



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), enero-febrero 2024,
Volumen 8, Número 1.

DOI de la Revista: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1

**ALTERACIÓN DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA
POR LA EXPOSICIÓN IN VITRO A GLIFOSATO
GRADO COMERCIAL (GGC) SOBRE EL
ESPERMATOZOIDE HUMANO**

**ALTERATION OF SPERM QUALITY FOR THE IN VITRO
EXPOSURE TO COMMERCIAL GRADE GLYPHOSATE
(CGG) ON HUMAN SPERM**

Eréndira Yoanna Sánchez González

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Salvador Muñoz Barrios

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Perla Abigail Tolentino González

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Cecilia González Calixto

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Mayrut Osdely Urióstegui Acosta

Universidad Autónoma de Guerrero, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i2.10284

Alteración de la Calidad Espermática por la Exposición *in Vitro* a Glifosato Grado Comercial (GGC) Sobre el Espermatozoide Humano

Eréndira Yoanna Sánchez González¹ey_erendira@outlook.com<https://orcid.org/0009-0000-0254-7745>Universidad Autónoma de Guerrero
Las Petaquillas, Guerrero
México**Salvador Muñoz Barrios**smunozb@yahoo.com.mx<https://orcid.org/0000-0002-4821-5356>Universidad Autónoma de Guerrero
Las Petaquillas, Guerrero
México**Perla Abigail Tolentino González**abitogoo@gmail.com<https://orcid.org/0009-0005-4640-0477>Universidad Autónoma de Guerrero
Las Petaquillas, Guerrero
México**Cecilia González Calixto**cgonzalez@uagro.mx<https://orcid.org/0000-0002-0782-8551>Universidad Autónoma de Guerrero
Acapulco, Guerrero
México**Mayrut Osdely Urióstegui Acosta**mayruturiostegui@gmail.com<https://orcid.org/0000-0001-6213-183X>Universidad Autónoma de Guerrero
Las Petaquillas, Guerrero
México

RESUMEN

Introducción. El glifosato es un OF, su uso indiscriminado ha provocado problemas en la salud. La OMS lo clasificó como probable carcinógeno y demostró que este es genotóxico, genera estrés oxidativo y es un disruptor endocrino. Objetivo. Determinar las alteraciones sobre la calidad espermática y de la cromatina de los espermatozoides humanos por la exposición a GGC. Metodología. Se evaluó la calidad espermática de 3 donadores sanos en condiciones basales, se realizaron alícuotas de 5×10^6 de espermatozoides y se incubaron con GGC (sistema *In vitro*) en concentraciones de 300 μM , 500 μM , 750 μM y 1000 μM , en medio M16 incubado a 37° C/1 h/5% de CO_2 /95% de O_2 , posterior a la incubación se evaluó la viabilidad, motilidad y dispersión de la cromatina (DSC). Resultados. La exposición a GGC alteró la viabilidad y motilidad, siendo las concentraciones de 750 y 1000 μM en donde se encontró un mayor efecto comparado con el grupo control. Con respecto a la DSC se observó alteraciones en las concentraciones más elevadas. Conclusiones. La exposición a GGC generó alteraciones sobre la viabilidad y motilidad, así como alteraciones de la DSC espermática de manera dosis-dependiente, demostrando que el GGC resulta ser reprotóxico.

Palabras clave: glifosato grado técnico, calidad espermática, dispersión de la cromatina

¹ Autor principal

Correspondencia: ey_erendira@outlook.com

Alteration of Sperm Quality for the In Vitro Exposure to Commercial Grade Glyphosate (CGG) on Human Sperm

ABSTRACT

Introduction. Glyphosate is an OF, its indiscriminate use has caused health problems. The WHO classified it as a probable carcinogen and demonstrated that it is genotoxic, generates oxidative stress and is an endocrine disruptor. **Objective.** Determine the alterations in sperm quality and chromatin of human sperm for the exposure to CGG. **Methodology.** The sperm quality of 3 healthy donors was evaluated under basal conditions, aliquots of 5×10^6 sperm were made and incubated with CGG (In vitro system) at concentrations of 300 μM , 500 μM , 750 μM and 1000 μM , in M16 medium incubated at $37^\circ\text{C}/1\text{ h}/5\% \text{CO}_2/95\% \text{O}_2$, after incubation, viability, motility and chromatin dispersion (SCD) were evaluated. **Results.** Exposure to CGG altered viability and motility, with concentrations of 750 and 1000 μM where a greater effect was found compared to the control group. With respect to the SCD, alterations were observed in the highest concentrations. **Conclusions.** Exposure to CGG generated alterations in viability and motility, as well as alterations in sperm SCD in a dose-dependent manner, demonstrating that CGG turns out to be reprotoxic.

