calculó la media aritmética, geométrica y los percentiles (50, 75 y 95) para las concentraciones correspondientes a cada uno de los 6 metabolitos DAPs,  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs,

ΣDEs, TCPy y 3-PBA en el primer y tercer trimestres del embarazo. En las tablas sólo se incluyen datos cuantitativos cuando las concentraciones medias o los percentiles fueron superiores al LOD.

#### **b) Identificación de variables confusoras y otras covariables**

Para la identificación de las variables confusoras y covariables se tuvieron en cuenta los resultados de estudios previos que evaluaron la asociación entre crecimiento fetal y exposición a insecticidas OPs y piretroides, así como su plausibilidad biológica. Los posibles confusores y covariables se describen a continuación.

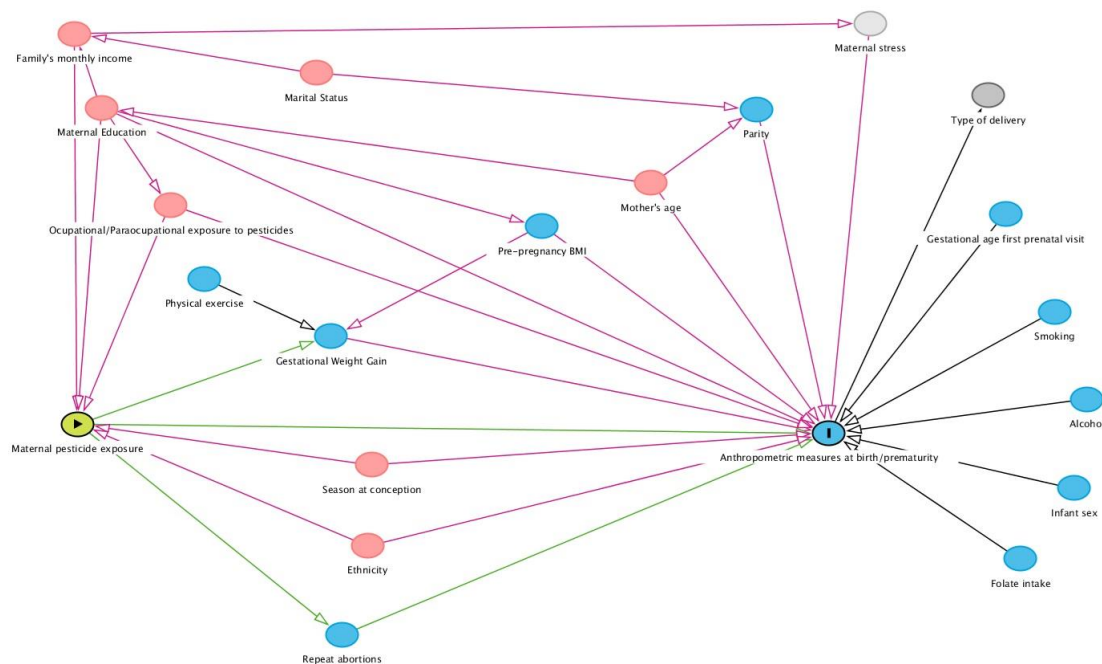
- ***Características sociodemográficas:*** Edad de la madre (continua), estado civil de la madre (casada o pareja estable, soltera, separada o divorciada, viuda y otros), nivel de estudios de la madre (estudios primarios, secundarios, universitarios), etnia de la madre (blanca europea, otros), ingresos del núcleo familiar (<1000€, 1000-2000€, 2001-3000€ y > 3000€).
- ***Información relativa al embarazo y nacimiento:*** IMC pre-embarazo (continua), ganancia de peso durante el embarazo (continua), tabaquismo (no fuma, fuma durante el primer trimestre de embarazo, fuma durante todo el embarazo), presencia de otros fumadores en el hogar (sí/no), consumo de alcohol durante el embarazo (continua; g/día), ejercicio físico (sí/no), semana de gestación en la que se realizó la primera visita obstétrica (continua), estación del año en que se produjo la concepción (invierno, primavera, verano, otoño), sexo del recién nacido (niño/niña), consumo total de folatos durante el embarazo (calculado como: suplemento de ácido fólico + 0,6 \* ingesta de

folato de los alimentos en  $\mu\text{g}/\text{día}$ ; continua), tipo de parto (cesárea, parto espontáneo, vaginal asistido).

- **Historia reproductiva:** Paridad (0 primípara,  $\geq 1$  multípara), abortos repetidos (sí/no)
- **Exposiciones a plaguicidas:** exposición ocupacional o para-ocupacional a plaguicidas en general (sí/no).

Toda esta información permitió identificar a priori los factores de confusión y covariables mediante un gráfico acíclico dirigido (DAG, por sus siglas en inglés) (software DAGitty v3.0) (Figura 5). A partir de este DAG, se identificó un conjunto mínimo suficiente de confusores y covariables para ajustar los modelos multivariantes.

Las complicaciones durante el embarazo (preclamsia, diabetes gestacional y/o hipertensión) no se tuvieron en cuenta para ajustar los modelos debido a su papel como mediadores, a través de una vía causal, entre la exposición a OPs y la antropometría al nacer. Esto se hizo para evitar posibles sesgos en las asociaciones observadas (Wilcox et al. 2011).



**Figura 5.** Gráfico acíclico dirigido que informa la relación potencial entre las variables y covariables de exposición y efecto. Círculos rojos: variables de confusión. Círculos azules: covariables (causalidad asociada con resultados de salud). Círculo gris claro: variable no disponible en nuestro estudio. Círculo gris oscuro: variable descendiente. Flechas verdes: caminos causales, ya que son las flechas que salen desde la variable de exposición hacia el efecto y las flechas rosas o rojas son caminos de sesgo, ya que afectan tanto a la exposición como al efecto. Las flechas negras son las que ni son camino de sesgo ni de causalidad.

### c) Análisis bivariante y multivariante

Se construyeron modelos lineales generalizados (GLM) bivariados y multivariados para evaluar el efecto de la exposición prenatal a plaguicidas OP y piretroides sobre los parámetros de crecimiento fetal (basados en las mediciones de antropometría al nacer), índice ponderal, edad gestacional y prematuridad.

Las variables dependientes que se utilizaron en este estudio fueron las puntuaciones z específicas de las mediciones de antropometría al nacer (peso, talla y perímetro cefálico), el índice ponderal, la edad gestacional y prematuridad). Por su parte, las variables independientes que se utilizaron para ajustar los modelos de regresión fueron: las

concentraciones urinarias de los metabolitos DAPs individuales (dicotomizados en función del LOD),  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DEs,  $\Sigma$ DMs, así como los niveles de TCPy y 3-PBA (también dicotomizados en función del LOD) correspondientes al primer y tercer trimestre del embarazo. Asimismo, se utilizaron modelos de ecuación de estimación generalizada (GEE) para analizar la asociación entre las medidas repetidas de exposición prenatal (primer y tercer trimestre) a los diferentes metabolitos de plaguicidas y los parámetros antropométricos al nacer, edad gestacional y prematuridad (Sánchez et al., 2011). Por último, se realizó un análisis estratificado por sexo en el caso de que el término de interacción "exposición  $\times$  sexo" en los modelos multivariantes fuera estadísticamente significativo, con objeto de identificar los efectos específicos del sexo.

Por otra parte, para evaluar la asociación de la exposición a los plaguicidas estudiados y las variables de crecimiento fetal basadas en los parámetros biométricos medidos a través de ecografías seriadas, se construyeron modelos lineales bivariantes y multivariantes para cada una de las ventanas temporales estudiadas (12, 20 y 34 semanas de gestación). Se tomaron como variables dependientes las puntuaciones z específicas del DBP, CC, CA, LF y el PFE correspondientes a las semanas de gestación anteriormente mencionadas y, como variables independientes, las concentraciones de los 6 metabolitos DAPs (cada uno de ellos dicotomizado en función del LOD),  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DEs,  $\Sigma$ DMs) y los niveles de TCPy y 3-PBA (dicotomizados en función del LOD). Al no disponer de información de las concentraciones de estos metabolitos en el segundo trimestre de gestación, se hizo una estimación tomando la media de las concentraciones del primer y tercer trimestre. Asimismo, se utilizaron modelos GEE para analizar la asociación entre las medidas repetidas de exposición prenatal (primer, segundo y tercer trimestre de embarazo a los diferentes metabolitos de plaguicidas y las medidas repetidas de los parámetros biométricos fetales a las 12, 20 y 34 semanas de gestación (Sánchez et al., 2011).

Los modelos multivariantes se ajustaron por todas las variables confusoras identificadas en el DAG y dos covariables (ganancia de peso y tabaquismo materno durante el embarazo), ya que modificaron significativamente los coeficientes  $\beta$  en al menos un 10 %.

Para una estimación precisa de la exposición, los niveles de creatinina se manejaron como una variable de ajuste en los modelos multivariados en lugar de corregir las concentraciones de metabolitos en orina por los niveles de creatinina, según recomiendan estudios previos (Mage et al. 2004).

La significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ . Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS statistics v. 21 y R.

## **RESULTADOS**

---



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Características de la población de estudio.

Las características de la población de estudio se presentan en la tabla 1. La gran mayoría de las participantes fueron de raza blanca (94,8%), con una edad media de 31 años y en su mayoría tenían un nivel de educación bajo (48,6%). Los ingresos familiares fueron inferiores a 2000 € mensuales en un elevado porcentaje (62,4%) y el 94,2% de las mujeres estaban casadas o convivían con una pareja estable. El 40,4% manifestaron que tenían exposición ocupacional o para-ocupacional a plaguicidas. El consumo medio del alcohol durante embarazo fue de 1,12 g/día y solo el 13,1% de las madres fumaron durante todo el embarazo y algo menos del 5% lo hicieron en el primer trimestre. El peso y la talla media previos al embarazo fueron de 64,8 kg y 163 cm respectivamente. El IMC promedio fue de 24,18 kg/m<sup>2</sup> y solo un 2,8% de las mujeres no realizó ningún tipo de ejercicio durante el embarazo. La mayoría de las mujeres eran multíparas (62,2%) y solo un 8,4% había sufrido abortos previos al embarazo actual.

De los 537 recién nacidos, el 53,3 % fueron de sexo masculino y el 46,7% del femenino, con un peso promedio de 3302,72 g, una talla de 50.65 cm, circunferencia de la cabeza (perímetro cefálico) de 33.75 cm y un índice ponderal medio de 2.54 g/cm<sup>3</sup>. La edad gestacional media fue cercana a las 40 semanas de gestación, por tanto, dentro se pueden considerar como parto a término. Sólo el 2,8% de los recién nacidos fueron prematuros, es decir, nacieron antes de las 37 semanas de gestación (Tabla 6).

El peso, la talla y la circunferencia de la cabeza fueron transformados a puntuaciones Z, para obtener valores comparables con los estándares internacionales de medidas del recién nacido, tal y como se ha descrito en Material y Métodos.

**Tabla 6.** Principales características de los binomios madre-hijo de la cohorte de nacimientos GENEIDA (n=537).

<b>Características</b>	<b>N (%), media ± SD</b>
<b>Características maternas</b>	
<b>Edad de la madre</b>	31.26 ± 4.76
<25	45 (8.4%)
25-29	138 (27.7%)
30-34	224 (41.6%)
>34	131 (24.3%)
<b>Raza</b>	
Blanca	509 (94.8%)
Otros	28 (5.2%)
<b>Estado civil</b>	
Casada o pareja estable	506 (94.2%)
Soltera	26 (4.8%)
Separada o divorciada	2 (0.4%)
Viuda	1 (0.2%)
Otros	2 (0.4%)
<b>Ingresos familiares mensuales</b>	
<1000€	87 (16.2%)
1000-2000€	248 (46.2%)
2001-3000€	160 (29.8%)
>3000€	42 (7.8%)
<b>Educación de la madre</b>	
Estudios primarios	261 (48.6%)
Estudios secundarios	134 (25.0%)
Estudios universitarios	142 (26.4%)
<b>Exposición ocupacional/para ocupacional a plaguicidas durante el embarazo</b>	
Si	217 (40.4%)
No	320 (59.6%)
<b>Estación de la concepción</b>	
Invierno	133 (24.7%)

---

Primavera	146 (27.0%)
Verano	124 (23.0%)
Otoño	136 (25.3%)
<b>Tabaquismo</b>	
No fumadora	441 (82.1%)
Fumadora (solo en 1º trimestre)	23 (4.3%)
Fumadora durante el embarazo	73 (13.6%)
<b>Alcohol durante el embarazo (g/día)</b>	1,12 ± 1.73
<b>Ejercicio físico</b>	
Ninguno	15 (2.8%)
En algún momento del embarazo	112 (20.9%)
Durante todo el embarazo	410 (76.3%)
<b>Peso previo al embarazo (kg)</b>	64,8 ± 12.94
<b>Ganancia de peso durante el embarazo (Kg)</b>	11.25 ± 5.61
<b>Talla de la madre (cm)</b>	163,6 ± 5.52
<b>IMC previo al embarazo (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,18 ± 4.64
<b>Paridad</b>	
0 (primípara)	204 (37.9%)
≥ 1 (multípara)	334 (62.1%)
<b>Abortos previos</b>	
Si	45 (8.4%)
No	492 (91.6%)
<b>Características del recién nacido</b>	
<b>Sexo del recién nacido</b>	
Masculino	286 (53.3%)
Femenino	251 (46.7%)
<b>Edad gestacional (semanas)</b>	39.82 ± 1.35
<b>Peso al nacer (g)</b>	3302.72 ± 446.07
<b>Talla al nacer (cm)</b>	50.65 ± 2.11
<b>Circunferencia de la cabeza (cm)</b>	33.75 ± 1.54
<b>Índice Ponderal (g/cm<sup>3</sup>)</b>	2.54 ± 0.25
<b>Prematuridad</b>	
Si	15 (2.8%)
No	522 (97.2%)

---

## **5.2 Niveles de exposición prenatal a plaguicidas no persistentes: organofosforados y piretroides**

En la tabla 7 se presentan las medias (aritmética y geométrica), percentiles (50, 75 y 95) y el valor máximo de las concentraciones urinarias de los 6 metabolitos de diaquilfosfatos individuales (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP y DEDTP), sus sumatorias ( $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs y  $\Sigma$ DEs) y los metabolitos TCPy y 3-PBA en el primer y tercer trimestre de embarazo. Las concentraciones de todos los metabolitos se muestran en diferentes unidades ( $\mu$ g/g creatinina, nmol/L y nmol/g de creatinina) para facilitar su comparación con otros estudios. Además, se presenta el porcentaje de muestras que se encontraba por debajo del límite de detección ( $\% < \text{LOD}$ ) y la concentración mínima detectada por encima del límite de detección ( $\text{Min} > \text{LOD}$ ).

Solo se pudo calcular la media geométrica de un metabolito individual de diaquilfosfatos (DMP), así como de la  $\Sigma$ DAPs y la  $\Sigma$ DMs tanto en primer y tercer trimestre de embarazo, ya que estos metabolitos se detectaron en más del 50% de muestras ( $\% < \text{LOD}$ ). Para el resto de metabolitos no se pudo calcular su media geométrica debido al alto número de muestras con concentraciones no detectables ( $< \text{LOD}$ ). El resto de los metabolitos dialquilfosfatos, TCPy y 3-PBA presentaron un porcentaje de muestras por debajo del LOD (concentraciones no detectables) superior al 50%, tanto en el primer como en el tercer trimestre de embarazo. Por ello, el P50 correspondiente a cada uno de ellos aparece como "<" en la tabla.

En el primer trimestre la media geométrica para el metabolito DMP fue de 1.70 nmol/L y 1,87 nmol/g creatinina. Para la  $\Sigma$ DAPs fue de 6.23 nmol/L y 6,82 nmol/g creatinina. Por último, para los niveles urinarios de  $\Sigma$ DMs fue de 10.27 nmol/L y 11.26 nmol/g creatinina.

En tercer trimestre la media geométrica para el metabolito DMP fue de 2.05 nmol/L y 2.71 nmol/g creatinina. Para la  $\Sigma$ DAPs fue de 7.12 nmol/L y 9.41 nmol/g creatinina. Finalmente, para los niveles urinarios de  $\Sigma$ DMs fue de 10.84 nmol/L y 14.33 nmol/g creatinina.

**Tabla 7.** Concentración de metabolitos diaquilfosfatos, 3-PBA and TCPy, en muestras de orina maternal recolectadas en 1º (n=529) y 3º trimestre (n=503) de embarazo en la cohorte GENEIDA.

Metabolitos plaguicidas	Primer trimestre								Tercer trimestre							
	%<LOD	Media	GM	Min>LOD	P50	P75	P95	Max.	%<LOD	Media	GM	Min>LOD	P50	P75	P95	Max.
DMP (µg/L)	48.8	0.49	0.21	0.30	0.32	0.89	1.40	1.54	48.8	0.54	0.26	0.30	0.44	0.96	1.42	1.54
DMTP (µg/L)	63.1	0.50	<	0.16	<	0.58	1.87	11.54	63.1	0.56	<	0.19	<	0.61	2.17	19.46
DMDTP (µg/L)	78.3	0.40	<	0.32	<	<	1.93	11.68	78.3	0.41	<	0.35	<	<	2.27	15.21
DEP (µg/L)	86.2	0.42	<	0.23	<	<	3.02	8.93	86.2	0.46	<	0.39	<	<	2.32	13.23
DETP (µg/L)	78.1	0.52	<	0.18	<	<	2.45	25.32	78.1	0.24	<	0.43	<	<	1.32	8.17
DEDTP (µg/L)	92.6	0.11	<	0.36	<	<	0.67	1.49	92.6	0.11	<	0.32	<	<	0.43	5.92
3-PBA (µg/L)	79.4	0.33	<	0.25	<	<	1.36	33.14	79.4	0.21	<	0.37	<	<	1.28	6.77
TCPy (µg/L)	77.7	0.25	<	0.11	<	<	1.18	11.47	77.7	0.22	<	0.11	<	<	1.13	11.69
DMP (µg/g creatinina)	48.8	0.69	0.24	0.30	0.31	0.89	2.51	8.06	48.8	0.92	0.34	0.53	0.55	1.38	2.90	10.48
DMTP (µg/g creatinina)	63.1	0.56	<	0.27	<	0.56	2.53	18.90	63.1	0.81	<	0.44	<	0.79	3.42	20.14
DMDTP (µg/g creatinina)	78.3	0.51	<	0.40	<	<	2.25	18.31	78.3	0.64	<	0.27	<	<	3.62	29.76
DEP (µg/g creatinina)	86.2	0.60	<	0.38	<	<	3.64	29.94	86.2	0.76	<	1.81	<	<	4.25	18.48
DETP (µg/g creatinina)	78.1	0.82	<	0.42	<	<	3.42	49.89	78.1	0.31	<	0.14	<	<	1.37	11.61
DEDTP (µg/g creatinina)	92.6	0.17	<	0.41	<	<	0.59	15.10	92.6	0.17	<	0.27	<	<	0.54	6.67
3-PBA (µg/g creatinina)	79.4	0.42	<	0.30	<	<	1.55	47.34	79.4	0.29	<	0.17	<	<	1.60	7.67
TCPy (µg/g creatinina)	77.7	0.28	<	0.21	<	<	1.15	12.70	77.7	0.29	<	0.17	<	<	1.36	10.26
DMP (nmol/L)	48.8	3.85	1.70	2.38	2.54	7.06	11.11	12.22	44.3	4.29	2.05	2.38	3.49	7.62	11.25	12.22
DMTP (nmol/L)	63.1	3.52	<	1.13	<	4.08	13.16	81.21	52.9	3.91	<	1.34	<	4.29	15.27	136.95
DMDTP (nmol/L)	78.3	3.17	<	2.54	<	<	15.31	92.67	84.1	3.27	<	2.78	<	<	18.01	120.67
DEP (nmol/L)	86.2	2.73	<	1.49	<	<	19.56	57.92	76.1	2.97	<	2.53	<	<	8.56	85.82

DETP (nmol/L)	78.1	3.05	<	1.06	<	<	14.39	148.7	90.5	1.38	<	2.53	<	<	13.61	47.98
DEDTP (nmol/L)	92.6	0.60	<	1.93	<	<	3.59	7.97	94.4	0.6	<	1.71	<	<	2.29	31.78
ΣDAP (nmol/L)	22.1	10.54	6.23	1.27	6.43	12.10	27.17	129.29	20.9	11.46	7.12	1.34	7.22	12.14	32.83	267.86
ΣDE (nmol/L)	67.3	6.37	<	1.49	<	6.06	27.81	180.91	67.4	4.95	<	2.29	<	4.33	21.73	97.07
ΣDM (nmol/L)	28.9	16.91	10.27	1.27	9.68	18.73	57.40	188.68	14.7	16.42	10.84	1.34	9.44	16.75	45.77	268.83
3-PBA (nmol/L)	79.4	1.54	<	1.17	<	<	6.33	154.70	86.1	0.96	<	1.73	<	<	5.97	31.6
TCPy (nmol/L)	77.7	1.26	<	0.55	<	<	5.95	57.80	82.3	1.10	<	0.55	<	<	5.68	58.91
DMP (nmol/g creatinina)	48.8	5.46	1.87	1.25	2.49	7.10	19.92	63.95	44.3	7.27	2.71	2.00	4.38	10.96	23.08	83.11
DMTP (nmol/g creatinina)	63.1	3.97	<	0.57	<	3.96	17.83	133.00	52.9	5.68	<	1.07	<	5.56	24.09	141.77
DMDTP (nmol/g creatinina)	78.3	4.01	<	1.23	<	<	17.89	145.23	84.1	5.08	<	2.89	<	<	28.73	236.13
DEP (nmol/g creatinina)	86.2	3.90	<	0.60	<	<	23.62	194.22	76.1	4.96	<	1.89	<	<	27.58	119.86
DETP (nmol/g creatinina)	78.1	4.82	<	0.89	<	<	20.07	292.98	90.5	1.85	<	2.06	<	<	8.06	68.16
DEDTP (nmol/g creatinina)	92.6	0.92	<	1.15	<	<	3.16	80.81	94.4	0.90	<	1.06	<	<	2.89	35.67
ΣDAPs (nmol/g creatinina)	28.9	13.45	6.82	0.75	7.95	15.91	43.97	322.27	20.9	18.02	9.41	1.62	10.50	21.60	57.94	392.41
ΣDEs (nmol/g creatinina)	67.3	9.64	<	0.82	<	6.32	53.17	490.27	67.4	7.71	<	2.26	<	7.08	39.81	147.65
ΣDMs (nmol/g creatinina)	22.1	23.09	11.26	1.17	11.59	25.08	85.14	498.96	14.7	25.73	14.33	2.75	15.70	30.84	78.79	397.54
3-PBA (nmol/g creatinina)	79.4	1.95	<	0.54	<	<	7.26	221.00	86.1	1.36	<	1.14	<	<	7.47	35.80
TCPy (nmol/g creatinina)	77.7	1.41	<	0.26	<	<	5.79	64.01	82.3	1.48	<	0.61	<	<	6.85	51.73

LOD: Limite de detección (0.15 µg/L para DMP, DMTP, y DMDTP; 0.10 µg/L para DEP, DETP, DEDTP, TCPy y 3-PBA)

GM: Media geométrica

>LOD: mínimo valor detectado

% < LOD porcentaje de muestras por debajo del LOD

\*ΣDAPs= ΣDEs + ΣDMs; ΣDMs= DMP + DMTP + DMDTP; ΣDEs= DEP + DETP + DEDTP.

### **5.3 Evaluación de la asociación entre la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides y las mediciones de antropometría al nacer, índice ponderal, edad gestacional y prematuridad.**

#### **5.3.1 Análisis bivariante**

Se construyeron modelos lineales generalizados crudos para evaluar las asociaciones entre las puntuaciones Z de las medidas antropométricas al nacer (peso, talla y perímetro cefálico), el índice ponderal, la edad gestacional y la prematuridad con la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides (6 metabolitos diaquilfosfatos,  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs,  $\Sigma$ DEs, TCPy y 3-PBA), correspondientes al primer y tercer trimestre del embarazo. Asimismo, se evaluó el efecto de la exposición a estos plaguicidas durante todo el embarazo sobre las medidas antropométricas estudiadas a través de modelos GEE.

En la tabla 8 se presenta el análisis bivariante de la asociación de los biomarcadores de exposición ( $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs y  $\Sigma$ DEs) en orina del 1<sup>er</sup> y 3<sup>er</sup> trimestre del embarazo con las medidas antropométricas estudiadas. También se muestran los resultados del análisis longitudinal de la exposición durante de todo el embarazo. En el análisis crudo de los datos se observó una asociación positiva significativa de la  $\Sigma$ DAPs y  $\Sigma$ DMs en 3<sup>er</sup> trimestre con el perímetro cefálico [ $\beta$ : 0.30 IC 95% (0.01;0.59)  $p= 0.044$ ] y [ $\beta$  0.31 IC 95% (0.04;0.57)  $p= 0.023$ ], respectivamente. Asimismo, se observó una asociación cercana a la significación estadística entre los niveles de  $\Sigma$ DEs en el 3<sup>er</sup> trimestre y la talla al nacer [ $\beta=0.16$  IC 95% (-0.01;0.33)  $p=0,069$ ].



