



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
"Francisco García Salinas"

Unidad Académica de Ciencias Químicas
Maestría en Ciencia y Tecnología Química

TESIS

"Evaluación de la función tiroidea de ratas wistar expuestas crónicamente a $PM_{2.5}$ y arsenito de sodio."

Para Obtener el Grado de Maestro en Ciencia y Tecnología Química

Presenta

María de los Angeles Gallegos Bañuelos

Directora:

Dra. Irma Elizabeth González-Curiel

Co-director:

Dr. César Enrique Rivas Santiago

Zacatecas, Zac., Noviembre de 2021

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental de la Maestría en Ciencia y Tecnología Química (MCTQ) de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, en conjunto con la Unidad de Análisis conductual del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, campus Juriquilla Querétaro, así como en el Bioterio *Claude Bernard* del Área de Ciencias de la Salud.

De igual manera se agradece el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría con registro de CVU. No 1009645.

I	Índice	
I	Índice.....	i
II	Índice de Figuras.....	iii
III	Índice de Tablas.....	iv
IV	Índice de Gráficas.....	v
V	Abreviaturas y acrónimos.....	vi
	Resumen.....	viii
	Abstract.....	ix
I	Introducción.....	1
II	Antecedentes.....	3
2.1	Material Particulado (PM).....	3
2.1.1	Características del material particulado.....	5
2.1.2	Mecanismo de formación de PM.....	6
2.1.3	Normatividad.....	7
2.1.4	Distribución del PM _{2.5}	8
2.1.5	Efectos del PM _{2.5}	9
2.2	Arsénico.....	11
2.2.1	Aspectos históricos.....	12
2.2.2	Generalidades del Arsénico.....	13
2.2.3	Distribución.....	14
2.2.4	Normatividad.....	19
2.2.5	Vías de exposición y Toxicocinética.....	20
2.2.6	Mecanismo de Toxicidad.....	22
2.3	Tiroides.....	25
2.3.1	Hormonas tiroideas.....	26
2.3.2	Biosíntesis de hormonas en la glándula tiroidea.....	27
2.3.3	Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides.....	29
2.3.4	Enfermedades tiroideas.....	30
2.3.5	Afecciones a la función tiroidea por PM _{2.5} y As.....	32
III	Justificación.....	35
IV	Hipótesis.....	36
V	Objetivos.....	37
5.1	Objetivo general.....	37
5.2	Objetivos particulares.....	37
VI	Metodología.....	38
6.1	Colección del material particulado.....	38

6.2	Preparación de la suspensión de PM _{2.5}	38
6.3	Animales de experimentación	38
6.3.1	Consideraciones éticas.....	38
6.4	Modelo experimental: Exposición crónica	39
6.5	Determinación de los efectos dependientes de la función tiroidea.	40
6.5.1	Monitoreo de la temperatura corporal	40
6.5.2	Evaluación de la Tasa metabólica basal	40
6.5.3	Índice de Lee (IL).....	41
6.6	Evaluación de la función motora	41
6.6.1	Sistema de campo abierto	41
6.7	Evaluación de la función cognitiva	42
6.7.1	Laberinto Y	42
6.8	Sacrificio de los animales de experimentación para la obtención de biopsia líquida y glándula tiroidea	42
6.9	Determinación del perfil tiroideo estándar (TSH, T ₄ T, FT ₄ , T ₃ T, FT ₃) mediante ensayos electroquimioluminiscente competitivos y tipo sándwich.	43
6.10	Evaluación histopatológica y morfometría de la glándula tiroidea	45
6.11	Conteo de folículos tiroideos y análisis de las alteraciones histopatológicas	46
6.12	Análisis estadístico	47
VII	Resultados	48
7.1	Monitoreo de la temperatura corporal	48
7.2	Evaluación de la Tasa metabólica basal	48
7.3	Índice de Lee	50
7.4	Evaluación de la función motora (Sistema de campo abierto).....	52
7.5	Laberinto Y (Evaluación de la función cognitiva).....	53
7.6	Determinación del perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición. 55	
7.7	Evaluación histopatológica de la glándula tiroidea	57
VIII	Discusión	61
IX	Conclusiones	¡Error! Marcador no definido.
X	Anexos	76
XI	Referencias	66

II Índice de Figuras

Fig. 1. Comparación del tamaño de partículas de PM	4
Fig. 2. Concentración en µg/m ³ de PM _{2.5} en las distintas regiones del mundo	8
Fig. 3. Emisión de PM _{2.5} por entidad federativa en México	9
Fig. 4 Cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana de Salud Ambiental de PM _{2.5} en ciudades y zonas metropolitanas de México en el año 2018	9
Fig. 5. Efectos en la salud del PM _{2.5}	11
Fig. 6. Países en donde los niveles de As en agua superan los 10 µg/L	15
Fig. 7. Presencia de altos niveles de As reportados	16
Fig. 8. Concentraciones de As en el estado de Zacatecas	19
Fig. 9. Metabolismo de arsénico en el organismo	22
Fig. 10 Histología de la tiroides	26
Fig. 11 . Estructura general de las HT	27
Fig. 12 .Biosíntesis de las HT	29
Fig. 13 Eje Hipotálamo-Hipófisis	30
Fig. 14 . Ilustración de la caja de campo abierto	42
Fig. 15 Principio de inmunoensayo tipo competitivo (Roche Diagnosis, 2011)	44
Fig. 16 Cortes histológicos de tiroides con tinción H&E a 40X.....	59

III Índice de Tablas

Tabla 1. Compuestos presentes en PM.....	6
Tabla 2. Proceso para la formación del diferente PM	7
Tabla 3. Principales especies de As presentes en agua y alimentos.....	14
Tabla 4. Concentración de As en agua en distintos municipios del Estado de Zacatecas.....	17
Tabla 5. Límites Máximos Permisibles de As en Agua de acuerdo a las normas internacionales y nacionales	19
Tabla 6. Efectos de la exposición crónica y aguda a As.	23
Tabla 7. Niveles de hormonas en las distintas enfermedades	31
Tabla 8. Impacto de As y PM _{2.5} sobre la función tiroidea.....	33
Tabla 9 Distribución de los distintos grupos de tratamiento.....	39
Tabla 10 Variables biométricas por grupos y tiempos de tratamiento.....	51
Tabla 11. Perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición	55

IV Índice de Gráficas

Gráfico 1. <i>Temperatura promedio de 4 ratas por grupo</i>	48
Gráfico 2. <i>Calorimetría indirecta durante 48 hrs</i>	50
Gráfico 3 <i>Media de los datos de talla y masa medidos diariamente.</i>	52
Gráfico 4. <i>Sistema en campo abierto</i>	53
Gráfico 5. <i>Laberinto Y.</i>	54
Gráfico 6. <i>Perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición</i>	57
Gráfico 7. <i>Medidas del folículo.</i>	60

V Abreviaturas y acrónimos

As. Arsénico

As^{III}. Arseniato o Arsénico trivalente

As^V. Arsenito o Arsénico pentavalente

As+PM_{2.5}. Grupo en co-exposición arsénico+PM_{2.5}.

C. Carbono

CE. Carbono elemental (hollín)

Cl. Cloro

CONAGUA. Comisión Nacional de Agua Potable

CRETI. Residuos Corrosivos, Reactivos, Tóxicos e Inflamables

Ctrlv.o. Grupo control vía oral

Ctrlv.i. Grupo control vía intratraqueal

ECL. Electroquimioluminiscencia

EPA. Agencia de Protección Ambiental

F. Flúor

FAAP. Fuente de abastecimiento de agua potable

FT₃. Triyodotironina libre

FT₄. Tetrayodotironina libre

H. Hidrógeno

H&E. Hematoxilina y Eosina

HAP. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Hg. Mercurio

HT. Hormona Tiroidea

I. Yodo inorgánico

I₂. Yodo orgánico

iAs. Arsénico Inorgánico

IARC. Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer

IL Índice de Lee

LHA. Longitud Hocico-Ano

LMP. Límites Máximos Permisibles

NaAsO₂. Arsenito de Sodio
NO_x. Óxidos de Nitrógeno
OMS. Organización Mundial de la Salud
PAS. Periodic Acid-Schiff
PCB. Policlorados bifenilos
Pb. Plomo
PM₁₀. Material Particulado grueso
PM_{2.5}. Material Particulado fino
ppm. Partes por millón
RPBI. Residuos Peligroso Biológico Infeccioso
RQ Cociente de respiración
S. Azufre
SE. Sistema Endocrino
Se. Selenio
SNC. Sistema Nervioso Central
SNP. Sistema Nervioso Periférico
T₁. Monoyodotirosina
T₂. Diyodotirosina
T₃. Triyodotironina
T₄. Tetrayodotironina
TPO. Peroxidasa Tiroidea
TRH. Hormona Liberadora de Tirotropina
TSH. Hormona Estimulante de Tiroides
TSI. Inmunoglobulina estimulante de tiroides
Tg. Tiroglobulina
PM. Grupo tratamiento PM_{2.5}
UCP1 uncoupling protein1
VOCs. Compuesto Orgánicos Volátiles

Resumen

En la actualidad uno de los principales causantes de enfermedades es la exposición a sustancias presentes en el ambiente, como lo es el caso del PM_{2.5} en el aire, o bien el arsénico en el agua, de los cuales se han reportado excedentes de los niveles máximos permisibles; lo cual en otras investigaciones se ha relacionado con afecciones en tiroides, es por eso que en el objetivo del presente trabajo fue evaluar el daño en tiroides debido a la co-exposición a dichas sustancias en ratas Wistar. Para esto se utilizaron 5 grupos; **Ctrlv.o** (control vía oral) Agua purificada, **Ctrlv.i.**(control vía intratraqueal) solución salina intratraqueal, As (tratamiento de As) NaAsO₂ en agua purificada, PM_{2.5} (tratamiento de PM_{2.5}) PM_{2.5} Intratraqueal y PM+As (grupo en co-exposición) NaAsO₂ en agua de bebida y PM_{2.5} intratraqueal. A los cuales diariamente se les midió la temperatura, además fueron pesados y medidos, de donde se observó una diferencia significativa en la ganancia de peso, así como de la regulación en la temperatura corporal entre el grupo As, y el resto de los grupos. Para la evaluación de la tasa metabólica basal se calculó el RQ donde se presentaron cambios significativos entre los grupos de As y los PM_{2.5} respecto al grupo PM_{2.5}+As; así como entre el grupo Ctrlv.i. y los grupos PM_{2.5} y PM_{2.5}+As. Al evaluar la función motora se observa que los grupos de As y PM, fueron los que recorrieron una mayor distancia en la prueba, en comparación con el resto de los grupos. Además, el grupo de As recorrió mayor distancia en los cuadrantes centrales. Para la determinación del perfil tiroideo resultados muestran que hubo cambios estadísticamente significativos al tiempo 28 en todos los parámetros tiroideos a excepción de T₄T. Para la evaluación histopatológica de la glándula tiroidea se notó la presencia de folículos vacíos; principalmente en el día 28 de los distintos tratamientos. En medición de la pared folicular, para los tiempos 7 y 14 los grupos en tratamiento muestran un aumento en el tamaño de la pared folicular. Mientras que en el tiempo 28 se el comportamiento se revierte. Con lo que se puede concluir que a pesar de que tanto el As como el PM_{2.5} por separado generan daños en tiroides, al existir una co-exposición el daño se atenúa.

Palabras clave: Arsénico, material particulado, tiroides

Abstract.

One of the leading causes of diseases is exposure to pollutants, such as PM_{2.5} in the air or Arsenic in water. Surpluses of both contaminants have been reported, which has been associated with thyroid disorders. This work aims to assess the thyroid alterations caused by long-term co-exposure to sodium arsenite and PM_{2.5} in Wistar rats. For this, Wistar rats were divided into five groups; Oral control (Ctrl_{v.o.}), which received only purified water, Intratracheal control (Ctrl_{v.i.}) that received every other day sterile saline solution intratracheally, Arsenic treatment (As) received NaAsO₂ in purified water, PM_{2.5} treatment (PM_{2.5}) PM_{2.5} solution was administrated every second day via intratracheal and the co-exposure group (PM + As) which intake sodium arsenite through water and received every two days PM_{2.5} intratracheally.

The temperature and weight were measured daily, observing significant changes in gained weight and dysregulation in body temperature, mainly in As group. The basal metabolic rate was calculated, significant changes were observed in As and PM_{2.5} groups compared with PM_{2.5}+As group. Similar differences were observed between Ctrl_{v.i.} and PM_{2.5} and PM_{2.5}+As groups. Evaluation of motor function showed that the As and PM groups were the ones that covered a greater distance in the test compared to the rest of the groups. Besides, alterations in all thyroid parameters except for T₄T were observed in experimental groups after 28 days of exposure. Histopathological evaluation of the thyroid gland demonstrated the presence of empty follicles, mainly after 28 days of exposure to the different experimental conditions. After 7 and 14 days of treatment, the follicular wall was thicker, while after 28 days of exposure looked thinner.

In conclusion, both As and PM_{2.5} separately generate damage to the thyroid, but the damage is attenuated when there is a co-exposure.

Keywords: arsenic, particulate matter, thyroid

I Introducción

La contaminación ambiental representa uno de los mayores problemas del siglo XXI, ya que es un fenómeno que afecta seriamente a la Salud; no sólo a los seres humanos, también altera el equilibrio de los ecosistemas. Un contaminante se refiere a cualquier sustancia extraña o bien que se encuentre en concentraciones mayores a las que se encontraría normalmente en la naturaleza. En general, las personas y los animales de vida silvestre estamos expuestos a mezclas de más de dos o más sustancias tóxicas, esto debido a que en el ambiente los compuestos químicos no se encuentran de manera aislada, sino que hay cocteles de contaminantes a los cuales se puede tener contacto por distintas vías como es por inhalación o por vía oral (Celis et al., 2007; Skeffington, 1994; Zhang et al., 2015).

Los principales contaminantes de la atmosfera relacionados con problemas en la salud son los óxidos de azufre y nitrógeno; ozono; material particulado (PM, por sus siglas en inglés); compuestos orgánicos y trazas de elementos, entre los que se encuentra: arsénico (As), plomo (Pb), mercurio (Hg), flúor (F) y selenio (Se) (Geddes & Murphy, 2012; Miller, 2011).

Debido a la relación que tiene el PM con los problemas de salud, en el 2017, Janssen y colaboradores realizaron un estudio en el que determinaron los niveles de hormonas tiroideas libres (FT₃, FT₄) y hormona estimulante de la tiroides (TSH) en sangre del cordón umbilical y en sangre periférica de la mujer puérpera. Los resultados sugieren que las exposiciones del primer trimestre a PM_{2.5} se asociaron con una disfunción tiroidea leve durante todo el embarazo, la cual puede contribuir a reducir el peso al nacer. En estudios similares posteriores, se obtuvieron los mismos resultados, demostrándose así que el PM tiene relación directa con la regulación de hormonas tiroideas, durante el embarazo y en el neonato. (Howe et al., 2018; Janssen et al., 2017; X. Wang et al., 2019; Zhao et al., 2019)

Por otro lado, la exposición al As en agua de bebida puede estar asociada con la disfunción tiroidea, lo que a su vez podría afectar el desarrollo neurológico (Khan et al., 2019). En el 2016 Jain y colaboradores, en su investigación

concluyeron que As debería ser motivo de preocupación, ya que puede alterar la homeostasis tiroidea. La tiroides es una glándula, cuya función es la de producir y liberar hormonas las cuales están involucradas en el crecimiento, en el mantenimiento de la mayor parte de las funciones corporales y en la regulación del metabolismo. La función normal de la glándula tiroides es crítica para el desarrollo neurocognitivo temprano, así como para el crecimiento y desarrollo durante la infancia y la adolescencia (Hanley et al., 2016). Debido a la gran relevancia de la función tiroidea es de gran importancia estudiar los factores que pudieran afectarla.