Keywords: technical grade glyphosate, sperm quality, chromatin dispersion

Artículo recibido 25 enero 2024

Aceptado para publicación: 21 febrero 2024



INTRODUCCIÓN

Los herbicidas constituyen un grupo muy importante de plaguicidas de uso agrícola que año a año aumentan su volumen de uso. Han sustituido el laboreo mecánico y manual en el campo (Burger, y Fernández, 2004). En México los insecticidas y los herbicidas se emplean en mayor porcentaje, siendo el glifosato uno de los herbicidas más consumidos (se ubica en el 13 lugar a nivel mundial en su uso) y que de acuerdo a la Secretaría de Economía tiene un costo aproximado de 100 pesos por litro (Beyond Pesticides, 2001). El glifosato es el más usado en todo el mundo; es un compuesto formado por un ácido orgánico débil formado por una molécula de glicina y otra de fosfometilo (N- fosfometilglicina), es considerado un herbicida de amplio espectro (Sritana, et al., 2018). Fue introducido al mercado por la empresa Monsanto en 1974 con su formulación más conocida, el Roundup® (Conacyt, 2020). En 2015 la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo clasificó como probable carcinógeno para humanos (Grupo 2A). Entre los usos más comunes al glifosato, está la jardinería, la agricultura, el control de cultivos ilícitos y el de malezas en plantaciones forestales, complejos industriales y vías férreas (Ramírez-Venancio, et al., 2020). El mecanismo de acción de este herbicida en el hombre y en los animales está vinculado al desacople de la fosforilación oxidativa (Modernel, 1999).

En particular, se ha sugerido que los herbicidas basados en glifosato (HBG) pueden interferir con la esteroidogénesis en diferentes vías, como la regulación negativa de la expresión de la proteína reguladora aguda esteroidogénica (STAR), alterando la aromatasas del citocromo P450 (Richard, et al., 2005; Gasnier, 2009; Walsh, et al., 2000), alterando la expresión de genes regulados por estrógenos o interactuando con receptores tanto de andrógenos como de estrógenos (Thongprakaisang, et al., 2013; Richard, et al., 2005). Además, se supone que los HBG inducen un desequilibrio, provocando sobrecarga de Ca^{2+} y agotamiento de los sistemas de defensa antioxidantes (Kwiatkowska, et al., 2014; De Liz, 2013). Dado que a menudo contienen trazas de metales pesados que pueden alcanzar hasta 80 ppb, como arsénico, cromo, cobalto, plomo y níquel, los GBH son también conocidos que son citotóxicos y actúan como disruptores endocrinos (Defarge, et al., 2018), incluso puede llegar a alterar la estructura del ADN (Salazar y Aldana, 2011).

En cuanto a los efectos sobre la fertilidad masculina, Anifandis, et al. (2018) encontró que la adición de 0,36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de glifosato causa una reducción significativa en la motilidad progresiva de los

espermatozoides humanos después de 1 h de incubación. Además, Clair, et al. (2012), reportó que el glifosato a 1.800 µg/mL es citotóxico para las células germinales testiculares y, en menor medida, para células de Leydig. Cabe mencionar que la concentración mencionada es la mitad de la utilizada para diluir el herbicida. Sorprendentemente, los signos de alteración endocrina, como una disminución del 35% en los niveles séricos de testosterona, se detectan a concentraciones de glifosato mucho más bajas (0,36 µg/ml) (Clair, et al., 2012). Utilizando el pez cebra como modelo, Lopes, et al. (2014) reportaron que 24 h después de exponerlos a alimento con glifosato, hubo una reducción en la motilidad de los espermatozoides (5 mg/mL), en la actividad mitocondrial y en la integridad del ADN (10 mg/mL). Según el único experimento *in vitro* realizado hasta el momento, la incubación de espermatozoides humanos a 1 µL/mL de Roundup® (correspondiente a un glifosato concentración de 0,36 µg/mL) durante 1 h provocó una disminución de la motilidad progresiva y una disminución de la actividad mitocondrial (Anifandis, et al., 2018). Por su parte Monsanto la empresa productora de glifosato asegura que este compuesto no representa riesgos toxicológicos para el humano y ambiente (WHO, 1994), sin embargo, en la página del estado de New York en la oficina de la Fiscalía General, en la parte de fraudes al consumidor; se aborda el tema sobre los ingredientes secretos en los plaguicidas y como se utilizan por algunas compañías para declarar que un producto no es tóxico lo cual con base en un solo ingrediente aprovechando la secrecía de ingredientes (formulación). Se hace mención al caso de Monsanto el cual manejaba en su publicidad que glifosato no era tóxico, restando interés en los surfactantes empleados en su formulación manejándolos como ingredientes inertes, por ejemplo, mencionaban que Roundup® no era tóxico para los peces, sin embargo, el surfactante empleado para difundir el ingrediente activo sobre la superficie es “altamente tóxico” para algunos peces, según los datos presentados por Monsanto en la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2000). Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar las alteraciones sobre la calidad espermática y de la cromatina de los espermatozoides humanos por la exposición *In vitro* a GGC.