**Tabla 8.** Asociación entre la concentración prenatal de dialquifosfatos en orina materna (Log<sub>10</sub>) y antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1 <sup>st</sup> trimestre <sup>#</sup>			3 <sup>rd</sup> trimestre <sup>#</sup>			Todo el embarazo <sup>##</sup>		
		$\beta^*$ Crudo	(IC 95%)	p- valor	$\beta^*$ Crudo	(IC 95%)	p- valor	$\beta^*$ Crudo	(IC 95%)	p- valor
<b>Z-Peso</b>	$\Sigma$ DAPs	-0.10	(-0.28; 0.08)	0.266	0.00	(-0.21; 0.22)	0.970	-0.09	(-0.26; 0.08)	0.314
	$\Sigma$ DMs	-0.06	(-0.23; 0.11)	0.463	-0.12	(-0.32; 0.07)	0.205	-0.05	(-0.21; 0.12)	0.561
	$\Sigma$ DEs	-0.05	(-0.18; 0.09)	0.499	0.11	(-0.03; 0.26)	0.120	-0.05	(-0.18; 0.08)	0.478
<b>Z-Talla</b>	$\Sigma$ DAPs	-0.13	(-0.34; 0.08)	0.237	0.10	(-0.15; 0.35)	0.449	-0.12	(-0.33; 0.08)	0.225
	$\Sigma$ DMs	-0.13	(-0.33; 0.07)	0.187	-0.02	(-0.25; 0.21)	0.838	-0.12	(-0.31; 0.07)	0.224
	$\Sigma$ DEs	-0.04	(-0.20; 0.12)	0.625	0.16	(-0.01; 0.33)	<b>0.069</b>	-0.04	(-0.19; 0.11)	0.582
<b>Z-CC</b>	$\Sigma$ DAPs	-0.09	(-0.33; 0.16)	0.485	0.30	(0.01; 0.59)	<b>0.044</b>	-0.09	(-0.33; 0.15)	0.471
	$\Sigma$ DMs	-0.07	(-0.30; 0.16)	0.534	0.31	(0.04; 0.57)	<b>0.023</b>	-0.09	(-0.31; 0.14)	0.462
	$\Sigma$ DEs	-0.04	(-0.22; 0.15)	0.700	0.05	(-0.15; 0.25)	0.642	-0.04	(-0.22; 0.14)	0.698
<b>Indice Ponderal</b>	$\Sigma$ DAPs	0.01	(-0.04; 0.05)	0.807	-0.02	(-0.08; 0.04)	0.496	0.00	(-0.05; 0.05)	0.933
	$\Sigma$ DMs	0.02	(-0.03; 0.06)	0.457	-0.03	(-0.08; 0.02)	0.288	0.01	(-0.03; 0.05)	0.619
	$\Sigma$ DEs	0.00	(-0.04; 0.04)	0.954	-0.01	(-0.05; 0.03)	0.768	0.00	(-0.04; 0.03)	0.906
<b>Edad gestacional</b>	$\Sigma$ DAPs	0.11	(-0.16; 0.37)	0.430	0.10	(-0.19; 0.39)	0.511	0.00	(-0.23; 0.23)	0.981
	$\Sigma$ DMs	0.02	(-0.23; 0.27)	0.889	0.08	(-0.19; 0.34)	0.574	-0.10	(-0.31; 0.11)	0.364
	$\Sigma$ DEs	0.11	(-0.09; 0.31)	0.286	0.01	(-0.20; 0.21)	0.956	0.10	(-0.08; 0.27)	0.282
<b>Prematuridad*</b>	$\Sigma$ DAPs	0.48	(0.14; 1.58)	0.235	0.20	(0.03; 1.39)	0.104	0.88	(0.33; 2.37)	0.808
	$\Sigma$ DMs	0.70	(0.23; 2.13)	0.525	0.40	(0.07; 2.32)	0.302	1.51	(0.54; 4.21)	0.430
	$\Sigma$ DEs	0.80	(0.28; 1.91)	0.639	0.52	(0.09; 1.92)	0.378	0.90	(0.43; 1.91)	0.785

# Modelos lineales generalizados (GLM)

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

\* Coeficiente de regresión

La tabla 9 presenta los resultados del análisis bivalente de la asociación entre las concentraciones urinarias de cada uno de los 6 metabolitos dialquifosfatos en el primer y tercer trimestre del embarazo, así como el análisis longitudinal de la exposición durante de todo el embarazo, y las medidas antropométricas estudiadas. Las mujeres con

concentraciones de DEP >LOD en el tercer trimestre de embarazo tenían un mayor riesgo de tener hijos con mayor peso al nacer [ $\beta=0.24$  IC 95% (0.05;0.43)  $p=0.015$ ]. Asimismo, se observó una asociación positiva al borde de la significación estadística entre concentraciones de DEDTP >LOD en el primer trimestre de embarazo y la edad gestacional [ $\beta=0.44$  IC 95% (-0.01-0.88)  $p=0.054$ ].

Las madres que presentaron concentraciones de DMP >LOD en el tercer trimestre tenían un mayor riesgo de tener hijos con menor peso [ $\beta= -0.25$  IC 95% (-0.42;-0.07)  $p=0.006$ ] y talla al nacer, aunque esta última asociación fue cercana a la significación estadística [ $\beta=-0.19$  IC 95% (-0.40;-0.02)  $p=0.071$ ]. Por último, se observó una asociación positiva significativa entre las concentraciones de DMTP >LOD en tercer trimestre y la circunferencia de la cabeza al nacer [ $\beta=0.28$  IC 95% (0.07;0.50)  $p=0.010$ ].

**Table 9.** Asociaciones entre la concentración prenatal de dialquifosfatos individuales (por encima y por debajo del LOD) en orina materna y las medidas antropométricas al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1 <sup>st</sup> trimestre <sup>#</sup>			3 <sup>rd</sup> trimestre <sup>#</sup>			Todo el embarazo <sup>##</sup>		
		$\beta^*$ Crudo	(IC 95%)	p-valor	$\beta^*$ Crudo	(IC 95%)	p-valor	$\beta^*$ Crudo	(95% CI)	p-valor
<b>Z-Peso</b>	DMP	-0.09	(-0.24; 0.07)	0.291	-0.25	(-0.42; -0.07)	<b>0.006</b>	-0.09	(-0.25; 0.07)	0.291
	DMTP	-0.02	(-0.18; 0.14)	0.820	0.05	(-0.11; 0.21)	0.507	-0.02	(-0.18; 0.14)	0.835
	DMDTP	0.02	(-0.17; 0.21)	0.817	-0.07	(-0.29; 0.14)	0.500	0.01	(-0.18; 0.20)	0.909
	DEP	-0.17	(-0.40; 0.06)	0.139	0.24	(0.05; 0.43)	<b>0.015</b>	-0.19	(-0.41; 0.03)	0.083
	DETP	0.01	(-0.18; 0.20)	0.919	0.13	(-0.14; 0.40)	0.350	0.01	(-0.19; 0.21)	0.917
	DEDTP	0.08	(-0.22; 0.38)	0.594	0.05	(-0.30; 0.39)	0.795	0.10	(-0.18; 0.39)	0.473
<b>Z-Talla</b>	DMP	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.529	-0.19	(-0.40; 0.02)	0.071	-0.06	(-0.26; 0.13)	0.509
	DMTP	0.04	(-0.15; 0.23)	0.699	0.08	(-0.11; 0.27)	0.426	0.02	(-0.17; 0.22)	0.823
	DMDTP	-0.05	(-0.28; 0.17)	0.646	-0.02	(-0.28; 0.24)	0.892	-0.05	(-0.25; 0.15)	0.639
	DEP	-0.09	(-0.36; 0.18)	0.495	0.18	(-0.05; 0.41)	0.118	-0.11	(-0.34; 0.12)	0.347
	DETP	-0.03	(-0.26; 0.20)	0.800	0.25	(-0.08; 0.57)	0.133	-0.06	(-0.27; 0.16)	0.617
	DEDTP	0.01	(-0.34; 0.37)	0.949	0.11	(-0.31; 0.52)	0.610	0.09	(-0.25; 0.42)	0.613

<b>Z-CC</b>	DMP	-0.10	(-0.31; 0.11)	0.363	0.03	(-0.21; 0.27)	0.812	-0.11	(-0.33; 0.11)	0.328
	DMTP	-0.05	(-0.27; 0.17)	0.625	0.28	(0.07; 0.50)	<b>0.010</b>	-0.08	(-0.30; 0.14)	0.469
	DMDTP	0.01	(-0.24; 0.27)	0.912	0.03	(-0.27; 0.33)	0.846	-0.02	(-0.28; 0.25)	0.910
	DEP	-0.11	(-0.41; 0.20)	0.492	0.17	(-0.09; 0.44)	0.195	-0.08	(-0.38; 0.22)	0.602
	DETP	-0.01	(-0.27; 0.25)	0.964	0.05	(-0.32; 0.42)	0.786	0.00	(-0.27; 0.27)	0.987
	DEDTP	-0.14	(-0.54; 0.27)	0.502	0.18	(-0.29; 0.66)	0.449	-0.12	(-0.56; 0.33)	0.608
<b>Índice Ponderal</b>	DMP	-0.01	(-0.05; 0.03)	0.567	-0.02	(-0.07; 0.02)	0.341	-0.01	(-0.06; 0.03)	0.520
	DMTP	-0.01	(-0.06; 0.03)	0.576	0.00	(-0.04; 0.04)	0.953	-0.01	(-0.06; 0.03)	0.615
	DMDTP	0.02	(-0.03; 0.07)	0.367	-0.02	(-0.08; 0.04)	0.534	0.01	(-0.04; 0.06)	0.599
	DEP	-0.03	(-0.09; 0.03)	0.357	0.02	(-0.03; 0.08)	0.343	-0.04	(-0.09; 0.02)	0.188
	DETP	0.01	(-0.04; 0.06)	0.615	-0.02	(-0.09; 0.06)	0.657	0.02	(-0.03; 0.07)	0.426
	DEDTP	0.04	(-0.04; 0.12)	0.387	-0.01	(-0.11; 0.08)	0.755	0.02	(-0.05; 0.08)	0.588
<b>Edad gestacional</b>	DMP	-0.06	(-0.30; 0.17)	0.590	0.18	(-0.06; 0.42)	0.137	-0.09	(-0.31; 0.13)	0.405
	DMTP	-0.03	(-0.27; 0.21)	0.796	0.00	(-0.22; 0.22)	0.986	-0.09	(-0.32; 0.14)	0.448
	DMDTP	0.09	(-0.19; 0.37)	0.543	-0.13	(-0.43; 0.17)	0.399	-0.01	(-0.29; 0.27)	0.931
	DEP	0.08	(-0.25; 0.42)	0.620	-0.03	(-0.30; 0.23)	0.801	-0.01	(-0.32; 0.30)	0.948
	DETP	0.05	(-0.23; 0.34)	0.717	0.25	(-0.13; 0.62)	0.194	0.10	(-0.18; 0.38)	0.490
	DEDTP	0.44	(-0.01; 0.88)	<b>0.054</b>	0.01	(-0.47; 0.49)	0.976	0.33	(-0.06; 0.73)	0.097
	DMP	1.09	(0.38; 3.18)	0.870	0.91	(0.21; 4.80)	0.908	1.42	(0.33; 6.02)	0.637

	DMTP	0.85	(0.26; 2.44)	0.775	0.68	(0.14; 2.81)	0.600	1.99	(0.48; 8.31)	0.345
	DMDTP	0.90	(0.20; 2.89)	0.869	0.71	(0.04; 4.08)	0.748	1.26	(0.25; 6.42)	0.780
<b>Prematuridad</b>	DEP	0.44	(0.02; 2.23)	0.429	0.35	(0.02; 2.06)	0.337	0.89	(0.11; 7.57)	0.917
*	DETP	1.31	(0.35; 4.02)	0.652	-	-	-	1.04	(0.21; 5.18)	0.966
	DEDTP	-	-	-	-	-	-	-	-	-

# Modelos lineales generalizados (GLM)

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

\* Coeficiente de regresión

La tabla 10 presenta el análisis crudo de la asociación entre las concentraciones urinarias de TCPy y 3-PBA, en el primer y tercer trimestre de embarazo y el análisis longitudinal de la exposición durante de todo el embarazo, y las medidas antropométricas estudiadas en recién nacidos. Los niveles de TCPy >LOD en orina del primer trimestre y a lo largo del embarazo (modelos GEE) mostraron una asociación estadísticamente significativa con un menor perímetro cefálico al nacer [ $\beta=-0.31$  IC 95% (-0.57;-0.06)  $p=0.017$ ] y [ $\beta=-0.34$  IC 95% (-0.60;-0.08)  $p=0.011$ ], respectivamente. Asimismo, las concentraciones de TCPy >LOD en orina de tercer trimestre probabilidades asoció con una talla más grande al nacer [ $\beta=0.27$  IC 95% (0.03;0.52)  $p=0.030$ ].

**Tabla 10.** Asociaciones entre las concentraciones prenatales de 3-PBA y TCPy en orina materna (por encima vs. por debajo del LOD) y antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1 <sup>st</sup> trimestre <sup>#</sup>			3 <sup>rd</sup> trimestre <sup>#</sup>			Durante el embarazo <sup>##</sup>		
		$\beta^*$ Cruda	(IC 95%)	P-valor	$\beta^*$ Cruda	(IC 95%)	P-valor	$\beta^*$ Cruda	(IC 95%)	P-valor
<b>Z-Peso</b>	3-PBA	-0.04	(-0.23; 0.15)	0.689	0.02	(-0.21; 0.25)	0.876	0,02	(-0.18; 0.22)	0.858
	TCPy	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.540	0.12	(-0.09; 0.33)	0.267	-0,08	(-0.27; 0.11)	0.409
<b>Z-Talla</b>	3-PBA	-0.09	(-0.32; 0.14)	0.425	-0.02	(-0.29; 0.26)	0.897	-0,05	(-0.29; 0.19)	0.702
	TCPy	0.02	(-0.21; 0.24)	0.866	0.27	(0.03; 0.52)	<b>0.030</b>	-0,03	(-0.27; 0.22)	0.828
<b>Z-CC</b>	3-PBA	-0.03	(-0.29; 0.23)	0.834	0.23	(-0.09; 0.54)	0.159	-0,01	(-0.29; 0.28)	0.961
	TCPy	-0.31	(-0.57; -0.06)	<b>0.017</b>	0.15	(-0.14; 0.43)	0.316	-0,34	(-0.60; -0.08)	<b>0.011</b>
<b>Índice ponderal</b>	3-PBA	-0.01	(-0.06; 0.04)	0.673	0.00	(-0.06; 0.06)	0.978	0,00	(-0.05; 0.05)	0.888
	TCPy	-0.02	(-0.07; 0.03)	0.542	-0.03	(-0.09; 0.02)	0.266	-0,01	(-0.07; 0.04)	0.603
<b>Edad gestacional</b>	3-PBA	-0.39	(-0.68; -0.11)	<b>0.007</b>	-0.19	(-0.51; 0.12)	0.233	-0,27	(-0.60; 0.05)	0.101
	TCPy	0.12	(-0.16; 0.41)	0.383	0.04	(-0.25; 0.32)	0.808	0,12	(-0.13; 0.37)	0.355
<b>Prematuridad<sup>a</sup></b>	3-PBA	6.25	(2.20; 19.05)	<b>0.001</b>	4.14	(0.83; 17.52)	<b>0.057</b>	7,87	(1.71; 36.18)	<b>0.008</b>
	TCPy	0.24	(0.01; 1.22)	0.170	0.73	(0.04; 4.21)	0.768	-	-	-

# Modelos lineales generalizados

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

\*Coeficiente de regresión (excepto para prematuridad que es odds ratio)

Por su parte, las concentraciones de metabolito 3-PBA >LOD en orina de primer trimestre, tercer trimestre y a lo largo del embarazo (modelos GEE) se asociaron con un mayor riesgo prematuridad [OR=6.25 IC 95% (2.20:19.05) p=0.001], [OR=4.14 IC 95% (0.83;17.52) p=0.057], [OR=7.87 IC 95% (1.71:36.18) p=0.008], respectivamente. Por último los niveles de 3-PBA >LOD en orina de primer trimestre de embarazo se asociaron con una menor edad gestacional [ $\beta$ =-0.39 IC 95% (-0.68;-0.11) p= 0.007] (Tabla 5).

### 5.3.2 Análisis multivariante

La tabla 11 muestra los resultados del análisis multivariante de la asociación entre los sumatorios de las concentraciones urinarias de los 6 metabolitos dialquilfosfatos ( $\Sigma$ DAPs), de los 3 metabolitos con radicales metilo ( $\Sigma$ DMs) y de los 3 metabolitos con radicales etilo ( $\Sigma$ DEs) en el primer y tercer trimestre del embarazo y durante todo el embarazo (modelos GEE), y las mediciones antropométricas al nacer. En los modelos ajustados se observó una asociación inversa cercana a la significación estadística entre  $\Sigma$ DMs en el tercer trimestre y el peso al nacer [ $\beta$ =-0.18 IC 95% (-0.37;0.01) p=0,067]. Asimismo, se observó una asociación positiva cerca de la significación estadística entre  $\Sigma$ DEs en el tercer trimestre y la talla del recién nacido [ $\beta$ = 0.15 IC 95% (-0.02;0.32) p= 0.089]. Por último, se observó una asociación inversa significativa entre  $\Sigma$ DAPs durante el embarazo (modelos GEE) y el perímetro cefálico en niños [ $\beta$ = -0.32 IC 95% (-0,62;-0.01) p=0,046]; sin embargo, esta asociación no se observó en la niñas.

**Tabla 11.** Asociación entre la concentración prenatal de diaquilfosfatos en orina materna (Log<sub>10</sub>) y la antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1° trimestre <sup>#</sup> (n=529)			3° trimestre <sup>#</sup> (n= 503)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (n= 494)			Interacción por sexo <sup>##</sup> p-valor	Todo el embarazo <sup>##</sup> (niños)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (niñas)		
		$\beta_{aj}^*$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{aj}^*$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{aj}^*$	(IC 95%)	p-valor		$\beta_{aj}^*$	(IC 95%)	P-valor	$\beta_{aj}^*$	(IC 95%)	P-valor
Z-Peso <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.11	(-0.29; 0.06)	0.209	-0.07	(-0.28; 0.14)	0.523	-0.12	(-0.29; 0.06)	0.189	0.460						
	$\Sigma$ DMs	-0.08	(-0.24; 0.09)	0.369	-0.18	(-0.37; 0.01)	<b>0.067</b>	-0.07	(-0.23; 0.10)	0.428	0.520						
	$\Sigma$ DEs	-0.05	(-0.18; 0.08)	0.469	0.09	(-0.06; 0.23)	0.225	-0.06	(-0.19; 0.07)	0.337	0.802						
Z-Talla <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.14	(-0.36; 0.07)	0.190	0.05	(-0.20; 0.31)	0.689	-0.15	(-0.35; 0.05)	0.150	<b>0.035</b>	-0.12	(-0.38; 0.15)	0.388	-0.19	(-0.49; 0.11)	0.215
	$\Sigma$ DMs	-0.15	(-0.35; 0.05)	0.146	-0.06	(-0.29; 0.17)	0.612	-0.13	(-0.32; 0.06)	0.177	<b>0.062</b>	-0.04	(-0.30; 0.21)	0.740	-0.22	(-0.49; 0.05)	0.115
	$\Sigma$ DEs	-0.04	(-0.20; 0.12)	0.588	0.15	(-0.02; 0.32)	0.089	-0.06	(-0.21; 0.09)	0.454	<b>0.086</b>	-0.12	(-0.31; 0.07)	0.216	-0.01	(-0.25; 0.22)	0.901
Z-CC <sup>a</sup>	$\Sigma$ DAPs	-0.08	(-0.32; 0.16)	0.498	0.20	(-0.10; 0.49)	0.188	-0.10	(-0.34; 0.14)	0.417	<b>0.071</b>	-0.32	(-0.62; -0.01)	<b>0.046</b>	0.14	(-0.20; 0.49)	0.411
	$\Sigma$ DMs	-0.07	(-0.30; 0.16)	0.546	0.21	(-0.06; 0.48)	0.123	-0.09	(-0.31; 0.13)	0.437	0.105						
	$\Sigma$ DEs	-0.03	(-0.21; 0.15)	0.738	0.04	(-0.16; 0.23)	0.725	-0.04	(-0.22; 0.13)	0.621	<b>0.017</b>	-0.15	(-0.37; 0.08)	0.203	0.11	(-0.15; 0.37)	0.394
Índice Ponderal <sup>b</sup>	$\Sigma$ DAPs	0.01	(-0.04; 0.05)	0.831	-0.03	(-0.09; 0.02)	0.265	0.00	(-0.05; 0.05)	0.975	0.282						
	$\Sigma$ DMs	0.02	(-0.03; 0.06)	0.486	-0.04	(-0.09; 0.02)	0.190	0.01	(-0.03; 0.05)	0.690	0.210						
	$\Sigma$ DEs	0.00	(-0.04; 0.04)	0.965	-0.01	(-0.05; 0.02)	0.471	0.00	(-0.04; 0.03)	0.844	0.826						
Edad gestacional <sup>b</sup>	$\Sigma$ DAPs	0.10	(-0.16; 0.37)	0.451	0.03	(-0.26; 0.33)	0.818	-0.01	(-0.24; 0.22)	0.925	0.602						
	$\Sigma$ DMs	0.00	(-0.25; 0.25)	0.978	0.02	(-0.25; 0.29)	0.876	-0.11	(-0.32; 0.11)	0.326	0.436						
	$\Sigma$ DEs	0.11	(-0.09; 0.31)	0.267	-0.02	(-0.22; 0.18)	0.861	0.09	(-0.08; 0.26)	0.308	0.584						



<b>Prematuridad</b> b*	<b>ΣDAPs</b>	0.45	(0.12; 1.56)	0.208	0.20	(0.02; 1.78)	0.154	0.96	(0.27; 3.39)	0.955	0.477
	<b>ΣDMs</b>	0.68	(0.22; 2.19)	0.515	0.42	(0.06; 3.02)	0.378	1.70	(0.48; 5.95)	0.408	0.275
	<b>ΣDEs</b>	0.76	(0.25; 1.90)	0.587	0.54	(0.08; 2.27)	0.448	0.98	(0.40; 2.39)	0.964	0.880

# Modelos lineales generalizados (GLM)

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

- a) Modelos ajustados para niveles de creatinina (mg/dl), edad materna, etnia, estado civil, ingresos mensuales familiares, educación materna, exposición a plaguicidas por actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.
- b) Modelos ajustados por niveles de creatinina (mg/dl), sexo del recién nacido, edad materna, etnia, estado civil, ingresos familiares mensuales, educación materna, exposición a plaguicidas como actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.

\* Coeficiente de regresión (excepto para prematuridad, que se expresa como odds ratio)

La Tabla 12 muestra los resultados de los análisis multivariantes de las medidas antropométricas al nacer ajustados por confusores, covariables y por los metabolitos dialquifosfato individuales. Se observa que los niveles urinarios de DEP >LOD en tercer trimestre se asociaban con un mayor peso al nacer [ $\beta=0.19$  IC 95% (0.00;0.38)  $p=0.046$ ]. Asimismo, el análisis longitudinal de todo el embarazo (modelos GEE) mostró que las concentraciones de DETP >LOD se asociaban a una menor talla al nacer, pero sólo en niños varones [ $\beta=-0.27$  IC 95% (-0.54;0.01)  $p=0.057$ ].

En el caso de los metabolitos con radicales dimetilo (DMP, DMTP, DMDTP) se observó que las concentraciones de DMP >LOD en tercer trimestre se asociaban con un menor peso [ $\beta= -0.24$  IC 95% (-0.41;-0.06)  $p=0.007$ ] y menor talla al nacer [ $\beta= -0.20$  IC 95% (-0.41;0.02)  $p=0.069$ ]. Asimismo, las concentraciones de DMTP >LOD en tercer trimestre se asociaban con un mayor perímetro cefálico del recién nacido [ $\beta=0.22$  IC 95% (0.00;0.44)  $p=0.048$ ] (Tabla 7).

El análisis longitudinal durante el embarazo (modelos GEE) mostró que las concentraciones de DMP >LOD y de DMTP >LOD se asociaron con un mayor riesgo de parto prematuro, pero solo en niñas [ $\beta= 0.14$  IC 95% (0.02;1.05)  $p= 0.055$  y [ $\beta= 17.08$  IC 95% (1.51;193.41)  $p= 0.022$ ], respectivamente (Tabla 7).

