

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE



**“GENES ASOCIADOS CON HORMONAS TIROIDEAS Y CANALES
PERMEABLES A CALCIO COMO POTENCIALES BIOMARCADORES
DE EFECTO TEMPRANO POR EXPOSICIÓN A PARAQUAT Y ÁCIDO
2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) EN TESTÍCULO DE RATA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

PRESENTA
QC. CONDE MALDONADO VANESSA

DIRECTORAS:
DRA. ARELY ANAYA HERNÁNDEZ
DRA. EDELMIRA GARCIA NIETO

TUTORES:
DR. ENOCH LUIS BALTAZAR
DRA. ALBA MÓNICA MONTIEL GONZÁLEZ



IXTACUIXTLA, TLAX., JUNIO 2023



C. VANESSA CONDE MALDONADO

PRESENTE

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de evaluación de examen de grado ha revisado el trabajo de investigación titulado: "Genes asociados con hormonas tiroideas y canales permeables a calcio como potenciales biomarcadores de efecto temprano por exposición a paraquat y 2,4-D en testículo de rata.", realizado bajo la dirección de la Dra. Arely Anaya Hernández y Dra. Edelmira García Nieto. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

Dr. Cuauhtémoc Morales Cruz

Dr. Enoch Luis Baltazar

Dra. Arely Anaya Hernández

Dr. Ángel Ismael Melo Salazar

Dr. Jaime Marcial Quino

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"
Ixtacuixtla, Tlax., 19 de junio de 2023

DRA. EDELMIRA GARCÍA NIETO
COORDINADORA GENERAL DEL CIGyA Y POSGRADO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

c.c.p. Expediente



Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Genética y Ambiente, por haberme permitido formarme como maestra en ciencias en sistemas del ambiente.

A la Dra. Edelmira García Nieto y Libertad Juárez Santacruz responsables del Laboratorio de Toxicología y Química Ambiental por brindar todas las facilidades compartir conocimientos y experiencia para la realización del presente trabajo.

A los sinodales, por su valiosa participación y acertados comentarios para la obtención de grado.

A la Dr. Enoch Luis Baltazar por su acertada colaboración y apoyo en el desarrollo de esta tesis, así como su apoyo incondicional.

A la Dra. Arely Anaya Hernández por brindarme la oportunidad de trabajar con ella y transmitirme sus conocimientos y su experiencia científica, por la dedicación, paciencia y por todo el apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

Agradezco al programa de becas CONAHCyT por el financiamiento para llevar a cabo esta investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional en todo momento por impulsarme siempre a ser mejor.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 Marco teórico	1
I.1.1 Generalidades de los plaguicidas	1
I.1.1.1 Herbicidas	2
I.1.1.2 Paraquat	3
I.1.1.3 Ácido 2,4-diclorofenoxiacético	5
I.1.2 Ecotoxicología de los plaguicidas	9
I.1.3 Plaguicidas como disruptores endocrinos	11
I.1.4 Reproducción masculina	13
I.1.5 Participación del eje tiroideo en la reproducción masculina	15
I.1.6 Canales iónicos implicados en la función espermática	20
I.1.6.1 Canal de cationes de los espermatozoides, CatSper	20
I.1.6.2 Canal receptor de potencial transitorio tipo vaniloide, TRPV4	23
I.1.7 Biomarcadores	25
I.2 Antecedentes	28
I.2.1 Efecto de los plaguicidas sobre la reproducción masculina	28
I.2.2 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre la función testicular	29
I.2.3 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre el eje tiroideo	30
I.2.4 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre canales permeables a calcio	30
I.3 Hipótesis	31
I.4 Justificación	32
I.5 Objetivos	33
II. MATERIAL Y MÉTODOS	34
III. RESULTADOS	39
III.1 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de genes relacionados con la acción de las hormonas tiroideas (Objetivo 1)	40
III.1.1 Transportadores de hormonas tiroideas	40
III.1.2 Desyodasas	42
III.1.3 Receptores a hormonas tiroideas	43
III.2 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de canales iónicos permeables a Ca^{2+} implicados en la hiperactivación flagelar (Objetivo 2)	44
III.3 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre procesos de apoptosis (Objetivo 3)	45
IV. DISCUSIÓN	47

IV.1 Efecto de la administración aguda a PQT y 2,4-D sobre la expresión génica de los transportadores, desyodasas y receptores de hormonas tiroideas -----	48
IV. 2 Efecto de la administración aguda a PQT y 2,4-D sobre la expresión génica de los canales iónicos implicados en la hiperactivación flagelar -----	51
IV. 3 Efecto de la administración aguda a Paraquat y 2,4-D sobre el proceso apoptótico-----	53
V. CONCLUSIÓN -----	57
VI. PERSPECTIVAS -----	58
VII. REFERENCIAS-----	59
VIII. ANEXOS-----	68
I.6 Certificado de salud animal de los animales de experimentación. -----	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localización cromosómica e identificadores de genes de las subunidades de CatSper en ratones y humanos. -----	21
Tabla 2. Características de las secuencias de cebadores empleados en la PCR. -----	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis del Paraquat.....	4
Figura 2. Síntesis del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)	6
Figura 3. Ruta ambiental del 2,4-D después de la aplicación agrícola y doméstica.	7
Figura 4. Eje hipotálamo-hipófisis-testículo.	14
Figura 5. Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas.	16
Figura 6. El canal de cationes de los espermatozoides, CatSper.	21
Figura 7. Canales iónicos en el espermatozoide.	24
Figura 8. Biomarcadores.....	27
Figura 9. Fases de aclimatación y exposición aguda a herbicidas.	35
Figura 10. Extracción de tejidos en la rata.....	35
Figura 11. Visualización de ARN total de testículo de rata.	39
Figura 12. Expresión del gen constitutivo PPIA en testículo.....	40
Figura 13. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de transportadores de hormonas tiroideas.	41
Figura 14. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de desyodasas.	42
Figura 15. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de los receptores a hormonas tiroideas.	43
Figura 16. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de canales permeables a Calcio.	45
Figura 17. Efecto del Paraquat y 2,4-D sobre el peso testicular.	45
Figura 18. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de TNFa y Caspasa-3.	46

RESUMEN

Introducción. Los herbicidas Paraquat y 2,4-D son ampliamente utilizados en la agricultura para erradicar malezas. Su uso, se han asociado con la toxicidad del sistema reproductor masculino. La evidencia disponible indica que la presencia de transportadores y receptores de hormonas tiroideas (HT), así como desyodasas en los testículos son fundamentales para la función testicular y reproductiva normal. De la misma manera los canales iónicos permeables a calcio implicados en hiperactividad flagelar espermática son indispensables para la fertilización. Por lo que en este trabajo se evalúa el potencial de los genes asociados con HT, y de los genes que codifican para *Trpv4* y *CatSper1-2*, como biomarcadores de efecto temprano a la exposición aguda a PQT y a 2,4-D. **Métodos:** Se utilizaron ratas macho adultas y se asignaron en tres grupos experimentales. El grupo control recibió solución salina y la exposición aguda se indujo con tres inyecciones intraperitoneales durante una semana de 100 mg/kg (2,4-D) y 10 mg/kg (PQT), posteriormente, las ratas fueron pesadas y sacrificadas. La expresión génica de *Mct8*, *Mct10*, *Oatp1c1*, *Dio 2-3*, *TRα*, *CatSper1-2*, *Trpv4* y *Ppia* (gen constitutivo) en los testículos se analizó mediante RT-PCR. Todos los datos se informan como la $\pm$ estándar (SEM). Los experimentos se sometieron a pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov), seguido de un análisis de varianza (ANOVA) o test de Kruskal-Wallis. Los análisis estadísticos se analizaron utilizando GraphPad Prism 8.1 ($P < 0.05$ se consideró significativo). **Resultados:** Las ratas expuestas a PQT presentan una mayor expresión génica de los transportadores *Mct8* y *Oatp1c1*, no afecta la expresión de ninguna de las desyodasas (*Dio2-3*), pero sí una expresión de *TRα* mayor. La expresión de *CatSper1-2* no se vio afectada pero sí afecta a *Trpv4*. Mientras que, las ratas expuestas a 2,4-D mostraron una expresión génica menor de *Mct10*, así como de la *Dio2*. Además, disminuye la expresión de *Catsper1* y *Trpv4*. **Conclusión:** Este estudio demostró que la administración aguda a PQT y 2,4-D presenta diversos grados de alteración en la expresión de genes asociados a HT y canales iónicos (*CatSper1* y *Trpv4*) por lo que podrían ser considerados como biomarcadores de efecto temprano para estos compuestos y ser considerados como disruptores endocrinos por su compromiso con la fertilidad masculina, aunque se requieren más estudios para dilucidar ambos mecanismos de toxicidad. **Palabras clave:** biomarcador, herbicidas, disruptor endocrino, toxicidad reproductiva, infertilidad.

ABSTRACT

Introduction: Paraquat and 2,4-D herbicides are widely used in agriculture to eradicate weeds. However, they have been associated with toxicity to the male reproductive system. Available evidence indicates that the presence of thyroid hormone (HT) transporters and receptors, as well as deiodinases in the testes is essential for normal testicular and reproductive function. In the same way, calcium-permeable ion channels involved in spermatic flagellar motility and hyperactivity, essential for fertilization. Therefore, in this work we evaluated the potential of the genes associated with HT, and of the genes that code for *Trpv4* and *CastSper1-2*, as biomarkers of early effect after acute exposure to PQT and 2,4-D. **Methods:** Adult male rats were used and randomly assigned in to three experimental groups. The control group received saline solution; Acute exposure was induced with three intraperitoneal injections in a week of 100 mg/kg for the 2,4-D group and 10 mg/kg for the PQT group, subsequently, the rats were weighed and sacrificed. Gene expression of *Mct8*, *Mct10*, *Oatp1c1*, *Dio 2-3*, *TR α* , *CatSper1-2*, *Trpv4* and *Ppia* (household gene) in the testis was analyzed by RT-PCR. All data are reported as the mean $\pm$ standard (SEM). The experiments were subjected to normality tests (Kolmogorov-Smirnov), followed by analysis of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis test when the results passed the normality tests. Statistical analyzes of data were analyzed using GraphPad Prism 8.0 software (ANOVA $P < 0.05$ was considered significant). **Results:** The testes of rats exposed to PQT show a higher gene expression of the *Mct8* and *Oatp1c1* transporters, curiously it does not affect the expression of any of the deiodinases (*Dio2-3*), but it does affect a higher expression of *TR α* . On the other hand, the expression of *CatSper1-2* was not affected but *Trpv4* was. While, the rats exposed to 2,4-D showed a lower expression of the *Mct10* gene, as well as the expression of *Dio2*. *TR α* was not affected in its expression. On the other hand, if the expression of *CatSper1* and *Trpv4* decreases. **Conclusion:** This study revealed that the acute administration of PQT and 2,4-D presented varying degrees of differences in the expression of genes associated with HT and ion channels (*CatSper1* and *TRPV4*) in rat testes, so they could be used as early effect. biomarkers for this type of compounds and be considered as endocrine disruptors that compromise male fertility, although more studies are required to elucidate both mechanisms of toxicity.

Keywords: biomarker, herbicides, endocrine disruption, toxicity reproductive, infertility

I. INTRODUCCIÓN

I.1 Marco teórico

I.1.1 Generalidades de los plaguicidas

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a los plaguicidas como compuestos químicos utilizados para erradicar plagas, incluidos insectos (insecticidas), roedores (rodenticidas), hongos (fungicidas) y plantas no deseadas (malezas; herbicidas). El uso mundial de estos productos químicos es aproximadamente de dos millones de toneladas cada año (45% se usa en Europa, el 25% en Estados Unidos de América, y el 25% en el resto del mundo) (Damalas y Eleftherohorinos, 2011; De et al., 2014).

Los plaguicidas han sido utilizados ampliamente en la mayoría de los sectores de la producción agrícola para la prevención de las pérdidas causadas por plagas y malezas, además de mejorar el rendimiento y la calidad del producto. Desde este punto de vista, los plaguicidas son considerados como una herramienta eficiente para el manejo del control de plagas por los altos beneficios económicos que trae consigo (Cooper y Dobson, 2007; Damalas, 2009).

A pesar de su popularidad, el uso extensivo de estos compuestos ha planteado serias preocupaciones sobre los riesgos para la salud a corto y largo plazo derivados de la exposición principalmente de personas dedicadas al trabajo en los campos de cultivo, de residuos en alimentos y el agua potable, además de serios problemas en la degradación del medio ambiente. En los países en desarrollo, los agricultores como la población en general aún se enfrentan a grandes riesgos de exposición debido al uso de químicos tóxicos prohibidos o restringidos en otros países, técnicas de aplicación incorrectas, equipos de fumigación con un mal mantenimiento o totalmente inapropiados, prácticas de almacenamiento inadecuadas y, a menudo, la reutilización de envases de plaguicidas viejos para el almacenamiento de alimentos y agua (Damalas, 2009).

Entre los plaguicidas, los herbicidas son los que se utilizan en mayor cantidad (47,5%), mientras que el uso de insecticidas y fungicidas es menor (29,5 y 17,5%, respectivamente). Los plaguicidas pertenecientes a otros grupos (alguicidas,

bactericidas, etc.) se utilizan con menor frecuencia (5,5%) (De et al., 2014; Bojarski y Witeska, 2020).

I.1.1.1 Herbicidas

Los herbicidas son sustancias químicas capaces de inhibir o interrumpir el crecimiento y desarrollo normal de las plantas. Se utilizan ampliamente en áreas agrícolas, industriales y no agrícolas para el manejo de malezas. Los herbicidas pueden proporcionar un control de malezas rentable al tiempo que minimizan el trabajo. Sin embargo, el uso inadecuado de herbicidas puede resultar en daños a los cultivos, control deficiente de malezas, evolución de malezas resistentes a herbicidas, contaminación ambiental o riesgos para la salud. Los herbicidas son clasificados de acuerdo a su época de aplicación, selectividad, tipo, familia química y modo de acción (De et al., 2014; Martin, 2009):

Época de aplicación. Se denominan en presembrado (PS), preemergentes (PRE) y post-emergentes (POST). En el caso de los herbicidas de presembrado se dividen en dos: foliares y al suelo. Por su lado los herbicidas PS foliares se utilizan en sustitución de la labranza primaria para el control de la maleza presente antes de la siembra de los cultivos. El glifosato, el Paraquat, y el 2,4-D son los herbicidas comúnmente aplicados en esta época.

Selectividad. Son aquellos que a ciertas dosis, formas y épocas de aplicación eliminan algunas plantas sin dañar significativamente a otras. Por el contrario, los herbicidas no selectivos son tóxicos en toda clase de vegetación y únicamente se utilizan en terrenos sin cultivo o bien evitando el contacto con las plantas cultivadas.

Tipo de acción. Existen herbicidas de contacto y sistémicos: el primero se refiere a la eliminación de la parte de la planta con la que entran en contacto por lo que requieren de un buen cubrimiento de la maleza para controlarla y tienen un transporte limitado dentro de la planta. El segundo se aplica al suelo o al follaje y se absorben y transportan a toda la planta incluidas sus raíces y otros órganos subterráneos.

Familia química. Es la composición de las sustancias activas utilizadas en la generación de este tipo de compuestos tal es el caso de las familias químicas de herbicidas (triazinas, las dinitroanilinas, los fenoxiacéticos, las cloroacetamidas, las ciclohexanodionas, las sulfonilureas y los bipiridilos).

Modo de acción. Es la secuencia de eventos que ocurren desde la absorción hasta la muerte de la planta, se pueden considerar como: reguladores de crecimiento, inhibidores de la fotosíntesis, inhibidores de síntesis de lípidos y aminoácidos o destructores de membranas celulares.

En México, la utilización de herbicidas es una práctica frecuente para la agricultura, aunque se desconoce la cantidad real que se aplica de estos productos a los cultivos. La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) menciona que el promedio anual de producción de plaguicidas es de 31, 767 toneladas de 2007 a 2018 (Informe del Medio Ambiente en México, 2018).

Entre los herbicidas más utilizados, e incluso recomendados para su uso en México, pero prohibidos en otros países, se encuentran el Paraquat y el ácido diclorofenoxiacético (2,4-D), por lo que en la presente investigación nos enfocamos en ellos, y a continuación mencionamos sus generalidades.

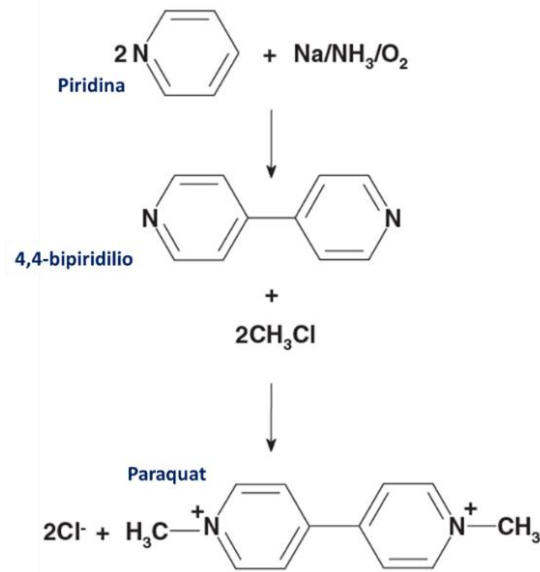
I.1.1.2 Paraquat

El Paraquat (PQT; dicloruro de 1,1 'dimetil 4,4' bipyridilo; CAS 1910-42-5) fue sintetizado por Weidel y Rosso en 1882. Hay varios métodos disponibles para la síntesis de Paraquat. El método más común se produce acoplando piridina en presencia de sodio en amoniaco anhidro y cuaternizando el 4,4-bipiridilo con un exceso de cloruro de metilo para obtener dicloruro de Paraquat (**Figura 1**). Pertenece al grupo de herbicidas bipyridilium de amonio cuaternario, se ha utilizado desde 1960 y se encuentra entre los más utilizados en todo el mundo debido a su fabricación económica. Es un herbicida de amplio espectro de acción rápida, no selectivo, de contacto. Se utiliza principalmente en ferrocarriles y bordes de carreteras para prevenir el crecimiento de malezas y pastos de hoja ancha (Dinis-Oliveira et al., 2008).

El PQT es un compuesto altamente tóxico para humanos y animales. Se encuentra dentro de la categoría toxicológica II, definido como moderadamente peligroso. Ya ha sido prohibido en más de 38 países, sin embargo se sigue utilizando en más de 130 países aunque presenta una mortalidad anual del 54%, 74% y 80% en países como EEUU, Francia y Asia respectivamente; siendo Asia el mayor ocupante con fines suicidas. En México sigue siendo parte de los programas gubernamentales que apoyan el campo

y aunque se desconoce con exactitud la cantidad que se utiliza en los cultivos forma parte de la lista de las 31,767 toneladas utilizadas de 2007 a 2019 (Hoshina et al., 2018; CEDRSSA, 2020).

Figura 1. Síntesis del Paraquat. Se produce a partir del acoplamiento de piridina en presencia de sodio en amoníaco anhidro, y cuaternizando el 4,4-bipiridilio con un exceso de cloruro de metilo para obtener dicloruro de Paraquat. Tomado de Dinis-Oliveira et al., 2008.



Además, el PQT es altamente persistente, la vida media estimada es de 1000 días. En el aire predomina en fase de partículas, y suele ser removido de la atmósfera por gravedad o precipitación junto con la lluvia. Es altamente afín a los suelos, se une rápida y fuertemente a las arcillas, humus y materiales orgánicos. En sistemas acuáticos la persistencia puede ser mayor que en el suelo por la menor disponibilidad de oxígeno y suele ser adsorbido a los sólidos suspendidos y sedimentos o absorción de las plantas acuáticas. De manera particular es casi insignificante su potencial de bioconcentración, sin embargo, puede bioacumularse en las plantas acuáticas. Pero puede ser fotodegradado en la superficie de las hojas de las plantas. La volatilización en el ambiente en general no es un destino importante para este compuesto, como tampoco lo son la fotólisis e hidrólisis en agua (Dinis-Oliveira et al., 2008; Roede y Miller, 2014).

La toxicidad de PQT es diferente de acuerdo con cada organismo es decir se torna moderada en aves, ligera a moderada en moluscos y zooplancton, ligera en crustáceos, nula a moderada en peces y nula a ligera en anfibios e insectos. A concentraciones elevadas puede inhibir la fotosíntesis en algunas especies de algas y al contacto directo

puede destruir los tejidos verdes en las plantas. En un supuesto bajo condiciones de uso recomendado no constituye un riesgo para la vida silvestre. Existen evidencias limitadas que el PQT sea capaz de producir cáncer en especies de animales de laboratorio.

El PQT se puede absorber rápidamente por inhalación y a través del intestino después de la ingestión. La absorción después de la ingesta oral es de aproximadamente el 10%. La absorción a través de la piel intacta es generalmente baja, pero aumenta sustancialmente si la piel está dañada, también ha provocado la muerte en humanos. Después de la ingesta oral, hay una alta concentración inicial en el hígado y los riñones, que luego se reduce. La concentración plasmática es relativamente estable durante 30 h y aumenta la concentración en los pulmones. Los niveles bajos de PQT pueden retenerse en el tejido muscular después de la exposición de la piel y liberarse lentamente a la sangre (Roede y Miller, 2014).

Los pulmones son el principal órgano diana del PQT, y la insuficiencia respiratoria resultante de la inflamación pulmonar grave y la fibrosis intersticial es una de las principales causas de muerte. Además, el PQT puede generar especies reactivas de oxígeno que están asociadas con daño celular y apoptosis en muchos órganos. El contacto a corto y largo plazo provoca irritación, retrasa la recuperación de cortes y heridas en la piel. La intoxicación grave por PQT es caracterizado por insuficiencia multiorgánica, que afecta principalmente a los pulmones, riñones e hígado (Chen et al., 2012; Marashi et al., 2019).

I.1.1.3 Ácido 2,4-diclorofenoxiacético

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D; CAS 94-75-7) pertenece al grupo de los herbicidas fenoxiacéticos, que constituyen uno de los mayores grupos de herbicidas vendidos en todo el mundo. Actualmente, se utilizan dos procesos para la producción de 2,4-D. En el primer proceso, el fenol se condensa con ácido cloroacético formando ácido fenoxiacético, que posteriormente se clora. En el segundo proceso se clora el fenol, generando 2,4-diclorofenol, que posteriormente se condensa con ácido cloroacético (IARC, 2018) (**Figura 2**).

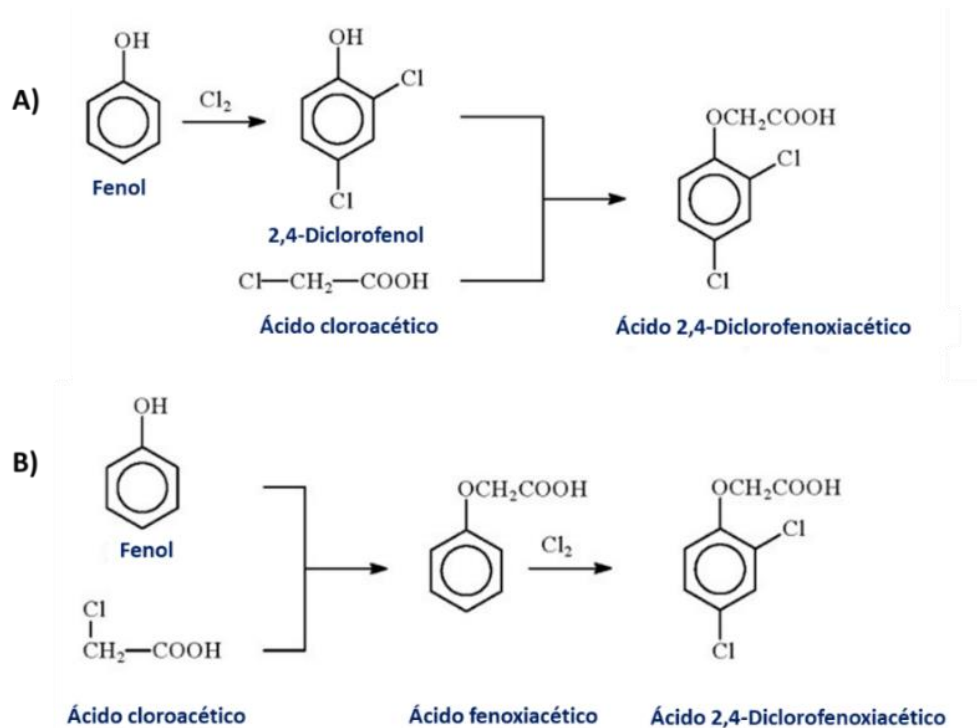


Figura 2. Síntesis del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) a partir de dos vías: (A) vía 2,4-diclorofenol y (B) a partir el ácido cloroacético. Tomado de IARC, 2018.

Las formulaciones del herbicida 2,4-D son derivados de compuestos fenólicos y pertenecen a la familia de herbicidas de ácido fenoxiacético. Son considerados herbicidas moderadamente tóxicos, clase 2B por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017). Son auxinas de hormonas vegetales sintéticas empleadas en muchos cultivos, incluidos arroz, trigo, sorgo, caña de azúcar y maíz para controlar las malezas de hojas anchas. Estos herbicidas tienen un modo de acción análogo a la hormona auxina natural.