Debido a que tanto el PM_{2.5}, como el As son compuestos que se encuentran presentes en el ambiente durante nuestra vida cotidiana (en el aire y el agua, respectivamente), nos encontramos expuestos a ellos simultáneamente, por esta razón, es de interés el conocer las posibles afecciones que se pudieran presentar en la función tiroidea.

Es por esto que en el presente estudio se evalúan las afecciones en tiroides relacionadas con la exposición prolongada tanto al PM_{2.5}, como al As, por medio de un modelo murino que se encontrará expuesto vía intratraqueal a PM_{2.5} colectado en la Ciudad de México, así como a As en su forma trivalente (NaAsO₂) la cual es soluble en agua.

II Antecedentes

2.1 Material Particulado (PM)

El Material Particulado es un término generalmente utilizado para clasificar a un conjunto de contaminantes del aire que consiste en una mezcla entre gotitas de líquido y partículas sólidas suspendidas en la atmosfera, las cuales pueden variar en tamaño y composición (Geddes & Murphy, 2012); pueden ser clasificados como contaminantes primarios, o bien como contaminantes secundarios debido a que pueden ser emitidos directamente a la atmosfera, pero también pueden formarse en ella al combinarse diversos contaminantes formando así una nueva estructura (WHO, 2016).

El PM puede causar una amplia gama de enfermedades, lo cual ha sido relacionado directamente al tipo de partícula. No obstante, debido a la variabilidad de su estructura, no es posible su caracterización a una sola dimensión; es por esta razón, que se clasifican de acuerdo a su diámetro aerodinámico, el cual es un indicador del diámetro de una partícula esférica de densidad unitaria que tiene la misma velocidad terminal que la partícula considerada, independiente de su forma o densidad bajo condiciones de temperatura, presión y humedad existentes. En la **Fig. 1** se puede observar las dimensiones aproximadas de las partículas las cuales se pueden clasificar en: (INECC, 2016; Kim et al., 2015):

- Partículas ultrafinas tiene un diámetro aerodinámico $<0.1 \mu\text{m}$
- Partículas finas (PM_{2.5}) $\leq 2.5 \mu\text{m}$
- Partículas gruesas (PM₁₀) con un diámetro de $\leq 10 \mu\text{m}$

La composición del PM es muy diversa y puede incluir nitratos; sulfatos; carbono elemental y orgánico; compuestos orgánicos (por ejemplo, hidrocarburos aromáticos policíclicos); compuestos biológicos (por ejemplo, endotoxinas o fragmentos celulares); y metales (por ejemplo, hierro, cobre, níquel, zinc y vanadio) (Kim et al., 2015)

Debido a la variabilidad en su composición, no es raro que al PM se le han atribuido aproximadamente 2,94 millones de muertes, posicionándose en el octavo factor de riesgo prioritario en todo el mundo (Li et al., 2019).

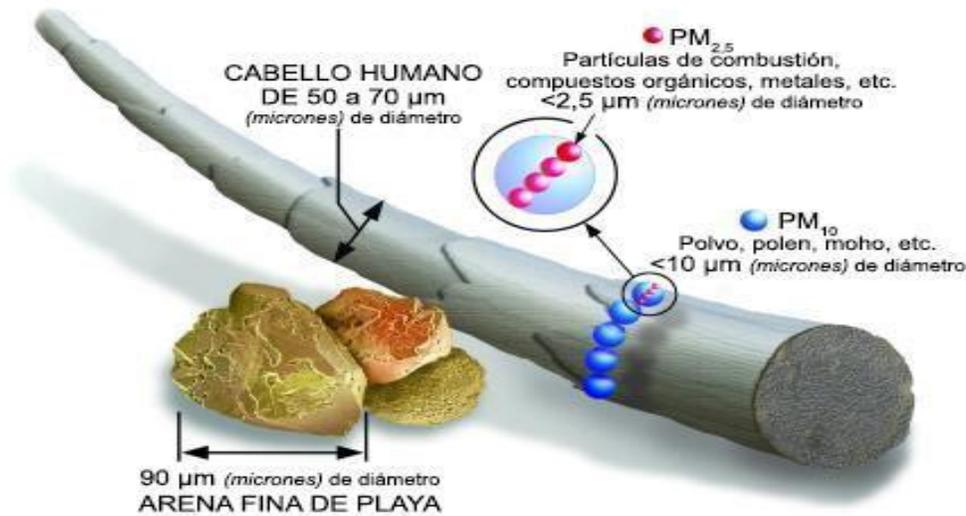


Fig. 1. Comparación del tamaño de partículas de PM (US EPA, 2014.)

El PM es emitido a la atmosfera, resultante de diversas actividades antropogénicas como las procedentes de las instalaciones industriales, plantas de energía, vehículos, incineradores, polvo, incendios, actividades de construcción y otros procesos en los cuales, se suspenden partículas a la atmosfera. El PM en conjunto con los factores meteorológicos causa el smog, lo que agrava aún más la salud ambiental y pone en riesgo a los habitantes de dicha zona geográfica (El Morabet, 2018; Geddes & Murphy, 2012).

2.1.1 Características del material particulado

Las propiedades fisicoquímicas del PM, a diferencia de otros contaminantes atmosféricos, pueden variar dependiendo del proceso de formación, la fuente, la distancia a la fuente y factores climáticos; las principales variaciones son:

- **Forma:** Esta tiene efecto sobre el diámetro aerodinámico de la partícula, además tiene gran importancia debido a la dispersión de la luz solar que es causada por la interacción con la partícula. Puede presentar gran variedad de formas, como esferas, elipses, cubos formas irregulares o geometría fractal (INECC, 2016).
- **Tamaño:** pueden ser partículas ultrafinas (PM_{0.1}) diámetro aerodinámico < 0.1 µm, partículas finas (PM_{2.5}) ≤ 2.5 µm y partículas gruesas (PM₁₀) con un diámetro de ≤ 10 µm, esto es importante ya que dependiendo del tamaño pueden depositarse en torrente sanguíneo, cavidad alveolar o tracto respiratorio, respectivamente (INECC, 2016).
- **Composición química:** Esta es dependiente principalmente de la fuente emisora; puede transportar desde compuestos orgánicos tóxicos como hidrocarburos poliaromáticos (HAP), metales o hasta endotoxinas microbianas que puedan producir efectos biológicos (Esto desarrolló la teoría de que las partículas pueden transportar toxicidad causando componentes que atacan los órganos, incluido el cerebro) (El Morabet, 2018). Los principales componentes del PM se muestran en la **Tabla 1**.
- **Permanencia en la atmósfera:** Un aspecto importante de las partículas finas es que persiste en la atmósfera por mucho más tiempo que las partículas gruesas (días a semanas en lugar de horas a días); Esto se debe a que su eliminación depende, ya sea de la lluvia o bien por deposición seca, mientras que las partículas gruesas caen rápidamente debido al asentamiento gravitacional (Geddes & Murphy, 2012).

Por otro lado, se ha descrito que el PM puede contener metales de transición solubles que instigan el estrés oxidativo, causando respuestas inflamatorias (El Morabet, 2018).

En este sentido, los constituyentes químicos identificados en PM_{2.5} urbano consisten principalmente en sulfato, nitrato, amonio, compuestos orgánicos y hollín (carbón elemental), traza de metales (una mezcla de los cuales pueden estar presentes en la misma partícula), los cuales pueden provenir de diversas fuentes primarias y secundarias (Poschl, 2005; Zhang et al., 2015).

Tabla 1. Compuestos presentes en PM (INECC, 2016)

Compuestos mayoritarios	Compuestos minoritarios
<ul style="list-style-type: none"> • Sulfatos (SO₄) • Nitratos (NO₃) • Amonio (NH₄) • Sodio y cloro (Na y Cl) • Carbón elemental • Carbón orgánico o Aerosol orgánico secundario • Componentes minerales o Fe₂O₃, Ca, Si y Al • Agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Elementos traza: por ejemplo, metales, como plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), níquel (Ni), cromo (Cr), zinc (Zn) y magnesio (Mg), etc • Compuestos orgánicos (hidrocarburos aromáticos, alifáticos, aldehídos, ácidos carboxílicos y cetonas entre otros).

2.1.2 Mecanismo de formación de PM

El PM primario es emitido directamente a la atmosfera, mientras el PM secundario se forma en la atmosfera a través de la conversión de gas a partículas. El PM_{2.5} puede ser formado de ambas maneras, pero principalmente se genera de gases que interaccionan en la atmosfera y que se combinan con partículas, haciendo que la partícula crezca y/o cambie de composición. La formación de una fracción significativa de partículas finas puede atribuirse en última instancia a reacciones de oxidación de varios gases precursores. En consecuencia, las concentraciones de PM_{2.5} a menudo son sensibles a factores ambientales así como a las

concentraciones atmosféricas de NO_x, VOCs, dióxido de azufre (SO₂) y amoníaco (NH₃) (Geddes & Murphy, 2012; INECC, 2016; Zhang et al., 2015). En la **Tabla 2**, se pueden observar los principales procesos de formación de los distintos tipos de partículas.

Tabla 2. Proceso para la formación del diferente PM (INECC, 2016)

	Tipo de partículas		
	Ultrafinas (PM _{0.1})	Finas (PM _{2.5})	Gruesas (PM ₁₀)
Proceso de formación	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleación de gases atmosféricos, incluidos H₂SO₄, NH₃ y algunos compuestos orgánicos • Condensación de gases 	<ul style="list-style-type: none"> • Condensación de gases • Coagulación de partículas pequeñas • Reacción de gases en o sobre las partículas • Evaporación de neblina y gotas de agua en las que los gases se han disuelto y reaccionado 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesos mecánicos (prensado, molienda, abrasión, rompimiento de sólidos/gotas) • Evaporación de aerosoles • Suspensión de polvos • Reacción de gases en o sobre partículas

2.1.3 Normatividad

La NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud ambiental. *Valores límites permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM₁₀ y PM_{2.5} en el aire ambiente y criterios para su evaluación.* Establece los Límites Máximos Permisibles (LMP) para la concentración de partículas suspendidas de PM₁₀ y PM_{2.5} en el aire y los criterios para su evaluación. A continuación, se menciona los LMP en la población:

- **PM₁₀**: El LMP en 24 horas corresponde a 75 µg/m³, mientras que el promedio del LMP anual a 40 µg/m³
- **PM_{2.5}**: El LMP en 24 horas corresponde a 45 µg/m³, mientras que el promedio del LMP a 12 µg/m³

Asimismo, en el 2015, la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) declaró que los niveles más bajos con los cuales se ha demostrado,

con más del 95% de confianza, que la mortalidad total, cardiopulmonar y por cáncer de pulmón, aumenta en respuesta a la exposición prolongada al PM_{2.5} es de 50 µg/m³ en 24 horas como promedio y de 10 µg/m³, como promedio anual, por lo que estos serían los límites máximos recomendables.

Debido a la ambigüedad entre la normatividad nacional e internacional, diversas instancias invitan a buscar la manera de minimizar el daño ambiental; aunque la falta de entendimiento en la formación de dichas partículas impide crear modelos que predigan o simulen episodios con los cuales se podría minimizar el impacto, local, regional y global (Zhang et al., 2015).

2.1.4 Distribución del PM_{2.5}

Las concentraciones mayores de PM_{2.5} se observan en países de África del norte (Ej. Nigeria con 204 µg/m³), el este de África y el medio oriente (Ej. Arabia Saudita con 188 µg/m³), estos datos se pueden visualizar en la **Fig 2**.

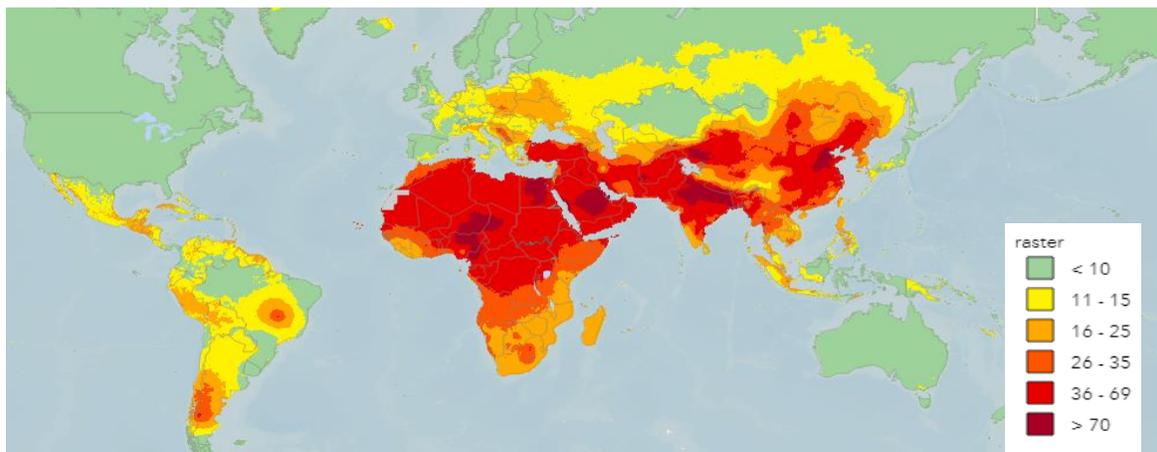


Fig. 2. Concentración en µg/m³ de PM_{2.5} en las distintas regiones del mundo (WHO, 2018)

De forma interesane, en el 2016, la OMS, reportó que, en México, la concentración promedio anual de PM_{2.5} correspondió a 20.9 µg/m³, concentración por encima de los valores recomendados tanto por la OMS como de la NOM.

En México, reportes de SEMARNAT en 2013 el 98% de los municipios emitieron entre una y 1,600 toneladas, los cinco municipios que emitieron mayor volumen de este contaminante fueron Nava (Coahuila), La Unión de Isidoro Montes de oca

(Guerrero), Tula de Allende (Hidalgo), Tuxpan (Veracruz) y Othón P. Blanco (Quintana Roo).