**Tabla 12.** Asociación entre la concentración prenatal de los metabolitos individuales de dialquilfosfatos (por encima vs. Por debajo del LOD) en orina de la madre y antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1° trimestre <sup>#</sup> (n=529)			3° trimestre <sup>#</sup> (n= 503)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (n= 494)			Interacción por Sexo <sup>##</sup> p-valor	Todo el embarazo <sup>##</sup> (niños)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (niñas)		
		$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor		$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor
Z-Peso <sup>a</sup>	DMP	-0.07	(-0.23; 0.09)	0.371	-0.24	(-0.41; -0.06)	0.007	-0.07	(-0.23; 0.09)	0.373	0.990						
	DMTP	-0.06	(-0.22; 0.10)	0.482	-0.01	(-0.17; 0.15)	0.928	-0.08	(-0.24; 0.08)	0.358	0.191						
	DMDTP	0.02	(-0.17; 0.21)	0.816	-0.12	(-0.33; 0.10)	0.290	0.00	(-0.18; 0.18)	0.982	0.947						
	DEP	-0.16	(-0.38; 0.07)	0.176	0.19	(0.00; 0.38)	0.046	-0.20	(-0.42; 0.02)	0.068	0.675						
	DETP	-0.02	(-0.21; 0.18)	0.876	0.08	(-0.19; 0.35)	0.549	-0.04	(-0.23; 0.15)	0.706	0.305						
	DEDTP	0.09	(-0.21; 0.39)	0.561	0.08	(-0.26; 0.43)	0.645	0.13	(-0.13; 0.40)	0.320	0.906						
Z-Talla <sup>a</sup>	DMP	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.524	-0.20	(-0.41; 0.02)	0.069	-0.06	(-0.25; 0.13)	0.512	0.031	-0.06	(-0.31; 0.20)	0.653	-0.10	(-0.39; 0.18)	0.479
	DMTP	0.01	(-0.19; 0.21)	0.922	0.05	(-0.14; 0.25)	0.599	-0.02	(-0.21; 0.18)	0.854	0.078	-0.09	(-0.34; 0.16)	0.480	0.10	(-0.20; 0.39)	0.530
	DMDTP	-0.06	(-0.29; 0.17)	0.610	-0.04	(-0.31; 0.22)	0.746	-0.06	(-0.26; 0.14)	0.544	0.987						
	DEP	-0.08	(-0.35; 0.19)	0.557	0.15	(-0.08; 0.38)	0.202	-0.11	(-0.35; 0.12)	0.341	0.079	-0.18	(-0.47; 0.11)	0.226	-0.07	(-0.44; 0.31)	0.725
	DETP	-0.04	(-0.27; 0.19)	0.713	0.25	(-0.08; 0.58)	0.136	-0.09	(-0.30; 0.13)	0.430	0.033	-0.27	(-0.54; 0.01)	0.057	0.05	(-0.27; 0.38)	0.749
	DEDTP	0.02	(-0.34; 0.37)	0.930	0.12	(-0.29; 0.54)	0.563	0.12	(-0.21; 0.44)	0.485	0.841						
Z-CC <sup>a</sup>	DMP	-0.08	(-0.29; 0.13)	0.465	-0.01	(-0.25; 0.23)	0.924	-0.09	(-0.31; 0.12)	0.399	0.416						

	DMTP	-0.07 (-0.29; 0.15)	0.511	0.22 (0.00; 0.44)	0.048	-0.11 (-0.33; 0.11)	0.314	0.575							
	DMDTP	0.02 (-0.23; 0.28)	0.861	-0.06 (-0.36; 0.24)	0.701	-0.02 (-0.28; 0.23)	0.869	0.098	-0.10 (-0.43; 0.23)	0.544	0.08 (-0.30; 0.46)	0.687			
	DEP	-0.06 (-0.37; 0.25)	0.707	0.15 (-0.11; 0.41)	0.257	-0.04 (-0.34; 0.25)	0.774	0.022	-0.12 (-0.49; 0.25)	0.509	0.11 (-0.33; 0.55)	0.633			
	DETP	-0.03 (-0.29; 0.22)	0.792	0.07 (-0.30; 0.44)	0.715	-0.06 (-0.32; 0.20)	0.641	0.012	-0.24 (-0.58; 0.09)	0.155	0.14 (-0.25; 0.53)	0.483			
	DEDTP	-0.14 (-0.54; 0.27)	0.501	0.20 (-0.28; 0.67)	0.413	-0.09 (-0.51; 0.33)	0.670	0.307							
	DMP	-0.01 (-0.05; 0.03)	0.725	-0.02 (-0.07; 0.03)	0.467	-0.01 (-0.05; 0.03)	0.677	0.384							
	DMTP	-0.02 (-0.06; 0.03)	0.420	-0.01 (-0.06; 0.03)	0.567	-0.02 (-0.06; 0.02)	0.359	0.143							
<b>Índice Ponderal<sup>b</sup></b>	DMDTP	0.03 (-0.03; 0.08)	0.323	-0.02 (-0.08; 0.04)	0.424	0.01 (-0.04; 0.06)	0.606	0.072	-0.01 (-0.08; 0.06)	0.779	0.04 (-0.03; 0.10)	0.255			
	DEP	-0.03 (-0.09; 0.03)	0.353	0.02 (-0.03; 0.07)	0.513	-0.04 (-0.09; 0.01)	0.153	0.812							
	DETP	0.01 (-0.04; 0.06)	0.711	-0.04 (-0.11; 0.04)	0.330	0.01 (-0.04; 0.07)	0.617	0.459							
	DEDTP	0.04 (-0.04; 0.12)	0.376	-0.01 (-0.10; 0.09)	0.897	0.02 (-0.04; 0.08)	0.536	0.211							
	DMP	-0.03 (-0.27; 0.20)	0.770	0.19 (-0.06; 0.43)	0.133	-0.07 (-0.28; 0.15)	0.540	0.160							
	DMTP	-0.08 (-0.32; 0.17)	0.536	-0.08 (-0.31; 0.14)	0.472	-0.13 (-0.36; 0.11)	0.296	0.186							
<b>Edad gestacional<sup>b</sup></b>	DMDTP	0.10 (-0.18; 0.38)	0.497	-0.19 (-0.49; 0.11)	0.211	0.00 (-0.27; 0.27)	0.996	0.896							
	DEP	0.10 (-0.24; 0.44)	0.562	-0.06 (-0.33; 0.20)	0.639	0.00 (-0.31; 0.32)	0.989	0.926							
	DETP	0.01 (-0.27; 0.30)	0.932	0.19 (-0.19; 0.57)	0.321	0.04 (-0.24; 0.32)	0.763	0.542							
	DEDTP	0.38 (-0.06; 0.82)	0.090	0.09 (-0.39; 0.57)	0.719	0.31 (-0.07; 0.69)	0.114	0.226							
<b>Prematuridad<sup>b</sup>*</b>	DMP	0.99 (0.33; 2.99)	0.978	1.02 (0.20; 6.22)	0.982	1.32 (0.30; 5.68)	0.713	0.037	2.83 (0.27; 29.10)	0.382	0.14 (0.02; 1.05)	0.055			

DMTP	0.95	(0.28; 2.80)	0.924	0.94	(0.18; 4.30)	0.939	3.11	(0.61; 15.78)	0.171	0.054	1.45	(0.22; 9.68)	0.703	17.08	(1.51; 193.41)	0.022
DMDTP	0.84	(0.18; 2.83)	0.799	0.76	(0.04; 5.22)	0.813	1.25	(0.25; 6.22)	0.787	0.672						
DEP	0.41	(0.02; 2.21)	0.400	0.41	(0.02; 2.67)	0.423	1.00	(0.11; 9.43)	1.000	0.661						
DETP	1.36	(0.36; 4.24)	0.614	-	-	-	1.41	(0.26; 7.62)	0.688	0.742						
DEDTP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.985						

# Modelos lineales generalizados (GLM)

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

- a) Modelos ajustados por niveles de creatinina (mg/dl), edad materna, etnia, estado civil, ingresos mensuales familiares, educación materna, exposición a plaguicidas por actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.
- b) Modelos ajustados por niveles de creatinina (mg/dl), sexo recién nacido, edad materna, etnia, estado civil, ingresos mensuales familiares, educación materna, exposición a plaguicidas por actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.

\* Coeficiente de regresión (excepto para prematuridad, que se expresa como odds ratio)

Finalmente, la Tabla 13 muestra los resultados de los análisis multivariantes para los metabolitos TCPy y 3-PBA. Las concentraciones de TCPy >LOD en primer trimestre y a lo largo de todo el embarazo (análisis longitudinal) se asociaron significativamente con un menor perímetro cefálico al nacer [ $\beta=-0.31$  IC 95% (-0.57;-0.06)  $p=0.016$ ] y [ $\beta=-0.34$  IC 95% (-0.59;-0.08)  $p=0.010$ ], respectivamente. Al estratificar por sexo, se observó una asociación inversa significativa entre TCPy >LOD durante todo el embarazo y el perímetro cefálico solo en niños [ $\beta= - 0.55$  IC 95% (-0.85;-0.25)  $p< 0.001$ ].

Asimismo, las concentraciones de 3-PBA >LOD en el primer trimestre se asociaron significativamente con una menor edad gestacional [ $\beta=-0.36$  IC 95% (-0.65;-0.08)  $p=0.013$ ]. Además, los niveles de 3-PBA >LOD en el primer trimestre y en el análisis longitudinal durante todo el embarazo (modelos GEE) aumentaron el riesgo de parto prematuro [OR=6.98 IC 95% (2.32;22.82)  $p=0.001$ ] y [OR=8.93 IC 95% (1.62;49.25)  $p=0.012$ ], respectivamente (Tabla 8).

**Table 13.** Asociación entre la concentración prenatal de 3-PBA y TCPy en orina materna (encima vs. debajo LOD) y antropometría al nacer, edad gestacional y prematuridad.

Variables	Metabolitos	1° trimestre <sup>#</sup> (n=529)			3° trimestre <sup>#</sup> (n= 503)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (n= 494)			Interacción por Sexo <sup>##</sup>  p-valor	Todo el embarazo <sup>##</sup> (niños)			Todo el embarazo <sup>##</sup> (niñas)		
		$\beta_{ajust}$	(IC 95%)	p-valor	$\beta_{ajust}$	(IC 95%)	P-valor	$\beta_{ajust}$	(IC 95%)	P-valor		$\beta_{ajust}$	(IC 95%)	P-valor	$\beta_{aj}$	(IC 95%)	p-valor
<b>Z-Peso<sup>a</sup></b>	3-PBA	0.00	(-0.20; 0.19)	0.963	0.04	(-0.19; 0.27)	0.753	0.06	(-0.13; 0.25)	0.527	0.183						
	TCPy	-0.06	(-0.25; 0.12)	0.501	0.08	(-0.13; 0.29)	0.469	-0.08	(-0.27; 0.10)	0.382							0.753
<b>Z-Talla<sup>a</sup></b>	3-PBA	-0.06	(-0.30; 0.17)	0.588	-0.03	(-0.30; 0.25)	0.840	-0.01	(-0.25; 0.23)	0.947	0.491						
	TCPy	0.01	(-0.22; 0.24)	0.924	0.23	(-0.02; 0.49)	0.068	-0.03	(-0.27; 0.21)	0.799							0.194
<b>Z-CC<sup>a</sup></b>	3-PBA	0.02	(-0.24; 0.29)	0.864	0.19	(-0.12; 0.51)	0.228	0.07	(-0.21; 0.35)	0.616	0.238						
	TCPy	-0.31	(-0.57; -0.06)	0.016	0.08	(-0.20; 0.37)	0.565	-0.34	(-0.59; -0.08)	0.010							0.044
<b>Índice Ponderal<sup>b</sup></b>	3-PBA	-0.01	(-0.06; 0.04)	0.688	0.01	(-0.06; 0.07)	0.825	0.01	(-0.04; 0.06)	0.778	0.204						
	TCPy	-0.02	(-0.07; 0.04)	0.543	-0.04	(-0.09; 0.02)	0.217	-0.01	(-0.07; 0.04)	0.609							0.508
<b>Edad gestacional<sup>b</sup></b>	3-PBA	-0.36	(-0.65; -0.08)	0.013	-0.18	(-0.49; 0.14)	0.280	-0.26	(-0.58; 0.06)	0.117	0.595						
	TCPy	0.11	(-0.17; 0.39)	0.428	-0.01	(-0.31; 0.28)	0.920	0.11	(-0.13; 0.36)	0.367							0.621
<b>Prematuridad<sup>b*</sup></b>	3-PBA	6.98	(2.3222.82)	0.001	4.30	(0.7421.58)	0.080	8.93	(1.62; 49.23)	0.012	0.998						
	TCPy	0.26	(0.01; 1.35)	0.201	0.88	(0.04; 6.42)	0.914	-	--	-							-

# Modelos lineales generalizados (GLM)

## Ecuación estimada generalizada (modelos GEE)

a) Modelos ajustados por niveles de creatinina (mg/dl), edad materna, etnia, estado civil, ingresos mensuales familiares, educación materna, exposición a plaguicidas por actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.

b) Modelos ajustados por niveles de creatinina (mg/dl), sexo recién nacido, edad de la madre, etnia, estado civil, ingresos mensuales familiares, educación materna, exposición a plaguicidas por actividad secundaria, estación de la concepción, ganancia de peso durante el embarazo y tabaquismo.

\* Coeficiente de regresión (excepto para prematuridad, que se expresa como odds ratio)

## **5.4 Evaluación de los efectos de la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides sobre los parámetros biométricos fetales.**

### **5.4.1 Resultados de la evaluación ecográfica de la biometría y el crecimiento fetal**

En la tabla 14 se presenta la distribución de los parámetros biométricos de crecimiento fetal obtenidos en las ecografías seriadas realizadas en las semanas 12, 20 y 34 de gestación. Las unidades de medición de los parámetros biométricos más comúnmente medidos (DBP, CA, CC y LF) se expresan en mm y el peso fetal estimado (FPE) en g.

Para la predicción del DBP, la media aritmética ( $\pm$  desviación estándar) a las 12, 20 y 34 semanas de gestación fue  $17.9 \pm 2.04$  mm,  $46.7 \pm 1.95$  mm y  $85.6 \pm 2.37$  mm respectivamente. En el caso CC fueron:  $64.7 \pm 9.18$  mm,  $172.7 \pm 6.78$  mm y  $308.4 \pm 9.69$  mm. Para el CA fueron:  $55.7 \pm 5.37$  mm,  $150.8 \pm 6.85$  mm y  $300.9 \pm 9.44$  mm y finalmente para el PFE las medias para las predicciones de las 12, 20 y 24 semanas fueron:  $53.6 \pm 6.0$  g,  $343.3 \pm 29.28$  g y  $2349.9 \pm 170.86$  g.

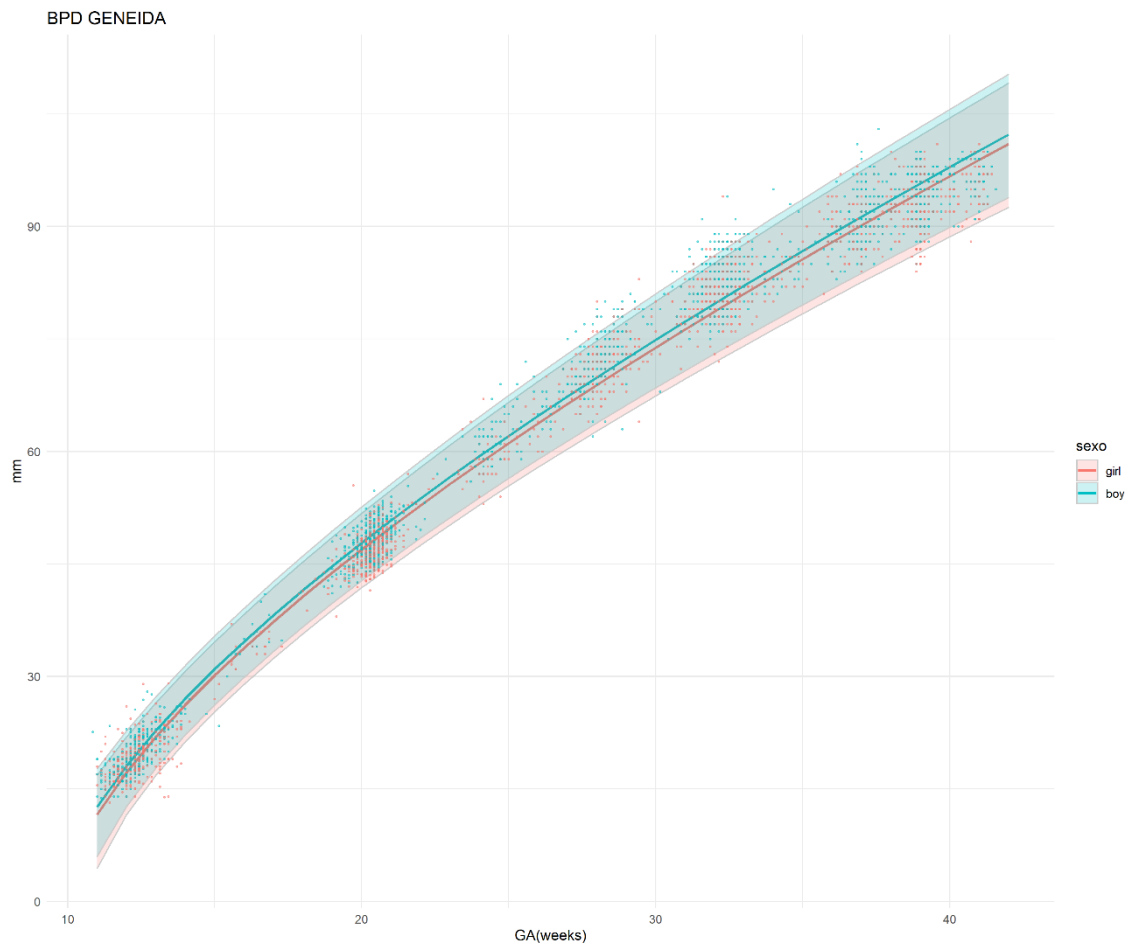


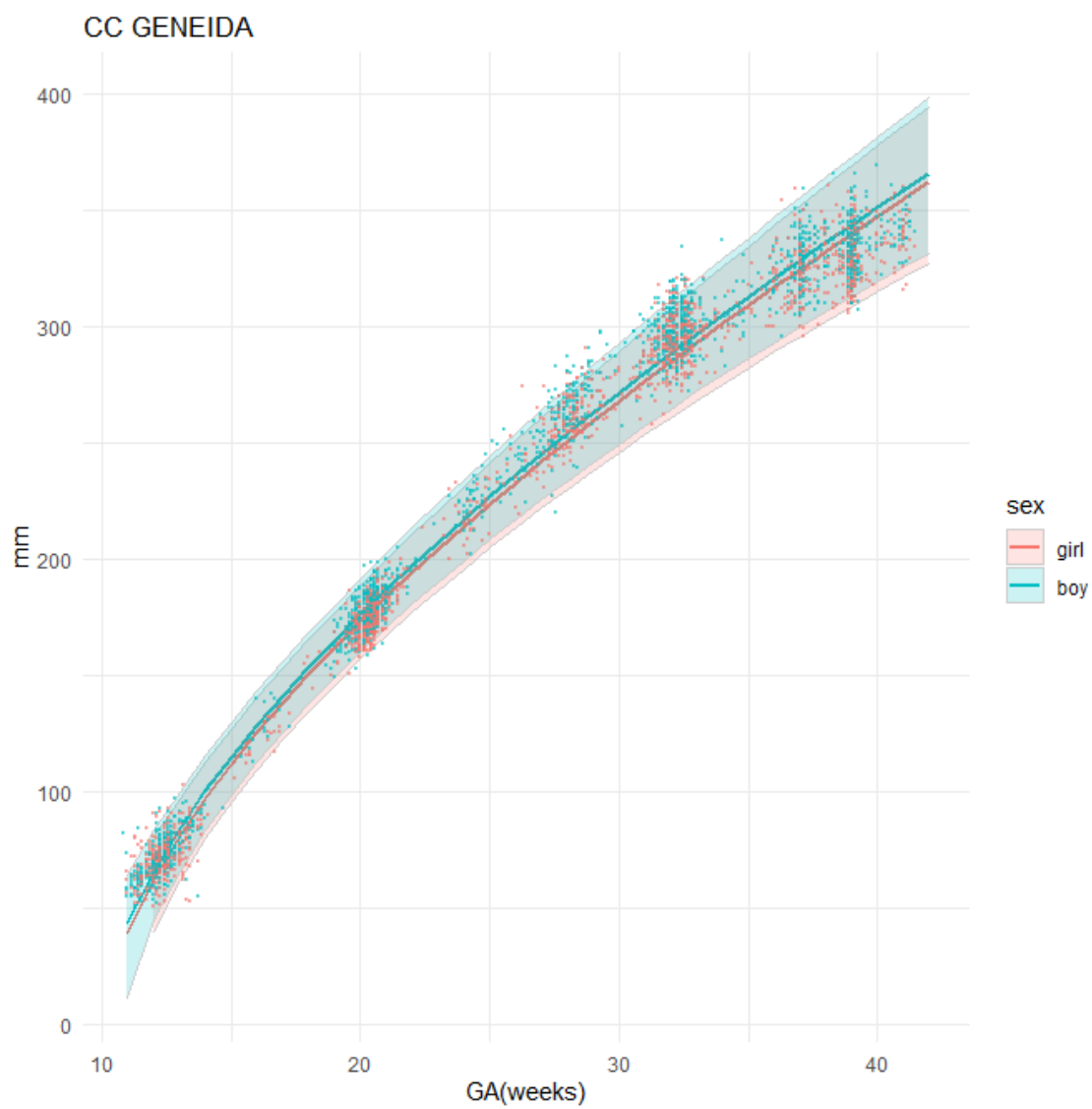
**Tabla 14.** Análisis descriptivo de los parámetros biométricos fetales estimados a partir de modelos mixtos para las ecografías obstétricas realizadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

<b>Parámetros biométricos fetales*</b>	<b>n</b>	<b>Media ± SD</b>
<b>Semana 12</b>		
Diámetro biparietal DBP (mm)	534	17.9 ± 2.04
Circunferencia de la cabeza CC (mm)	533	64.7 ± 9.18
Circunferencia abdominal CA (mm)	534	55.7 ± 5.37
Longitud del Fémur LF (mm)	532	5.4 ± 1.62
Peso fetal estimado PFE (gr)	532	53.6 ± 6.00
<b>Semana 20</b>		
Diámetro biparietal DBP (mm)	534	46.7 ± 1.95
Circunferencia de la cabeza CC (mm)	533	172.7 ± 6.78
Circunferencia abdominal CA (mm)	534	150.8 ± 6.85
Longitud del Fémur LF (mm)	532	32.6 ± 1.60
Peso fetal estimado PFE (g)	532	343.3 ± 29.28
<b>Semana 34</b>		
Diámetro biparietal DBP (mm)	534	85.6 ± 2.37
Circunferencia de la cabeza CC (mm)	533	308.4 ± 9.69
Circunferencia abdominal CA (mm)	534	300.9 ± 9.44
Longitud del Fémur LF (mm)	532	64.8 ± 1.76
Peso fetal estimado PFE (g)	532	2349.9 ± 170.86

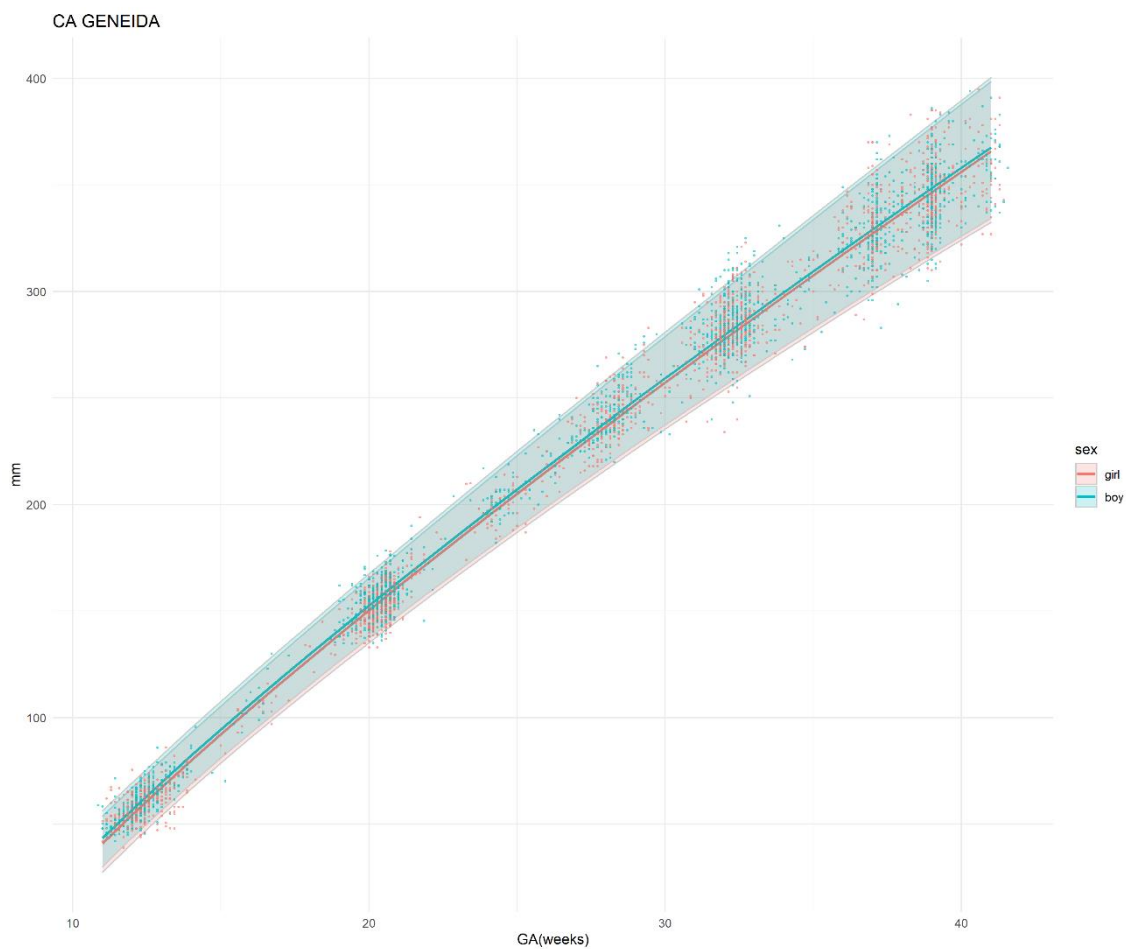
\* Estimación de los parámetros biométricos condicionados a las medidas reales más cercanas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.

