

## Discusión

Los efectos de los agroquímicos son variables y es difícil medir su impacto real, dado que sus acciones están en relación al tiempo de exposición, dosis, vulnerabilidad específica de cada especie y de cada individuo.

Los resultados de estudios en humanos son difíciles de interpretar debido a variaciones epidemiológicas, geográficas y socioculturales; y a la pausabilidad biológica.

Las publicaciones de experimentos en animales si bien tienen en consideración un menor número de variables, presentan también la limitante de la dosis, tiempo de exposición y tamaño de la muestra.

Es por estos motivos que la literatura publicada hasta el momento sobre el efecto del glifosato a nivel reproductivo es controversial.

La OMS publicó en 2003 que aproximadamente 20 mil mujeres, varones y niños por año murieron por exposición accidental a pesticidas; 3 millones sufrieron consecuencias agudas no fatales y cerca de 3-4 millones de personas experimentaron hasta ese año efectos crónicos por esta exposición.<sup>43</sup>

En Argentina, de acuerdo a la Resolución 350/99 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), el principio activo glifosato en su uso normal está dentro del grupo de productos de improbable riesgo agudo: Clase Toxicológica IV. El glifosato está clasificado en la categoría de Menor Riesgo Toxicológico, es decir, banda verde en las etiquetas de los envases, constituyéndose en un producto no dañino para el hombre y el medio ambiente.

Sin embargo, muchos estudios revisados anteriormente en este trabajo muestran alteraciones a nivel de la salud reproductiva en relación a la exposición a agroquímicos, particularmente al glifosato. Esto también ha sido puesto en evidencia por varios autores a través de diseños experimentales en animales.<sup>44</sup>

En la presente investigación, la exposición al *Roundup Full II*<sup>®</sup> mostró en ratas hembras expuestas una afectación en los niveles de P y cambios en el estroma endometrial.

Tanto en humanos como en roedores, la acción coordinada de E2 y P, regulando la proliferación y diferenciación de las células uterinas en una manera espacio-temporal determina o establece la ventana de implantación.<sup>8</sup>

No se han dilucidado aún los valores séricos específicos precisos de cada hormona pero sí se sabe que deben actuar de manera conjunta bajo ciertos niveles críticos, el E2 primero y la P luego.

Así se ha mostrado que altos niveles de estradiol en ciclos estimulados alteran el endometrio de manera tal que se producen fallas de implantación. Es decir, que se requieren de bajas concentraciones de estradiol para que el endometrio se torne receptivo y altas concentraciones para que se transforme en refractario o no receptivo.<sup>45</sup> También se ha estudiado que altos niveles de P, frecuentes en hiperestimulación ovárica para tratamientos de fertilización asistida, producen cambios histológicos endometriales que no favorecen a la implantación.<sup>46,47</sup>

El adecuado balance entre E2 y P es lo que permite que el endometrio se torne receptivo para la implantación. La presente investigación, por un lado mostró que la exposición al glifosato produce una disminución en los niveles séricos de P, y por otro, un aumento en la celularidad endometrial.

Estos resultados son controversiales ya que normalmente la P es la responsable de la proliferación celular que presenta el endometrio, previa acción de los estrógenos, cuando se analiza la implantación.

Una explicación factible para esta controversia en los resultados podría ser el hecho de que la exposición prolongada a estrógenos sin oposición con progestágenos conlleva a hiperplasia endometrial y, por ejemplo, consecuente riesgo de cáncer de endometrio, dada la proliferación celular excesiva. Por lo tanto, tal vez no sería la disminución de P lo que produjo hiperplasia del endometrio en las ratas expuestas sino la falta de oposición estrogénica en relación al aumento de P. Estas alteraciones afectan la implantación y podrían ser objeto de análisis en un estudio próximo que evalúe la implantación embrionaria bajo los efectos del glifosato.

En este trabajo no se pudo demostrar que la acción del glifosato para producir estos efectos haya estado mediada por receptores. Deberían investigarse sus efectos a nivel nuclear, mediante la evaluación de ARNm, por ejemplo.

La correlación histológica de la ventana de implantación también es tema de controversias.

Sólo el 15% aproximadamente de los ciclos menstruales en las mujeres tiene la duración es-

tablecida de 28 días y todos los estudios en los que se investigaron marcadores de implantación en relación a la histología fueron llevados a cabo según la duración de un ciclo de 28 días.<sup>48</sup> Además, estudios génicos para receptividad han desestimado la importancia del fechado histológico para la determinación del endometrio receptivo. Por otro lado, en un estudio en el que se evalúan las características endometriales implantatorias se confirma que la variabilidad inter-observador podría tener una gran repercusión clínica al momento de determinar histológicamente la ventana de implantación.<sup>49</sup>

En el presente trabajo se estableció un modelo matemático para intentar suprimir la apreciación subjetiva del recuento de células endometriales, por lo que los resultados logrados podrían ser consistentes.

