



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA**



**Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina  
(CICSaB)**



**EVALUACIÓN DE DAÑO TIROIDEO EN MUJERES EXPUESTAS  
CRÓNICAMENTE A ARSÉNICO (AS) Y FLÚOR (F).**

**TESIS QUE PRESENTA**

Q.F.B. Jocelyn Lizeth Ruiz De Avila

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS BIOMÉDICAS BÁSICAS**

CO-DIRECTORES DE TESIS

Dra. Irma Elizabeth González Curiel

Dra. Mariana Salgado Bustamante

Agosto 2020

## **CREDITOS INSTITUCIONALES**

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, bajo la tutoría de la Dra. Irma E. González Curiel y la Dra. Mariana Salgado Bustamante, gracias al apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología que otorgó la beca con número 927695. Para la realización de este trabajo se utilizaron los recursos otorgados por la Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas” bajo el folio UAZ201937750. Además, se contó con el apoyo y participación del Hospital General de Fresnillo “José Ávila Haro”.

Tesis que presenta:

Q.F.B. Jocelyn Lizeth Ruiz De Avila

### **PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS BÁSICAS**

CO-DIRECTORES DE TESIS

Dra. Irma Elizabeth González Curiel

Dra. Mariana Salgado Bustamante

ASESORES INTERNOS

Dra. Leticia Yáñez Estrada

JURADO

Dra. Irma Elizabeth González Curiel

Dra. Mariana Salgado Bustamante

Dra. Leticia Yáñez Estrada

Agosto 2020

# **Evaluación de daño tiroideo en mujeres expuestas crónicamente a arsénico (As) y flúor (F).**

## **Autores.**

**Ruiz de Avila J.L.<sup>1</sup>, Salgado Bustamante M.<sup>1</sup>, Yañez Estrada L.<sup>1</sup>, Martínez-Acuña M.<sup>4</sup>, Rocha Amador D. O.<sup>3</sup>, Medina Morales G.<sup>4</sup>, Santos Mena A.<sup>2</sup>, Godina González S.<sup>4</sup>, Navarro Solís O.<sup>4</sup>, Cázares de Lira C.<sup>5</sup>, Silva Vega M.<sup>5</sup>, Hernández Chávez A.<sup>4</sup>, González-Curiel I.<sup>4</sup>.\***

<sup>1</sup>. Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

<sup>2</sup>. Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

<sup>3</sup>. Unidad Académica de Farmacia, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.

<sup>4</sup>. Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas.

<sup>5</sup>. Hospital General de Fresnillo “José Avila Haro”.

\*Autor corresponsal. [irmaglez2402@hotmail.com](mailto:irmaglez2402@hotmail.com)

## Resumen

El arsénico y el flúor se encuentran de manera natural en los acuíferos de ciertas regiones del mundo, entre ellos se encuentra México, donde se han reportado concentraciones que superan lo establecido por normas nacionales e internacionales. Existen diversas vías de exposición a estos elementos, la inhalatoria, oral y dérmica, la principal forma de exposición no ocupacional es la ingesta de agua. La exposición crónica a dichos elementos puede causar severos problemas de salud en la población, cabe destacar que ambos elementos han sido considerados como perturbadores endocrinos, principalmente en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. La tiroides es una glándula cuya producción de hormonas se encargan de diversos procesos fisiológicos, entre ellos la regulación del metabolismo y la temperatura corporal, además de la maduración del sistema nervioso. En el presente trabajo, se cuantificaron los niveles de hormonas tiroideas por medio de ELISA en muestras de sangre de mujeres residentes en Fresnillo de González Echeverría, municipio de Zacatecas. Así como también, se determinaron ambos elementos mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros y electrodo de ión selectivo, respectivamente, en muestras de agua del municipio y en muestras de orina y sangre de la población de estudio. Los resultados muestran que el 55% de las mujeres presentan alteraciones en los niveles de hormonas tiroideas sin manifestación clínica de enfermedad. Se encontró una correlación negativa entre los niveles de iones fluoruro en agua con T4 libre ( $p < 0.02$ ), T3 total ( $p < 0.02$ ) y TU Cap ( $p < 0.05$ ) de muestras de las mujeres del estudio; además, de una correlación positiva entre hormonas tiroideas TSH ( $p = 0.0284$ ), T4 libre ( $p = 0.0335$ ) y las concentraciones de arsénico urinario. No se observó una asociación entre los niveles de ión fluoruro y arsénico. Estos hallazgos apoyan que tanto el arsénico como el ion fluoruro tienen efecto a nivel tiroideo.

**Palabras clave:** Arsénico, Flúor, Tiroides, Exposición crónica, Población femenina.

## Summary

Arsenic and fluorine can be found naturally in the aquifers of certain regions of the world, including Mexico, where concentrations exceed the standards established by national and international. There are various routes of exposure of these elements as such as inhalation, ingestion and dermic, the mainly non-occupational exposure source is intake of water. Chronic exposure to both elements has been associate with severe health problems in the population. It should be noted that both elements have been considered as endocrine disruptors, mainly in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. The thyroid is a hormones producer gland that are responsible for various physiological processes, including the regulation of metabolism, and body temperature, having a role in maturation of the nervous system. In present work, to identify thyroid alterations caused by exposure to arsenic and fluorine a cross-sectional and observational-descriptive study was carried out with women residing in Fresnillo de Gonzalez Echeverria, through the determination of thyroid hormone levels using ELISA and both elements with generation of hydrides atomic absorption spectrometry and ion-selective electrode from water and biological samples. The results shown hormonal alterations in 55% of the women without clinical manifestation of disease. A negative correlation was found between fluoride levels in water with free T4 ( $p < 0.02$ ), Total T3 ( $p < 0.02$ ) and TU Cap ( $p < 0.05$ ), in addition a positive correlation between arsenic concentration and TSH ( $p = 0.0284$ ) and T4 free ( $p = 0.0335$ ). However, association between fluoride and arsenic ion levels was unobserved. These findings support the possible effect of arsenic and fluoride on the thyroid hormone production.

**Key words:** Arsenic, Fluoride, Thyroid, Chronic exposure, Female population.

## Introducción

Los agentes químicos o físicos (RAE), además de causar daño en el medio ambiente, es bien conocido que causan efectos adversos en la salud de la población en contacto, se estima que el 24% de carga de la morbilidad de la población mundial puede atribuirse a factores ambientales [1], siendo una de las vías de exposición a las sustancias tóxicas es la ingesta de agua contaminada con estos compuestos [2].

Existen diferentes estudios epidemiológicos en los cuales se ha demostrado que el consumo de agua contaminada con arsénico (As) y el flúor (F), pueden llevar a diversas alteraciones en la salud humana, la exposición crónica a arsénico (ECA) puede contribuir al desarrollo de enfermedades metabólicas, hematopoyéticas, neurológicas, reproductivas y endocrinológicas [3]. Por otro lado, el flúor es considerado como el elemento químico más electronegativo por lo que es altamente reactivo, en la naturaleza se encuentra en forma de ión fluoruro ( $F^-$ ) y tiene una alta afinidad por el ión calcio, de manera que el fluoruro se asocia a tejidos calcificados como diente y hueso provocando principalmente fluorosis esquelética, dental y además enfermedades endocrinológicas y neurológicas [4]. El arsénico y el fluoruro suelen encontrarse juntos en la naturaleza debido las características geológicas del suelo o acuíferos en los que se encuentran, aquellas regiones con altas concentraciones de arsénico y flúor en los cuerpos de agua subterráneos suelen tener en común la actividad geotérmica, gran cantidad de minerales y zonas de temperaturas altas y con un registro de actividad minera o industrial, esto último en caso de tener un origen antropogénico [5].

El arsénico inorgánico se encuentra de manera natural en niveles altos en el agua de diversos países tales como Argentina, Bangladesh, Chile, China, India, Estados Unidos y México [6]. México es uno de los países con mayores concentraciones de As en el agua purificada y potable debido en parte a su ubicación geológica y en segundo a las actividades mineras e industriales. Estimaciones recientes de la OMS establecen que más de 200 millones de personas se encuentran en constante exposición a este

metaloide. Debido a dicha problemática diferentes instancias nacionales e internacionales han determinado un límite máximo permisible de la concentración tanto de arsénico como de flúor en el agua potable. De acuerdo a la OMS la concentración de arsénico no debe sobrepasar los  $10\mu\text{g/L}$ , sin embargo, en México hasta 2017 la NOM-127-SSA1-1994 [7] establecía como límite máximo permisible una concentración de  $50\mu\text{g/L}$ . Actualmente la PROY-NOM-127-SSA1-2017 establece una concentración máxima de  $25\mu\text{g/L}$ , lo cual supera 2.5 veces lo establecido por la OMS [8]. Por otro lado, el límite máximo permisible para iones fluoruro es de  $1.5\text{mg/L}$  de acuerdo con la PROY-NOM-127-SSA1-2017, la cual empata con lo establecido por la OMS. No obstante al establecimiento de dichas normas, existe evidencia que indica que las concentraciones de As y F están excedidas en la mayoría de los suministros de agua potable del Estado de Zacatecas, tal como fue reportado en un estudio realizado por el grupo de investigación de Martínez M. [9], en el cual evaluaron 47 muestras de diferentes municipios, de éstas hasta un 90% excedieron el límite máximo permisible de As y el 42% superó el de flúor.

La exposición crónica al arsénico inorgánico (As-i) y a iones fluoruro confiere un riesgo significativo para el desarrollo de diversas patologías como se mencionó anteriormente. En este sentido, algunos autores han propuesto que el As-i podría estar implicado en la disfunción de la glándula tiroidea, por otra parte, se ha comprobado que los fluoruros perturban al sistema endocrino. Existe evidencia que indica que el arsénico inhibe la síntesis de hormonas tiroideas (T3, T4) y la actividad enzimática (TPO) en modelos *in vitro* a través de un ensayo con la peroxidasa tiroidea [10]. En un estudio realizado en un modelo de cobayos expuestos a arsenito de sodio y trióxido de sodio se observó una disminución en los niveles de las hormonas T3, T4 y TPO, los autores formulan la hipótesis de que la reducción de los mecanismos antioxidantes por acción del arsénico (disminución en enzimas antioxidantes tales como la catalasa, superóxido dismutasa y la glutatión reductasa), provoca un

incremento en la peroxidación lipídica causada por las especies reactivas de oxígeno (ROS), inducidas por este metaloide [11]. Respecto al flúor se ha observado disminución de los niveles de las hormonas T3 y T4 circulantes y totales, así como modificaciones en la morfología de tirocitos [12], además el flúor es capaz de disminuir la expresión del co-transportador de yodo NIS por medio de la inhibición de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa a través de su acción sobre la calcitonina en la glándula tiroides, tomando en cuenta que NIS es indispensable para transportar a los iones yoduro circulantes hacia el interior de los tirocitos y de esta manera llevar a cabo la síntesis de hormonas tiroideas, por lo que, al inhibirlo, también disminuye la síntesis de dichas hormonas [13]. Son escasos los reportes en la literatura que respalden la hipótesis de que la exposición a As y  $\text{F}^-$  alteren la homeostasis de las hormonas tiroideas, de ahí la relevancia del presente estudio cuyo objetivo fue evaluar en mujeres el daño tiroideo por la exposición crónica a arsénico y flúor.