El mecanismo de acción de los herbicidas de auxina depende de la dosis y este efecto depende de la sensibilidad de los tejidos y las especies. A las dosis recomendadas, los herbicidas de auxina pueden actuar con las propiedades de una hormona auxina natural. Sin embargo, concentraciones más altas que las recomendadas provocan irregularidades en el crecimiento de plantas sensibles (Magnoli et al., 2020; Pazmiño et al., 2012).

El uso de herbicidas a base de 2,4-D se inició en 1940 durante la Segunda Guerra Mundial y su aplicación generalizada aumentó cuando apareció la necesidad de un herbicida alternativo contra las malas hierbas resistentes al glifosato. Se utiliza por su selectividad sobre malezas de hoja ancha. Actualmente se utiliza la combinación de 2,4-

D y glifosato debido a la necesidad de incrementar el espectro de acción de ambos herbicidas. Además de la forma ácida en el mercado mundial, hay tres formulaciones de este herbicida, el inorgánico, la amina y las sales de ésteres. Hay más de 600 productos que contienen 2,4-D en el mercado. En 2001, la formulación basada en estos compuestos representó alrededor del 90-95% del total de 2,4-D comercializado en el mundo. Los Estados Unidos de América, Sudamérica, Europa y Rusia son los principales mercados y productores de 2,4-D, y su consumo aumentó alrededor del 40% en la última década (USDA, 2017). La principal fuente de exposición al 2,4-D en humanos y animales es el aire, el agua potable, el suelo y los alimentos contaminados. Además, el trabajo humano en el campo y en las fábricas de síntesis de 2,4-D son las prácticas con mayor riesgo (**Figura 3**) (Magnoli et al., 2020).

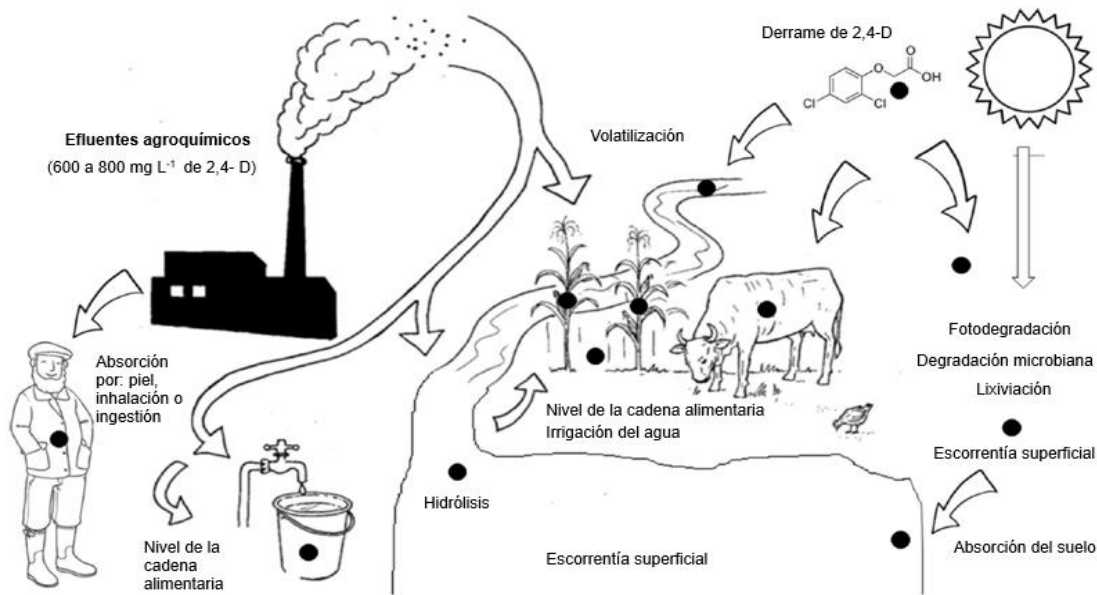


Figura 3. Ruta ambiental del 2,4-D después de la aplicación agrícola y doméstica. Los herbicidas como el 2,4-D, después de su aplicación en los cultivos, llega al humano y a los animales a través de la volatilización, escorrentía, y al bioacumularse en los organismos y biomagnificarse a través de la cadena trófica. Tomado de Magnoli et al., 2020.

El 2,4-D residual y sus principales metabolitos de degradación persistente (como 2,4-DCP; 2-CP; 4-CP) producen efectos tóxicos inespecíficos en organismos no objetivo. Se han demostrado efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos en animales cuando están expuestos a altos niveles de estos herbicidas (Fent, 2003). Sumado a estos efectos, también se informan alteraciones inespecíficas como problemas de miocardio, depresión del sistema nervioso central e irritación gastrointestinal. El 2,4-D y sus derivados provocan una gran preocupación por sus fuertes efectos negativos en diferentes tipos de organismos. En peces, el contacto directo con la concentración base de 2,4-D está involucrado en las deformaciones en la luz del túbulo del hepatopáncreas y en la mielinización de las alteraciones histopatológicas del tejido branquial (Bortolozzi et al., 2003; Benli et al., 2016).

Con respecto a la exposición de 2,4-D en humanos, se ha descrito que la exposición a 2,4-D puede estimular la producción de especies reactivas de oxígeno, induciendo estrés oxidativo y provocando lesiones mutagénicas y peroxidación de las lipoproteínas. Además, la alta exposición a 2,4-D se asoció con un aumento del riesgo de linfoma no Hodgkin 3.8 veces en comparación con un historial de baja exposición; esta asociación apareció en mujeres y hombres. La leucemia no se asoció con 2,4-D (Lerro et al., 2017).

Independientemente del tipo de plaga a la que se ataque (herbicida, rodenticida, fungicida, etc.), ya se ha demostrado que la exposición a ciertos plaguicidas representa un peligro continuo para la salud, especialmente en el entorno agrícola. Puesto que, por propia naturaleza, los plaguicidas muestran un alto grado de toxicidad porque están diseñados para erradicar ciertos organismos y, por lo tanto, crean algún riesgo de daño. En este contexto, su uso ha suscitado serias preocupaciones no solo por los posibles efectos en la salud humana, sino también por los impactos en la vida silvestre y los diversos ecosistemas (Damalas, 2009; De et al., 2014).

I.1.2 Ecotoxicología de los plaguicidas

Los plaguicidas presentan efectos adversos sobre el medio ambiente, en particular, el uso inadecuado se ha relacionado con la pérdida o reducción de especies beneficiosas (organismos no objetivo), contaminación del agua por plaguicidas móviles o derivados de estos; contaminación del aire por plaguicidas volátiles; daño en plantas no objetivo debido a la deriva de herbicidas; daño a cultivos rotatorios por residuos de herbicidas que permanecieron en el campo; daño al cultivo debido a altas tasas de aplicación, tiempo de aplicación incorrecto o condiciones ambientales desfavorables en y después de la aplicación de plaguicidas (Damalas y Eleftherohorinos, 2011; Sharma et al., 2019).

Los efectos adversos de los plaguicidas sobre el medio ambiente dependen en gran medida de sus propiedades fisicoquímicas (presión de vapor, estabilidad, solubilidad, pKa), la adsorción y la persistencia en suelo, de factores como pH, componentes orgánicos, superficies inorgánicas, humedad del suelo, microflora y fauna del suelo, especies de plantas y la variación climática han sido reconocidos durante mucho tiempo como los factores más importantes que afectan el destino del plaguicida en el ambiente y, en consecuencia, la actividad, la selectividad y los efectos adversos (Sharma et al., 2019).

Aunque el suelo agrícola es el principal receptor de plaguicidas, los cuerpos de agua adyacentes suelen ser el receptor final de los residuos. Plaguicidas como: aldrina, clordano, diclorodifeniltricloroetano (DDT), dieldrina, endrina, heptacloro y hexaclorobenceno contienen contaminantes orgánicos persistentes (COP) que resisten la degradación y, por lo tanto, permanecen en el medio ambiente durante años (Kim et al., 2017). Además, tales compuestos son capaces de bioacumularse, biomagnificarse y pueden bioconcentrarse hasta 70.000 veces en relación a la concentración inicial (Hernández et al., 2013). Ya se ha descrito que la aplicación repetida de plaguicidas conduce a la pérdida de biodiversidad y aumenta la resistencia a las plagas. Se ha estimado que el 95% de los plaguicidas aplicados tienen el potencial de impactar organismos no objetivo y dispersarse ampliamente en el medio ambiente (Damalas, 2009; Sharma et al., 2019).

La degradación y la sorción son factores que influyen en la persistencia de plaguicidas en el suelo. Los impactos de algunos compuestos plaguicidas pueden durar décadas, afectando negativamente la conservación del suelo y reduciendo la biodiversidad y calidad del suelo (Jacobsen y Hjelmsø, 2014).

La contaminación atmosférica de plaguicidas puede ocurrir a través de la deriva de plaguicidas (deriva de la pulverización aérea) y volatilización posterior a la aplicación. Incluso en interiores, las corrientes de aire creadas por calefacción, refrigeración y los sistemas de ventilación pueden ser un mecanismo para la propagación de plaguicidas utilizado en ambientes interiores (insecticidas, rodenticidas, etc.). El uso de plaguicidas representa aproximadamente el 6% del nivel total de ozono troposférico. Se han encontrado concentraciones altas de plaguicidas en el aire ambiental de sitios de cultivo, siendo estos sitios potenciales de riesgo para la vida silvestre (Damalas, 2009; Kim et al., 2017).

También se han encontrado residuos de plaguicidas en la lluvia y en las aguas subterráneas. En algunos países como Hungría, los contaminantes más comunes en el agua fueron atrazina (6%), acetoclor (4%), propisocloro (1,5%), metolacloro (1,5%), diazinón (1%) y 2,4-D (1%) (Székács et al., 2015). En el agua potable de Turquía se han encontrado concentraciones altas de beta-Hexaclorociclohexano (β -HCH), 4,4'-DDT, endrina cetona y metoxicloro (Bulut et al., 2010); además de encontrar residuos de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales entre 2000 y 2002 en el río Küçük Menderes en Turquía (Turgut, 2003). La contaminación del medio acuático con plaguicidas se ha observado en muchos países del mundo, por ejemplo, en Argentina, Australia, Grecia, Nigeria, Portugal, España, Uruguay y Estados Unidos de América (Bojarski y Witeska, 2020).

En cuanto a la fauna, tanto en reptiles como mamíferos están expuestos diariamente a una variedad de plaguicidas a través del contacto, ingestión, inhalación, transferencia materna a los huevos, exposición dérmica y absorción por los huevos de los ambientes circundantes. La mayoría de las áreas donde habitan estos organismos se encuentran en la proximidad de campos con intensa actividad agrícola. El principal problema para la salud de las poblaciones es la coincidencia de su época de reproducción con el período de máxima aplicación de plaguicidas

(primavera y verano), lo que implica un riesgo de contaminación especialmente importante para los embriones en desarrollo y los recién nacidos. Además, los contaminantes acumulados en el cuerpo materno podrían llegar al embrión a través de la yema, la placenta, afectando también el desarrollo embrionario y fetal (Bojarski y Witeska, 2020; Mestre et al., 2020).

En peces, existen extensos estudios sobre los efectos tóxicos de varios plaguicidas. La exposición a estos provoca alteraciones metabólicas que se manifiestan como cambios en los índices bioquímicos, lesiones histopatológicas y cambios en los parámetros hematológicos. También, la exposición a plaguicidas puede provocar alteraciones endocrinas, reproductivas, de crecimiento e incluso conductuales. En todo el mundo que se ha informado que son capaces de inducir diversas alteraciones adversas en líneas celulares humanas y otras especies (Mestre et al., 2020).

En el caso de PQT y 2,4-D, como se mencionó con anterioridad, ambos ya se han prohibidos en varios países, y se ha observado que puede causar alteraciones los parámetros hormonales (disrupción endocrina) y reproductivos, sin embargo, aún no se han catalogados como disruptores endocrinos (Van der Oost et al., 2003; Carnevali et al., 2018).

I.1.3 Plaguicidas como disruptores endocrinos

Los EDC (*Endocrine Disrupting Chemicals*, por sus siglas en inglés) son sustancias capaces de alterar el sistema hormonal (mimetizando, potenciando, bloqueando o inhibiendo la acción de las propias hormonas) lo que resulta crítico para el crecimiento, el desarrollo, la reproducción, la diferenciación sexual y la regulación de los procesos metabólicos (Van der Oost et al., 2003; Carnevali et al., 2018).

Existen dos tipos de disruptores endocrinos: los no persistentes, capaces de actuar durante cortos períodos de tiempo y en momentos críticos del desarrollo y pueden desaparecer del organismo con facilidad; y los persistentes, que se acumulan en el organismo y actúan aunque la exposición no haya tenido lugar en un momento crítico, por lo que se le atribuye baja biodegradabilidad, el transporte a otros lugares por el aire y el agua, así como la bioacumulación en la cadena trófica

(Hutchinson, 2006). A continuación, se describen cuatro principales vías de acción de un EDC:

1. *Por unión y activación de receptores estrogénicos-androgénicos (xenoestrógenos y xenoandrógenos).* Estos EDC se unen y activan el receptor estrogénico y presentan efectos aditivos y/o sinérgicos con la consecuente acción más prolongada. Varios tejidos como las gónadas, hígado, cerebro y órganos sexuales accesorios muestran una cantidad elevada de este tipo de receptores.
2. *Por unión sin activación del receptor estrogénico.* Actúan como antiestrógenos o antiandrógenos. Tal es el caso de las dioxinas y PCBs.
3. *Por modificación del metabolismo hormonal.* Actúan sobre la ruta metabólica del estradiol y son capaces de aumentar la concentración plasmática de dicho esteroide, impiden su síntesis y aumentan la velocidad de degradación tal es el caso de plaguicidas como el lindano y la atrazina.
4. *Por modificación del número de receptores hormonales en la célula.* Un EDC es capaz de reducir o aumentar el número de receptores, por lo tanto, afecta el estado de respuesta a las hormonas naturales o sintéticas.

El desarrollo y mantenimiento de las funciones reproductivas, es en gran medida controlada por hormonas esteroides y por lo tanto puede estar influenciado por EDC. Los estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los EDC, como los contaminantes orgánicos persistentes (COP), bifenilos policlorados (PCB), plaguicidas organoclorados y otros compuestos pueden imitar y/o antagonizar hormonas endógenas. Específicamente, en procesos reproductivos masculinos, se ha descrito que la exposición a los EDC se asocia con atrofia testicular y fertilidad reducida en mamíferos (Long et al., 2007).

Estudios epidemiológicos han demostrado la asociación general de PCB y pesticidas organoclorados con una motilidad, concentración y morfología de espermatozoides anormal en hombres (Hauser et al. 2002). Sin embargo, aún no es concluyente si la exposición a niveles bajos de EDC tiene un impacto en la reproducción masculina.

I.1.4 Reproducción masculina

El sistema endocrino juega un papel importante en la regulación de diversos procesos entre ellos la reproducción. En el caso del género masculino para que se lleve a cabo la reproducción se requiere de dos procesos (esteroidogénesis y espermatogénesis) en los cuales se ven involucrados distintos ejes hormonales, principalmente, el eje hipotálamo-hipófisis-testículo. El hipotálamo es el encargado de segregar la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) estimulando la producción de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en el lóbulo anterior de la hipófisis (adenohipófisis). Las hormonas hipofisarias FSH y LH estimulan la función endocrina y exocrina del testículo (Arrondo, 1999).

En el caso del funcionamiento endocrino en la esteroidogénesis, la LH estimula a las células de Leydig para secretar andrógenos, particularmente testosterona. La testosterona inhibe de forma directa la secreción de GnRH en el hipotálamo, provocando una disminución de LH en la adenohipófisis, lo que reducirá la producción de testosterona en las células de Leydig. La mayor parte de la inhibición de la secreción de la hormona masculina se atribuye a este mecanismo de retroalimentación. Además, el testículo es capaz de metabolizar la testosterona a estradiol mediante las enzimas aromatasas presentes en los túbulos y el intersticio. El estradiol, en concentraciones fisiológicas, también disminuye la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (Arrondo, 1999).

La función exocrina es un proceso dinámico implicado en la multiplicación, maduración y diferenciación de células germinales hasta la formación de células maduras denominado espermatogénesis. Esta se lleva a cabo en los túbulos seminíferos actuando en los receptores específicos de las células de Sertoli para la producción de espermatozoides y se estimula por la FSH (Arrondo, 1999; Barret et al., 2016). Un factor importante que actúa sobre la hipófisis frenando la producción de FSH es la hormona llamada inhibina, producida por las células de Sertoli. En presencia de una dotación de células espermatogénicas en el epitelio seminífero, la inhibina se va liberando de modo continuo y actúa sobre la hipófisis para frenar o suprimir la producción de FSH. También se conoce que la propia testosterona y el

estradiol son capaces de reducir los niveles séricos de la FSH (Arrondo, 1999). La testosterona también es necesaria para el proceso de la espermatogénesis.

Las células de Sertoli sintetizan una proteína fijadora de andrógenos (la ABP: androgen binding protein) que es necesaria para mantener una concentración adecuada de testosterona en el epitelio seminífero. La ABP se segrega a la luz de los túbulos y transporta la testosterona necesaria para mantener una función normal del epitelio que reviste los túbulos eferentes y el epidídimo completando el proceso de la espermatogénesis (**Figura 4**; Barret et al., 2016).

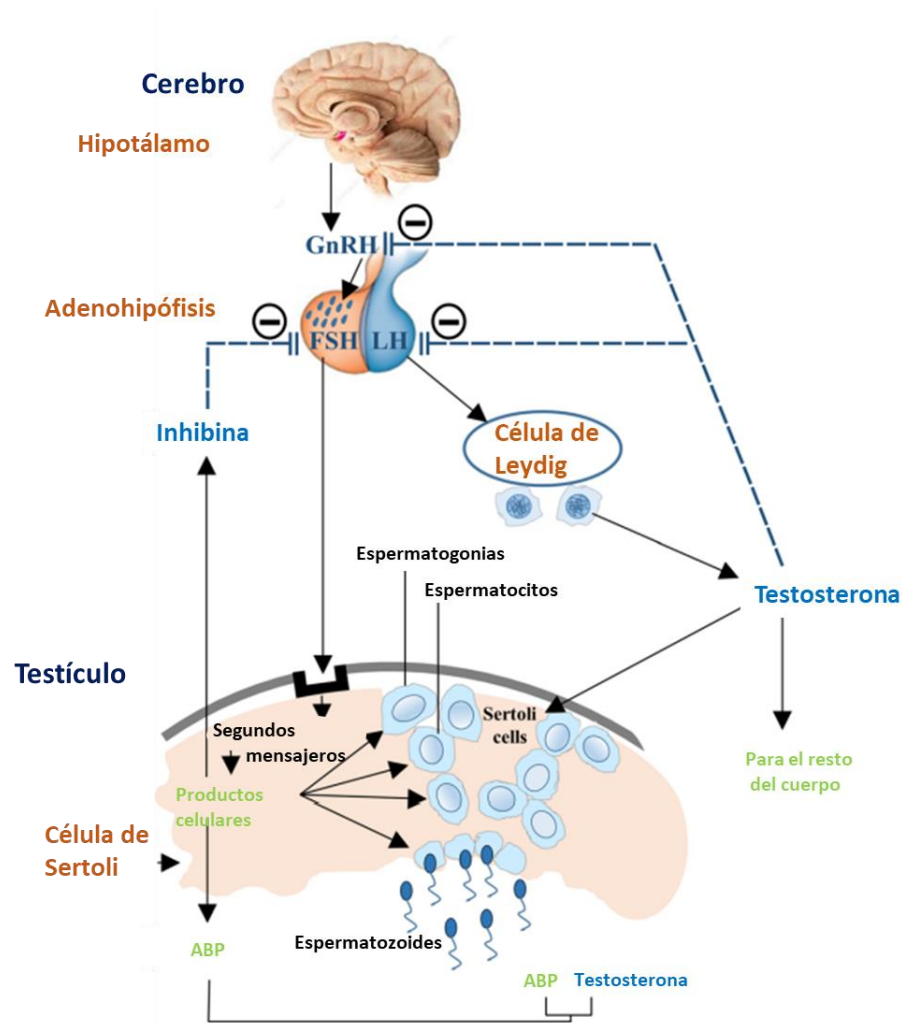


Figura 4. Eje hipotálamo-hipófisis-testículo. El hipotálamo sintetiza y libera la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual estimula a la adenohipófisis para que libere a las hormonas luteinizante (LH) y a la hormona folículo estimulante (FSH). La LH actúa en las células de Leydi para la esteroidogénesis, mientras que la FSH actúa en las células de Sertoli para la espermatogénesis. Proteína fijadora de andrógenos (ABP). Tomado de Shah et al., 2021.

I.1.5 Participación del eje tiroideo en la reproducción masculina

Otro eje implicado en la reproducción masculina es el eje tiroideo. Este eje está conformado por el hipotálamo, la hipófisis y la tiroides, y se encarga de la regulación de las hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas son esenciales para el crecimiento y desarrollo pre y posnatal normales, y se sabe que juegan un papel fundamental en la regulación del metabolismo de casi todos los tejidos de los mamíferos. Estas hormonas son importantes para el desarrollo normal del sistema nervioso central, sistema pulmonar, sistema cardiovascular y sistema reproductivo (Zamoner et al., 2011).

La hormona liberadora de tirotropina (TRH) es sintetizada en las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo, para luego transportarse por el sistema portohipofisario hasta la glándula adenohipófisis para estimular la síntesis y secreción de la hormona estimulante de tiroides (TSH). Esta hormona a su vez estimula la síntesis y secreción de hormonas tiroideas en la glándula tiroides (Lam de Calvo y Castillero de Santos, 2021).

La tetrayodotironina (tiroxina; T4) es la hormona tiroidea que se secreta en mayor proporción por la glándula tiroides, sin embargo, para poder llevar a cabo su función, esta hormona necesita convertirse a triyodotironina (T3); es decir perder un yodo. Este proceso se da a través de tres enzimas desyodantes (*DIO1-3*). La conversión se logra principalmente por la *DIO* tipo 1 y tipo 2 (*DIO1* y *DIO2*), su acción modifica la disponibilidad de T3 local, así como los niveles séricos (Hernández et al., 2017).

La T3 y T4 son moléculas sin carga y liposolubles, sin embargo tienen baja tasa de difusión a través de la membrana celular por lo que requieren ser transportadas al interior de las células blanco y lo hacen por medio de transportadores de membrana específicos. Tal como transportadores de monocarboxilatos (*MCT8* y *MCT10*) y los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (*OATP1C1*), y otros menos específicos como los transportadores de aminoácidos tipo L (*LAT1* y *LAT2*) El *MCT8* puede transportar T4, T3y rT3; el *MCT10*, principalmente T3; por su parte los *LAT1* y *LAT2* transportan T3 y T4 con

muy poca especificidad. Por último, los transportadores *OATP1C1* transportan T4, T3y rT3 (Lam de Calvo y Castellero de Santos, 2021).

Las hormonas tiroideas actúan principalmente a nivel genómico por medio del control de la expresión de genes específicos a través de sus receptores. Los receptores nucleares para las hormonas tiroideas (*TRs*) son factores de transcripción con sensibilidad a estas hormonas, se encuentran unidos a la cromatina y pueden alterar la transcripción de genes específicos. Existen cuatro *TRs* que poseen un dominio de unión al ADN y otro dominio a unión de hormona tiroidea, entre los cuales se encuentran *TRα1*, *TRβ1*, *TRβ2* y *TRβ3*. Estos receptores son 10 veces más afines a T3 que a T4, además, pueden formar un heterodímero con el receptor del ácido 9-cis-retinoico llamado Receptor de Retinoide X (*RXR*); esta unión intensifica la unión de los *TRs* con el ADN, por lo cual se genera un incremento en la actividad biológica (**Figura 5**; Lam de Calvo y Castellero de Santos, 2021).

