

## Artículo Original

# EFECTO DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL AL PARAQUAT (GRAMOXONE® N.F.) EN RATAS BIOU: WISTAR. ESTUDIO PRELIMINAR

## EFFECT OF PRENATAL EXPOSURE TO PARAQUAT (Gramoxone® N.F.) IN BIOU RATS: WISTAR. PRELIMINARY STUDY

ÁLVAREZ, ORIANA<sup>1</sup>; ARISMENDI, JOHANA<sup>1</sup>; LEÓN, WANDA<sup>2</sup>; QUIÑONEZ, BELKISI,<sup>3</sup>; RINCÓN-GARCÍA, ÁNGEL<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>3</sup>Bioterio, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>4</sup>Arizona College of Allied Health. Glendale, AZ. EE.UU.

Correo-e de correspondencia: [wcleond72@gmail.com](mailto:wcleond72@gmail.com)

Recibido: 20/06/2021

Aceptado: 01/08/2021

Publicado: 10/10/2021

### RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la exposición prenatal al paraquat (PQ) sobre la formación craneofacial y corporal en ratas BIOU: Wistar. Metodología: estudio experimental, con cincuenta ratas gestantes, distribuidas en cinco grupos: PQ1 y PQ2, recibieron respectivamente 2 y 3 mg/kg de PQ vía subcutánea (SC); vitamina A (control positivo): tratado con 100.000 U.I. de vitamina A vía intragástrica (IG) y grupos controles (agua destilada, vía SC y vía IG). Los tratamientos fueron administrados desde el 6° al 15° día de gestación. Se comparó el peso materno los días 6, 14 y 21. Este último día se practicó laparotomía y determinó el número de implantaciones, reabsorciones, fetos vivos, muertos, peso y talla fetal, y la presencia de alteraciones craneofaciales y corporales. Resultados: no hubo diferencia significativa en la ganancia de peso materno entre los grupos. En los grupos PQ 2mg/Kg y vitamina A se registró, respectivamente, el mayor número de fetos muertos y reabsorciones. El peso y talla de los fetos del grupo vitamina A fue inferior ( $p < 0,05$ ) al resto. El grupo PQ 2mg/kg presentó mayor cantidad de malformaciones corporales. En el grupo vitamina A se observó macroglosia, hendidura labial y edema generalizado. Conclusión: se demostró la presencia de malformaciones corporales en fetos expuestos durante el período prenatal al PQ, evidenciando un efecto teratógeno, no dependiente de la dosis, en la línea de ratas BIOU: Wistar. Se recomienda aumentar el número de ratas gestadas, para evaluar estos resultados en futuras investigaciones.

**Palabras clave:** teratogénesis, paraquat, vitamina A, ratas BIOU: Wistar, malformaciones craneofaciales y corporales.

Cómo citar este artículo:

Álvarez, O.; Arismendi, J.; León, W.; Quiñonez, B. y Rincón-García, Á. (2021). Efecto de la exposición prenatal al paraquat (Gramoxone® N.F.) en Ratias Biou: Wistar. Estudio preliminar. *GICOS*, 6(4), 132-150



## ABSTRACT

The aim of the research was to determine the effect of prenatal exposure to the paraquat (PQ) on craniofacial and body conformation in BIOU rats: Wistar. Methodology: fifty pregnant rats were distributed in five groups: PQ1 and PQ2, respectively received 2 and 3 mg / kg of PQ via subcutaneous (s.c); vitamin A (positive control): treated with 100,000 IU of vitamin A intragastric route (i.g) and control groups (distilled water, s.c route and i.g route). The treatments were administered from 6th to the 15th day of gestation. On days 6, 14 and 21 the maternal weight was compared. On the last day, a laparotomy was performed and the number of implantations, reabsorptions, live and dead fetuses, fetal weight and height, and the presence of craniofacial and body alterations were determined. Results: there was no significant difference in maternal weight gain between the groups. In the PQ 2mg / Kg and vitamin A groups, the highest number of dead fetuses and reabsorptions were respectively registered. The fetuses weight and height in the vitamin A group was lower ( $p < 0.05$ ) than the rest. The PQ 2 mg / kg group presented a greater number of body malformations. In vitamin A group macroglossia, cleft lip and generalized edema were observed. Conclusion: The presence of body malformations was demonstrated in fetuses exposed during the prenatal period to PQ, showing a teratogenic effect, not dependent on the dose, in the BIOU: Wistar line of rats. It is recommended to increase the number of pregnant rats, to evaluate these results in future research.

**Keywords:** teratogenicity, paraquat, vitamin A, BIOU: WISTAR rats, craniofacial and body malformations.

## INTRODUCCIÓN

En el proceso de reproducción biológica intervienen diversos mecanismos, cuya alteración puede estar determinada por la exposición preconcepcional o prenatal a sustancias químicas como solventes, metales pesados y los plaguicidas, utilizados para eliminar insectos y hongos que afectan a las plantaciones agrícolas (Asghar et al., 2016). La amplia gama de efectos incluye alteraciones hormonales y de los procesos de gametogénesis e implantación uterina del óvulo fecundado, así como interferencias con el proceso de crecimiento y desarrollo del embrión o del feto (García, 1998). La capacidad teratógena de los plaguicidas constituye un área de especial interés por sus graves consecuencias para la vida y la salud de la descendencia humana. Sin embargo, aun cuando se han descrito efectos negativos de muchos de estos compuestos sobre la reproducción, en varios estudios no se ha demostrado la relación causa-efecto (Chiang et al., 2017).

El paraquat (PQ) o Dicloruro de 1,1-Dimetil-4,4bipiridilo es un plaguicida ampliamente utilizado en las zonas agrícolas, interfiere con la fotosíntesis y daña las proteínas de la membrana vegetal mediante la producción de radicales libres de oxígeno. En los seres humanos, la ingestión accidental de PQ puede provocar alteraciones agudas en el pulmón, riñón, hígado y corazón (Ait-Bali et al., 2016). En el pulmón, el paraquat produce efectos tóxicos severos, inicialmente afecta el epitelio alveolar causando alveolitis aguda y en ocasiones edema pulmonar; posteriormente ocurre fibrosis pulmonar debido a que el espacio alveolar es ocupado por fibroblastos (Handrawan et al., 2020).

En áreas agrícolas, tanto hombres como mujeres y niños pueden estar expuestos al PQ por diferentes circunstancias y vías. Además de la ingestión accidental, el PQ ingresa al organismo por vía inhalatoria y a través de la piel, aunque en baja proporción. En agricultores la exposición dérmica es la más importante, puesto que el PQ aumenta la permeabilidad de la piel y facilita su propia absorción (Sun et al., 2021). Debido

a su pequeño tamaño, bajo peso molecular y escasa afinidad por las proteínas plasmáticas, el PQ se distribuye ampliamente en el organismo atravesando la barrera hematoencefálica (Ait-Bali et al., 2016; Li et al., 2016) y la placenta (Chen et al., 2020).

Las evaluaciones regulatorias generalmente concluyen que el PQ no causa efectos adversos reproductivos ni teratogénicos (Watts, 2011); sin embargo, los resultados de algunos estudios preclínicos sugieren que este herbicida produce alteraciones en el desarrollo prenatal de anfibios y mamíferos. Al respecto, Osano et al. (2002) reportaron que el PQ a concentraciones de 0,1-5 mg/L aumenta la mortalidad, reduce el crecimiento y produce malformaciones, principalmente flexiones de la notocorda, en embriones de ranas del género *Xenopus laevis*. Asimismo, Vismara et al. (2006) expusieron embriones de ranas del género *Xenopus* a PQ y peróxido de hidrógeno, ambos compuestos indujeron principalmente la flexión anormal de la cola, y el PQ causó mayor efecto embriotóxico.