## **Metodología**

### ***Población de estudio.***

El universo del estudio se reclutó del Hospital General de Fresnillo Dr. José Haro Ávila, contando con la aprobación del Comité de Ética e Investigación de este nosocomio con el folio 640/2019 y en conformidad a la NOM-012-SSA3-2012 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación en salud en seres humanos, llevando a cabo el muestreo en el período de octubre de 2019 a marzo de 2020. Los criterios de selección de la población de estudio se enlistan en la tabla 1. El tamaño de muestra quedó conformado por 40 participantes quienes después de escuchar la plática informativa en la que se les explicó el objetivo del proyecto, los beneficios y posibles efectos, aceptaron y firmaron el consentimiento informado, en el cual se especifica que se colectarán muestras de agua de su vivienda, sangre y orina. Adicionalmente, se les aplicó un cuestionario de usos y costumbres del que se obtuvieron datos sociodemográficos.

### ***Muestras de agua.***

Las muestras de agua se recolectaron del grifo de la vivienda de cada participante en recipientes de polietileno ámbar proporcionados por los investigadores, las muestras fueron almacenadas a 4°C de acuerdo con la NOM-230-SSA1-2002.

### ***Muestras de orina.***

Se impartió una plática para indicarle a las participantes el procedimiento para la recolección de la muestra de orina: ésta fue de micción espontánea y sin previo aseo. Para la colecta de la muestra se les proporcionó un recipiente de plástico estéril. Del total de la muestra de orina se tomaron 15 ml para la determinación de iones fluoruro y 10 ml para la de arsénico inorgánico y se almacenaron a 4°C hasta su evaluación.

### ***Muestras de sangre.***

Se colectó una muestra de 4 ml sangre por punción venosa periférica en ayuno, empleando tubos estériles vacutainer sin anticoagulante (Nueva Jersey, USA), el suero fue obtenido por centrifugación a 2500 r.p.m. por 10 minutos. El suero obtenido se transfirió a un tubo eppendorf marca Corning Axygen (Nueva York, USA) de 1.5 ml y se almacenó a 4°C hasta el análisis del perfil tiroideo.

### ***Medición de fluoruros en agua de grifo y orina por medio de electrodo de ion selectivo.***

Para la cuantificación de la concentración de fluoruros en las muestras de agua de grifo y de orina a 15 mL de la muestra se le agregaron 15 mL de una solución tapón TISAB, de la marca HACH (Iowa, USA) y se leyeron utilizando un electrodo de referencia (900100) de ion selectivo para fluoruro de doble celda modelo 9409BN marca Orion (Colorado, USA), conectado a un potenciómetro modelo conductronic® (Puebla, México). Para la cuantificación de los iones fluoruro se construyó una curva de calibración a partir de estándares preparados por dilución de un patrón de 1000 ppm  $\pm$  4 ppm, un margen de error < 0.4% de NaF marca Sigma-Aldrich (Missouri, USA), con concentraciones de ion Fluoruro de 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mg/L para orina y 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 5.0 mg/L de fluoruro para agua. Se determinó la exactitud del método utilizando el material de referencia ClinChek® liofilizado para elementos traza, nivel II marca Recipe (Munich, Alemania); con un intervalo de concentración de 9.13 a 13.7 mg/L, obteniendo un recobro de 12.105 mg/L correspondiendo a un 88.35%.

En el caso de las muestras de orina, los resultados se ajustaron por la densidad urinaria por medio de la siguiente fórmula [14]:

$$\text{Fluoruros urinario}_{SG} = \frac{(F \text{ urinario} \times SG \text{ cohorte} - 1)}{SG \text{ muestra} - 1}$$

Donde SG es la densidad urinaria.

***Medición de arsénico inorgánico total en agua y orina por medio de espectrometría de absorción atómica (EAA) con generación de hidruros.***

Las muestras fueron primero sometidas a un proceso de digestión ácida, para ello en un vaso de precipitados de vidrio de 100 mL se colocaron 10 ml de orina, se les adicionó 1 ml. de ácido perclórico J.T. Baker (Nueva Jersey, USA) y 10 ml. de ácido nítrico Fluka (Carolina del Norte, USA), se cubrieron con un vidrio de reloj y se colocaron en una plancha ThermoScientific (Massachusetts, USA), en donde se calentaron a una temperatura de 100°C esta temperatura se incrementó gradualmente hasta 265°C en un periodo de una hora; cuando el volumen de la mezcla se redujo de 5 a 3 ml se agregaron 5ml de ácido nítrico Fluka (Carolina del Norte, USA), se continuó con el calentamiento hasta que el volumen se redujo a 3 mL aproximadamente y se adicionaron 2ml de ácido sulfúrico J.T. Baker (Nueva Jersey, USA), el calentamiento continuó de manera constante hasta que se observó un viraje de color transparente-verde-transparente, se dejó enfriar la muestra y se aforó a 10 mL con agua desionizada marca MAPLA (Jalisco México).El producto de esta digestión se almacenó a 4°C hasta su evaluación. Para la digestión de agua de grifo, se tomaron alícuotas de 250 ml de agua en frascos de plástico color ámbar y se adicionó ácido nítrico marca Fluka (Carolina del Norte, USA) hasta llegar a un pH<4 [15].

La cuantificación de As se realizó en un espectrómetro de absorción atómica con generación de hidruros Perkin Elmer PinAAcle 900H (Massachusetts, USA), instalado en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias exactas de la Universidad de Guanajuato, bajo la supervisión de la Dra. Diana Rocha. El extracto previamente obtenido fue sometido a un proceso de reducción, para ello 1ml del extracto de la muestra (agua u orina), se le agregó 1 ml. de ácido clorhídrico J.T. Baker (Nueva Jersey, USA), 1 ml. de yoduro de potasio y 1 ml. de ácido ascórbico, completando el volumen a 10 ml. con agua estéril. Las muestras se incubaron en oscuridad por 5 minutos y a 80°C. Se determinó la exactitud del método utilizando el material de referencia ClinChek® liofilizado para elementos traza, nivel II marca

Recipe (Munich, Alemania); con un intervalo de concentración de 67.6 a 101 µg/L. Los datos de arsénico urinarios fueron posteriormente ajustados con densidad urinaria usando la siguiente fórmula [14]:

$$\text{Arsénico urinario}_{SG} = \frac{(\text{As urinario} \times SG \text{ cohorte} - 1)}{SG \text{ muestra} - 1}$$

Donde SG es la densidad urinaria.

### ***Determinación de perfil tiroideo por medio de inmunoensayos.***

Los análisis de las hormonas tiroideas T4 total, T4 libre, T3 total, T3 libre y TU-Cap se realizaron mediante kits comerciales de ELISA tipo competitivo marca Monobind (California, USA), mientras que para la cuantificación de TSH se utilizó un kit de ELISA no competitivo de la marca Mexlab (Guadalajara, México). De acuerdo con el protocolo de cada ensayo de ELISA, las determinaciones se realizaron a partir de alícuotas de 25 a 50 µl de suero y las lecturas se realizaron dentro de los 30 minutos posteriores al desarrollo del color en un lector de ELISA modelo Thermo Scientific Multiskan FC (Massachusetts, USA). Los valores de referencia de las hormonas tiroideas analizadas se muestran en la tabla 2.

### ***Análisis estadístico.***

En el presente estudio se realizó inicialmente una estadística descriptiva para las características de la población y las variables que se determinaron, a continuación, se hizo uso de la prueba de bondad de Kolmogorov Smirnov. Posterior a esto y de acuerdo con el comportamiento de los datos, se realizó una prueba de Kruskal Wallis, además se realizaron correlaciones entre las variables ambientales y biológicas, tomando en todos los casos una  $p > 0.05$  como estadísticamente significativa, finalmente se

realizó la correlación lineal entre dos variables mediante la prueba de Spearman (coeficiente de rho,  $r$ ).  
Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico GraphPad Prism para Windows, versión 5.0.

## **Resultados**

### ***Datos sociodemográficos.***

El intervalo de edad de la población de estudio fue de entre 30 y 35 años, en su mayoría contaban con estudios de nivel universitario (68.42%). A través del cuestionario se indagó acerca del tipo de agua que consumían, el 86.84% declaró que beben agua purificada y que usan esta misma para la cocción de sus alimentos (52.63%). Sin embargo, el lavado de sus alimentos lo realizan principalmente con agua del grifo (47.37%). Del total de mujeres, el 42.11% residen cerca de una zona industrial, mientras que la vivienda del 39.47% se encuentra adyacente a un jale minero. El concentrado de la información se muestra en la Tabla 3.

### ***Las concentraciones del ion fluoruro en agua de grifo se encuentran elevadas en relación a la PROY-NOM-127-SSA1-2017.***

La cuantificación del ion fluoruro se realizó por medio del método de ion selectivo en muestras de agua de grifo de las viviendas de la población de estudio (mujeres de Fresnillo, Zacatecas). Los datos se muestran en la tabla 4. Las concentraciones oscilan de 0.42 mg/L hasta 2.78 mg/L. Los resultados que se encuentran por debajo del límite máximo permisible están ubicados entre el P<sub>25</sub> y P<sub>50</sub>; un 67.5% de las muestras presentan concentraciones mayores a lo establecido por la PROY-NOM-127-SSA1-2017 y la OMS como se observa en la figura 1. Cabe destacar que la concentración máxima detectada fue de 2.78 mg/L, lo cual representa casi el doble de lo establecido por la OMS y la PROY-NOM-127-SSA1-2017.

### ***Las concentraciones del ion fluoruro en orina de micción espontánea se encuentran elevadas en relación con los valores de referencia de la EPA.***

En relación a la concentración de fluoruros en orina ajustados por gravedad específica, la concentración

mínima detectada fue de 0.628mg/L mientras que la concentración máxima fue de 6.612 mg/L, estos valores se encuentran 9 veces por encima de los valores detectados en población no ocupacionalmente expuesta establecidos por la Agencia de protección ambiental de Estados Unidos. El 82.5% de las muestras de mujeres evaluadas rebasan el límite (0.74mg/L), lo que representa solamente a la población que entra en el P<sub>10</sub> (Figura 2, tabla 4). Se realizó el análisis de correlación entre los valores de fluoruros en orina sin corregir y corregidos vs en agua, sin embargo, en ambos casos ésta no resultó estadísticamente significativa ( $p = 0.059$ ,  $r = 0.08$  y  $p=0.805$ ,  $r=0.0426$  respectivamente), se hizo de igual manera con los valores de fluoruros ajustados obteniendo el mismo resultado, lo que se puede observar en la figura 3.

***Los niveles de hormonas tiroideas se encuentran alterados en la población femenina evaluada.***

Se realizó el perfil tiroideo (TSH, T4 total, T4 libre, T total, T3 libre y TU-Cap), de las mujeres participantes en el estudio. Los resultados se muestran en la figura 4 y en la tabla 5. Los niveles de T4 total y T3 libre se ubican en el intervalo de referencia. Únicamente tres de las participantes mostraron niveles de T3 total por arriba del límite superior y en una de ellas la concentración de TU-Cap está por debajo del valor mínimo. De acuerdo con la Guía de Práctica Clínica [16] refiere que el diagnóstico de hipotiroidismo se dictamina cuando el valor de TSH está por arriba del valor normal, mientras que el de T4 es normal o se ubica por debajo del valor de referencia. El 45% de las mujeres tuvo niveles alterados de TSH (tabla 2), y el 12.5% presentó concentraciones disminuidas de T4 libre (menores a 0.76 ng/dl). Se clasificaron a las mujeres participantes en función de los valores obtenidos de TSH y T4, obteniendo un total de 7.5% con hipotiroidismo, 32.5% con hipotiroidismo subclínico, 2.5% con hipotiroxinemia, 12.5% con hipertiroidismo subclínico y 45% como eutiroideas (figura 5, tabla 6).