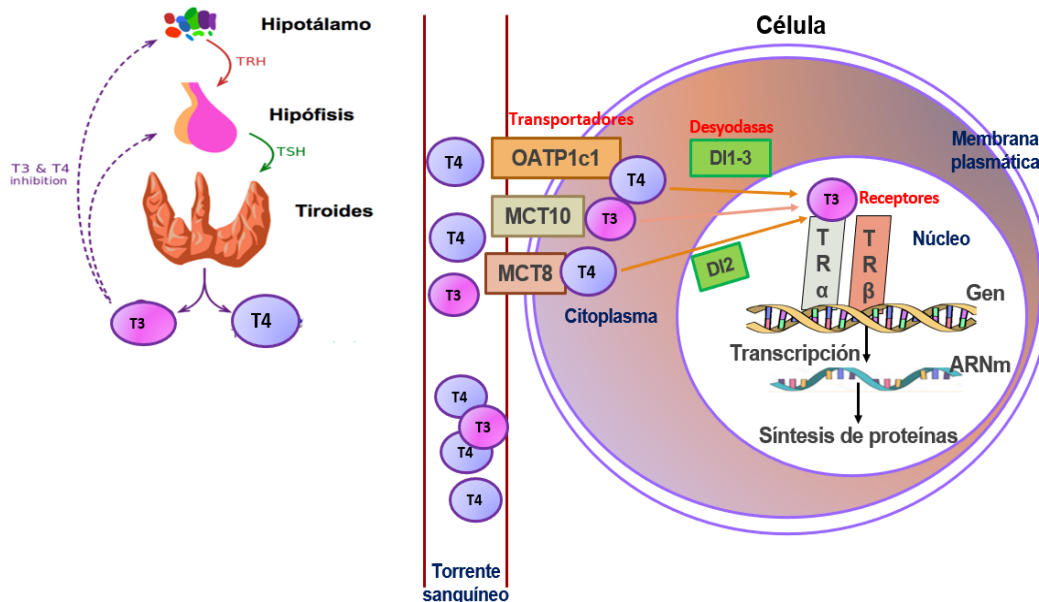


Figura 5. Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas. La T4 y T3 séricas entran a la célula blanca. La T4 pierde un yodo y se convierte en T3. El receptor nuclear de hormona tiroidea (TR) forma heterodímero con el receptor del ácido retinoico (RXR) este complejo TR-RXR se une al ADN en el Elemento de Respuesta a Hormonas Tiroideas (THRE). La unión de T3 al receptor induce aumento o disminución de la transcripción de genes que rigen la síntesis de proteínas. Modificado de Lam de Calvo y Castellero de Santos, 2021.

Los *TRs* funcionan mediante interacción con secuencias específicas de los genes regulados, denominados Elementos de Respuesta a Hormonas Tiroideas (THRE). En ausencia de T3, el complejo TR-RXR, que se une a los THRE de los genes de los tejidos blanco, forma un complejo proteico con correpresores (SMRT y N-Cor) que se unen a deacetilasas de histonas (Sin3, HDAC), para mantener compacta a la cromática y la transcripción reprimida. La unión de T3, hace el cambio de conformación de receptor, liberando a los correpresores y forma un complejo coactivador (SRC-1) con proteínas que inducen la acetilación de la cromatina (CBP/p300, pCAF) y así permitir la transcripción génica. Todo ello para formar una gran cantidad de ARN mensajero de distintos tipos, para proceder en minutos u horas a la traducción en los ribosomas citoplasmáticos para formar cientos de proteínas intracelulares (Lam de Calvo y Castillero de Santos, 2021).

Las hormonas tiroideas pueden actuar sobre el testículo y demás órganos reproductivos modulando la secreción y el efecto de las hormonas gonadotróficas (LH y FSH), factores de crecimiento y otras proteínas que regulan la función reproductiva y sexual (Carosa et al., 2017; Hernández et al. 2018).

Se ha descrito que las hormonas tiroideas regulan los niveles de ARNm del transportador de glucosa tipo 1, la actividad de la aromatasa, y varios procesos de las células de Sertoli y de Leydig en varias especies de mamíferos. Las hormonas tiroideas pueden afectar la proliferación de células de Sertoli de forma directa o indirecta. Generalmente, la forma indirecta está mediada por la T3 que inhibe la producción de FSH y reduce la proliferación de estas. Algunos estudios demostraron que el tratamiento con T3 puede reducir la actividad de proliferación, así como el período de proliferación y el número de células de Sertoli al acelerar la acumulación de los inhibidores del ciclo celular p27Kip1 y p21Cip1. Cabe señalar que la hormona tiroidea, el ácido retinoico y la testosterona comparten efectos supresores similares sobre la tasa de división de las células de Sertoli sin ningún efecto aditivo aparente. Otro estudio mostró que las conexinas 43 (Cx43) podrían ser un objetivo intermedio de T3 en la inhibición de la proliferación de células de Sertoli. La presencia de *TRs* específicos, descritos en células de Sertoli prepuberales, implica la existencia de una influencia temprana y crítica de las hormonas tiroideas en el desarrollo testicular

(Jannini et al., 1999). En este contexto, se ha demostrado que la relación *TR α 2/TR α 1* aumenta progresivamente desde la vida fetal hasta la edad adulta, lo que refuerza que probablemente se requiera *TR α 1* durante la diferenciación y el desarrollo normal de los testículos (Jannini et al., 2000). Tomados en conjunto, estos resultados sugieren claramente que las hormonas tiroideas y sus receptores están involucrados en la diferenciación de testículos y confirman que la edad prepúber es el objetivo importante de estas hormonas.

En roedores, la *Dio2* se presenta en testículos en desarrollo hasta la edad adulta localizada en células germinales. También se ha detectado actividad en menor proporción de *Dio1* en los testículos en desarrollo, pero se desconoce su significado funcional y las células que expresan la enzima. La expresión de *Dio3* es alta en testículos de rata y ratón en desarrollo, con la mayor expresión durante las primeras dos semanas de vida (Bates et al., 1999; Martínez et al., 2016; Hernández et al., 2017; 2018).

En cuanto a TRs, *Thra* se expresa predominantemente en los testículos de roedores en desarrollo y en la edad adulta. Por su parte en el humano no se observa expresión de *THR β* pero si un nivel significativo de *THR α* a diferentes edades observándose un pico elevado en la edad neonatal temprana disminuyendo en la edad adulta (Hernández et al., 2017; 2018).

Actualmente se sabe que tanto *Mct8* como *Oatp1c1* están expresados en los testículos. Por su parte, el *Mct8* se expresa fuertemente en testículos de pollo y de ratón mayormente en neonatos que en adultos (Heuer y Visser, 2009; Martínez et al., 2016; Bourgeois et al., 2016).

Diversos estudios han demostrado que, en humanos y roedores, las alteraciones en el estado de las hormonas tiroideas pueden causar anormalidades testiculares, influyendo en la esteroidogénesis y la fisiología de los andrógenos (Maran, 2003). Además, alteran la espermatogénesis, lo que en última instancia conduce a una reducción de la fertilidad masculina. Por lo que niveles anormales de hormonas tiroideas durante etapas particulares de desarrollo conducen a defectos moleculares, celulares y funcionales en los testículos (Wagner et al., 2008; Castaneda et al., 2014; Gao et al., 2014).

La mayoría de los efectos no genómicos de las hormonas tiroideas involucran respuestas celulares mediadas por iones de calcio (Ca^{2+}) en diferentes tipos de células. Se sabe que los canales de Ca^{2+} son enlaces esenciales entre cambios transitorios en el potencial de membrana y una variedad de respuestas celulares. Ménegaz et al. (2010) demostraron que la T4 desencadena una entrada de Ca^{2+} rápida y transitoria en las células de Sertoli. Además, se requerían actividades extracelulares de Ca^{2+} y del canal de Ca^{2+} dependiente de voltaje (VDCC) para la captación de aminoácidos inducida por T4, y este efecto fue independiente de la síntesis de proteínas. Además, se ha descrito que tanto la T3 como la T4 estimulan la hiperpolarización de las células de Sertoli (Menegaz et al., 2006), pero curiosamente, a pesar de las aparentes similitudes de estos efectos, el mecanismo de acción de T3, desencadenando la acumulación de aminoácidos, dependía de la síntesis de proteínas activas, mientras que la acción de T4 no (Menegaz et al., 2006).

Además del Ca^{2+} , otros canales iónicos son modulados por las hormonas tiroideas en los testículos. La evidencia de la participación de diferentes canales de potasio (K^+), Ca^{2+} y cloro (Cl^-) en el mecanismo de acción de las hormonas tiroideas, caracteriza a la membrana plasmática como un importante microambiente capaz de coordinar rutas estratégicas de transducción de señales en testículos de rata (Menegaz et al., 2006, 2010, Zamoner et al., 2011).

Independientemente de las hormonas, prácticamente todas células requieren de los canales iónicos para desempeñar sus funciones. Dado que los espermatozoides son transcripcional y traduccionalmente inactivos, lo que significa que los espermatozoides son en gran medida incapaces de sintetizar nuevo ARNm o traducirlo en nuevos polipéptidos, todas las actividades celulares en su interior se llevan a cabo mediante señales controladas por los canales iónicos de los espermatozoides y transportadores de membrana que generalmente se heredan durante su diferenciación (Miller et al., 2015).

I.1.6 Canales iónicos implicados en la función espermática

La señalización celular en el espermatozoide es iniciada y mantenida por canales iónicos permeables a cationes, a protones, no selectivos y varios canales activados por ligandos que se encargan de regular múltiples procesos inmersos en la capacitación espermática. Entre los canales iónicos que participan en la motilidad hiperactivada, vital para la supervivencia y fertilidad de los espermatozoides, se encuentran: el canal de Ca^{2+} (*CatSper*), el canal de K^+ (*KSper*), el canal de H^+ (*Hv1*), el canal Na^+ y el canal receptor de potencial transitorio tipo vanilloide (*Trpv4*) (Kumar et al., 2016; Mundt et al., 2018). En la presente investigación nos enfocaremos al canal *CatSper* y al *Trpv4*.

I.1.6.1 Canal de cationes de los espermatozoides, *CatSper*

El canal de cationes *CatSper* se expresa en testículos y exclusivamente se encuentra localizado en el fragmento principal del flagelo de los espermatozoides maduros. Es débilmente dependiente de voltaje, sensible al pH, selectivo a Ca^{2+} , es decir, controla la entrada de iones de calcio en espermatozoides, indispensable para la fertilidad masculina. *CatSper* es un canal heterotetramérico, se conforma por cuatro subunidades α (alfa) encargadas de la formación del poro (*CatSper 1–4*) y cinco subunidades auxiliares adicionales: *CatSper* β (beta), *CatSper* γ (gamma) y *CatSper* δ (delta), *CatSper* ζ (zeta) y *CatSper* ϵ (épsilon), codificadas por al menos siete genes, lo que lo convierte en uno de los canales más complejos (**Figura 6**) (Lishko et al., 2012, Lin et al., 2021).

En 2001, se descubrió el primer poro que forma la subunidad del canal de cationes *CatSper*, nombrado como *CatSper 1*, después del descubrimiento de otras subunidades. El gen *CatSper1* de ratón se encuentra en el cromosoma 19 y codifica una proteína de 686 aminoácidos; mientras que, el gen *CatSper2* se identificó como otra subunidad α formadora de poros. Los dos miembros de la familia, *CatSper3* y *CatSper4*, se identificaron posteriormente mediante bases de datos *in silico*. *CatSper3* (**Tabla 1**) (Rahban et al., 2020).

CatSper 1 es diferente de las otras tres subunidades α puesto que posee un gran dominio terminal citoplasmático rico en histidina que se especula que funciona

como un sensor de pH (83 histidinas en los 446 aminoácidos que componen el extremo N). De hecho, se observa que la similitud de secuencia entre las cuatro subunidades α es baja y oscila entre el 16 y el 22 %. Lo mismo sucede con la homología de las diferentes subunidades de *CatSper* entre especies como en el ratón y el ser humano que oscila entre el 50 % (*CatSper1*) y el 69 % (*CatSper4*) lo que es relativamente bajo. Esto podría explicar las diferencias significativas en la función y regulación de *CatSper* en estas especies (Singh, et al., 2015; Rahban et al., 2020).

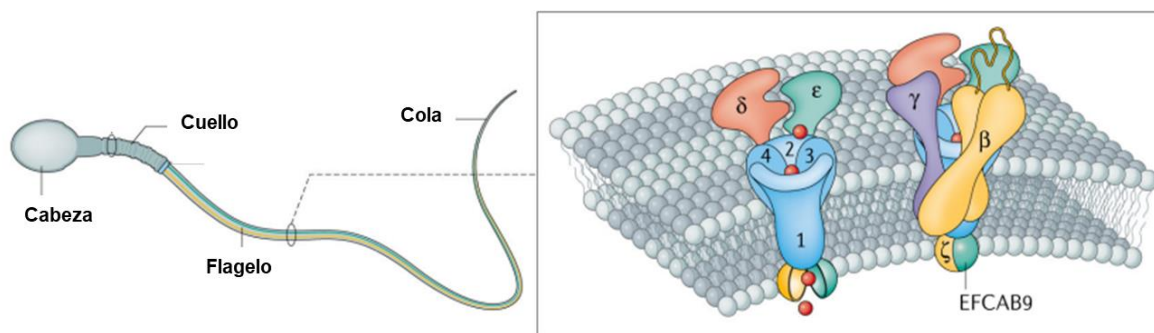


Figura 6. El canal de cationes de los espermatozoides, *CatSper*. El canal *CatSper* se localiza en la parte media del flagelo de los espermatozoides. *CatSper* se compone de al menos diez subunidades que incluyen *CatSper1–4* que forma poros, *CatSperβ*, *CatSperγ*, *CatSperδ* y *CatSperε* que no forman poros, y *CatSperζ* citosólico y la proteína 9 que contiene el dominio de unión a calcio (EFCAB9). Tomado de Wang et al., 2021.

Tabla 1. Localización cromosómica e identificadores de genes de las subunidades de *CatSper* en ratones y humanos.

Gen	Cromosoma (humano)	Aminoácidos	Cromosoma Ratón	Aminoácidos
<i>CatSper 1</i>	11q13.1	780	19A	686
<i>CatSper 2</i>	15q15.1–15.3	530	2E5	588
<i>CatSper 3</i>	5q31.1	344	13B1	395
<i>CatSper 4</i>	1p36.11	472	4D3	442
<i>CatSper β</i>	14q32.12	1116	12E	1109
<i>CatSper γ</i>	19q13.2	1159	7B1	1145
<i>CatSper δ</i>	19p13.3	798	17D	805

Tomado de Singh, et al., 2015; Rahban et al., 2020.

El canal *CatSper* se conserva evolutivamente en el genoma de especies desde mamíferos tal como: humanos, chimpancés, perros y ratas, lo mismo ocurre con invertebrados erizos de mar, reptiles, tunicados, equinodermos y cnidarios. Sin embargo, los genes *CatSper* se pierden en los genomas de aves, anfibios, insectos, peces, moscas, gusanos y plantas (Singh et al., 2014).

Diversos estudios demuestran que la interrupción dirigida de cada una de las cuatro subunidades α formadoras de poros *CatSper1–4* conduce a la infertilidad masculina causada por la pérdida de la función del canal y la ausencia de motilidad hiperactivada. De manera similar, los humanos que tienen mutaciones patogénicas en los genes *CATSPER1* Y *CATSPER2* sufren de infertilidad (Singh, et al., 2015; Rahban et al., 2020).

En términos generales, *CatSper* al ser permeable permite la afluencia de Ca^{2+} con ello aumenta la concentración de calcio intracelular en los espermatozoides, dando lugar a la motilidad hiperactivada que se define por un aumento en el ángulo de la curva flagelar, lo que resulta en más movimientos asimétricos (como látigos) y una fuerza de natación más vigorosa, esencial para llegar al sitio de fertilización (Kirichok et al., 2006; Lishko et al., 2012).

CatSper es un canal regulado por cambios en el pH intracelular, y se sugiere que la histidina en el dominio N-terminal es la responsable de la sensibilidad de este parámetro. Además, se ha demostrado que necesitan de señales químicas, como el líquido folicular, la progesterona y las prostaglandinas para poder llevar a cabo su acción biológica. La progesterona y las prostaglandinas en humanos estimulan la entrada de Ca^{2+} a través de activación directa de *CATSPER*. La progesterona es liberada por los ovarios y las células del cúmulo que rodean al óvulo iniciando con ello un alto flujo de entrada de Ca^{2+} dando como resultado el inicio de la hiperactivación del espermatozoide y, posteriormente, la reacción acrosomal para alcanzar con éxito la fertilización (Lishko et al., 2011; Brenker et al., 2012).

La sensibilidad de los espermatozoides a la progesterona depende de su etapa de desarrollo de manera que la sensibilidad máxima se observa en los espermatozoides eyaculados, lo cual especula que la variación en la sensibilidad puede actuar como un filtro de control de calidad del espermatozoide en el tracto

reproductor femenino de modo que sólo espermatozoides maduros y de buena calidad fecundan el óvulo. También, se cree que las prostaglandinas provocan la entrada de Ca^{2+} y los ligandos, activando directamente *CatSper* sin involucrar a los receptores acoplados a proteína G y la adenosina cíclica monofosfato (Brenker et al., 2012).

Durante la maduración, los espermatozoides humanos están expuestos a elevadas temperaturas, especialmente antes y durante la ovulación, que se correlaciona con un aumento de la temperatura corporal basal en 1 °C por lo que la presencia de un canal de iones sensible a la temperatura podría servir como sensor potencial para el inicio de la capacitación y podría garantizar maduración final de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino. En este caso, los espermatozoides cuentan con canales receptores de potencial transitorio tipo vaniloide (*TRPV*) (Nilius y Owsianik, 2011; Nilius y Flockerzi 2014).

I.1.6.2 Canal receptor de potencial transitorio tipo vaniloide, TRPV4

El canal *TRPV4* se describió por primera vez en el año 2000, es un canal catiónico no selectivo. *TRPV4* (también conocido como *OTRPC4*, *VRL-2*, *VR-OAC* y *TRP12*) se identificó por primera vez como un canal activado por la inflamación celular inducida por hipotonicidad pero, también es sensible a una amplia variedad de estímulos físicos y químicos. Es importante destacar que es capaz de integrar diferentes estímulos y confiere muchas funciones celulares distintas en varios tipos de células en todo el cuerpo (Wouter et al., 2010).

Recientemente, *TRPV4* ha sido confirmado como un canal iónico sensible a la temperatura del esperma. Este canal está distribuido en la pieza principal del flagelo del espermatozoide donde también residen *CatSper* y *Hv1* (Mundt et al., 2018; Kumar et al., 2020). *TRPV4* está presente en el esperma de varios vertebrados que van de peces a humanos y regula los niveles de Ca^{2+} , Mg^{2+} y la termotaxis. El Ca^{2+} intracelular, dependiendo de la concentración, puede potenciar o inhibir la actividad del canal *TRPV4* (Wouter et al., 2010).

Los espermatozoides están expuestos a un aumento tanto en la temperatura como en los iones de sodio (Na^+) al depositarse en el tracto reproductivo femenino. El flujo de entrada de Na^+ mediado por *TRPV4* induce la despolarización de la membrana, que a su vez activa tanto *Hv1* como a *CatSper*. La salida de H^+ a través de *Hv1* promueve la alcalinización intracelular y, por lo tanto, mejora la activación de *CatSper*. La apertura resultante de *CatSper* genera una entrada de Ca^{2+} a lo largo del flagelo y sirve como desencadenante de la hiperactivación (**Figura 7**; Mundt et al., 2018).

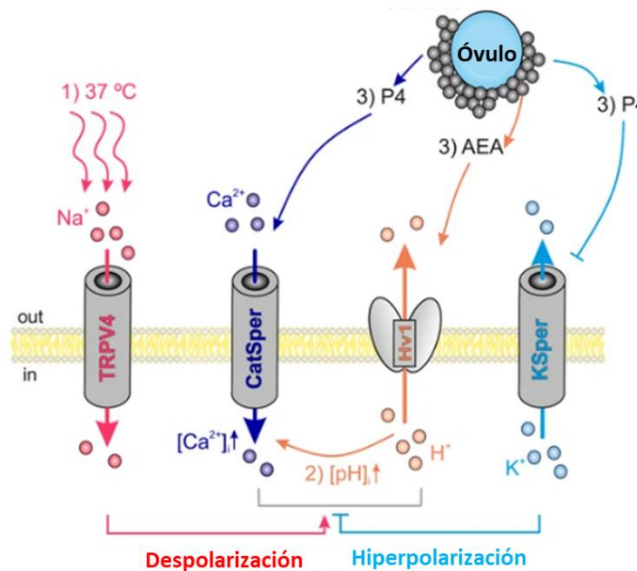


Figura 7. Canales iónicos en el espermatozoide. La transición a la motilidad hiperactivada se desencadena por un aumento mediado por CatSper en los niveles de calcio citosólico. La función adecuada de CatSper requiere tres mecanismos de activación concurrentes: (1) despolarización de la membrana, (2) alcalinización intracelular a través de la extrusión de protones mediada por Hv1 y (3) abundancia de progesterona (P4). El canal TRPV4 del espermatozoide se activa con temperaturas cálidas (37°C en el lugar de la fertilización). La entrada de sodio mediada por TRPV4 induce: (1) despolarización de la membrana, que a su vez activa tanto Hv1 como CatSper. Luego, Hv1 extruye protones fuera del espermatozoide, lo que conduce a (2) la alcalinización intracelular y una mayor activación de CatSper. Tomado de Mundt et al., 2018.

Dado que existen estudios epidemiológicos y en modelos animales que relacionan a los herbicidas con problemas reproductivos e incluso infertilidad en machos los genes de estos canales iónicos (*CatSper* y *TRPV4*), así como los genes involucrados en la acción de las hormonas tiroideas, son posibles candidatos para utilizarse como biomarcadores para evaluar la función testicular.

I.1.7 Biomarcadores

Unos de los factores de riesgo de muchas patologías se encuentran íntimamente relacionado con la exposición a tóxicos ambientales. El riesgo del deterioro puede ser evaluado mediante el uso de biomarcadores. Los biomarcadores son parámetros biológicos medibles capaces de proporcionar información del estado de salud o cuadro patológico de un individuo y/o una población, se utilizan principalmente para la comprensión de enfermedades desde el tratamiento adecuado, forma de prevención, diagnóstico y progresión de la enfermedad, además de respuestas terapéuticas, evaluaciones toxicológicas medicamentosas o agroquímicas, medición de riesgo ambiental y epidemiológico, entre otros (Corella y Ordovás 2015).

Un biomarcador es una variación en la respuesta biológica ya sea molecular, celular, fisiológica, y/o cambios conductuales. Es decir, cualquier alteración en un organismo o en sus productos como la orina, heces, cabello, plumas, etc., que se da por la relación entre el sistema biológico y un agente externo con potencial peligroso pudiendo ser químico, físico o biológico (Arango 2011; Corella y Ordovás 2015).

Para que un biomarcador pueda ser utilizado es fundamental haber pasado por un proceso de selección y aprobación considerando diversas características (especificidad, fiabilidad y sensibilidad) como medida de riesgo disponiendo de la exactitud y precisión, además de la garantía de la calidad del procedimiento analítico y la interpretación de datos de la medición, que se deben verificar comparados con otras variables. Para que un biomarcador pueda ser validado debe cumplir con consideraciones de acuerdo con los lineamientos de la WHO-ICPS1993, además de consideraciones éticas (Arango 2011):

- Identificación de riesgo: confirmar que el agente es capaz de producir efectos adversos en el organismo.
- Evaluación dosis- respuesta: estableciendo relaciones cuantitativas entre la dosis y el efecto.
- Evaluación de la exposición: identificación del tipo de exposición que se produce.

Los biomarcadores se subdividen en tres clases (Ostrosky-Wegman y Gonsebatt 1997):

Biomarcadores de exposición: Este tipo de biomarcador detecta y mide la presencia de sustancias exógenas, metabolitos o el producto de la interacción entre un agente xenobiótico y una molécula o célula blanco en fluidos dentro de un organismo. Se utilizan como medio confirmatorio de la exposición individual o poblacional de una sustancia en particular con el fin de proveer información de la exposición externa y la dosis interna. La bioacumulación de ciertos contaminantes ambientales persistentes en tejidos animales puede considerarse biomarcadores de la exposición a estos químicos.

Biomarcadores de efecto: Evalúan alteraciones bioquímicas, fisiológicas o de comportamiento que se asocian con una posible enfermedad. Es posible utilizarlos para documentar efectos adversos a la salud por la exposición a agentes tóxicos.

Biomarcadores de susceptibilidad: Son dependientes de las características propias de cada organismo, es decir informan acerca de la capacidad heredada o adquirida del mismo para responder a la exposición de una sustancia tóxica específica incluyendo factores genéticos y cambios en los receptores que alteran la susceptibilidad de un organismo a esa exposición, aunque en muchas ocasiones las categorías pueden traslaparse.

Cuando se trata de evaluar tóxicos en el ambiente (por ejemplo, los plaguicidas, herbicidas, etc.) se comparan datos obtenidos de la exposición en el laboratorio con los datos esperados en campo, aunque de alguna manera medir un tóxico así resulta complejo, por lo que es necesario el desarrollar investigaciones multidisciplinarias para llegar a conocer de forma más profunda los efectos adversos de un contaminante. Existen biomarcadores utilizados en el área ecotoxicológica que se miden en especies centinelas como aves, peces, invertebrados y diferentes tipos de organismos siguiendo protocolos éticos con el fin de, monitorear y evaluar los riesgos ambientales (Corella y Ordovás 2015).

En la actualidad existen múltiples metodologías que permiten proponer biomarcadores para efectos tempranos previos al desarrollo de una patología por lo

que se podrá interrumpir la forma de exposición y por tanto la prevención de la enfermedad disminuyendo de este modo el índice de morbilidad y mortalidad. Se conocen biomarcadores que permiten conocer los efectos a nivel genético (genotóxicos) entre ellos los biomarcadores directos que determinan aductos de proteínas y ADN (complejos químicos carcinógenos unidos a proteínas o DNA), también biomarcadores indirectos que evalúan las mutaciones, cambios en los cromosomas, integridad en los genes, niveles de expresión génica, aparición de proteínas anormales, inhibición enzimática, entre otros (Arango 2011; Corella y Ordovás 2015).