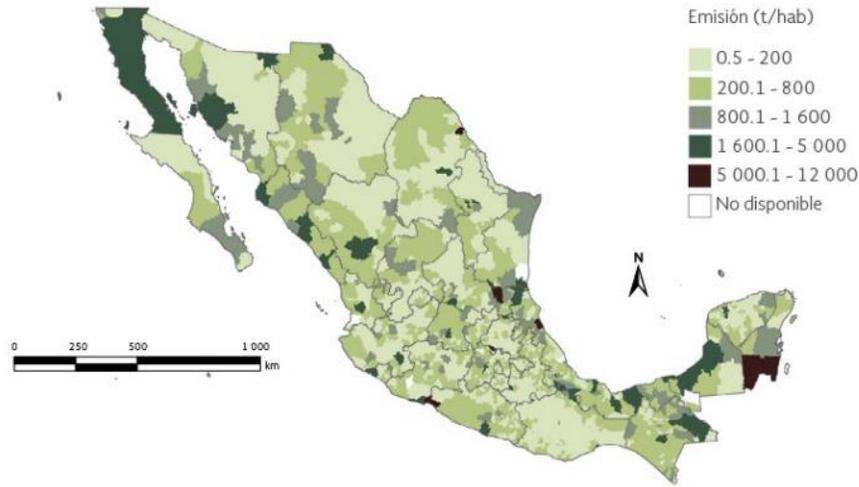


Fig. 3. Emisión de PM_{2.5} por entidad federativa en México (SEMARNAT, 2013)

En el 2018, en México existían 118 estaciones de monitoreo capaces de medir el PM_{2.5}, en la **Fig. 4** podemos observar que solo el 3.4%, cumplió con la NOM-025; el 38.1% no cumplió con la NOM y para el 58.5% de las estaciones restantes no fue posible medir los resultados (por insuficiencia de datos, no estaban en operación o bien la información no estaba disponible) (INECC, 2019).

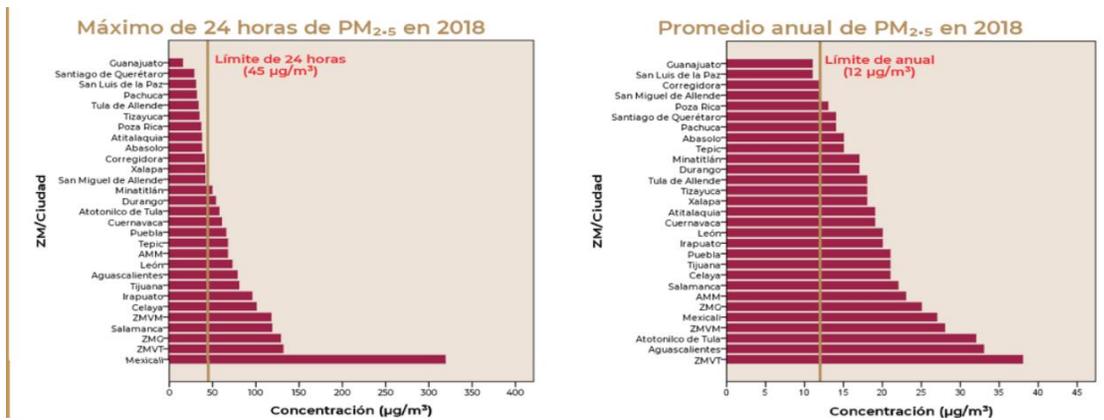


Fig. 4 Cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana de Salud Ambiental de PM_{2.5} en ciudades y zonas metropolitanas de México en el año 2018 (línea vertical indica el límite que se debe cumplir).

2.1.5 Efectos del PM_{2.5}

La toxicidad de PM se deriva en parte por la presencia física de partículas en tejidos biológicos, y también por los efectos tóxicos *per se* de sus componentes

químicos, incluidos como higroscópicos inorgánicos, electrolitos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), policlorados bifenilos (PCB), CE (es decir, hollín), materiales corticales y metales. Adicionalmente, estas partículas puede ingresar a los tejidos extrapulmonares (p. ej., el corazón, tracto reproductivo e intestino) o a través de la circulación sanguínea (Zhang et al., 2015).

Varios estudios que abarcan desde una visión epidemiológica hasta la toxicología, han proporcionado pruebas sólidas de que la exposición a la contaminación atmosférica por partículas tiene un impacto nocivo en la salud humana, especialmente en ancianos y niños. Aunque la evidencia no siempre es coherente, dado que el tamaño de las partículas así como su composición no siempre son conservadas (Huang et al., 2019).

Cuando la presencia de PM_{2.5} en el aire supera el límite seguro, estas partículas causan riesgos para la salud. La exposición prolongada a partículas ha sido asociado con efectos adversos a la salud, por ejemplo esta se ve afectada desde agravamiento de alergias hasta el desarrollo de serias enfermedades crónicas, aumenta el riesgo de accidentes cerebrovasculares, insuficiencia cardiaca y muerte prematura, principalmente a la población susceptible (Huang et al., 2019; D. K. Sarkar & Sarkar, 2015; Schraufnagel et al., 2019).

Un estudio canadiense encontró mayores probabilidades de tener un diagnóstico de enfermedad reumática con aumento de PM_{2.5} en el ambiente (Bernatsky et al., 2016). A continuación, se describe brevemente los efectos del PM_{2.5} en los distintos órganos y sistemas.

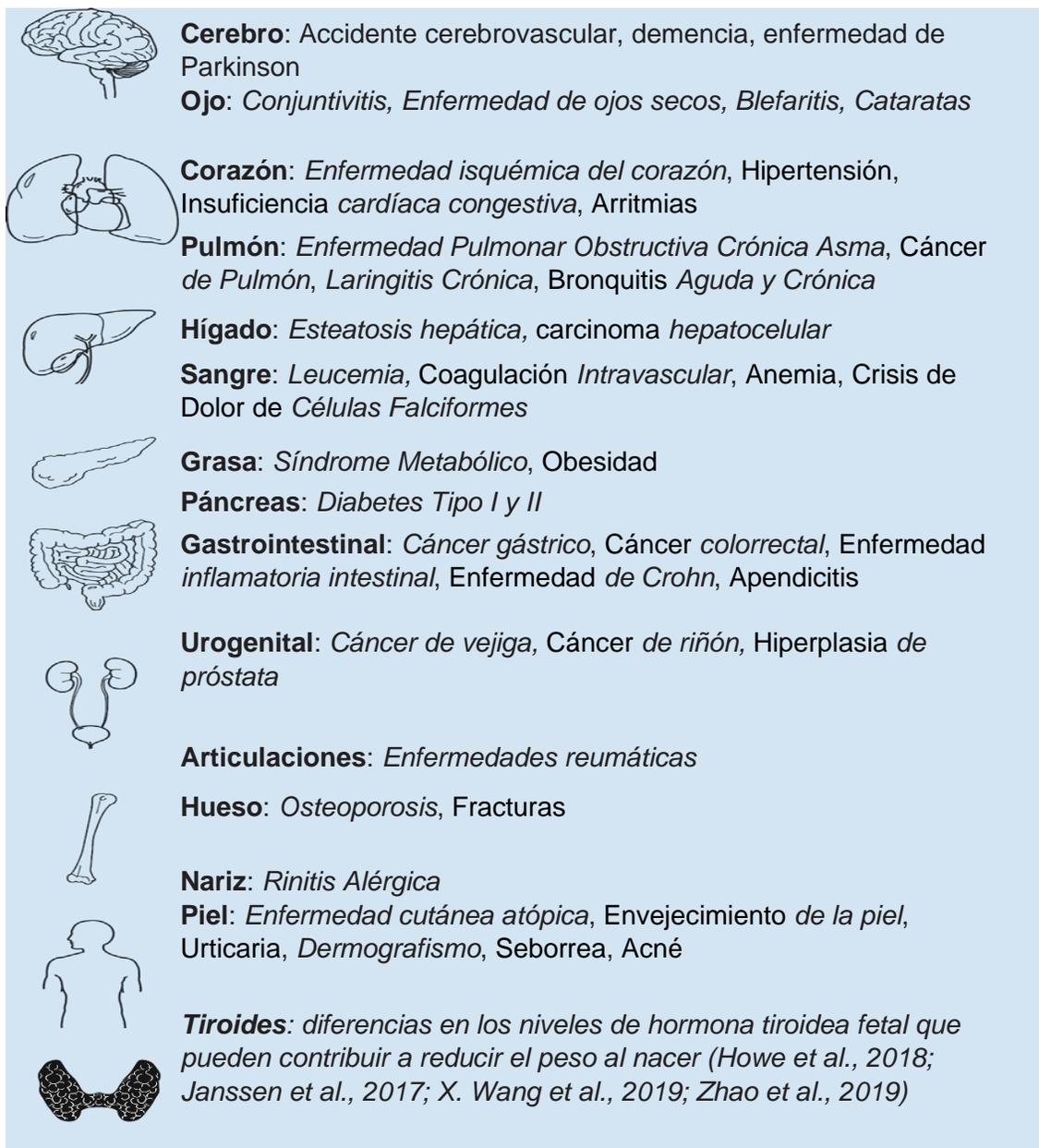


Fig. 5. Efectos en la salud del PM_{2.5} (Modificado de Schraufnagel et al., 2019)

2.2 Arsénico

El As es un elemento de la tabla periódica, considerado como un metaloide, se encuentra presente intrínsecamente en el medio ambiente, aunque no se distribuye uniformemente. Puede encontrarse en forma orgánica (combinado con

Carbono e Hidrógeno) e inorgánica (combinado con elementos como Oxígeno, Cloro o Azufre); siendo la forma inorgánica la de mayor toxicidad. Es considerado como uno de los venenos de mayor interés, debido a que estamos expuestos a él, a través del agua de bebida, aire y alimentos; produciéndose así, un amplio espectro de toxicidades, que van desde las lesiones cutáneas, cánceres, enfermedades cardiovasculares y trastornos neurológicos (Goodale et al., 2017; Khairul et al., 2017; Tanabe et al., 2019; Wei et al., 2014).

2.2.1 Aspectos históricos

Debido a la gran variedad de formas en que puede encontrarse presente el As, en la naturaleza se han reportado diferentes usos que a lo largo de la historia se le han ido dando (Silva, 2013).

Podemos comenzar a hablar de registros del siglo IV a.C. donde utilizaban sulfuros de arsénico como tratamientos para úlceras en la piel y otros padecimientos. Después para el siglo I hay reportes donde ya se identifica al Oxido de Arsénico (As_2O_3) como un veneno. Siglos después, alrededor del siglo XV llegó a conocerse como el polvo de la sucesión, debido a que varios miembros de la familia Borgia se especializaron en deshacerse de sus enemigos utilizándolo como veneno (Silva, 2013).

Mas tarde para 1775, el arsenito ácido de cobre ($CuHAsO_3$), fue utilizado en pinturas, papel tapiz y telas. Para ser sustituido luego por el aceto arsenito de cobre ($Cu(AcO)_2 \cdot 3Cu(AsO_2)_2$), (Bertomeu-Sánchez, 2016). Para el siglo XVIII, el As fue utilizado como medicamento con el nombre de “El tónico de Fowler”, que era utilizado para padecimientos como la malaria, la diabetes y la bronquitis, así como neuralgias, gastralgias y desórdenes uterinos. Actualmente, es utilizado únicamente como raticida (Bertomeu-Sánchez, 2016).

Ya para el siglo XX, el bacteriólogo Paul Ehrlich introdujo al mercado el salvarsán, arsfenamina, o “606”, un fármaco para el tratamiento de la sífilis, el cual se utilizó hasta los años 50’s. Posteriormente, para el año 1992 y hasta la fecha el óxido de

Arsénico (As₂O₃) es empleado como tratamiento para la leucemia promielocítica aguda (LPA) (Silva, 2013).

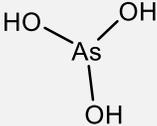
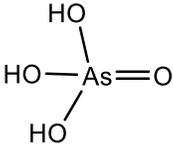
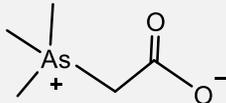
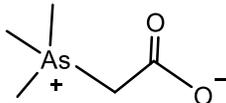
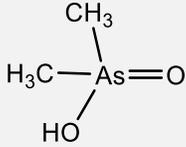
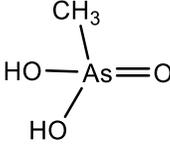
2.2.2 Generalidades del Arsénico

El As es un mineral que se encuentra distribuido ampliamente en el ambiente, siendo uno de los 22 elementos más abundantes en la corteza terrestre, su símbolo es As, pertenece al grupo de los metaloides, lo que indica que puede presentar tanto características de los metales como de los no metales; tiene una masa atómica de 74.922, su lugar en la tabla periódica es el 33, cuenta con valencia de -3, +3, y +5, en relación a la cantidad de los electrones que puede compartir con otro elemento (IARC, 2012).

La toxicidad del As está relacionada en parte por su forma, valencia, solubilidad, tasa de absorción y eliminación del cuerpo. Se pueden encontrar especies inorgánicas las cuales pueden estar en su estado trivalente como Arsenitos (iAs^{III}) o pentavalente como Arseniatos (iAs^V), estas son las especies más tóxicas y están catalogadas como carcinógenos del Grupo 1 por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) siendo los arsenitos los de mayor toxicidad debido a su alta solubilidad; mientras que entre las formas orgánicas se incluyen monometilarsónico (MMA), dimetilarsínico (DMA), Arsenobetaína y Arsenocolina las cuales se consideran menos tóxicas. En la **Tabla 3**. Se enlistan algunos ejemplos de las principales formas tanto orgánicas como inorgánicas en las que se puede encontrar el As en el ambiente (Domínguez, 2011; IARC, 2012; Tanabe et al., 2019).

La exposición humana al As se produce principalmente a través del consumo de agua, debido a que la gran mayoría del agua subterránea, contiene elevados niveles de As, en comparación con el agua superficial. El As puede llegar al agua de manera natural debido a cenizas volcánicas, roca volcánica, arcilla, óxidos de hierro, azufre mineral, materia orgánica desorción y disolución de minerales; o bien de manera antropogénica por procesos metalúrgicos, combustión de combustibles fósiles, uso de plaguicidas y preservantes de la madera (Rebelo & Caldas, 2016).

Tabla 3. Principales especies de As presentes en agua y alimentos (Modificado de Hughes et al., 2011)

Abreviatura	Nombre	Formula	Estructura
iAs ^V	Ácido Arsenioso (Arseniato)	As(OH) ₃	
iAs ^{III}	Ácido Arsénico (Arsenito)	AsO(OH) ₃	
AB	Arsenobetaina	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ COO ⁻	
AC	Arsenocolina	(CH ₃) ₃ As ⁺ (CH ₂) ₂ OH	
DMA ^V	Ácido dimetilarsínico	(CH ₃) ₂ AsO(OH)	
MMA ^V	Ácido monometilarsónico	CH ₃ AsO(OH) ₂	

2.2.3 Distribución

El As persiste en el ambiente y no se degrada, es por eso que su acumulación en la cadena trófica es muy alta. La concentración de As es variable dependiendo de la región geográfica, ya sea por causas naturales (geoquímica del lugar) o antropogénicas (actividad industrial, minera, agropecuaria, etc.). Debido a la naturaleza omnipresente del elemento, el determinar las concentraciones en varios países, permite focalizar aquellos lugares en donde la contaminación por As se convierte en un factor de riesgo para la población. (Y. Sun et al., 2019; Tanabe et al., 2019)

La abundancia terrestre de As es de aproximadamente 5 mg/kg, aunque las concentraciones más altas se asocian con depósitos de sulfuro. Los minerales sedimentarios de hierro y manganeso, así como los depósitos de fosfato, ocasionalmente contienen niveles de As de hasta 2900 mg/kg (WHO, 2001).

2.2.3.1 Internacional

La presencia de As en agua subterránea ha causado problemas en más de 70 países, entre los que destacan, Argentina, Bangladesh, Chile, India, México y Taiwán, donde se han reportado problemas de salud (Bundschuh et al., 2017)

En Latinoamérica, se estima que por lo menos 4,5 millones de personas beben de forma permanente agua con niveles de As que ponen en riesgo su salud. La cantidad de As en el agua, especialmente en el agua subterránea, llega en algunos casos a superar la concentración de 1000 µg/L (Medina et al., 2018).