***Las concentraciones de T3 libre, T4 libre, T3 total y TU Cap se encuentran relacionadas inversamente con la exposición al ion fluoruro en agua.***

Se analizó la probable correlación entre los niveles de fluoruros en agua y las concentraciones séricas de las hormonas tiroideas. Se incluyó a toda la población de estudio ( $n = 40$ ), no se observó una correlación estadísticamente significativa (tabla complementaria 1). En un segundo análisis, sólo se incluyeron a las mujeres a las que se les detectó un perfil hormonal alterado ( $n = 22$ ), encontrándose una correlación negativa estadísticamente significativa entre la concentración de fluoruro en agua y los niveles de las hormonas tiroideas T4 libre ( $r = -0.467, p=0.02$ ), T3 total ( $r = -0.48, p= 0.02$ ) y TU Cap ( $r=-0.40, p= 0.05$ ); se observa una asociación en el borde de la significancia entre  $F^-$  y T3 libre ( $r= -0.38, p= 0.06$ ). Con respecto a la TSH ( $r = 0.132, p=0.54$ ) y T4 total ( $r=, p=$ ), no existe correlación estadísticamente significativa (figura 6).

***Las concentraciones de arsénico en agua de grifo se encuentran elevadas en relación con la PROY-NOM-127-SSA-2017 en un 87.5%.***

De acuerdo con la PROY-NOM-127-SSA1-2017, la concentración máxima permisible de arsénico en agua potable es de  $25 \mu\text{g/L}$ , los valores de las muestras de agua colectadas en las viviendas de la población de estudio oscilaron entre  $15.08\mu\text{g/L}$  y  $60.67\mu\text{g/L}$ , por lo que es por demás evidente, que algunas muestras están muy por arriba de lo que establece esta Norma. Únicamente el 12.5 % de las muestras analizadas tenían concentraciones de este metaloide por debajo de  $25 \mu\text{g/L}$ , el resto (87.5 %, percentil 90), sobrepasan el valor de referencia, tabla 7. Tomando como base la reglamentación de la OMS, el 100 % de las muestras analizadas superan los  $10 \mu\text{g/L}$  que establece este organismo (Figura 7).

***Las concentraciones de arsénico en orina de micción espontánea se encuentran elevadas en relación con la NHANES.***

Los valores ajustados por la gravedad específica que se detectaron de arsénico en las muestras de orina fluctúan entre 10.37 µg/L y 124.5 µg/L como se observa en la tabla 7. Tomando como referencia los valores establecidos por NHANES (por sus siglas en inglés National Health and Nutrition Examination Survey), los cuales dictaminan como normales esperados en población no expuesta ocupacionalmente una concentración menor a 50 µg/L, el 50% de la población estudiada rebasa este valor (figura 8). En la figura 9 se muestra una correlación que tiende a ser positiva entre la concentración de arsénico en orina vs arsénico urinario ajustado por gravedad específica, aunque ésta no fue estadísticamente significativa ( $r=0.1216$ ,  $p=0.3184$ ).

***Las concentraciones de arsénico urinario se encuentran relacionadas con los niveles alterados de hormonas tiroideas.***

Se analizó la probable asociación entre los niveles de arsénico en orina y las concentraciones séricas de las hormonas tiroideas. Cuando se incluyó a toda la población de estudio ( $n = 40$ ), la correlación no fue estadísticamente significativa (Figura complementaria 2), por lo tanto, para el siguiente análisis sólo se consideraron a aquellas mujeres con niveles de hormonas tiroideas alterados y la concentración de arsénico urinario ajustado por gravedad específica, los resultados indican una correlación positiva estadísticamente significativa con TSH ( $r= 0.5022$ ,  $p = 0.0284$ ) y T<sub>4</sub> libre ( $r= 0.4548$ ,  $p = 0.0335$ ) (figura 10).

*Los niveles del ion fluoruro y arsénico en agua de grifo y orina de micción espontánea no se encuentran asociados.*

Se llevó a cabo un análisis de correlación entre los valores obtenidos en agua de grifo del ion fluoruro vs arsénico, así como en las muestras urinarias de flúor vs arsénico considerando al total de las mujeres de la población de estudio ( $n = 40$ ) (figura 11). En ambos casos la correlación tiende a ser positiva, pero no es estadísticamente significativa ( $p= 0.1220$  agua de grifo y  $p= 0.2465$  orina).

## Discusión

La contaminación ambiental es un problema que causa efectos adversos en la salud de la población mundial [1], la gama de sustancias químicas a la que la población está expuesta es muy diversa y amplia, la ingesta de agua contaminada suele ser una de las mayores vías de exposición. Los elementos químicos no suelen encontrarse aislados en la naturaleza; conforman mezclas complejas que dependiendo de su fuente, son liberados al entorno y su abundancia se observa incrementada en función de la frecuencia de las actividades antropogénicas (minería), cuyos lixiviados a menudo se depositan en los mantos de agua subterránea por su actividad geotérmica *per se* [5].

En ese sentido, el flúor y el arsénico son elementos que conforman un binomio natural y tienen en común su rol como perturbadores endocrinos, principalmente en glándula tiroides [10-13, 17]. De acuerdo con la evidencia, la zona norte de México es aquella con concentraciones más altas de estos elementos [5]. Además, en estudios previos por nuestro grupo, uno de los municipios más afectados se ubica en la zona noroeste del Estado de Zacatecas [18]. Por lo tanto, y para dar continuidad al trabajo antes mencionado. En este artículo se presentan los resultados del efecto de ambos sobre el perfil tiroideo de mujeres expuestas crónicamente a arsénico y flúor mediante la ingesta de agua contaminada.

Se cuantificaron las concentraciones de ion fluoruro en agua del grifo de las viviendas y de muestras de orina de 40 mujeres residentes del municipio de Fresnillo, Zacatecas, de acuerdo con los datos sociodemográficos obtenidos solo el 5.26% de la población consumía agua del grifo y agua purificada, lo que podría explicar el por qué no se observó una correlación entre la concentración de iones fluoruro en las muestras de agua y los niveles de hormonas tiroideas de las muestras biológicas. En este sentido, se podría asumir que el consumo de agua contaminada con iones fluoruro no es la principal fuente de exposición como se ha reportado en otros estudios [19, 20]. No obstante, no haberse observado una asociación entre la concentración de los contaminantes en las muestras ambientales con las biológicas, al

92.11 % de la población de estudio se le detectaron niveles urinarios de iones fluoruro muy superiores a lo establecido por la Agencia de protección ambiental de Estados Unidos para personas no ocupacionalmente expuestas [21], lo que hace suponer que hay otra fuente de exposición a este elemento químico, tal como se ha reportado deben considerarse otros componentes como los alimentos y el agua embotellada [5, 22]; incluso el metabolismo *per se* del ion fluoruro en la población crónicamente expuesta, que será motivo de otra investigación *a posteriori*.

Del mismo modo, en este estudio se observó que el 55% de las participantes presentaban algún tipo de alteración en su perfil tiroideo sin tener conocimiento de ello, probablemente por la ausencia de síntomas, lo que podría clasificarse como un daño subclínico. En la presente investigación se observó una correlación negativa entre la concentración de fluoruro en agua y los niveles de T4 libre, T3 total y TU Cap, lo que coincide con el reporte de Kheradpisheh y colaboradores, quienes observaron esta misma tendencia, aunque sólo con los niveles de T4 libre [23]. En contraste, con el estudio de Czarnowski, quienes encontraron un aumento en los niveles séricos de T3 y T4 conforme aumentaban las concentraciones de fluoruros en agua [22], cabe mencionar que este estudio, se realizó en una población conformada por hombres y mujeres a diferencia de la presente investigación, en la que se evaluó únicamente en una población femenina de distintas edades. En este aspecto, en otro estudio se detectaron valores anormales de las hormonas TSH, T4 libre y T3 libre en niños expuestos a flúor a través del consumo de agua con altas concentraciones de este elemento químico (0.98 - 5.5mg/L), lo que coincide con lo observado con los valores de T4 del presente estudio [18]. El no haber encontrado una correlación significativa entre los niveles séricos de las hormonas y las concentraciones de fluoruros en orina, podría deberse porque el análisis se realizó en una muestra de orina de micción espontánea y no en una de 24 horas como es recomendable por el perfil toxicocinético del flúor. Debido a que el 50% del fluoruro que se absorbe, se excreta en las 24 horas siguientes, después de la ingesta de flúor. Al la

concentración de fluoruro aumentará transitoriamente durante las 2-3 horas siguientes, retornando a los niveles basales, por efecto simultáneo de la excreción urinaria y el secuestro por el esqueleto, respectivamente [24].

Se conoce que el flúor puede causar diferentes efectos sobre la glándula tiroidea tales como la inhibición del receptor NIS, éste es un co-transportador que como su nombre lo indica, participa en el transporte de yodo (elemento indispensable para la síntesis de las hormonas tiroideas) [25]. El buen funcionamiento del co-transportador NIS depende de la bomba  $Na/K^+$  ATPasa. Sin embargo, en presencia del ion fluoruro, ésta bomba es inhibida a través de mecanismos celulares complejos que subyacen la activación de PKC, cAMP, cGMP, NO, Pi, PLA2, AA, PGE2, dopamina, glucosa, PTH y la formación de AGEs, respectivamente. Del mismo modo, conduce a un incremento de TSH y a su vez de la tiroglobulina (tg) [23, 26], la cual, conlleva a la inhibición del factor 1 de transcripción tiroidea (TTF1) [27]; factor que regular la transcripción del receptor de TSH (TSHR) [28]. La supresión del TSHR conduce a una resistencia a la acción de la TSH, observándose un incremento significativo de la misma hormona en suero y desde el punto de vista clínico apoya al diagnóstico de un posible hipotiroidismo [29].

Nuestro grupo de investigación en el 2018 realizó un estudio ecológico de tipo exploratorio-retrospectivo [18], con los resultados obtenidos se elaboró un mapa del municipio de Fresnillo, Zacatecas, en el que se situaron las viviendas de mujeres con patologías tiroideas, la región con mayor incidencia de alteraciones del perfil tiroideo se ubicó en la parte centro-sur del municipio, coincidentemente en donde se localiza una mina. En este estudio también se realizó un muestreo de agua extraída de pozos y del sistema de re-bombeo, encontrando niveles de arsénico en agua por encima de lo recomendado por los organismos internacionales. En este sentido, se puede deducir que las actividades antropogénicas pueden sumarse a las fuentes de exposición de contaminantes, en este caso

de arsénico, aumentando el riesgo a la salud. Las concentraciones de arsénico en las muestras de agua de grifo de las viviendas de la población de estudio, apoyan la necesidad de que se revisen los límites máximos permitidos en agua potable para uso y consumo humano en nuestro país, ya que éstos son muy laxos debido a que el 87.5% no cumplió con lo establecido por la PROY-NOM-127-SSA1-2017 [8]; en cambio el 100 % de las muestras analizadas no cumplen con la normatividad de sugerida por la OMS. Con respecto a los niveles urinarios de arsénico, el 50% de las mujeres tuvieron una concentración de este metaloide mayor a  $50\mu\text{g/L}$ , límite máximo permisible establecido para personas no ocupacionalmente expuestas (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos)[30].