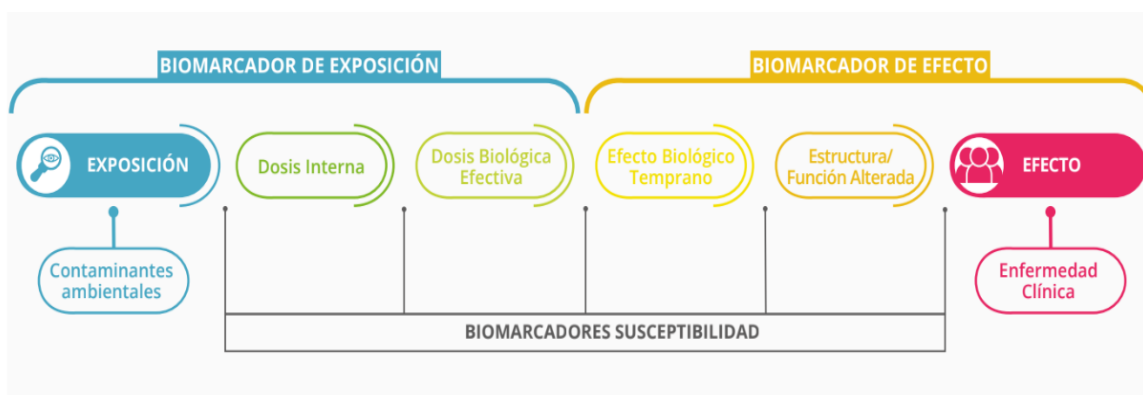


Figura 8. Biomarcadores. Dosis interna, biomarcadores (exposición y efecto) y el efecto que conduce a una enfermedad clínica. Tomado de European Union's Horizon, 2020.

En el presente trabajo se evaluó los cambios en la expresión de genes involucrados en la función testicular como biomarcadores de efecto temprano. A continuación, se describe la evidencia que existe hasta el momento, del efecto de la exposición a los herbicidas Paraquat y 2,4-D sobre la función reproductiva masculina.

I.2 Antecedentes

I.2.1 Efecto de los plaguicidas sobre la reproducción masculina

Numerosos estudios han relacionado a los plaguicidas con la reducción de la fertilidad masculina. Desde la década de los 70s, se estableció una asociación entre el dibromocloropropano (DBCP) y una severa reducción en la espermatogénesis entre los trabajadores de la industria de fabricación de plaguicidas. El diclorodifeniltricloroetano (comúnmente conocido como DDT) es uno de los plaguicidas más reconocidos por su asociación con posibles resultados adversos en la fertilidad. El DDT y sus metabolitos, incluido el DBCP, han demostrado efectos estrogénicos en los hombres al bloquear los receptores de andrógenos, disminuir la testosterona, el peso testicular, el número y porcentaje de espermatozoides móviles en el epidídimo, el peso de las vesículas seminales y aumentar las hormonas LH y FSH (Mnif et al., 2011).

Más de 100 plaguicidas han sido clasificados como EDC con diversos mecanismos de acción propuestos que causan trastornos endocrinos y posibles impactos en la fertilidad (Krzastek et al., 2020). En el estudio de la fertilidad masculina se han investigado plaguicidas como piretroides, organofosforados, ácidos fenoxiacéticos, carbamatos, organoclorados y combinaciones de cada uno de ellos. La exposición a organofosforados se ha asociado con parámetros anormales del semen, incluidas reducciones en el recuento, la motilidad, la viabilidad y la densidad de los espermatozoides, y un aumento del daño en el ADN y una morfología anormal. Además, los organofosforados se han asociado con cambios testiculares macroscópicos, incluido el volumen testicular reducido (Mehrpour et al., 2014; Krzastek et al., 2020).

Respecto a los herbicidas, la mayoría de estos pueden inducir estrés oxidativo, produciendo radicales libres y causando peroxidación lipídica. El aumento de la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo pueden dañar las actividades de los antioxidantes enzimáticos protectores (Bernardi et al., 2022).

I.2.2 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre la función testicular

En ratas, la exposición a Paraquat disminuye los niveles séricos de la hormona testosterona, los niveles de ARNm de enzimas como Hsd17b3, Srd5a1, Hsd11b1 Cyp11a1 y Cyp17a1, las cuales están relacionadas con la esteroidogénesis que llevan a cabo las células de Leydig. Además, disminuye el número de espermatozoides sin afectar al número de células de Leydig (Li et al., 2019a). También se ha observado una disminución significativa en la motilidad y la viabilidad de los espermatozoides; así como, un incremento de la teratospermia (espermatozoides anormales). A nivel histológico, el Paraquat incrementa la peroxidación lipídica y la apoptosis en los testículos, especialmente de las células germinales (Chen et al., 2017). A nivel de organismo, el Paraquat disminuyó el peso corporal y el peso de los testículos y epidídimos (Li et al., 2019b).

Los efectos de la exposición a 2,4-D han sido mayormente estudiados respecto al Paraquat. Estudios epidemiológicos mostraron que la exposición a 2,4-D se asocia con astenosperma (espermatozoides inmóviles), azoospermia (ausencia de espermatozoides en semen) y teratospermia (Panuwet et al., 2018). En ratas, la exposición al 2,4-D disminuyó el peso corporal, el de los testículos, el de las vesículas seminales y el de la próstata. A nivel histológico, se evidencia espacios intracelulares, pérdida de tejido, atrofia de los túbulos seminíferos (Zhou et al., 2022). Además, decrementó el número y la motilidad de los espermatozoides (Marouani et al., 2017). La evaluación *in vitro* de espermatozoides humanos mostró que el 2,4-D no afectó la viabilidad, la capacitación o la reacción acrosomática; sin embargo, sí inhibe la motilidad y la capacitación espermática (Tan et al., 2016). Entre los mecanismos de toxicidad del 2,4-D sobre los testículos que se han propuestos se encuentra la vía Fas/FasL, la cual se encuentra involucrada en la apoptosis de las células germinales (Zhou et al., 2022); a través de la activación del receptor activado por proliferador de peroxisomas alfa (PPAR α) al alterar la homeostasis colesterol/ testosterona (Harada et al., 2026); o por una inhibición directa de la síntesis de ADN en los testículos (Oakes et al., 2002).

Si bien los estudios anteriormente descritos muestran que tanto la exposición a Paraquat como a 2,4-D pueden alterar la función testicular y con ello afectar la reproducción masculina; es necesario indagar biomarcadores de efecto temprano que nos eviten llegar a estos efectos patológicos. Dado que ambos herbicidas alteran la esteroidogénesis y la espermatogénesis (especialmente la motilidad espermática) los genes relacionados a la acción de las hormonas tiroideas y los genes de los canales permeables a Ca^{2+} al estar involucrados en estos procesos pueden orientarnos sobre una alteración temprana.

I.2.3 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre el eje tiroideo

Aunque se ha descrito que en humanos y en ratas la exposición a Paraquat y a 2,4-D alteran los niveles séricos de las hormonas T4, T3 y TSH (Kobal et al., 2000; Kongtip et al., 2019; Santos et al., 2019), aun no se ha evaluado el efecto sobre los transportadores, desyodasas y receptores de las hormonas tiroideas.

Otros herbicidas, como el glifosato y el acetoclor, han mostrado alteraciones en la expresión génica de los receptores TRa y TRb, de los transportadores MCT8 y OATP1C1, así como de las desyodasas DIO1, DIO2 y DIO3. Estas alteraciones no son dosis-dependientes y son diferentes para cada tejido e influenciadas por el sexo (Yang et al., 2016; de Souza et al., 2017; Xu et al., 2019; Costa et al., 2020).

I.2.4 Efectos del Paraquat y del 2,4-D sobre canales permeables a calcio

A la fecha, no hay reportes sobre el efecto de los herbicidas Paraquat y 2,4-D sobre los canales CatSper o TRPV4. Se sabe que los metales pesados como plomo, mercurio y cadmio (Wang et al., 2017; Mohamadi et al., 2018), así como otros tóxicos ambientales como el bisfenol, el p,p'DDE, el pentaclorofenol y las dioxinas alteran la funcionalidad del canal CatSper, conllevando a una hiperactivación disminuida que puede desencadenar a problemas de fertilidad (Tavares et al., 2013; Wang et al., 2016; Mohamadi et al., 2019; Zhang et al., 2020).

I.3 Hipótesis

Los genes asociados con la acción de las hormonas tiroideas (transportadores, desyodasas y receptores), así como, los genes que codifican para canales de calcio son sensibles a estímulos externos como la exposición aguda a PQT y a 2,4-D que evidencian su potencial como biomarcadores de efecto temprano sobre la fisiología testicular en la rata.

I.4 Justificación

El equilibrio ecológico y los diversos ecosistemas que integran la biosfera se encuentran en peligro por el uso desmedido o descuidado de plaguicidas. En la actualidad se ha sugerido que enfermedades como el cáncer, las alergias, los trastornos neurológicos y las alteraciones reproductivas pueden estar relacionados con la exposición, tanto aguda como crónica, a los plaguicidas.

En cuanto a los herbicidas, se han observado una variedad de respuestas tóxicas reproductivas en los seres humanos y especies de fauna silvestre como: mamíferos, aves, reptiles, peces y moluscos. Las anomalías observadas varían desde cambios sutiles hasta alteraciones permanentes, incluida la diferenciación sexual alterada con órganos sexuales feminizados, comportamiento sexual modificado, función hormonal alterada e incluso infertilidad.

Los herbicidas Paraquat y 2,4-D son ampliamente utilizados en México y en países en desarrollo. Ambos se han relacionados con alteraciones hormonales y problemas reproductivos masculinos. Sin embargo, no han sido catalogados como disruptores endocrinos. A la fecha, estos herbicidas se han relacionado con alteraciones en hormonas gonadotrópicas (LH y FSH) y gonadales (testosterona y estradiol); así como con alteraciones histológicas y estrés oxidativo en los testículos. Dado que estos efectos son ya en un grado patológico, es necesario evaluar biomarcadores más sensibles y de efecto temprano como un sistema de alerta temprana para la supervivencia de las especies, así como para la vigilancia y protección de la calidad del medio ambiente, de este modo frenar la pérdida de la biodiversidad del planeta y evitar efectos negativos sobre las especies, los ecosistemas y el propio ser humano.

Por esta razón, el estudio actual propone evaluar el potencial de los genes asociados con la acción de hormonas tiroideas y de los genes que codifican para canales permeables a calcio como biomarcadores de efecto temprano a la exposición aguda a PQT y a 2,4-D usando como modelo a la rata.

I.5 Objetivos

General

Evaluar el potencial de los genes asociados con la acción de las hormonas tiroideas (*Mct8*, *Mct10*, *Oatp1c1*, *Dio2*, *Dio3*, *TRa*, *TRb*), y de los genes que codifican para canales permeables a calcio (*Casper1*, *Casper2*, *TRPV4*) como biomarcadores de efecto temprano de la función testicular a la exposición aguda a PQT y a 2,4-D usando como modelo a la rata.

Específicos

En los testículos de las ratas de los grupos Control y expuestos a PQT y a 2,4-D:

1. Evaluar los cambios en la expresión génica de los transportadores (*Mct8*, *Mct10*, *Oatp1c1*), desyodasas (*Dio2-3*) y receptores (*TRa* y *TRb*) de hormonas tiroideas, para seleccionar cuáles presentan potencial para utilizarse como biomarcador de efecto temprano sobre disrupción tiroidea en testículo.
2. Evaluar los cambios en la expresión génica de los canales *CatSper1*, *CatSper2* y *TRPV4*, para seleccionar cuáles presentan potencial para utilizarse como biomarcador de efecto temprano sobre la hiperactivación flagelar espermática.
3. Evaluar el peso de los testículos y la expresión de los genes *TNFa* y *Caspasa-3* para correlacionarlos con procesos de apoptosis testicular.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Se utilizaron 18 ratas macho adultas de 2 meses de edad de la cepa Wistar (200-250 g), con certificado de salud animal (**Anexo 8.1**), donadas por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV, Unidad Zacatenco). Los animales fueron mantenidos en el Centro de Investigación en Genética y Ambiente (Universidad Autónoma de Tlaxcala), en condiciones estándar (12 h/12 h de luz y oscuridad, luces encendidas a las 8:00 am; a 22 ± 2 °C), alojadas en cajas de acrílico colectivas (43 x 33 x 20 cm; 4 ratas por caja), con alimento (Purina rat chow) y agua *ad libitum*, y con un periodo de aclimatación de 4 semanas. Todos los protocolos y procedimientos con los animales se realizaron siguiendo los lineamientos de la Norma Mexicana para Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-199).

Tratamiento. Después del periodo de aclimatación, las ratas fueron asignadas aleatoriamente en tres grupos experimentales (6 ratas por grupo): control (CNT; n= 6), administradas con Paraquat (PQT; n= 6) y con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D; n=6). Se utilizaron los plaguicidas comerciales LUCAQUAT (25% de Paraquat; Anexo 2) y DESMONTE A (41% de 2,4-D; Anexo 3) diluidos en solución salina para una dosis final de 10 y 100 mg/kg peso corporal, respectivamente (100 µL volumen final). El grupo CNT recibió una inyección i.p. del vehículo (100 µL solución salina). La administración de los plaguicidas se realizó vía intraperitoneal (*i.p.*) cada tercer día durante una semana (**Figura 9**).



Figura 9. Fases de aclimatación y exposición aguda a herbicidas. Fotografías representativas de los animales de los grupos control, paraquat y 2,4-D alojados en cajas de acrílico, con agua y alimento *ad libitum*. Imagen propia.

Extracción de tejidos. Tres días después de terminado el tratamiento, las ratas se pesaron y se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico vía intraperitoneal (120 mg/kg, *i.p.*). Se les realizó una incisión ventromedial para exponer los tejidos (**Figura 10**). Se removieron cuidadosamente los testículos, se colocaron sobre un papel aluminio para pesarlos, se congelaron en nitrógeno líquido (-196 °C), y posteriormente se almacenaron en un ultra congelador a -80 °C hasta su procesamiento para la extracción de ARN.



Figura 10. Extracción de tejidos en la rata. Extracción de testículos de los animales de los grupos Control y expuestos a Paraquat y a 2,4-D. Imagen propia.

Extracción de ARN total. Para la extracción de ARN total se utilizó tejido testicular derecho (250mg) con el método del Trizol seguido de una purificación del ARN total con el método de la ADNasa como se ha descrito en Luis et al., (2019) y Morales-Juárez (2022). Para visualizar el ARN purificado y su integridad se realizó electroforesis en geles de agarosa al 1% (p/v). Verificando con ello las bandas ribosomales 28S y 18S.

Cuantificación de ARN. Posteriormente, se realizó la cuantificación de ARN por espectrofotometría. Después, se sintetizó el ADN complementario (ADNc) usando 5 µg de ARN total con la transcriptasa inversa M-MLV (Promega), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La calidad del ADNc se evaluó mediante la expresión del gen constitutivo PPIA, se realizó electroforesis en geles de agarosa al 2.5% (p/v).

Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR)

Todos los reactivos, incluyendo el agua, utilizados en esta técnica son grado biología molecular de Sigma-Aldrich, y la centrifugación fue a 13000 rpm por 10 min a 4°C, a menos que se indique lo contrario. La RT-PCR se realizó en un termociclador Applied Biosystem.

Diseño de cebadores. Los cebadores para la amplificación de los genes se basó en secuencias de estos genes previamente reportadas en la bibliografía. (**Tabla 2**). Los cebadores fueron sintetizados por Sigma-Aldrich.

Tabla 2. Secuencias de cebadores empleados en este trabajo.

Nombre del cebador		Secuencia (5'-3')	Producto (pb)	
Receptor de hormona tiroidea beta	<i>Trb-F</i>	TGGGCGAGCTCTATATTCCA	185	De Souza et al., 2016
	<i>Trb-R</i>	ACAGGTGATGCAGCGATAGT		
Hormona estimulante de tiroides	<i>Tsh-F</i>	CAGCATTAACTCGCCAGTGC	72	
	<i>Tsh-R</i>	AAGCAAGAGCGAAAAGCACG		
Receptor de hormona tiroidea alfa	<i>Tra-F</i>	ACCTCCGCATGATCGGGGC	108	
	<i>Tra-R</i>	CCTGATCCTCAAAGACCTC		
Desyodasa tipo II	<i>Dio2-F</i>	AGAAGCACCGGAACCAAGAG	89	
	<i>Dio2-R</i>	AGCCACAACCTTGACACTGGG		
Desyodasa tipo III	<i>Dio3-F</i>	GCCTCTACGTCATCCAGAGC	170	
	<i>Dio3-R</i>	GCCCACCAATTCAGTCACTT		
Canal de cationes de espermatozoides 1	<i>CatSper1-F</i>	TCTTGGAGCGATGAGGAC	204	Zohour-Soleimani et al., 2018
	<i>CatSper1-R</i>	GACGATTGTGTTCAGGCA		
Canal de cationes de espermatozoides 2	<i>CatSper2-F</i>	TGGTTGTTGCTTGGTTCC	193	
	<i>CatSper2-R</i>	TTCCTTGACTGGTTCCTCT		
Canal iónico de potencial del receptor transitorio vaniloide 4	<i>Trpv4-F</i>	CAGCAAGATCGAGAACCGCCA	80	Huang et al., 2019
	<i>Trpv4-R</i>	CGAACTTACGCCACTTGTCCCT		
Transportador de monocarboxilatos tipo 8	<i>Mct8-F</i>	CCCAAGCAAGAGAGGCGCCC	96	De Souza et al., 2016
	<i>Mct8-R</i>	CGGTAGGTGCGCTGGCGAAA		
Polipéptido transportador de aniones orgánicos tipo 1c1	<i>Oatp1c1-F</i>	GGATCCCCAGTGGGTCGGGG	83	
	<i>Oatp1c1-R</i>	ACCAGAAAGGCACGGCTGCA		
Transportador de monocarboxilatos tipo 10	<i>Mct10-F</i>	GGATACTTTGTGCCTTATGTT	145	
	<i>Mct10-R</i>	GCAAATAGTCTGCAATGCGG		
Factor de necrosis tumoral alfa	<i>Tnfa- F</i>	CTACTCCCAGGTCTCTTCA	214	
	<i>Tnfa- R</i>	GGTAGTTGGGCATGTTGATC		
Caspasa 3	<i>Casp-3-F</i>	CGGGGTACCCCATGGCCGACA AGGTCCTG	159	Luis et al., 2019
	<i>Casp-3-R</i>	CTAGTCTAGATGCCACAGACA TTC		
Ciclofilina A	<i>Ppia-F</i>	CCGCTGTCTCTTTTCGCC	129	
	<i>Ppia-R</i>	GCTGTCTTTGGAACCTTGTCTG		

F: secuencia del cebador en sentido (forward); R: secuencia del cebador en antisentido (reverse).

Se sintetizó el ADN complementario (ADNc) usando 5 µg de ARN total con la transcriptasa inversa M-MLV (Promega), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La calidad del ADNc se evaluó mediante la expresión del gen constitutivo *Ppia*, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2.5% (p/v).

Amplificación de genes. Se realizó con 1 µg de cebadores específicos para HT, canales iónicos (Catsper1-2, Trpv4), caspasa-3 y TNFα, fueron incubados por separado con 1 µg de ADNc y 0.2 µg de la enzima Taq polimerasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Sigma-Aldrich). Las condiciones de reacción fueron 35 ciclos a: desnaturalización a 94°C, reconocimiento a 50-60°C, extensión a 70°C; 1 minuto cada uno, con un tiempo de desnaturalización inicial de 3 min y extensión final de 7 min. En todas las reacciones se incluyó un control negativo (agua). Luis et al., (2019) y Morales-Juárez (2022).

Electroforesis. Para la visualización de los productos de amplificación estos se mezclaron con 2 µL buffer de carga, inyectándose después en un gel de agarosa al 2.5% teñido con 0.1% bromuro de etidio. Se utilizó el marcador de ADN de bajo rango (25pb- 500pb) (Bio basic Inc.). La electroforesis se corrió a 90 voltios durante 50 min en una cámara horizontal (Thermo Ec Minicell® Primo TMEC 330). Posteriormente, los geles se visualizaron en un fotodocumentador con luz ultravioleta (High performance UVP), equipado con una cámara digital (Cannon) de la cual se obtuvieron las fotos digitales para el análisis de datos. Luis et al., (2019) y Morales-Juárez (2022).

Densitometría. El nivel relativo de expresión de cada cebador se analizó por densitometría, determinando la intensidad de las bandas por el área bajo su curva de perfil de intensidad con el programa software ImageJ. Luis et al., (2019) y Morales-Juárez (2022).

Análisis estadístico. Todos los datos se informan como la media ± estándar (SEM). Los experimentos fueron sometidos a pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov), seguido de análisis de varianza (ANOVA de una vía) o test de Kruskal-Wallis según el resultado del análisis de normalidad. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando GraphPad Prism versión 8.01. Se tomó como valor de significancia estadística ($p \leq 0.05$).

III. RESULTADOS

III.1 Visualización de ARN total de testículo de rata

Las bandas ribosomales 28S y 18S se observan en el ARN total de los testículos de todos los animales del grupo control, así como de ambos tratamientos por lo que se corrobora la calidad del mismo (**Figura 11**).

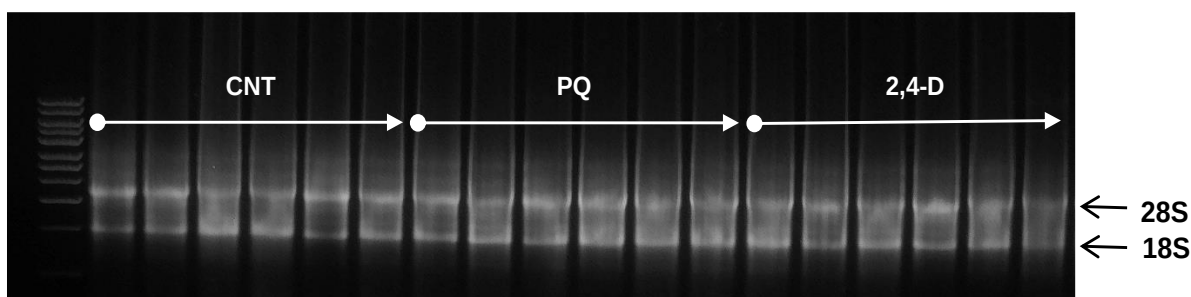


Figura 11. Visualización de ARN total de testículo de rata. Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Se muestran las bandas de las subunidades ribosomales (28 y 18S) del ARN total de testículo de animales de los grupos Control (CNT) y con exposición aguda a Paraquat (PQT) y al Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D).

III.1.1 Expresión del gen constitutivo PPIA en testículo

Los testículos de las ratas expuestas a los herbicidas PQT Y 2,4-D, así como del grupo control mostraron amplificación del gen constitutivo (*Ppia*) (**Figura 12-A**). Además, no mostraron diferencias significativas entre los grupos expuestos por lo que se procedió a realizar las demás amplificaciones (Control: 17348 ± 1241 ; Paraquat: 18770 ± 570 ; 2,4-D: 17285 ± 564 ; ANOVA $p = 0.3484$). (**Figura 12-B**).

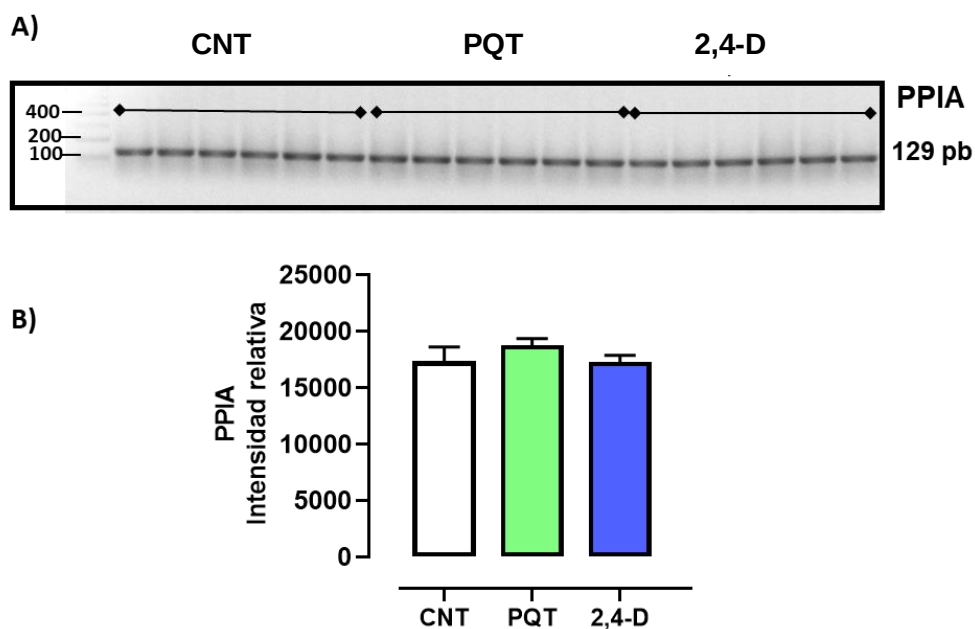


Figura 12. Expresión del gen constitutivo PPIA en testículo. **A)** Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Se observan las bandas amplificadas (128 pb) de *Ppia* en testículos de ratas expuestas a PQT, 2,4-D, y CNT. **B)** Comparación de la expresión del gen *Ppia* por densitometría (Software ImageJ). Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA ($p = 0.3484$). Se utilizó el marcador de ADN de bajo rango (25pb- 500pb) (Bio basic Inc.).