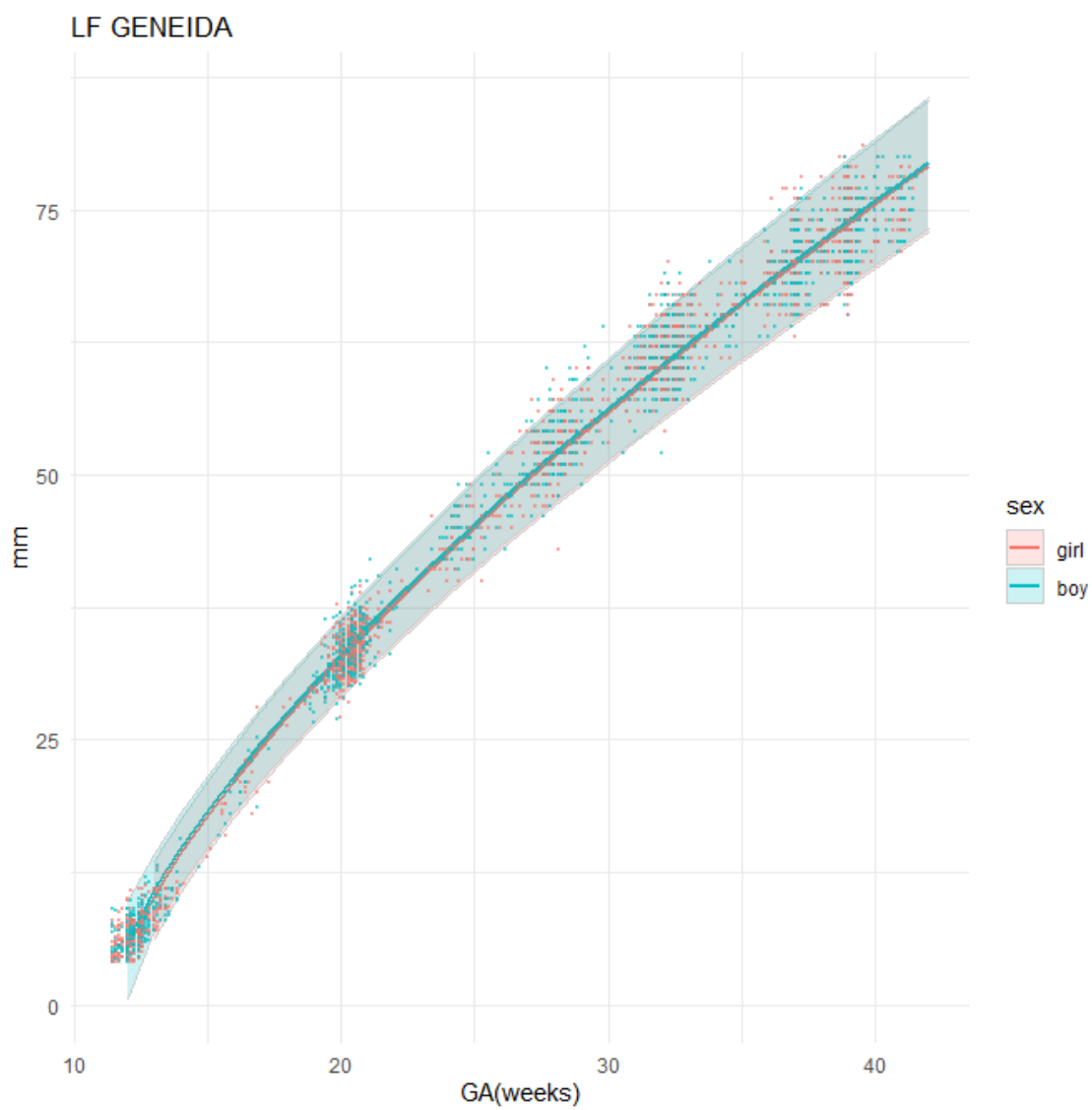
Las Figuras 6-10 muestran las curvas de crecimiento para cada parámetro biométrico fetal estimadas a partir de los modelos lineales mixtos a lo largo del embarazo. En ellas, el eje de ordenadas (eje Y) expresa las unidades de medida de los parámetros: mm para el DBP, CC, CA Y LF y g para el PFE. En el eje de abscisas (eje X) se expresa la edad gestacional en semanas. Las curvas se incluyen los datos de niños (en color azul) y niñas (en color rosa). Los puntos representan todas las mediciones tomadas de ese parámetro de cada feto durante el embarazo.

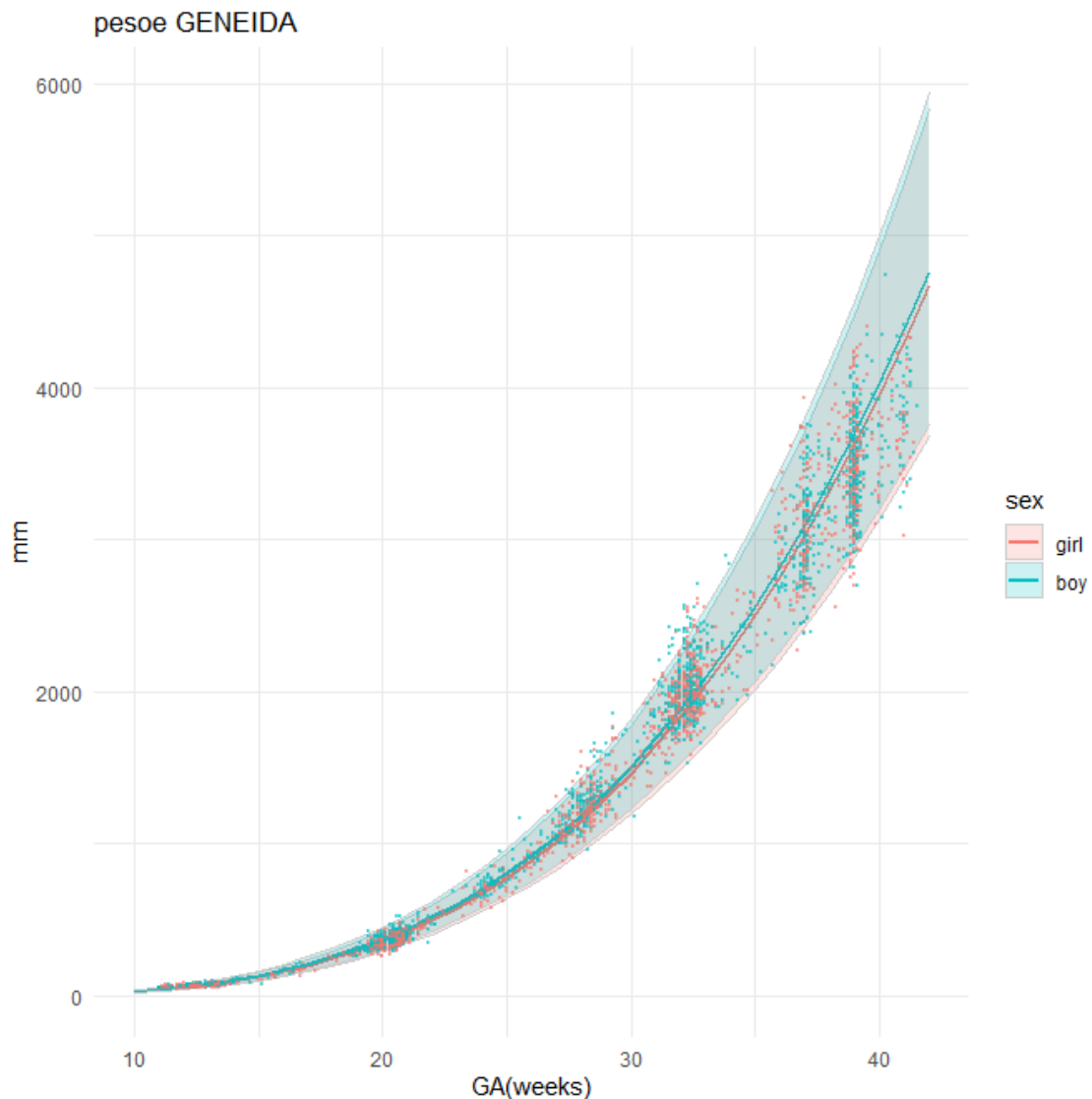
**Figura 6.** Curva del diámetro biparietal (DBP) según la edad gestacional

**Figura 7.** Curva de la circunferencia o perímetro cefálico (CC) según la edad gestacional.

**Figura 8.** Curva de la circunferencia o perímetro abdominal (CA) según la edad gestacional.



**Figura 9.** Curva de la longitud del fémur (LF) según la edad gestacional.

**Figura 10.** Curva del peso fetal según la edad gestacional.

Las curvas para el DBP, CC, CA y LF tienen una forma hiperbólica, con un crecimiento lento y progresivo durante todo el embarazo. En el caso del DBP y el LF, hay una distribución más uniforme de las medidas en los 2 primeros trimestres y a partir de las 24 semanas aproximadamente se produce una mayor dispersión de los valores. Para el CC y CA, los valores de las medidas tienden a ser más homogéneas hasta la semana 34 de gestación, a partir de la cual se produce una mayor dispersión de los valores debido a su mayor variabilidad.

La curva del PFE es claramente una curva tipo exponencial, con forma J, en la cual en las primeras semanas el feto experimenta un crecimiento lento pero a partir de las 24 semanas de gestación crece de forma más rápida, acelerando su crecimiento. Los valores medidos durante el primer y segundo trimestre están distribuidos de forma más homogénea, pero a partir del tercer trimestre se produce una mayor dispersión de los datos debido a la mayor variabilidad de las mediciones de cada niño.

#### **5.4.2 Exposición prenatal a plaguicidas organofosforados y piretroides y parámetros biométricos fetales: Análisis bivariante**

Se realizó un análisis bivariante para evaluar la asociación de la exposición a plaguicidas organofosforados (DAPs y TCPy) y piretroides (3-PBA) en orina de primer y tercer trimestre del embarazo con las puntuaciones Z de DBP, CC, CA, LF y PFE calculadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.

La tabla 15 muestra los resultados de los modelos lineales generalizados bivariantes construidos para evaluar la asociación entre los niveles urinarios de  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs,  $\Sigma$ DEs (expresados en forma logarítmica) en el primer y tercer trimestre del embarazo, así como una estimación del segundo (promedio de las concentraciones en el 1<sup>er</sup> y 3<sup>er</sup> trimestre). Se observó una asociación positiva cercana a la significación estadística entre  $\Sigma$ DEs en primer trimestre y la puntuación z-score del DBP a las 12 semanas de gestación [ $\beta=0.109$  IC 95% (-0.009;0.227)  $p=0,069$ ]. Asimismo, se observó una asociación positiva cerca de la significación estadística entre  $\Sigma$ DAPs y  $\Sigma$ DMs en el tercer trimestre y el DBP a las 34

semanas de gestación, [ $\beta=0.129$  IC 95% (-0.022;0.279)  $p=0.093$ ] y [ $\beta=0.124$  IC 95% (-0.014;0.262)  $p=0.078$ ], respectivamente.

También se observó una asociación positiva cercana a la significación entre los niveles de  $\Sigma$ DEs en el primer trimestre y la CA a las 12 semanas de gestación [ $\beta=0.109$  CI 95% (-0.008;0.226)  $p=0.067$ ]. Asimismo, se observó una asociación positiva próxima a la significación estadística entre  $\Sigma$ DAPs y  $\Sigma$ DMs en el segundo trimestre y el PFE a las 20 semanas de gestación, [ $\beta=0.197$  CI 95% (-0.024;0.417)  $p=0.081$ ] y [ $\beta=0.183$  CI 95% (-0.03;0.396)  $p=0.092$ ], respectivamente.

**Tabla 15.** Asociación entre la concentración de  $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs,  $\Sigma$ Des ( $\text{Log}_{10}$ ) en orina materna y los parámetros biométricos estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Variables	Trimestre gestación	$\Sigma$ DAPs		$\Sigma$ DMs		$\Sigma$ DEs	
		$\beta$ (crudo) (IC 95%)	$p$ -valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	$p$ -valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	$p$ -valor
Z-DBP (12 sem)	T1	0.051 (-0.107,0.208)	0.528	-0.043 (-0.191,0.106)	0.573	0.109 (-0.009,0.227)	<b>0.069*</b>
Z-DBP (20 sem)	T1	-0.048 (-0.192,0.096)	0.514	-0.069 (-0.205,0.067)	0.319	0.008 (-0.101,0.117)	0.885
	T2	0.046 (-0.154,0.246)	0.654	0.072 (-0.122,0.265)	0.468	0.026 (-0.118,0.169)	0.726
Z-DBP (34 sem)	T1	0.040 (-0.087,0.166)	0.539	0.036 (-0.084,0.155)	0.558	0.045 (-0.05,0.14)	0.350
	T2	0.118 (-0.056,0.293)	0.184	0.112 (-0.057,0.281)	0.192	0.063 (-0.063,0.189)	0.324
	T3	0.129 (-0.022,0.279)	<b>0.093*</b>	0.124 (-0.014,0.262)	<b>0.078*</b>	0.029 (-0.075,0.132)	0.583
Z-CA (12 sem)	T1	0.105 (-0.051,0.261)	0.186	0.021 (-0.127,0.168)	0.784	0.109 (-0.008,0.226)	<b>0.067*</b>
Z-CA (20 sem)	T1	0.029 (-0.139,0.197)	0.736	0.014 (-0.145,0.172)	0.868	0.082 (-0.045,0.208)	0.205
	T2	0.167 (-0.065,0.399)	0.159	0.139 (-0.086,0.364)	0.225	0.139 (-0.028,0.306)	0.102
ZCA (34 sem)	T1	0.034 (-0.105,0.173)	0.630	0.021 (-0.11,0.152)	0.750	0.018 (-0.086,0.122)	0.731



	T2	0.039 (-0.152,0.231)	0.688	0.005 (-0.18,0.19)	0.957	0.072 (-0.066,0.209)	0.305
	T3	0.034 (-0.129,0.197)	0.682	-0.016 (-0.166,0.133)	0.829	0.087 (-0.024,0.199)	0.125
Z-CC (12 sem)	T1	0.133 (-0.052,0.318)	0.159	0.081 (-0.094,0.257)	0.362	0.086 (-0.053,0.225)	0.226
Z-CC (20 sem)	T1	0.081 (-0.165,0.327)	0.518	0.002 (-0.231,0.235)	0.987	0.109 (-0.076,0.294)	0.248
	T2	0.150 (-0.194,0.494)	0.392	0.121 (-0.212,0.453)	0.476	0.124 (-0.123,0.371)	0.323
Z-CC (34 sem)	T1	-0.081 (-0.591,0.43)	0.756	0.089 (-0.394,0.571)	0.718	-0.034 (-0.418,0.35)	0.863
	T2	-0.036 (-0.75,0.678)	0.922	-0.056 (-0.745,0.634)	0.874	0.130 (-0.383,0.642)	0.619
	T3	0.076 (-0.533,0.685)	0.806	-0.075 (-0.634,0.484)	0.792	0.156 (-0.262,0.575)	0.463
Z-LF (12 sem)	T1	0.032 (-0.107,0.171)	0.650	0.015 (-0.116,0.146)	0.818	0.011 (-0.093,0.115)	0.838
Z-LF (20 sem)	T1	0.068 (-0.099,0.235)	0.425	0.048 (-0.109,0.206)	0.546	0.051 (-0.074,0.177)	0.422
	T2	0.152 (-0.081,0.384)	0.200	0.142 (-0.083,0.366)	0.216	0.099 (-0.068,0.266)	0.246
Z-LF (34 sem)	T1	-0.046 (-0.173,0.08)	0.472	-0.064 (-0.183,0.055)	0.293	0.031 (-0.064,0.126)	0.520
	T2	-0.066 (-0.241,0.109)	0.458	-0.082 (-0.251,0.087)	0.343	0.038 (-0.088,0.163)	0.557
	T3	0.003 (-0.149,0.154)	0.974	0.010 (-0.129,0.149)	0.891	0.019 (-0.085,0.122)	0.724
Z-PFE (12 sem)	T1	0.106 (-0.049,0.261)	0.179	0.023 (-0.124,0.169)	0.760	0.091 (-0.025,0.207)	0.125
Z-PFE (20 sem)	T1	0.048 (-0.111,0.207)	0.555	0.025 (-0.125,0.176)	0.740	0.067 (-0.052,0.187)	0.270
	T2	0.197 (-0.024,0.417)	<b>0.081*</b>	0.183 (-0.03,0.396)	<b>0.092*</b>	0.120 (-0.039,0.278)	0.139
Z-PFE (34 sem)	T1	0.033 (-0.098,0.163)	0.623	0.013 (-0.11,0.137)	0.833	0.037 (-0.061,0.135)	0.461
	T2	0.049 (-0.132,0.23)	0.592	0.021 (-0.154,0.195)	0.816	0.073 (-0.056,0.203)	0.268
	T3	0.065 (-0.09,0.221)	0.410	0.037 (-0.105,0.18)	0.606	0.068 (-0.038,0.174)	0.209

\*\* p-valor <0.05; \* p-valor de 0.05 a 0.1

Modelos lineales generalizados (GLM)

La tabla 16 muestra las asociaciones entre las concentraciones de los metabolitos dialquilfosfatos con radicales dimetilo (DMP, DMTP, DMDTP) medidos en orina del primer y tercer trimestres de gestación (y estimado al segundo como el promedio de los otros dos) y las biometrías fetales a las 12, 20 y 34 semanas de gestación. Se observó que las concentraciones de DMTP >LOD en orina del primer trimestre se asoció con una mayor LF a las 20 semanas de gestación [ $\beta= 0.163$  IC95% (0.012;0.268)  $p=0.065$ ].

Asimismo, las concentraciones de DMTP >LOD en orina del 2º trimestre se asociaron significativamente con un aumento de la CA [ $\beta=0.237$  IC95% (0.087;0.387)  $p=0.002$ ], CC [ $\beta=0.246$  IC95% (0.023;0.469)  $p=0.031$ ] y PFE [ $\beta=0.219$  IC95% (0.076;0.361)  $p=0.003$ ] a las 20 semanas de gestación.

Asimismo, las concentraciones de DMTP >LOD en orina del tercer trimestre se asociaron significativamente con un mayor DBP [ $\beta= 0.155$  IC95% (0.043;0.268)  $p=0.007$ ], CA [ $\beta=0.131$  IC95% (0.009;0.253)  $p=0.035$ ] y PFE [ $\beta=0.164$  IC95% (0.048;0.279)  $p=0.006$ ] a las 34 semanas de gestación.

Por su parte, los niveles de DMDTP >LOD en orina del primer trimestre se asoció significativamente con una mayor CC a las 12 y 20 semanas de gestación [ $\beta= 0.249$  IC95% (0.052;0.446)  $p=0.013$ ] y [ $\beta= 0.225$  IC95% (-0.037;0.488)  $p=0.092$ ], respectivamente.

Las concentraciones de DMP >LOD en orina del segundo trimestre se asociaron significativamente con una menor CA a las 20 semanas de gestación [ $\beta= -0.199$  IC95% (-0.373; -0.026)  $p=0.024$ ].

Finalmente, las concentraciones de DEP >LOD en orina de tercer trimestre se asociaron significativamente con una mayor CA [ $\beta= 0.172$  IC95% (0.026;0.318)  $p=0.021$ ] y PFE [ $\beta=0.142$  IC95% (0.003;0.280)  $p=0.046$ ] estimados a las 34 semanas de gestación. Asimismo, las concentraciones de este metabolito por arriba del LOD en orina del primer trimestre de embarazo se asociaron de forma casi significativa con una mayor CA a las 34 semanas de gestación.

**Tabla 16.** Asociación entre las concentraciones de los metabolitos individuales de dialquilfosfatos en orina materna (por encima vs. por debajo de la LOD) y los parámetros biométricos estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Variables	Trimestre gestación	DMP (> LOD)		DMTP (> LOD)		DMDTP (> LOD)		DEP (> LOD)		DETP (> LOD)		DEDTP (> LOD)	
		$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor	$\beta$ (crudo) (IC 95%)	p-valor
Z-DBP (12 sem)	T1	-0.010 (-0.149,0.129)	0.890	0.023 (-0.120,0.166)	0.754	0.058 (-0.110,0.225)	0.498	0.092 (-0.108,0.292)	0.365	0.077 (-0.091,0.245)	0.368	0.195 (-0.067,0.457)	0.144
Z-DBP (20 sem)	T1	-0.016 (-0.143,0.112)	0.808	-0.028 (-0.159,0.103)	0.678	-0.045 (-0.199,0.108)	0.561	-0.067 (-0.25,0.116)	0.472	0.016 (-0.138,0.170)	0.836	-0.025 (-0.266,0.215)	0.838
	T2	0.018 (-0.133,0.168)	0.818	0.068 (-0.032,0.198)	0.304	0.019 (-0.114,0.153)	0.775	-0.110 (-0.244,0.024)	0.107	0.049 (-0.090,0.189)	0.487	0.091 (-0.100,0.282)	0.349
Z-DBP (34 sem)	T1	0.054 (-0.058,0.165)	0.344	-0.061 (-0.175,0.054)	0.301	0.011 (-0.124,0.146)	0.874	0.053 (-0.107,0.214)	0.516	0.051 (-0.084,0.186)	0.462	-0.034 (-0.245,0.177)	0.752
	T2	0.041 (-0.09,0.173)	0.537	0.042 (-0.072,0.156)	0.471	0.011 (-0.106,0.128)	0.849	0.056 (-0.062,0.173)	0.351	0.055 (-0.067,0.177)	0.377	0.001 (-0.167,0.168)	0.994
	T3	-0.004 (-0.129,0.121)	0.949	0.155 (0.043,0.268)	<b>0.007**</b>	0.046 (-0.110,0.201)	0.566	0.055 (-0.081,0.190)	0.429	0.083 (-0.111,0.277)	0.400	0.050 (-0.196,0.295)	0.690
Z-CA (12 sem)	T1	0.040 (-0.097,0.178)	0.565	0.060 (-0.082,0.202)	0.406	0.065 (-0.101,0.231)	0.442	0.153 (-0.044,0.351)	0.128	0.060 (-0.106,0.227)	0.476	-0.034 (-0.293,0.226)	0.800
Z-CA (20 sem)	T1	-0.101 (-0.249,0.047)	0.182	0.122 (-0.030,0.275)	0.115	0.055 (-0.124,0.234)	0.549	0.021 (-0.193,0.235)	0.845	0.048 (-0.132,0.227)	0.602	-0.242 (-0.521,0.038)	0.090
	T2	-0.199 (-0.373,-0.026)	<b>0.024**</b>	0.237 (0.087,0.387)	<b>0.002**</b>	0.032 (-0.123,0.187)	0.687	0.061 (-0.095,0.217)	0.443	0.035 (-0.127,0.197)	0.668	-0.055 (-0.278,0.167)	0.625
Z-CA (34 sem)	T1	-0.032 (-0.154,0.090)	0.610	-0.020 (-0.146,0.106)	0.754	0.072 (-0.076,0.219)	0.341	-0.152 (-0.327,0.024)	<b>0.090*</b>	0.097 (-0.050,0.245)	0.197	0.008 (-0.222,0.239)	0.943

	T2	-0.122 (-0.265,0.021)	0.095	0.064 (-0.061,0.188)	0.315	-0.005 (-0.133,0.123)	0.940	0.041 (-0.088,0.169)	0.536	0.081 (-0.052,0.214)	0.232	-0.025 (-0.208,0.157)	0.784
	T3	0.005 (-0.131,0.140)	0.947	0.131 (0.009,0.253)	<b>0.035**</b>	-0.083 (-0.251,0.086)	0.335	0.172 (0.026,0.318)	<b>0.021**</b>	0.020 (-0.190,0.230)	0.850	-0.030 (-0.296,0.235)	0.822
Z-CC (12 sem)	T1	0.071 (-0.093,0.235)	0.395	0.064 (-0.105,0.233)	0.456	0.249 (0.052,0.446)	<b>0.013**</b>	0.148 (-0.087,0.383)	0.217	0.017 (-0.181,0.216)	0.863	0.099 (-0.210,0.408)	0.529
Z-CC (20 sem)	T1	-0.016 (-0.233,0.201)	0.883	0.102 (-0.122,0.326)	0.372	0.225 (-0.037,0.488)	<b>0.092*</b>	0.122 (-0.191,0.434)	0.444	0.054 (-0.209,0.317)	0.686	0.058 (-0.352,0.468)	0.781
	T2	-0.105 (-0.363,0.153)	0.424	0.246 (0.023,0.469)	<b>0.031**</b>	0.115 (-0.115,0.344)	0.327	-0.023 (-0.255,0.208)	0.843	0.075 (-0.165,0.315)	0.539	0.088 (-0.242,0.418)	0.601
Z-CC (34 sem)	T1	0.060 (-0.391,0.510)	0.795	-0.135 (-0.6,0.329)	0.568	0.089 (-0.457,0.634)	0.750	-0.371 (-1.018,0.277)	0.261	0.063 (-0.483,0.608)	0.822	0.015 (-0.835,0.866)	0.972
	T2	-0.304 (-0.839,0.230)	0.264	0.051 (-0.413,0.516)	0.829	-0.032 (-0.508,0.444)	0.895	-0.100 (-0.580,0.381)	0.684	0.239 (-0.257,0.736)	0.344	0.015 (-0.670,0.700)	0.966
	T3	-0.221 (-0.725,0.284)	0.390	0.198 (-0.259,0.655)	0.394	-0.185 (-0.813,0.443)	0.564	0.121 (-0.428,0.670)	0.664	0.604 (-0.184,1.392)	0.133	-0.136 (-1.144,0.872)	0.791
Z-LF (12 sem)	T1	0.029 (-0.094,0.151)	0.647	0.050 (-0.076,0.176)	0.437	0.017 (-0.131,0.164)	0.824	0.123 (-0.052,0.299)	0.168	-0.098 (-0.246,0.050)	0.195	-0.100 (-0.330,0.131)	0.397
Z-LF (20 sem)	T1	-0.005 (-0.152,0.143)	0.948	0.163 (0.012,0.314)	<b>0.035**</b>	-0.051 (-0.229,0.127)	0.576	0.014 (-0.198,0.226)	0.897	0.073 (-0.105,0.252)	0.419	-0.136 (-0.414,0.142)	0.336
	T2	-0.064 (-0.238,0.110)	0.472	0.129 (-0.022,0.280)	<b>0.094*</b>	-0.027 (-0.182,0.128)	0.732	0.018 (-0.138,0.174)	0.823	0.114 (-0.048,0.275)	0.168	-0.054 (-0.276,0.168)	0.635
Z-LF (34 sem)	T1	-0.066 (-0.177,0.046)	0.249	-0.026 (-0.142,0.089)	0.652	-0.045 (-0.179,0.090)	0.516	-0.007 (-0.168,0.154)	0.933	0.043 (-0.092,0.178)	0.529	-0.147 (-0.357,0.063)	0.171
	T2	-0.082 (-0.212,0.049)	0.221	0.052 (-0.062,0.166)	0.370	-0.035 (-0.151,0.082)	0.561	-0.019 (-0.137,0.098)	0.747	0.009 (-0.112,0.131)	0.879	-0.103 (-0.269,0.063)	0.224
	T3	-0.073	0.254	0.075	0.194	0.026	0.746	0.007	0.916	-0.017	0.865	-0.041	0.742

		(-0.198,0.052)		(-0.038,0.189)		(-0.131,0.183)		(-0.129,0.143)		(-0.211,0.177)		(-0.287,0.205)	
Z-PFE (12 sem)	T1	0.021 (-0.116,0.158)	0.764	0.056 (-0.085,0.197)	0.434	0.080 (-0.085,0.245)	0.339	0.139 (-0.057,0.335)	0.165	0.023 (-0.142,0.189)	0.782	-0.034 (-0.292,0.224)	0.796
Z-PFE (20 sem)	T1	-0.054 (-0.194,0.087)	0.452	0.139 (-0.006,0.283)	0.059	-0.013 (-0.182,0.157)	0.883	-0.012 (-0.214,0.190)	0.909	0.059 (-0.111,0.229)	0.495	-0.212 (-0.477,0.052)	0.116
	T2	-0.123 (-0.289,0.043)	0.146	0.219 (0.076,0.361)	<b>0.003**</b>	0.008 (-0.140,0.155)	0.920	0.014 (-0.134,0.163)	0.853	0.077 (-0.076,0.231)	0.323	-0.045 (-0.258,0.167)	0.675
Z-PFE (34 sem)	T1	-0.004 (-0.120,0.111)	0.941	-0.040 (-0.159,0.078)	0.505	0.011 (-0.128,0.150)	0.872	-0.106 (-0.271,0.060)	0.210	0.093 (-0.047,0.232)	0.192	-0.069 (-0.286,0.148)	0.533
	T2	-0.074 (-0.210,0.062)	0.286	0.076 (-0.041,0.194)	0.203	-0.022 (-0.143,0.099)	0.725	0.033 (-0.088,0.154)	0.594	0.066 (-0.059,0.192)	0.300	-0.068 (-0.242,0.106)	0.443
	T3	-0.024 (-0.153,0.105)	0.713	0.164 (0.048,0.279)	<b>0.006**</b>	-0.014 (-0.174,0.147)	0.866	0.142 (0.003,0.280)	0.046	0.016 (-0.183,0.215)	0.877	-0.036 (-0.292,0.220)	0.783

\*\* p-valor <0.05; \* p-valor de 0.05 a 0.1

Modelos Lineales Generalizados (GLM)

La tabla 17 muestra los resultados de los modelos lineales generalizados crudos (sin ajustar) para evaluar la asociación entre los metabolitos 3-PBA y TCPy dicotomizados (por encima vs por debajo del LOD). Tan solo se observaron asociaciones significativas para el metabolito 3-PBA. Concretamente, las concentraciones de 3-PBA >LOD estimadas para el 2º trimestre se asociaron significativamente con una mayor CA fetal a las 20 semanas de gestación [ $\beta= 0.253$  IC 95% (0.019;0.487)  $p= 0.034$ ], así como, una asociación casi significativa con la CA a las 34 semanas de gestación [ $\beta= 0.123$  IC 95% (-0.007;0.253)  $p= 0.063$ ].