METODOLOGÍA

Reactivos

Glifosato grado comercial (GGC) fue adquirido en una casa comercial, albúmina de suero bovino (BSA), Agar Punto de Fusión Normal (APFN), Agarosa de Bajo punto de Fusión (ABPF), medio M16,



ditiotreitól (DDT), Trizma, SDS, EDTA, NaCl fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St Louis, MO). EspermaVit, EspermaCon y kit de tinci3n Halotech fueron adquiridos de Mega Fertil (Ciudad M3xico, M3xico) y el etanol fue adquirido en J.T. Baker (Ciudad M3xico, M3xico).

Muestras esperm3ticas

Las muestras de semen fueron obtenidas de tres voluntarios sanos (edad entre 18-28 a3os), que presentaron par3metros normales de calidad de semen de acuerdo con los criterios establecidos por la OMS en el 2012 (v3ase Tabla 1). Para el da3o sobre la integridad de la cromatina esperm3tica, se consider3 lo establecido por Fern3ndez, et al, (2003). Las muestras de semen fueron colectadas en contenedores de pl3stico de boca ancha est3riles y la calidad esperm3tica se evalu3 antes de cumplir 1 h de haber sido colectada la muestra.

Tabla 1. Par3metros establecidos en el Manual de la OMS en su 6ta edici3n.

Par3metros	Valores
Volumen	1,5 mL (1,4- 1,7)
pH	≥ 7.2
Movilidad total (progresivos + no progresivos %)	40 % (38-42)
Movilidad progresiva	32 (31-34)
Viabilidad (vivos, %)	58% (55- 63)
Concentraci3n	39×10^6 (33- 46)
Morfolog3a	4% o m3s

Exposici3n a Glifosato grado comercial

Se realiz3 un pool de las muestras de los 3 donadores y se realizaron al3cuotas de 5×10^6 espermatozoides (con al menos un 70% de motilidad progresiva), se trataron con GGC a concentraciones de 300, 500, 750 y 1000 μ M en DMSO (0.15%) en medio de capacitaci3n M16, suplementado con BSA (3.5 mg/mL). Los tratamientos se realizaron por duplicado para cada concentraci3n de GGC. Cada tratamiento se llev3 a un volumen final de 1 ml, posteriormente se incub3 por 1 h a 37°C en una atm3sfera del 5% de CO₂ y 95% de O₂. Despu3s de la exposici3n a los diferentes tratamientos de GGC, las muestras se centrifugaron a 3500 rpm/6 min, se elimin3 el sobrenadante y se resuspendieron en medio M16.

Técnica de Dispersión de la cromatina (DSC)

Se pre-trataron portaobjetos nuevos con una primera capa de agarosa 0,65% APFN, colocando 150 μ l de la agarosa y se realizó un extendido usando la parte media del dedo índice. Inmediatamente colocaron sobre una parrilla a 70°C y se dejó secar por 5 min, pasado ese tiempo se retiró y se dejó enfriar y guardar en cajas porta laminillas (se hicieron las diluciones de $2-3 \times 10^6$ de muestra y medio MI6). Se derretió la agarosa (ABPF 1 %) se dejó atemperar a 37°C, se tomó una alícuota de 30 μ l y se colocaron en un tubo eppendorf de 0,2 a 0,6 μ L. Se agregó al tubo eppendorf con ABPF 1% + 25 μ l de la muestra espermática (la cual debe estar a una concentración de 2×10^6 a 3×10^6 de espermatozoides diluido con medio M16 + BSA 5%) se mezcló evitando formar burbujas. Se colocó sobre la laminilla pre-tratada dos alícuotas de 25 μ L c/u y cubrió con un cubreobjetos para dejar secar a temperatura ambiente (22°C)/15 min. Posteriormente se colocaron la(s) laminillas en refrigeración sobre una placa de gel congelado o hielo (4°C), durante 10 min, pasado el tiempo se sacaron y dejaron secar durante 15 min/temp ambiente. Posterior se removieron los cubreobjetos del portaobjetos y se dejó secar nuevamente durante 15 min/temperatura ambiente. Inmediatamente se colocaron las laminillas en los recipientes especiales para DSC. Se colocó la solución desnaturalizante [volumen de 7 mL de HCl 0,08N] se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad total. Se pasaron las laminillas a otra de los recipientes para DSC y se colocaron 7 mL de la solución neutralizante y sol. de lisis 1 (0,4 mol/L de TRIS; 0.8 mol/L DDT; 1 % SDS y 50 mmol/L EDTA, pH 7.5) a temp.amb./10 minutos. Pasado ese tiempo se removió la solución y se colocó en la solución neutralizante y la solución de lisis 2 (0,4 mol/L TRIS; 2 mol/L NaCl y 1 % SDS, pH 7.5) a temp. amb./5 minutos. Seguido se colocaron las laminillas en un buffer de EDTA (0,002 mol/L, pH 7.5) /2 minutos, se deshidrataron en Etanol 70%/2 min/temp. ambiente. Se colocaron en otro recipiente para DSC y se deshidrataron en Etanol 90%/2 min/temp. ambiente. Finalmente se deshidrataron en Etanol 100%/2 min/temp. ambiente. Se dejaron secar completamente las laminillas y se tiñeron con la solución de tinción de Halotech DNA (kit HT-BFS).