III.2 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de genes relacionados con la acción de las hormonas tiroideas (Objetivo 1)

III.2.1 Análisis de expresión de transportadores de hormonas tiroideas

Se evaluaron los transportadores de hormonas tiroideas *Mct8*, *Mct10* y *Oatp1c1*. De estos tres, la expresión génica más abundante en los testículos del grupo Control (CNT) fue la del transportador *Mct10* (0.4245 ± 0.0505 ; 0.8807 ± 0.0277 ; 0.5135 ± 0.0581 u.a., respectivamente). Los animales expuestos al herbicida Paraquat (PQT) mostraron una expresión similar en los tres transportadores *Mct8*, *Mct10* y *Oatp1c1* (0.6150 ± 0.0489 ; 0.7446 ± 0.0547 ; 0.6956 ± 0.0547 u.a., respectivamente). Curiosamente, los transportadores *Mct8* y *Oatp1c1* presentan un patrón de expresión similar para los tres grupos (**Figura 13-A**).

Los testículos de las ratas expuestas a PQT presentan una mayor expresión génica de los transportadores *mct8* y *oatp1c1* versus los animales del grupo Control ($p = 0.0207$ y 0.0439 , respectivamente). Mientras que, las ratas expuestas al 2,4-D presentan una expresión génica de *mct8* y *oatp1c1* similar (0.4740 ± 0.0691 u.a., $p = 0.5864$; 0.5721 ± 0.0659 u.a., $p = 0.5254$; respectivamente), y una expresión génica de *Mct10* (0.6641 ± 0.0691 u.a., $p = 0.0194$) menor que la mostrada por los animales del grupo Control (**Figura 13-B**).

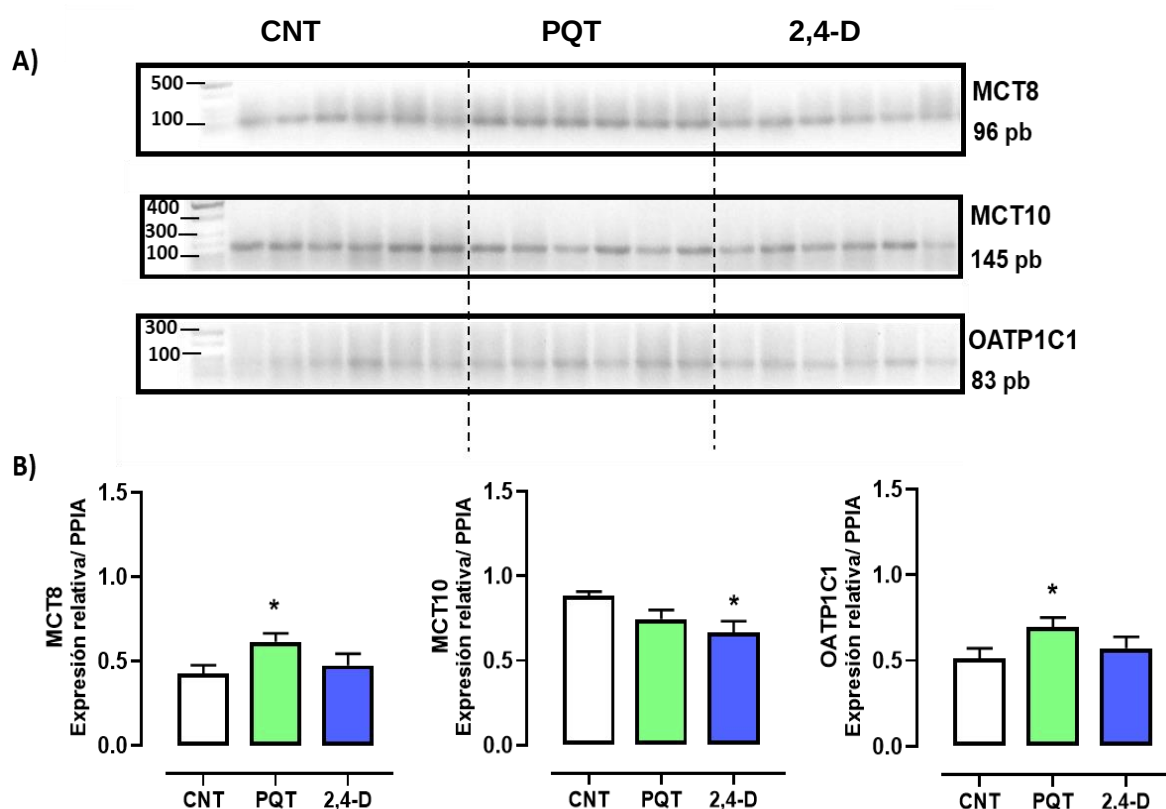


Figura 13. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de transportadores de hormonas tiroideas. A) Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Bandas amplificadas de *Mct8*, *Mct10* y *Oatp1c1* (1 μ g) en testículos de ratas expuestas a PQT, 2,4-D, y CNT. **B)** Comparación de la expresión relativa a PPIA. Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA (* $p \leq 0.05$). Se utilizó el marcador de ADN de bajo rango (25pb- 500pb) (Bio basic Inc.).

III.2.2 Medición de expresión para Desyodasas

La expresión génica de las dos desyodasas *Dio2* y *Dio3* es similar en los testículos de las ratas del mismo grupo para las Controles (0.8412 ± 0.0357 vs 0.8898 ± 0.1169 u.a., respectivamente; $p = 0.9944$). Mientras que la expresión obtenida al usar Paraquat fue 0.7389 ± 0.0327 vs 0.9307 ± 0.0613 u.a., respectivamente; ($p = 0.2351$). Sin embargo, la expresión de *Dio2* comparado con *Dio3* en las ratas del grupo expuesto a 2,4-D fue menor (0.7067 ± 0.0504 vs 0.9823 ± 0.0482 u.a. respectivamente; $p = 0.0387$) (**Figura 14-A**).

La exposición a PQT no afecta la expresión de ninguna de las desyodasas comparadas con el grupo Control (*Dio2* $p = 0.0584$; *Dio3* $p = 0.7525$). Sin embargo, la exposición a 2,4-D disminuye la expresión génica relativa de la *Dio2* comparado con el grupo Control ($p = 0.0445$) (**Figura 14-B**).

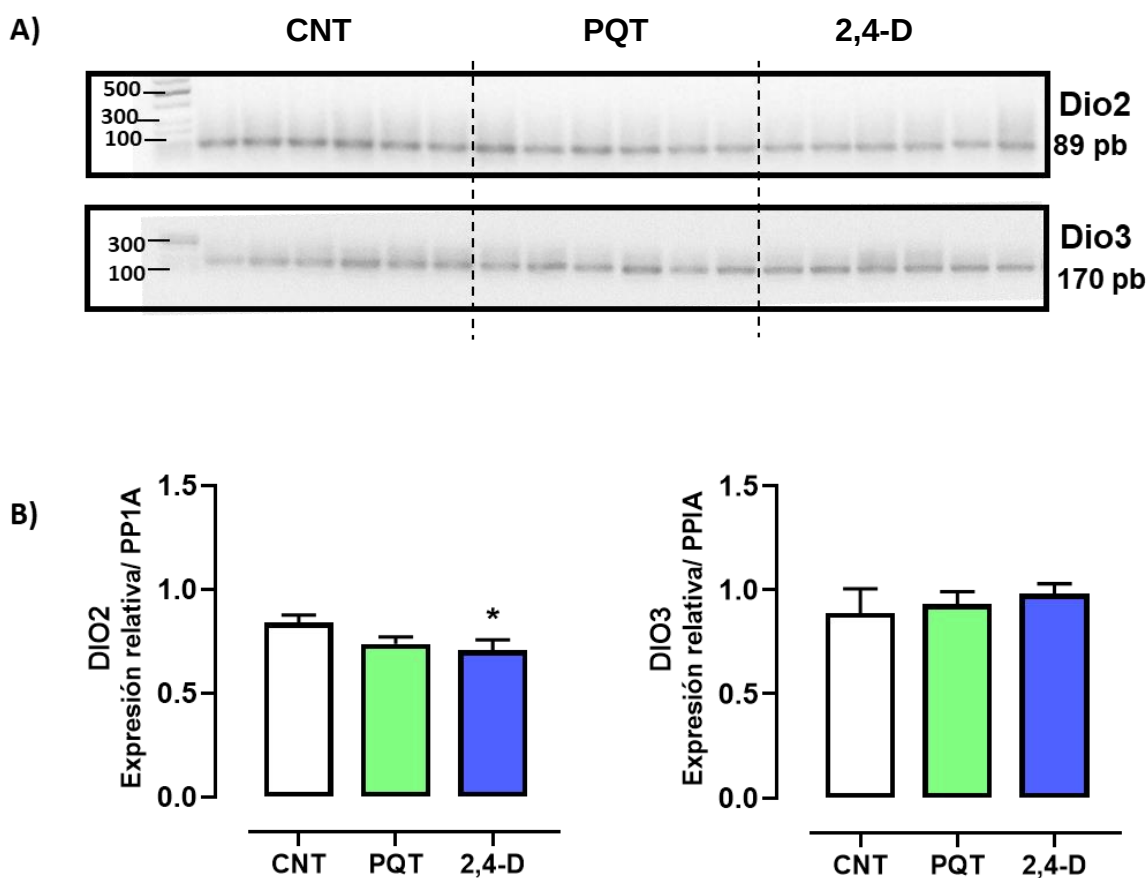


Figura 14. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de desyodasas. A) Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Bandas amplificadas de las *Dio1* y *Dio2* (1 μ g) en testículos de ratas expuestas a PQT, 2,4-D, y CNT. **B)**

Comparación de la expresión relativa respecto a *Ppia*. Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA (* $p \leq 0.05$).

III.2.3 Receptores a hormonas tiroideas

Se evaluó la expresión de los receptores de hormonas tiroideas *TR α* y *TR β* en los testículos. La expresión génica de *TR β* es escasa, casi nula, en todos los animales analizados; por lo que no se logró cuantificar su expresión (**Figura 15-A**). Los animales expuestos a Paraquat presentaron una expresión génica relativa de *TR α* mayor a la mostrada por los animales del grupo Control (0.7420 ± 0.0660 vs 0.4895 ± 0.494 u.a., respectivamente; $p = 0.0127$). La exposición a 2,4-D no altera significativamente la expresión génica de *TR α* (0.6673 ± 0.0676 u.a.; $p = 0.0641$) (**Figura 15-B**).

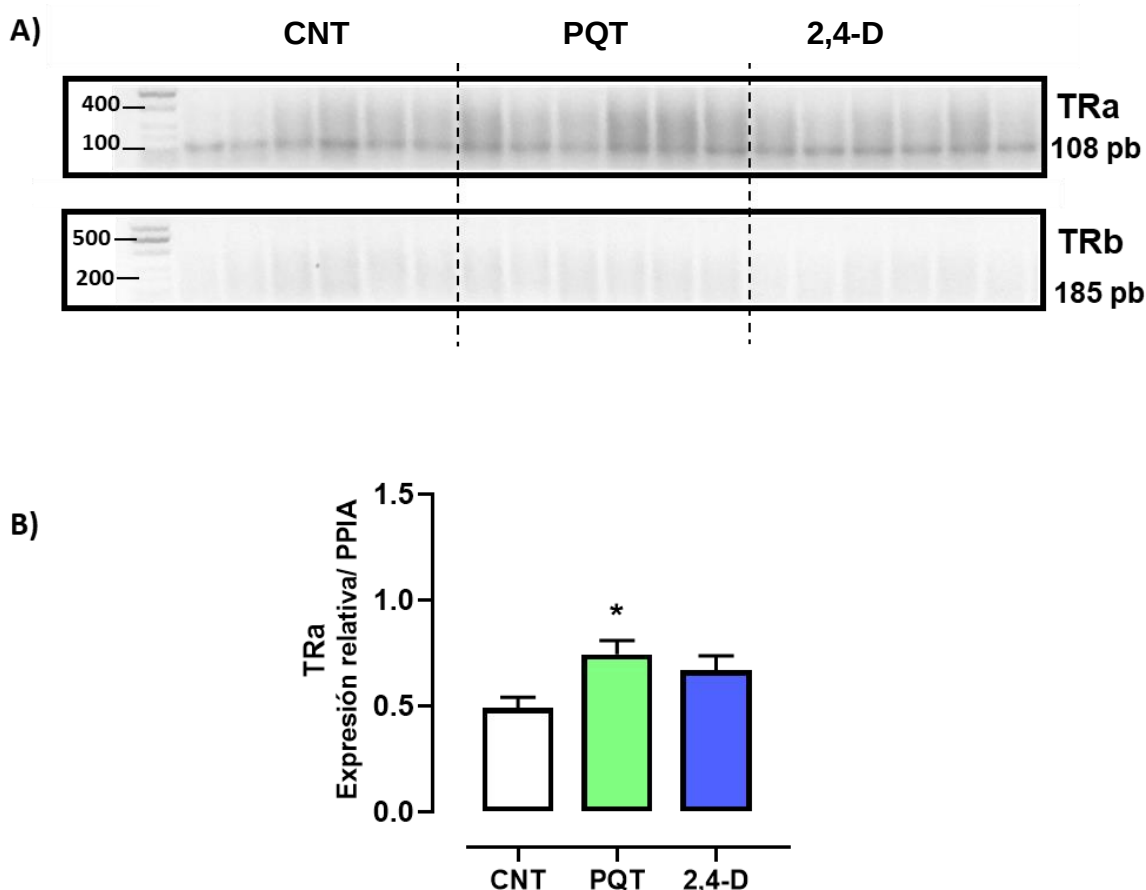


Figura 15. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de los receptores a hormonas tiroideas. **A)** Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Bandas amplificadas de *TR α* , (1 μ g) y sin amplificación para *TR β* en testículos de

ratas expuestas a PQT, 2,4-D y CNT. **B)** Comparación de la expresión relativa respecto a *Ppia*. Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA (* $p \leq 0.05$).

III.3 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión de canales iónicos implicados en la hiperactivación flagelar (Objetivo 2)

Entre los canales iónicos implicados en la hiperactivación flagelar espermática se encuentran el canal específico de espermatozoides: *CatSper1* y *CatSper2*, por lo que se eligieron los genes de las dos subunidades α (alfa) encargadas de la formación del poro y el gen del canal *Trpv4* el cual es sensible a la temperatura del esperma.

En los testículos de rata se expresaron los tres canales iónicos permeables a Ca^{2+} : *CatSper1*, *CatSper2* y *Trpv4* (**Figura 16-A**). La exposición a Paraquat no afecta la expresión génica de los canales específicos de espermatozoides *CatSper1*, y -2, pero sí afecta a *Trpv4*, disminuyendo su expresión con respecto a lo mostrado por el grupo Control. En cambio, la exposición a 2,4-D es capaz de disminuir la expresión génica de *CatSper1* y *TRPV4* respecto al grupo Control (**Figura 16-B**).

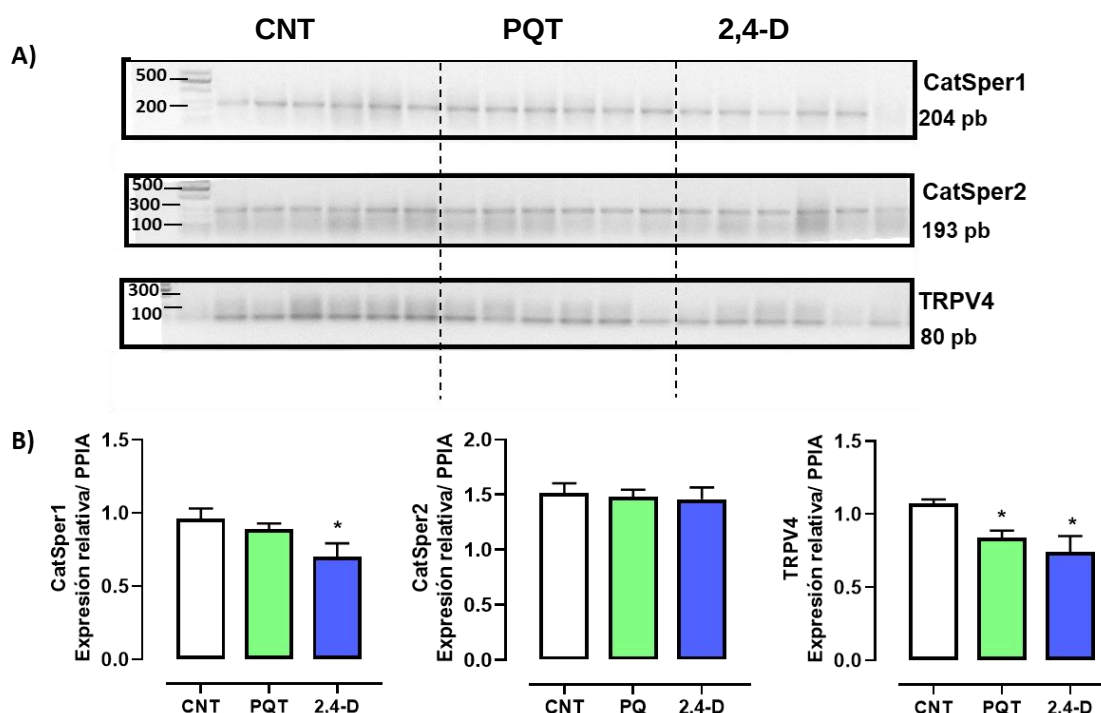


Figura 16. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de canales permeables a Calcio. **A)** Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Se observan las bandas amplificadas de *Catsper1-2* y *Trpv4* (1 μ g) en testículos de ratas expuestas a PQT, 2,4-D y CNT. **B)** Comparación de la expresión relativa respecto a *Ppia*. Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA (* $p \leq 0.05$).

III.4 Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre procesos de apoptosis (Objetivo 3)

La apoptosis se evaluó mediante el peso de los testículos y la expresión de los genes *TNF α* y *Caspasa-3* los cuales están relacionados con este proceso.

Respecto al peso de los testículos, las ratas del grupo Control mostraron valores promedio de 1.576 ± 0.04 g para el testículo izquierdo y de 1.417 ± 0.14 g para el testículo derecho, respectivamente.

Los animales expuestos a Paraquat (1.534 ± 0.17 ; 1.568 ± 0.15 g) y a 2,4-D (1.512 ± 0.08 ; 1.556 ± 0.09 g) presentan pesos similares a los mostrados por el grupo Control tanto en el lado izquierdo como en el derecho, (ANOVA $p = 0.3110$; 0.6799), respectivamente (**Figura 17**).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas por lateralidad; es decir, no hay diferencias entre los pesos del testículo izquierdo versus el testículo derecho en ninguno de los tres grupos (ANOVA $p = 0.9577$).

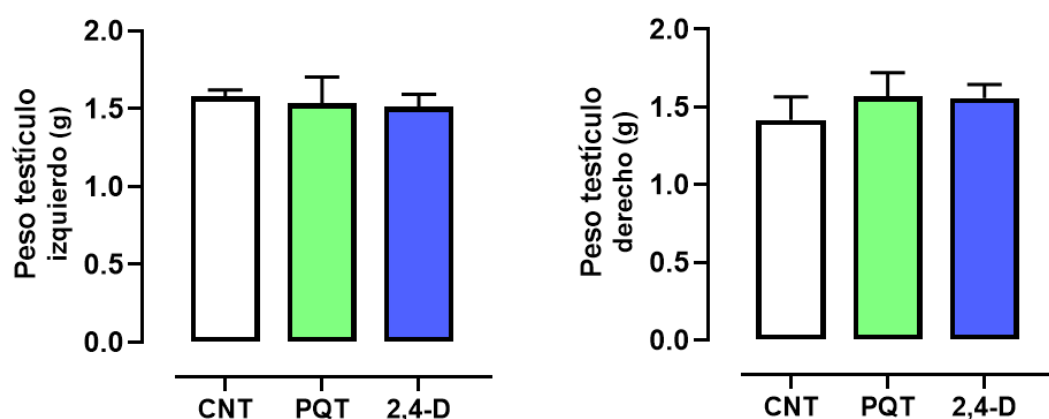


Figura 17. Efecto del Paraquat y 2,4-D sobre el peso testicular. Pesos promedio $\pm$ SEM del testículo izquierdo y del testículo derecho del grupo Control (CNT), administrado con Paraquat (PQT) y con 2,4-D. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA comparando los grupos experimentales vs el grupo Control ($p \leq 0.05$).

En cuanto a la expresión de los genes para evaluar apoptosis *Caspasa-3* mostró una menor expresión relativa que el gen de *TNFα* tanto en el grupo Control (0.617 ± 0.04 vs 0.916 ± 0.10 u.a., respectivamente; $p \leq 0.0497$) como en los expuestos a 2,4-D (0.504 ± 0.05 vs 0.884 ± 0.07 u.a., respectivamente; $p \leq 0.0353$) (**Figura 18-A**).

La exposición a Paraquat no altera la expresión relativa de los genes *Caspasa-3* (0.7477 u.a.) y *TNFα* (0.7913 u.a.); mostrando una expresión similar respecto a los animales del grupo Control (0.6173 u.a. *Caspasa-3*; y 0.9162 u.a. para *TNFα*) (ANOVA $p = 0.0712$; 0.6662 , respectivamente) (**Figura 18-B**).

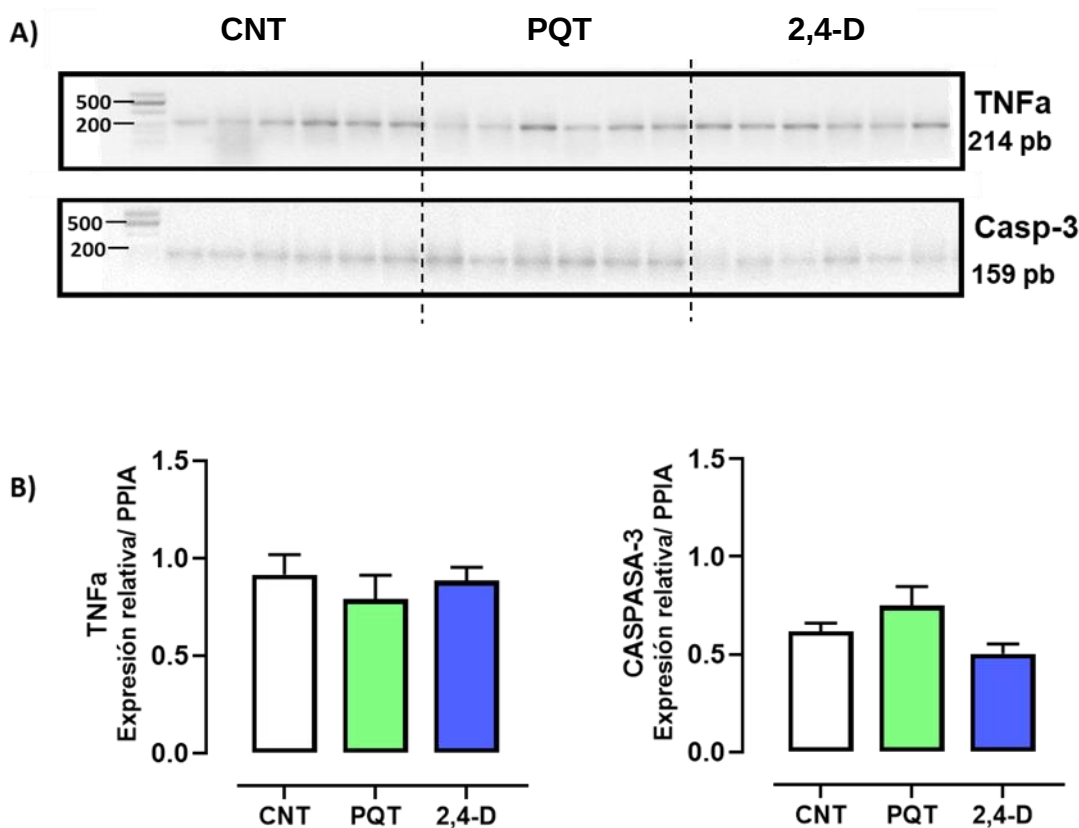


Figura 18. Efecto del Paraquat y del 2,4-D sobre la expresión génica de *TNFα* y *Caspasa-3*. A) Imagen representativa de la electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % teñido con bromuro de etidio. Se observan las bandas amplificadas en testículos de ratas expuestas a PQT, 2,4-D y CNT. B) Comparación de la expresión relativa respecto a *Ppia*. Se muestra la media $\pm$ SEM. Análisis estadístico con test de normalidad (S-W) y ANOVA (* $p \leq 0.05$).