No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el metabolito TCPy en cualquier trimestre del embarazo y las puntuaciones Z de los parámetros biométricos estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.

**Tabla. Asociación** entre la concentración prenatal de los metabolitos específicos 3-PBA y TCPy en orina materna (por encima vs. Por debajo de la LOD) y los parámetros biométricos imputados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Variables	Metabolitos	3PBA_Dic		TCPY_Dic	
		B (IC 95%)	P-valor	B (IC 95%)	P-valor
ZDBP size at 12	T1	0.102 (-0.068,0.271)	0.238	0.105 (-0.061,0.271)	0.215
ZDBP size at 20	T1	-0.011 (-0.166,0.145)	0.894	-0.101 (-0.254,0.051)	0.193
	T2	0.010 (-0.127,0.146)	0.891	-0.080 (-0.229,0.069)	0.292
ZDBP size at 34	T1	-0.069 (-0.205,0.067)	0.318	0.027 (-0.107,0.161)	0.690
	T2	-0.045 (-0.165,0.074)	0.455	0.016 (-0.114,0.146)	0.812
	T3	-0.009 (-0.173,0.155)	0.916	0.052 (-0.096,0.201)	0.490
ZCA size at 12	T1	0.110 (-0.057,0.278)	0.197	0.081 (-0.084,0.246)	0.337
	T1	0.117	0.205	-0.021	0.814

ZCA size at 20		(-0.064,0.298)		(-0.199,0.157)	
	T2	0.121 (-0.037,0.28)	0.134	-0.002 (-0.175,0.172)	0.984
ZCA size at 34	T1	0.099 (-0.051,0.248)	0.195	-0.026 (-0.173,0.121)	0.728
	T2	0.123 (-0.007,0.253)	<b>0.063*</b>	0.001 (-0.141,0.143)	0.989
	T3	0.147 (-0.03,0.323)	0.104	0.113 (-0.047,0.274)	0.166
ZCC size at 12	T1	0.163 (-0.037,0.362)	0.109	0.134 (-0.063,0.33)	0.182
ZCC size at 20	T1	0.167 (-0.097,0.432)	0.215	-0.011 (-0.271,0.25)	0.934
	T2	0.253 (0.019,0.487)	<b>0.034**</b>	-0.002 (-0.258,0.254)	0.988
ZCC size at 34	T1	-0.316 (-0.865,0.234)	0.260	-0.021 (-0.561,0.519)	0.939
	T2	-0.040 (-0.528,0.447)	0.872	-0.004 (-0.535,0.527)	0.988
	T3	0.469 (-0.19, 1.128)	0.163	0.490 (-0.108, 1.088)	0.108
ZLF size at 12	T1	0.035 (-0.115,0.185)	0.647	-0.075 (-0.222,0.072)	0.320
ZLF size at 20	T1	0.016 (-0.164,0.197)	0.859	-0.124 (-0.301,0.053)	0.169
	T2	0.027 (-0.132,0.186)	0.736	-0.094 (-0.267,0.08)	0.289
ZLF size at 34	T1	-0.042 (-0.179,0.095)	0.545	-0.079 (-0.213,0.056)	0.251
	T2	-0.068 (-0.188,0.051)	0.263	-0.089 (-0.219,0.042)	0.182
	T3	-0.127 (-0.292,0.037)	0.129	-0.041 (-0.189,0.108)	0.591
ZPFE size at 12	T1	0.085 (-0.082,0.252)	0.319	0.018 (-0.146,0.183)	0.829
ZPFE size at 20	T1	0.038 (-0.134,0.21)	0.664	-0.079 (-0.248,0.09)	0.358
	T2	0.061 (-0.091,0.212)	0.431	-0.055 (-0.22,0.11)	0.512
ZPFE size at 34	T1	0.056 (-0.085,0.197)	0.434	-0.036 (-0.175,0.102)	0.606
	T2	0.069 (-0.054,0.192)	0.272	-0.029 (-0.163,0.106)	0.677
	T3	0.086	0.318	0.085	0.274



(-0.083,0.255)

(-0.067,0.237)

\*\* P-valor &lt;0.05; \* P-valor de 0.05 a 0.1

# Generalized lineal model (GLM)

### 5.4.3 Exposiciones prenatales a plaguicidas organofosforados y piretroides y los parámetros biométricos: Análisis multivariante

La tabla 18 muestra los resultados de los modelos lineales generalizados ajustados por covariables seleccionadas a partir de las identificadas en el DAG, utilizando la selección de variables por pasos, con un criterio de selección establecido en  $p < 0.2$  y una modificación de la  $\beta$  ajustada al 10%. Se observó una asociación cercana a la significación estadística entre los niveles de  $\Sigma$ DEs en el primer trimestre y un mayor DBP a las 12 semanas de gestación [ $\beta=0.102$  IC 95% (-0.016;0.221)  $p= 0.090$ ] así como entre los niveles de  $\Sigma$ DMs en tercer trimestre y el DBP a las 34 semanas [ $\beta= 0.120$  CI 95% (-0.02;0.259)  $p= 0.092$ ].

Por su parte, los niveles de  $\Sigma$ DEs en el primer trimestre mostraron una asociación casi significativa con una mayor CA a las 12 semanas de gestación [ $\beta= 0.104$  CI 95% (-0.014;0.222)  $p = 0.083$ ].

**Tabla 18.** Asociación entre la concentración prenatal de  $\Sigma$ DAPs,  $\text{Log}_{10}$   $\Sigma$ DMs y  $\text{Log}_{10}$   $\Sigma$ DEs ( $\text{Log}_{10}$ ) en orina materna y los parámetros biométricos estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Variables	Trimestre gestación	$\Sigma$ DAPs		$\Sigma$ DMs		$\Sigma$ DEs	
		$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor
Z-DBP (12 sem) <sup>a</sup>	T1	0.039 (-0.12,0.197)	0.631	-0.049 (-0.198,0.1)	0.517	0.102 (-0.016,0.221)	0.090*
Z-DBP (20 sem) <sup>a</sup>	T1	-0.072 (-0.217,0.073)	0.329	-0.089 (-0.226,0.047)	0.199	-0.007 (-0.116,0.102)	0.899
	T2	0.008 (-0.193,0.209)	0.935	0.050 (-0.144,0.243)	0.616	-0.001 (-0.146,0.143)	0.984
Z-DBP (34 sem) <sup>a</sup>	T1	0.035 (-0.093,0.163)	0.590	0.030 (-0.09,0.151)	0.624	0.041 (-0.055,0.137)	0.398
	T2	0.111 (-0.066,0.288)	0.219	0.102 (-0.069,0.272)	0.241	0.057 (-0.07,0.185)	0.377
	T3	0.122 (-0.03,0.274)	0.116	0.120 (-0.02,0.259)	<b>0.092*</b>	0.023 (-0.082,0.128)	0.668
Z-CA (12 sem) <sup>b</sup>	T1	0.100 (-0.058,0.257)	0.214	0.020 (-0.128,0.168)	0.791	0.104 (-0.014,0.222)	<b>0.083*</b>
Z-CA (20 sem) <sup>b</sup>	T1	0.011 (-0.157,0.18)	0.896	0.001 (-0.157,0.16)	0.986	0.066 (-0.06,0.193)	0.301
	T2	0.121 (-0.111,0.353)	0.307	0.122 (-0.102,0.346)	0.284	0.099 (-0.067,0.266)	0.242
Z-CA	T1	-0.004	0.956	-0.012	0.856	0.005	0.919

(34 sem) <sup>b</sup>		(-0.142,0.134)		(-0.142,0.118)		(-0.098,0.109)	
	T2	-0.001 (-0.192,0.189)	0.989	-0.035 (-0.218,0.149)	0.712	0.064 (-0.073,0.2)	0.361
	T3	0.024 (-0.138,0.186)	0.774	-0.025 (-0.174,0.124)	0.742	0.086 (-0.025,0.197)	0.129
Z-CC (12 sem) <sup>c</sup>	T1	0.123 (-0.064,0.311)	0.198	0.080 (-0.097,0.257)	0.374	0.079 (-0.062,0.219)	0.271
Z-CC (20 sem) <sup>c</sup>	T1	0.045 (-0.202,0.293)	0.719	-0.024 (-0.258,0.209)	0.837	0.082 (-0.103,0.267)	0.385
	T2	0.070 (-0.276,0.416)	0.691	0.088 (-0.244,0.421)	0.601	0.057 (-0.191,0.305)	0.650
Z-CC (34 sem) <sup>c</sup>	T1	-0.132 (-0.647,0.384)	0.616	0.042 (-0.444,0.527)	0.866	-0.057 (-0.443,0.329)	0.771
	T2	-0.167 (-0.888,0.554)	0.650	-0.172 (-0.865,0.521)	0.626	0.062 (-0.455,0.579)	0.814
	T3	-0.048 (-0.66,0.564)	0.877	-0.145 (-0.704,0.414)	0.610	0.072 (-0.35,0.493)	0.737
Z-LF (12 sem) <sup>d</sup>	T1	0.033 (-0.107,0.174)	0.642	0.015 (-0.117,0.148)	0.820	0.012 (-0.094,0.118)	0.824
Z-LF (20 sem) <sup>d</sup>	T1	0.026 (-0.141,0.194)	0.758	0.020 (-0.138,0.177)	0.805	0.024 (-0.102,0.15)	0.707
	T2	0.108 (-0.125,0.341)	0.365	0.116 (-0.108,0.34)	0.310	0.067 (-0.101,0.235)	0.433
Z-LF (34 sem) <sup>d</sup>	T1	-0.080 (-0.207,0.047)	0.216	-0.089 (-0.209,0.03)	0.142	0.016 (-0.08,0.111)	0.746
	T2	-0.116 (-0.292,0.06)	0.197	-0.117 (-0.286,0.052)	0.175	0.016 (-0.111,0.143)	0.801

	T3	-0.039 (-0.192,0.115)	0.621	-0.009 (-0.15,0.131)	0.898	-0.004 (-0.109,0.101)	0.941
Z-PFE (12 sem) <sup>e</sup>	T1	0.108 (-0.048,0.264)	0.175	0.024 (-0.123,0.172)	0.744	0.090 (-0.026,0.207)	0.129
Z-PFE (20 sem) <sup>e</sup>	T1	0.023 (-0.136,0.182)	0.775	0.006 (-0.144,0.155)	0.942	0.047 (-0.072,0.166)	0.440
	T2	0.150 (-0.069,0.37)	0.180	0.161 (-0.05,0.372)	0.135	0.083 (-0.075,0.24)	0.304
Z-PFE (34 sem) <sup>e</sup>	T1	-0.001 (-0.131,0.129)	0.991	-0.014 (-0.137,0.108)	0.817	0.026 (-0.071,0.124)	0.599
	T2	0.008 (-0.173,0.188)	0.933	-0.019 (-0.192,0.155)	0.832	0.068 (-0.061,0.197)	0.301
	T3	0.035 (-0.121,0.19)	0.662	0.013 (-0.129,0.156)	0.855	0.061 (-0.045,0.166)	0.259

\*\* p-valor <0.05; \* p-valor de 0.05 a 0.1

<sup>a</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y estudios.

<sup>b</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia y ejercicio.

<sup>c</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y estudios.

<sup>d</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, talla de la madre, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y tabaco.

<sup>e</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y tabaco.

La tabla 19 muestra los resultados de los modelos lineales generalizados ajustados para evaluar la asociación entre la exposición a los 6 metabolitos dialquilfosfatos individuales (dicotomizados, por encima vs debajo del LOD) y los parámetros biométricos fetales estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.

Se observaron asociaciones significativas entre las concentraciones de DMTP >LOD en el tercer trimestre y una mayor DBP, CA y PFE estimados a las 34 semanas de gestación [ $\beta = 0.145$  IC95% (0.031;0.258)  $p = 0.012$ ], [ $\beta = 0.126$  IC95% (0.005;0.246)  $p = 0.041$ ] y [ $\beta = 0.147$  IC95% (0.031;0.264)  $p = 0.013$ ], respectivamente. Asimismo, las concentraciones estimadas de este metabolito en el segundo trimestre mostraron asociaciones significativas con una mayor CA [ $\beta = 0.247$  IC95% (0.098;0.397)  $p = 0.001$ ], CC [ $\beta = 0.235$  IC95% (0.010;0.459)  $p = 0.040$ ] y PFE [ $\beta = 0.241$  IC95% (0.097;0.385)  $p = 0.001$ ] a las 20 semanas de gestación.

Las concentraciones de DMP >LOD en el segundo trimestre mostraron una asociación significativa con una menor CA a las 20 semanas de gestación [ $\beta = -0.199$  IC95% (-0.373; -0.026)  $p = 0.024$ ]. También se observó una asociación significativa entre las concentraciones de DMDTP >LOD en el 1 trimestre y una mayor CC a las 12 semanas de gestación [ $\beta = 0.267$  IC95% (0.068;0.465)  $p = 0.008$ ]. Este metabolito también mostró una asociación cercana a la significación estadística con una mayor CC a las 20 semanas de gestación [ $\beta = 0.230$  IC95% (-0.033;0.492)  $p = 0.087$ ].

Para los metabolitos con radicales etilos, se observaron asociaciones significativas entre las concentraciones de DEP >LOD en el primer y tercer trimestre con una menor CA a las 34 semanas de gestación, [ $\beta = -0.188$  IC95% (-0.362; -0.014)  $p = 0.034$ ], [ $\beta = 0.160$  IC95% (0.015;0.305)  $p = 0.031$ ], respectivamente. También se observó una asociación próxima a la significación entre DEP >LOD en el primer trimestre con una mayor CA a

las 12 semanas de gestación [ $\beta= 0.168$  IC95% (-0.031;0.368)  $p= 0.098$ ]. Por otra parte, las concentraciones de este metabolito en el segundo trimestre de embarazo mostraron una asociación cercana a la significación estadística con un menor DBP a las 20 semanas de gestación [ $\beta= -0.131$  IC95% (-0.265;0.003)  $p=0.055$ ].

No se observaron asociaciones significativas entre los metabolitos con radicales dietilo y las biometrías as las 12, 20 y 34 semanas de gestación.

**Tabla 19.** Asociación entre las concentraciones prenatales de los metabolitos dialquilfosfatos individuales en orina (dicotomizados, por encima vs. debajo del LOD) y los parámetros biométricos estimados a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Variables	Trimestr e gestació n	DMP >LOD		DMTP >LOD		DMDTP >LOD		DEP >LOD		DETP >LOD		DEDTP >LOD	
		$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	P-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor
Z-DBP (12 sem) <sup>a</sup>	T1	-0.032 (-0.172,0.108)	0.650	0.024 (-0.121,0.169)	0.748	0.073 (-0.095,0.241)	0.392	0.113 (-0.088,0.313)	0.270	0.051 (-0.118,0.220)	0.552	0.197 (-0.064,0.459)	0.138
Z-DBP (20 sem) <sup>a</sup>	T1	-0.025 (-0.153,0.103)	0.700	-0.045 (-0.178,0.088)	0.505	-0.053 (-0.207,0.101)	0.497	-0.095 (-0.279,0.089)	0.309	0.008 (-0.147,0.163)	0.920	-0.006 (-0.246,0.234)	0.961
	T2	0.026 (-0.124,0.176)	0.731	0.051 (-0.080,0.182)	0.445	0.013 (-0.122,0.148)	0.850	-0.131 (-0.265,0.003)	<b>0.055*</b>	0.036 (-0.104,0.176)	0.612	0.099 (-0.092,0.289)	0.309
Z-DBP (34 sem) <sup>a</sup>	T1	0.061 (-0.052,0.174)	0.287	-0.080 (-0.197,0.037)	0.180	0.017 (-0.119,0.153)	0.805	0.044 (-0.119,0.206)	0.597	0.041 (-0.096,0.177)	0.559	-0.030 (-0.242,0.181)	0.778
	T2	0.038 (-0.094,0.170)	0.574	0.022 (-0.094,0.138)	0.708	0.018 (-0.101,0.136)	0.769	0.049 (-0.069,0.168)	0.416	0.045 (-0.078,0.168)	0.473	0.004 (-0.164,0.173)	0.960
	T3	-0.005 (-0.132,0.122)	0.943	0.145 (0.031,0.258)	<b>0.012**</b>	0.050 (-0.108,0.208)	0.537	0.051 (-0.086,0.188)	0.465	0.069 (-0.127,0.265)	0.491	0.057 (-0.189,0.303)	0.650
Z-CA (12 sem) <sup>b</sup>	T1	0.021 (-0.118,0.160)	0.767	0.069 (-0.075,0.214)	0.345	0.080 (-0.087,0.247)	0.347	0.168 (-0.031,0.368)	<b>0.098*</b>	0.044 (-0.124,0.212)	0.606	-0.032 (-0.292,0.229)	0.811
Z-CA (20 sem) <sup>b</sup>	T1	-0.131 (-0.279,0.018)	0.084	0.135 (-0.019,0.289)	0.086	0.047 (-0.132,0.226)	0.605	0.010 (-0.204,0.224)	0.926	0.032 (-0.147,0.212)	0.724	-0.223 (-0.501,0.055)	0.116
	T2	-0.191 (-0.363,-0.019)	<b>0.030**</b>	0.247 (0.098,0.397)	0.001**	0.015 (-0.140,0.171)	0.845	0.045 (-0.110,0.200)	0.570	0.014 (-0.147,0.175)	0.865	-0.048 (-0.268,0.173)	0.670
Z-CA	T1	-0.034	0.584	-0.062	0.337	0.063	0.394	-0.188	<b>0.034**</b>	0.093	0.211	0.024	0.838

(34 sem) <sup>b</sup>		(-0.155,0.088)		(-0.188,0.064)		(-0.083,0.209)		(-0.362,-0.014)		(-0.053,0.240)		(-0.204,0.251)	
	T2	-0.123 (-0.265,0.018)	0.087	0.033 (-0.091,0.156)	0.605	0.004 (-0.123,0.130)	0.955	0.019 (-0.108,0.146)	0.766	0.083 (-0.048,0.214)	0.214	-0.021 (-0.201,0.159)	0.821
	T3	-0.014 (-0.149,0.121)	0.843	0.126 (0.005,0.246)	<b>0.041**</b>	-0.070 (-0.238,0.098)	0.413	0.160 (0.015,0.305)	<b>0.031**</b>	0.023 (-0.185,0.230)	0.831	-0.035 (-0.297,0.227)	0.793
Z-CC (12 sem) <sup>c</sup>	T1	0.048 (-0.118,0.213)	0.572	0.065 (-0.108,0.237)	0.461	0.267 (0.068,0.465)	<b>0.008**</b>	0.168 (-0.07,0.405)	0.166	-0.009 (-0.209,0.191)	0.932	0.106 (-0.204,0.417)	0.501
Z-CC (20 sem) <sup>c</sup>	T1	-0.048 (-0.267,0.170)	0.665	0.091 (-0.136,0.319)	0.431	0.230 (-0.033,0.492)	<b>0.087*</b>	0.091 (-0.222,0.405)	0.567	0.034 (-0.230,0.297)	0.801	0.084 (-0.326,0.493)	0.688
	T2	-0.101 (-0.358,0.156)	0.439	0.235 (0.010,0.459)	<b>0.040**</b>	0.101 (-0.131,0.332)	0.394	-0.063 (-0.294,0.167)	0.589	0.039 (-0.201,0.279)	0.749	0.102 (-0.226,0.431)	0.542
Z-CC (34 sem) <sup>c</sup>	T1	0.057 (-0.398,0.512)	0.805	-0.213 (-0.686,0.26)	0.376	0.092 (-0.456,0.641)	0.741	-0.432 (-1.084,0.219)	0.193	0.005 (-0.543,0.554)	0.985	0.048 (-0.804,0.900)	0.912
	T2	-0.348 (-0.883,0.187)	0.202	-0.048 (-0.518,0.422)	0.841	-0.013 (-0.496,0.470)	0.959	-0.168 (-0.649,0.313)	0.494	0.177 (-0.322,0.676)	0.486	0.040 (-0.645,0.725)	0.909
	T3	-0.264 (-0.772,0.243)	0.307	0.124 (-0.333,0.581)	0.594	-0.194 (-0.828,0.440)	0.548	0.038 (-0.513,0.589)	0.893	0.472 (-0.323,1.267)	0.244	-0.123 (-1.126,0.879)	0.809
Z-LF (12 sem) <sup>d</sup>	T1	0.024 (-0.101,0.148)	0.711	0.057 (-0.072,0.187)	0.382	0.026 (-0.123,0.174)	0.736	0.117 (-0.060,0.295)	0.196	-0.087 (-0.237,0.064)	0.257	-0.106 (-0.338,0.126)	0.352
Z-LF (20 sem) <sup>d</sup>	T1	-0.009 (-0.157,0.140)	0.908	0.117 (-0.037,0.271)	0.135	-0.046 (-0.223,0.131)	0.610	-0.012 (-0.224,0.201)	0.915	0.047 (-0.133,0.227)	0.607	-0.125 (-0.401,0.152)	0.378
	T2	-0.047 (-0.220,0.126)	0.592	0.115 (-0.038,0.268)	0.140	-0.041 (-0.196,0.115)	0.608	-0.003 (-0.158,0.152)	0.971	0.093 (-0.067,0.253)	0.254	-0.044 (-0.263,0.176)	0.695
Z-LF (34 sem) <sup>d</sup>	T1	-0.063 (-0.176,0.050)	0.272	-0.068 (-0.185,0.048)	0.251	-0.051 (-0.185,0.084)	0.460	-0.013 (-0.174,0.148)	0.873	0.018 (-0.118,0.154)	0.795	-0.146 (-0.356,0.064)	0.184
	T2	-0.075 (-0.206,0.056)	0.262	0.016 (-0.100,0.132)	0.788	-0.042 (-0.159,0.076)	0.488	-0.039 (-0.157,0.078)	0.512	-0.007 (-0.129,0.114)	0.908	-0.098 (-0.264,0.068)	0.247



	T3	-0.060 (-0.185,0.066)	0.353	0.053 (-0.063,0.168)	0.371	0.003 (-0.154,0.160)	0.969	-0.030 (-0.167,0.107)	0.663	-0.050 (-0.244,0.145)	0.615	-0.037 (-0.282,0.207)	0.822
Z-PFE (12 sem) <sup>c</sup>	T1	-0.002 (-0.140,0.137)	0.981	0.081 (-0.062,0.225)	0.267	0.087 (-0.079,0.253)	0.302	0.155 (-0.043,0.353)	0.125	0.016 (-0.151,0.183)	0.850	-0.043 (-0.301,0.215)	0.744
Z-PFE (20 sem) <sup>c</sup>	T1	-0.087 (-0.228,0.053)	0.221	0.142 (-0.003,0.288)	0.055	-0.021 (-0.189,0.147)	0.806	-0.027 (-0.228,0.174)	0.791	0.042 (-0.127,0.211)	0.628	-0.191 (-0.452,0.071)	0.153
	T2	-0.127 (-0.291,0.037)	0.129	0.241 (0.097,0.385)	<b>0.001**</b>	0.000 (-0.147,0.146)	0.995	-0.002 (-0.148,0.145)	0.983	0.061 (-0.091,0.214)	0.428	-0.033 (-0.243,0.176)	0.757
Z-PFE (34 sem) <sup>c</sup>	T1	-0.009 (-0.125,0.106)	0.873	-0.086 (-0.205,0.034)	0.158	0.011 (-0.126,0.149)	0.870	-0.123 (-0.288,0.041)	0.142	0.080 (-0.059,0.218)	0.260	-0.048 (-0.263,0.167)	0.660
	T2	-0.078 (-0.212,0.057)	0.257	0.038 (-0.080,0.157)	0.525	-0.009 (-0.129,0.111)	0.884	0.011 (-0.109,0.132)	0.854	0.061 (-0.064,0.186)	0.337	-0.046 (-0.218,0.126)	0.598
	T3	-0.038 (-0.167,0.090)	0.559	0.147 (0.031,0.264)	<b>0.013**</b>	-0.011 (-0.172,0.150)	0.891	0.114 (-0.024,0.252)	0.106	0.014 (-0.183,0.210)	0.892	-0.006 (-0.259,0.246)	0.960

\*\* p-valor <0.05; \* p-valor de 0.05 a 0.1

<sup>a</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y estudios.