Con el objetivo de investigar el efecto tóxico del PQ durante el desarrollo Ait-Bali et al. (2016) administraron en ratones Swiss 10 y 20 mg/kg del compuesto desde el día 1 al 6to del apareo y desde el día 6 al 20 del período de gestación. El PQ previno completamente la gestación en los ratones expuestos durante el apareo, mientras que en las crías de los animales que recibieron el PQ desde el día 6 al 20 de gestación hubo retraso general de los reflejos innatos y un déficit en el desarrollo motor. Recientemente, Aksu et al. (2021) confirmaron que el PQ evita la implantación en ratones.

El efecto de la exposición prenatal al PQ sobre el desarrollo del sistema nervioso central también ha sido investigado; con este propósito Miranda-Contreras et al. (2005) administraron PQ (10 mg/kg) por vía intraperitoneal a ratones NMRI entre los días 12 y 20 del período de gestación y hallaron disminución significativa en los niveles postnatales de glutamato y aspartato en la corteza cerebelar, así como hiperactividad en las crías el día 14 y disminución de la actividad motora el día 30. En un estudio similar, se demostró que la exposición prenatal de ratones NMRI al PQ (10 mg/kg), entre los días 12 y 20 de la gestación, altera los niveles basales de los neurotransmisores aminoacídicos durante el desarrollo postnatal de la corteza parietal, con predominio de la neurotrasmisión excitatoria sobre la inhibitoria (Benítez-Díaz y Miranda-Contreras, 2009).

Igualmente, en una investigación realizada en ratas de laboratorio de la línea Sprague Dawley, Li et al. (2016) evidenciaron efecto neurotóxico en las crías de ratas expuestas a la combinación del PQ y mane (fungicida utilizado en la agricultura), desde el día 6to de gestación hasta la ablactación; las pruebas conductuales mostraron un aumento de la latencia de reacción y errores de comportamiento en las crías. Previamente, en esta misma línea de ratas Choi et al. (2002) hallaron que la administración materna de PQ (9 mg/kg) por vía intragástrica, del día 6 al 14 del período de gestación, retrasó el crecimiento fetal con reducción significativa en la longitud de la glándula pilórica y su fosa.

Adicionalmente, Almeida et al. (2017) demostraron el efecto protector de la melatonina contra los efectos tóxicos maternos y embrionarios ocasionados por la administración intragástrica de 50 mg/kg de PQ, desde el primero

al séptimo día del período de gestación en ratas Wistar, en las que este herbicida disminuyó significativamente la ganancia de peso corporal materno, el número de cuerpos lúteos y el número de implantaciones.

Si bien, los estudios anteriores evidencian efectos adversos debidos a la exposición prenatal al PQ, en diferentes especies animales, los resultados de otras investigaciones son contradictorios. En este sentido, Bus et al. (1975) reportaron que el PQ no produjo efectos teratogénos significativos administrados por vía intraperitoneal en ratones Swiss-Webster, a las dosis de 1,67 y 3.35 mg/kg y por vía oral (20 mg/kg) desde el día 8 al 16 de la gestación. Asimismo, Selypes et al. (1980) no hallaron diferencia en la mortalidad fetal y malformaciones esqueléticas, entre los ratones de la línea CFLP del grupo control y los expuestos a la administración intraperitoneal de PQ (8 mg/kg) el día 9 de la gestación.

En ratas Sprague Dawley expuestas a dosis de PQ de 1 y 4 mg/kg durante la etapa inicial, media o final del período de gestación, no se observaron alteraciones morfológicas ni aumento en la mortalidad materna y fetal, aunque ambas dosis del herbicida disminuyeron el peso de los fetos. (Prahla y Harris, 1984). Asimismo, Li et al. (2016) no hallaron efecto adverso del PQ sobre el peso materno y fetal en ratas Sprague Dawley expuestas a la combinación PQ-maneb desde el día 6 al 21 de la gestación, aunque hubo evidencia de neurotoxicidad.

Aun cuando las malformaciones craneofaciales, como las hendiduras labiales y palatinas, son anomalías congénitas comunes (Sorolla, 2010) y han sido asociadas con la exposición prenatal a pesticidas (Spinder et al., 2017), no se hallaron reportes de estudios en los que se haya investigado la asociación entre la administración prenatal al PQ y la aparición de estas anomalías en modelos animales.

La contradicción que existe con relación a los efectos adversos ocasionados por la exposición prenatal al PQ, y la aplicación de los principios éticos de la investigación en humanos, plantea la necesidad de ampliar la investigación sobre este tema en animales de experimentación. La rata es el animal de laboratorio más empleado para estudiar la toxicidad reproductiva de los plaguicidas, ya que representa las vías biológicas de los mamíferos y ha conservado las características moleculares, celulares y funcionales de esa especie (Ulbrich, 2013). En consecuencia, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la exposición prenatal al PQ sobre la formación de estructuras craneofaciales y corporales en ratas B10U:Wistar.

## **METODOLOGÍA**

Se realizó una investigación con enfoque cuantitativo, de diseño experimental de laboratorio, prospectivo.

### **Muestra**

La muestra estuvo constituida por setenta ratas adultas de la línea B10U:Wistar, 50 hembras, con un peso inicial comprendido entre 170 y 200 g, y 20 machos con peso comprendido entre 250 a 300 g, provenientes del Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA), Mérida, Venezuela. Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales, teniendo libre acceso al agua y al alimento, con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas cada uno, a temperatura ambiental y en condiciones higiénicas adecuadas.

## Tratamientos

PQ: Gramoxone® N.F. (200 g/L), preparado en solución con agua destilada en concentración de 5 mg/mL.

Vitamina A: cápsulas blandas de 50.000 U.I. Laboratorio Colmed International, S.A. – Venezuela. Se extrajo y administró el contenido de dos cápsulas, sin utilizar vehículo debido a que no se ameritaba.

Agua destilada: se utilizó como vehiculó de la solución de PQ y como tratamiento de los grupos control.

## Procedimiento de la investigación

### Obtención de las ratas gestantes

Después de una semana de adaptación a las condiciones del área de experimentación del BIOULA, las ratas hembras fueron examinadas mediante frotis vaginal para determinar la fase del ciclo estral. Los ejemplares en fase de proestro o de estro, fueron apareadas con machos adultos, en proporción 1:1.

Veinticuatro horas después se examinó el orificio vaginal de las ratas para detectar clínicamente la presencia del tapón mucoso vaginal o en su defecto la presencia de espermatozoides en el conducto vaginal de la rata, mediante la examinación microscópica de una muestra del fluido vaginal obtenido al introducir unas gotas de solución salina en la entrada del conducto vaginal y succionar con la micropipeta suavemente y de manera muy superficial.

Las ratas que presentaron tapón mucoso vaginal o espermatozoides en el frotis vaginal fueron consideradas gestantes, separadas y alojadas en jaulas individuales de policarbonato, registrando el día de observación como el día cero de gestación.