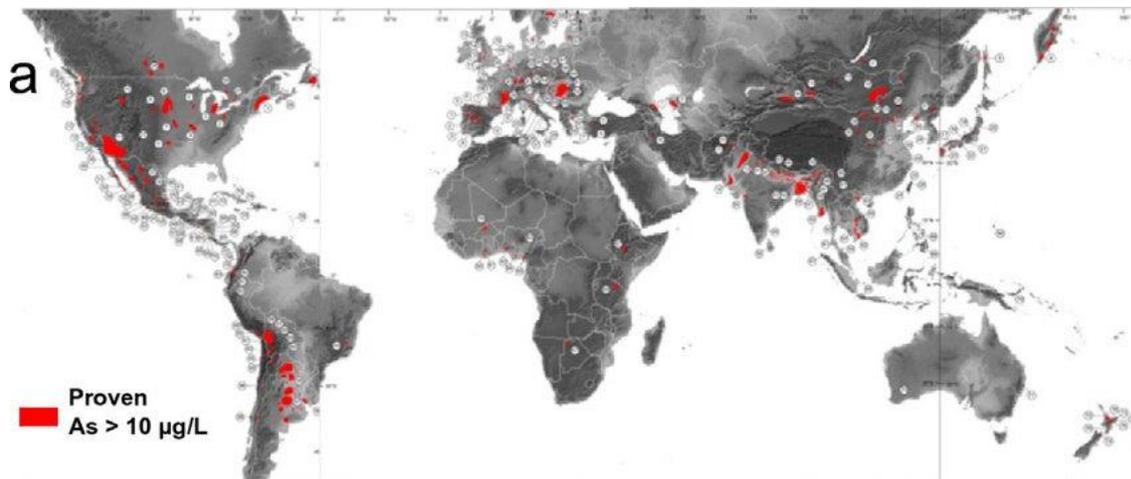


Fig. 6. Países en donde los niveles de As en agua superan los 10 µg/L (Modificado de Bundschuh et al., 2017)

2.2.3.2 Nacional

Debido a los procesos geoquímicos, la actividad volcánica y la sobre explotación y evaporación de los acuíferos; nuestro país, se encuentra entre los países con concentraciones elevadas de As en agua, tanto de manera superficial como subterránea. Esto aunado a las actividades antropogénicas (minera, lixiviado de industria, agropecuaria, agrícola, etc.), puede incrementar las concentraciones de

As inorgánico (iAs), como es el escenario tangible en la zona centro norte de nuestro país, donde se han reportado que en los Estados de Chihuahua, Coahuila, Durango y Sonora, las concentraciones de As oscilan entre 7 -600 µg/L (Armienta & Segovia, 2008)

Los estados que se ubican en la sierra madre occidental (Zacatecas, Jalisco y Aguascalientes); altiplano (San Luis Potosí, Guanajuato) y próximos al Golfo e istmo de Tehuantepec (Morelos, Oaxaca, Puebla e Hidalgo), reportan concentraciones superiores a los que dicta NOM-127 (Armienta & Segovia, 2008; Fisher et al., 2017).

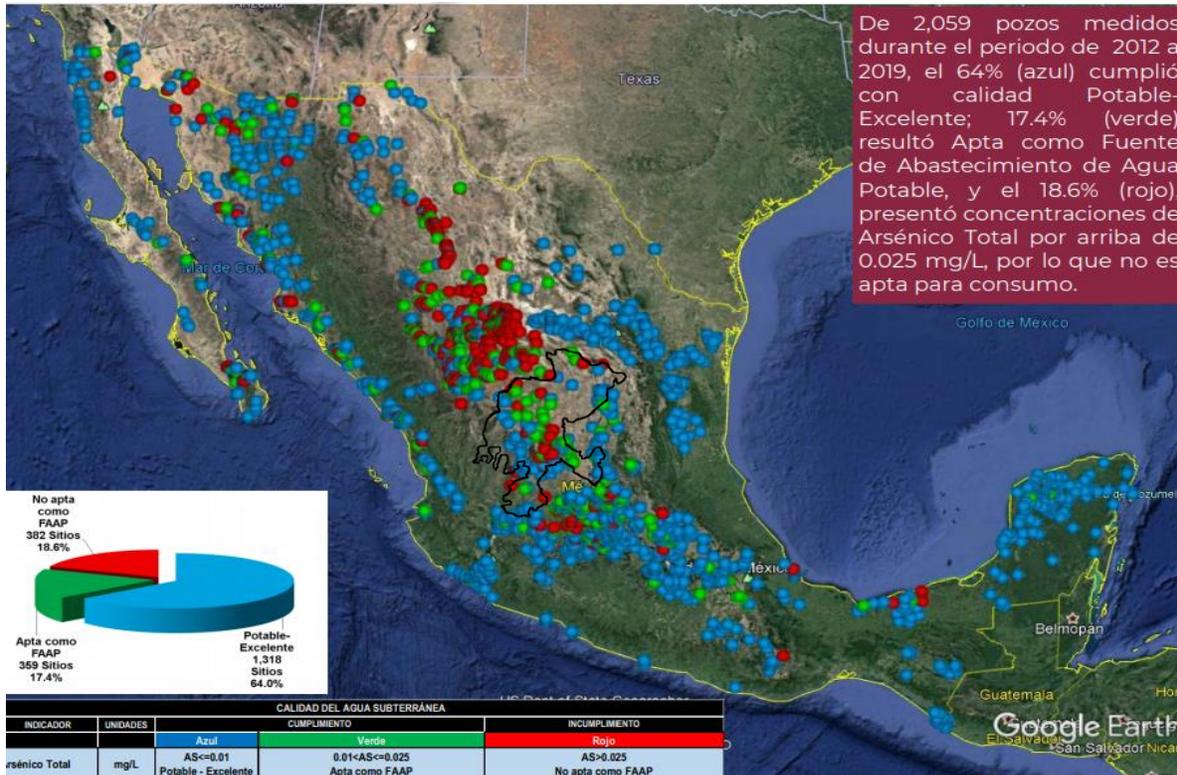


Fig. 7. Presencia de altos niveles de As reportados (CONAGUA, 2019)

En el 2019 CONAGUA realizó un reporte en el que expuso los resultados del muestreo de 2059 pozos realizado entre el 2012 y el 2019 en los que se analizó la cantidad de As presente teniendo como resultado que un total de 741 sitios (36%) sobrepasan los 10 µg/L que es la cantidad máxima de As recomendada por OMS, en la Fig. 7 podemos observar los resultados, en rojo se muestran donde se

encuentran los pozos con los índices más altos, siendo la zona centro norte del país la parte con mayores concentraciones.

2.2.3.3 Distribución Local

El Estado de Zacatecas, está ubicado en la zona centro de México, por lo que el agua subterránea tiene de forma natural cantidades elevadas de As (Alarcón Herrera et al., 2013). En el 2016, se evaluó el riesgo en la salud humana que representa el As y el flúor, determinado en función de sus concentraciones en el agua del grifo recolectada en la región sur-centro del Estado. Los autores, demostraron que el 90% de las muestras superaron los niveles de As establecidos por la OMS, por lo que se estimó que el 74% de la población infantil y el 99% de la población adulta del estado, pueden estar expuestos a altas dosis (Martínez-Acuña et al., 2016). La Comisión Nacional del Agua reporto en el 2019 estudios en los que evaluó los niveles de As en el Estado, por lo que en la **Tabla 4** se representan los resultados de dichos estudios

Tabla 4. Concentración de As en agua en distintos municipios del Estado de Zacatecas (Modificado de CONAGUA 2019).

Municipio	Concentración de As en el Agua (µg/L)	Año
Apulco	45.30	2018
Calera	83.15	2019
Cañitas De Felipe Pescador	20.40	2018
Concepción Del Oro	52.89	2018
Cauhtémoc	25.30	2019
El Salvador	60.35	2018
Fresnillo	64.77	2018
Genaro Codina	1.39	2019
General Enrique Estrada	17.60	2018
General	74.45	2019
Francisco R. Murguía		
General Pánfilo Natera	31.00	2019
Guadalupe	31.57	2019
Huanusco	73.40	2019
Jalpa	7.40	2019
Jerez	12.30	2019
Juan Aldama	27.00	2018
Juchipila	99.30	2019
Loreto	1.39	2019
Luis Moya	83.00	2019
Mazapil	68.60	2018
Melchor Ocampo	30.84	2018
Miguel Auza	18.20	2018

Momax	1.39	2019
Morelos	12.03	2019
Moyahua De Estrada	47.70	2019
Nochistlán De Mejía	15.00	2018
Noria De Ángeles	37.85	2019
Ojocaliente	74.40	2019
Pánuco	9.95	2019
Pinos	10.62	2019
Río Grande	51.13	2019
Sain Alto	7.10	2018
Tabasco	4.77	2019
Tepechitlán	1.39	2019

Tepetongo	1.39	2019
Teúl De González Ortega	1.39	2019
Tlaltenango De Sánchez Román	1.39	2019
Trancoso	26.20	2019
Valparaíso	8.30	2019
Vetagrande	25.40	2019
Villa De Cos	79.05	2019
Villa González Ortega	1.39	2019
Villa Hidalgo	31.20	2019
Villanueva	10.60	2019
Zacatecas	57.37	2019

En base a los datos aportados por CONAGUA en la **Fig. 8** se puede observar la distribución de los pozos con elevadas concentraciones de As presentes en el estado.

2.2.4 Normatividad

El As al ser un carcinógeno, la presencia de As en los bienes de consumo es de interés general reglamentario, motivo por el cual, se establecen los Límites Máximos Permisibles (LMP), de acuerdo a la normativa de cada país, la cual pudiera variar con el tiempo (Medina et al., 2018; Tanabe et al., 2019), por ejemplo en México en el 2000, hay una modificación a la norma donde se establece que el LMP baja de 50 µg/L a 25 µg/L, lo cual aún representa 2.5 veces más lo recomendado por la OMS, representando un riesgo para la población.

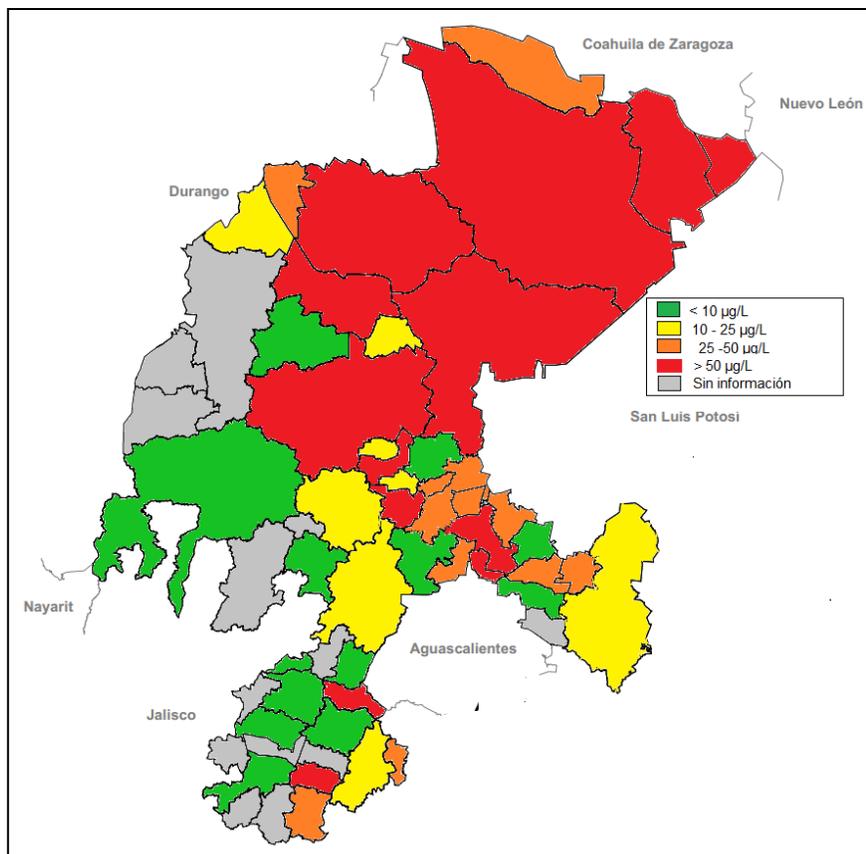


Fig. 8. Concentraciones de As en el estado de Zacatecas. Verde concentraciones <10µg/L (seguras según la OMS); amarillo entre 10-25µg/L (dentro del LMP por las Normas Mexicanas); naranjado 25-50 µg/L (por encima de las normas mexicanas), rojo >50µg/L (mayores a cualquier norma en el continente) y gris no hay información.

Tabla 5. Límites Máximos Permisibles de As en Agua de acuerdo a las normas internacionales y nacionales

Límite máximo permisible (µg/L)	País /Organismo dictaminador
10	Organización Mundial de la salud
30	Chile
50	Uruguay
10	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA por sus siglas en inglés)
10	Unión Europea (UE)
10	Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015. Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasado y a granel. Especificaciones sanitarias
25	MODIFICACIÓN a la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-1994, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua.

2.2.5 Vías de exposición y Toxicocinética

La exposición humana al As puede ocurrir mediante tres vías principales: por inhalación de aire, por absorción dérmica y por ingestión de alimentos y agua, siendo esta última la vía más común y representa una forma de exposición no ocupacional pero con un fuerte riesgo en salud (Medina et al., 2018).

La mayoría de las personas ingieren una mezcla de especies de As en alimentos y agua, que se metabolizan a través de una serie de intermedios antes de la excreción en la orina. La OMS y estudios recientes en los Estados Unidos han indicado que la dieta puede ser una fuente primaria de exposición al As para los seres humanos (personas cuyo agua potable contiene As <10 µg/L), mientras que cuando el agua potable contiene >10 µg/L de As, el agua se convierte en la ruta dominante de exposición (Goodale et al., 2017).

2.2.5.1 Absorción

Las partículas menores de 7 µm se absorben con una eficiencia entre 75 y 85% en el pulmón. El iAs^{III} y el iAs^V se absorben en el intestino y la absorción de ambos a

lo largo de la vía digestiva, disueltos en agua, llega a 95%. Por piel, la absorción de los arsenicales secos solo alcanza 2% (Ramírez, 2013).

2.2.5.2 Distribución

Luego de ser absorbido, el As llega a la sangre y se une a las globulinas (α -globulinas) Se distribuye dentro de las primeras 24 horas y se transporta hacia el hígado, pulmón, riñón, bazo y entre otros órganos, donde al acoplarse a los grupos tiol de las proteínas se acumula. En el tejido óseo, el As compite con el fósforo, lo desplaza y puede permanecer ahí durante años. Una pequeña cantidad atraviesa las barreras hematoencefálica y placentaria. Dentro de las siguientes 30 horas, se deposita en cabello y uñas. Los niveles de As en las secciones de pelo indican, el tiempo transcurrido desde el inicio de la exposición (Hughes et al., 2011; Ramírez, 2013).

2.2.5.3 Metabolismo

Su metabolismo ocurre en el hígado. Así, la biotransformación del iAs^{III} requiere de un primer paso de metilación para obtener ácido monometilarsónico (MMA) y luego en una segunda metilación se alcanza el ácido dimetilarsínico (DMA). La S-adenosilmetionina, actuaría como donador de los grupos metilo y el glutatión, un tripéptido no proteínico, como principal agente reductor y detoxificador al donar electrones y transportar al As (Agusa et al., 2011; Ramírez, 2013).