<sup>b</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia y ejercicio.

<sup>c</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y estudios.

<sup>d</sup> Modelo ajustado por niveles de c creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, talla de la madre, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y tabaco.

<sup>e</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y tabaco.

La tabla 20 muestra los resultados de los modelos líneas generalizados ajustados para evaluar la asociación entre los niveles urinarios de TCPy y 3-PBA dicotomizados (por encima vs. por debajo el LOD) en primer y tercer trimestre, y estimados del segundo, y las puntuaciones-Z de los parámetros biométricos fetales.

Las concentraciones TCPy >LOD en el segundo trimestre se asociaron con una menor LF estimado para la semana 34 de gestación [ $\beta = -0.116$  IC 95% (-0.248;0.015)  $p = 0.082$ ]. Los niveles de 3-PBA >LOD en el 2º trimestre se asociaron de forma casi significativa con una mayor CA estimada a las 20 semanas de gestación [ $\beta = 0.140$  IC 95% (-0.02;0.299)  $p = 0.086$ ]. Sin embargo, la asociación alcanzó la significación estadística con la CA estimada para la semana 34 de gestación [ $\beta = 0.149$  IC 95% (0.02;0.279)  $p = 0.024$ ]. Una tendencia similar se observó con las concentraciones de 3-PBA >LOD en primer trimestre y la CA a las 34 semanas de gestación [ $\beta = 0.136$  IC 95% (-0.013;0.285)  $p = 0.073$ ].

Finalmente, también se encontró una asociación significativa entre la concentración del 3-PBA >LOD en el 2º trimestre y el CC estimado a las 20 semanas de gestación [ $\beta = 0.273$  IC 95% (0.037;0.51)  $p = 0.024$ ].

**Tabla.**

Variables	Metabolitos	3PBA_Dic		TCPY_Dic	
		B ajust (IC 95%)	P-valor	B ajust (IC 95%)	P-valor
ZDBP size at 12a	T1	0.126 (-0.046,0.297)	0.151	0.091 (-0.076,0.258)	0.286
ZDBP size at 20a	T1	-0.008 (-0.166,0.149)	0.918	-0.107 (-0.26,0.046)	0.170
	T2	0.022 (-0.116,0.161)	0.750	-0.086 (-0.235,0.063)	0.259
ZDBP size at 34a	T1	-0.066 (-0.204,0.073)	0.354	0.025 (-0.11,0.16)	0.717
	T2	-0.037	0.547	0.012	0.858

		(-0.159,0.084)		(-0.12,0.144)	
	T3	-0.002 (-0.169,0.165)	0.980	0.052 (-0.1,0.205)	0.501
ZCA size at 12b	T1	0.111 (-0.059,0.282)	0.200	0.075 (-0.092,0.241)	0.377
ZCA size at 20b	T1	0.124 (-0.058,0.307)	0.181	-0.010 (-0.188,0.168)	0.912
	T2	0.140 (-0.02,0.299)	<b>0.086*</b>	0.010 (-0.163,0.183)	0.910
ZCA size at 34b	T1	0.136 (-0.013,0.285)	<b>0.073*</b>	-0.068 (-0.214,0.077)	0.359
	T2	0.149 (0.02,0.279)	<b>0.024**</b>	-0.040 (-0.181,0.101)	0.577
	T3	0.139 (-0.037,0.315)	0.122	0.083 (-0.079,0.246)	0.313
ZCC size at 12c	T1	0.184 (-0.019,0.387)	0.076	0.122 (-0.076,0.319)	0.228
ZCC size at 20c	T1	0.158 (-0.111,0.427)	0.249	0.000 (-0.262,0.261)	0.999
	T2	0.273 (0.037,0.51)	<b>0.024**</b>	0.007 (-0.249,0.263)	0.958
ZCC size at 34c	T1	-0.222 (-0.781,0.338)	0.436	-0.051 (-0.595,0.493)	0.855
	T2	0.091 (-0.404,0.586)	0.718	-0.031 (-0.565,0.503)	0.910
	T3	0.589 (-0.075, 1.254)	0.082	0.444 (-0.166, 1.053)	0.153
ZLF size at 12d	T1	0.014 (-0.139,0.167)	0.858	-0.072 (-0.221,0.078)	0.347
ZLF size at 20d	T1	0.008 (-0.174,0.19)	0.932	-0.157 (-0.335,0.02)	<b>0.082</b>
	T2	0.017 (-0.143,0.177)	0.838	-0.131 (-0.304,0.042)	0.139
ZLF size at 34d	T1	-0.027 (-0.165,0.112)	0.705	-0.108 (-0.243,0.027)	0.116
	T2	-0.056 (-0.177,0.065)	0.362	-0.116 (-0.248,0.015)	<b>0.082*</b>
	T3	-0.126 (-0.292,0.039)	0.133	-0.086 (-0.237,0.066)	0.266
ZPFE size at 12e	T1	0.102 (-0.067,0.272)	0.236	0.014 (-0.153,0.18)	0.873
ZPFE size at 20e	T1	0.047 (-0.126,0.219)	0.596	-0.084 (-0.253,0.085)	0.330
	T2	0.074	0.334	-0.059	0.483

		(-0.077,0.225)		(-0.223,0.106)	
ZPFE size at 34e	T1	0.082 (-0.059,0.224)	0.252	-0.078 (-0.216,0.061)	0.271
	T2	0.084 (-0.039,0.208)	0.179	-0.068 (-0.203,0.066)	0.318
	T3	0.058 (-0.11,0.226)	0.495	0.036 (-0.118,0.19)	0.648

\*\* P-valor <0.05; \* P-valor de 0.05 a 0.1

<sup>a</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y estudios.

<sup>b</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia y ejercicio.

<sup>c</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y estudios.

<sup>d</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, talla de la madre, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y tabaco.

<sup>e</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y tabaco.

#### **5.4.4 Análisis longitudinal (modelos GEE) entre las exposiciones a plaguicidas organofosforados y piretroides durante el embarazo y las biometrías fetales a las 12, 20 y 34 semanas de gestación.**

La tabla 21 muestra los resultados del análisis longitudinal (modelos GEE) para el total de la población de estudio, y estratificado por sexo, que evalúa el efecto de la exposición durante el embarazo a los sumatorios de los mismos ( $\Sigma$ DAPs,  $\Sigma$ DMs y  $\Sigma$ DEs).

Se observó una asociación próxima a las significación estadística entre el  $\Sigma$ DAPs a lo largo del embarazo y una mayor CA [ $\beta=0.119$  IC 95% (-0.019, 0.256)  $p=0.091$ ] y el PFE [ $\beta=0.116$  IC 95% (-0.017, 0.248)  $p=0.087$ ]. Al estratificar por sexo solo los niños mostraron una asociación significativa entre  $\Sigma$ DAPs y una mayor CA [ $\beta=0.212$  IC 95% (0.048,0.376)  $p=0.011$ ].

Asimismo, se observó una asociación positiva significativa entre el  $\sum$ DEs y un mayor DBP a lo largo del embarazo [ $\beta=0.105$  IC 95% (0.001,0.209)  $p=0.047$ ]. Al estratificar por sexo, tan solo las niñas mantuvieron esta asociación (al borde de la significación estadística) y en la misma dirección [ $\beta=0.168$  IC 95% (-0.013,0.350)  $p=0.069$ ].

**Tabla 21.** Análisis longitudinal (modelos GEE) de la asociación entre los niveles prenatales  $\Sigma$ DAPs,  $\text{Log}_{10} \Sigma$ DMs y  $\text{Log}_{10} \Sigma$ DEs ( $\text{Log}_{10}$ ) en orina de la madre y las biometrías estimadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

Metabolito	$\beta$ ajustado	(IC 95%)	p-valor	p-valor		$\beta$ ajustado		p-valor	$\beta$ ajustado		p-valor
				interacción	sexo	niño	niña		(IC 95%)	(IC 95%)	
ZDBP <sup>a</sup>	Log_DAPs	0.062	(-0.084,0.208)	0.404	0.918	0.114	(-0.061,0.289)	0.202	-0.005	(-0.247,0.237)	0.966
	Log_DMAs	-0.032	(-0.182,0.118)	0.677	0.822	0.049	(-0.135,0.233)	0.603	-0.123	(-0.360,0.113)	0.307
	Log_DEs	0.105	(0.001,0.209)	<b>0.047**</b>	0.427	0.043	(-0.080,0.166)	0.497	0.168	(-0.013,0.350)	<b>0.069*</b>
ZCA <sup>b</sup>	Log_DAPs	0.119	(-0.019,0.256)	<b>0.091*</b>	0.223	0.212	(0.048,0.376)	<b>0.011**</b>	0.001	(-0.230,0.231)	0.995
	Log_DMAs	0.044	(-0.095,0.183)	0.534	0.165	0.148	(-0.030,0.326)	0.103	-0.066	(-0.279,0.147)	0.542
	Log_DEs	0.087	(-0.019,0.194)	0.108	0.774	0.086	(-0.036,0.208)	0.166	0.072	(-0.120,0.264)	0.461
ZCC <sup>c</sup>	Log_DAPs	0.126	(-0.054,0.306)	0.171	0.549	0.118	(-0.111,0.347)	0.313	0.132	(-0.163,0.426)	0.380
	Log_DMAs	0.070	(-0.110,0.249)	0.445	0.927	0.119	(-0.115,0.352)	0.319	0.024	(-0.245,0.293)	0.859
	Log_DEs	0.077	(-0.061,0.215)	0.275	0.128	-0.003	(-0.182,0.176)	0.971	0.155	(-0.072,0.383)	0.180
ZLF <sup>d</sup>	Log_DAPs	0.009	(-0.119,0.138)	0.886	0.576	0.008	(-0.156,0.172)	0.922	0.004	(-0.197,0.205)	0.972
	Log_DMAs	0.017	(-0.112,0.146)	0.798	0.226	0.107	(-0.061,0.275)	0.212	-0.087	(-0.277,0.104)	0.373
	Log_DEs	-0.018	(-0.113,0.077)	0.716	0.315	-0.107	(-0.232,0.018)	<b>0.093*</b>	0.099	(-0.047,0.245)	0.184
ZPFE <sup>e</sup>	Log_DAPs	0.116	(-0.017,0.248)	<b>0.087*</b>	0.762	0.139	(-0.038,0.317)	0.125	0.077	(-0.125,0.279)	0.454
	Log_DMAs	0.058	(-0.072,0.188)	0.379	0.599	0.105	(-0.080,0.290)	0.266	0.008	(-0.175,0.190)	0.934
	Log_DEs	0.057	(-0.047,0.161)	0.285	0.519	0.027	(-0.104,0.157)	0.690	0.077	(-0.093,0.248)	0.374

\*\* p-valor <0,05; \* p-valor de 0,05 a 0,1

a Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y estudios.

b Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia y ejercicio.

c Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y estudios.

d Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, talla de la madre, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y tabaco.

e Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y tabaco.

Por último los resultados del análisis longitudinal (models GEE) para evaluar la asociación entre los metabolitos TCPy y 3-PBA y las biometrías fetales estimadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación se muestran en la Tabla 22. Se observó que los niveles de 3-PBA >LOD a lo largo del embarazo se asociaron con una mayor CC en niños [ $\beta=0.316$  IC 95% (0.026,0.606)  $p= 0.033$ ]. En el caso del TCPy, sus niveles por encima del LOD se asociaron de forma significativa con una menor LF en niños [ $\beta= -0.267$  IC 95% (-0.473,-0.060)  $p= 0.011$ ]

**Tabla 22.** Análisis longitudinal (modelos GEE) de la asociación entre los niveles prenatales de metabolitos TCPy y 3-PBA (por encima vs. por debajo del LOD) en orina de la madre y las biometrías estimadas a las 12, 20 y 34 semanas de gestación

	Metabolito	$\beta$ ajustado	(IC 95%)	p-valor	p-valor		$\beta$ ajustado (IC 95%)	p-valor	$\beta$ ajustado (IC 95%)		p-valor	
					interacción	sexo			niños	niñas		
Z-DBP <sup>a</sup>	3-PBA >LOD	0.105	(-0.077,0.287)	0.257		0.081	0.137	(-0.092,0.366)	0.240	0.066	(-0.225,0.357)	0.655
	TCPy >LOD	0.088	(-0.073,0.248)	0.285		0.881	0.009	(-0.192,0.210)	0.928	0.164	(-0.097,0.426)	0.217
Z-CA <sup>b</sup>	3-PBA >LOD	0.119	(-0.056,0.293)	0.184		0.275	0.151	(-0.061,0.362)	0.163	0.084	(-0.216,0.383)	0.584
	TCPy >LOD	0.069	(-0.084,0.222)	0.377		0.130	-0.050	(-0.241,0.140)	0.604	0.217	(-0.031,0.466)	<b>0.087*</b>
Z-CC <sup>c</sup>	3-PBA >LOD	0.248	(-0.022,0.475)	<b>0.032**</b>		<b>0.011**</b>	0.316	(0.026,0.606)	<b>0.033**</b>	0.257	(-0.092,0.607)	0.149
	TCPy >LOD	0.116	(-0.076,0.309)	0.235		0.921	0.065	(-0.186,0.316)	0.611	0.079	(-0.226,0.385)	0.612
Z-LF <sup>d</sup>	3-PBA >LOD	0.019	(-0.122,0.160)	0.793		0.538	0.023	(-0.150,0.196)	0.793	0.011	(-0.223,0.245)	0.927
	TCPy >LOD	-0.094	(-0.253,0.065)	0.247		<b>0.058*</b>	-0.267	(-0.473,-0.060)	<b>0.011**</b>	0.109	(-0.134,0.351)	0.378
Z-PFE <sup>e</sup>	3-PBA >LOD	0.085	(-0.084,0.254)	0.323		<b>0.093*</b>	0.106	(-0.092,0.304)	0.294	0.076	(-0.221,0.374)	0.615
	TCPy >LOD	-0.006	(-0.166,0.155)	0.945		0.107	-0.188	(-0.385,0.008)	0.061	0.194	(-0.058,0.447)	0.131

\*\* p-valor <0,05; \* p-valor de 0,05 a 0,1

<sup>a</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y estudios.

<sup>b</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia y ejercicio.

<sup>c</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y estudios.

<sup>d</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, talla de la madre, ganancia de peso, etnia, ejercicio, alcohol y tabaco.

<sup>e</sup> Modelo ajustado por niveles de creatinina (mg/dl), edad de la madre, sexo del recién nacido, embarazos anteriores, BMI pre-embarazo, ganancia de peso, etnia, ejercicio y tabaco.



## **DISCUSIÓN**

---

## 6. DISCUSIÓN

El presente estudio examinó la asociación entre la exposición a insecticidas organofosforados y piretroides (utilizando la concentración de diversos metabolitos en orina durante el embarazo como biomarcadores de la exposición) y el crecimiento fetal, evaluado a través de la antropometría al nacer y ecografías seriadas durante la gestación, y la edad gestacional en la cohorte de nacimiento GENEIDA. En general, la exposición a insecticidas organofosforados durante el embarazo se asoció con alteraciones en algunas medidas antropométricas del recién nacido, así como con todos los parámetros biométricos fetales estudiados. Por su parte, la exposición prenatal a piretroides se asoció con una menor edad gestacional, un mayor riesgo de parto prematuro y con un mayor perímetro cefálico y circunferencia abdominal.

### 6.1 Antropometría al nacer

La comparación de los resultados del presente estudio con otros similares de la literatura científica se resume en la Tabla 23. En particular, se observó que el aumento de  $\Sigma$ DMs y del metabolito DMP en orina del tercer trimestre de embarazo se asociaban con una disminución del peso al nacer y el aumento del metabolito DMP con una disminución de la talla del neonato. Por el contrario, el análisis longitudinal a lo largo del embarazo mostró que el aumento de los niveles de DEP se asociaba con una disminución del peso al nacer y el aumento de DETP con una disminución de la talla en los varones. Por otro lado, los niveles detectables de TCPy durante el primer trimestre se asociaron con una disminución del perímetro cefálico de los recién nacidos, así como también en el análisis longitudinal a lo largo del embarazo (en este caso sólo en varones). Por su parte, los niveles detectables de 3-PBA se asociaron con una menor edad gestacional y con un mayor riesgo de prematuridad.

Woods et al. (2017) y Rauch et al. (2012) hallaron resultados similares, y en la misma dirección, para el peso al nacer; sin embargo, otros estudios mostraron resultados contradictorios al observar una asociación entre el aumento de los metabolitos dietilo y la disminución del peso al nacer (Huang et al., 2017; Wolf et al., 2007 y Naksen et al., 2015). En cuanto a la talla del neonato, Eskenazi et al. (2004) encontraron una asociación directa con los metabolitos de dimetilo, mientras que Huang et al. (2017) encontraron una asociación inversa con los metabolitos de dietilo, aunque este último estudio midió los metabolitos de plaguicidas en el segundo trimestre del embarazo.

En relación con el perímetro cefálico, el presente estudio encontró una asociación inversa con  $\Sigma$ DAPs en varones. Otros estudios observaron resultados similares al encontrar una asociación inversa del perímetro cefálico con los metabolitos dimetilo (Naksen et al., 2015) y con los dietilo (Naksen et al., 2015 y Liu et al., 2016). Por el contrario, Dalsager et al. (2018) observaron una asociación directa con metabolitos dietilo y Eskenazi et al. (2004) tanto con metabolitos dimetilo como con los dietilo. En cuanto al TCPy y el perímetro cefálico, los resultados del presente estudio coinciden con los de Balalian et al. (2021), ya que en ambos casos se encontró una asociación inversa. En el caso del 3-PBA se observaron resultados más controvertidos, ya que el presente estudio no encontró asociación con el perímetro cefálico, mientras que Huang et al. (2017) observaron una asociación inversa con 3-PBA en el tercer trimestre y Zhang et al. (2014) una asociación directa, pero en el primer trimestre.

En cuanto a la edad gestacional, los pocos estudios que abordaron este efecto también mostraron resultados contradictorios. El presente estudio es el único que halló una asociación inversa de la edad gestacional con 3-PBA y una asociación directa con la prematuridad. Por el contrario, Eskenazi et al. (2004) encontraron una asociación inversa

con metabolitos dimetilo, Wang et al. (2012) una asociación inversa pero con metabolitos dietilo y Nuseir et al. (2021) una asociación inversa con DEDTP.

Todos estos hallazgos sugieren que los metabolitos OP, en cierta medida, pueden alterar las medidas antropométricas al nacer, pero la medida específica y la dirección del efecto no son consistentes entre los estudios. Estos resultados contradictorios pueden estar relacionados con el momento de la gestación en el que se determinaron los metabolitos, los diferentes métodos analíticos e instrumentales utilizados para la identificación y cuantificación de los mismos, las diferentes poblaciones estudiadas, el sexo, la etnia y las variables (incluyendo factores de confusión) utilizadas para ajustar los modelos de regresión, entre otros.

En general, el presente estudio indica que la exposición a metabolitos OPs, especialmente en el tercer trimestre de embarazo, puede afectar al peso, la talla y el perímetro cefálico al nacer, especialmente en los niños varones. La disminución del perímetro cefálico puede estar relacionada con el insecticida clorpirifós, ya que su metabolito relativamente específico (TCPy) también mostró una asociación inversa. Y ello a pesar de que tanto el clorpirifós como el metil-clorpirifós y el herbicida triclopir producen TCPy como metabolito común y estaban aprobados para uso agrícola en la Unión Europea en el momento en que se recogieron las muestras de orina materna. Dado que el perímetro cefálico al nacer se considera un marcador sensible del desarrollo neurológico, estos hallazgos dan más consistencia a las preocupaciones previas sobre los OPs en general y el clorpirifós en particular. Además, el presente estudio no encontró ninguna asociación significativa en relación con la edad gestacional, aparte de la relativa al metabolito 3-PBA, aunque dos metabolitos dimetilos (DMP y DMTP) se asociaron con un mayor

riesgo de prematuridad en niñas. No obstante, estos resultados deben interpretarse con precaución debido al reducido número de casos con niveles detectables de 3-PBA.

**Tabla 23.** Resumen de los principales resultados encontrados por los estudios que evalúan la asociación entre la exposición prenatal a organofosforados y piretroides (basada en los niveles urinarios maternos) y los resultados antropométricos al nacer, y la edad gestacional.

<b>Autores (año)</b>	<b>Diseño del estudio</b>	<b>Localización</b>	<b>Exposición</b>	<b>Efecto</b>
<b>Peso al nacer</b>				
Presente estudio	Cohorte GENEIDA	Almería	↑ ΣDMs (3T) ↑ DMP (3T) ↑ DEP (3T) ↑ DEP (TE)	↓ Peso * ↓ Peso ↑ Peso ↓ Peso *
Woods et al. (2017)	Estudio HOME	Cincinnati (Ohio)	↑ ΣDMs (TE) ↑ ΣDEs (TE)	↓ Peso (NS) ↑ Peso (NS)
Huang et al. (2017)	Cohorte	Taipei (Taiwan)	↑ DEP (2T)	↓ Peso
Wolff et al. (2007)	Mount Sinaí	New York (EE. UU.)	↑ ΣDEs ↑ ΣDEs	↓ Peso (NS) ↓ Índice ponderal (NS)
Rauch et al. (2012)	HOME study	Cincinnati (Ohio)	↑ ΣDAPs (TE) ↑ ΣDMs (TE)	↓ Peso (RN negroides)
Naksen et al. (2015)	Estudio SAWASDEE	Chiang Mai (Tailandia)	↑ ΣDEs (PE) ↑ ΣDAPs (PE)	↓ Peso (PON1 materna ↓) ↓ Peso (PON1 materna ↓)
Dalsager et al. (2018)	Cohorte infantil Odense (OCC)	Odense (Dinamarca)	↑ TCPy (2º tercil)	↓ Peso (♂)
Zhang et al. (2014)	Cohorte	Tokio (Japón)	↑ 3-PBA (1T)	↑ Peso
Jaacks et al. (2019)	Cohorte	Bangladesh	3-PBA ≥LOD	↑ PEG (pequeño para la edad gestacional)
<b>Talla al nacer (BL)</b>				
Este estudio	Cohorte GENEIDA	Almería	↑ ΣDEs (3T) ↑ DETP (TE) ↑ DMP (3T) ↑ TCPy (TE)	↑ Talla * ↓ Talla (♂)* ↓ Talla * ↑ Talla *

Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ ΣDMs (TE) ↑ ΣDAPs (TE)	↑ Talla ↑ Talla
Huang et al. (2017)	Cohorte	Taipei (Taiwan)	↑ ΣDEs (2T) ↑ DEP (2T)	↓ Talla ↓ Talla

---

**Circunferencia cefálica (CC)**

Este estudio	Cohorte GENEIDA	Almería	↑ ΣDAPs (TE) ↑ DMTP (3T) ↑ TCPy (1T) ↑ TCPy (TE)	↓ CC (♂) ↑ CC ↓ CC ↓ CC (♂)
Khoshhali et al. (2020)	Meta-análisis (19 estudios)		↑ ΣDAPs (promedio)	↑ CC
Dalsager et al. (2018)	Cohorte infantil Odense (OCC)	Odense (Dinamarca)	↑ ΣDEs (2T)	↑ CC (♂)
Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ ΣDEs (TE) ↑ ΣDMs (TE) ↑ ΣDAPs (TE)	↑ CC ↑ CC ↑ CC
Liu et al. (2016)	Estudio	Sheyang County (Jiangsu)	↑ ΣDEs (AP) parto ↑ ΣDAPs (AP)	↓ CC ↓ CC
Naksen et al. (2015)	Estudio SAWASDEE	Chiang Mai (Tailandia)	↑ ΣDEs (PE y FE) ↑ ΣDMs (PE) ↑ ΣDAPs (PE y FE)	↓ CC (PON1 materna ↓) ↓ CC (PON1 materna ↓) ↓ CC (PON1 materna ↓)
Wolff et al. (2007)	Mount Sinaí	Nueva York (EEUU)	↑ ΣDAPs (3T)	↓ CC (NS)
Balalian et al. (2021)	Cohorte S/H y Estudio TDID	Nueva York (EEUU)	↑ TCPy (estudio TDID: primera mitad embarazo; S/H cohorte: 3T)	↓ CC (♂)
Huang et al. (2017)	Cohorte	Taipei (Taiwan)	↑ 3-PBA (3T)	↓ CC
Zhang et al. (2014)	Cohorte	Tokio (Japón)	↑ 3-PBA (1T)	↑ CC

---

**Edad gestacional**

Este estudio	GENEIDA Cohorte	Almería	↑ 3-PBA (1T) ↑ 3-PBA (1T, TE) ↑ 3-PBA (3T)	↓ Edad Gestacional ↑ Prematuridad ↑ Prematuridad*
Eskenazi et al. (2004)	CHAMACOS	Salinas Valley (California)	↑ ΣDMs (TE)	↓ Edad Gestacional
Wang et al. (2012)	Estudio	Shanghai (China)	↑ DEP (TE)	↓ Edad Gestacional (♀)
Nuseir et al. (2021)	Estudio	Jordania	↑ DEDTP (3T)	↓ Edad Gestacional

TE: Todo el embarazo; 1T: Primer trimestre del embarazo; 2T; Segundo trimestre; 3T: Tercer trimestre; AP: Antes del parto; PE: Principios del embarazo; FE: Final de embarazo

\* Asociación próxima a la significación estadística; NS: asociación no significativa.

La inconsistencia observada entre los estudios puede deberse a diferencias en el momento en que se recogieron las muestras de orina durante la gestación, el número de muestras recogidas, los diferentes patrones de uso de plaguicidas organofosforados en las distintas regiones geográficas estudiadas y las variables de confusión incluidas en los modelos multivariantes. La co-exposición a otras sustancias químicas, incluidos otros plaguicidas, también puede interferir en el desarrollo embrionario y fetal, y estas exposiciones pueden variar de una población a otra.