No obstante, respecto a las concentraciones detectadas de arsénico, no se encontró una correlación entre los niveles de este metaloide en agua y en orina, esto, al igual que en el caso del flúor, puede deberse a que sólo se consideró el agua de grifo como ruta de exposición, omitiéndose la ingesta de agua embotellada y los alimentos consumidos [5, 13, 31]. No obstant, en otros estudios se ha reportado una asociación positiva entre las concentraciones de arsénico en agua de pozo y los niveles de arsénico urinario [32, 33].

Nuestros resultados demostraron una correlación positiva entre los niveles séricos de las hormonas TSH y T4 libre con los niveles de arsénico urinario, de manera coincidente con el estudio realizado por Jurdziak y colaboradores [34], quienes observaron esta misma asociación en una población masculina expuesta a aire contaminado con este metaloide, pero contrario con lo reportado por Meza y colaboradores, quienes no observaron una asociación entre ambas variables [33]. Es importante resaltar que los efectos adversos en la glándula tiroidea pueden no impactar o alterar los niveles séricos de las hormonas tiroideas, existe evidencia de que tanto el arsénico como el flúor pueden bioacumularse en dicha glándula, produciendo daño citotóxico. En pacientes con tiroiditis de Hashimoto se ha demostrado un incremento en los niveles de arsénico en el tejido tiroideo y sangre en comparación con una

población sin patologías tiroideas [35]. El mecanismo del daño tiroideo causado por la exposición a arsénico ha sido elucidado en estudios con modelos murinos, se ha reportado que la exposición a sales de arsénico inhiben a la peroxidasa tiroidea (TPO), enzima responsable de la oxidación del yodo, de no llevarse a cabo este proceso no es posible la síntesis de monoyodotironina y diyodotironina, moléculas precursoras de las hormonas T3 y T4, esta inhibición es dependiente de la concentración de arsénico en agua [10]. Este mismo efecto fue observado en un estudio realizado en un modelo de cobayos, a los cuales se les expuso a arsenito de sodio y trióxido de sodio observándose una disminución en los niveles de las hormonas tiroideas [11].

Los estudios en poblaciones humanas en los que se evalúa un solo efecto tóxico por la exposición a mezclas de contaminantes siempre han sido un reto porque pueden presentarse interacciones antagónicas o de sinergismo entre las sustancias químicas las cuales son difíciles de elucidar en este tipo de investigación; el escenario se vuelve aún más complejo cuando existe más de una fuente de exposición. Esto podría explicar el por qué en nuestro estudio no se observó una asociación entre los niveles de arsénico y flúor en agua de grifo y las concentraciones en orina de micción espontánea y el por qué este resultado no coincide con lo reportado en otros estudios [5]. Una limitante de nuestro estudio es que el análisis de arsénico en agua de grifo se realizó en una muestra única por participante cuando se sabe que existen factores que influyen en las concentraciones de elementos contaminantes presentes en muestras domésticas tales como, el horario de la recolección, la estación del año y la variabilidad de la fuente de distribución del agua potable, entre otros. Reportes en la literatura resaltan la importancia de incluir en este tipo de protocolos muestras de agua subterránea, tal como lo reporta Mayorga y colaboradores, quienes observaron una asociación entre las concentraciones de As en este tipo de agua y los niveles urinarios de este metaloide [36]. Por otro lado, la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) en distintos comunicados ha considerado la zona centro norte como zona vulnerable en materia de calidad

hídrica debido a la presencia de contaminantes (As y/o F) en conformidad con la NOM-127-SSA1-2017 [37, 38].

Los resultados obtenidos en el presente trabajo contribuyen a la evidencia de que la exposición crónica a arsénico y flúor alteran la producción de las hormonas TSH y T4 libre induciendo daño tiroideo en una población femenina de 18 a 60 años.

## Conclusiones

Los resultados de este estudio sugieren que la población femenina de Fresnillo en el Estado de Zacatecas se encuentra expuesta a flúor y arsénico por medio del agua de grifo, encontrando el ión fluoruro elevado en agua en un 67.5% y al arsénico en un 87.5% respecto a la normatividad nacional. Sin embargo, a pesar de que los niveles de dichos elementos también se encuentran elevados en orina de acuerdo con lo establecido en la EPA y NHANES, estos valores no correlacionan con los obtenidos en agua.

Además, la correlación entre las concentraciones de los elementos arsénico y flúor en agua de grifo de las viviendas y orina de las participantes no es lineal, por lo que se tomará a consideración la aplicación de otro modelo estadístico, además considerarse otras variables o factores.

Por otro lado, se puede resaltar que más de la mitad de la población estudiada presentó alteraciones en las hormonas TSH y T4 libre, parámetros utilizados por la guía de práctica clínica para determinar patologías tiroideas.

Finalmente, se observó una correlación entre las alteraciones en los niveles de hormonas tiroideas y la concentración de flúor en agua y arsénico urinario, lo que aporta evidencia para continuar con investigaciones que permitan determinar la participación de estos importantes contaminantes ambientales en el desarrollo de patologías asociadas a la glándula tiroides.

## Bibliografía

1. Prüss-Üstün, A., *Ambiente saludables y prevención de enfermedades. Hacia una estimación de la carga de morbilidad atribuible al medio ambiente*. Biblioteca de la OMS, 2006: p. 19.
2. OMS/UNEP, *Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes*. 1995.
3. Dani, S.U. and G.F. Walter, *Chronic arsenic intoxication diagnostic score (CASIDS)*. J Appl Toxicol, 2018. **38**(1): p. 122-144.
4. Choi, A.L., et al., *Developmental fluoride neurotoxicity: a systematic review and meta-analysis*. Environ Health Perspect, 2012. **120**(10): p. 1362-8.
5. Gonzalez-Horta, C., et al., *A concurrent exposure to arsenic and fluoride from drinking water in Chihuahua, Mexico*. Int J Environ Res Public Health, 2015. **12**(5): p. 4587-601.
6. Smith, A.H., E.O. Lingas, and M. Rahman, *Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency*. Bull World Health Organ, 2000. **78**(9): p. 1093-103.
7. Sanitario, C.C.N.d.N.d.R.y.F., *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994, "SALUD AMBIENTAL, AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO-LIMITES PERMISIBLES DE CALIDAD Y TRATAMIENTOS A QUE DEBE SOMETERSE EL AGUA PARA SU POTABILIZACION"*. 1994.
8. federación, D.o.d.l., *PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua*. 2017.
9. M., M.-A., *Preliminary human health risk assessment of arsenic and fluoride in tap water from Zacatecas, México*. Environmental Monitoring and Assessment, 2016. **188**: p. 13.
10. Palazzolo, D.L., *The minimal arsenic concentration required to inhibit the activity of thyroid peroxidase activity in vitro*. Biological Trace Element Research, 2008. **126**: p. 49-55.
11. Mohanta, R.K., et al., *Blood biochemistry, thyroid hormones, and oxidant/antioxidant status of guinea pigs challenged with sodium arsenite or arsenic trioxide*. Biol Trace Elem Res, 2014. **160**(2): p. 238-44.
12. Jiang, Y., et al., *Effects of Excess Fluoride and Iodide on Thyroid Function and Morphology*. Biol Trace Elem Res, 2016. **170**(2): p. 382-9.
13. Waugh, D.T., *Fluoride Exposure Induces Inhibition of Sodium/Iodide Symporter (NIS) Contributing to Impaired Iodine Absorption and Iodine Deficiency: Molecular Mechanisms of Inhibition and Implications for Public Health*. Int J Environ Res Public Health, 2019. **16**(6).
14. Allan C Just, J.J.A., Andrew G Rundle, Antonia M Calafat, David E Camann, Russ Hauser, Manori J Silva and Robin M Whyatt *Urinary and air phthalate concentrations and self-reported use of personal care products among minority pregnant women in New York city*. Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology volume, 2010. **20**: p. 625-633.
15. Cox, D.H., *Arsine Evolution-Electrothermal Atomic Absorption Method for the Determination of Nanogram Levels of Total Arsenic in Urine and Water*. Journal of Analytical Toxicology, 1980. **4**: p. 207-211.
16. Social, I.M.d.S., *Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de hipotiroidismo primario y subclínico en el adulto* 2016.
17. Werner Joba, C.S., Katja Schriever, and Armin E. Heufelder, *Analysis of Human Sodium/Iodide Symporter, Thyroid Transcription Factor-1, and Paired-Box-Protein-8 gene Expression in Benign Thyroid Diseases*. Thyroid, 1999. **9**: p. 455-466.
18. Carlos, C.d.L., *Análisis de la distribución de los casos con hipotiroidismo primario y su georreferenciación respecto a los isovalores de arsénico presentes en agua de Fresnillo y su zona conurbada*. 2018.
19. Iftekhar Ahmed, T.R., Syed Khakan Hasan, a Nazeer Khan, Masood Hameed Khan and Tanzil Haider Usmani, *Correlation of fluoride in drinking water with urine, blood plasma, and serum fluoride levels of people consuming high and low fluoride drinking water in Pakistan*. Research report fluoride, 2012. **45**: p. 336-340.

20. Sunil Kumar, S.L., Jyoti Yadav and J. P. Yadav, *Relationship between water, urine and serum fluoride and fluorosis in school children of Jhajjar District, Haryana, India*. Applied water science, 2016.
21. Agency, E.P., *Summary review of health effects associated with hydrogen fluoride and related compounds*. Health issue assessment, 1989.
22. Czarnowski, W., K. Wrzesniowska, and J. Krechniak, *Fluoride in drinking water and human urine in northern and central Poland*. Sci Total Environ, 1996. **191**(1-2): p. 177-84.
23. Kheradpisheh, Z., et al., *Impact of Drinking Water Fluoride on Human Thyroid Hormones: A Case- Control Study*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 2674.
24. *Basic methods for assessment of renal fluoride excretion in community prevention programmes for oral health* OMS, 2014.
25. Zimmermann, M.B., *Iodine deficiency in pregnancy and the effects of maternal iodine supplementation on the offspring: a review*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(2): p. 668S-72S.
26. Singh, N., et al., *A comparative study of fluoride ingestion levels, serum thyroid hormone & TSH level derangements, dental fluorosis status among school children from endemic and non-endemic fluorosis areas*. Springerplus, 2014. **3**: p. 7.
27. Kohn, L.D., et al., *Effects of thyroglobulin and pendrin on iodide flux through the thyrocyte*. Trends Endocrinol Metab, 2001. **12**(1): p. 10-6.
28. Suzuki, K., et al., *Thyroid transcription factor 1 is calcium modulated and coordinately regulates genes involved in calcium homeostasis in C cells*. Mol Cell Biol, 1998. **18**(12): p. 7410-22.
29. Davies, T.F., et al., *Thyrotropin receptor-associated diseases: from adenomata to Graves disease*. J Clin Invest, 2005. **115**(8): p. 1972-83.
30. Anne E. Nigra, T.R., Keeve E. Nachman, David Harvey, Steven N. Chillrud, Joseph H. Graziano, and Ana NavasAcien, *The effect of the Environmental Protection Agency maximum contaminant level on arsenic exposure in the USA from 2003 to 2014: an analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*. Lancet public health, 2017. **2**: p. 513-521.
31. Mubashir Ahmed, Z.F., *Correlation of Arsenic Exposure Through Drinking Groundwater and Urinary Arsenic Excretion Among Adults in Pakistan*. Journal of environmental health, 2014. **76**.
32. Garcia-Rico, L., et al., *Health Risk Assessment and Urinary Excretion of Children Exposed to Arsenic through Drinking Water and Soils in Sonora, Mexico*. Biol Trace Elem Res, 2019. **187**(1): p. 9-21.
33. Maria Mercedes Meza, M.J.K., Jefferey L. Burgess, and A. Jay Gandolf, *Arsenic drinking water exposure and urinary excretion among adult in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico*. Environmental Research, 2004. **96**: p. 119-126.
34. Jurdzia, M., et al., *Concentration of Thyrotropic Hormone in Persons Occupationally Exposed to Lead, Cadmium and Arsenic*. Biol Trace Elem Res, 2018. **182**(2): p. 196-203.
35. Stojavljevic, A., et al., *Significance of arsenic and lead in Hashimoto's thyroiditis demonstrated on thyroid tissue, blood, and urine samples*. Environ Res, 2020. **186**: p. 109538.
36. San-Xiang Wang, Z.-H.W., Xiao-Tian Cheng, Jun Li, Zhi-Ping Sang, Xiang-Dong Zhang, Ling-Ling Han, Xiao-Yan Qiao, Zhao-Ming Wu, and Zhi-Quan Wang, *Arsenic and Fluoride Exposure in Drinking Water: Children's IQ and Growth in Shanyin County, Shanxi Province, China*. Research Mini Monograph, 2007. **115**: p. 643-647.
37. María T. Alarcón-Herrera, D.A.M.-A., Mélida Gutiérrez, Liliana Reynoso-Cuevas, Alejandra Martín-Domínguez, Mario A. Olmos-Márquez and J.B.f. , *Co-occurrence, possible origin, and health-risk assessment of arsenic and fluoride in drinking water sources in Mexico: Geographical data visualization*. Science of the total environment, 2020. **698**.
38. Jorge H. Limón-Pacheco, M.I.J.-C., Mariana Cárdenas-González, Ilse M. Sánchez Retana, María E. Gonsbatt and Luz M. Del Razo†, *Potential Co-exposure to Arsenic and Fluoride and Biomonitoring Equivalent for Mexican Children*. Annals of global health, 2018. **84**: p. 257-273.