IV. DISCUSIÓN

Biomarcadores. Existen diversas sustancias que causan efectos adversos a la salud tanto de la vida silvestre como en la vida humana y las evidencias van en aumento, relacionándose directamente con la exposición a diversos agentes xenobióticos encontrados en el ambiente. Por esta razón el uso de biomarcadores de efecto ha aumentado de forma notable en las últimas décadas en las investigaciones experimentales toxicológicas, para poder ofrecer una herramienta de evaluación de riesgos, además de proveer información sobre el estado biológico tanto de un proceso normal como de un proceso patológico (Corella y Ordovás, 2015).

Si bien, existen estudios realizados de personas expuestas ocupacionalmente por diversas actividades agrícolas o manufactureras, en la formulación o envasado de productos tóxicos, además de las rutas de exposición que generalmente son una combinación de varias (inhalación, oral y dérmica): Los estudios en animales de experimentación permiten proporcionar una amplia información después de la exposición a ciertas sustancias y conocer sus efectos sistémicos que incluyen alteraciones en el peso corporal, hematológicas, efectos hepáticos y renales además de alteraciones endocrinas y efectos oculares (Corella y Ordovás, 2015).

Los biomarcadores de efecto temprano han adquirido vital importancia por establecer relaciones entre exposición y deterioro, ya sea ambiental o de salud a nivel de organismos, sin duda la premura con la que permiten observar cambios previos al desarrollo de enfermedades permite la toma de decisiones más que correctivas, preventivas con suficiente tiempo de antelación. Sin embargo, existe información limitada disponible sobre los efectos a nivel reproductivo es decir antes de que se pueda observar un efecto visible por la exposición a herbicidas ampliamente utilizados (Corella y Ordovás, 2015; European Union's Horizon, 2020).

Existen biomarcadores antes propuestos como el *Cyp17a1* (17a-hidroxilasa/17, 20-liasa), *Cyp11a1* y *Hsd11b1* (3b-hidroxiesteroide deshidrogenasa/D5,D4-isomerasa isoforma tipo 1) que han dado a conocer

alteraciones tempranas por exposición a PQT, por ejemplo la disminución en la expresión, que indica retraso en la diferenciación y regeneración de células de Leydig vitales para el proceso de espermatogénesis, aunque es importante investigación más a fondo de los efectos de la exposición a PQT y a 2,4- D (Corella y Ordovás, 2015; Li et al. 2019a; European Union's Horizon, 2020).

Por lo que en la presente investigación se analiza la alteración en la expresión génica de los canales iónicos implicados en la fertilización como de genes asociados con hormonas tiroideas para conocer las alteraciones causadas a nivel endocrino y de reproducción y a su vez ser propuestos como un biomarcador de efecto temprano

IV.1 Efecto de la administración aguda a PQT y 2,4-D sobre la disrupción tiroidea en testículo

Las hormonas tiroideas regulan procesos importantes en múltiples tejidos ya sea en adultos o en desarrollo, los niveles de estas en la circulación son importantes para ejercer su acción tisular, sin embargo, para que lleven a cabo su función se requieren de factores celulares que en conjunto determinan la acción apropiada de las hormonas tiroideas para cada célula blanco.

La actividad de las hormonas tiroideas es vital para los procesos de espermatogénesis y esteroidogénesis influyendo de directamente en la fisiología testicular y por tanto en la fertilidad masculina (Groeneweg, et al., 2020; Lam de Calvo y Castillero de Santos, 2021).

Los resultados de esta investigación muestran la expresión alterada de los genes asociados con el metabolismo y transporte de las hormonas tiroideas en los animales expuestos tanto a Paraquat como a 2,4-D.

Transportadores de hormonas tiroideas. Los transportadores con mayor especificidad hacia las hormonas tiroideas son el *Mct8*, *Mct10* y el *Oatp1c1*, se expresan y distribuyen en diversos tejidos incluyendo el tejido testicular y son responsables de la captación celular; es decir del transporte desde el

compartimiento extracelular hacia el interior de la célula. El transportador *Mct8*, además de facilitar la captación celular, también contribuye a la salida de yodotironinas, por lo que su expresión es indispensable para el metabolismo de estas, principalmente para T3 (la más activa y afín a los receptores), en definitiva se le atribuye la regulación de la cantidad de los niveles intracelulares de hormonas tiroideas (Lam de Calvo y Castillero de Santos, 2021). Por su parte *Mct10* es otro importante transportador de hormonas tiroideas principalmente de triyodotironina (T3), siendo menos eficaz para tiroxina (T4), pero con igual competencia que *Mct8* (Groeneweg, et al., 2020; Lam de Calvo y Castillero de Santos, 2021).

En investigaciones recientes, se demostró que *Mct8* en hígado e hipotálamo y cerebro disminuye su expresión durante el ayuno, y durante los procesos inflamatorios, por tanto se determinó que son sensibles a la inflamación sistémica y al estado de alimentación, siendo esta última una de las razones para la reducción en la expresión de *Mct10* en el tratamiento con 2,4-D, puesto que las ratas mostraron menor ingesta de agua y alimento. Si bien el tratamiento con PQT no presentó alteraciones en el transportador *Mct10*, sí lo hizo aumentando la expresión de *Mct8* y *Oatp1c1* (Tayeb et al., 2012; Marouani et al., 2017; Chen et al., 2015; Groeneweg, et al., 2020; Lin et al., 2021).

En la actualidad se conocen trastornos clínicos asociados a la deficiencia del transportador de monocarboxilatos (*Mct8*) (síndrome Allan-Herndon-Dudley, AHDS), donde son observables alteraciones neurológicas como la discapacidad intelectual y la función tiroidea alterada, por lo que apoya a la teoría que la expresión de *Mct8* podría estar regulada por la función de la tiroides, en una forma específica para cada tejido, ya que se ha podido observar en otras investigaciones que la expresión de *Mct8* también disminuye en tanicitos de ratas hipotiroideas, contrario a un aumento en la expresión testicular en ratas hipertiroideas (Wittmann et al., 2015; Groeneweg, et al., 2020).

En cuanto a la expresión de *Oatp1c1* en esta investigación, recientemente se demostró que la reducción en la expresión de este transportador provoca neurodegeneración progresiva e hipometabolismo. Otros estudios también

demuestran reducción en la expresión debido a procesos inflamatorios en las células del cerebro de ratones (Sun et al., 2014; Wittmann et al., 2015; Groeneweg et al., 2020).

Desyodasas. Las desyodasas son enzimas que actúan activando (*Dio2*) o desactivando (*Dio3*) la conversión de tiroxina (T4) a triyodotironina (T3), para mantener la concentración intracelular de T3 adecuada en la célula diana. En la presente investigación se observó una disminución en la expresión del gen de la *Dio2* por la exposición a 2,4-D versus el grupo control. En el testículo, aunque se detecta la expresión de la *Dio2*, se sabe que el nivel de expresión es relativamente bajo en la edad adulta. Si bien en esta investigación podría indicarse una disminución en la conversión de T4 a T3 y biodisponibilidad T3, por el tratamiento con el 2,4-D, en investigaciones anteriores se puede constatar que los ratones con deficiencia de esta enzima no muestran un fenotipo testicular, lo que sugiere que no cumplen un papel crítico para el desarrollo y la función de los testículos (Hernández 2017; Groeneweg, et al., 2020).

Por su lado, el gen de la *Dio3* no mostró cambios en la expresión génica en ambos grupos expuestos. Se conoce que se expresa con altos niveles en la etapa neonatal testicular, disminuyendo en la edad adulta (Hernández 2017;2018). Esta enzima actúa en la prevención de la acción prematura de T3 en el testículo neonatal, para permitir una adecuada proliferación de células germinales, esto concuerda con estudios realizados en ratones neonatos donde la deficiencia en la expresión de *Dio3*, si muestran un fenotipo testicular como la poca o nula proliferación de células testiculares, alterando la espermatogénesis, conduciendo a un reducido tamaño testicular que persiste hasta la edad adulta, por otro lado una deficiencia en ratones adultos también muestra fertilidad reducida y un aumento de la actividad hipotalámica (Ortiga-Carvalho et al. 2016; Hernández 2017; Groeneweg, et al., 2020).

Receptores de hormonas tiroideas. La expresión génica del receptor de hormona tiroidea *TR α* , aumentó en los animales expuestos al tratamiento con PQT comprado con el grupo control. Con respecto al tratamiento con 2,4-D la expresión no se vio afectada. *TR α* se expresa en el tejido testicular mayormente en la edad

neonatal temprana y disminuye significativamente en la edad adulta (Hernández 2017).

El papel funcional de este receptor se centra en mediar la señalización de las hormonas tiroideas en los testículos, las células de Sertóli y células de Leydig, por lo que es vital para el desarrollo de éstos y la esteroidogénesis, por ende, es necesario pensar que se está pasando mecanismo de disrupción endocrina. Si bien no de la misma manera, estudios que lo sustentan que la expresión de *TRa* se muestra aumentada en un perfil hipotiroideo, por lo que se puede pensar que en efecto se está pasando por un estado patológico de esta índole (De Souza et al. 2016; Hernández 2017; Groeneweg, et al., 2020). En tanto al gen receptor de hormona tiroidea *TRβ*, no se observó expresión detectable en el tejido testicular con esta técnica, tanto del grupo control como de los grupos en tratamiento.

IV. 2 Efecto de la administración aguda a PQT y 2,4-D sobre la expresión génica de los canales iónicos implicados en la hiperactivación flagelar

Los herbicidas se encuentran entre los factores que más contaminan el medio ambiente, en consecuencia, traen efectos adversos a la biota no objetivo y al humano en sí, entre los herbicidas más utilizados se encuentran el PQ y el 2,4-D debido a su eficiencia y rentabilidad, y aunque ya han sido prohibidos en varios países, en México su distribución sigue siendo a libre demanda (Chen et al. 2017; Li et al. 2019).

El presente estudio demuestra que las ratas expuestas a 100 mg/kg 2,4-D a través de la inyección intraperitoneal producen alteraciones en la expresión génica de dos canales iónicos permeables a calcio principalmente, cuya importancia radica en los procesos involucrados en la capacitación que son vitales para llevar a cabo la fertilización (proceso por el cual el espermatozoide adquiere la habilidad de movimiento, hiperactivación flagelar y reacción acrosómica). Tanto *CatSper1* como *Trpv4* muestran una expresión génica menor en los animales administrados con 2,4-D, a diferencia de *Casper2* donde no se observan diferencias significativas en su expresión en ambos tratamientos.

La expresión alterada de *CaSper1* y *Trpv4* podría estar potencialmente involucrada con la interrupción de los mecanismos de transporte de la membrana celular y la inhibición de los canales iónicos. Es decir, tiene la capacidad de desacoplar la fosforilación oxidativa, por lo tanto, comprometer una variedad de actividades celulares, incluida la capacidad de la célula para mantener gradientes iónicos a través de membranas, síntesis de ADN y proteínas, así como la polimerización de microtúbulos y microfilamentos que conllevan a la ruptura del citoesqueleto y la alteración de la forma celular (Bradberry et al. 2000; Darszon et al. 2011).

Diversos estudios han demostrado que el envenenamiento con formulaciones de herbicidas fenoxiacéticos tanto en animales, como en humanos provocan numerosos efectos tóxicos tales como daños a la barrera hematoencefálica, miotonía y espasmos musculares, consistentes con la alteración de los modos de acción de los canales iónicos (Bradberry et al. 2000; Darszon et al. 2011).

Estudios anteriores demuestran que en efecto la exposición a 2,4-D fenotípicamente produce repercusiones en la calidad del esperma, número de espermatozoides y motilidad (Marouiani et. al, 2016), además de un aumento en el índice de espermatozoides anormales tal vez por la desaparición y alteración de las células de Sertóli causadas por el 2,4-D. Como es bien sabido el conteo espermático a menudo se utiliza como un parámetro de medida de la producción de espermatozoides, función testicular y fertilidad masculina por lo que estas alteraciones se asocian con una fertilidad reducida (Raji et al. 2003; Marouiani et. al, 2016).

Diversos estudios demuestran que muchos herbicidas son capaces de alterar la actividad mitocondrial, tal es el caso del 2,4-D ya que se ha observado una reducción en la motilidad de los espermatozoides que quizá se deba a la acción de este herbicida sobre la cadena respiratoria de las mitocondrias ya que su función es principalmente la transformación del gasto energético, lo que más tarde podría conducir a la muerte celular (Marouani et. al 2016).

Esta investigación es el primer informe de que el tratamiento con 2,4-D es capaz de reducir la expresión del gen *CatSper1* implicado en la fertilidad masculina,

es bien sabido que a dosis bajas el 2,4-D ya es capaz de producir efectos nocivos sobre la reproducción dado que es un herbicida inductivo del estrés oxidativo por lo que afecta la expresión de otros genes (Manfo et al., 2014).

De manera general, los canales se encuentran mediados por receptores y se basan en la señalización intracelular, por lo que el 2,4-D también podría actuar como un inhibidor del canal *Trpv4*, este canal es conocido como un receptor polimodal, el cual puede ser activado por distintas condiciones (Lishko et al. 2011; Wang et al. 2016).

IV. 3 Efecto de la administración aguda a Paraquat y 2,4-D sobre el proceso apoptótico

Peso testicular. Los testículos son un órgano importante, clave en el proceso de espermatogénesis y maduración de los espermatozoides. En esta investigación el peso testicular relativo no se vio afectado en ambos tratamientos, sin embargo, si existen datos de alteraciones en el peso a diferentes dosis y tiempo de exposición con ambos herbicidas (PQT y 2,4-D).

2,4-D: Estudios anteriores han demostrado que en efecto este herbicida es capaz de alterar el peso testicular con dosis similares a nuestro experimento (100 mg/kg) y/ o dosis menores (50 mg/kg) (30-45 días) aunque con diferente tiempo de exposición (30-45 días), produce disminución del peso y atrofia testicular lo que sugiere que el tiempo también puede ser un determinante para ser observables los efectos dañinos en el tejido (Marouani et al., 2017),

Si bien, no se encontraron datos de alteración en el peso testicular, otras investigaciones demuestran que el 2,4-D afecta la concentración de testosterona sérica que también se relaciona con un bajo peso testicular (Marouani et al., 2017). Además de ser un andrógeno importante para función, desarrollo, crecimiento adecuado de este tejido lo que concuerda con una disminución en las células germinales y por tanto en el peso de este órgano. Otros hallazgos también han encontrado alteraciones en el peso testicular por exposición crónica a otros

herbicidas como la atrazina (Stoker et al., 2002; Joshi et al., 2012; Marouani et al., 2017).

PQT: En hallazgos previos se puede observar que efectivamente el Paraquat es un herbicida que altera el peso testicular incluso con dosis menores (0.5, 2 y 8mg/kg) a las que se ocuparon en este estudio, pero con un tiempo de exposición más prologado (8 semanas), en este estudio no se observaron cambios en el peso testicular, quizá por el tiempo de tratamiento (Li et al., 2019a).

Sin embargo, si existe creciente evidencia que el efecto tóxico se da principalmente por la generación de ROS, que afecta directamente el desarrollo y tamaño de las células Leydig y por tanto la secreción de andrógenos (testosterona), que como se sabe es vital para mantener el tamaño adecuado de los testículos, lleva a cabo la peroxidación lipídica de los tejidos testiculares que sugiere daño oxidativo inducido por este compuesto lo que conlleva además a la disminución en la calidad de los espermatozoides y cambios en la morfología testicular, sugiriendo un daño al sistema reproductivo masculino (de Souza et al., 2016; Chen et al., 2017; Li et al., 2019a).

Apoptosis. Es la muerte celular programada llevada a cabo a través de la activación del receptor de muerte celular (vía extrínseca) o la vía mitocondrial (vía intrínseca) ambas vías son capaces de activar a la *caspasa-3*, esta es una proteasa clave para llevar a cabo este proceso, es responsable de la fragmentación del ADN, y se encargan de eliminar la poli (ADP-ribosa) y polimerasa (PARP) que son moléculas involucradas en la reparación del daño al ADN, activan la condensación de la cromatina y destruyen la lámina nuclear y proteínas del citoesqueleto. Se sintetiza como precursor inactivo y se activa por rotura proteolítica, lo que conduce a una reacción en cadena donde se activan otras caspasas y finalmente la muerte de la célula, por lo tanto, la regulación de la activación de la *caspasa-3* es fundamental para la supervivencia de la célula (Angel et al., 2012; Nikolettou et al., 2013).

Los datos presentados en este trabajo muestran que el nivel del gen de la *caspasa3* no se vio afectado en su expresión por la exposición a 2,4-D o a Paraquat.

Sin embargo, se sabe que los niveles elevados de glucosa contribuyen a una expresión disminuida de este gen, datos no publicados de nuestro grupo de investigación, muestran que en efecto las ratas sometidas a las mismas condiciones (dosis/ tiempo) de exposición a 2,4-D se condujeron a un estado de hiperglicemia, esto concuerda con un estudio realizado en personas con DM tipo 1 que muestra menor expresión del gen de la *caspasa3* quizá por las condiciones de estrés por glucosa en las células (Angel et al., 2012).

Además, se observó que en casos donde la tiroides se encuentra afectada, los linfocitos son incapaces de cumplir su función contribuyendo a la resistencia a la muerte celular programada (apoptosis) y desarrollo de las enfermedades autoinmunes (Tayeb et al., 2010a; 2013b; Angel et al., 2012).

Esto es contrario a lo que sucede con compuestos encontrados en los plastificantes como el bisfenol-A y de herbicidas como el PQT donde sí se puede observar un aumento en la expresión del gen de la *Caspasa3*, lo que sugiere activación de la apoptosis por la alteración en la vía intrínseca (ruta mitocondrial) (Xie et al. 2016; Wang et al., 2016; Chen et al., 2017).

En esta investigación se mantuvo sin cambios en su expresión por exposición a PQT que puede deberse a la dosis y tiempo de exposición, es bien sabido que es generador de ROS y es capaz de inducir a la muerte celular apoptótica en este caso de las células germinales testiculares ya que se sabe que las mitocondrias son el objetivo de este tipo de compuestos (Xie et al. 2016; Wang et al., 2016; Chen et al., 2017).

Necrosis: Es un tipo de muerte celular necrótica o apoptótica, caracterizada por la inflamación, destrucción de orgánulos y lisis celular. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es una citocina proinflamatoria producida por los macrófagos/monocitos y se encuentra ampliamente en la patogenia de los trastornos inflamatorios (Idriss et al., 2000; Nikolettou et al., 2013).

Los resultados de esta investigación muestran que la expresión del gen de *TNF α* no se vio afectado en ambos tratamientos tanto por la exposición a PQT, ni por la exposición a 2,4-D. Con ello no quiere decir que no provoque afecciones, pues en estudios previos se demostró que el 2,4-D puede ejercer efectos tóxicos en

diversos órganos como el cerebro, hígado y riñón, porque tiende a aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y reducir la actividad de la actividad de enzimas antioxidantes glutatión (GSH), disulfuro de glutatión y catalasa (CAT), lo que confiere su papel neurotóxico principalmente. Por lo que el estrés oxidativo se encuentra íntimamente relacionado con la inflamación como respuesta inmunitaria protectora a los estímulos externos (Troudi et al., 2011; Tayeb et al., 2012b; 2013c; Pochettino et al., 2013; Zhou et al., 2021, 2022).

V. CONCLUSIÓN

La exposición a los herbicidas Paraquat o a 2,4-D causan disrupción tiroidea en los testículos de las ratas. Esta disrupción lo hacen a través de regular de forma diferencial a los transportadores, las desyodasas y a los receptores de hormonas tiroideas.

Los genes de los transportadores MCT8 y OATP1C1, así como del receptor TRa son sensibles a la exposición aguda a Paraquat. Mientras que, los genes del transportador MCT10 y de la desyodasa DIO2 son sensibles a la exposición aguda al herbicida 2,4-D. Por lo que estos genes pueden funcionar como biomarcadores de efecto temprano para evaluar disrupción tiroidea por exposición a Paraquat y a 2,4-D.

La exposición aguda al herbicida 2,4-D afecta la expresión de los genes de los canales iónicos CatSper1 y TRPV4, los cuales están implicados en la hiperactivación flagelar de los espermatozoides. Por lo que se pueden sugerir como potenciales biomarcadores de efecto temprano por la exposición a 2,4-D, además de ser un posible biomarcador indicativo del riesgo de infertilidad masculina.

Por tanto, aunque los biomarcadores de efecto temprano miden alteraciones dentro de un sistema biológico, también se podrían considerar como biomarcadores para la evaluación de la exposición toxicológica, sin embargo, debe ser un trabajo integrado con otros biomarcadores de exposición y susceptibilidad para evaluación adecuada de riesgos para la salud como para caracterizar el impacto de los agroquímicos.

VI. PERSPECTIVAS

Si bien es un estudio que aporta evidencia científica sobre la alteración de los canales iónicos implicados en la fertilidad y los genes asociados a las hormonas tiroideas que se correlacionan con un estado de disrupción endocrina, aún falta por dilucidar algunos mecanismos de toxicidad de los herbicidas utilizados para esta investigación. Por ello se plantean las siguientes perspectivas.

- Evaluar la concentración sérica de hormonas tiroideas para correlacionarlos con el estado tiroideo.
- Identificar mediante un análisis citogenético anomalías cromosómicas en los espermatozoides del testículo y el epidídimo.
- Evaluar la concentración sérica de glucosidasa neutra, antígeno prostático específico, zinc y fructosa para identificar alteraciones visibles de la función prostática y la vesícula seminal.

VII. REFERENCIAS

- Angel, B. B., Codner, E., Arredondo, M. O., Salas, F. P., Pizarro, C. A., & Pérez, F. B. (2012). Expresión disminuida de caspasa 3 asociada al polimorfismo del gen del antígeno-4 asociado a linfocito T-citotóxico (CTLA4) en pacientes chilenos con diabetes tipo 1 [Decreased caspase 3 expression and cytotoxic T lymphocyte antigen-4 polymorphism in Chilean patients with type 1 diabetes]. *Revista médica de Chile*, 140(9), 1109–1115. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872012000900002>
- Arango SS. (2011). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 30(1): 75-82.
- Benli, A. Ç., Şahin, D., Sarıkaya, R., Memmi, B. K., & Dinçel, A. S. (2016). The sublethal effects of (2,4-Dichlorophenoxy) acetic acid (2,4-D) on narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 67(4), 289–296. <https://doi.org/10.1515/aiht-2016-67-2793>
- Bernardi, F., Lirola, J. R., Cestari, M. M., & Bombardelli, R. A. (2022). Effects on reproductive, biochemical and genotoxic parameters of herbicides 2,4-D and glyphosate in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Environmental toxicology and pharmacology*, 89, 103787. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103787>
- Bojarski, B., & Witeska, M. (2020). Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish-a review. *Environmental science and pollution research international*, 27(16), 19236–19250. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
- Bortolozzi, A., Duffard, R., & de Duffard, A. M. (2003). Asymmetrical development of the monoamine systems in 2,4-dichlorophenoxyacetic acid treated rats. *Neurotoxicology*, 24(1), 149–157. [https://doi.org/10.1016/s0161-813x\(02\)00156-0](https://doi.org/10.1016/s0161-813x(02)00156-0)
- Brenker, C., Goodwin, N., Weyand, I., Kashikar, N. D., Naruse, M., Krähling, M., Müller, A., Kaupp, U. B., & Strünker, T. (2012). The CatSper channel: a polymodal chemosensor in human sperm. *The EMBO journal*, 31(7), 1654–1665. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.30>
- Chen, Q., Zhang, X., Zhao, J. Y., Lu, X. N., Zheng, P. S., & Xue, X. (2017). Oxidative damage of the male reproductive system induced by paraquat. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(3), 10.1002/jbt.21870. <https://doi.org/10.1002/jbt.21870>
- Chen, Y. W., Yang, Y. T., Hung, D. Z., Su, C. C., & Chen, K. L. (2012). Paraquat induces lung alveolar epithelial cell apoptosis via Nrf-2-regulated mitochondrial dysfunction and ER stress. *Archives of toxicology*, 86(10), 1547–1558. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0873-8>
- Cooper, J., Dobson, H., 2007. The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection*, 26(9), 1337–1348. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.03.022>
- Corella, D. & Ordovás, J.M. (2015). Biomarcadores: antecedentes, clasificación y guía para su aplicación en epidemiología nutricional. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 21(Supl. 1):176-187. DOI: 10.14642/RENC.2015.21.sup1.5064.
- Costa Reis, L. T., Sena de Souza, J., Hirochi Herai, R., Cunha, E. B., Ribeiro Pereira Soares, J., Santos El-Bachá, R., Diogenes Amaral da Silva, V., Aurelio Romano, M., Marino Romano, R., Izabel Chiamolera, M., Giannocco, G., Lima Costa, S., Dias da Silva, M. R., & Telles da Cunha