En cuanto al momento en que se recogieron las muestras, y a diferencia de otros estudios, en la cohorte GENEIDA se recogió una muestra de orina en el primer y tercer trimestre del embarazo. En las cohortes CHAMACOS y HOME también se recogieron dos muestras de orina, pero ambas durante el segundo trimestre (13,9 y 26,5 semanas, y 15,9 y 26 semanas, respectivamente). En cambio, otros estudios sólo recogieron una única muestra de orina durante el embarazo. Por ejemplo, en el caso de las cohortes de Columbia y Mount Sinaí, ambas recogieron muestras durante el tercer trimestre del

embarazo. La recogida de dos muestras de orina en distintos momentos del embarazo (primer y tercer trimestre) proporciona una medición más precisa de la exposición a los compuestos diana durante todo el periodo de organogénesis, lo que representa un punto fuerte importante de este estudio realizado en la cohorte GENEIDA.

Otra posible explicación de las inconsistencias entre los resultados de los estudios puede estar relacionada con las diferencias en el origen étnico de la población estudiada. En el presente estudio, la mayoría de la población era de raza blanca, mientras que en otros estudios la mayoría de los participantes eran latinoamericanos o afroamericanos. Según investigaciones anteriores, la raza puede estar asociada con la exposición a plaguicidas organofosforados, la edad gestacional y antropometría al nacer, y los polimorfismos genéticos PON1 (Rauch et al., 2012; Whyatt et al., 2004). La PON1 es una enzima hidrolítica con una amplia gama de sustratos, incluidos los derivados oxón (metabolitos activos) de los compuestos organofosforados (Furlong et al., 2020).

## **6.2 Comparación de niveles urinarios de metabolitos de plaguicidas con otros estudios**

Al comparar las concentraciones urinarias de los metabolitos de plaguicidas de la cohorte GENEIDA con las de otros estudios, el presente estudio halló en general niveles de metabolitos más bajos que los de otras poblaciones. Las concentraciones más altas se han encontrado en dos cohortes de China (Huang et al., 2017; Wang et al., 2012). En los EE. UU., las concentraciones más altas se encontraron en las cohortes CHAMACOS (Valle de Salinas) y Columbia (Nueva York), mostrándose en esta última concentraciones de metabolitos más bajas (Harley et al., 2016). En Europa, las concentraciones más altas



corresponden a la cohorte Generation R de Rotterdam (Ferguson et al., 2019) y a la cohorte infantil de Odense (Dinamarca) (Dalsager et al., 2018).

Las concentraciones más altas encontradas en China pueden indicar un mayor uso de insecticidas organofosforados en la agricultura u otros entornos, ya sea por la falta de normativas estrictas o porque estas no se aplican. También puede deberse a un alto nivel de residuos en alimentos de consumo habitual sin procesar (Shen et al., 2002). Cada año se utilizan en Taiwán más de 18.065 toneladas de plaguicidas, de los cuales el 24 % son organofosforados (Huang et al., 2017).

En estudios realizados en los EE.UU. se observan diferencias en los niveles de metabolitos DAPs en las distintas cohortes, lo que puede deberse a las diferentes poblaciones de estudio. En la cohorte CHAMACOS, los participantes eran trabajadores agrícolas y, por tanto, presentaban exposición tanto ocupacional como residencial, además de a través de los alimentos. En el caso de la cohorte de Columbia, los participantes procedían de la población urbana de bajos ingresos, lo que significa que la exposición podría haber sido residencial o dietética (Harley et al., 2016).

En España, el uso de plaguicidas organofosforados se ha reducido debido a cambios legislativos y a la implantación del control biológico para combatir las plagas. A pesar de ello, la población puede seguir expuesta a estas sustancias, no sólo a nivel ocupacional o paraocupacional, sino también a través de otras vías como el consumo de agua contaminada, el contacto directo con el medio ambiente o el uso residencial (Lu et al., 2008; Julien et al., 2008). Dicho esto, las concentraciones de DAPs en orina materna en las poblaciones europeas (Generación R) fueron superiores a las del presente estudio. Los Países Bajos pueden tener un mayor nivel de exposición debido al mayor consumo de fruta o a la mayor aplicación de plaguicidas en la agricultura (Ferguson et al., 2019).

### 6.3 Crecimiento fetal

En general, los resultados de las ecografías seriadas muestran una asociación entre los niveles de biomarcadores de exposición a OPs y piretroides en orina materna con un aumento de los diferentes parámetros ecográficos, independientemente de la edad gestacional a la que se evaluaron, con excepción de la LF, que disminuyó sólo con TCPy y la CA, que mostraron resultados contradictorios. No obstante, el análisis longitudinal de medidas repetidas sí mostró resultados consistentes con aumento de la CA tanto con los metabolitos dimetilos como dietilos, aunque no siempre los hallazgos fueron estadísticamente significativos.

Al comparar los resultados de crecimiento fetal obtenidos mediante ecografías seriadas durante el embarazo y la antropometría al nacer, sólo tres medidas podrían ser comparables: PFE y peso al nacer, CC y perímetro cefálico al nacer y LF y talla al nacer, aunque en este último caso habría que asumir que la LF a lo largo del embarazo y la talla del neonato están muy correlacionadas. Las diferencias más relevantes se describen a continuación y se muestran en la tabla 24.

- Con relación al peso, los resultados son inconsistentes, pues en todas las asociaciones significativas (o al borde de la significación estadística) observadas en neonatos fueron con un menor peso al nacer excepto con la exposición al DEP >LOD en el tercer trimestre que se asoció con un mayor peso al nacer. Sin embargo, en el análisis transversal de las ecografías fetales y concentraciones maternas de DMTP >LOD en el segundo y tercer trimestre de embarazo se asociaron con mayores PFE a las 20 y 34 semanas de gestación, respectivamente,

mientras que en el análisis longitudinal (modelos GEE) se observaron asociaciones positivas significativas entre la  $\Sigma$ DAPs y el PFE.

- En cuanto a la talla del recién nacido, todas las asociaciones observadas (significativas o al borde de la significación) fueron con una mayor longitud del neonato, excepto el para las concentraciones del DETP durante el embarazo (análisis GEE) que se asoció con un descenso de la talla del recién nacido. En las ecografías fetales, en el análisis transversal se observaron asociaciones significativas entre los niveles de TCPy >LOD en el primer y segundo trimestre de embarazo con una menor LF en las ecografías realizadas a las 20 y 34 semanas, respectivamente. En el análisis longitudinal se observó una menor LF asociada con concentraciones de DETP >LOD, y TCPy >LOD, en este último caso solo en niños. Teniendo en cuenta que el clorpirifós es el único insecticida OP que se metaboliza tanto a DETP como a TCPy, es posible que estas asociaciones se deban al efecto de este compuesto.
- Con respecto a la CC, la mayoría de las asociaciones (significativas o próximas a la significación) observadas en la antropometría al nacer fueron con un descenso de la misma y tan sólo el DMTP en el tercer trimestre se asoció con una mayor CC. Por el contrario, en las ecografías fetales las asociaciones (significativas o próximas a la significación) se observaron con una mayor CC. A saber, el DMDTP >LOD en primer trimestre se asoció con aumento de la CC en las ecografías realizadas a las 12 y 20 semanas. En el análisis longitudinal este metabolito también se asoció con una mayor CC; y el DMTP >LOD en el segundo trimestre se asoció con una mayor CC en la ecografía realizada a las 20 semanas. Con respecto al 3-PBA, aunque se asoció con una mayor CC en el análisis longitudinal,

en la antropometría al nacer, este metabolito no mostró asociación con la CC. Las asociaciones observadas con el DMDTP podrían atribuirse al malatión, dimetoato o fosmet, que son los únicos insecticidas organofosforados que dan lugar a dicho metabolito y que estaban autorizados en la UE en la fecha de la toma de muestras de orina de las mujeres de la cohorte GENEIDA. La exposición prenatal a TCPy no mostró una asociación significativa con la circunferencia cefálica en las ecografías fetales mientras que se asoció significativamente con una menor circunferencia cefálica.

**Tabla 24.** Consistencia de resultados entre las medidas antropométricas al nacer y las biometrías fetales en relación con los biomarcadores de exposición a plaguicidas

Metabolito	Antropometría al nacer			Ecografías seriadas		
	Peso RN	Talla RN	Circunferencia cefálica (CC)	Peso fetal estimado (PFE)	Longitud fetal (LF)	Circunferencia cefálica (CC)
↑ $\Sigma$ DMs (T3)	↓ Peso					
↑ DMP (T3)	↓ Peso	↓ Talla				
↑ DEP (T3)	↑ Peso					
↑ DEP (TE)	↓ Peso					
↑ DETP (TE)		↓ Talla				
↑ $\Sigma$ DEs (T3)		↑ Talla				
↑ TCPy (T3)		↑ Talla				
↑ DMTP (T2)				↑ PFE (20 sem)		↑ CC (20 sem)
↑ DMTP (T3)			↑ CC	↑ PFE (20 sem)		
↑ $\Sigma$ DAPs (TE)			↓ CC	↑ PFE* (↑♀)		
↑ DETP					↓ LF*, ↓ LF* (♂)	
↑ TCPy (T1)			↓ CC		↓ LF (20 sem)	
↑ TCPy (T2)					↓ LF (34 sem)	
↑ TCPy (TE)			↓ CC		↓ LF* (♂)	
↑ DMDTP (T1)						↑ CC (12 y 20 sem)
↑ DMDTP						↑ CC*, ↑ CC (♂)
↑ 3-PBA						↑ CC*, ↑ CC* (♂)

\*Análisis longitudinal (modelos GEE)

T1: primer trimestre; T2: 2º trimestre; T3: 3º trimestre, TE: todo el embarazo.

RN: recién nacido; PFE: peso fetal estimado; LF: longitud del fémur; CC: circunferencia cefálica

Hasta hace muy poco tiempo no se han utilizado ecografías seriadas durante el embarazo para investigar la asociación entre la exposición a insecticidas organofosforados y piretroides y el crecimiento fetal. En la literatura científica tan sólo se ha encontrado un estudio similar en cuanto a las medidas de exposición y efecto en cohortes de nacimiento realizado en Países Bajos, en el marco de la cohorte de nacimiento ‘Generation R’ (Ferguson et al., 2019). Este estudio determinó sólo metabolitos DAPs (no TCPy ni 3-PBA) en muestras de orina recogidas en tres momentos del embarazo como indicadores de la exposición y evaluó la asociación de sus concentraciones promedio a lo largo del embarazo con medidas repetidas de biometrías fetales (circunferencia cefálica, longitud y peso fetal) a mitad (20,4 semanas de gestación) y final del embarazo (20,4 y 30,4 semanas de gestación, respectivamente) y con medidas antropométricas en momento del parto.

Según Ferguson et al. (2019), un aumento en los niveles urinarios de DAPs a principios y mitad del embarazo se asoció con una disminución del peso y talla fetal estimados a mitad del embarazo, pero no en el momento del parto (antropometría neonatal), siendo las asociaciones más fuertes en niños que en niñas. Las estimaciones del efecto fueron de mayor magnitud y precisión para las concentraciones de DAP medidas al principio del embarazo, indicativo de que la exposición en esos momentos precoces del desarrollo embrionario puede ser una ventana temporal de mayor vulnerabilidad para que la exposición a OP afecte el crecimiento fetal. Las diferencias en el crecimiento al principio del embarazo pueden ser cruciales para la salud en etapas posteriores de la vida. Un retraso en el crecimiento fetal en el primer trimestre se asocia a un aumento de peso más

rápido en la primera infancia (Mook- Kanamori et al., 2010) y a perfiles cardiovasculares adversos en niños en edad escolar (Jaddoe et al., 2014).

Los datos e información del estudio de Ferguson et al. (2019) se utilizaron posteriormente en un artículo de revisión (Kamai et al., 2019) y en otro que realizó un análisis de mezclas a varios compuestos, incluyendo los DAPs (Van den Dries et al., 2021). Por tanto, el que tres estudios diferentes publiquen datos sobre DAPs y ecografías fetales seriadas no indica que haya tres conjuntos de datos diferentes, sino que se refieren al mismo.

#### **6.4 Posibles mecanismos etiológicos implicados**

La información disponible sobre los posibles mecanismos implicados en la alteración del crecimiento fetal tras la exposición a los metabolitos de plaguicidas OPs y piretroides, y en general a la de compuestos no persistentes, es limitada. Se ha sugerido que pueden actuar a través de algunos factores maternos, placentarios y fetales. La dieta materna durante el embarazo influye en el crecimiento fetal y también es una fuente principal de exposición a algunas sustancias químicas no persistentes (van den Dries et al., 2021).

Según Kamai et al. (2019), el ambiente materno durante la gestación es un factor importante en el crecimiento fetal que puede ser más importante que la genética. La exposición a sustancias químicas durante el embarazo puede afectar la implantación, el crecimiento y la transferencia de nutrientes a través de la placenta, o provocar cambios en el feto que influyan sobre su crecimiento. Existe evidencia en estudios experimentales y epidemiológicos de que el estrés oxidativo materno y la inflamación (muy interrelacionados entre sí) están asociados con la restricción del crecimiento fetal, por interferir la invasión del trofoblasto en el desarrollo placentario. Los insecticidas OPs y

piretroides se han asociado con la inducción de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, así como con un aumento de la expresión de determinadas citoquinas proinflamatorias (Shelton et al., 2012). También hay cierta evidencia de que pueden interferir con la función (neuro)endocrina (Cecchi et al., 2012; Ye and Liu, 2019), lo que puede dar lugar a efectos específicos en cada sexo. Por otra parte, se han descrito algunos factores modificadores de efecto, entre ellos polimorfismos genéticos de PON1 y raza de la madre (Harley et al., 2016), aunque los resultados no siempre son consistentes.

Los efectos adversos sobre el crecimiento fetal y edad gestacional derivados de la exposición a dosis bajas de plaguicidas no persistentes durante el embarazo pueden contrarrestarse por los efectos beneficiosos de la ingesta de frutas. Así, aunque se ha descrito una asociación directa entre metabolitos urinarios de piretroides con la ingesta materna de frutas, en la misma población se observó una asociación inversa con el riesgo de pequeño tamaño para la edad gestacional (Xu et al., 2020).

### **6.5 Limitaciones y fortalezas del presente estudio**

El presente estudio también tiene algunas limitaciones, como el hecho de que sólo se realizó una única medición de las concentraciones en orina de los metabolitos de interés durante el primer y el tercer trimestre del embarazo. El uso de concentraciones en orina en momentos específicos como medio para evaluar los niveles de plaguicidas no persistentes, como los organofosforados y los piretroides, puede no representar plenamente la exposición durante todo el embarazo. Esto se debe al rápido metabolismo y excreción de estos compuestos. Debido a su corta vida media, los niveles en orina pueden variar a lo largo de cualquier día u hora y, además, presentan una considerable

variabilidad intraindividual a lo largo del tiempo. El uso de mediciones seriadas durante cada trimestre del embarazo mejoraría la precisión de la evaluación de la exposición.

Otra limitación es que los metabolitos urinarios de los DAPs reflejan no sólo la exposición directa a los compuestos tóxicos OP parentales, sino también a metabolitos preformados en el medio ambiente. Es decir, los compuestos OP parentales pueden descomponerse en el medio ambiente en DAPs, dando lugar a una exposición directa a los mismos en lugar de a OPs. Por lo tanto, atribuir todos los DAPs presentes en orina a la exposición directa a OPs sobreestimaría la verdadera exposición, ya que no se sabe con certeza hasta qué punto las concentraciones totales de metabolitos DAPs en orina reflejan la exposición real a OPs o a los metabolitos DAPs menos tóxicos (Quiros-Alcalá et al., 2012).

A pesar de estas limitaciones, el uso de los niveles de DAPs en orina como indicadores de la exposición a los plaguicidas OP es probablemente la medida más utilizada de la exposición a esta familia de plaguicidas.

Otro punto fuerte del presente estudio es que, al tratarse de una cohorte prospectiva, el reclutamiento de participantes se llevó a cabo desde el principio del embarazo (una media de 13 semanas de gestación). Esto favoreció la recogida de muestras de orina y la obtención de datos relevantes para el estudio y permitió realizar un seguimiento de las participantes que abarcó todo el embarazo hasta el parto. Por otro lado, el presente estudio es el primer estudio longitudinal en España que ha evaluado el efecto de la exposición a plaguicidas organofosforados y piretroides sobre el crecimiento fetal evaluado a través de medidas antropométricas al nacer y biometrías fetales seriadas.

En conclusión, este estudio demuestra que la exposición prenatal a insecticidas organofosforados y piretroides podría afectar al crecimiento fetal normal y alterar las medidas antropométricas al nacer y la edad gestacional, lo que podría ser un indicador



precoz de alteraciones en los procesos madurativos durante la infancia. Esto, a su vez, puede tener implicaciones para la salud de los individuos a lo largo de la vida. Además, nuestro estudio pone de relieve el dimorfismo sexual en la vulnerabilidad a los factores estresantes prenatales. Debido a la escasez de pruebas en el momento de redactar este informe y a la inconsistencia de los datos disponibles, se insta a realizar más estudios para verificar los resultados aquí comunicados o arrojar nueva luz sobre las diferencias observadas.

## **CONCLUSIONES**

---

## 7. CONCLUSIONES

1. Este estudio encontró niveles bajos de metabolitos de insecticidas organofosforados y piretroides en orina de 1º y 3º trimestre de embarazo, con una elevada proporción de casos con niveles no detectables de 3-PBA y TCPy. En general, estos niveles fueron más bajos que los publicados en otros estudios similares de cohortes de nacimiento realizados tanto en Europa, EEUU y Asia.
2. La exposición prenatal a insecticidas organofosforados y piretroides pueden alterar las medidas antropométricas al nacer, al haber observado una disminución del peso y la talla al nacer (aunque en este último caso los resultados son algo inconsistentes) y una disminución de la circunferencia cefálica, especialmente con el total de DAPs y con el TCPy, lo que sugiere un posible papel relevante del insecticida organofosforado clorpirifós. Asimismo, se observó que los niveles detectables de 3-PBA se asociaban con un acortamiento de la edad gestacional y un mayor riesgo de prematuridad, especialmente con en el 3º trimestre de embarazo, indicativo de que los insecticidas piretroides pueden interferir con el desarrollo fetal intrauterino.
3. En cuanto a los parámetros de biometría fetal, la exposición prenatal a insecticidas organofosforados (especialmente los metabolitos dimetilos) se asoció con un aumento de PFE y CC. Por su parte, los niveles detectables de TCPy así como los del metabolito dietilo DETP se asociaron con una disminución de la LF. Asimismo, los niveles detectables de 3-PBA se asociaron con un aumento de la CC. Estos resultados sugieren que la

exposición a insecticidas comúnmente utilizados (organofosforados y piretroides) pueden interferir con el crecimiento fetal durante el periodo gestacional, aunque el posible mecanismo patogénico implicado es difícil de establecer con la información disponible en la actualidad.

4. Al estratificar por sexo, se observaron diferencias significativas en la antropometría al nacer y los parámetros biométricos fetales. Los niños varones parecen mostrar una mayor afectación por la exposición prenatal a insecticidas organofosforados y piretroides, al mostrar una reducción de la talla y CC al nacer con la exposición a DAPs. Asimismo, los niños mostraron una menor LF con la exposición a TCPy y un aumento de la CC con la exposición a niveles detectables de DMDTP (un metabolito dimetilo) y de 3-PBA. Sin embargo, las niñas mostraron un mayor PFE con los niveles totales de DAPs. Todo ello sugiere efectos específicos según el sexo que podría actuar en cierta medida como modificar de efecto.

## **BIBLIOGRAFIA**

---

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Androutsopoulos VP, Hernandez AF, Liesivuori J, Tsatsakis AM. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides. *Toxicology*. 2013 May;10;307:89-94. doi: 10.1016/j.tox.2012.09.011.
- Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health*. 2007;May;210(3-4):201-28. doi: 10.1016/j.ijheh.2007.01.024
- Arduini D. & Giacomello F. 2009. Fetal biometry, estimation of gestational age, assessment of fetal growth, p.141-155. In: Wladimiroff J.W. & Eik-Nes S.H. (Eds), *Ultrasound in Obstetrics and Gynaecology*. Elsevier, New York.
- Badii M, Varela S. Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *CULCyT Cult Científica y Tecnológica* .2008;(28):5–17
- Balalian AA, Liu X, Herbstman JB, Daniel S, Whyatt R, Rauh V, Calafat AM, Wapner R, Factor-Litvak P. Prenatal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and size at birth in urban pregnant women. *Environ Res*. 2021 Oct;201:111539. doi: 10.1016/j.envres.2021.111539.
- Barker DJ. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 2006;Jun;49(2):270-83. doi: 10.1097/00003081-200606000-00009.
- Barker DJ. In utero programming of cardiovascular disease. *Theriogenology*. 2000;Jan 15;53(2):555-74. doi: 10.1016/s0093-691x(99)00258-7.
- Barr DB, Angerer J. Potential uses of biomonitoring data: a case study using the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and malathion. *Environ Health Perspect* .2006: Nov;114(11):1763-9. doi: 10.1289/ehp.9062.

- Barr DB, Bravo R, Weerasekera G, Caltabiano LM, Whitehead RD Jr, Olsson AO, Caudill SP, Schober SE, Pirkle JL, Sampson EJ, Jackson RJ, Needham LL. Concentrations of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population. *Environ Health Perspect.* 2004 Feb;112(2):186-200. doi: 10.1289/ehp.6503.
- Barr DB, Wong LY, Bravo R, Weerasekera G, Odetokun M, Restrepo P, Kim DG, Fernandez C, Whitehead RD Jr, Perez J, Gallegos M, Williams BL, Needham LL. Urinary concentrations of dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. *Int J Environ Res Public Health.* 2011 Aug;8(8):3063-98. doi: 10.3390/ijerph8083063
- Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr.* 1967;Aug;71(2):159-63. doi: 10.1016/s0022-3476(67)80066-0
- Berkowitz GS, Wetmur JG, Birman-Deych E, Obel J, Lapinski RH, Godbold JH, Holzman IR, Wolff MS. In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference. *Environ Health Perspect.* 2004;Mar;112(3):388-91. doi: 10.1289/ehp.6414.
- Bielawski, D., Ostrea, E., Posecion, N., Corrion, M., Seagraves, J. Detection of Several Classes of Pesticides and Metabolites in Meconium by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chroma.* 2005;62, 623–629. doi: 10.1365/s10337-005-0668-7
- Bradman A, Barr DB, Claus Henn BG, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of

- prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect.* .2003:Nov;111(14):1779-82. doi: 10.1289/ehp.6259.
- Bradman, A., Whyatt, R. M. Characterizing exposures to nonpersistent pesticides during pregnancy and early childhood in the National Children's Study: a review of monitoring and measurement methodologies. *Environmental Health Perspectives* .2005:113(8), 1092-1099
- Budnik LT, Baur X. The assessment of environmental and occupational exposure to hazardous substances by biomonitoring. *Dtsch Arztebl Int.* 2009:Feb;106(6):91-7. doi: 10.3238/arztebl.2009.0091
- Burns CJ, Pastoor TP. Pyrethroid epidemiology: a quality-based review. *Crit Rev Toxicol.* 2018:Apr;48(4):297-311. Doi: 10.1080/10408444.2017.1423463.
- Carrascosa, A. Crecimiento intrauterino: factores reguladores. Retraso de crecimiento intrauterino. *Anales de Pediatría.* 2003:Junio;58(S2):55-73. <https://www.analesdepediatría.org/es-crecimiento-intrauterino-factores-reguladores-retraso-articulo-13048406>
- Cecchi A, Rovedatti MG, Sabino G, Magnarelli GG. Environmental exposure to organophosphate pesticides: assessment of endocrine disruption and hepatotoxicity in pregnant women. *Ecotoxicol Environ Saf.* .2012:Jun;80:280-7. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.03.008
- Chevrier J, Rauch S, Crause M, Obida M, Gaspar F, Bornman R, Eskenazi B. Associations of Maternal Exposure to Dichlorodiphenyltrichloroethane and Pyrethroids With Birth Outcomes Among Participants in the Venda Health Examination of Mothers,



- Babies and Their Environment Residing in an Area Sprayed for Malaria Control. *Am J Epidemiol.* 2019;Jan 1;188(1):261. doi: 10.1093/aje/kwy143.
- Crisostomo L, Molina VV. Pregnancy outcomes among farming households of Nueva Ecija with conventional pesticide use versus integrated pest management. *Int J Occup Environ Health.* 2002;Jul-Sep;8(3):232-42. doi: 10.1179/107735202800338812.
- Dabrowski S, Hanke W, Polańska K, Makowiec-Dabrowska T, Sobala W. Pesticide exposure and birthweight: an epidemiological study in Central Poland. *Int J Occup Med Environ Health.* 2003;16(1):31-9.
- Dalsager, L., Christensen, L.E., Kongsholm, M.G., Kyhl, H.B., Nielsen, F., Schoeters, G., Jensen, T.K., Andersen, H.R., 2018. Associations of maternal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides and the herbicide 2,4-D with birth outcomes and anogenital distance at 3 months in the Odense Child Cohort. *Reprod. Toxicol.* 76, 53–62. doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.12.008.
- Deter RL, Lee W, Yeo L, Erez O, Ramamurthy U, Naik M, Romero R. Individualized growth assessment: conceptual framework and practical implementation for the evaluation of fetal growth and neonatal growth outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;Feb;218(2S):S656-S678. doi: 10.1016/j.ajog.2017.12.210.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2017. The 2015 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal* 2017;15(4):4791,134 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4791.
- Eskenazi B, Harley K, Bradman A, Weltzien E, Jewell NP, Barr DB, Furlong CE, Holland NT.200. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal

- growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ Health Perspect.* 2004;Jul;112(10):1116-24. doi: 10.1289/ehp.6789.
- FAO. 1986: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides., 1986
- Ferguson KK, van den Dries MA, Gaillard R, Pronk A, Spaan S, Tiemeier H, Jaddoe VVW. Organophosphate Pesticide Exposure in Pregnancy in Association with Ultrasound and Delivery Measures of Fetal Growth. *Environ Health Perspect.* 2019 Aug;127(8):87005. doi: 10.1289/EHP4858.
- Fernández SF, Pardo O, Adam-Cervera I, Montesinos L, Corpas-Burgos F, Roca M, Pastor A, Vento M, Cernada M, Yusà V; BETTERMILK. Biomonitoring of non-persistent pesticides in urine from lactating mothers: Exposure and risk assessment. 2020;Jan;10;699:134385. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134385
- Figueroa ZI, Young HA, Meeker JD, Martenies SE, Barr DB, Gray G, Perry MJ. Dialkyl phosphate urinary metabolites and chromosomal abnormalities in human sperm. *Environ Res.* 2015 Nov;143(Pt A):256-65. doi: 10.1016/j.envres.2015.10.021
- Forhead AJ, Fowden AL. Thyroid hormones in fetal growth and parturition maturation. *J Endocrinol.* 2014 Jun;221(3):R87-R103. doi: 10.1530/JOE-14-0025.
- Fukuto TR. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ Health Perspect.* 1990;87:245-54.
- Furlong CE, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lulis AJ, Alleva E, Costa LG. Genetic and temporal determinants of pesticide sensitivity: role of paraoxonase (PON1). *Neurotoxicology.* 2000 Feb-Apr;21(1-2):91-100.