## Índice de figuras

### Tablas

<b>Tabla 1. Criterios de selección de la población de estudio</b> .....	29
<b>Tabla 2. Niveles hormonales de referencia.</b> Estos valores fueron tomados del inserto proveniente del kit ELISA respectivo. TSH (Mexlab), T4 total, T4 libre, T3 total, T3 libre, TU Cap (Monobind).....	30
<b>Tabla 3. Datos sociodemográficos de mujeres residentes de Fresnillo y su zona conurbada.</b> Los datos se encuentran expresados por medio de un porcentaje (%) tomando en cuenta a todas las mujeres dentro del estudio. N=38.....	31
<b>Tabla 4. Distribución de datos de ion fluoruro en agua y orina.</b> Percentiles 10, 25, 50, 75 y 90, D.E.: Desviación estándar. n = 40. *Valores ajustados por gravedad específica (SG). Valores de referencia: 1.5mg/L en agua y 0.76mg/L en orina.....	32
<b>Tabla 5. Distribución de datos de hormonas tiroideas.</b> Percentiles 10, 25, 50, 75 y 90, D.E.: Desviación estándar. n = 40, Valores de referencia: TSH (0.4-4.2uUI/ml), T4 total (2.8-11.6 µg/dl), T4 libre (0.8-2.0 ng/dl), T3 total (0.52-1.85 ng/ml), T3 libre (1.4-4.2pg/ml) TU-Cap (25-35%).....	33
<b>Tabla 6. Niveles de hormonas tiroideas y diagnóstico.</b> El diagnóstico se dio de acuerdo a los siguientes parámetros: Hipotiroidismo (TSH > 4µUI/ml y T4 libre < 0.76 ng/dL), Hipotiroidismo subclínico (TSH > 4 µUI/ml y T4 libre ≥ 0.76 ng/dL), Hipotiroxinemia aislada (TSH ≤ 4 µUI/ml y T4 libre < 0.76 ng/dL), Hipertiroidismo subclínico (TSH < 0.4 µUI/ml y T4 libre ≥ 0.76ng/dL). D.E.: Desviación estándar. Todo esto en base a una n=40.....	34
<b>Tabla 7. Concentración de arsénico en agua y orina (sin ajustar y con ajuste por gravedad específica).</b> Se muestran los valores mínimo y máximo, así como los percentiles 10, 25, 50, 75 y 90, además de la media± desviación estándar. D.E.: Desviación estándar. SG = Gravedad específica. n = 40.....	35

### Figuras

<b>Figura 1. Distribución de iones fluoruro en agua de grifo.</b> Cada punto representa una muestra de agua potable otorgada por las mujeres de la población de estudio. Valor de referencia de 1.5mg/L establecido por la NOM-127-SSA1-1994 y la OMS. Se muestra también la media± desviación estándar.n=40.....	36
<b>Figura 2. Distribución de iones fluoruro en orina de micción espontánea ajustado con gravedad específica.</b> Cada punto representa una muestra de orina otorgada por las mujeres de la población de estudio. Valor de referencia de 0.76 mg/L establecido por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Se muestra también la media± desviación estándar.n=40.....	37
<b>Figura 3. Correlación entre iones fluoruro en orina y en agua</b> a) Iones fluoruro en agua vs iones fluoruro en orina sin ajuste con gravedad específica. b) Iones fluoruro en agua vs iones fluoruro en orina ajustados con gravedad específica. Se realizó una prueba de correlación de Spearman tomando como valores estadísticamente significativos con una $p < 0.05$ . n=40.....	38
<b>Figura 4. Distribución de los niveles de hormonas tiroideas.</b> Se tomaron como niveles de referencia aquellos ofrecidos por la marca comercial del kit de ELISA. a) TSH (0.4-4.2uUI/ml), b) T4 total (2.8-11.6 µg/dl), c) T4 libre (0.8-2.0 ng/dl), d) T3 total (0.52-1.85 ng/ml),	

e) T3 libre (1.4-4.2pg/ml), f) TU-Cap (25-35%). Cada punto representa a una mujer. Las líneas verdes son los límites mínimos y máximos, los puntos en color amarillo son aquellos que se encuentran cercanos a los niveles mínimos de hormonas tiroideas, en color rojo representan valores que están por arriba o por debajo de dichos niveles. n=40.....39

**Figura 5. Distribución de mujeres con alteraciones tiroideas.** El diagnóstico se realizó en base a los siguientes valores: Hipotiroidismo (TSH > 4μUI/ml y T4 libre < 0.76 ng/dL), Hipotiroidismo subclínico (TSH > 4 μUI/ml y T4 libre ≥ 0.76 ng/dL), Hipotiroxinemia aislada (TSH ≤ 4 μUI/ml y T4 libre < 0.76 ng/dL), Hipertiroidismo subclínico (TSH < 0.4 μUI/ml y T4 libre ≥ 0.76ng/dL). N=40.....40

**Figura 6. Correlación entre las concentraciones de iones fluoruro en agua y los niveles alterados de hormonas tiroideas.** a) TSH vs F<sup>-</sup> b) T4 total vs F<sup>-</sup> c) Correlación negativa entre niveles alterados de T4 libre y los niveles de ion fluoruro en agua, d) Correlación negativa entre niveles alterados de T3 y los niveles de ion fluoruro en agua, e) Correlación negativa entre niveles alterados de T3 libre y los niveles de ion fluoruro en agua, f) Correlación negativa entre niveles alterados de TU Cap y los niveles de ion fluoruro en agua. Se realizó una prueba de correlación de Spearman tomando como valores estadísticamente significativos con una  $p < 0.05$ . n=40.....41

**Figura 7. Distribución de arsénico en agua de grifo.** Cada punto representa una muestra de agua de grifo colectada en las viviendas de la población de estudio. La línea punteada roja indica el valor del límite máximo permisible establecido por la OMS (10 μg/L) y en color verde la establecida por la PROY-NOM-127-SSA1-2017 (25 μg/L). Se muestra también la media± desviación estándar. n=40.....42

**Figura 8. Distribución de arsénico urinario ajustado con gravedad específica.** Cada punto representa una muestra de orina de micción espontánea colectada por las mujeres participantes. La línea punteada roja indica el valor del límite máximo permisible establecido por la NHANES (50μg/L). Se muestra también la media± desviación estándar. n=40.....43

**Figura 9. Correlación entre las concentraciones de Arsénico en agua y los niveles alterados de hormonas tiroideas.** a) Correlación positiva entre niveles alterados de TSH y las concentraciones de As urinario b) T4 total vs F<sup>-</sup> c) Correlación positiva entre niveles alterados de T4 libre y las concentraciones de As urinario, d) T3 vs. As urinario, e) T3 libre vs. As urinario, f) TU-Cap vs. As urinario. Se realizó una prueba de correlación de Spearman tomando como valores estadísticamente significativos con una  $p < 0.05$ . n=40.....44

**Figura 10. Correlación entre las concentraciones de niveles alterados de hormonas tiroideas y arsénico urinario.** a) Correlación positiva entre niveles alterados de TSH y los niveles de arsénico urinario, b) Correlación positiva a entre niveles alterados de T4 total y los niveles de arsénico urinario, c) Correlación positiva entre niveles alterados de T4 libre y los niveles de arsénico urinario. d) Correlación negativa entre niveles alterados de T3 y los niveles de arsénico urinario, e) Correlación positiva entre niveles alterados de T3 libre y los niveles de arsénico urinario, f) Correlación positiva entre niveles alterados de TU Cap y los niveles de arsénico urinario. Se agregó una línea de tendencia marcada en color rojo y se tomó como estadísticamente significativa una  $p < 0.05$ . n=40.....45

**Figura 11. Correlación entre variables ambientales.** a) Correlación entre ion fluoruro en agua y arsénico en agua de grifo. b) Correlación entre ion fluoruro en orina ajustado con gravedad específica y arsénico en orina ajustado con gravedad específica. n=40.....46

**Tablas complementarias.**

**Tabla complementaria 1. Correlación entre iones fluoruro en orina ajustados con gravedad específica y agua con hormonas tiroideas.** Se muestra el valor de r, el intervalo de confianza al 95% y el valor de p, ésta última se tomó como estadísticamente significativa una  $p < 0.05$  a partir de una correlación de Spearman. n = 40. \* = Valor estadísticamente significativo.....47

**Tabla complementaria 2. Correlación entre arsénico en orina ajustados con gravedad específica y agua con hormonas tiroideas.** Se muestra el valor de r, el intervalo de confianza al 95% y el valor de p, ésta última se tomó como estadísticamente significativa una  $p < 0.05$  a partir de una correlación de Spearman. n = 40.....48

<b>Criterios de inclusión</b>	<b>Criterios no inclusión</b>	<b>Criterios de eliminación</b>
Mujeres residentes de Fresnillo y su zona conurbada	No contar con diagnóstico de hipertiroidismo o hipotiroidismo	Imposibilidad en el procesamiento de las muestras.
Al menos 10 años de residencia	Tiroidectomía	Expediente incompleto.
Edad de 18 a 60 años	Gestación	No contar con perfil tiroideo
Haber firmado la carta de consentimiento informado.	Comorbilidades: (DM2, Adenocarcinomas de cualquier tipo, hipertensión, obesidad mórbida).	Problemáticas dentro de la recolección de las muestras biológicas (colección incompleta de orina, imposibilidad de colecta de sangre)