2.2.5.4 Excreción

La vida media del iAs circulante es de 6 h. La de sus metabolitos es 7,4 h para el MMA y 5,6 h para DMA. Los porcentajes de excreción renal son para el DMA de 50 a 70%, para el MMA de 15 a 20% y alrededor del 20% se excreta sin metilar (Hughes et al., 2011; Ramírez, 2013).

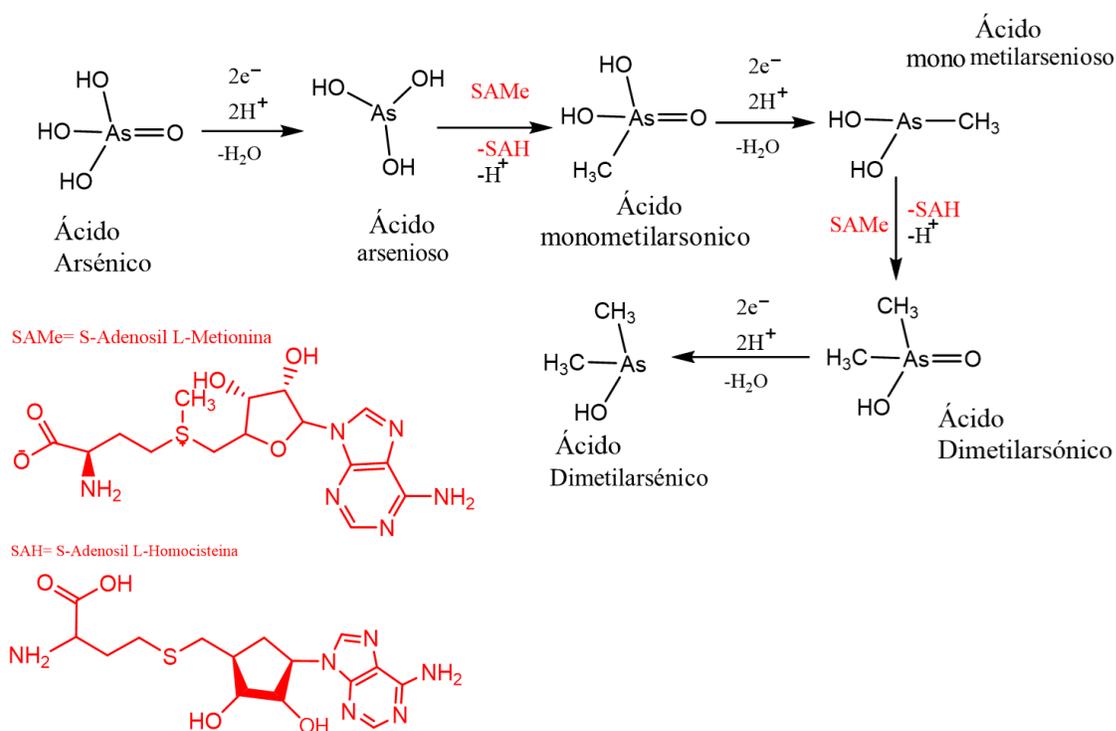


Fig. 9. Metabolismo de arsénico en el organismo (Modificado de LEIVA, 2017)

SAMe (S-Adenosil L-Metionina) es un donador de grupos metilo para la biotransformación del arsénico; mientras SAH (S-adenosil L-Homocisteína) funge como detoxificador al donar electrones. En ese sentido, las formas depuradas serán las metiladas.

2.2.6 Mecanismo de Toxicidad

Se ha establecido que existe una correlación entre la acumulación de As y el agotamiento de la actividad antioxidante endógena y se cree que acelera el daño tisular al introducir la condición de estrés oxidativo. Posteriormente, el iAs depositado en el riñón podría convertirse en metabolito metilado (estado de oxidación +3) por acción de la enzima metiltransferasa lo cual podría generar hidronefrosis del riñón (Yokohira et al., 2011).

La unión del antioxidante trivalente aun grupo tiol, conduce a una serie de eventos: disminución de la actividad antioxidante, cambios en la composición de ácidos grasos, daño renal en el ADN, concentración de modulación de la muerte celular y regular a la baja de la expresión de NF- κ β (un complejo proteico que controla la transcripción del ADN), así como producir interrupción en la cadena de transporte de electrones mitocondriales al inhibir la función o actividad de la isocitrato

deshidrogenasa , la α -cetoglutarato deshidrogenasa, el succinato deshidrogenasa, la NADH-deshidrogenasa , el citocromo c oxidasa, el aumento de Lipo Peroxidasa y la disminución de la actividad antioxidante en las mitocondrias, de igual modo, posee efecto inmunosupresor, suprimiendo Th1 (IF- γ , IL-12), Th2 (IL-4, IL-10) (Rana et al., 2018).

También se puede ver alterado el metabolismo energético como la glucólisis, el metabolismo de la colina, el ciclo de la metionina (transmetilación), el metabolismo de la purina y la degradación de los fosfolípidos de membrana lo cual contribuyen a la apoptosis celular, lo que puede causar diversos daños en la salud (Rana et al., 2018).

Se ha demostrado que existen gran cantidad de afecciones en millones de personas en todo el mundo, relacionadas con la exposición de As en agua. En el 2015, Lei Huang y colaboradores hicieron una revisión por distribución geográfica mundial de los efectos de la exposición a agua potable contaminada con As, de donde descubrieron algunas similitudes en las diferentes regiones, por ejemplo que las mujeres son más susceptibles a cáncer de pulmón, vejiga y riñón en Taiwán, pero no en Bangladesh, Chile o Estados Unidos, al igual que para la mayoría de los países se encontró que había un aumento en el riesgo de hipertensión o diabetes, pero en la población chilena esto no sucedió, por lo que se concluye que hay un impacto regional entre los efectos que puede producir la exposición a As.

Tabla 6. Efectos de la exposición crónica y aguda a As.

	Órgano, tejido o sistema	Efecto
--	--------------------------	--------

Exposición aguda	Sistema gastrointestinal	Vómitos, dolor abdominal, inflamación, gastroenteritis hemorrágica, diarrea
	Piel	Lesiones inflamatorias en la piel. Hiperqueratosis, hipopigmentación (Subcrónico)
	Hígado	Hepatitis tóxica, con niveles elevados de enzimas hepáticas (transaminasas)
	Riñón	Necrosis tubular aguda junto con una falla renal aguda, daño tubular hemoglobínico o mioglobinúrico
	Sistema cardiovascular	Fuga capilar difusa, anomalías electrocardiográficas
	Sistema nervioso central	Cefalea, mareo, irritabilidad, coma
	Sistema nervioso periférico	Neuropatía sensitivo-motriz retardada
	Hematológico	Pancitopenia, hemólisis intravascular fulminante
	Sistema respiratorio	Lesiones inflamatorias y erosivas en la mucosa respiratoria
Exposición crónica	Hígado	Hipertensión portal cirrótica, angiosarcoma hepático (cáncer)
	Sistema cardiovascular	Enfermedad vascular periférica, hipertensión, enfermedad cardiovascular
	Riñón	Cáncer renal, insuficiencia renal crónica
	SNC y SNP	Polineuropatía sensitivo-motora, parálisis, déficits cognitivos, otros daños cerebrales
	Piel	Carcinomas de células basales
	Sistema reproductor	Abortos espontáneos, aumento en las malformaciones congénitas. Alteración de la concentración plasmática de las hormonas sexuales.
	Hematológico	Anemia, leucopenia, trombocitopenia, eosinofilia moderada.
	Sistema inmunológico	Inmunosupresión
	Sistema respiratorio	Cáncer de pulmón
	Sistema endocrino tiroideo	Hipotiroidismo y daño tiroideo a nivel histológico.

En la **Tabla 6**, se muestra una compilación de los distintos daños que puede ocasionar la exposición de As de manera crónica o aguda, donde se puede observar que afecta a gran cantidad de órganos y aumenta el riesgo de gran cantidad de enfermedades crónicas. (Ahangarpour et al., 2018; Gehle et al., 2013; Medina et al., 2018; H. J. Sun et al., 2017; WHO, 2018).

2.3 Tiroides

La glándula tiroides es un órgano-glándula perteneciente al sistema endocrino (SE), situado en la región anterior del cuello debajo de la laringe. Está compuesta por lóbulos laterales, conectado por un istmo anterior a la tráquea. Consta de un tercer lóbulo pequeño llamado lóbulo piramidal que se extiende hacia arriba desde el istmo. Su función es la de producir y liberar hormonas las cuales están involucradas en el crecimiento, en el mantenimiento de la mayor parte de las funciones corporales y en la regulación del metabolismo. Existen dos tipos de hormonas tiroideas activas biológicamente: la tiroxina o tetrayodotironina (T₄), que corresponde al 93% de hormona secretada por la glándula y la triyodotironina (T₃). Estas hormonas tienen su blanco en múltiples órganos y/o sistemas, en donde ejercen su función en diferentes procesos celulares, como la regulación de numerosos procesos metabólicos, crecimiento, desarrollo y maduración de los diferentes tejidos blanco. Las hormonas tiroideas intervienen de forma decisiva en el desarrollo del cerebro (Tortora & Derrickson, 2006). Motivos por los cuales la función normal de la glándula tiroides es crítica para el desarrollo neurocognitivo temprano, así como para el crecimiento y desarrollo durante la infancia y la adolescencia (Brandan, Nora; Llanos, Isabel, 2015; Hanley et al., 2016).

Los efectos fisiológicos de las hormonas tiroideas se enumeran a continuación (Brandan, Nora; Llanos, Isabel, 2015; Colao et al., 2016):

- Aumenta la tasa metabólica basal.
- Puede inducir lipólisis o síntesis de lípidos.
- Estimula el metabolismo de los carbohidratos.
- Anabolismo de proteínas.
- Efecto permisivo sobre las catecolaminas
- En los niños, las hormonas tiroideas actúan sinérgicamente con la hormona del crecimiento para estimular el crecimiento óseo.
- El impacto en el SNC es importante. Durante el período prenatal, es necesario para la maduración del cerebro. En los adultos, puede afectar el estado de ánimo. El hipertiroidismo puede provocar hiperexcitabilidad e irritabilidad. El

hipotiroidismo puede causar problemas de memoria, lentitud en el habla y somnolencia.

- Afecta la fertilidad, la ovulación y la menstruación.

Histológicamente, la glándula tiroidea se compone de una agrupación de unidades esféricas denominadas folículos, los cuales están conformados por las células foliculares y el coloide. El folículo tiroideo es la unidad funcional de la tiroides, la cual atrapa Iodo (I_2) y sintetiza la tiroglobulina (TGB). Mientras que el coloide es una sustancia semisólida que contiene la tiroglobulina producida así como las hormonas tiroideas inactivas. En la **Fig. 11**, podemos observar los folículos, que aparecen recubiertos por una cápsula de tejido conectivo fibroso y separado entre sí por tejido conectivo interfolicular; los folículos al estar sin ninguna estimulación o activación, tienen forma achatada, pero al tener un estímulo por la hormona TSH, adopta una forma cuboide y cilíndrica (Tortora & Derrickson, 2006):

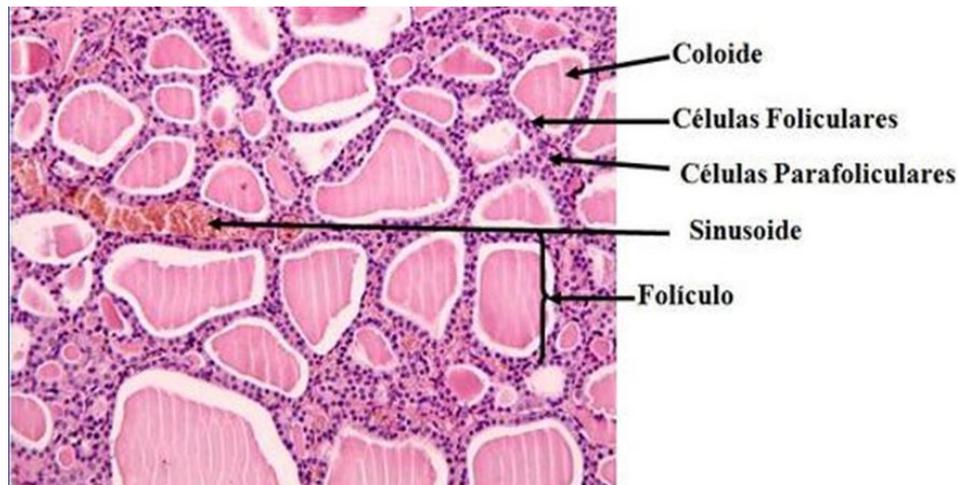


Fig. 10 Histología de la tiroides

2.3.1 Hormonas tiroideas

La estructura básica de las hormonas tiroideas (HT) consiste en dos anillos derivados del aminoácido tirosina como se observa en la **Fig. 13**; el anillo interno conserva los grupos amino y carboxilo (cadena β -alanina) y el anillo externo se une al interno mediante un enlace tipo éter. En el humano, la glándula tiroides

produce y secreta, esencialmente (en una proporción aproximada de 13:1), dos diferentes Hormonas Tiroideas (Solís et al, 2011):

- 3,5,3'; 5'-tetrayodotironina, también llamada tiroxina o T₄.
- 3,5,3'-triyodotironina o T₃.

La T₃ es la que posee mayores efectos a nivel de los tejidos periféricos, por lo cual esta sería la verdadera hormona, o la forma activa, considerándose a la T₄ como una pro-hormona, la que por desyodación se convertiría en T₃

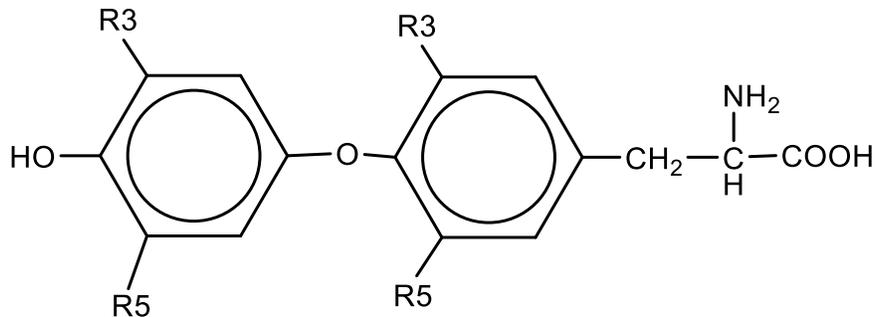


Fig. 11 . Estructura general de las HT (Modificado de: Solís et al, 2011)

La T₃ y T₄ circulan en sangre en su mayor parte unidas a proteínas plasmáticas. Las principales proteínas séricas encargadas del transporte son: la Albúmina, la Globulina de unión a la tiroxina (TBG) y la Transtiretina (TTR o TBPA). T₄ se une a TBG en un 70%, a la albúmina en un 20% y a TTR en un 10%. La T₃ se une principalmente a TBG (80%), y el resto a albúmina y TTR. La hormona unida a proteínas está en equilibrio reversible con una pequeña fracción no unida o "libre". Sólo la hormona libre está biológicamente disponible para los tejidos .