El estudio de las células de descamación de la vagina presentó, en el grupo de exposición al glifosato, características de impregnación progesteracional al observarse células coincidentes con la fase de metaestro. Estos resultados no tendrían una correlación con los hallazgos hormonales ni con la expresión de los receptores de P, probablemente debido al escaso número de células vaginales halladas.

Si bien serían necesarios más estudios relacionados con la presente investigación, es importante remarcar que el *Roundup Full II*<sup>®</sup> provoca un desbalance en el ciclo estral, en la producción de P y en el número de células endometriales, afectando así la receptibilidad endometrial. Estos hallazgos marcarían un precedente que hace pensar sobre el posible efecto de este herbicida en la regulación de la implantación en humanos.

## Conclusiones

La reproducción es un proceso indispensable en la vida de los organismos ya que debido a ella perduran las especies a lo largo del tiempo.

Desde la revolución industrial, el hombre ha contribuido en gran medida a alterar el medio ambiente a través de diversos mecanismos. El desarrollo de ciertas tecnologías para mejorar el rendimiento de los campos para la agricultura está causando daños severos en el ecosistema.

En las ratas hembras, este trabajo mostró que el glifosato es capaz de inducir modificaciones a nivel endometrial aumentando el número de células

del estroma y disminuyendo los valores séricos de P. Sin bien estos resultados son contradictorios, ambas modificaciones influyen de manera directa en la receptividad endometrial y en la capacidad implantatoria.

Para el análisis más profundo sobre los cambios a nivel del endometrio debería desarrollarse un futuro trabajo de investigación en el cual se evalúe la interacción de un embrión en cultivo de líneas celulares endometriales autólogo expuesto previamente al glifosato. De esta manera se podría conocer más sobre el real impacto del glifosato en la receptividad endometrial.

## Referencias

1. Bosch E, Valencia I, Escudero E et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2003;80:1444-1449.
2. Kyrou D, Popovic-Todorovic B, Fatemi, HM, et al. Does the E2 level on the day of human chorionic gonadotrophin administration have an impact on pregnancy rates in patients treated with rec-FSH/GnRH antagonist? *Hum Reprod* 2009;24:2902-2909.
3. Papanikolaou, EG, Kolibianakis, EM, Pozzobon C, et al. Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome in day 3 single-embryo transfer, while has no effect on day 5 single-blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2009; 91:949-952.
4. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, Pellicer A. Human Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Human Reprod* 2010; 25:2092-2100.
5. Vaerenbergh I, Fatemi HM, Blockeel C, Van Lommel L, In't Veld P, Schuit F, Kolibianakis EM, Devroey P, Bourgain C. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/rFSH stimulated cycles affects endometrial gene expression. *Reproductive BioMedicine Online* 2011; 22:263-271.
6. Fanchin R, Righini C, Olivennes F et al. Consequences of premature progesterone elevation on the outcome of in vitro fertilization: insights into a controversy. *Fertil Steril* 1997;68:799-805.
7. Aboubakr M. Elnashar. Progesterone rise on the day of HCG administration (premature luteinization) in IVF: An overdue update. *J Assist Reprod Genet* 2010;27:149-155.
8. Dey S, Lim H, Das S, Reese J, Paria B, Daikoku T, Wang H. Molecular Cues to Implantation. *Endocrine Reviews* 2004;25:341-373.
9. Stavreus-Evers, G, Nikas, L, Sahlin, H, Eriksson, B.M. Landgren. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil Steril* 2001; 76: 782-791.
10. Salehnia M. Different pattern of pinopodes expression in stimulated mouse endometrium. *Experimental Animals* 2005; 54:349-352.