### Grupos de estudio

Seis días después de observado el tapón mucoso vaginal o los espermatozoides en el frotis vaginal, las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en cinco grupos de estudio, conformados cada uno por 10 ejemplares, asignados a los siguientes tratamientos:

Grupo control 1: 0,60 mL de agua, vía subcutánea

Grupo control 2: 0,60 mL de agua, vía intragástrica

Grupo vitamina A (grupo control positivo): 100.000 U.I, vía intragástrica

Grupo PQ1: 2 mg/Kg de PQ, vía subcutánea

Grupo PQ2: 3 mg/Kg de PQ, vía subcutánea

La vitamina A fue incluida como control positivo debido a que su efecto tóxico sobre la formación cráneo facial y corporal está bien establecido, tanto en humanos como en la especie de animales utilizada en este estudio.

La dosis de vitamina A se seleccionó con base en estudios similares realizados por otros autores (Vilela et al., 2001).

Las dosis de PQ se seleccionaron con base en las reportadas por Prahlad y Harris (1984) quienes administraron este herbicida en ratas Sprague Dawley gestadas, asimismo se tomó como referencia la dosis utilizada por Malekinejad et al. (2013) para inducir fibrosis pulmonar en ratas de la misma línea utilizada en este estudio.

### **Administración de los tratamientos**

Los tratamientos fueron administrados en dosis diarias únicas, por vía subcutánea (SC) o vía intragástrica (IG), mediante sonda esofágica metálica o jeringas plásticas de 1 ml, según el grupo al que perteneció cada animal. Las ratas fueron tratadas una vez al día, desde el día 6° hasta el día 15° de gestación.

Con el fin de determinar la evolución (aumento o ganancia) del peso corporal e individualizar las dosis a administrar, de acuerdo al tratamiento asignado a cada ejemplar, los animales fueron pesados diariamente en una balanza digital (ACCULAB VI-4K. Capacidad 4000 g. Legibilidad: 1 g), desde el 6to al 21 día de gestación. De igual forma, las ratas fueron observadas diariamente para verificar su estado de salud general.

### **Determinación de la ganancia de peso materno**

Se calculó la diferencia entre el peso corporal promedio final e inicial (días 21° y 6° del período de gestación) con el fin de establecer la ganancia de peso materno en cada grupo de estudio.

### **Observación materna y fetal**

El día 21° de gestación se practicó la eutanasia a las ratas mediante sobredosis de enflurano, USP al 100% a cámara cerrada.

Posteriormente, se les practicó laparotomía con el fin de exteriorizar el útero y valorar la presencia de embarazo, número de implantaciones y número de reabsorciones. A continuación se extrajeron los fetos mediante la apertura longitudinal de los cuernos uterinos y se registró el número de fetos vivos, fetos muertos, peso y talla fetal. Finalmente, se realizó la observación macroscópica detallada de los fetos.

La presencia del embarazo se determinó mediante la observación macroscópica detallada del órgano sexual de la rata, desde el cuerpo uterino hasta la bolsa ovárica de cada cuerno uterino, con presencia de al menos una implantación.

El número de implantaciones se obtuvo según la cantidad de sacos embrionarios presentes, con o sin placenta y con o sin feto dentro del mismo.

El número de reabsorciones correspondió a la cantidad de sacos embrionarios presentes en los cuernos uterinos con ausencia del feto.

Se procedió a separar cada saco embrionario del cuerpo uterino para posteriormente exteriorizarlo y liberar a

cada uno de los fetos con su placenta. Los fetos fueron limpiados con solución fisiológica y secados con papel absorbente.

Se registraron como fetos vivos aquellos que realizaron algún movimiento de las extremidades o de la boca; y como muertos los fetos que no efectuaron ningún tipo de movilidad ante estímulos o que presentaron alguna malformación severa.

El peso y la talla de los fetos fueron calculados de manera individual. Para determinar el peso se utilizó una balanza analítica digital (AND HR-200 Máx: 210 g, d= 0,1 mg), los valores se expresaron en gramos (g). La talla se estableció midiendo la longitud cráneo caudal del feto mediante una regla milimetrada, el resultado se expresó en centímetros (cm). Para determinar la talla, se tomaron dos puntos de referencia: desde el punto cefálico más alto hasta la porción caudal más prominente, en la base de la cola.

Seguidamente, a los fetos vivos se les practicó eutanasia en la forma descrita para las madres, y fueron examinados en lupa estereoscópica en aumento de 4X, con la finalidad de detectar cualquier tipo de anomalía, en el siguiente orden: cabeza y cuello, cavidad bucal (intraoral y extraoral), región toraco-abdominal, extremidades anteriores, extremidades posteriores y cola.

### **Aspectos éticos**

Se siguieron las normas éticas para realizar experimentos en animales de laboratorio, establecidas en el Código de Ética para la vida del Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias, República Bolivariana de Venezuela (2011). El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética del Bioterio de la Universidad de Los Andes (CEBIOULA) según consta en el aval identificado con el código CEBIOULA/080.

### **Análisis de datos**

Se calcularon las medias aritméticas y errores típicos del peso corporal de cada grupo de ratas gestantes, correspondientes a los días 6, 14 y 21 del período de gestación. Asimismo, se calcularon estos estadísticos descriptivos para la ganancia de peso materno durante la gestación, en los diferentes grupos de estudio. El análisis inferencial de estas variables se realizó con un nivel de confianza del 95% mediante la prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

Se hallaron las frecuencias absolutas del número de implantaciones, reabsorciones, fetos vivos y fetos muertos. Se calcularon los estadísticos descriptivos del peso y la talla obtenidos en los grupos de fetos vivos de cada grupo de estudio. Se aplicó el Análisis de Varianza Unifactorial (tratamiento farmacológico), con un nivel de confianza del 95% y la prueba a posteriori de Scheffé, para evaluar las diferencias estadísticas entre pares de medias. Las malformaciones craneofaciales y corporales registradas se expresan en frecuencias absolutas y relativas. Los resultados se analizaron con los programas Microsoft Excel 2013 y SPSS para Windows, versión 22.

## RESULTADOS

De las 50 ratas apareadas y tratadas, 15 resultaron gestadas (30%). En la Tabla 1 se resume la distribución de las ratas hembras BIOU:Wistar incluidas en el estudio.

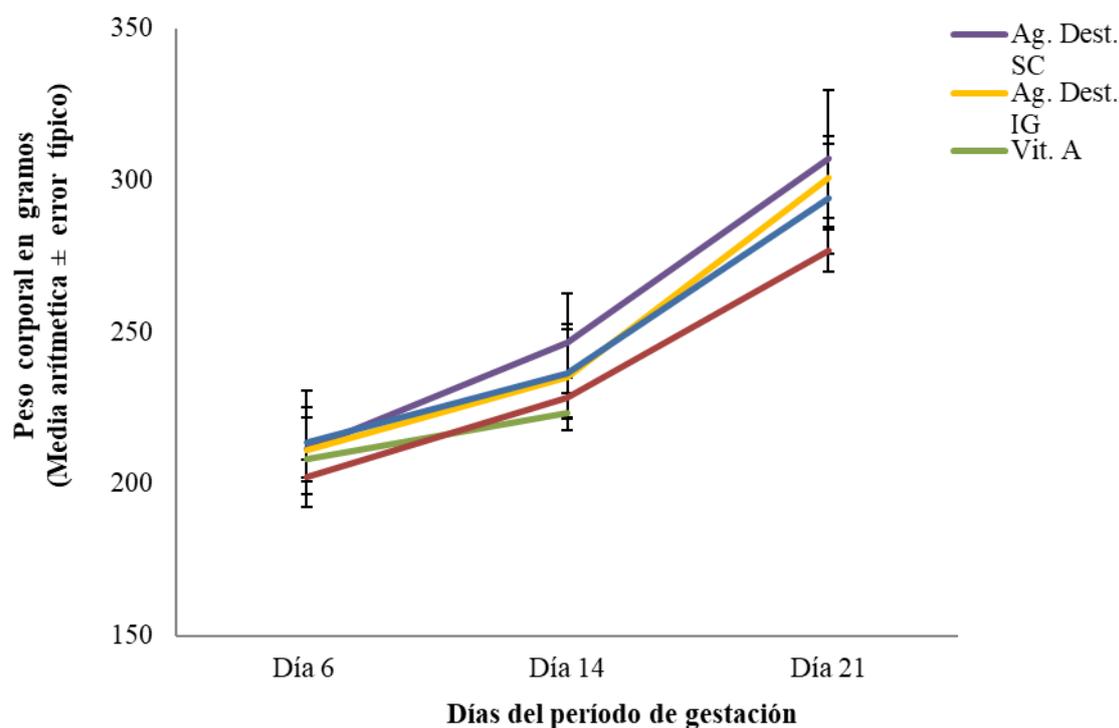
Tabla 1. Distribución de las ratas hembras BIOU:Wistar en los grupos de estudio.