RESULTADOS

Parámetros espermáticos previos a la exposición con Glifosato.

Para este estudio se evaluó la calidad espermática de tres donadores (tabla 2), dichos valores lograron cumplir con los estándares de calidad espermática establecidos por la OMS.

Tabla 2. Parámetros de calidad espermática previos a exposición.

Muestra	Viabilidad %	Motilidad %	Cuenta ($\times 10^6$ espermatozoides)	pH	Volumen (mL)	Licuefacción (min.)
1	65	80	83,6 $\times 10^6$	8	2,5	10
2	78,5	74,5	91 $\times 10^6$	8	3,3	15
3	75	80	93 $\times 10^6$	8	3,0	14

Se reportan 2 experimentos independientes previo a la incubación con glifosato

Efectos de la exposición a Glifosato grado comercial sobre la viabilidad y motilidad espermática

La exposición a GGC afectó la calidad espermática a las dosis más altas observándose un decremento de 0,88, 0,81 y 0,69 veces a las dosis de 500, 750 y 1000 μM ($p < 0,001$), mientras que con la dosis de 300 μM no se observó efecto, por otro lado, se observó una significancia ($p < 0,0001$) cuando se compararon las dosis de 300 μM con las dosis de 750 y 1000 μM . Por su parte la viabilidad se vio alterada en 0,79 y 0,8 veces a las dosis de 750 y 1000 μM ($p < 0,05$), esto comparado con el grupo control (no se vio efecto a las dosis de 300 y 500 μM), de igual forma se comparó la significancia de las dosis con la dosis más baja usada y se observó que 750 y 1000 μM eran significativas ($p < 0,02$) comparada con la dosis de 300 μM (Tabla 2).

Alteraciones sobre el DSC por la exposición a Glifosato grado comercial

Con respecto a la dispersión de la cromatina se observó un incremento de un 13,63 %, 31,13 %, 53,13 % y 58,75% a las dosis de 300, 500, 750 y 1000 μM comparado con el grupo control esto nos habla de un efecto dosis-dependiente con una significancia $p < 0,001$ (Figura 1 y 2), por otro lado, se comparó si había diferencia con respecto a la dosis más baja usada y se observó una diferencia significativa con una $p < 0,05$.

Tabla 3. Alteración en los parámetros de motilidad y viabilidad por la exposición a GGC.

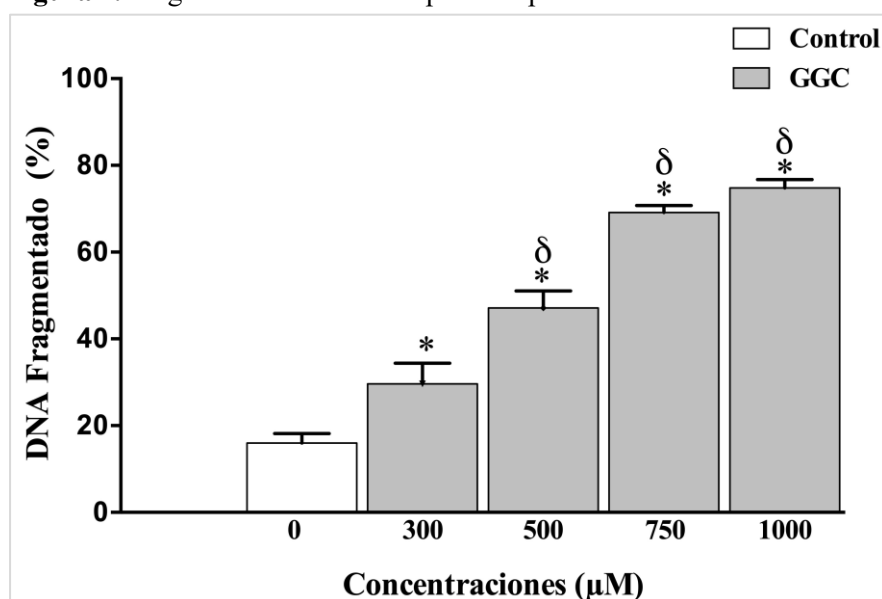
Concentración (µM)	Motilidad	Viabilidad
	Media ± DE	Media ± DE
Control	43,125 ± 0,85	67,5 ± 6,12
300	40,47 ± 1,04	65 ± 5,52
500	37,75 ± 2,10*	64,63 ± 2,93
750	34,75 ± 1,93*□	53,63 ± 2,56*□
1000	29,75 ± 1,04*□	53,13 ± 4,13*□

Se presenta la media y la desviación estándar

*Diferencia con respecto al grupo control, ANOVA y la prueba pos-hoc de Bonferroni (p < 0,001)

□Diferencia con respecto a la concentración de 300 µM, ANOVA y la prueba pos-hoc Bonferroni (p < 0,05)