11. Rashidi B, Rad JS, Roshangar L, Miran RA. Progesterone and ovarian stimulation control endometrial pinopode expression before implantation in mice. *Pathophysiology* 2012;19(2):131-135.
12. Martel D, Monier MN, Roche D, Psychoyos A. Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface. *Hum Reprod* 1991;6:597-603.
13. Quinn CE, Detmar J, Casper RF. Pinopodes are present in *Lif* null and *Hoxa10* null mice. *Fertil Steril* 2007;88(4):1021-1028.
14. Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet* 2006;7:185-199.
15. Ramathal CY, Bagchi IC, Taylor RN, Bagchi MK. Endometrial decidualization: of mice and men. *Semin Reprod Med* 2010;28:17-26.
16. Grummer R, Chwalisz K, Mulholland J, Traub O, Winterhager E. Regulation of connexin26 and connexin43 expression in rat endometrium by ovarian steroid hormones. *Biol Reprod* 1994;51:1109-1116.
17. Zhang Z, Funk C, Glasser SR, Mulholland J. Progesterone regulation of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor gene expression during sensitization and decidualization in the rat uterus: effects of the antiprogestin, ZK 98.299. *Endocrinology* 1994;135:1256-1263.
18. Caserta D, Mantovani A, Marci R, Fazi A, Ciardo F, La Rocca C, Maranghi F, Moscarini M. Environment and women's reproductive health. *Hum Reprod Update* 2011;17(3):418-433.
19. Figa-Talamanca I. Occupational risk factors and reproductive health of women. *Occup Med (Lond)* 2006;56:521-531.
20. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Hum Reprod* 2009;24:1200-1205.
21. Frazier LM. Reproductive disorders associated with pesticide exposure. *J Agromedicine* 2007;12:27-37.
22. de Cock J, Westveer K, Heederik D, te Velde E, van Kooij R. Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in the Netherlands. *Occup Environ Med* 1994;51:693-699.
23. Hanke W, Jurewicz J. The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: an overview of current epidemiological evidence. *Int J Occup Med Environ Health* 2004;17:223-243.
24. Curtis KM, Savitz DA, Weinberg CR, Arbuckle TE. The effect of pesticide exposure on time to pregnancy. *Epidemiology* 1999;10:112-117.
25. Abell A, Juul S, Bonde JP. Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health* 2000;26:131-136.
26. Villa R, Bonetti E, Penza ML, Iacobello C, Bugari G, Bailo M, Parolini O, Apostoli P, Caimi L, Ciana P et al. Target-specific action of organochlorine compounds in reproductive and nonreproductive tissues of estrogen-reporter male mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;201:137-148.
27. Aldad TS, Rahmani N, Leranath C, Taylor HS. Bisphenol-A exposure alters endometrial progesterone receptor expression in the nonhuman primate. *Fertil Steril* 2011;96(1):175-179.
28. Inoue MH, Oliveira-Jr RS, Regitano JB, Tormena CA, Tornisiolo VL, Constantin J. Criterios para avaliacao do potencial de lixiviacao dos herbicidas comercializados no Estado do Parana'. *Planta Daninha* (2003) 21:313-323.
29. Sistema Integrado de Información Agropecuaria, Programa de Servicios Agrícolas Provinciales, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Disponible en: <http://dev.siaa.gov.ar/series>.
30. Adam A, Marzuki A, Abdul Rahman H, Abdul Aziz M. The oral and intratracheal toxicities of ROUNDUP and its components to rats. *Vet Hum Toxicol* 1997;39(3):147-151.
31. Dallegrave E, Mantese FD, Dalsenter PR, Langeloh A. Acute oral toxicity of glyphosate in Wistar rats. *On Line J Vet Res* 2002;1:29-34.
32. Informe acerca del grado de toxicidad del Glifosato. 2010. Universidad Nacional del Litoral (UNL). Disponible en: [www.unl.edu.ar/noticias/media/docs/Informe%20Glifosato%20UNL.pdf](http://www.unl.edu.ar/noticias/media/docs/Informe%20Glifosato%20UNL.pdf).
33. Williams GM, Kroes R, Munro IC. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Reg Toxicol Pharmacol* 2000;31:117-165.
34. CONICET 2009. Op.cit.pág 41.
35. WHO. Glyphosate. Environmental health criteria N° 159. WHO, Geneva;1994.
36. EPA Office of Pesticide and Toxic Substances, U.S. "Second peer review of glyphosate". Memo de W. Dykstra and GZ Ghali, Health Effects Division a R. Taylor, Registration Division, y Lois Rossi, Special Review and Re-registration Division. Washington DC; 30 de octubre de 1991.
37. Séralini GE, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennequin D, de Vendômois JS. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem Toxicol* 2012;50:4221-431.
38. Dallegrave E, Mantese FD, Coelho RS, Pereira JD, Dalsenter PR, Langeloh A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicol Lett* 2003;142:45-52.
39. Lu FC. A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by WHO. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995;21:352-364.
40. Romano y cols. 2012. Op.cit. pág 37.
41. Press M, Spaulding B, Groshen S, Kaminsky D, Hagerty M, Sherman L, Christensen K, Edwards DP. Comparison of different antibodies for detection of progesterone receptor in breast cancer. *Steroids* 2002 Aug;67(9):799-813.
42. GUIDE LABORATORY ANIMALS FOR THE CARE AND USE. 8° Edition. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research. Washington DC.
43. Dinham B, Malik S. Pesticides and human rights. *Int J Occup Environ Health* 2003;9:40-52.
44. Romano y cols. 2012. Op. Cit pág 37.
45. Mirkin S y cols., 2004;Op. cit. pág 12.
46. Labarta y cols, 2011. Op. Cit. pág 11.
47. Bosch E y cols. 2003. Op.cit pág 10.
48. Munster K, Schmidt L, Helm P. Length and variation in the menstrual cycle—a cross-sectional study from a Danish county. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:422-429.
49. Evans GE1, Phillipson GT, Sin IL, Frampton CM, Kirker JA, Bigby SM, Evans JJ. Gene expression confirms a potentially receptive endometrium identified by histology in fertile women. *Hum Reprod* 2012 Sep;27(9):2747-2755.