2.3.2 Biosíntesis de hormonas en la glándula tiroidea

1. **Captación.** Las células foliculares tiroideas atrapan iones yoduro (I⁻) por transporte activo a través del transportador NIS.
2. **Transporte.** A través de la pendrina se transporta el I⁻ al coloide del tirocito.

3. **Síntesis de tiroglobulina (TG).** Es una glicoproteína que se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso, modificada en el complejo de Golgi y almacenada en vesículas por el tirocito.
4. **Oxidación.** El ioduro (I⁻) debe ser oxidado a yodo (I₂) para adicionarse a la TG.
5. **Yodación de tirosina.** El yodo se incorpora a la TG mediante la peroxidasa tiroidea (TPO), para producir las yodotirosinas hormonalmente inactivas. Se forman las monoyodotirosinas (T₁) y diyodotirosinas (T₂).
6. **Acoplamiento.** Las yodotirosinas se fusionan para formar las yodotironinas hormonalmente funcionales, que son las T₄ (acoplamiento dos T₂) y T₃ (acoplamiento de T₂ + T₁). En este proceso de acoplamiento también participa la TPO.
7. **Pinocitosis y digestión del coloide.** Gotitas de coloide vuelven a entrar en las células foliculares por pinocitosis y se unen a los lisosomas. Enzimas digestivas en los lisosomas degradan la TG, liberando moléculas de T₃ y T₄.
8. **Desiodación.** La yodotironina secretada en mayor cantidad por la glándula tiroidea es la T₄, pero la T₃ liberada desde esta glándula en parte proviene de la síntesis de esta hormona y otra parte proviene de la transformación, por desiodación de la T₄ (pro-hormona) a T₃, mediante la acción de las desiodinasas tipo 1 y 2.
9. **Secreción de hormonas tiroideas.** Como la T₃ y la T₄ son liposolubles, difunden a través de la membrana plasmática hacia el líquido intersticial y luego hacia la sangre. La T₄ por lo general se secreta en mayor cantidad, pero la T₃ es la hormona activa. Además, luego de que la T₄ entra en una célula del cuerpo, la mayoría de las veces se convierte en T₃ por remoción de un átomo de yodo (desiodación extratiroidea).
10. **Transporte en la sangre.** Más del 99% de la T₃ y la T₄ se unen con proteínas de transporte en la sangre, principalmente con la globulina de

unión a la tiroxina [Tortora & Derrickson, 2006; Molina, 2013; Melmed *et al.*, 2011].

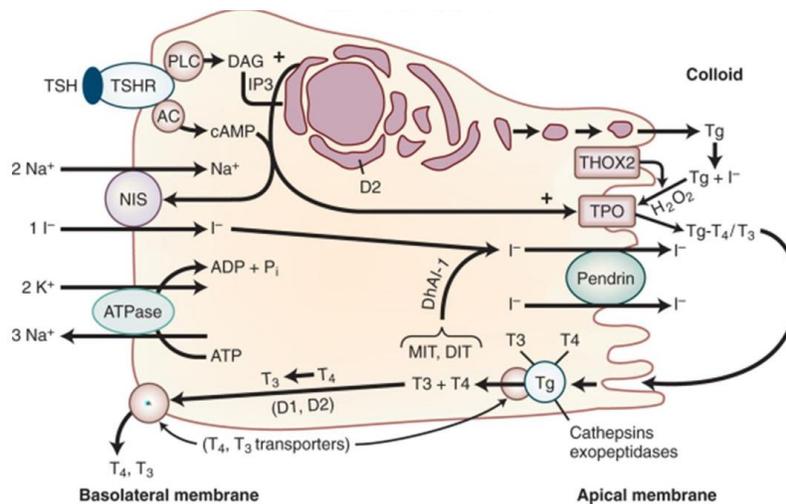


Fig. 12 .Biosíntesis de las HT (Melmed *et al.*, 2011)

2.3.3 Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides

La hormona liberadora de tirotropina (TRH) del hipotálamo y la hormona estimulante de la tiroides (TSH) de la adenohipófisis estimulan la síntesis y liberación de Hormona Tiroidea (**Fig. 12**) (Tortora & Derrickson, 2006)

- 1) La TRH entra en las venas portales hipofisarias y fluye hacia la adenohipófisis, donde estimula a las células tirotróficas a secretar TSH.
- 2) La TSH estimula virtualmente todos los aspectos de la actividad de la célula folicular tiroidea, incluyendo la captación de yoduro, la síntesis y secreción hormonal y el crecimiento de las células foliculares.
- 3) Las células foliculares tiroideas liberan T₃ y T₄ hacia la sangre hasta que el índice metabólico regresa a la normalidad.
- 4) El nivel elevado de T₃ inhibe la liberación de TRH y de TSH (inhibición por retroalimentación negativa) (Tortora & Derrickson, 2006).

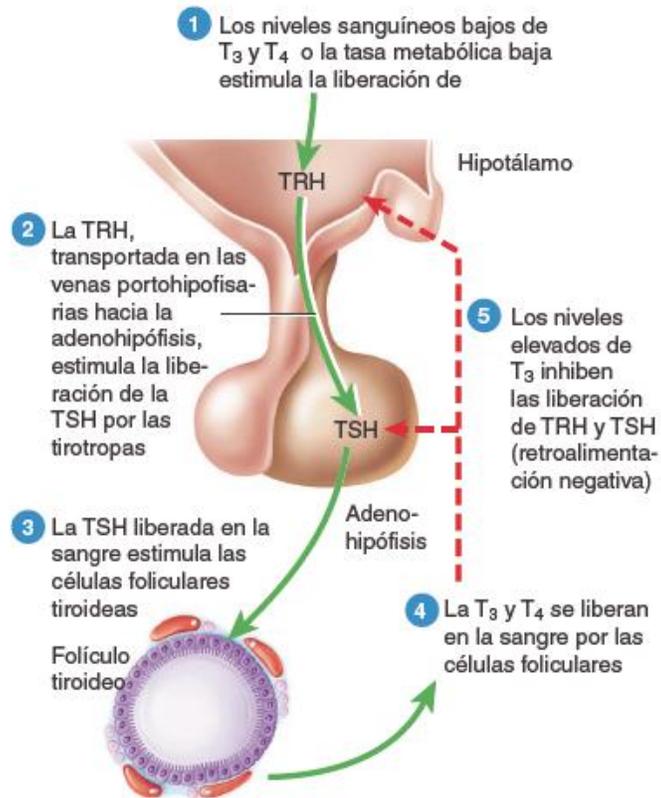


Fig. 13 Eje Hipotálamo-Hipófisis (Modificado de: Tortora & Derrickson, 2006)

2.3.4 Enfermedades tiroideas

Las enfermedades por deficiencia de yodo (I₂) se manifiestan cuando los requerimientos fisiológicos del mismo en los seres humanos no son cubiertos de forma adecuada. El grupo humano que padece enfermedades por deficiencia de I₂, cursa frecuentemente con concentraciones de hormonas tiroideas en suero en límites normales y la hormona estimulante de la tiroides discretamente elevada; por lo tanto, muchos individuos son clínicamente eutiroideos, en ese sentido existen algunas enfermedades relacionadas con los niveles de producción de hormonas los cuales se describen en la **Tabla 7**

En ese sentido, el hipotiroidismo endémico ocurre cuando la deficiencia de I₂ es muy grave y conduce a dos formas de expresión clínica: 1) cuando la carencia de I₂ es solo extrauterina, se produce hipotiroidismo mixedematoso, y 2) cuando es intrauterino se origina el hipotiroidismo neurológico. Incluso en un mismo individuo

pueden encontrarse las dos formas de hipotiroidismo cuando el déficit de I₂ inicia en la vida intrauterina y se prolonga durante la vida extrauterina. El daño neurológico suele ser grave e irreversible, puede cursar con estrabismo, hipoacusia de moderada a grave e irreversible que limita el desarrollo del lenguaje y retardo mental y motor) (Tortora & Derrickson, 2006).

Tabla 7. Niveles de hormonas en las distintas enfermedades (Modificado de Muñoz & Martínez, 2019)

	Hipertiroidismo	Hipertiroidismo subclínico	Hipotiroidismo subclínico	Hipotiroidismo
TSH	↓	↓	↑	↑
T4	↑	Normal	Normal	↓
T3	↑	Normal	Normal	↓

2.3.4.1 Hipotiroidismo

El hipotiroidismo se clasifica en dos patologías: hipotiroidismo congénito e hipotiroidismo adquirido, este se divide en primario, secundario y terciario. El hipotiroidismo congénito se instala antes del nacimiento y se encuentra presente al nacer. El hipotiroidismo adquirido (hipotiroidismo primario) se instala en la etapa adulta dando como consecuencia directa de daño en la tiroides, mientras el secundario obedece a trastornos hipotalámicos o hipofisarios. (NOM-038).

2.3.4.2 Hipotiroidismo Congénito

Este tipo de hipotiroidismo se manifiesta por la deficiencia de las hormonas tiroideas durante la vida intrauterina y/o nacimiento. Aquellos casos en los cuales no es tratado, se designan con el nombre de genérico de *cretinismo*. La hormona tiroidea es esencial para el desarrollo y el crecimiento del cerebro, que alcanza el 50% durante los primeros seis meses de vida. El hipotiroidismo congénito no tratado se asocia con un retraso mental y alteraciones en el crecimiento.

Esta enfermedad se puede detectar con frecuencia después de la prueba de tamiz neonatal, estas alteraciones constan de niveles séricos de TSH elevados y reducidos de T₄, dicha carencia suele ser tratada mediante la reposición de las

mismas con resultados que garantizan adecuados niveles séricos de T₄. (Grossman, S., & Matsson Porth,., 2014; Flores L, et al 2012)

2.3.4.3 Hipotiroidismo primario, secundario, terciario y resistencia periférica

El hipotiroidismo se clasifica de acuerdo a su origen en: primario, cuando la tiroides es la afectada, secundaria, a una afección hipofisaria y terciaria, cuando se localiza en el hipotálamo y por último resistencia periférica a las hormonas tiroideas.

- **Primaria:** Es la más frecuente en adultos, la causa más común de este hipotiroidismo es por tiroiditis autoinmune y en segundo lugar por procedimientos terapéuticos empleados para el tratamiento del hipertiroidismo
- **Secundaria:** Es producida por defecto se la secreción de TSH y corresponde al 1-2% de los casos.
- **Terciaria:** Es poco frecuente y de debe a deficiencia de TRH por alteraciones hipotalámicas.

Hipotiroidismo por resistencia periférica a hormonas tiroideas: Se ha detectado dos tipos de resistencias:

- **Resistencia severa:** La cual transmite en forma autosómica recesiva, con sordomudez, retraso en la osificación y bocio
- **Resistencia intermedia:** Heredada en forma autosómica dominante, que presenta solo bocio. (Flores L, et al 2012)

2.3.5 Afecciones a la función tiroidea por PM_{2.5} y As

Diversas investigaciones indican que la exposición durante el embarazo a PM_{2.5} tiene relación directa con la regulación de hormonas tiroideas, la cual puede contribuir a reducir el peso al nacer (Howe et al., 2018; X. Wang et al., 2019; Zhao et al., 2019). En el mismo sentido, en el 2019 Zaccarelli-Marino y colaboradores

reportaron que la contaminación del aire es un factor ambiental importante que contribuye al desarrollo de hipotiroidismo primario en la población.

La evidencia experimental y epidemiológica sitúa al As como un potente disruptor para función tiroidea. Se ha reportado, que el As altera los receptores tiroideos (H. J. Sun et al., 2016), induciendo así a una disfunción tiroidea, lo que provoca una alteración en la producción de hormonas, principalmente en TSH y FT₄ (Ahangarpour et al., 2018; Jain, 2016; H. J. Sun et al., 2016). A continuación, en la **Tabla 8**, se muestra los efectos tóxicos del As y el material particulado sobre la función tiroidea.

Tabla 8. Impacto de As y PM_{2.5} sobre la función tiroidea

Sustancia	Modelo experimental	Resultados obtenidos	Referencia
Na₃AsO₄ (1 y 10 mg/L)	Peces cebra (<i>Danio rerio</i>) fueron expuestos durante 90 días, los días 10, 30, 60 y 90, los peces fueron muestreados y analizados	Causa cambios histopatológicos en tiroides (tales como; hipertrofia, hiperplasia y agotamiento coloidal).	(F. J. Liu et al., 2006)
As₂O₃ (0.1, 1.0, 5.0 y 10 ppm)	Se midió la actividad de la peroxidasa tiroidea (TPO) <i>in vitro</i> , durante un período de incubación de 10 minutos.	Inhibe la actividad de la peroxidasa tiroidea (TPO) de manera dependiente del tiempo y la concentración.	(Palazzolo & Jansen, 2008)
Arsenito (AsIII) o arseniato (AsV) a 0, 10, 30, 50, 100 o 150 µg /L	Peces carpa cabezona (<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>) en la etapa temprana de la vida, fueron expuestos durante 78 h.	Los niveles de tiroxina aumentaron en un 23% y 50% a 100 µg/L AsIII y 150 µg/L AsV, respectivamente.	(H. J. Sun et al., 2016)
AsV y AsIII a 10-100 mg/L	Ratones jóvenes fueron expuestos durante 8 semanas.	- Aumento el nivel de T ₄ a partir de la cuarta semana - Daño en los tejidos tiroideos después de la octava semana - Afección en la transcripción génica involucrada en la homeostasis de las hormonas tiroideas	(H. J. Sun et al., 2017)
As	Se analizaron muestras de sangre de 915 mujeres chinas embarazadas, se midió la relación entre los niveles de metal en sangre y los cambios porcentuales en las hormonas tiroideas.	Las FT ₃ y TT ₃ se relacionaron inversamente con los niveles de metales en la sangre de As.	(Guo et al., 2018)

As₂O₃ (5 o 10 mg / kg)	Se expuso a ratas wistar preñadas desde el día de gestación 1 al 20	Disminuyeron los niveles de tiroxina libre y triyodotironina libre y aumentaron el nivel de tirotrópina en madres y fetos	(Ahmed & El-Gareib, 2019)
PM_{2.5}	Se midieron concentraciones séricas de tiroxina libre (FT ₄) y hormona estimulante de la tiroides (TSH) en 8077 mujeres embarazadas y se estimó el volumen de PM _{2.5} al que estuvieron expuestas	Los niveles de FT ₄ se asociaron inversamente con la exposición a PM _{2.5} , además también se asoció con probabilidades elevadas de hipotiroxinemia materna.	(Zhao et al., 2019)
PM_{2.5} (materia orgánica, carbono negro, sulfato, nitrato, amonio, y polvo del suelo)	Se evaluaron los niveles de exposición materna a PM _{2.5} y sus componentes durante el primer trimestre en 433 mujeres embarazadas en Nanjing, China	Existe una asociación inversa entre la exposición materna a PM _{2.5} y los niveles maternos de FT ₄ . Y contribuye a una disminución del peso al nacer del feto	(X. Wang et al., 2019)
PM_{2.5}	Se estudió a 9931 mujeres embarazadas de 4 cohortes europeas 1 cohorte estadounidense. Se incluyeron datos sobre la exposición a la contaminación del aire y se estimaron utilizando modelos de regresión del uso del suelo y de profundidad óptica de aerosoles derivados de satélites	Con una exposición mayor a 5 µg / m ³ a PM _{2.5} se asoció con un 20% más de probabilidades de hipotiroxinemia.	(Ghassabian et al., 2019)
PM_{2.5}	Se evaluó el estado de la función tiroidea (con tirotrópina-TSH) en 293 mujeres caucásicas griegas (edad media ± DE: 30,9 ± 5,9 años) en el segundo o tercer trimestre del embarazo <i>versus</i> el promedio de exposición a PM _{2.5} de cinco estaciones de medición de calidad del aire	Se encontró una correlación positiva para TSH y PM _{2.5}	(Ilias et al., 2020)
PM_{2.5}	Se trataron ratas Sprague Dawley con PM _{2.5} (0, 15 y 30 mg / kg) mediante inhalación pulmonar pasiva durante 49 días	La exposición podría reducir los niveles circulantes de hormona tiroidea en suero y plasma de rata al alterar la biosíntesis, biotransformación y transporte de TH	(Dong et al., 2021)

III Justificación

Los seres humanos convivimos continuamente con sustancias presentes en el ambiente, las cuales pueden llegar a ser nocivas a la salud; entre estas sustancias se encuentran el arsénico, cuya exposición es a través de la ingesta de agua y el PM_{2.5} mediante la inhalación de partículas suspendidas en el aire. En este sentido, se ha reportado que los LMP de ambas sustancias se observan elevados en comparación con los LMP que declaran como seguros los organismos internacionales (OMS) y nacionales (NOM). Por estos motivos, es de gran importancia, evaluar los posibles efectos sinérgicos de tipo adverso que se pudieran presentar debido a la co-exposición de estos contaminantes. Aunque bien, sí hay evidencia aislada del efecto de ambos contaminantes sobre la función tiroidea, no hay información clara que aborde los efectos negativos de la mezcla. Por lo tanto, en el presente trabajo se pretende determinar el efecto de la co-exposición de PM_{2.5} y As sobre la función tiroidea de ratas Wistar.