Ratas	Agua destilada SC	Agua destilada IG	Vitamina A 100.000 U.I	PQ 2 mg/ Kg	PQ 3 mg/Kg
Apareadas	10	10	10	10	10
Gestadas	3	3	2	4	3

### Evolución del peso corporal de las ratas gestadas

En la Figura 1 se muestra el peso corporal promedio con el correspondiente error típico, obtenido los días 6, 14 y 21 de tratamiento en los cinco grupos de ratas gestadas. Se observa un incremento sostenido en el peso corporal al aumentar el período de gestación en todos los grupos de estudio, sin diferencia estadísticamente significativa entre estos (prueba Kruskal Wallis,  $p > 0,05$ ).

Figura 1. Evolución del peso corporal durante el periodo de gestación en ratas BIOU:Wistar. Prueba Kruskal Wallis,  $p > 0,05$ .



### Ganancia de peso corporal de las ratas gestadas

Al calcular la ganancia de peso materno (Tabla 2) se obtuvo una media aritmética mayor para el grupo que recibió agua destilada vía SC ( $95,7 \pm 3,50$  g), seguida del grupo agua destilada vía IG ( $89,7 \pm 5,93$  g), posteriormente el PQ 2 mg/Kg con un aumento de  $80,3 \pm 8,14$  g; luego el PQ 3 mg/Kg con ganancia  $74,7 \pm 6,36$  g; y finalmente la vitamina A con una ganancia de  $41,5 \pm 18,50$  g; aunque este último resultado corresponde a un solo ejemplar del grupo, debido a que el otro fue sacrificado cinco días antes del día previsto, debido a sangrado vaginal. La comparación estadística mediante la prueba Kruskal Wallis no evidenció diferencias

estadísticamente significativas en la ganancia de peso materno entre los grupos de estudio ( $p=0,069$ ).

### Número de implantaciones y reabsorciones

Como se muestra en la Tabla 2, el mayor número de implantaciones (35) se presentó en el grupo tratado con PQ 2 mg/Kg, mientras que en el grupo tratado con vitamina A se registró la mayor cantidad de reabsorciones (11). En la Figura 2 se muestran las implantaciones y la reabsorción fetal observada al exteriorizar el útero de una de las ratas gestadas del grupo PQ 2 mg/Kg.



Figura 2. Implantaciones ( ) y reabsorción fetal ( ) observada en el útero de una rata del grupo PQ 2 mg/Kg.

### Número de fetos vivos y muertos

Los grupos PQ 3 mg/kg y su control (agua destilada, vía SC) presentaron el mayor número de fetos vivos (26 c/u). Mientras que en el grupo PQ 2 mg/Kg se registró la mayor cantidad de fetos muertos (4) seguido del grupo vitamina A, con un feto muerto (Tabla 2).

Tabla 2. Número de implantaciones, reabsorciones, fetos vivos y fetos muertos de ratas gestadas de los diferentes grupos de estudio.

Grupo (n = ratas gestadas)	Implantaciones		Reabsorciones		Fetos vivos		Fetos	
	No	%	No	%	No	%		
							No	%
Control agua destilada SC (n =3)	26	100	0	0	26	100	0	0
Control agua destilada IG (n=3)	25	100	3	12	22	88	0	0
Vitamina A (n=2)	22	100	11	50	10	45	1	5
PQ 2 mg/Kg (n=4)	35	100	7	20	24	69	4	11
PQ 3 mg/Kg (n=3)	27	100	1	4	26	96	0	0
Total	135	100	22	16	108	80	5	4

### Peso y talla fetal

En la Tabla 3 se presentan los estadísticos correspondientes al peso y talla de los fetos vivos por grupo de estudio. Con relación a los pesos fetales, el grupo de fetos expuestos durante el periodo prenatal al PQ 2 mg/Kg presentó mayor promedio de peso fetal  $5,88 \pm 0,79$  g, mientras que el menor promedio de peso se obtuvo

en el grupo de fetos a cuyas madres se les administró vitamina A, con una media aritmética de  $2,51 \pm 3,05$  g. Asimismo, en lo que respecta a la talla fetal, en el grupo PQ 2 mg/Kg el promedio de la talla fetal alcanzó el valor más alto  $6,00 \pm 0,79$  cm y la menor talla se obtuvo en los fetos expuestos a la vitamina A, con promedio de  $3,03 \pm 2,24$  cm.

El contraste de hipótesis para ambas variables, peso y talla de los fetos, mediante la prueba estadística Análisis de Varianza (factor único: tratamiento farmacológico) a un nivel de confianza del 95%, y la prueba a posteriori Scheffe evidenció que el peso y talla de los fetos cuyas madres recibieron vitamina A fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) en comparación con los fetos de los grupos restantes (Tabla 3).

Tabla 3. Peso y talla de los fetos vivos de ratas gestadas de los diferentes grupos de estudio

Grupo (n = ratas gestadas)	Peso (g) $\bar{X} \pm DE$	Talla (cm) $\bar{X} \pm DE$
Control agua destilada SC (n=3)	$4,86 \pm 1,51$	$5,43 \pm 0,16$
Control agua destilada IG (n=3)	$5,56 \pm 0,66$	$5,85 \pm 0,39$
Vitamina A (n=2)	$2,51 \pm 3,04^*$	$3,03 \pm 2,24^*$
PQ 2 mg/Kg (n=4)	$5,88 \pm 0,79$	$6,00 \pm 0,79$
PQ 3 mg/Kg (n=3)	$5,47 \pm 0,48$	$6,00 \pm 0,48$
Total		

\*ANOVA: Peso fetal (F: 14,264,  $p= 0,000$ ), Talla fetal (F: 25,698,  $p= 0,000$ )

Scheffe: Peso fetal ( $p= 0,000$ ), Talla fetal ( $p= 0,000$ )

### Malformaciones de estructuras craneofaciales y corporales

Se observaron 43 malformaciones de estructuras craneofaciales y corporales en el presente estudio, su distribución por grupos de estudio se muestra en la Tabla 4.

En los fetos pertenecientes al grupo PQ 2 mg/kg hubo el mayor número de malformaciones (16; 37,2 %) incluyendo casos de hematomas (Figura 3A) y defectos en la cola (Figura 3B). Con respecto al grupo tratado con PQ 3 mg/Kg, se registraron 12 casos (27,9%) entre estos: ectromelia y micromelia bilateral (Figura 4).