	TSH ( $\mu$ UI/ml)	T4 total ( $\mu$ g/dl)	T4 libre (ng/dl)	T3 total (ng/ml)	T3 libre (pg/ml)	TU Cap (%)
Valor de referencia	0.4-4.2	4.8-11.6	0.8-2.0	0.52-1.85	1.4-4.2	25-35

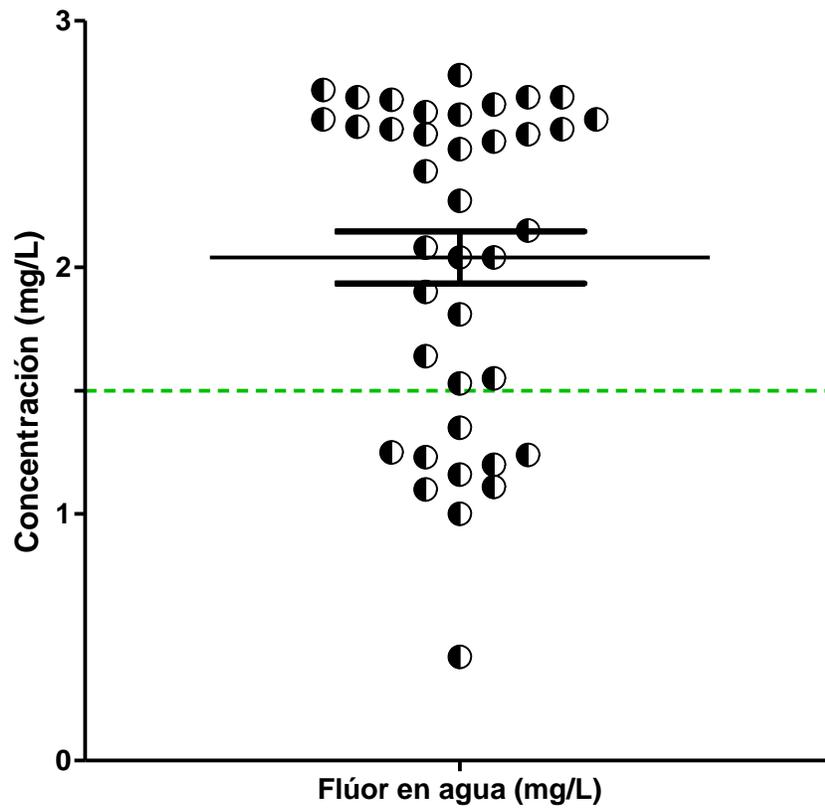
<b>Variable</b>	<b>Valor</b>
<b>Edad</b>	n (%)
18 – 23	5 (14.28)
24 – 29	8 (22.85)
30 – 35	10 (28.57)
36 – 41	1 (2.85)
42 – 47	4 (11.42)
48 – 53	5 (14.28)
54 – 59	2 (5.71)
<b>Escolaridad</b>	
Primaria	1 (2.63)
Secundaria	1 (2.63)
Preparatoria	4 (10.53)
Técnica	4 (10.53)
E. Universitarios	26 (68.42)
Posgrado	2 (5.26)
<b>Estado civil</b>	
Soltera	17 (44.74)
Casada	18 (47.37)
Unión Libre	2 (5.26)
Divorciada	1 (2.63)
<b>Ocupación</b>	
Estudiante	4 (10.52)
Comerciante	2 (5.26)
Oficinista	5 (13.16)
Ama de casa	3 (7.89)
Otro	24 (63.15)
<b>Agua de bebida</b>	
Purificada	33 (86.84)
Purificada y de grifo	2 (5.26)
Otro	3 (7.89)
<b>Agua para cocción de alimentos</b>	
Purificada	20 (52.63)
Grifo	15 (39.47)
Purificada y de grifo	2 (5.26)
Otro	1 (2.63)
<b>Lavado de alimentos</b>	
Agua de grifo	18 (47.37)
Agua de grifo y jabón	13 (34.21)
Purificada	1 (2.63)
Microdyn	6 (15.79)
<b>Vivienda cercana a industria</b>	
Si	16 (42.11)
No	22 (57.89)
<b>Vivienda cercana a jale minero</b>	
Si	15 (39.47)
No	23 (50.53)

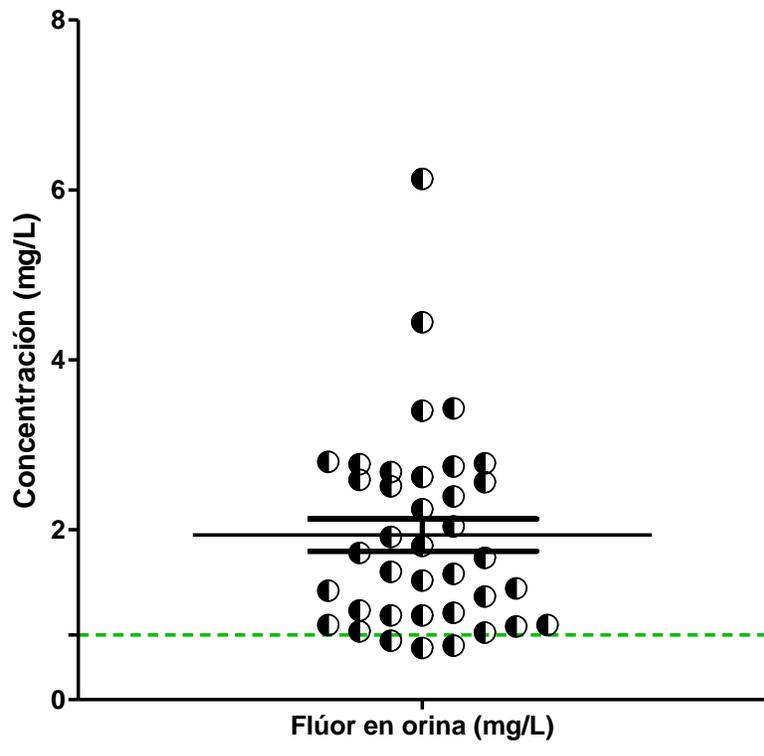
	<b>Mínimo</b>	<b>P10</b>	<b>P25</b>	<b>P50</b>	<b>P75</b>	<b>P90</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media ±DE</b>
<b>Ion fluoruro en agua (mg/L)</b>	<b>0.42</b>	<b>1.11</b>	<b>1.35</b>	<b>2.27</b>	<b>2.6</b>	<b>2.69</b>	<b>2.78</b>	<b>2.041±0.6564</b>
<b>Ion fluoruro en orina (mg/L)</b>	<b>0.609</b>	<b>0.7794</b>	<b>0.9910</b>	<b>1.699</b>	<b>2.635</b>	<b>3.403</b>	<b>6.130</b>	<b>1.938±1.163</b>
<b>Ion fluoruro en orina ajustada por SG (mg/L)</b>	<b>0.6282</b>	<b>0.7829</b>	<b>1.119</b>	<b>1.849</b>	<b>2.601</b>	<b>3.874</b>	<b>6.612</b>	<b>2.121±1.380</b>

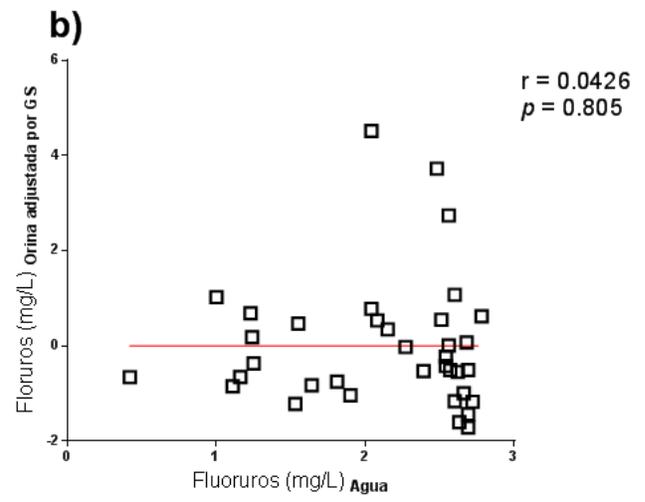
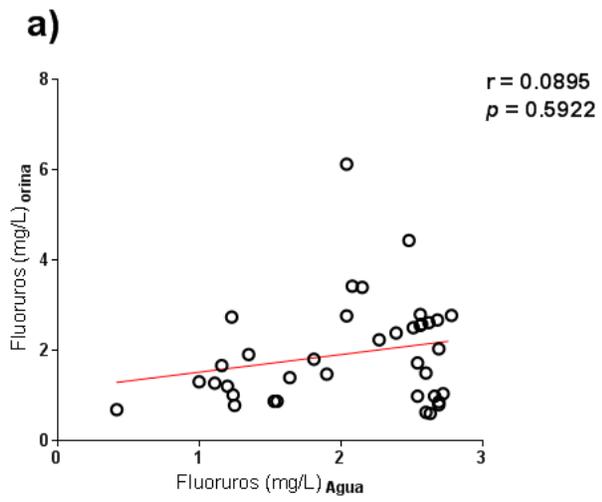
	<b>Mínimo</b>	<b>P10</b>	<b>P25</b>	<b>P50</b>	<b>P75</b>	<b>P90</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media ±DE</b>
<b>TSH</b> <b>(μUI/ml)</b>	<b>0.31</b>	<b>0.554</b>	<b>1.495</b>	<b>3.27</b>	<b>6.885</b>	<b>10.51</b>	<b>17.31</b>	<b>4.627± 4.072</b>
<b>T4 Total</b> <b>(μg/dL)</b>	<b>5.8</b>	<b>6.973</b>	<b>7.63</b>	<b>8.62</b>	<b>9.625</b>	<b>10.28</b>	<b>11.62</b>	<b>8.612± 1.283</b>
<b>T4 Libre</b> <b>(ng/dL)</b>	<b>0.48</b>	<b>0.691</b>	<b>0.835</b>	<b>0.94</b>	<b>1.12</b>	<b>1.229</b>	<b>1.38</b>	<b>0.9583± 0.2036</b>
<b>T3 total</b> <b>(ng/ml)</b>	<b>0.6</b>	<b>0.974</b>	<b>1.125</b>	<b>1.31</b>	<b>1.508</b>	<b>1.725</b>	<b>2.3</b>	<b>1.34± 0.3307</b>
<b>T3 Libre</b> <b>(pg/ml)</b>	<b>1.45</b>	<b>1.591</b>	<b>1.935</b>	<b>2.275</b>	<b>2.553</b>	<b>2.679</b>	<b>4.02</b>	<b>2.265± 0.463</b>
<b>Tu Cap</b> <b>(%)</b>	<b>23.65</b>	<b>25.51</b>	<b>26.42</b>	<b>27.79</b>	<b>28.97</b>	<b>30.42</b>	<b>31.36</b>	<b>27.83± 1.759</b>