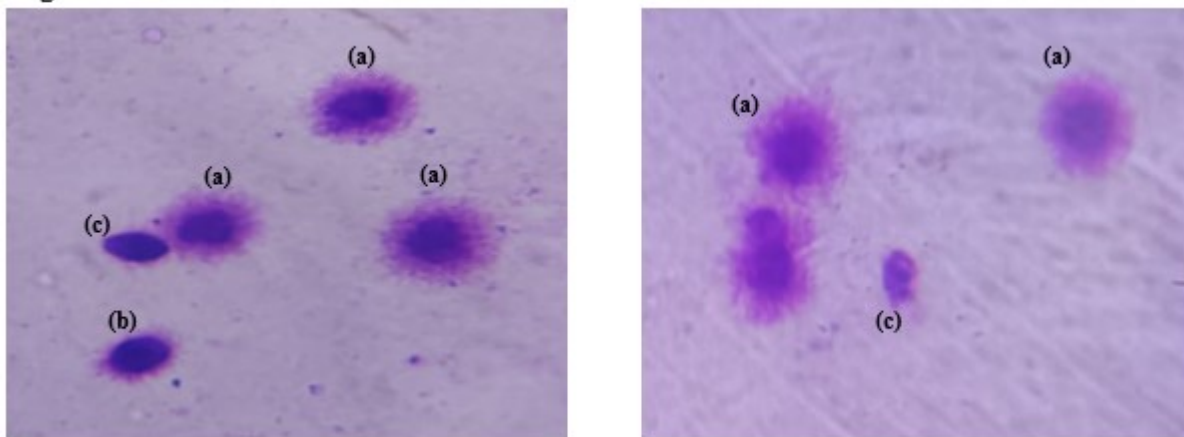
Figura 1. Fragmentación del ADN por la exposición a GGC.



Los espermatozoides fueron incubados a las diferentes dosis (300 µM, 500 µM, 750 µM y 1000 µM) por 1 h/37°C/5% CO₂/95% O₂, después de ese tiempo se evaluó la DSC. Los datos representan la media y DE. Los grupos control y tratado se conformaron de un pool de tres muestras y sus respectivos duplicados, respectivamente, por dosis. *Diferencia significativa comparada al grupo control (p < 0,001) de acuerdo a la prueba de ANOVA y la prueba Pos-Hoc Bonferroni.

□Diferencia con respecto a la concentración de 300 µM, ANOVA y la prueba pos-hoc Bonferroni (p < 0,05).

Figura 3



Los espermatozoides que tienen su ADN integro presentarán grandes halos de dispersión (a), (b), mientras que aquellos con el ADN fragmentado tendrán halos de dispersión pequeños (c) o ausentes alrededor de la cabeza.

DISCUSIÓN

En la actualidad el número de casos de infertilidad en la población ha ido en aumento, la exposición a diversos factores entre ellos los plaguicidas han sido ampliamente relacionado con problemas adversos sobre la reproducción masculina, los efectos negativos de estos compuestos recaen sobre los parámetros de calidad, así como el daño en el ADN de las células espermáticas y alteraciones en los niveles de hormonas reproductivas (Paparella, et al., 2017). Se ha establecido que alrededor del 40 % de las causas de infertilidad se atribuyen al factor masculino, a pesar de ello, el análisis convencional del semen es la única prueba de rutina para diagnosticar problemas en el varón. Se sabe que la integridad genética del gameto masculino es decisiva para un embarazo sano y exitoso por ello se debe tomar en cuenta que la alta fragmentación del ADN espermático es un marcador de calidad y posible predictor de fertilidad (Saucedo-De la Llata, et al., 2017). Cortez et al., (2007) y Horta, et al., (2011), con la técnica de DSC nos habla sobre el papel que juegan los puentes disulfuro en la compactación de la cromatina de los espermatozoides y las diferencias que existen con respecto a la línea somática. El ADN del espermatozoide se encuentra unas seis veces más compactado que el del cromosoma mitótico. Este ADN se encuentra organizado en bucles de menor tamaño que los de las células somáticas, anclados a la matriz nuclear. Dichos bucles se compactan por la acción de las protaminas intercaladas, las cuales estabilizan rígidamente la estructura a través de la formación de puentes disulfuro entre ellas, al

romperse los enlaces disulfuro (agente externo), los bucles de DNA se relajan constituyendo halos alrededor de la estructura nuclear central residual. Como resultado la presencia de un halo de cromatina dispersa (grande, mediano o pequeño) alrededor de la cabeza permite identificar los espermatozoides con ADN normal. Los espermatozoides con ADN fragmentado no presentan halo de dispersión de la cromatina.