Figura 3. Fetos de 21 días cuya madre fue tratada con PQ 2 mg/kg durante los días 6° al 15° de gestación obsérvese el hematoma en el miembro inferior (3A) y la curvatura de la cola (3B) en comparación con los fetos de la misma camada.

El grupo que recibió vitamina A también presentó 12 casos de malformaciones (27,9%), correspondientes a cuatro casos de macroglosia y un caso de hendidura labial inferior (Figura 5A y 5B). En relación con alteraciones corporales, se observó micromelia bilateral en miembros superiores, cola corta y edema generalizado acompañado de defecto en el desarrollo y en la diferenciación del sistema óseo. En la Figura 6B se observa un feto del grupo vitamina A que presenta algunas de estas malformaciones, en comparación con un feto del grupo control (Figura 6A), cuya madre recibió agua destilada vía IG.

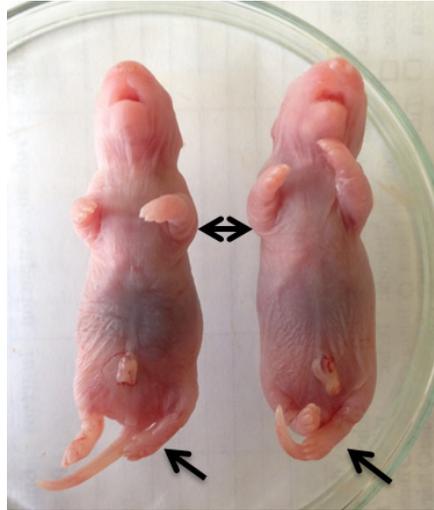


Figura 4. Fetos de 21 días cuya madre fue tratada con PQ 3 mg/kg durante los días 6° al 15° de gestación. Se comparan dos fetos de la misma camada, el del lado derecho sin malformaciones y el de lado izquierdo con micromelia en los miembros superiores y ectromelia en los miembros inferiores.

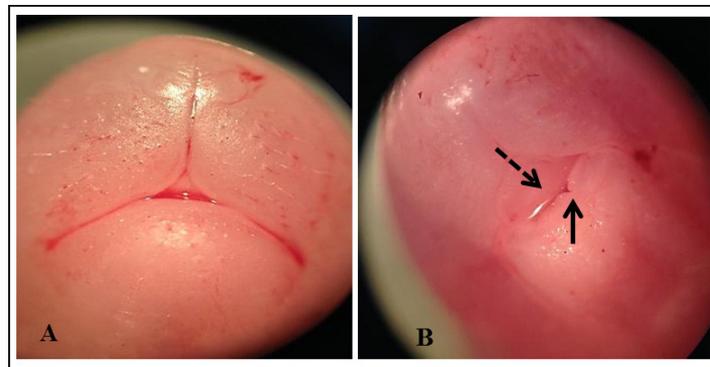


Figura 5. Región facial de fetos de 21 días cuyas madres fueron tratadas durante los días 6° al 15° de gestación con agua destilada vía IG (5A) y con vitamina A (5B), obsérvese la hendidura labial inferior ( ) y macroglosia ( ) Imágenes obtenidas con lupa estereoscópica en aumento 4X.

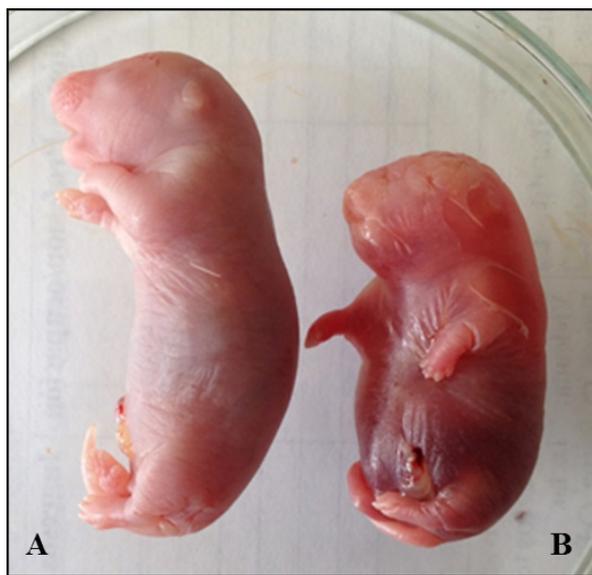


Figura 6. Fetos de 21 días, cuyas madres fueron tratadas durante los días 6° al 15° de gestación en 6A con agua destilada vía IG y en 6B con vitamina A, obsérvese en este último el edema generalizado y micromelia en los miembros superiores.

Tabla 4. Malformaciones fetales por grupos de estudio.

Grupo	Malformaciones craneofaciales		Malformaciones corporales		Otros		Edema	Total No (%)
	Macroglosia	Hendidura labial	Ectromegalia	Micromelia	Malformaciones de la cola	Hematomas y dilatación vascular		
Control agua destilada SC	–	–	–	1	–	1	–	2 (4,65)
Control agua destilada IG	–	–	–	–	–	1	–	1 (2,32)
Vitamina A	4	1	5	–	1	–	1	12 (28)
PQ 2 mg/kg	–	–	1	4	1	10	–	16 (37,21)
PQ 3 mg/kg	–	–	4	3	2	3	–	12 (28)
Total No (%)	4 (9,3)	1 (2,32)	10 (23,25)	8 (18,60)	4 (9,3)	15 (34,88)	1 (2,32)	43 (100)

El uso de plaguicidas constituye un problema de salud a nivel mundial. La cantidad y variedad disponible de estos productos, así como la falta de control y registro de agroquímicos favorece la exposición de los agricultores y comunidades circundantes a los efectos adversos que estos ocasionan (Zuñiga et al., 2007), incluyendo alteraciones en la implantación embrionaria y el desarrollo embrio-fetal (Almeida et al., 2017); sin embargo, las evidencias sobre el efecto del PQ en estos procesos fisiológicos son contradictorias. Con el fin de evaluar el efecto de la exposición prenatal al PQ se realizó la presente investigación en un modelo animal de ratas BIOU:Wistar.

El análisis de la evolución del peso corporal de las ratas durante los días 6, 14 y 21 del periodo de gestación, reveló que la ganancia de peso en los grupos tratados con PQ (2 y 3 mg/Kg) fue inferior que la obtenida en el grupo control; aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, debido probablemente al bajo número de animales que conformó la muestra. En concordancia con la tendencia observada, Almeida et al. (2021) reportaron disminución del peso corporal de ratas Wistar hembras expuestas al herbicida.

Asimismo, en ratas machos de las líneas Wistar y Sprague Dawley expuestas al PQ se observó reducción significativa del peso corporal (Costa et al., 2014; Tinakoua et al., 2015). La pérdida de peso corporal producida por el PQ ha sido atribuida a que este herbicida se acumula en el hipotálamo, el cual participa en el control del apetito y peso corporal (Tinakoua et al., 2015). Por otra parte, se ha propuesto que se debe al estrés oxidativo producido por el PQ en el epitelio intestinal y en el hígado (Almeida et al., 2021).