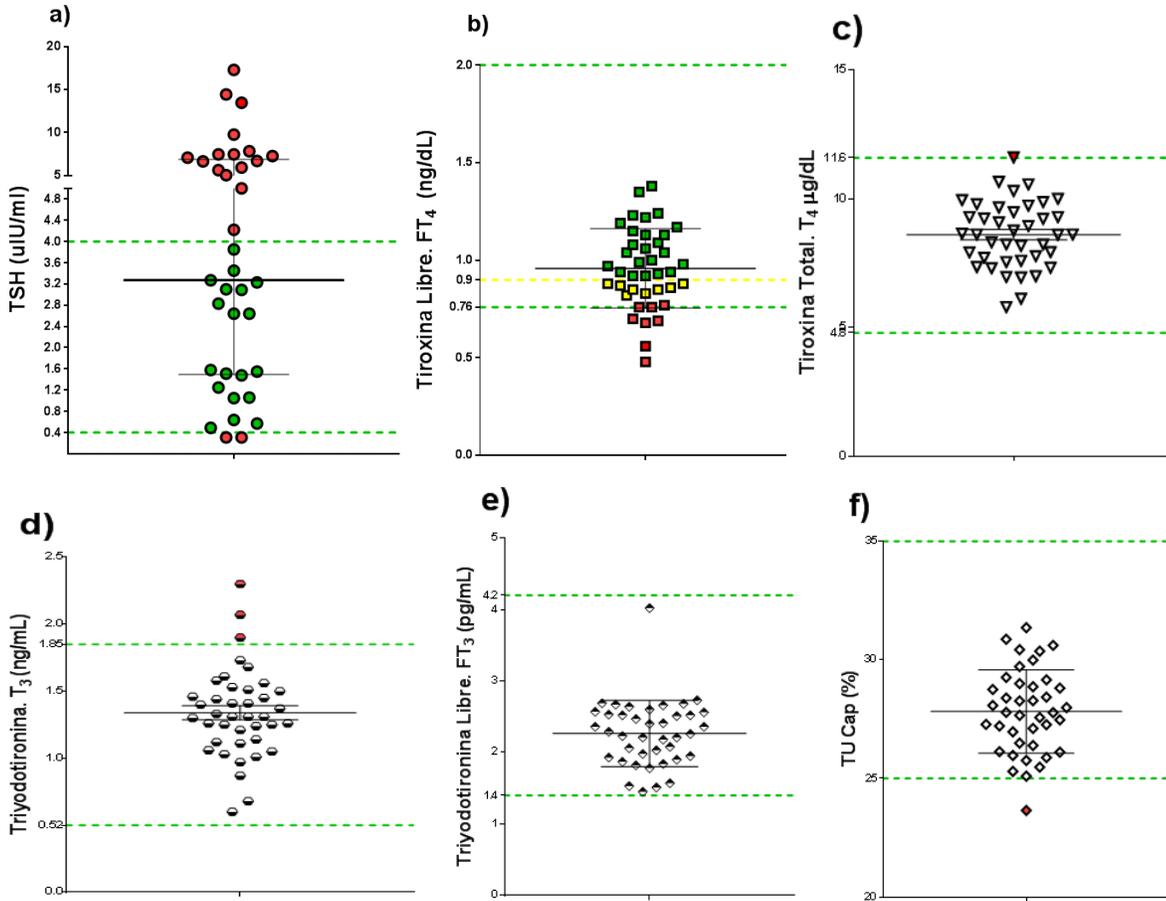
<b>Hormona</b>	<b>Número</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Media±D.E.</b>	<b>P10</b>	<b>P50</b>	<b>P90</b>
<b>T4 libre (ng/dL)</b>			<b>0.95 ± 0.20</b>	<b>0.69</b>	<b>0.94</b>	<b>1.23</b>
<0.76	5	12.50%				
≥ 0.76	35	87.50%				
<b>TSH (uUI/ml)</b>			<b>4.62 ± 4.07</b>	<b>0.55</b>	<b>3.27</b>	<b>10.51</b>
<4	25	62.5				
≥ 4	15	37.5				
<b>Hipotiroidismo</b>	<b>3</b>	<b>7.50%</b>				
<b>Hipotiroidismo subclínico</b>	<b>13</b>	<b>32.50%</b>				
<b>Hipotiroidismo aislado</b>	<b>1</b>	<b>2.5%</b>				
<b>Hipertiroidismo subclínico</b>	<b>5</b>	<b>12.5</b>				
<b>Sin patología tiroidea</b>	<b>18</b>	<b>45%</b>				

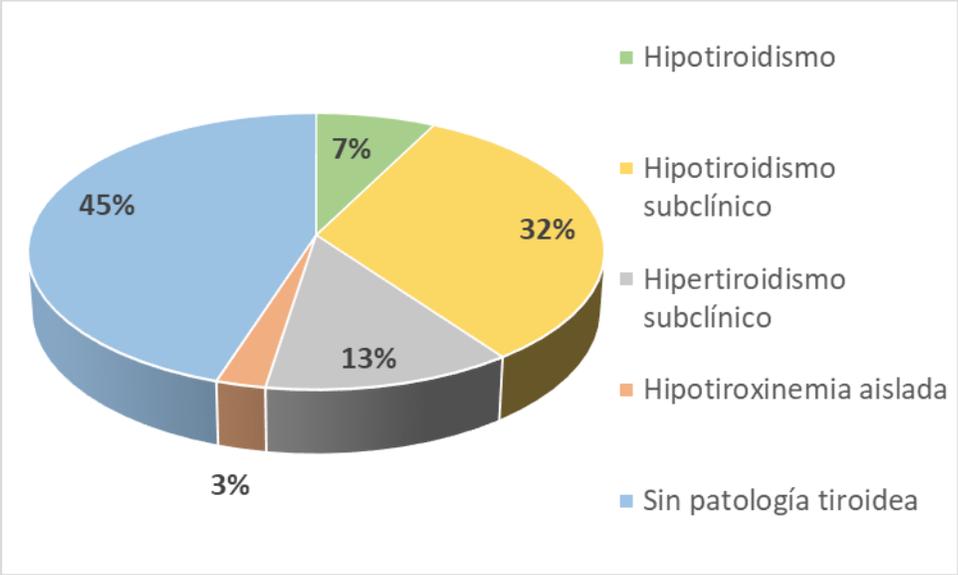
	<b>Mínimo</b>	<b>P10</b>	<b>P25</b>	<b>P50</b>	<b>P75</b>	<b>P90</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media ±DE</b>
<b>Arsénico en agua (µg/L)</b>	15.08	24.47	35.74	30.61	43.67	48.41	60.67	38.51± 9.087
<b>Arsénico en orina (mg/L)</b>	13.7	29.99	13.7	50.02	61.6	93.25	114.8	54.28±23.46
<b>Arsénico en orina ajustada por SG (mg/L)</b>	10.37	25.55	36.77	50.2	63.79	86.31	124.5	51.72±24.82

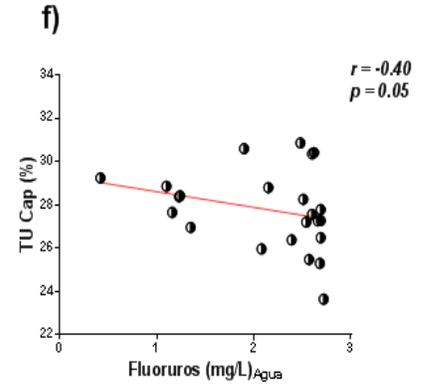
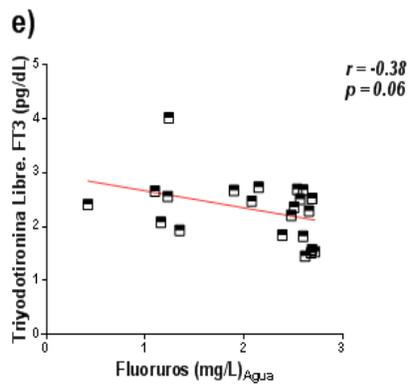
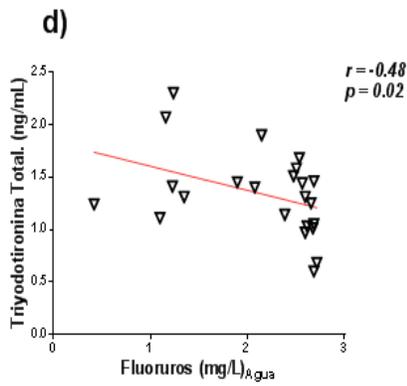
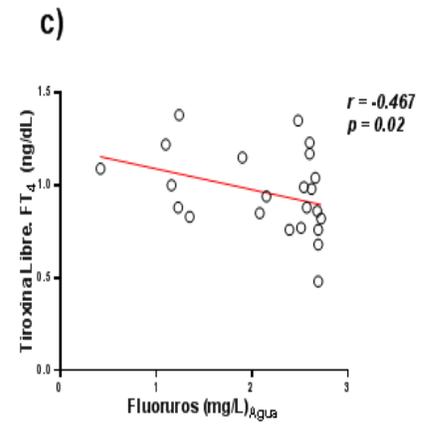
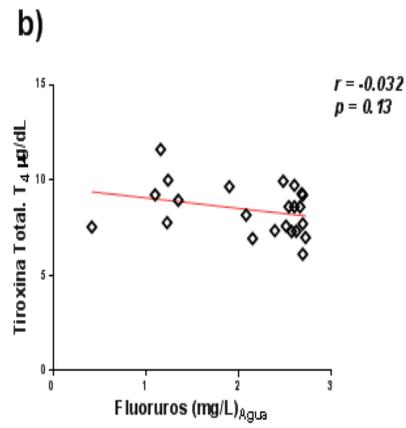
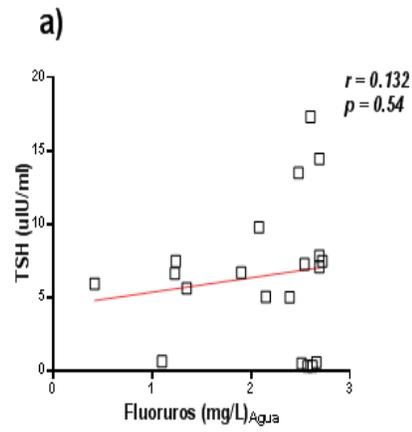