- Gaillard R, Steegers EA, de Jongste JC, Hofman A, Jaddoe VW. Tracking of fetal growth characteristics during different trimesters and the risks of adverse birth outcomes. *Int J Epidemiol.* 2014 Aug;43(4):1140-53. doi: 10.1093/ije/dyu036.
- Gardosi J. Customized charts and their role in identifying pregnancies at risk because of fetal growth restriction. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014 May;36(5):408-415. doi: 10.1016/S1701-2163(15)30587-9.
- Gardosi J. Customized growth curves. *Clin Obstet Gynecol.* 1997 Dec;40(4):715-22. doi: 10.1097/00003081-199712000-00005.
- Ghi T, Cariello L, Rizzo L, Ferrazzi E, Periti E, Prefumo F, Stampalija T, Viora E, Verrotti C, Rizzo G; Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica Working Group on Fetal Biometric Charts. Customized Fetal Growth Charts for Parents' Characteristics, Race, and Parity by Quantile Regression Analysis: A Cross-sectional Multicenter Italian Study. *J Ultrasound Med.* 2016 Jan;35(1):83-92. doi: 10.7863/ultra.15.03003.
- Gimenez-Asensio MJ, Hernandez AF, Romero-Molina D, Gonzalez-Alzaga B, Luzardo OP, Henríquez-Hernández LA, Boada LD, García-Cortés H, Lopez-Flores I, Sanchez-Piedra MD, Aguilar-Garduño C, Lacasaña M. Effect of prenatal exposure to organophosphates and pyrethroid pesticides on neonatal anthropometric measures and gestational age. *Environ Res.* 2023 Sep 1;232:116410. doi: 10.1016/j.envres.2023.116410.
- Goldman RH., Wylie BJ. Overview of occupational and environmental risks to reproduction in females. 2017:<https://www.uptodate.com/contents/overview-of-occupational-and-environmental-risks-to-reproduction-in-females>

- González-González A, Rodríguez-González R, Herrero-Ruiz B. Ecografía en obstetricia. *An Pediatr Contin*. 2009;7:39-44. doi: 10.1016/S1696-2818(9)70450-0.
- Granada-Ybern, M. L. (2006). Factor de crecimiento similar a la insulina y sus proteínas de transporte. *Endocrinología y Nutrición*, 53(7), 467-475.
- Hadlock FP, Harrist RB, Carpenter RJ, Deter RL, Park SK. Sonographic estimation of fetal weight. *Radiology*. 1984;150:535-40.
- Hanke W, Romitti P, Fuortes L, Sobala W, Mikulski M. The use of pesticides in a Polish rural population and its effect on birth weight. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003;Oct;76(8):614-20. doi: 10.1007/s00420-003-0471-4.
- Harley KG, Engel SM, Vedar MG, Eskenazi B, Whyatt RM, Lanphear BP, Bradman A, Rauh VA, Yolton K, Hornung RW, Wetmur JG, Chen J, Holland NT, Barr DB, Perera FP, Wolff MS. Prenatal Exposure to Organophosphorous Pesticides and Fetal Growth: Pooled Results from Four Longitudinal Birth Cohort Studies. *Environ Health Perspect*. 2016 Jul;124(7):1084-92. doi: 10.1289/ehp.1409362.
- Harley KG, Huen K, Aguilar Schall R, Holland NT, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B. Association of organophosphate pesticide exposure and paraoxonase with birth outcome in Mexican-American women. *PLoS One* .2011;6(8):e23923. doi: 10.1371/journal.pone.0023923.
- Heindel JJ, Balbus J, Birnbaum L, Brune-Drisse MN, Grandjean P, Gray K, Landrigan PJ, Sly PD, Suk W, Cory Slechta D, Thompson C, Hanson M. Developmental Origins of Health and Disease: Integrating Environmental Influences. *Endocrinology*. 2015;Oct;156(10):3416-21. doi: 10.1210/EN.2015-1394

- Hernández AF, Gil F, Lacasaña M. Toxicological interactions of pesticide mixtures: an update. *Arch Toxicol* .2017;Oct;91(10):3211-3223. doi: 10.1007/s00204-017-2043-5.
- Hernández AF, Lozano-Paniagua D, González-Alzaga B, Kavvalakis MP, Tzatzarakis MN, López-Flores I, Aguilar-Garduño C, Caparros-Gonzalez RA, Tsatsakis AM, Lacasaña M. Biomonitoring of common organophosphate metabolites in hair and urine of children from an agricultural community. *Environ Int* .2019;Oct;131:104997. doi: 10.1016/j.envint.2019.104997
- Hertz-Picciotto I, Sass JB, Engel S, Bennett DH, Bradman A, Eskenazi B, Lanphear B, Whyatt R. Organophosphate exposures during pregnancy and child neurodevelopment: Recommendations for essential policy reforms. *PLoS Med* .2018;Oct 24;15(10):e1002671. doi: 10.1371/journal.pmed.1002671
- Hinojosa-Nogueira D, Romero-Molina D, Giménez-Asensio MJ, Gonzalez-Alzaga B, López-Flores I, Cueva SP, Rufián-Henares JÁ, Hernández AF, Lacasaña M. Validity and Reproducibility of a Food Frequency Questionnaire to Assess Nutrients Intake of Pregnant Women in the South-East of Spain. *Nutrients*. 2021;13(9):3032. doi: 10.3390/nu13093032.
- Hoffman K, Stapleton HM, Lorenzo A, Butt CM, Adair L, Herring AH, Daniels JL. Prenatal exposure to organophosphates and associations with birthweight and gestational length. *Environ Int*. 2018;Jul;116:248-254. doi: 10.1016/j.envint.2018.04.016.
- Huang YF, Pan WC, Tsai YA, Chang CH, Chen PJ, Shao YS, Tsai MS, Hou JW, Lu CA, Chen ML. Concurrent exposures to nonylphenol, bisphenol A, phthalates, and

- organophosphate pesticides on birth outcomes: A cohort study in Taipei, Taiwan. *Sci Total Environ.* 2017;Dec 31;607-608:1126-1135. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.092.
- Iñiguez C, Esplugues A, Sunyer J, Basterrechea M, Fernández-Somoano A, Costa O, Estarlich M, Aguilera I, Lertxundi A, Tardón A, Guxens M, Murcia M, Lopez-Espinosa MJ, Ballester F; INMA Project. Prenatal Exposure to NO<sub>2</sub> and Ultrasound Measures of Fetal Growth in the Spanish INMA Cohort. *Environ Health Perspect.* 2016 Feb;124(2):235-42. doi: 10.1289/ehp.1409423.
- Jaacks LM, Diao N, Calafat AM, Ospina M, Mazumdar M, Ibne Hasan MOS, Wright R, Quamruzzaman Q, Christiani DC. Association of prenatal pesticide exposures with adverse pregnancy outcomes and stunting in rural Bangladesh. *Environ Int.* 2019;Dec;133(Pt B):105243. doi: 10.1016/j.envint.2019.105243.
- Jaddoe VW, de Jonge LL, Hofman A, Franco OH, Steegers EA, Gaillard R. First trimester fetal growth restriction and cardiovascular risk factors in school age children: population based cohort study. *BMJ.* 2014 Jan 23;348:g14. doi: 10.1136/bmj.g14
- Jaffe M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Physiol. Chem.* 1886; 10(5): 391-400. <https://doi.org/10.1515/bchm1.1886.10.5.391>.
- Julien R, Adamkiewicz G, Levy JI, Bennett D, Nishioka M, Spengler JD. Pesticide loadings of select organophosphate and pyrethroid pesticides in urban public housing. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2008 Mar;18(2):167-74. doi: 10.1038/sj.jes.7500576.

- Kamai EM, McElrath TF, Ferguson KK. Fetal growth in environmental epidemiology: mechanisms, limitations, and a review of associations with biomarkers of non-persistent chemical exposures during pregnancy. *Environ Health*. 2019;May 8;18(1):43. doi: 10.1186/s12940-019-0480-8.
- Kapka-Skrzypczak L, Cyranka M, Skrzypczak M, Kruszewski M. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure - state of the art. *Ann Agric Environ Med*. 2011;18(2):294-303.
- Kase BA, Carreno CA, Blackwell SC. Customized estimated fetal weight: a novel antenatal tool to diagnose abnormal fetal growth. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Sep;207(3):218.e1-5. doi: 10.1016/j.ajog.2012.06.014.
- Kazemi M, Tahmasbi a M, Valizadeh R, Naserian a a, Soni A. Organophosphate pesticides: A general review. *Agric Sci Res Journals [Internet]*. 2012;2(9):512–22. Available from: <http://www.resjournals.com/ARJ>
- Kiserud T, Piaggio G, Carroli G, Widmer M, Carvalho J, Neerup Jensen L, Giordano D, Cecatti JG, Abdel Aleem H, Talegawkar SA, Benachi A, Diemert A, Tshetu Kitoto A, Thinkhamrop J, Lumbiganon P, Tabor A, Kriplani A, Gonzalez Perez R, Hecher K, Hanson MA, Gülmezoglu AM, Platt LD. The World Health Organization Fetal Growth Charts: A Multinational Longitudinal Study of Ultrasound Biometric Measurements and Estimated Fetal Weight. *PLoS Med*. 2017;Jan 24;14(1):e1002220. doi: 10.1371/journal.pmed.1002220.
- Kissel JC, Curl CL, Kedan G, Lu C, Griffith W, Barr DB, Needham LL, Fenske RA. Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple

- daily urine samples collected from preschool children in Washington State. 2005:Mar;15(2):164-71. doi: 10.1038/sj.jea.7500384
- Kobayashi S, Sata F, Kishi R. Gene-environment interactions related to maternal exposure to environmental and lifestyle-related chemicals during pregnancy and the resulting adverse fetal growth: a review. *Environ Health Prev Med* .2022;27(0):24. doi: 10.1265/ehpm.21-00033
- Koutroulakis D, Sifakis S, Tzatzarakis MN, Alegakis AK, Theodoropoulou E, Kavvalakis MP, Kappou D, Tsatsakis AM. Dialkyl phosphates in amniotic fluid as a biomarker of fetal exposure to organophosphates in Crete, Greece; association with fetal growth. *Reprod Toxicol*. 2014:Jul;46:98-105. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.03.010.
- Lehmann E, Oltramare C, Nfon Dibié JJ, Konaté Y, de Alencastro LF. Assessment of human exposure to pesticides by hair analysis: The case of vegetable-producing areas in Burkina Faso. *Environ Int* .2018:Feb;111:317-331. doi: 10.1016/j.envint.2017.10.025
- Lin CC, Santolaya-Forgas J. Current concepts of fetal growth restriction: part I. Causes, classification, and pathophysiology. *Obstet Gynecol*. 1998:Dec;92(6):1044-55. doi: 10.1016/s0029-7844(98)00328-7
- Liu P, Wu C, Chang X, Qi X, Zheng M, Zhou Z. Adverse Associations of both Prenatal and Postnatal Exposure to Organophosphorous Pesticides with Infant Neurodevelopment in an Agricultural Area of Jiangsu Province, China. *Environ Health Perspect*. 2016 Oct;124(10):1637-1643. doi: 10.1289/EHP196.



- Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller LA. Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect.* 2008 Apr;116(4):537-42. doi: 10.1289/ehp.10912.
- Mage DT, Allen RH, Gundy G, Smith W, Barr DB, Needham LL. Estimating pesticide dose from urinary pesticide concentration data by creatinine correction in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES-III). *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2004;14(6):457-65. doi: 10.1038/sj.jea.7500343.
- Magnarelli G. Environmental exposure to pesticides: biomarkers in matrices of the mother-placenta-fetus triad. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* .2015: vol. 49, no 1, p. 39-53
- Mayer C, Joseph KS. Fetal growth: a review of terms, concepts and issues relevant to obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* .2013:Feb;41(2):136-45. doi: 10.1002/uog.11204.
- Miller SL, Huppi PS, Mallard C. The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. *J Physiol.* 2016:Feb;15;594(4):807-23. doi: 10.1113/JP271402.
- Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación (MAPA). Encuesta de Comercialización de Productos Fitosanitarios 2021. Subsecretaría. Subdirección General de Análisis, Coordinación y Estadística. Accesible en: [https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/resultadoscomercializacionfitosanitarios2021\\_tcm30-647550.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/resultadoscomercializacionfitosanitarios2021_tcm30-647550.pdf)
- Monier I, Ancel PY, Ego A, Jarreau PH, Lebeaux C, Kaminski M, Goffinet F, Zeitlin J; EPIPAGE 2 Study Group. Fetal and neonatal outcomes of preterm infants born

- before 32 weeks of gestation according to antenatal vs postnatal assessments of restricted growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;May;216(5):516.e1-516.e10. doi: 10.1016/j.ajog.2017.02.001.
- Mook-Kanamori DO, Steegers EA, Eilers PH, Raat H, Hofman A, Jaddoe VW. Risk factors and outcomes associated with first-trimester fetal growth restriction. *JAMA.* 2010 Feb 10;303(6):527-34. doi: 10.1001/jama.2010.78.
- Moya J, Phillips L, Sanford J, Wooton M, Gregg A, Schuda L. A review of physiological and behavioral changes during pregnancy and lactation: potential exposure factors and data gaps. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2014;Sep-Oct;24(5):449-58. doi: 10.1038/jes.2013.92.
- Mulkey SB, Govindan RB, Hitchings L, Al-Shargabi T, Herrera N, Swisher CB, Eze A Jr, Russo S, Schlatterer SD, Jacobs MB, McCarter R, Kline A, Maxwell GL, Baker R, du Plessis AJ. Autonomic nervous system maturation in the premature extrauterine milieu. *Pediatr Res.* 2021;Mar;89(4):863-868. doi: 10.1038/s41390-020-0952-0
- Naksen W, Prapamontol T, Mangklabruks A, Chantara S, Thavornnyutikarn P, Srinual N, Panuwet P, Ryan PB, Riederer AM, Barr DB. Associations of maternal organophosphate pesticide exposure and PON1 activity with birth outcomes in SAWASDEE birth cohort, Thailand. *Environ Res.* 2015;Oct;142:288-96. doi: 10.1016/j.envres.2015.06.035.
- Nigg HN, Knaak JB. Blood cholinesterases as human biomarkers of organophosphorus pesticide exposure. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2000;163:29-111. doi: 10.1007/978-1-4757-6429-1\_2

- Nuseir KQ, Tahaineh L, Al-Mehaisen LM, Al-Kuran O, Ayoub NM, Mukattash TL, Al-Rawi N. Organophosphate pesticide exposure prenatally influence on pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2022 Dec;35(25):4841-4846. doi: 10.1080/14767058.2020.1869719.
- Obiols J. Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética. [Consultado: febrero de 2023]. Disponible en: [http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp\\_512.htm](http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_512.htm)
- O'Gorman N, Salomon LJ. Fetal biometry to assess the size and growth of the fetus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;May;49:3-15. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.005.
- Padmanabhan V, Cardoso RC, Puttabyatappa M. Developmental Programming, a Pathway to Disease. *Endocrinology.* 2016;Apr;157(4):1328-40. doi: 10.1210/en.2016-1003.
- Perera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, Bernert T, Garfinkel R, Tu YH, Diaz D, Dietrich J, Whyatt RM. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environ Health Perspect.* 2003;Feb;111(2):201-5. doi: 10.1289/ehp.5742.
- Perrier F, Giorgis-Allemand L, Slama R, Philippat C. Within-subject Pooling of Biological Samples to Reduce Exposure Misclassification in Biomarker-based Studies. *Epidemiology.* 2016;May;27(3):378-88. doi: 10.1097/EDE.0000000000000460
- Pore NE, Pujari KN, Jadkar SP. Organophosphorus poisoning. *Int J Pharma Bio Sci.* 2011;2(4):604-12.

- Quirós-Alcalá L, Bradman A, Smith K, Weerasekera G, Odetokun M, Barr DB, Nishioka M, Castorina R, Hubbard AE, Nicas M, Hammond SK, McKone TE, Eskenazi B. Organophosphorous pesticide breakdown products in house dust and children's urine. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2012 Nov;22(6):559-68. doi: 10.1038/jes.2012.46.
- Rauch SA, Braun JM, Barr DB, Calafat AM, Khoury J, Montesano AM, Yolton K, Lanphear BP. Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. *Environ Health Perspect*. 2012:Jul;120(7):1055-60. doi: 10.1289/ehp.1104615.
- Roberts JR, Karr CJ. Pesticide exposure in children. *Pediatrics*. 2012:May;131(5):1013-4.
- Roland MC, Friis CM, Voldner N, Godang K, Bollerslev J, Haugen G, Henriksen T. Fetal growth versus birthweight: the role of placenta versus other determinants. *PLoS One*. 2012;7(6):e39324. doi: 10.1371/journal.pone.0039324.
- Sacks DA. Determinants of fetal growth. *Curr Diab Rep*. 2004:Aug;4(4):281-7. doi: 10.1007/s11892-004-0080-y.
- Saillenfait AM, Ndiaye D, Sabaté JP. Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *Int J Hyg Environ Health*. 2015:May;218(3):281-92. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.01.002
- Salomon LJ, Alfirevic Z, Da Silva Costa F, Deter RL, Figueras F, Ghi T, Glanc P, Khalil A, Lee W, Napolitano R, Papageorgiou A, Sotiriadis A, Stirnemann J, Toi A, Yeo G. ISUOG Practice Guidelines: ultrasound assessment of fetal biometry and

- growth. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019;Jun;53(6):715-723. doi: 10.1002/uog.20272.
- Sánchez, B.N., Hu, H., Litman, H.J., Téllez-Rojo, M.M., 2011. Statistical Methods to Study Timing of Vulnerability with Sparsely Sampled Data on Environmental Toxicants. *Environ Health Perspect* 119 (3), 409-4015.
- Schettler, T., Solomon, G.M., Valenti, M., and Huddle, A. (1999) *Generations at risk: reproductive health and the environment*, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, England.
- Shelton JF, Hertz-Picciotto I, Pessah IN. Tipping the balance of autism risk: potential mechanisms linking pesticides and autism. *Environ Health Perspect.* 2012 Jul;120(7):944-51. doi: 10.1289/ehp.1104553.
- Shen G.X., Ke, F.Y., Zhang, J.Q. Investigation and Evaluation of the Contents of Pollutants in Greenhouse Vegetables in Shanghai (Chinese). *Shanghai Environmental Sciences.* 2002 ;21(8):475-477.
- Smith NA, Bukowski R, Thomas AM, Cantonwine D, Zera C, Robinson JN. Identification of pathologically small fetuses using customized, ultrasound and population-based growth norms. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014 Nov;44(5):595-9. doi: 10.1002/uog.13333.
- Street ME, Bernasconi S. Endocrine-Disrupting Chemicals in Human Fetal Growth. *Int J Mol Sci.* 2020;Feb 20;21(4):1430. doi: 10.3390/ijms21041430.
- Suwannakul B, Sapbamrer R, Wiwattanadittakul N, Hongsibsong S. Prenatal organophosphate exposure can cause adverse birth outcomes to humans. *Environ*

- Sci Pollut Res Int. 2021;Sep;28(33):45064-45074. doi: 10.1007/s11356-021-13974-8.
- Tan CMJ, Lewandowski AJ. The Transitional Heart: From Early Embryonic and Fetal Development to Neonatal Life. *Fetal Diagn Ther* .2020;47(5):373-386. doi: 10.1159/000501906
- Terry AV Jr. Functional consequences of repeated organophosphate exposure: potential non-cholinergic mechanisms. *Pharmacol Ther*. 2012: Jun;134(3):355-65. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.03.001.
- Tsatsakis AM, Tutudaki M, Tzatzarakis MN, Dawson A, Mohamed F, Christaki M, Alegakis AK. Is hair analysis for dialkyl phosphate metabolites a suitable biomarker for assessing past acute exposure to organophosphate pesticides?. *Hum Exp Toxicol* .2012;Mar;31(3):266-73. doi: 10.1177/0960327111403171
- Van den Dries MA, Keil AP, Tiemeier H, Pronk A, Spaan S, Santos S, Asimakopoulos AG, Kannan K, Gaillard R, Guxens M, Trasande L, Jaddoe VWV, Ferguson KK. Prenatal Exposure to Nonpersistent Chemical Mixtures and Fetal Growth: A Population-Based Study. *Environ Health Perspect*. 2021 Nov;129(11):117008. doi: 10.1289/EHP9178.
- Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, Lambert A, Papageorgiou AT, Carvalho M, Jaffer YA, Gravett MG, Purwar M, Frederick IO, Noble AJ, Pang R, Barros FC, Chumlea C, Bhutta ZA, Kennedy SH; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st). International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the New born Cross-Sectional Study of the

- INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;6;384(9946):857-68. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60932-6.
- Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Gimenez-Monzó D, García-de-la-Hera M, Granado F, Young IS, Ramón R, Ballester F, Murcia M, Rebagliato M, Iñiguez C; INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutr J*. 2013 Feb 19;12:26. doi: 10.1186/1475-2891-12-26.
- Vizcaino E, Grimalt JO, Fernández-Somoano A, Tardon A. Transport of persistent organic pollutants across the human placenta. *Environ Int*. 2014;Apr;65:107-15. doi: 10.1016/j.envint.2014.01.004.
- Vrijheid M, Casas M, Gascon M, Valvi D, Nieuwenhuijsen M. Environmental pollutants and child health-A review of recent concerns. *Int J Hyg Environ Health*. 2016;Jul;219(4-5):331-42. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.05.001
- Wang P, Tian Y, Wang XJ, Gao Y, Shi R, Wang GQ, Hu GH, Shen XM. Organophosphate pesticide exposure and perinatal outcomes in Shanghai, China. *Environ Int*. 2012;Jul;42:100-4. doi: 10.1016/j.envint.2011.04.015.
- Wanyonyi SZ, Mutiso SK. Monitoring fetal growth in settings with limited ultrasound access. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 May;49: 29-36. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.001.
- Wessels D, Barr DB, Mendola P. Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: implications for a longitudinal study of children's environmental health. *Environ Health Perspect* .2003;Dec;111(16):1939-46. doi: 10.1289/ehp.6179

- Whyatt RM, Barr DB. Measurement of organophosphate metabolites in postpartum meconium as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect* . 2001:Apr;109(4):417-20. doi: 10.1289/ehp.01109417
- Whyatt RM, Garfinkel R, Hoepner LA, Andrews H, Holmes D, Williams MK, Reyes A, Diaz D, Perera FP, Camann DE, Barr DB. A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ Health Perspect*. 2009:Apr;117(4):559-67. doi: 10.1289/ehp.0800041.
- Whyatt RM, Rauh V, Barr DB, Camann DE, Andrews HF, Garfinkel R, Hoepner LA, Diaz D, Dietrich J, Reyes A, Tang D, Kinney PL, Perera FP. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ Health Perspect*. 2004:Jul;112(10):1125-32. doi: 10.1289/ehp.6641.
- Wilcox AJ, Weinberg CR, Basso O. On the pitfalls of adjusting for gestational age at birth. *Am J Epidemiol*. 2011; 1;174(9):1062-8. doi: 10.1093/aje/kwr230.
- Windham G, Fenster L. Environmental contaminants and pregnancy outcomes. *Fertil Steril*. 2008:Feb;89(2 Suppl):e111-6; discussion e117. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.12.041.
- Wolff, M.S., Engel, S., Berkowitz, G., Teitelbaum, S., Siskind, J., Barr, D.B., Wetmur, J., 2007. Prenatal pesticide and PCB exposures and birth outcomes. *Pediatr. Res.* 62 (4), 450. doi.org/10.1203/pdr.0b013e31802d77f0.
- Woods, M.M., Lanphear, B.P., Braun, J.M., McCandless, L.C., 2017. Gestational exposure to endocrine disrupting chemicals in relation to infant birth weight: a Bayesian analysis of the HOME Study. *Environ. Health* 16 (1), 115. doi.org/10.1186/s12940-017-0332-3.



- Xu Q, Zhu B, Dong X, Li S, Song X, Xiao X, Zhang C, Lv Y, Zhang X, Li Y. Pyrethroid pesticide exposure during early pregnancy and birth outcomes in southwest China: a birth cohort study. *J Toxicol Sci.* 2020;45(5):281-291. doi: 10.2131/jts.45.281.
- Ye X, Liu J. Effects of pyrethroid insecticides on hypothalamic-pituitary-gonadal axis: A reproductive health perspective. *Environ Pollut.* 2019 Feb;245:590-599. doi: 10.1016/j.envpol.2018.11.031.
- Ygberg S, Nilsson A. The developing immune system - from foetus to toddler. *Acta Paediatr.* 2012;Feb;101(2):120-7. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02494.x
- Žaliūnas B, Bartkevičienė D, Drąsutienė G, Utkus A, Kurmanavičius J. Fetal biometry: Relevance in obstetrical practice. *Medicina (Kaunas).* 2017;53(6):357-364. doi: 10.1016/j.medici.2018.01.004.
- Zhang J, Yoshinaga J, Hisada A, Shiraishi H, Shimodaira K, Okai T, Koyama M, Watanabe N, Suzuki E, Shirakawa M, Noda Y, Komine Y, Arika N, Kato N. Prenatal pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of neonates. *Sci Total Environ.* 2014;Aug 1;488-489:275-9. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.04.104.