En relación con el efecto producido por la vitamina A, en este grupo se registró la menor ganancia de peso durante el periodo de gestación. Resultados similares publicaron Alarcón-Corredor y Alfonso (2007), quienes al administrar vitamina A en dosis de 30.000, 50.000 y 100.000 UI/día durante siete días, observaron disminución de dosis dependiente de la ingesta de alimento y agua, así como del peso corporal en ratas macho Wistar. En contraste, Peters et al. (1986) no reportaron efecto significativo de la administración de suplementos de vitamina A, sobre el consumo de alimento y la ganancia de peso materno en ratas Sprague Dawley gestadas. Asimismo, en el grupo de ratas tratadas con vitamina A se presentó el mayor número de reabsorciones fetales, resultado que coincide con estudios previos (DiGiacomo et al., 1992; Hayes et al., 1981; Pillans et al., 1988) y confirma su efecto teratogénico, razón por la que se incluyó este tratamiento como control positivo en la presente investigación.

El grupo que recibió PQ 2 mg/Kg ocupó el segundo lugar con respecto a la presencia de reabsorciones y registró el mayor número de fetos muertos, lo que evidencia que a esta dosis el PQ actuó como embriotóxico y fetotóxico. Sin embargo, con la dosis de 3 mg/Kg solo se observó una reabsorción y todos los fetos que llegaron a término se encontraron vivos, estos resultados indican que el efecto del PQ no fue dosis dependiente. Debido a que el mecanismo de acción del PQ involucra la reducción del transportador de electrones NADP (Viales, 2014), es posible que la saturación de este transportador explique la ausencia de relación dosis efecto en esta investigación; no obstante, se requiere realizar otras investigaciones para confirmar esta teoría.

La acción embriotóxica y fetotóxica observada con la administración de 2 mg/kg de PQ coincide con reportes previos. En este sentido, Pang et al. 2016 demostraron que el PQ alteró el desarrollo de embriones de bovinos preimplantados, incluso a bajas dosis el herbicida tuvo impacto negativo en el desarrollo embrionario. Asimismo, Hausburg et al. (2005) hallaron que el PQ impidió el desarrollo de embriones de ratones preimplantados. Resultados similares han sido reportados en aves (Eisler, 1990), larvas de abejas de la miel *Apis mellifera* (Cousin et al., 2013) y anfibios (Osano et al., 2002; Vismara et al., 2006).

En cuanto a las variables estudiadas en los fetos vivos, el peso y la talla fetal fueron significativamente menores en el grupo tratado con vitamina A (ANOVA  $p=0,000$ ), resultados similares fueron observados en ratones de 18 días de edad (Pillans et al., 1988). Sin embargo, los promedios de peso y talla fetal obtenidos en el presente estudio pueden no representar objetivamente el efecto de la vitamina A, debido a que una de las camadas del grupo fue evaluada el día 16 de gestación, por amenaza de aborto, mientras que el resto de los fetos del estudio se obtuvieron el día 21.

La exposición a 2 mg/Kg de PQ también causó mayor número de malformaciones corporales en comparación con el PQ 3 mg/Kg. La alteración observada con mayor frecuencia en los fetos expuestos al PQ 2 mg/Kg fue la presencia de dilataciones vasculares y hematomas. Otros autores han publicado efectos similares con la administración del PQ, tales como hemorragias de la mucosa intestinal en ratas Sprague Dawley adultas (Jiang et al., 2013), de la mucosa ocular en perros (Nagata et al., 1992) y hemorragias pulmonares en hámster (Kokubo et al., 1984). Asimismo, en pacientes intoxicados con paraquat se ha evidenciado la presencia de hemorragias gastrointestinales (Tao et al., 2021) y cerebrales (Grant et al., 1980, Mukada et al., 1978). Con base en lo planteado por Brawley et al. (2003) y Ozaki et al. (2001), estas alteraciones pueden reflejar cambios vasculares asociados al estrés oxidativo producido por el PQ.

Diferentes reportes señalan que las malformaciones vasculares y presencia de hematomas están asociadas al estrés celular durante el período de gestación, lo cual ha sido evidenciado al inducir estrés mediante la restricción proteica en ratas de laboratorio gestadas (Brawley et al., 2003). Se ha planteado que el estrés ocasiona alteraciones en los micronutrientes y en el metabolismo de los ácidos grasos, produciendo modificaciones en la contracción y dilatación de las arterias y arteriolas (Ozaki et al., 2001). También se ha propuesto la alteración del sistema renina angiotensina, como teoría para explicar las malformaciones vasculares con producción de hematomas en las crías (Gardner et al., 1997), en concordancia con este planteamiento Müller-Ribeiro (2010) demostraron que la administración intracerebral del PQ interfiere con la conducta mediada por el sistema renina angiotensina en el sistema nervioso central.

Con ambas dosis de PQ se observó alteración en el desarrollo de los miembros superiores e inferiores, malformación que corresponde a defectos de la migración y diferenciación de las células encargadas de la formación de los huesos largos. Es escasa la información disponible sobre el efecto de la administración prenatal del PQ en tejido óseo; sin embargo, en estudio previo se observó alta incidencia de malformación del cartílago costal en los embriones de ratas que recibieron PQ durante la gestación (Khera y Whitta, 1968). Asimismo, Ingebrigtsen et al. (1984) demostraron que la administración intravenosa de PQ en ratas y cobayas

gestadas alcanza altas concentraciones en tejido cartilaginoso. Por otra parte, se han descrito alteraciones en los miocitos de embriones de *Xenopus laevis* debidas a efectos del PQ en los microtúbulos y microfilamentos celulares, que afectan la organización espacial de las estructuras de actina del citoesqueleto (Vismara et al., 2000).

Los casos de malformaciones de la cola observados en los fetos expuestos al PQ (2 y 3 mg/Kg), coinciden con el modelo de investigación de Vismara et al. (2006). Estos autores observaron en embriones de *Xenopus* en desarrollo, que el tratamiento con PQ induce una alteración característica que llamaron “flexión caudal anormal” e indicaron que la actividad oxidativa del PQ puede ser la causa de la alteración. Anomalías similares de la cola como márgenes estrechos, doblados o caídos; ausencia de características ventrales y curvaturas dorsales fueron observadas en el *Chaunus arenarum*, otro tipo de anfibio. Debido a que estas fueron provocadas en etapas tempranas del desarrollo, e histológicamente se evidenciaron niveles anormalmente altos de condensación de la cromatina, los autores concluyen que el daño a nivel del ADN embrionario ocurrió después de la etapa de gástrula y se manifiesta una vez que se requiere la transcripción, en la cual los genes son más sensibles al daño por el estrés oxidativo inducido por el PQ (Mussi et al., 2010).

En contraste con las malformaciones corporales observadas, en este estudio no se evidenciaron malformaciones en estructuras craneofaciales en los fetos cuyas madres fueron tratadas con el PQ, mientras que con la administración de la vitamina A se detectaron varios casos de macroglosia y uno de hendidura labial. Estas alteraciones coinciden con las observadas por otros autores en ratas y conejos (DiGiacomo et al., 1992; Dodo et al., 2010; Hayes et al., 1981; Vilela et al., 2001).

La presencia de malformaciones en los fetos de las ratas gestadas expuestas a PQ, así como la embriotoxicidad y fetotoxicidad observada en el presente estudio indican que este plaguicida atraviesa la placenta, y que los cambios producidos por el compuesto son clínicamente visibles. El mecanismo por el cual el PQ produce alteraciones en el desarrollo prenatal se ha atribuido a que afecta particularmente el metabolismo celular causando estrés oxidativo a través del ciclo de redox. Se ha señalado que los efectos adversos producidos por el PQ sobre el desarrollo embrionario y fetal son consecuencia de la producción de aniones superóxido, la alteración del equilibrio redox intracelular, el daño oxidativo y la muerte celular (Pang et al., 2016).