Las escasas investigaciones sobre el herbicida a base de glifosato Roundup®, de uso mundial, son controvertidas en la reproducción humana, especialmente en los espermatozoides. En este estudio se observaron alteraciones en la motilidad y viabilidad espermática en la concentración media y altas de GGC, esto concuerda con lo reportado por Anifandis et al., (2017, 2018), quien evidencia que la motilidad de los espermatozoides de las muestras seminales es significativamente afectada cuando están en contacto con glifosato a una concentración de 10 mg/mL, en este trabajo utilizaron el parámetro de motilidad porque es un estudio *In vitro* pero también porque la motilidad progresiva es el aspecto principal con respecto a la fertilización, Anifandis et al., (2017, 2018) considero también la actividad mitocondrial como factor predictivo de la motilidad de los espermatozoides por otro lado en este trabajo, se evaluó la condensación de la cromatina espermática por medio de la técnica de dispersión de la cromatina (DSC) y se observó un efecto dosis-dependiente lo cual nos habla de que al encontrarse ADN con rupturas probablemente se ve comprometido la capacidad fertilizante del espermatozoide. Estos resultados concuerdan con resultados previos de nuestro grupo de trabajo con otro plaguicida OF el glufosinato de amonio grado técnico (GLAt) y glufosinato de amonio grado comercial (GLAc) donde reportaron alteraciones en la viabilidad y motilidad del espermatozoide humano en un sistema *In vitro* (300, 500, 750 y 1000 μ M), así como rupturas al ADN (DFI%) y mala condensación de la cromatina espermática (Mean DFI) (Ramírez-Venancio et al., 2020). Otro estudio *In vitro* (espermatozoides humanos), han demostrado que la exposición a dosis bajas de metil paratión, clorpirifos, diazinón, y sus metabolitos metil paraoxón, clorpirifos oxón, diazoxón, altera la viabilidad espermática y genera rupturas en el ADN espermático (Salazar-Arredondo, et al., 2008). En pejerrey (*Odontesthes humensis*), los peces fueron expuestos a 0 y 7,8 mg L⁻¹ (a.e.) de glifosato, respectivamente los resultados obtenidos fueron que el glifosato provocaba una disminución significativa en la concentración, la motilidad total y progresiva, la distancia promedio de la trayectoria, la distancia en línea recta, la velocidad promedio



de la trayectoria, la velocidad en la línea curva, la linealidad de la velocidad en línea recta, la oscilación, la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza y la frecuencia del latido cruzado de los espermatozoides de los peces expuestos. Además, se observó un aumento en la fluidez de la membrana, la producción de ROS y la peroxidación lipídica y una disminución en la funcionalidad mitocondrial en los espermatozoides de los pejerreyes expuestos a Roundup® (Silveira et al., 2019). Por otro lado, Torres-Badia, et al., (2022), investigó el efecto *In vitro* en espermatozoides humanos de Roundup® Ultra Plus (RUP), su ingrediente activo glifosato y su tensioactivo no activo a la concentración de RUP 0.01% y observaron que RUP aumento significativamente la desorganización de los lípidos de la membrana plasmática de los espermatozoides de una manera concentración-dependiente, mientras que disminuyó la integridad de la membrana plasmática. RUP también aumento significativamente la población de espermatozoides muertos después de la reacción acrosomal inducida por A23187; sin embargo, el glifosato no afectó ningún parámetro espermático, incluso usando una concentración 10 veces mayor que el equivalente de RUP al 0,01%, lo cual nos indica que el glifosato por sí solo no genera efectos adversos a los espermatozoides, pero sí el surfactante en que está inmerso el glifosato.

Otros estudios donde evaluaron los efectos de los plaguicidas sobre el tracto reproductor masculino han mostrado que la exposición *In vivo* a plaguicidas OF alteran los parámetros de calidad espermática, tal es el trabajo de Piña-Guzmán, et al., (2005) en donde ratones machos en edad reproductiva expuestos a dosis únicas de metil paratión (3-12 mg/kg/d/I.P) alteró la viabilidad, motilidad espermática y aumento la mala condensación de la cromatina (mean DFI-15%), las rupturas en el ADN (%DFI-4,5 veces) y cromomicina (2 veces); por otro lado, la exposición a dosis agudas de metamidofos (3.75, 5 y 7 mg/kg/d/4d/I.P), alteró la viabilidad, motilidad y morfología espermática, así como generó rupturas en el ADN (Ensayo cometa) de manera dosis-dependiente (Urióstegui-Acosta, et al., 2014).

En poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas grado comercial se han reportado alteraciones en los parámetros de calidad como: viabilidad, motilidad, morfología y se ha reportado rupturas sobre el ADN (ensayo cometa) y alteraciones sobre la compactación de la cromatina (Sánchez-Peña et al., 2004; Pérez-Herrera et al., 2008).