- Lima, S. (2021). Intergenerational thyroid hormone homeostasis imbalance in cerebellum of rats perinatally exposed to glyphosate-based herbicide. *Environmental toxicology*, 36(6), 1031–1042. <https://doi.org/10.1002/tox.23102>
- Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health*, 8(5), 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>
- Damstra T. (2002). Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 40(4), 457–465. <https://doi.org/10.1081/clt-120006748>
- Darszon, A., Nishigaki, T., Beltran, C., & Treviño, C. L. (2011). Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiological reviews*, 91(4), 1305–1355. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2010>
- Darszon, A., Treviño, C. L., Wood, C., Galindo, B., Rodríguez-Miranda, E., Acevedo, J. J., Hernandez-González, E. O., Beltrán, C., Martínez-López, P., & Nishigaki, T. (2007). Ion channels in sperm motility and capacitation. *Society of Reproduction and Fertility supplement*, 65, 229–244.
- de Souza, J. S., Kizys, M. M., da Conceição, R. R., Glebocki, G., Romano, R. M., Ortiga-Carvalho, T. M., Giannocco, G., da Silva, I. D., Dias da Silva, M. R., Romano, M. A., & Chiamolera, M. I. (2017). Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats. *Toxicology*, 377, 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.11.005>
- De, A., Bose, R., Kumar, A., & Mozumdar, S. (2013). *Worldwide Pesticide Use. Targeted Delivery of Pesticides Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles*, 56. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1689-6_2
- del Puerto Rodríguez, A.M., Suárez Tamayo, S., Palacio Estrada, D.E., 2014. Effects of pesticides on health and the environment. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.*
- Dinis-Oliveira, R. J., Duarte, J. A., Sánchez-Navarro, A., Remião, F., Bastos, M. L., & Carvalho, F. (2008). Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Critical reviews in toxicology*, 38(1), 13–71. <https://doi.org/10.1080/10408440701669959>
- D'Souza, U. J., Narayana, K., Zain, A., Raju, S., Nizam, H. M., & Noriah, O. (2006). Dermal exposure to the herbicide-paraquat results in genotoxic and cytotoxic damage to germ cells in the male rat. *Folia morphologica*, 65(1), 6–10.
- EPA. Registering Pesticides, 2009. Available online: <http://www.epa.gov/pesticides/regulating/registering/index.htm> (revisado el 20 de enero de 2021).
- Fent K. (2003). Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. *Toxicology letters*, 140-141, 353–365. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(03\)00032-8](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(03)00032-8)
- Flower, K. B., Hoppin, J. A., Lynch, C. F., Blair, A., Knott, C., Shore, D. L., & Sandler, D. P. (2004). Cancer risk and parental pesticide application in children of Agricultural Health Study participants. *Environmental health perspectives*, 112(5), 631–635. <https://doi.org/10.1289/ehp.6586>

- Gil H.F. (2000). The role of biomarkers in human toxicology. Departamento de Medicina Legal y Toxicología Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, Rev. Toxicol. 17: 19-26.
- Groeneweg, S., van Geest, F. S., Peeters, R. P., Heuer, H., & Visser, W. E. (2020). Thyroid Hormone Transporters. *Endocrine reviews*, 41(2), bnz008. <https://doi.org/10.1210/endoev/bnz008>
- Harada, Y., Tanaka, N., Ichikawa, M., Kamijo, Y., Sugiyama, E., Gonzalez, F. J., & Aoyama, T. (2016). PPAR α -dependent cholesterol/testosterone disruption in Leydig cells mediates 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced testicular toxicity in mice. *Archives of toxicology*, 90(12), 3061–3071. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1669-z>
- Hauser R, Altshul L, Chen Z, Ryan L, Overstreet J, Schiff I & Christiani DC 2002 Environmental organochlorines and semen quality: results of a pilot study. *Environmental Health Perspectives* 110 229–233.
- Hernandez A. (2018). Thyroid Hormone Deiodination and Action in the Gonads. *Current opinion in endocrine and metabolic research*, 2, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2018.01.010>
- Hernandez A. (2018). Thyroid Hormone Role and Economy in the Developing Testis. *Vitamins and hormones*, 106, 473–500. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2017.06.005>
- Hernández, A. F., Parrón, T., Tsatsakis, A. M., Requena, M., Alarcón, R., & López-Guarnido, O. (2013). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology*, 307, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.06.009>
- Hoshina, C., Omura, T., Okuda, K., Tanaka, H., Asari, M., Isozaki, S., Horioka, K., Yamada, H., Doi, H., Shiono, H., Matsubara, K., & Shimizu, K. (2018). Paraquat toxicity is attenuated by 4-phenylbutyrate-induced phosphorylation of ERK2 via PI3K in A549 cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 503(2), 809–814. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.080>
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. DDT, Lindane, and 2,4 D. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2018. PMID: 29912510.
- Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy research and technique*, 50(3), 184–195. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H)
- Informe de la Situación del Medio Ambiente en México 2018. Compendio de Estadísticas Ambientales, Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y Crecimiento Verde. Revisado el 20 de enero de 2021 en <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/index.html>
- Jannini EA, Ulisse S, D'Armiento M. Thyroid hormone and male gonadal function. *Endocr Rev* 1995;16:443–59.
- Jannini EA, Carosa E, Rucci N, Screponi E, D'Armiento M. Ontogeny and regulation of variant thyroid hormone receptor isoforms in developing rat testis. *J Endocrinol Invest* 1999;22:843–8.
- Jannini EA, Crescenzi A, Rucci N, Screponi E, Carosa E, de Matteis A, et al. Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3453–7.

- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *The Science of the total environment*, 575, 525–535. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
- Kobal, S., Cebulj-Kadunc, N., & Cestnik, V. (2000). Serum T3 and T4 concentrations in the adult rats treated with herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 440(5 Suppl), R171–R172.
- Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2013). Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6147), 759–765. <https://doi.org/10.1126/science.1237591>
- Krzastek, S. C., Farhi, J., Gray, M., & Smith, R. P. (2020). Impact of environmental toxin exposure on male fertility potential. *Translational andrology and urology*, 9(6), 2797–2813. <https://doi.org/10.21037/tau-20-685>
- Lagos-Cabré, R., & Moreno, R. D. (2012). Contribution of environmental pollutants to male infertility: a working model of germ cell apoptosis induced by plasticizers. *Biological research*, 45(1), 5–14. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602012000100001>
- Lam de Calvo O, Castellero de Santos L. (2021). Expertos en fisiología: resumen de lo que debes saber de las hormonas tiroideas. *Rev Méd Cient*, 33(2):31-45. <https://www.revistamedicocientifica.org/index.php/rmc/article/view/604>
- Lerro, C. C., Beane Freeman, L. E., Portengen, L., Kang, D., Lee, K., Blair, A., Lynch, C. F., Bakke, B., De Roos, A. J., & Vermeulen, R. C. (2017). A longitudinal study of atrazine and 2,4-D exposure and oxidative stress markers among iowa corn farmers. *Environmental and molecular mutagenesis*, 58(1), 30–38. <https://doi.org/10.1002/em.22069>
- Li, H., Zhu, Q., Wang, S., Huang, T., Li, X., Ni, C., Fang, Y., Li, L., Lian, Q., & Ge, R. S. (2019a). Paraquat exposure delays stem/progenitor Leydig cell regeneration in the adult rat testis. *Chemosphere*, 231, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.104>
- Li, H., Hong, T., Zhu, Q., Wang, S., Huang, T., Li, X., Lian, Q., & Ge, R. S. (2019b). Paraquat exposure delays late-stage Leydig cell differentiation in rats during puberty. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 255(Pt 2), 113316. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113316>
- Lin, C. C., Hsu, K. H., Shih, C. P., & Chang, G. J. (2021). Hemodynamic and electromechanical effects of paraquat in rat heart. *PloS one*, 16(4), e0234591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234591>
- Lishko, P. V., Botchkina, I. L., & Kirichok, Y. (2011). Progesterone activates the principal Ca²⁺ channel of human sperm. *Nature*, 471(7338), 387–391. <https://doi.org/10.1038/nature09767>
- Lishko, P. V., Kirichok, Y., Ren, D., Navarro, B., Chung, J. J., & Clapham, D. E. (2012). The control of male fertility by spermatozoan ion channels. *Annual review of physiology*, 74, 453–475. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020911-153258>
- Long, M., Stronati, A., Bizzaro, D., Krüger, T., Manicardi, G. C., Hjelmborg, P. S., Spanò, M., Giwercman, A., Toft, G., Bonde, J. P., & Bonefeld-Jorgensen, E. C. (2007). Relation between serum xenobiotic-induced receptor activities and sperm DNA damage and sperm apoptotic markers in European and Inuit populations. *Reproduction (Cambridge, England)*, 133(2), 517–530. <https://doi.org/10.1530/REP-06-0195>

- Kongtip, P., Nankongnab, N., Kallayanatham, N., Pundee, R., Choochouy, N., Yimsabai, J., & Woskie, S. (2019). Thyroid Hormones in Conventional and Organic Farmers in Thailand. *International journal of environmental research and public health*, 16(15), 2704. <https://doi.org/10.3390/ijerph16152704>
- Magnoli, K., Carranza, C. S., Aluffi, M. E., Magnoli, C. E., & Barberis, C. L. (2020). Herbicides based on 2,4-D: its behavior in agricultural environments and microbial biodegradation aspects. A review. *Environmental science and pollution research international*, 27(31), 38501–38512. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10370-6>
- Manfo, F. P., Jubendradass, R., Nantia, E. A., Moundipa, P. F., & Mathur, P. P. (2014). Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 228, 57–82. https://doi.org/10.1007/978-3-319-01619-1_3
- Marashi, S. M., Hosseini, S. F., Hosseinzadeh, M., Qadir, M. F., & Khodaei, F. (2019). Ameliorative role of aspirin in paraquat-induced lung toxicity via mitochondrial mechanisms. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 33(9), e22370. <https://doi.org/10.1002/jbt.22370>
- Marouani, N., Tebourbi, O., Cherif, D., Hallegue, D., Yacoubi, M. T., Sakly, M., Benkhalifa, M., & Ben Rhouma, K. (2017). Effects of oral administration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4- D) on reproductive parameters in male Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(1). <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7656-3>
- Mehrpour O, Karrari P, Zamani N, et al. Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review. *Toxicol Lett* 2014;230:146-56
- Menegaz D, Zamoner A, Royer C, Leite LD, Bortolotto ZA, Silva FR. Rapid responses to thyroxine in the testis: active protein synthesis-independent pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2006;246:128–34.
- Menegaz D, Barrientos-Duran A, Kline A, Silva FR, Norman AW, Mizwicki MT, et al. 1 α ,25(OH) $_2$ -vitamin D $_3$ stimulation of secretion via chloride channel activation in Sertoli cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;119:127–34.
- Mestre, A. P., Amavet, P. S., van der Sloot, I. S., Carletti, J. V., Poletta, G. L., & Siroski, P. A. (2020). Effects of glyphosate, cypermethrin, and chlorpyrifos on hematological parameters of the tegu lizard (*Salvator merianae*) in different embryo stages. *Chemosphere*, 252, 126433. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126433>
- Miller, Melissa R.; Mansell, Steven A.; Meyers, Stuart A.; Lishko, Polina V. (2015). *Flagellar ion channels of sperm: similarities and differences between species*. *Cell Calcium*, 58(1), 105–113. doi: 10.1016/j.ceca.2014.10.009
- Mnif W, Hassine AIH, Bouaziz A, et al. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *Int J Environ Res Public Health* 2011;8:2265-303
- Mohammadi, S., Gholamin, M., Mohammadi, M., Mansouri, A., Mahmoodian, R., Attari, S., Kebriaei, S. M., Zibaei, B., Roshanaei, M., Daneshvar, F., Khandehro, M., Khodadadegan, M. A., Delshad, A., Mohammadzadeh, F., Peyvandi, M., Ghayour-Mobarhan, M., Tavallaie, S., Boroumand-Noughabi, S., & Ferns, G. A. A. (2018). Down-regulation of CatSper 1 and CatSper 2 genes by lead and mercury. *Environmental toxicology and pharmacology*, 59, 82–86. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.03.007>

- Mohammadi, S., Rahmani, F., Hasanian, S. M., Beheshti, F., Akbari Oryani, M., Ebrahimzadeh, A., & Farzadfar, S. (2019). Effects of dioxin on testicular histopathology, sperm parameters, and CatSper2 gene and protein expression in Naval Medical Research Institute male mice. *Andrologia*, 51(11), e13411. <https://doi.org/10.1111/and.13411>
- Monneret C. (2017). What is an endocrine disruptor?. *Comptes rendus biologiques*, 340(9-10), 403–405. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2017.07.004>
- Morales-Juárez, C. (2022). *Evaluación del mecanismo de toxicidad del Paraquat y 2,4-D a través del receptor de glucocorticoides en la glándula adrenal de la rata macho*. [Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias en Sistemas del Ambiente, Universidad Autónoma de Tlaxcala].
- Morán, J. M., Ortiz-Ortiz, M. A., Ruiz-Mesa, L. M., & Fuentes, J. M. (2010). Nitric oxide in paraquat-mediated toxicity: A review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 24(6), 402–409. <https://doi.org/10.1002/jbt.20348>
- Mundt, Nadine; Spehr, Marc; Lishko, Polina V (2018). *TRPV4 is the temperature-sensitive ion channel of human sperm*. *eLife*, 7(), e35853–. doi:10.7554/eLife.35853
- Neto, F. T., Bach, P. V., Najari, B. B., Li, P. S., & Goldstein, M. (2016). Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Seminars in cell & developmental biology*, 59, 10–26. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.04.009>
- Nikoletopoulou, V., Markaki, M., Palikaras, K., & Tavernarakis, N. (2013). Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochimica et biophysica acta*, 1833(12), 3448–3459. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.001>
- Oakes, D. J., Webster, W. S., Brown-Woodman, P. D., & Ritchie, H. E. (2002). Testicular changes induced by chronic exposure to the herbicide formulation, Tordon 75D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid and picloram) in rats. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), 16(3), 281–289. [https://doi.org/10.1016/s0890-6238\(02\)00015-1](https://doi.org/10.1016/s0890-6238(02)00015-1)
- Ortíz, I., Avila-Chávez, M. A., & Torres, L. G. (2014). *Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio*. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 5(1). doi:10.7603/s40682-014-0003-9
- Ostrosky-Wegman, P. & Gonsebatt, M.E. (1997). Departamento de Toxicología Ambiental. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. A. P. 70228. Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F. *Gac Méd Méx* vol.133.
- Panuwet, P., Ladva, C., Barr, D. B., Prapamontol, T., Meeker, J. D., D'Souza, P. E., Maldonado, H., Ryan, P. B., & Robson, M. G. (2018). Investigation of associations between exposures to pesticides and testosterone levels in Thai farmers. *Archives of environmental & occupational health*, 73(4), 205–218. <https://doi.org/10.1080/19338244.2017.1378606>
- Pazmiño, D. M., Romero-Puertas, M. C., & Sandalio, L. M. (2012). Insights into the toxicity mechanism of and cell response to the herbicide 2,4-D in plants. *Plant signaling & behavior*, 7(3), 425–427. <https://doi.org/10.4161/psb.19124>
- Pochettino, A. A., Bongiovanni, B., Duffard, R. O., & Evangelista de Duffard, A. M. (2013). Oxidative stress in ventral prostate, ovary, and breast by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in pre- and postnatal exposed rats. *Environmental toxicology*, 28(1), 1–10. <https://doi.org/10.1002/tox.20690>

- Pochettino, A. A., Hapon, M. B., Biolatto, S. M., Madariaga, M. J., Jahn, G. A., & Konjuh, C. N. (2016). Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the ventral prostate of rats during the peri-pubertal, pubertal and adult stage. *Drug and chemical toxicology*, 39(4), 392–399. <https://doi.org/10.3109/01480545.2015.1130718>
- Polina V. Lishko; Yuriy Kirichok (2010). *The role of Hv1 and CatSper channels in sperm activation.* , 588(23), 4667–4672. doi:10.1113/jphysiol.2010.194142
- Rahban, R., & Nef, S. (2020). CatSper: The complex main gate of calcium entry in mammalian spermatozoa. *Molecular and cellular endocrinology*, 518, 110951. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110951>
- Ramírez, J., Lacasaña, M., 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Arch. prev. riesgos labor. (Ed. impr.).
- Ren, D., Navarro, B., Perez, G., Jackson, A. C., Hsu, S., Shi, Q., Tilly, J. L., & Clapham, D. E. (2001). A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature*, 413(6856), 603–609. <https://doi.org/10.1038/35098027>
- Roede, J. R., & Miller, G. W. (2014). *Paraquat. Encyclopedia of Toxicology*, 756–758. doi:10.1016/b978-0-12-386454-3.00175-5
- Sánchez-Guerra, M., Pérez-Herrera, N., & Quintanilla-Vega, B. (2011). Organophosphorous pesticides research in Mexico: epidemiological and experimental approaches. *Toxicology mechanisms and methods*, 21(9), 681–691. <https://doi.org/10.3109/15376516.2011.602130>
- Santos, R., Piccoli, C., Cremonese, C., & Freire, C. (2019). Thyroid and reproductive hormones in relation to pesticide use in an agricultural population in Southern Brazil. *Environmental research*, 173, 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.050>
- Sengupta, P., Dutta, S., Karkada, I. R., & Chinni, S. V. (2021). Endocrinopathies and Male Infertility. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.3390/life12010010>
- Shah, W., Khan, R., Shah, B., Khan, A., Dil, S., Liu, W., Wen, J., & Jiang, X. (2021). The Molecular Mechanism of Sex Hormones on Sertoli Cell Development and Proliferation. *Frontiers in endocrinology*, 12, 648141. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.648141>
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G. P. S., Handa, N., ... Thukral, A. K. (2019). *Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. SN Applied Sciences*, 1(11). doi:10.1007/s42452-019-1485-1
- Singh, Akhand Pratap; Rajender, Singh (2015). *CatSper channel, sperm function and male fertility. Reproductive BioMedicine Online*, 30(1), 28–38. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.09.014
- Starc, Andrej (2019). *Infertility and Sexual Dysfunctions: A Systematic Literature Review. Acta Clinica Croatica*, (), -. doi:10.20471/acc.2019.58.03.15
- Stoker, T. E., Guidici, D. L., Laws, S. C., & Cooper, R. L. (2002). The effects of atrazine metabolites on puberty and thyroid function in the male Wistar rat. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 67(2), 198–206. <https://doi.org/10.1093/toxsci/67.2.198>
- Sun, Y. N., Liu, Y. J., Zhang, L., Ye, Y., Lin, L. X., Li, Y. M., Yan, Y. Q., & Chen, Z. P. (2014). Expression of organic anion transporting polypeptide 1c1 and monocarboxylate transporter 8 in the rat placental barrier and the compensatory response to thyroid dysfunction. *PloS one*, 9(4), e96047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096047>

- Székács, A., Mörtl, M., & Darvas, B. (2015). *Monitoring Pesticide Residues in Surface and Ground Water in Hungary: Surveys in 1990–2015. Journal of Chemistry*, 2015, 1–15. doi:10.1155/2015/717948
- Tan, Z., Zhou, J., Chen, H., Zou, Q., Weng, S., Luo, T., & Tang, Y. (2016). Toxic effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human sperm function in vitro. *The Journal of toxicological sciences*, 41(4), 543–549. <https://doi.org/10.2131/jts.41.543>
- Tavares, R. S., Mansell, S., Barratt, C. L., Wilson, S. M., Publicover, S. J., & Ramalho-Santos, J. (2013). p,p'-DDE activates CatSper and compromises human sperm function at environmentally relevant concentrations. *Human reproduction (Oxford, England)*, 28(12), 3167–3177. <https://doi.org/10.1093/humrep/det372>
- Tayeb, W., Nakbi, A., Cheraief, I., Miled, A., & Hammami, M. (2013). Alteration of lipid status and lipid metabolism, induction of oxidative stress and lipid peroxidation by 2,4-dichlorophenoxyacetic herbicide in rat liver. *Toxicology mechanisms and methods*, 23(6), 449–458. <https://doi.org/10.3109/15376516.2013.780275>
- Tayeb, W., Nakbi, A., Trabelsi, M., Attia, N., Miled, A., & Hammami, M. (2010). Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide "Désormone lourde". *Journal of hazardous materials*, 180(1-3), 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.018>
- Tayeb, W., Nakbi, A., Trabelsi, M., Miled, A., & Hammami, M. (2012). Biochemical and histological evaluation of kidney damage after sub-acute exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic herbicide in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicology mechanisms and methods*, 22(9), 696–704. <https://doi.org/10.3109/15376516.2012.717650>
- Torres, I.O.M.A.Á.-C.L.G., 2015. Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio 3, 141–156. <https://doi.org/10.7603/s40>
- Troudi, A., Soudani, N., Mahjoubi Samet, A., Ben Amara, I., & Zeghal, N. (2011). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid effects on nephrotoxicity in rats during late pregnancy and early postnatal periods. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(8), 2316–2323. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.032>
- Turgut C. (2003). The contamination with organochlorine pesticides and heavy metals in surface water in Küçük Menderes River in Turkey, 2000-2002. *Environment international*, 29(1), 29–32. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00127-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00127-7)
- United State Department of Agriculture (USDA) (2017) Foreign agricultural service. In: Circular series. In: World Agricultural Production.
- Vendrame, F., Santangelo, C., Misasi, R., Dionisi, S., Gizzi, C., Realacci, M., Grassetti, D., Di Mario, U., & Dotta, F. (2005). Defective lymphocyte caspase-3 expression in type 1 diabetes mellitus. *European journal of endocrinology*, 152(1), 119–125. <https://doi.org/10.1530/eje.1.01813>
- Wan, M. L. Y., Co, V. A., & El-Nezami, H. (2022). Endocrine disrupting chemicals and breast cancer: a systematic review of epidemiological studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(24), 6549–6576. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1903382>
- Wang, H. F., Chang, M., Peng, T. T., Yang, Y., Li, N., Luo, T., Cheng, Y. M., Zhou, M. Z., Zeng, X. H., & Zheng, L. P. (2017). Exposure to Cadmium Impairs Sperm Functions by Reducing

- CatSper in Mice. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 42(1), 44–54. <https://doi.org/10.1159/000477113>
- Wang, H. F., Liu, M., Li, N., Luo, T., Zheng, L. P., & Zeng, X. H. (2016). Bisphenol A Impairs Mature Sperm Functions by a CatSper-Relevant Mechanism. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 152(1), 145–154. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw070>
- Wang, Huafeng; McGoldrick, Luke L.; Chung, Jean-Ju (2020). *Sperm ion channels and transporters in male fertility and infertility*. *Nature Reviews Urology*, (), doi:10.1038/s41585-020-00390-9
- WHO (World Health Organization) (2017) Guidelines for drinking-water quality. Fourth edition incorporating the first addendum
- Wittmann, G., Szabon, J., Mohácsik, P., Nouriel, S. S., Gereben, B., Fekete, C., & Lechan, R. M. (2015). Parallel regulation of thyroid hormone transporters OATP1c1 and MCT8 during and after endotoxemia at the blood-brain barrier of male rodents. *Endocrinology*, 156(4), 1552–1564. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1830>
- Xie, M., Bu, P., Li, F., Lan, S., Wu, H., Yuan, L., & Wang, Y. (2016). Neonatal bisphenol A exposure induces meiotic arrest and apoptosis of spermatogenic cells. *Oncotarget*, 7(9), 10606–10615. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7218>
- Xu, C., Sun, X., Niu, L., Yang, W., Tu, W., Lu, L., Song, S., & Liu, W. (2019). Enantioselective thyroid disruption in zebrafish embryo-larvae via exposure to environmental concentrations of the chloroacetamide herbicide acetochlor. *The Science of the total environment*, 653, 1140–1148. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.037>
- Yang, M., Hu, J., Li, S., Ma, Y., Gui, W., & Zhu, G. (2016). Thyroid endocrine disruption of acetochlor on zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Journal of applied toxicology: JAT*, 36(6), 844–852. <https://doi.org/10.1002/jat.3230>
- Zamoner, A., Pessoa-Pureur, R., & Silva, F. R. (2011). Membrane-initiated actions of thyroid hormones on the male reproductive system. *Life sciences*, 89(15-16), 507–514. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.04.006>
- Zhou, J., Li, H., Wang, F., Wang, H., Chai, R., Li, J., Jia, L., Wang, K., Zhang, P., Zhu, L., & Yang, H. (2021). Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the expression of NLRP3 inflammasome and autophagy-related proteins as well as the protective effect of Lycium barbarum polysaccharide in neonatal rats. *Environmental toxicology*, 36(12), 2454–2466. <https://doi.org/10.1002/tox.23358>
- Zhou, J., Wang, H., Jia, L., Ma, Y., Wang, X., Zhu, L., Wang, K., Zhang, P., & Yang, H. (2022). Mechanism of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid-induced damage to rat testis via Fas/FasL pathway and the protective effect of Lycium barbarum polysaccharides. *Environmental toxicology*, 37(11), 2764–2779. <https://doi.org/10.1002/tox.23635>

VIII. ANEXOS

VIII.1 Certificado de salud animal de los animales de experimentación



CERTIFICADO DE SALUD ANIMAL

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. Instituto Politécnico Nacional # 2508,
Col. San Pedro Zacatenco, C.P. 07360, CDMX, México.
SENASICA AUT-B-C-0419-051

Fecha de expedición:	Noviembre 4, 2019	Especie:	RATA	Línea o Cepa:	WISTAR	
Cantidad total:	24	Sexo:	MACHOS_24_	HEMBRAS__	Peso o edad:	150 a 200 gramos
Ref. de Monitoreo:	30645/30647/39930	Fecha de Diagnóstico:	DICIEMBRE 2018	Válido Hasta:	DICIEMBRE 2019	

MONITOREO AMBIENTAL MICROAISLADOR

Agente etiológico	Muestra	Método	Resultado
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ambiente	PCR	Negativo
Boone Cardiovirus	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Clostridium piliforme</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter</i> spp.	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter bilis</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter ganmani</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter hepaticus</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter mastomyrinus</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter rodentium</i>	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Helicobacter typhlonius</i>	Ambiente	PCR	Negativo
Mouse adenovirus (MAV1)	Ambiente	PCR	Negativo
Mouse adenovirus (MAV2)	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Ambiente	PCR	Negativo
Kilham Rat Virus (KRV)	Ambiente	PCR	Negativo
Rat Minute Virus (RMV)	Ambiente	PCR	Negativo
Rat Parvovirus (RPV)	Ambiente	PCR	Negativo
Rat Parvovirus H1	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Pasteurella pneumotropica</i> biotype Jawetz	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Pasteurella pneumotropica</i> biotype Heyl	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ambiente	PCR	Negativo
Rat Coronavirus /Sialodacroadenitis Virus (RCV/SDAV)	Ambiente	PCR	Negativo
<i>Salmonella</i> spp.	Ambiente	PCR	Negativo

SEROLOGIA

Agente etiológico	Muestra	Método	Resultado
Cilia Associated Respiratory Bacillus (CAR bacillus)	Suero	MIF	Negativo
Hantaan virus	Suero	MIF	Negativo
Lymphocytic choriomeningitis virus LCMV	Suero	MIF	Negativo
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Suero	MIF	Negativo
Mouse adenovirus (MAV1)	Suero	MIF	Negativo
Mouse adenovirus (MAV2)	Suero	MIF	Negativo
<i>Pneumocystis carinii</i>	Suero	MIF	Negativo
Rat Parvovirus RPV	Suero	MIF	Negativo
Rat Minute Virus (RMV)	Suero	MIF	Negativo
Kilham Rat Virus (KRV)	Suero	MIF	Negativo
Rat Parvovirus H1	Suero	MIF	Negativo
Pneumonia virus of mice (PVM)	Suero	MIF	Negativo
Rat Coronavirus /Sialodacroadenitis (RCV/SDAV)	Suero	MIF	Negativo
Reovirus 3 (REO3)	Suero	MIF	Negativo
Rat Theilovirus (RTV)	Suero	MIF	Negativo
Sendai virus	Suero	MIF	Negativo
<i>Clostridium piliforme</i>	Suero	MIF	Negativo

Los animales de laboratorio resultado de este diagnóstico nacieron en esta unidad y han sido mantenidos en la condición de "centinelas", bajo las prácticas de manejo establecidas para tal efecto.