## CONCLUSIONES

En este estudio se demostró la presencia de malformaciones corporales en fetos expuestos durante el período prenatal al PQ, evidenciando un efecto teratógeno no dependiente de la dosis en la línea de ratas BIOU:Wistar. Sin embargo, debido al bajo número de ratas gestadas que conformaron la muestra los datos obtenidos son considerados resultados preliminares, por lo que se requiere realizar futuras investigaciones para confirmar estos hallazgos. Adicionalmente, los efectos observados con la administración de la vitamina A indican que es factible utilizar el modelo animal en las condiciones en que se realizó esta investigación, y sugieren que la metodología aplicada permite evidenciar efectos teratógenos producidos por fármacos y tóxicos.

## RECOMENDACIONES

Aun con las limitaciones del estudio, los hallazgos reflejan la importancia de reevaluar la seguridad del almacenamiento, manipulación, uso y exposición al PQ durante la etapa prenatal, considerando que este plaguicida es ampliamente utilizado en las zonas rurales y agrícolas, y que mujeres embarazadas podrían estar expuestas.

Asimismo, se recomienda realizar investigaciones similares que incluyan mayor número de ratas gestadas, con el fin de evaluar los resultados obtenidos en este estudio preliminar.

## REFERENCIAS

- Ait-Bali, Y., Ba-M'hamed, S. y Bennis, M. (2016). Prenatal Paraquat exposure induces neurobehavioral and cognitive changes in mice offspring. *Environ Toxicol Pharmacol*, 48:53-62.
- Aksu, K., Golal, E., Aslan, M., Ustunel, I. y Acar, N. (2021). The investigation of the role of sirtuin-1 on embryo implantation in oxidative stress-induced mice. *J Assist Reprod Genet*. doi: 10.1007/s10815-021-02229-7.
- Alarcón-Corredor, O. y Alfonso, R. (2007). Alteraciones clínicas y bioquímicas en ratas tratadas con vitamina A. *Arch Latinoamer Nutr*, 57: 224-230.
- Almeida, L., Pitombeira, G., Teixeira, Á., Teixeira, V., Silva, V., Vieira, L. y Evêncio, J. (2021). Protective effect of melatonin against herbicides-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol Res (Camb)*, 10(1), 1-10.
- Almeida, L., Teixeira, Á., Soares, A., Cunha, F., Silva, V., Júnior, Vieira, L. y Wanderley-Teixeira, V. (2017). Effects of melatonin in rats in the initial third stage of pregnancy exposed to sub-lethal doses of herbicides. *Acta Histochem*, 119(3), 220-227.
- Asghar, U., Malik, M. y Javed, A. (2016). Pesticide Exposure and Human Health: A Review. *J Ecosys Ecograph*, S5: 005.
- Benítez-Díaz, P. y Miranda-Contreras, L. (2009). Efectos de la exposición prenatal a paraquat sobre el desarrollo de la transmisión sináptica aminoacídica en la corteza cerebral parietal del ratón *Invest Clin*, 50, 465-478.
- Brawley, L., Itoh, S., Torrens, C., Barker, A., Bertram, C., Poston, L. y Hanson, M. (2003). Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatric Research*, 54(1), 83-90.
- Bus, J., Preache, M., Cagen, S., Posner, H., Eliason, B., Sharp, C., y Gibson, J. (1975). Fetal toxicity and distribution of paraquat and diquat in mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 33(3), 450-460.
- Chen, J., Jian, X., Yu, G., Si, M. y Kan, B. (2020). Fetal outcomes after intentional ingestion of paraquat: A case report. *Medicine*, 99(1), e18136.
- Chiang, C., Mahalingam, S. y Flaws, J. (2017). Environmental Contaminants Affecting Fertility and Somatic Health. *Semin Reprod Med*, 35(3), 241-249.
- Choi, B., Gil, Y. y Jo, U. (2002). Effect of maternal paraquat administration on the pyloric region of the developing rat stomach. *Korean J BiolSci*, 6, 247-252.
- Costa, K., Maciel, I., Kist, L., Campos, M. y Bogo, M. (2014). Pharmacological inhibition of CXCR2 chemokine receptors modulates paraquat-induced intoxication in rats. *PLoS One*, 9(8), e105740.
- Cousin, M., Silva, E., Kretzschmar, A., El Maataoui, M., Brunet, J. y Belzunces, L. (2013). Size changes in honey bee larvae oenocytes induced by exposure to Paraquat at very low concentrations. *PLoS One*, 8, e65693.
- DiGiacomo, R., Deeb, B. y Anderson, R. (1992). Hypervitaminosis A and reproductive disorders in rabbits. *Lab Anim Sci*, 42, 250-254.
- Dodo, T., Uchida, K., Hirose, T., Fukuta, T., Kojima, C., Shiraishi, I., Kato, E., Horiba, T., Mineshima, H., Okuda, Y., Maeda, M., Katsutani, N., Hirano, K. y Aoki, T. (2010). Increases in discontinuous rib