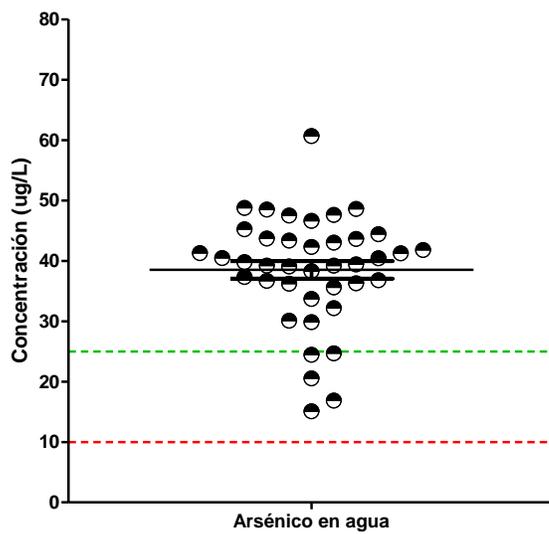


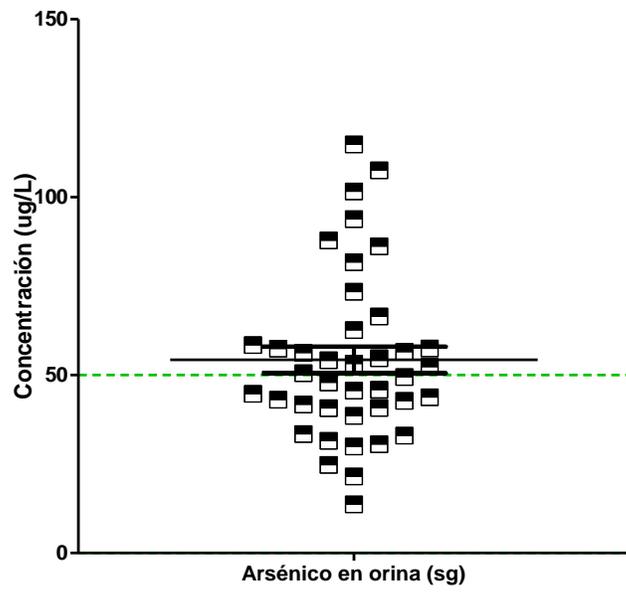


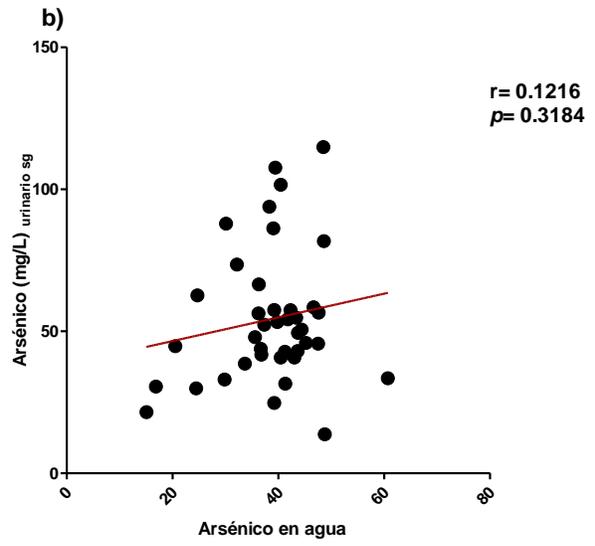
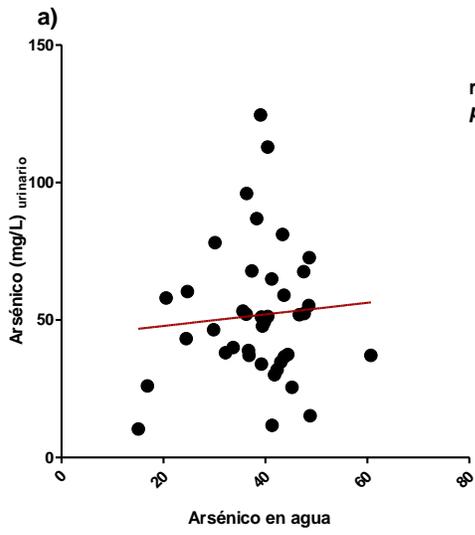


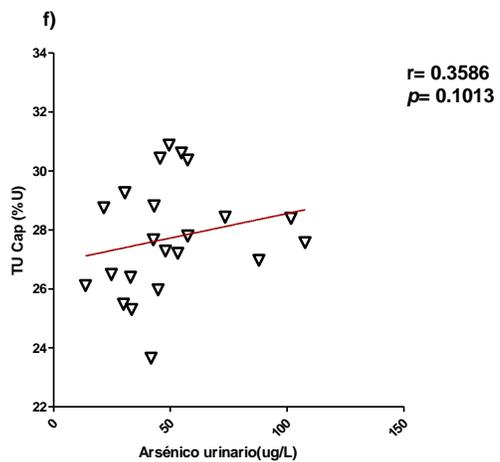
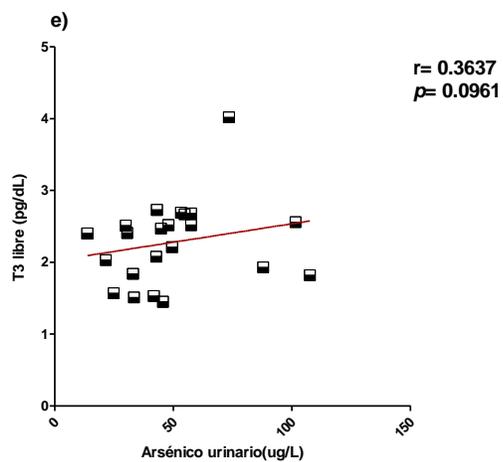
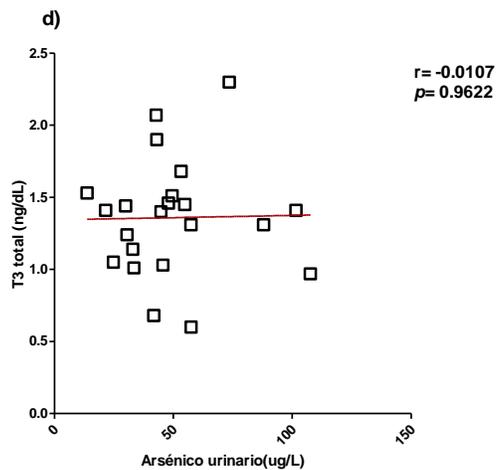
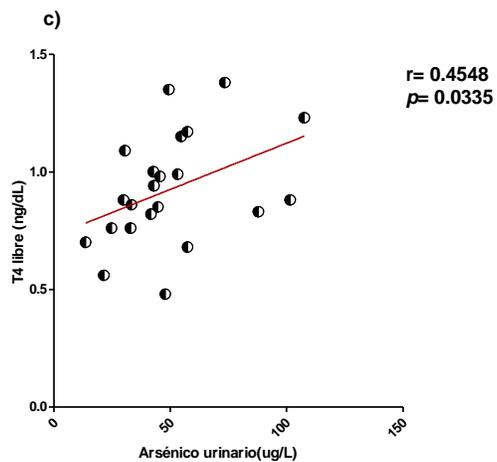
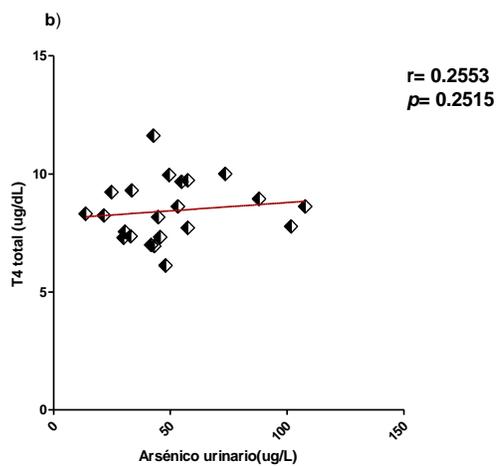
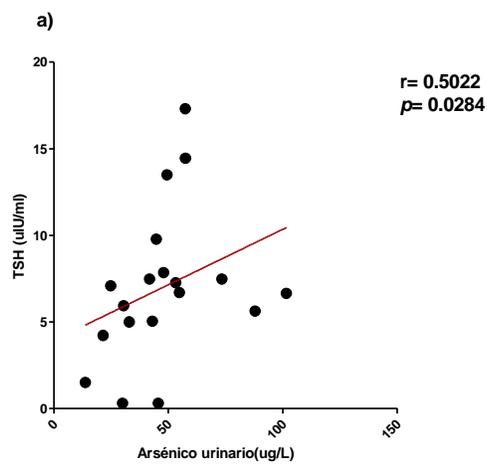


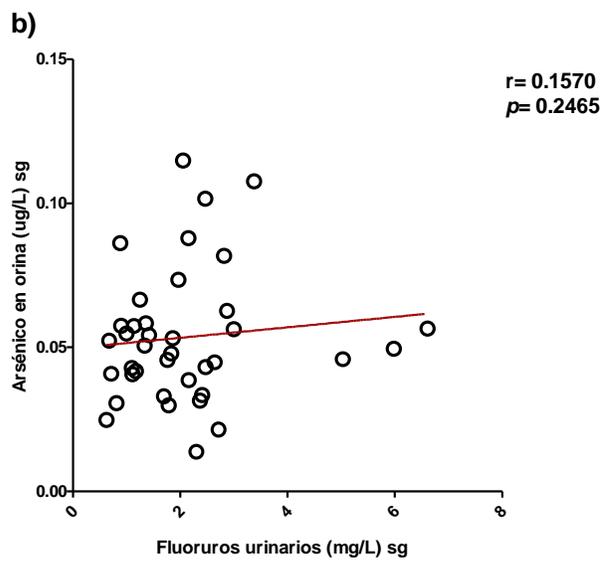
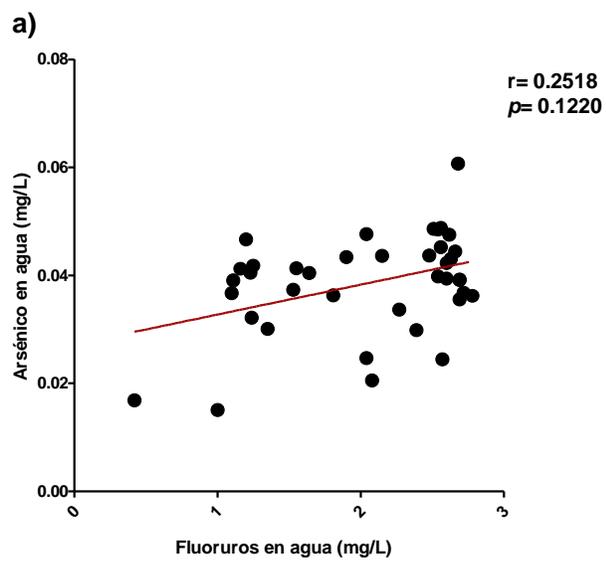












		<b>TSH</b> ( $\mu$ IU/ml)	<b>T4 Total</b> ( $\mu$ g/dL)	<b>T4 Libre</b> (ng/dL)	<b>T3 Total</b> (ng/ml)	<b>T3 libre</b> (pg/ml)	<b>TU</b> <b>Cap</b> (%)
<b>Ion fluoruro en agua</b>	<b>r</b>	0.017	-0.257	-0.255	-0.4136	-0.283	-0.151
	<b>IC95%</b>	-0.0308 -	-0.536 -	-0.535 -	-0.65 -	-0.556 -	-0.453
		0.339	0.073	0.074	0.103	0.045	-0.181
<b>p</b>	0.91	0.11	0.116	<b>0.008*</b>	0.08	0.358	
<b>Ion fluoruro en orina ajustada con SG</b>	<b>r</b>	0.007	-0.234	-0.044	0.20	0.01	0.13
	<b>IC95%</b>	-0.322 -	-0.522 -	-0.367 -	-0.130 -	-0.318 -	-0.20 -
		0.334	0.102	0.288	0.501	0.338	0.439
<b>p</b>	0.96	0.169	0.797	0.226	0.94	0.45	

		<b>TSH</b> ( $\mu$ IU/ml)	<b>T4 Total</b> ( $\mu$ g/dL)	<b>T4 Libre</b> (ng/dL)	<b>T3 Total</b> (ng/ml)	<b>T3 libre</b> (pg/ml)	<b>TU</b> <b>Cap</b> (%)
<b>Arsénico en agua</b>	<b>r</b>	-0.2121	-0.0014	0.0658	0.0972	0.0436	0.1379
	<b>IC95%</b>	-0.5091 –	-0.3214 –	-0.2598 –	-0.2301 –	-0.2804 –	-
		0.1300	0.3189	0.3780	0.4048	0.3588	0.1907
	<b>p</b>	0.2075	0.9931	0.6865	0.5506	0.7890	0.3961
<b>Arsénico en orina ajustado con SG</b>	<b>r</b>	-0.0097	0.1137	0.2746	-0.0056	0.2813	0.2777
	<b>IC95%</b>	-0.3416 –	-0.2142 –	-0.0499 –	-0.3252 –	-0.0427 -	-
		0.3243	0.4186	0.5467	0.3151	0.5517	0.0466
	<b>p</b>	0.9545	0.4848	0.0864	0.9725	0.0787	0.0828