Médico Veterinario Certificado
Maria Antonieta López López
Cédula Profesional: 2759847

Este documento es válido con firma digitalizada

VIII.2 Ficha técnica del LUCAQUAT (Paraquat)

FICHA TÉCNICA



**HERBICIDA AGRÍCOLA.
SOLUCIÓN ACUOSA**

LUCAQUAT 25% S.A. es un herbicida de contacto no selectivo aplicado en post-emergencia de la maleza. Si se aplica en post-emergencia al cultivo, el producto debe de ser dirigido a la maleza sin tocar al cultivo.

COMPOSICION PORCENTUAL

%en peso

INGREDIENTE ACTIVO

Paraquat: Sal dicloruro de Paraquat
(1, 1 dimetil-4,4 del ion bupiridilio)
con un contenido de ion no menor de 72.4%
(Equivalente a 200 g de I.A./L)

No menos de 25.00%

INGREDIENTES INERTES

Diluyente, estabilizante y humectante

No más de 75.00%

TOTAL 100.00%

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE USO: Use el equipo de protección adecuado y completo: guantes, mascarilla de cartucho, overol, botas, capucha y goggles. No coma, beba ni fume durante la aplicación. Mezcle los preparativos con un removedor (nunca con las manos), aunque se tenga los guantes puestos. No aplique en horas de calor intenso ni cuando el viento exceda la velocidad de 8 km/h para evitar arrastres. Después de aplicar el producto, báñese y póngase ropa limpia.

MODERADAMENTE TÓXICO

ADVERTENCIA SOBRE RIESGOS: Este producto es **Moderadamente tóxico**, por lo que deberá evitarse su ingestión, inhalación y contacto con la piel y ojos. No se transporte ni almacene junto con productos alimenticios, ropa o forrajes, manténgase fuera del alcance de los niños y animales domésticos. No almacenar en casas-habitación. No deberán exponerse ni manejar este producto las mujeres embarazadas, en lactación y personas menores de 18 años. No reutilice el envase. Hágase el triple lavado y destrúyase.

CARRETERA **TECOMAN**-CERRO DE ORTEGA K.M. 1.5
C.P. 28100 TECOMAN, COL. TEL (01 313) 324 6977, 324 6978
fertigomez@hotmail.com R.F.C.: FGO-040406-U80

VIII.2 Ficha técnica del LUCAQUAT (Paraquat)... continuación

FICHA TÉCNICA



INSTRUCCIONES DE USO

¡SIEMPRE CALIBRE EL EQUIPO DE APLICACIÓN!

LUCAQUAT 25% S.A. es un herbicida de contacto, no selectivo, que controla maleza de hoja angosta y ancha, sean anuales o perennes.

USESE EXCLUSIVAMENTE EN LOS CULTIVOS Y MALEZAS AQUI RECOMENDADOS
USO RESTRINGIDO

Cultivo	Dosis L/ha	Epoca de aplicación	Malezas
Frutales perennes Papaya, guayabo, Aguacate, caféto, Cítricos, plátano, Manzano, peral, durazno, nogal.	1.5-3.0	Maleza en crecimiento activo entre 5 y 15 cm. de altura	Hoja ancha Acahual (<i>Simsia amplexicaulis</i>) Acahualillo (<i>Bidens pilosa</i>) Amargosa (<i>Ambrosia</i> spp.) Bledo o quelite (<i>Amaranthus</i> spp.) Bledo cenizo (<i>Chenopodium album</i>) Lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>) Mostaza negra (<i>Brassica nigra</i>) Tacote (<i>Tithonia tubaeformis</i>) Toloache (<i>Datura stramonium</i>) Tomatillo (<i>Xanthium strumarium</i>) Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>)
Papa, pepino, lechuga, melón, col, soya, sandía, jitomate, sorgo, caña de azúcar, maíz, piña, cártamo, girasol, chicharo, cebolla, espárrago, frijol, brócoli, zanahoria, coliflor, calabacita, trigo, cebada y avena.	1.5 a 2.0 1.5-3.0	Maleza en crecimiento activo entre 5 y 15 cm de altura	Hoja angosta Avena loca (<i>Avena fatua</i>) Pata de gallo (<i>Eleusine indica</i>) Zacate azul (<i>Poa annua</i>) Zacate cadillo (<i>Cenchrus equinatus</i>) Zacate fresadilla (<i>Digitaria sanguinalis</i>) Zacate de agua (<i>Echinochloa</i> spp.) Zacate johnson (de semilla) (<i>Sorghum halepense</i>) Zacate bermuda (<i>Cynodon dactylon</i>)

MÉTODOS PARA PREPARAR Y APLICAR EL PRODUCTO: Mezcle la dosis de **LUCAQUAT 25% S.A.** en la cantidad necesaria de agua limpia para cubrir una hectárea. Generalmente la cantidad de agua usada para una hectárea es de 400-600 L aplicados con o sin herbicidas residuales. Usando 0.75 - 1.25 litros de **LUCAQUAT 25% S.A.** /tambor con 200 L de agua.

CARRETERA **TECOMAN**-CERRO DE ORTEGA K.M. 1.5
 C.P. 28100 TECOMAN, COL. TEL (01 313) 324 6977, 324 6978
fertigomez@hotmail.com R.F.C.: FGO-040406-U80

VIII.2 Ficha técnica del LUCAQUAT (Paraquat)... continuación

FICHA TÉCNICA



CONTRAINDICACIONES: Evítese que la aspersión se desvíe a otros cultivos **LUCAQUAT 25% S.A.** destruye todos los tejidos verdes.

INCOMPATIBILIDAD: **LUCAQUAT 25% S.A.:** No es compatible con productos de fuerte reacción alcalina.

FITOTOXICIDAD: **LUCAQUAT 25% S.A.** es un herbicida de contacto no selectivo, por lo que las aplicaciones deben hacerse dirigidas para evitar el contacto con los cultivos.

PRIMEROS AUXILIOS: Retirar a la persona intoxicada de la fuente de contaminación para evitar mayor contacto recostándola en un lugar ventilado y abrigándola bien. Mantenga al paciente abrigado y en reposo. Si ha habido alguna salpicadura en los ojos, lávense por lo menos durante 15 minutos con agua corriente. Si hubo derramamiento sobre la piel, lávese ésta cuidadosamente con agua y jabón y quite a la persona intoxicada la ropa contaminada. Si ha ingerido producto y la persona está consciente, provoque el vómito inmediatamente, introduciendo un dedo en la garganta. Si la persona está inconsciente, asegúrese que pueda respirar sin dificultad, no provoque el vómito y no trate de introducir absolutamente nada en la boca.

RECOMENDACIONES AL MEDICO

GRUPO QUÍMICO: BIPIRIDIOS

SÍNTOMAS Y EFECTOS DE INTOXICACIÓN: Lesiones hepáticas y renales, inflamación de la córnea y conjuntivas, irritación de nariz y garganta, hemorragia nasal, formación de ampollas, malformación en el crecimiento de las uñas, insuficiencia pulmonar y respiratoria y daño al miocardio.

ANTÍDOTO Y TRATAMIENTO: No tiene antídoto específico, el tratamiento deberá ser sintomático. Hacer lavado gástrico con suspensión de un litro de tierra de Fuller al 30% o con solución de bentonita el 7% adicionada con 100 cc de glicerina. Las dos suspensiones son de agua pura.

MEDIDAS DE PROTECCION AL AMBIENTE: Este producto es tóxico para aves y peces. No contamine el agua vertiendo plaguicidas en ellos. En caso de derrames, absorber el producto derramado con inertes en polvo, aserrín, ceniza u otro material absorbente. Dejar el tiempo suficiente para asegurar la absorción.

Dispóngase los envases vacíos de acuerdo al reglamento de la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en materia de residuos peligrosos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE: Transpórtese y almacénese en lugar seguro, ventilado, seco y alejado del calor o fuego directo. No almacenar en casa habitación. Guárdese bajo llave en su envase original. No se transporte junto con productos alimenticios, ropa, semillas, forrajes y fertilizantes. Asegure los envases durante su transportación. En caso de derrames, lavar inmediatamente el área contaminada con sosa cáustica al 5% y después con agua y jabón.

GARANTIA: Química Lucava, S.A. de C.V. garantiza la formulación correcta de este producto, pero como su dosificación, almacenaje, manejo y aplicación están fuera de su control, no nos hacemos responsables de los resultados que se obtengan con el mismo.

CARRETERA **TECOMAN**-CERRO DE ORTEGA K.M. 1.5
C.P. 28100 **TECOMAN**, COL. TEL (01 313) 324 6977, 324 6978
fertigomez@hotmail.com R.F.C.: FGO-040406-U80

VIII.3 Ficha técnica del DESMONTE A (2,4-D)

FICHA TÉCNICA



Herbicida agrícola

RSCO-HEDE-0222-416-014-049

DESMONTE A® es derivado del ácido diclorofenoxiacético con actividad auxínica capaz de actuar sobre los mecanismos que regulan el crecimiento vegetativo de las plantas con 480g de ingrediente activo por litro de producto.

DESMONTE A® Es un herbicida post-emergente selectivo a para el control de las malezas de hoja ancha, es de acción sistémica que se absorbe por el follaje y raíces. Es traslocado en la planta por el floema y xilema, acumulándose en las regiones meristemáticas de los rebrotes y raíces.

DESMONTE A® Actúa como inhibidor del crecimiento. Estimulan la síntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas, afectando la actividad de las enzimas, la respiración y la división celular. Las especies de hoja ancha muestran hojas, tallos y raíces deformados.

DESMONTE A® se recomienda aplicar este producto de manera terrestre y cuando haya buena humedad en el suelo para un efecto más rápido del mismo.

Es compatible con la mayoría de los productos fitosanitarios; sin embargo, es necesario que la mezcla sólo se haga con productos debidamente registrados por COFEPRIS.

Malezas que controla:

MALEZA QUE CONTROLA	NOMBRE CIENTÍFICO
Bledo o quelite Cardos Correhuela Diente de León Moztaza Orozuz Ortiga Rábano Silvestre	<i>Amaranthus sp.</i> <i>Cirsium sp</i> <i>Convolvulus arvensis</i> <i>Taraxacum officinale</i> <i>Brassica sp</i> <i>Glycyrrhiza glabra</i> <i>Urtica sp.</i> <i>Raphanus raphanistrum</i>

VIII.3 Ficha técnica del DESMONTE A (2,4-D)... continuación

FICHA TÉCNICA



Sifatec
¡Para quien solo usa lo mejor!

Sifatec®

Desmonte A

480 SCA



2,4-D amina
Herbicida / Solución Concentrada Acuosa

Recomendaciones a cultivos

CULTIVO	DOSIS (L/ha)	OBSERVACIONES
AVENA, TRIGO, CEBADA Y CENTENO	0.625 – 1.25 1.25 – 2	En siembras de primavera, desde que la planta tiene 15 cm de altura hasta principios del encañado. En granos sembrados en invierno.
MAÍZ Y SORGO	1.6 – 3.5 1 - 2	El tratamiento debe hacerse cuando las malezas han nacido y cuando el cultivo tenga una altura aproximada de 15 a 25 cm. La aplicación debe ser dirigida a la parte superior de las malezas, evitando aplicar directamente el herbicida sobre las plantas de maíz y sorgo.
ARROZ	1 – 1.25	Aplíquese de 4 a 8 semanas después de nacido el cultivo. Cuando el arroz es de inundación, aplique de 7 a 9 semanas después de la siembra cuando han emergido sobre el agua y las hojas se encuentren erectas. Nunca se aplique el producto cuando el arroz se encuentre en la época de plántula.
CAÑA DE AZÚCAR	2.5 – 4 1.2 – 2.4	Para el control de malezas de hoja ancha, el tratamiento deberá hacerse cuando las hierbas son más jóvenes y están creciendo vigorosamente. La mejor época de aplicación es cuando el pelillo tenga de 30 a 50 cm de altura. Si aporca, trate después sin mojar la caña

Presentación: Botella PET 950 ml y garrafa HDPE de 5 L.

Síntesis y Formulaciones de Alta Tecnología, S.A. de C.V.
Olimo No. 32, Col. Valle de los Pinos, 54040, Tlalnepanitla, Estado de México
Tel: (55) 5397-5008, Fax: (55) 5397-8858, E-mail: sifatec@sifatec.com.mx
www.sifatec.com.mx

VIII.4 Participación en Congresos Nacionales e Internacionales

VIII.4.1 XXXVI Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas (SCHCF), Santiago, Chile



VIII.4.2 VIII Congreso de la Rama de la Traducción de Señales



 **UASLP**
Universidad Autónoma
de San Luis Potosí

 **FACULTAD DE
MEDICINA**

 **Departamento de
Bioquímica**

 **Cinvestav**

 **SMB**

**Sociedad Mexicana de
Bioquímica A.C.**
Promover la investigación y la educación
en el área de la Bioquímica en México

Se otorga la presente

Constancia a:

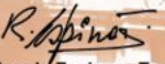
Vanessa Conde Maldonado

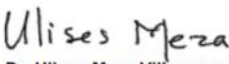
Quien asistió y presentó el trabajo titulado:

Alteration of CatSper1 and TRPV4 gene expression in rat testes by acute exposure to commercial herbicides.

En la modalidad virtual de video/poster, durante el *VIII Congreso de la Rama de Traducción de Señales*
21 al 24 de noviembre de 2021
Universidad Autónoma de San Luis Potosí y Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México

Atentamente
El Comité Organizador


Dr. Ricardo Espinosa Tanguma
UASLP


Dr. Ulises Meza Villanueva
UASLP


Dr. Jesús Alberto Olivares Reyes
CINVESTAV

VIII.4.3 XII Simposio Internacional: Investigación Química en la Frontera



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

**EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA**

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A:

**Vanessa Conde Maldonado, Cinthia Morales
Juárez, Edelmira García Nieto, Libertad
Juárez Santacruz, Enoch Luis, Arely Anaya
Hernández.**

Por su valiosa participación al impartir la Conferencia
"Evaluación de parámetros bioquímicos y hematológicos en ratas macho con
exposición aguda a herbicidas comerciales" dentro del XII Simposio Internacional:
Investigación Química en la Frontera, organizado por el Centro de Graduados e
Investigación en Química, llevado a cabo del 17 de noviembre al 19 de noviembre del
2021.

Tijuana, Baja California, a 18 de noviembre de 2021.

ING. JOSÉ GUILLERMO CÁRDENAS LÓPEZ
DIRECTOR



VIII.4.4 Segundo Congreso Internacional Multidisciplinario de Divulgación Científica



VIII.4.5 XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica (Modalidad Flash talks)



Sociedad Mexicana de
Bioquímica A.C.



SACRAMENTO NO. 413
COL. INSURGENTES BORJA
DEL. BENITO JUÁREZ
CP. 03100
CDMX
TEL. (55) 56225742
WWW.SMB.ORG.MX
FACEBOOK
facebook.com/RedSMB

MESA DIRECTIVA 2021-2023

PRESIDENTA
Dra. Soledad María Teresa Hernández
Sotomayor

VICEPRESIDENTE
Dr. Agustín Guerrero Hernández

SECRETARIA TESORERA
Dra. Bertha María Josefina González Pedraza

SUBSECRETARIA TESORERA
Dra. María de Lourdes Girard Cusely

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Bartolín Anselmo Lozano
Dr. Edmundo Calva Cuadilla
Dr. Guillermo Carvajal Sandoval
Dr. Joaquín Cervante
Dr. Carlos del Río Estrada
Dr. Silvestre Frank Freund
Dr. Mario García Hernández
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kumate Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Massieu Helguera
Dr. Raúl Oñativela Vidanella
Dr. Efraín G. Plante Codina
Dr. Guillermo Soberón Acevedo

Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Vanessa Conde Maldonado

Por la presentación de su trabajo:

**Related-Thyroid hormone genes are altered by acute
exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic in rat testes**

Por: Vanessa Conde Maldonado, Enoch Luis, Mayvi Alvarado,
Libertad Juárez-Santacruz, Edelmira García-Nieto,
Arely Anaya-Hernández

En la modalidad
Flash talks

durante el XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica
16 - 21 de octubre de 2022, Mérida, Yucatán

Atentamente
Por el Comité Organizador

Dra. Teresa Hernández Sotomayor
Presidenta



VIII.4.6 XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica (Modalidad cartel)



Sociedad Mexicana de
Bioquímica A.C.

65
años
1957-2022

SACRAMENTO NO. 413
COL. INSURGENTES BORJA
DEL BENITO JUÁREZ
CP. 03100
CDMX
TEL. (55)56225742
WWW.SMB.ORG.MX
FACEBOOK:
facebook.com/RedSMB

MESA DIRECTIVA 2021-2023

PRESIDENTA

Dra. Soledad María Teresa Hernández
Sotomayor

VICEPRESIDENTE

Dr. Agustín Guerrero Hernández

SECRETARÍA TESORERA

Dra. Bertha María Josefina González Padrojo

SUBSECRETARÍA TESORERA

Dra. María de Lourdes Ghent Cussey

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Barbarín Arreguín Lozano
Dr. Edmundo Caffra Cuadrilla
Dr. Guillermo Carvajal Sandoval
Dr. Joaquín Crevato
Dr. Carlos del Río Estrada
Dr. Silvestre Frank Freund
Dr. Mario García Hernández
Dr. Javier Guzmán García
Dr. Javiera Kurieste Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Masiero Helguera
Dr. Raúl Oñativia Vidaurrá
Dr. Efraín O. Panto Córdova
Dr. Guillermo Sobierán Acevedo

Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Vanessa Conde Maldonado

Quien asistió y presentó el trabajo:

**Related-Thyroid hormone genes are altered by acute
exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic in rat testes**

Por: Vanessa Conde Maldonado, Enoch Luis, Mayvi Alvarado,
Libertad Juárez-Santacruz, Edelmira García-Nieto,
Arely Anaya-Hernández

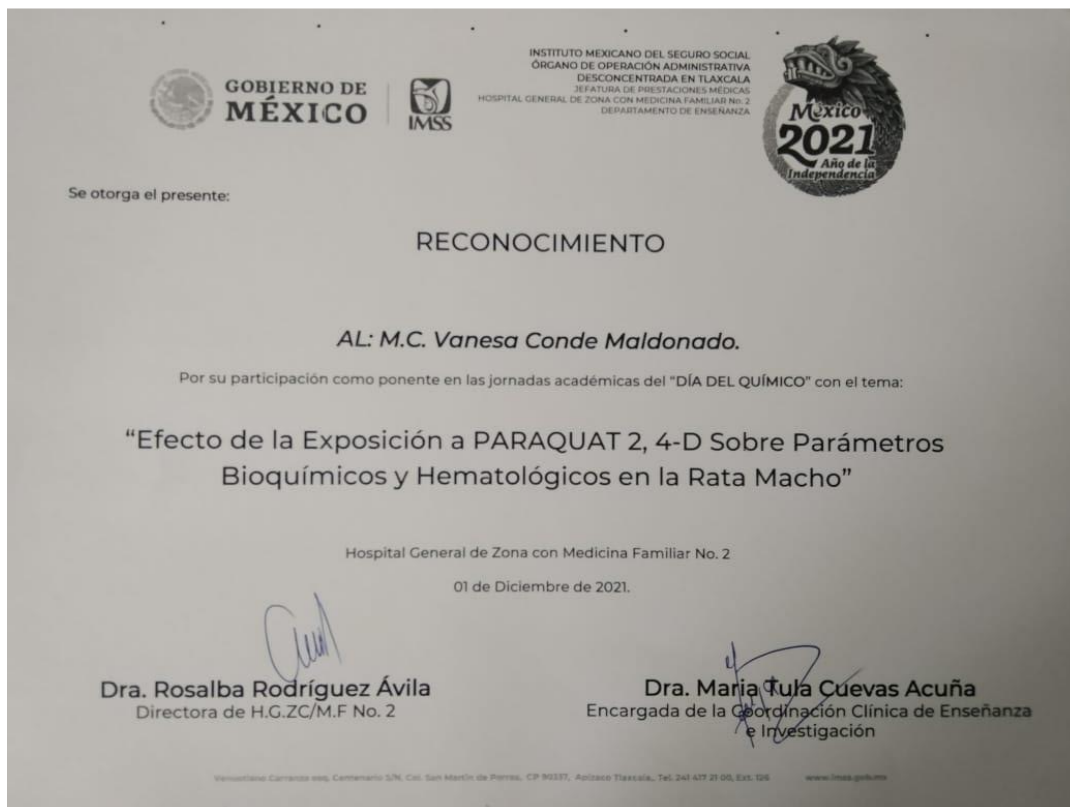
En la modalidad de cartel durante el
XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica
16 - 21 de octubre de 2022, Mérida, Yucatán

Atentamente
Por el Comité Organizador

Dra. Teresa Hernández Sotomayor
Presidenta



VIII.4.7 Jornadas del día del Químico, en el Instituto Mexicano del Seguro Social-IMSS, en el Hospital General de Zona N. 2, Apizaco, Tlaxcala



VIII.4.8 Participación en Artículos de Divulgación Científica Nacional e Internacional

Publicación del artículo de divulgación científica



LA UNIVERSIDAD DE LA SALUD DEL ESTADO DE PUEBLA
Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A la C. Vanessa Conde Maldonado

Por la publicación de su artículo
“Modulación oncogénica por plaguicidas”
En el Volumen VI de Gaceta USEP



Dra. María Beatriz Rivera Aguirre
Secretaria de Vinculación
y Extensión Universitaria



Dr. José Hugo Eloy Meléndez Aguilar
Rector



Dra. Jabneel Alejandra Sánchez Lara
Directora de Comunicación

Puebla, Puebla
febrero 2022

Publicación del artículo de divulgación científica



Artículo de Divulgación Científica

Instituto de Genética Barbara McClintock



Artículo

Sitio web: www.igbmgenetica.com

Espermatozoides en acción: Infertilidad desconocida

Vanessa Conde-Maldonado* y Arely Anaya-Hernández
* condemv21@gmail.com

Centro de Investigación en Genética y Ambiente, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.

La fertilización es un proceso biológico que surge de la unión de un espermatozoide y un óvulo, y tiene como finalidad la creación de un nuevo ser (figura 1). Existen diversas alteraciones que impiden que este proceso se lleve a cabo, desencadenando una patología llamada infertilidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a esta enfermedad como la incapacidad de procrear después de un año de actividad sexual regular sin protección y actualmente se ha convertido en un problema de salud mundial que afecta a millones de personas. Los datos disponibles indican que existen aproximadamente 186 millones de personas en todo el mundo que no pueden tener hijos esto debido a diversos factores provenientes del padre, la madre, o a una combinación de ambos (1, 2, 3).