- cartilage and fused carpal bone in rat fetuses exposed to the teratogens, busulfan, acetazolamide, vitamin A, and ketoconazole. *Hum Exp Toxicol*, 29, 439-450.
- Eisler, R. (1990). Paraquat hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Biological Report*. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5200090>.
- García, A. (1998). Occupational exposure to pesticides and congenital malformations: a review of mechanisms, methods, and results. *Am J Ind Med*, 33, 232-240.
- Gardner, D., Jackson, A. y Langley-Evans, S. (1997). Maintenance of maternal diet-induced hypertension in the rat is dependent on glucocorticoids. *Hypertension*, 30, 1525-1530
- Grant, H., Lantos, P. y Parkinson C. (1980). Cerebral damage in paraquat poisoning. *Histopathology*, 4, 185-195.
- Handrawan, S., Lestari, M. y Zulkifli. (2020). Herbicide Intoxication: Still A Threat In Developing Countries. *Journal of Anesthesiology and Clinical Research*, 1(1), 31-42.
- Hausburg, M., Dekrey, G., Salmen, J., Palic, M. y Gardiner, C. (2005). Effects of paraquat on development of preimplantation embryos in vivo and in vitro. *Reprod Toxicol*, 20(2), 239-246.
- Hayes, W., Cobel-Geard, S., Hanley, TR Jr., Murray, J., Freshour, N., Rao, K. y John, J. (1981). Teratogenic effects of vitamin A palmitate in Fischer 344 rats. *Drug Chem Toxicol*, 4, 283-295.
- Ingebrigtsen, K., Nafstad, I. y Andersen, R. (1984). Distribution and transplacental transfer of paraquat in rats and guinea-pigs. *Gen Pharmacol*, 15(3), 201-204.
- Jiang, Y., Ma, Y., Wang, Z. y Li, G. (2013). Therapeutic effects of smecta or smectite powder on rats with paraquat intoxication. *World J Emerg Med*, 4, 144-150.
- Khera, K. y Whitta, L. (1968). Embryopathic effects of diquat and paraquat in the rat. *IMS Ind Med Surg*, 37(7), 553.
- Kokubo, T., Takahashi, M., Furukawa, F., Nagano, K. y Hayashi, Y. (1984). Pathogenesis of paraquat-induced pulmonary hemorrhage in hamsters with special reference to arterial constriction. *Acta Pathol Jpn*, 34,41-46.
- Li, B., He, X., Sun, Y. y Li, B. (2016). Developmental exposure to paraquat and maneb can impair cognition, learning and memory in Sprague-Dawley rats. *Mol Biosyst*, 12(10), 3088-3097.
- Malekinejad, H., Mehrabi, M., Khoramjouy, M. y Rezaei-Golmisheh, A. (2013). Antifibrotic effect of atorvastatin on paraquat-induced pulmonary fibrosis: role of PPAR $\gamma$  receptors. *Eur J Pharmacol*, 720(1-3), 294-302.
- Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias (2011). Código de Ética para la Vida. Caracas.
- Miranda-Contreras, L., Dávila-Ovalles, R., Benítez-Díaz, P., Peña-Contreras, Z. y Palacios-Prü E. (2005). Effects of prenatal paraquat and mancozeb exposure on amino acid synaptic transmission in developing mouse cerebellar cortex. *Brain Res Dev Brain Res*, 160(1), 19-27.
- Mukada, T., Sasano, N. y Sato, K. (1978). Autopsy findings in a case of acute paraquat poisoning with extensive cerebral purpura. *Tohoku J Exp Med*, 125, 253-263.
- Müller-Ribeiro, F., Coimbra, C., Rodrigues-Machado, Mda G. y Fontes, M. (2010). Evidence that central action of paraquat interferes in the dipsogenic effect of Ang II. *Neurotoxicology*, 31(3), 305-309.
- Mussi, M. y Calcaterra, N. (2010). Paraquat-induced oxidative stress response during amphibian early embryonic development. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 151, 240-247.
- Nagata, T., Kono, I., Masaoka, T. y Akahori, F. (1992). Subacute toxicity of paraquat in beagle dogs: clinicopathology and pathologic examinations. *Vet Hum Toxicol*, 34, 15-20.
- Osano, O., Oladimeji, A., Kraak, M. y Admiraal, W. (2002). Teratogenic effects of amitraz, 2,4-dimethylaniline, and paraquat on developing frog (*Xenopus*) embryos. *Arch Environ Contam Toxicol*, 43(1), 42-49.
- Ozaki, T., Nishina, H., Hanson, MA. y Poston, L. (2001). Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *J Physiol*, 530(1), 141-152.
- Pang, Y., Sun, Y., Sun, W., Du, W., Hao, H., Zhao, S., y Zhu, H. (2016). Melatonin inhibits paraquat-induced

- cell death in bovine preimplantation embryos. *J Pineal Res*, 60, 155-166.
- Peters, A., Keen, C., Lönnerdal, B. y Hurley, L. (1986). Zinc-vitamin A interaction in pregnant and fetal rats: supplemental vitamin A does not prevent zinc-deficiency-induced teratogenesis. *J Nutr*, 116, 1765-1771.
- Pillans, P., Folb, P. y Ponzi, S. (1988). The effects of in vivo administration of teratogenic doses of vitamin A during the preimplantation period in the mouse. *Teratology*, 37, 7-11.
- Prahlad, K. y Harris, K. (1984). *Toxicological and teratogenic studies with paraquat*. Dissertation/Thesis M.S. (Master of Science). Department of Biological Sciences. Northern Illinois University. <https://commons.lib.niu.edu/handle/10843/18259>
- Selypes, A., Nagymajtényi, L. y Berencsi, G. Mutagenic and embryotoxic effects of paraquat and diquat. *Bull Environ Contam Toxicol*, 25(4), 513-517.
- Sun, Y., Wang, X., Yang, L., Ge, Z., Zhao, Y., Luo, S., Shen, W., Sun, Q. y Yin, S. (2021). Paraquat Reduces the Female Fertility by Impairing the Oocyte Maturation in Mice. *Front Cell Dev Biol*, 8, 631104.
- Sorolla, J. (2010). Anomalías craneofaciales. Departamento de cirugía plástica. Hospital militar. *Rev Med Clin Condes*, 21(1), 5-15.
- Spinder, N., Bergman, J., Boezen, H., Vermeulen, R., Kromhout, H. y de Walle, H. (2017). Maternal occupational exposure and oral clefts in offspring. *Environ Health*, 16(1), 83.
- Tao, X., Yu, G., Guo, W., Kan, B., Song, L., Li, H. y Jian, X. (2021). Esophagitis dissecans superficialis associated with acute transoral paraquat poisoning: Clinical study of 15 cases. *Sci Prog*, 104(2), 368504211019647.
- Tinakoua, A., Bouabid, S., Faggiani, E., De Deurwaerdère, P., Lakhdar-Ghazal, N. y Benazzouz, A. (2015). The impact of combined administration of paraquat and maneb on motor and non-motor functions in the rat. *Neuroscience*, 311, 118-129.
- Ulbrich, B. (2013). Reproductive toxicity risk assessment for pesticides. *Methods Mol Biol*, 947, 545-574.
- Viales, G. (2014). Intoxicación por Paraquat. *Medicina Legal de Costa Rica*, 31(2), 88-94.
- Vilela, A., Costa, JRV., Lopes, R. y Sala, M. (2001). Acción de la hipervitaminosis A en el germen dentario de fetos de rata: estudio histológico y morfométrico. *Rev. chil. Anat*, 19, 231-238.
- Vismara, C., Bacchetta, R., Di Muzio, A., Mantecca, P., Tarca, S., Vailati, G. y Colombo, R. (2006). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induces abnormal tail flexure in *Xenopus* embryos: similarities with Paraquat teratogenic effects. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 77, 238-243.
- Vismara, C., Battista, V., Vailati, G. y Bacchetta, R. (2000). Paraquat induced embryotoxicity on *Xenopus laevis* development. *Aquat Toxicol*, 49, 171-179.
- Watts M. (2011) Paraquat. [http://www.thaipan.org/sites/default/files/fileinter/monograph\\_paraquat\\_0.pdf](http://www.thaipan.org/sites/default/files/fileinter/monograph_paraquat_0.pdf)
- Zúñiga, L., Márquez, C. y Duk, S. (2007). Estudio citogenético y reproductivo en mujeres temporeras expuestas a pesticidas de la VIII Región de Chile. *Theoria*, 16, 77-87.

---

## Autores

**Álvarez, Oriana**

Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela Odontólogo. Magíster Scientiae en Salud Pública.

Correo-e: oriaflames@gmail.com y el código

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4641-7023>.

**Arismendi, Johana**

Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. Odontólogo.

Correo-e: johanaarismendi@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3942-7127>.

**León, Wanda**

Profesora Asociado de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Médico Cirujano,

PhD en Farmacología.

Correo-e: [wcleond72@gmail.com](mailto:wcleond72@gmail.com)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1347-4171>

**Quiñonez, Belkis**

Profesora Titular de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.  
Directora del Bioterio de la Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.  
Odontólogo, Magíster Scientiae en Ciencias Médicas Fundamentales.

Correo-e: [belkism@gmail.com](mailto:belkism@gmail.com)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7002-5965>

**Rincón-García, Ángel**

Instructor of Biology, Anatomy, Clinical laboratories and Medical terminology. Arizona College of Allied Health. Glendale, AZ.  
EE.UU. Medical/Surgical Assistant. Valley Urgent Care. Phoenix, AZ.

Medical Doctor. Residency in Obstetrics and Gynecology. Graduate in Reproductive Endocrinology

Correo-e: [gbrincon@gmail.com](mailto:gbrincon@gmail.com)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-888X>