IV Hipótesis.

La co-exposición subcrónica, de ratas Wistar a PM_{2.5} ambiental y As de sodio induce disfunciones cognitivas, alteraciones histopatológicas y funcionales en tiroides

V Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar la función tiroidea a través de parámetros hormonales e histopatológicos y su efecto en la función motora y cognitiva, así como determinar los parámetros tiroideos de ratas wistar expuestas subcrónicamente a PM_{2.5}, arsenito de sodio y en co-exposición

5.2 Objetivos particulares

1. Evaluar los efectos dependientes de la función tiroidea como la termogénesis, la tasa metabólica basal y la masa corporal de ratas wistar expuestas crónicamente a arsenito de sodio, PM_{2.5} y en la co-exposición.
2. Evaluar la función motora y cognitiva de ratas wistar expuestas crónicamente a arsenito de sodio, PM_{2.5} y en la co-exposición mediante un sistema de campo abierto y laberinto en "Y" como medida indirecta del daño tiroideo.
3. Determinar el perfil tiroideo estándar en ratas wistar expuestas crónicamente a arsenito de sodio, PM_{2.5} y en la co-exposición mediante ensayos electroquimioluminiscente competitivos y tipo sándwich.
4. Determinar los cambios histopatológicos y morfológicos de las tiroides obtenidas de ratas wistar expuestas crónicamente a arsenito de sodio PM_{2.5}, y en la co-exposición a través de tinciones convencionales (H&E).

VI Metodología

6.1 Colección del material particulado

El material particulado (PM_{2.5}) fue colectado de la ciudad de México en Enero del 2019 utilizando un muestreador de alto volumen (TE6070V-2.5, Tisch Environmental, Inc.; Village of Cleves, OH, USA, con un flujo de aire de 1.13 m³ min⁻¹) con filtros de nitrocelulosa de 0.2 micras, dichas membranas eran removidas cada tercer día y las partículas se colectaban por raspado mecánico, dicha colección se realizó durante un mes, obteniéndose 43 mg de PM_{2.5} (Rosas I., *et al* 2001).

6.2 Preparación de la suspensión de PM_{2.5}

El PM_{2.5} se pesó en una semi-microbalanza (Pioneer® Precision; OHAUS Corporation, Parsippany, NJ, EUA) en frascos ámbar de boca ancha libres de endotoxinas. Se prepararon suspensiones stock de 10mL con PM_{2.5} de 640 µg/ml (escalando la cantidad de PM_{2.5} a la que estaríamos expuestos diariamente), en solución salina (Solución CS Pisa, PISA, Guadalajara, JAL, MX). Antes de su uso, la solución de PM se sonicaba durante 30 minutos (BioSonic, modelo UC100; Whaledent/COLTENE, Cuyahoga, OH, EUA), posterior a la sonicación, el PM se utilizó inmediatamente (Rosas I., *et al* 2001).

6.3 Animales de experimentación

Se utilizaron 75 ratas wistar, hembras de 8 semanas de edad, con un peso entre 170 y 190 g, las cuales fueron adquiridas en el bioterio “Claude Bernard” del Campus UAZ, Siglo XXI. Tuvieron acceso *ad libitum* a comida (Rat Diet 5012 de LabDiet ®) y agua, estuvieron en jaulas con condiciones de temperatura y humedad contradas y en ciclos de luz oscuridad de 12h.

6.3.1 Consideraciones éticas

Es importante mencionar, las manipulaciones experimentales, desde el transporte, confinamientos, satisfacción de necesidades fisiológicas hasta el sacrificio, se llevaron a cabo de conformidad con las directrices institucionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio, del Área de Ciencias de la Salud estipuladas por

Reglamento de bioética y bienestar animal de la UAMVZ-UAZ; así como las establecidas por la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio; el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en su TITULO SEPTIMO y el Código Sanitario para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE por sus siglas en ingles) en el capítulo 7.8. Utilización de animales en la investigación y educación. Además, el proyecto fue aprobado por el Consejo de Bioética de la Unidad de Ciencias de la salud perteneciente a la Universidad Autónoma de Zacatecas con el Oficio No. ACS/UAZ/086/2020

6.4 Modelo experimental: Exposición crónica

Se utilizaron 75 ratas Wistar, hembras, que se seleccionaron al azar para formar 3 grupos, con 20 ratas cada uno para los distintos tiempos, y un grupo adicional de 15 ratas para evaluar el desarrollo cognitivo. Los grupos estuvieron distribuidos de la siguiente manera:

Tabla 9 Distribución de los distintos grupos de tratamiento

Grupo	Tratamiento	T ₇	T ₁₄	T ₂₈	Evaluación motora y cognitiva T ₂₈
Ctrlv.o.	Agua purificada	n=4	n=4	n=4	n=3
Ctrlv.l.	Solución salina intratraqueal	n=4	n=4	n=4	n=3
As	NaAsO ₂ en agua purificada	n=4	n=4	n=4	n=3
PM	PM _{2.5} Intratraqueal	n=4	n=4	n=4	n=3
PM+As	NaAsO ₂ en agua de bebida y PM _{2.5} intratraqueal	n=4	n=4	n=4	n=3

La administración de la solución salina y el material particulado en solución salina se realizaron por instilación intratraqueal tres veces a la semana durante 1 mes,

para ello, las ratas fueron anestesiadas en una cámara con 0.1 ml de sevoflurano (Savannlab® Sevoflurano, Piramal Critical Care Inc., Bethlehem, PA, EUA) posteriormente, fueron expuestas al PM_{2.5} por vía intratraqueal o bien la solución salina (S. Sarkar et al., 2019). Para la exposición a NaAsO₂ a una concentración de 70µg/L (debido a que fue la mayor concentración determinada en agua de uso en el estado de Zacatecas), este se adiciono al agua de bebida para que el modelo murino tuviera acceso *ad libitum* (según sea el caso del grupo). (Nino et al., 2018).

6.5 Determinación de los efectos dependientes de la función tiroidea.

6.5.1 Monitoreo de la temperatura corporal

Los experimentos se realizaron diariamente durante la fase de luz, entre las 10:00h y las 12:00h, a una temperatura ambiente entre 19-22 ° C. Las ratas se manipularon por la cola y se colocaron sobre la mesa para realizar la medición de la temperatura corporal, mediante un termómetro rectal, el cual fue insertado aproximadamente 1cm, durante 10s para permitir lecturas estables, luego de cada medición el termómetro era desinfectado(Shortall et al., 2013).

6.5.2 Evaluación de la Tasa metabólica basal

La determinación de la tasa metabólica se realizó por medio del método de calorimetría indirecta para conocer el gasto energético, la cual se realizó utilizando un sistema OxyletPro (Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, España). Para este propósito, cada una de las ratas wistar expuestas a arsenito de sodio, PM_{2.5} y en la co-exposición se colocaron en cajas de acrílico individuales (Oxylet LE 1305 Physiocage, PANLAB) en un ambiente de temperatura controlada (23 ± 2°C). El consumo de O₂ y la producción de CO₂ se midieron por 3 minutos cada 12 min durante 72 h (de las cuales las primeras 24 h se utilizan solo para aclimatación de los roedores), mediante un analizador de gases (Oxylet LE 405, PANLAB) a un caudal controlado de 900 ml/min (Oxylet LE 400 -aire proveedor, PANLAB). El registro se realizó durante 3 días, de acuerdo con las instrucciones del proveedor, y el análisis de datos utilizando el programa Metabolism V 3.0 (Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, España), que calculó automáticamente el cociente

respiratorio (RQ, por sus siglas en inglés de respiratory coefficient) como la relación VCO_2/VO_2 y el gasto de energía (EE en kcal/día/kg^{0.75} como $VO_2 \times 144 \times 3815 + 1232 \times RQ$) (Lopez-Islas et al., 2019; Weir, 1948). Durante todos los procedimientos, las ratas tuvieron acceso *at libitum* a comida y agua (Alonso-Castro et al., 2019).

6.5.3 Índice de Lee (IL)

Las medidas del peso y talla para calcular el IL en las ratas, se efectuó diariamente, para tener un promedio de cada 7 días, a partir del día 1, a las 11:00 hrs. El IL fue utilizado como un indicador de obesidad o acumulación de tejido graso en las ratas. Las variables, talla y masa se relacionaron mediante la siguiente ecuación (Leonardo & de Yarbuh, 2009)

$$IL = \frac{\sqrt[3]{Masa(g)}}{Longitud(cm)}$$

6.6 Evaluación de la función motora

6.6.1 Sistema de campo abierto

Consiste en una caja cuadrada, equipada con sensores (SuperFlex Opend Field System) que detectan el movimiento del roedor, y dividida virtualmente en cuadrantes. El sistema registra la actividad horizontal, la actividad vertical, la distancia total recorrida, el tiempo transcurrido en el centro de la caja versus el tiempo transcurrido en la periferia, los movimientos repetitivos y el tiempo que el animal pasa explorando las diferentes zonas del entorno, entre otras variables, mediante el registro de los sensores analizado por el software Fusion v5.5 SuperFlex Edition. Así, este sistema permite evaluar la actividad locomotora, la capacidad exploratoria y el grado de emotividad (ansiedad) (Xing et al., 2013).

Las ratas fueron colocadas en el centro de la caja y se les permitió explorar libremente; se monitoreó durante 1 hora:

- a) la distancia total
- b) el tiempo de descanso

- c) el tiempo empleado en cuadrados centrales
- d) la distancia recorrida en los cuadrados centrales

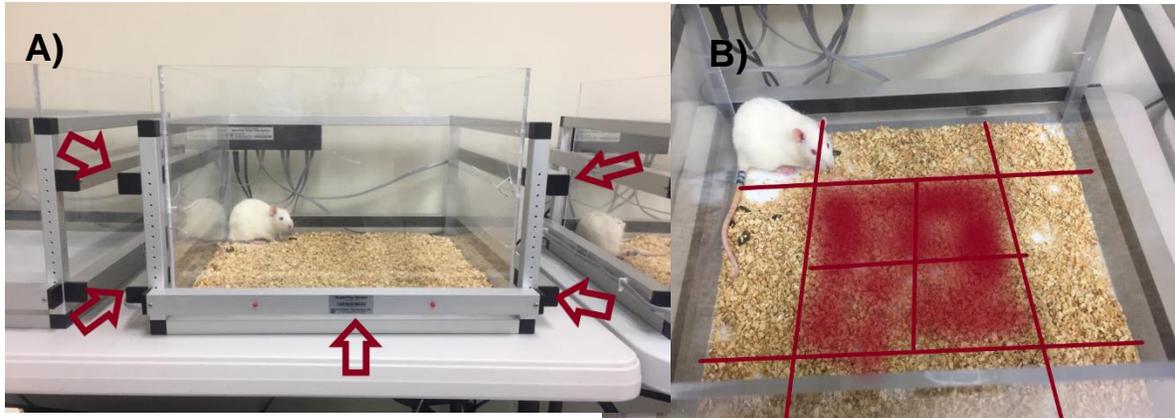


Fig. 14 . Ilustración de la caja de campo abierto, A) las flechas indican la posición de los distintos sensores de infrarrojo. B) La parte sombreada se refiere a los cuadrados centrales.

6.7 Evaluación de la función cognitiva

6.7.1 Laberinto Y

El laberinto en Y probó la capacidad de la memoria de trabajo espacial. Este se basa en la alternancia entre los tres brazos idénticos (A, B y C) a 120 ° en el laberinto en Y (95 cm de largo, y 82 de ancho). Suavemente se colocó a la rata con la cabeza en dirección al final de uno de los brazos (A), manteniendo todo el proceso en silencio y dejándola moverse libremente en el laberinto en Y durante 10 minutos. Una conducta de alternancia de reacción espontánea exitosa es que la cabeza y las extremidades de la rata entren completamente en el brazo, y debe entrar y salir sucesivamente de los tres brazos diferentes. Después de una prueba, rociamos el dispositivo con alcohol al 10%, lo fregamos uniformemente con un paño absorbente y finalmente lo secamos, todo el proceso fue video grabado con una cámara Logitech, para posteriormente ser evaluado con ayuda del software SMART 3.0. (Y. Liu et al., 2020).

6.8 Sacrificio de los animales de experimentación para la obtención de biopsia líquida y glándula tiroidea

Posterior a los 7, 14 y 28 días de tratamiento (esto para monitorear las hormonas en tiempos cortos y prolongados). Para el sacrificio, las ratas fueron anestesiadas en una cámara con 0.1mL/rata de sevoflurano (Savannlab® Sevoflurano, Piramal Critical Care Inc., Bethlehem, PA, EUA), posteriormente fueron desangradas por corte de la arteria axilar, de donde se colectó la biopsia líquida, luego se procedió a realizar la disección, obteniéndose la glándula tiroidea para su evaluación histopatológica.

6.9 Determinación del perfil tiroideo estándar (TSH, T₄T, FT₄, T₃T, FT₃) mediante ensayos electroquimioluminiscente competitivos y tipo sándwich.

Se utilizó el suero colectado de la biopsia líquida para determinar el perfil tiroideo de todas las ratas por medio de un sistema de inmunoensayo automático de electroquimioluminiscencia (Jin & Sugitani, 2020). A continuación, se describen los procedimientos.

Para la medición cuantitativa de TSH se utilizó un ensayo enzimático inmunométrico (ELISA) en fase sólida en formato de microplaca, diseñado para la medición cuantitativa de TSH en suero de rata. La microplaca está recubierta con un anticuerpo monoclonal específico para TSH (BioVendor Research and diagnostic products).