El mecanismo por el cual se genera este daño puede deberse a alguno de los ya conocidos por los OF vía estrés oxidante involucra la oxidación de proteínas de la membrana plasmática, la cual se ha



correlacionado con la exposición a OF con la formación de aductos oxidados de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) en espermatozoides de ratón, el cual es un marcador de estrés oxidante del ADN (Piña-Guzmán, et al., 2006; Monroy-Pérez, et al., 2012). Además, en células somáticas se ha encontrado un aumento en la fragmentación del ADN y presencia de 8-OHdG en células mononucleadas procedentes de individuos que residen en poblaciones agrícolas donde se utilizan mezclas de plaguicidas, entre ellos el GLA (Koureas, et al., 2014; Locia-Morales, et al., 2014). En otras especies como peces (*Danio rerio*) se observaron alteraciones sobre la integridad del ADN (Lopes et al. 2014). Por su parte, Liu, et al., (2022) reportó la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) inducidas por glifosato contribuyendo a la regulación negativa de las proteínas relacionadas con la barrera hemato-testicular en las células primarias de Sertoli. Por otro lado, el mecanismo de alquilación de ácidos nucleicos ha sido ampliamente estudiado en células somáticas donde se ha reportado la formación de aductos de N7 y O6 metilguanina, principalmente por la exposición a quinalfos y metamidofos (Eto, 1974; Zayed y Mahdi, 1987), sin embargo, con glifosato no se ha explorado.

CONCLUSIONES

Este estudio nos permite tener en cuenta que algunos plaguicidas grado comercial resultan ser reprotóxicos, esto es un indicio que los surfactantes en los que los plaguicidas se disuelven son tóxicos y que esto impacta en la calidad de los espermatozoides y por ende en la capacidad fertilizante de los varones que se dediquen a la actividad agrícola, a la comercialización de agroquímicos o a la producción de estos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anifandis G., Amiridis G., Dafopoulos K., Daponte A., Dovolou E., Gavriil E., Gorgogietas V., Kachpani E., Mamuris Z., Messini C.I., Vassiou K., Psarra A.G. 2017. The in vitro impact of the herbicide roundup on human sperm motility and sperm mitochondria. *Toxics*; 6 (01): 2
- Anifandis G., Katsanaki K., Lagodonti G., Messini C., Simopoulou M., Dafopoulos K., Daponte A. 2018. The effect of glyphosate on human sperm motility and sperm DNA fragmentation. *Int. J. Environ. Res. Public Health*; 15, 1117.
- Beyond Pesticides/National Coalition Against the Misuse of Pesticides. 2001
- www.beyondpesticides.org (Página visitada el 29-05-2011 ; Willer y Leornoud, 2019).



- Burger M., Fernández S. 2004. Exposición al herbicida glifosato: aspectos clínicos toxicológicos. *Rev Med Uruguay*; 20: 202-207.
- Clair E., Mesnage R., Travert C. y Séralini G. E. 2012. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. *Toxicol. In Vitro*; 26, 269–279.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 2020. Expediente científico sobre el glifosato y los cultivos GM.
- Cortés E.I., Dávila M.I., López C., Fernández J.L., Gosálvez J. 2007. Evaluación del daño en el DNA espermático. *Actas urológicas españolas*; 31(2):120-131
- De Liz Oliveira Cavalli V.L., Cattani D., Heinz Rieg C.E., Pierozan P., Zanatta L., Benedetti Parisotto E., Wilhelm Filho D., Mena Barreto Silva F.R., Pessoa-Pureur R., Zamoner A. 2013. Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radic Biol Med*; 65:335-346.
- Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J. y Séralini, G. E. 2018. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicol. Rep*; 5: 156–163.
- EPA. 2000. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.
http://www.ag.ny.gov/media_center/2000/aug/pesticide_report.pdf (Página visitada el 29-05-2011).
- Eto M. 1974. *Organosphosphorous pesticides: Orgaic and biological chemistry*. CRC press, Cleveland Ohio, 387 pp.
- Fernández J.L., Muriel L., Rivero M.T., Goyanes V., Vazquez R., Alvarez J.G. 2003. The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. *J Androl*; 24: 59–66.
- Gasnier, C. *et al.* 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*; 262: 184–191.
- Horta F., Madariaga M., García A., Hartel S., Smith R. 2011. Aumento del daño en el ADN espermático en varones mayores de 40 años; *Rev Med Chile*; 139: 306-312

- Koureas M., Tsezou A., Tsakalof A., Orfanidou T. y Hadjichristodoulou C. 2014. Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. *Sci. Total Environ*; 496, 358-364.
- Kwiatkowska M., Huras B. y Bukowska B. 2014. The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (*in vitro*). *Pestic. Biochem. Physiol*; 109: 34–43.
- Liu J.B., Li Z.F., Lu L., Wang Z.Y., Wang L. 2022. Glyphosate damages blood-testis barrier via NOX1-triggered oxidative stress in rats: Long-term exposure as a potential risk for male reproductive health. *Environ Int*; 15;159:107038.
- Locía-Morales D. 2014. Polimorfismo en el gen PON1 y daño del AND en población expuesta ocupacionalmente a plaguicidas organofosforados. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químico Biológicas- UAGro. Chilpancingo Guerrero, México, 30 pp.
- Lopes F.M., Junior A.S.V., Corcini C.D., da Silva A.C., Guazzelli V.G., Tavares G. y da Rosa C.E. 2014. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio*. *Aquat. Toxicol*; 155, 322-326.
- Lopes F. M. 2014. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio*. *Aquat. Toxicol*; 155, 322–326.
- Modernel R. 1999. Guía uruguaya para la protección y fertilización vegetal. 7ª ed. Montevideo: Alfatrade; 109-11.
- Monroy-Pérez V., Alcántara-Hernández J.A., Solís-Heredia M.J., Espinosa-Juárez L. y Quintanilla-Vega B. 2012. Oxidative and genetic damage in germinal and mononuclear mouse cells by methyl-parathion exposure in mice. *Toxicologist*; 510.
- Organización Mundial de la Salud. 2012. Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, World Health Organization. sixth ed. University Press, Cambridge, New York.
- Paparella C.V., Pavesi A.B., Feldman R.N., y Bouvet B.R. 2011. El efecto de los agroquímicos en la espermatogénesis. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*; 10, 190–200.
- Pérez-Herrera N., Polanco-Minaya H., Salazar-Arredondo E., Solís-Heredia M., Hernández-Ochoa I., Rojas- García E. y Quintanilla-Vega B. (2008). PON1Q192R genetic polymorphism modifies



- organophosphorous pesticide effects on semen quality and DNA integrity in agricultural workers from southern Mexico. *Toxicol. Appl. Pharmacol*; 230, 261-268.
- Piña-Guzmán B., Solís-Heredia M., Rojas-García A., Urióstegui-Acosta M. y Quintanilla-Vega B. 2006. Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is related to oxidative stress. *Toxicol. Appl. Pharmacol*; 216, 216-224.
- Piña-Guzmán B., Solís-Heredia M. y Quintanilla-Vega B. 2005. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 202, 189-198.
- Ramírez-Venancio M.K. Zayas-Balderas M.A., Solís-Heredia Ma. de J., Calixto-Gálvez M., González-Calixto C., Quintana-Ponce S., Muñoz-Barrios S., Urióstegui-Acosta M.O. 2020. Alteraciones sobre la calidad espermática y daño genético de los espermatozoides humanos por exposición *In vitro* a glufosinato de amonio grado técnico y comercial. *Revista Tlamani*; 11(2), 1–7.
- Richard S., Moslemi S., Sipahutar H., Benachour N. y Seralini G.E. 2005. Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect*; 113: 716–720.
- Salazar-Arredondo E., De Jesús-Solís H.M., Rojas-García E., Hernández-Ochoa I., y Quintanilla-Vega B. 2008. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology*; 25, 455-460.
- Salazar J., y Aldana M. 2011. Herbicida glifosato: usos, toxicidad y regulación. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*; 8(2), 23–28.
- Sánchez-Peña L., Reyes B., López-Carrillo L., Recio R., Moran-Martínez J., Cebrián M. y Quintanilla-Vega B. 2004. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 196, 108-113.
- Saucedo-de la Llata E., López-Reyes Moraga Sánchez M., Romeu-Sarrió y Carmona-Ruiz I. 2017. Fragmentación del ADN espermático: situación actual. *Ginecol Obstet Mex*; 85 (3).
- Silveira T., Varela Junior A.S., Corcini C.D., Domingues W.B., Remião M., Santos L., Barreto B., Lessa I., Martins D., Boyle R.T., Costa P.G., Bianchini A., Robaldo R.B., Campos V.F. 2019.



- Roundup® Herbicide Decreases Quality Parameters of Spermatozoa of Silversides *Odontesthes Humensis*. *Bull Environ Contam Toxicol*;102(1):1-6.
- Sritana N., Suriyo T., Kanitwithayanun J., Songvasin B.H., Thiantanawat A., y Satayavivad J. 2018. Glyphosate induces growth of estrogen receptor alpha positive cholangiocarcinoma cells via non-genomic estrogen receptor/ERK1/2 signaling pathway. *Food and Chemical Toxicology*; 118, 595–607.
- Thongprakaisang S., Thiantanawat A., Rangkadilok N., Suriyo T. y Satayavivad J. 2013. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem. Toxicol*; 59: 129-136.
- Torres-Badia M., Solar-Malaga S., Serrano R., Garcia-Marin L.J., Bragado M.J. 2022. The adverse impact of herbicide Roundup Ultra Plus in human spermatozoa plasma membrane is caused by its surfactant. *Sci Rep*;12(1):13082.
- Urióstegui-Acosta M., Hernández-Ochoa I., de Jesús Solís-Heredia M., Martínez-Aguilar G., y Quintanilla-Vega B. 2014. Comparative effect of technical and commercial formulations of methamidophos on sperm quality and DNA integrity in mice. *Environmental toxicology*; 29(8), 942-949.
- Walsh L.P., McCormick C., Martin C. y Stocco D.M. 2000. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ. Health Perspect*; 108: 769–776.
- WHO, 1994. Glyphosate. *Environmental Health Criteria No. 159*. Geneva: World Health Organization.USA.
- Zayed S.M. y Mahdi F.M. 1987. Methylation of guanine in vivo by the organophosphorus insecticide methamidophos. *Z. Naturforsch. C*; 42, 17-2.