Primero se prepararon los pocillos de microplacas para acomodar los calibradores y las muestras, para la preparación de los calibradores se utilizaron las siguientes diluciones (40 ng/ml), E (20 ng/ml), D (10 ng/ml), C (5 ng/ml) y B (2,5 ng/ml). Luego se pipetearon 25 µl de cada calibrador, control y muestra en los pocillos preparados, se añadió 200 µl de anticuerpo TSH de rata marcado con enzimas en todos los pocillos se mezcló durante 10 segundos y se incubó durante 20 horas a 4°C.

Pasadas las 20 hrs se desechó el contenido de los pocillos y se lavó 4 veces con 300 µl de solución de lavado tamponada. Se añadieron 200 µl de solución de TMB/sustrato a todos los pocillos y se dejó incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Después, se añadió 50 µl

de solución de parada a cada pocillo y se mezcló cuidadosamente. Para obtener los resultados se leyó la placa en un MultiSkan Ascent (Thermo Scientific), con un filtro de 450 nm, con el apoyo del Laboratorio de Biomarcadores a cargo de la Dra. Susana Godina González.

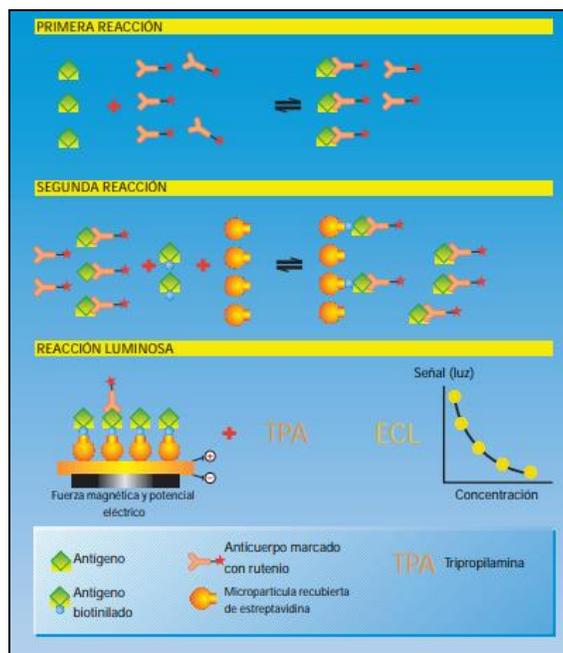


Fig. 15 Principio de inmunoensayo tipo competitivo (Roche Diagnosis, 2011)

Mientras que, para la T₄T, FT₄, T₃T y FT₃ se empleó un analizador para inmunoensayos heterogéneos, multicanal selectivo (Cobas E411 Roche Diagnostics ©) del laboratorio de análisis clínicos del Hospital general de Jerez, con el apoyo de los QFB, Daniel de Luna Amaro y Carmen Villegas. Se realizó un inmunoensayo electroquimioluminiscente competitivo, el cual consiste en una serie de incubaciones con anticuerpos anti-T₄ o anti-T₃ según fuera el caso, cada uno reconoce distinto epítipo, respectivamente. El anticuerpo está marcado con quelato de rutenio; la hormona (T₄ o T₃) ligada es liberada de las proteínas fijadoras de la muestra por ANS. Tras la incorporación de la hormona (T₄ o T₃) marcada con biotina y de micropartículas recubiertas de estreptavidina, los puntos de fijación aún libres del anticuerpo marcado se ocupan formándose un complejo anticuerpo-hapteno. El complejo total se fija a la fase sólida por la interacción

entre la biotina y la estreptavidina. La mezcla de reacción se trasladada a la celda de medida, donde por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo como se puede observar en la **Fig 17**. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell/ProCell M. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador. Los resultados se determinarán mediante una curva de calibración generada a partir de estándares con concentraciones de antígeno conocidas (Roche Diagnosis, 2011).

6.10 Evaluación histopatológica y morfometría de la glándula tiroidea

Una vez hecha la disección del modelo murino de exposición, se diseccionó la glándula tiroidea y se fijó en un buffer de fosfatos (pH 7.4) al 10% de formaldehído por un periodo de 48 horas, para su posterior inclusión en parafina. Una vez incluida, se realizaron cortes histológicos de aproximadamente 6 µm, los cuales fueron depositados en portaobjetos silanizados. Los cortes histológicos de la glándula tiroidea se desparafinarán con Xilol durante 5 minutos, de manera repetida. Luego se procedió a su hidratación incubándolos durante 10 minutos con alcohol en concentraciones decrecientes (100%, 96%, 90%, 70% v/v en agua). A continuación, se procedió con la tinción hematoxilina y eosina (H&E).

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico(Lee et al., 2016). Consiste en la tinción de:

a) Los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hematina a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o fierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron.

b) El citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado

Brevemente, el procesamiento de la tinción se describe a continuación. Primero se coloreó con la solución de hematoxilina de 3 a 5 minutos, para un posterior lavado en agua destilada (2 baños) un minuto cada uno. Después para diferenciar, se eliminó el exceso de colorante, se utilizó alcohol ácido, hasta que los núcleos y los componentes basófilos de las células fueron los únicos que permanecieron teñidos, luego se lavó en agua corriente durante 2 minutos, para virar al color azul, se empleó una solución de bicarbonato de sodio al 2% que se lavó en agua corriente por 5 minutos, luego se lavó en agua destilada (2 baños) por 1 minuto c/u. Luego se utilizó una solución alcohólica de eosina de 3 a 5 minutos. Posteriormente, se deshidrató en baños crecientes de alcohol etílico alcohol de (70, 95 y 100 %) durante 1 minuto c/u. Finalmente, se aclaró empelando xilol durante 1 minuto (Cardiff et al., 2014).

6.11 Conteo de folículos tiroideos y análisis de las alteraciones histopatológicas

Para cada laminilla obtenida de la técnica histológica, se analizó la morfología de los folículos de las ratas expuestas con NaAsO₂, y PM_{2.5} así como también de los controles que no fueron expuestos a estos factores.

Para evaluar y determinar los daños, se tomó en cuenta el corte histológico que se realizó para la determinación del tamaño de la pared folicular (μm), el área del coloide (μm^2) y el volumen de las células foliculares (μm^3) con la ayuda del software Klonk ImageMeasurement, para el volumen se tomaron dos mediciones de la altura de las células epiteliales por folículo en cada área entre las superficies apical y basolateral de las células foliculares. El tamaño medio del volumen

nuclear se calculó utilizando el diámetro máximo (D1) y el diámetro mínimo (D2) de los núcleos considerando la fórmula (Calderón-Vallejo et al., 2020)

$$Volumen = \pi \frac{3}{4} (r1) (r2) (r3)$$

Donde:

$$r1 = D1 / 2$$

$$r2 = D2 / 2$$

$$r3 = (r1 + r2) / 2$$

6.12 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con la prueba de bondad de ajuste Shapiro-wilks para conocer su distribución y posteriormente se realizó una prueba de ANOVA para la comparación entre grupos seguido de un post-hoc de sidak, donde se consideraron diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p < 0.05$. El análisis se realizó con el paquete estadístico GraphPad Prism versión 6.0 para Windows.

VII Resultados

7.1 Monitoreo de la temperatura corporal

Los resultados (gráfico1) muestran cambios significativos en la temperatura corporal del grupo As respecto al resto de los grupos; incluso se observó el mayor decremento de la temperatura en la co-exposición (PM_{2.5}+As) ($p < 0.0001$), sugiriendo un efecto aditivo dependiente de As en la regulación de la temperatura corporal. Así mismo se pudo observar una tendencia a la disminución de la temperatura en el grupo en co-exposición aunque este dato no fue significativo.

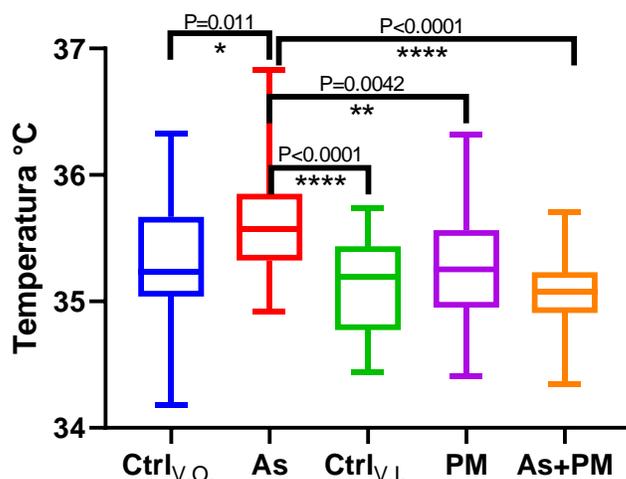


Gráfico 1. Temperatura promedio de 4 ratas por grupo, medida diariamente expresada en °C. Se utilizó un ANOVA de una vía con un post test de Bonferroni y se consideró diferencias estadísticamente significativas cuando el valor $p < 0.05$.

7.2 Evaluación de la Tasa metabólica basal

El gasto energético es la cantidad de energía que el organismo necesita para mantener su peso y realizar las funciones necesarias a lo largo del día. En el **gráfico 2** se observa que tanto el gasto energético como el RQ (Coeficiente de respiración) se ven aumentados en los ciclos de oscuridad, lo cual es de esperarse debido a que los roedores son animales nocturnos y como consecuencia presentan una mayor actividad durante las noches. En el gráfico 2 (A), se presenta el RQ, que nos indica los nutrientes que preferentemente se

metabolizan y aportan al gasto energético. Es importante mencionar que el valor de 1 representa la quema de carbohidratos, valores entre 0.9-0.8, aminoácidos y valores de 0.7, lípidos. Mientras que valores de 1-1.2 indican lipogénesis. En el gráfico 2A, se muestran cambios significativos de RQ entre los grupos de As y los PM_{2.5} respecto al grupo PM_{2.5}+As; así como entre el grupo Ctrl_{v.i.} y los grupos PM_{2.5} y PM_{2.5}+As, sugiriendo que la co-exposición es significativamente distinta a ambos grupos control ($p < 0.05$).

Del mismo modo, para el gasto energético cuyos resultados se pueden observar en el gráfico 2B, hay una diferencia significativa entre el grupo Ctrl_{v.i.} y los grupos PM_{2.5}+As y As. De igual manera hay cambios significativos entre PM_{2.5}+As y PM, lo cual nos indica que la co-exposición genera un efecto distinto a la exposición aislada de cada uno de los contaminantes estudiados.

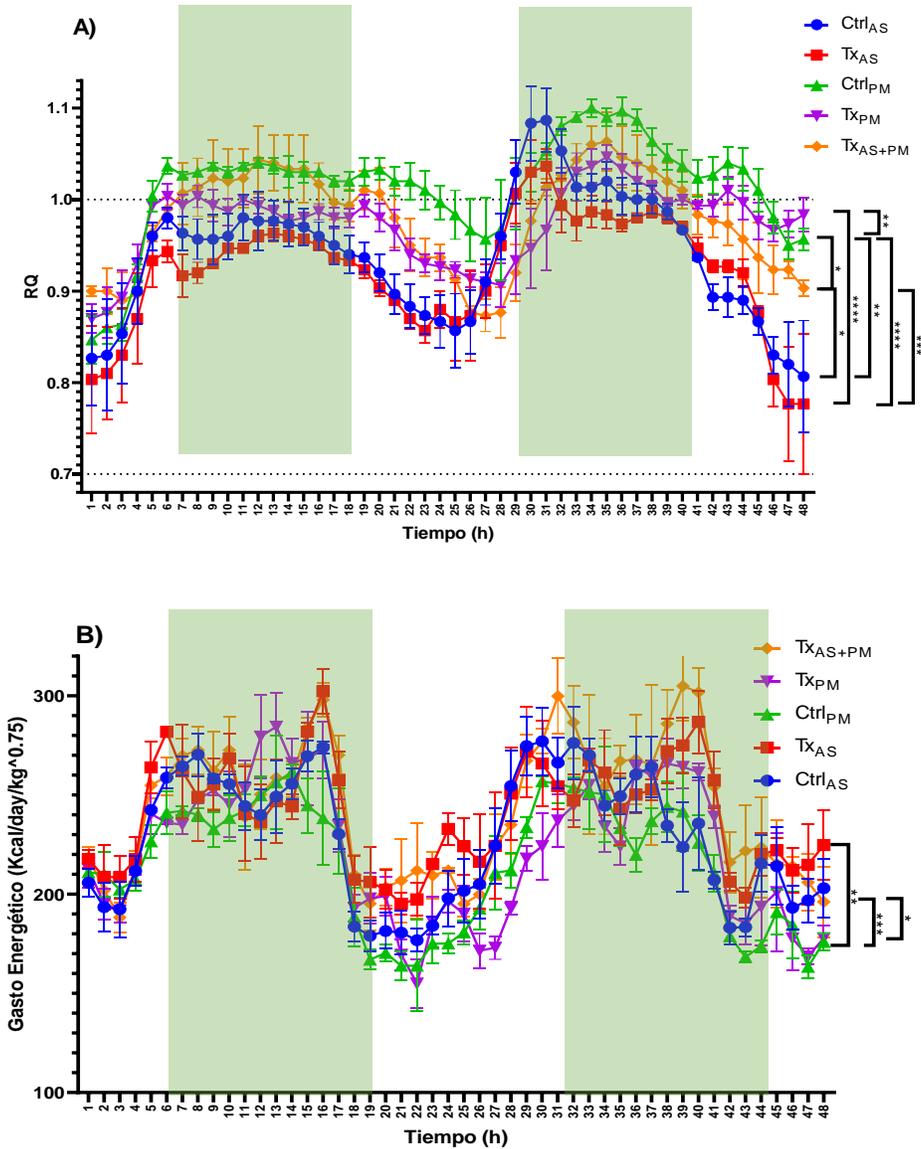


Gráfico 2 Calorimetría indirecta durante 48 hrs, las horas sombreadas son periodos de oscuridad y el resto de luz. Se utilizó un ANOVA de Kruskal-Wallis test con un post test de Dunns y se consideró diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de $p < 0.05$ A) Coeficiente reportorio RQ (por sus siglas en inglés) el cual es la relación entre el CO₂ producido y el O₂ consumido donde * $P=(0.0217-0.0346)$, ** $P=(0.0035-0.0038)$, *** $P=0.0003$ y **** $P<0.0001$ B) Gasto Energético obtenido a partir de los datos de intercambio de gases producidos, donde * $P=0.0349$, ** $P=0.0036$ y *** $P=0.0009$.

7.3 Índice de Lee

Se midieron los parámetros de masa (en gramos) y talla (como la longitud del hocico hasta la base de la cola (LHA) en cm), a partir de la cual se calculó el índice de Lee (IL), esto con el fin de obtener el estado nutricional del animal. Los

resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 10**, donde podemos observar la media junto con la desviación estándar (SD por sus siglas en ingles) de los datos obtenidos diariamente desde el inicio del tratamiento y hasta el día del sacrificio. Donde podemos observar que, aunque no hubo diferencia significativa entre los cambios de IL, si lo hubo con respecto a la masa.

Tabla 10 Variables biométricas por grupos y tiempos de tratamiento

Grupo	Tiempo	LHA (cm)		Masa (g)		IL	
		Media	SD	Media	SD	Media	SD
Ctrl _{v.o.}	T(0)	17.292	± 0.304	175.667 ^a	± 15.029	0.3243	± 0.0043
	T(7)	17.631	± 0.226	182.095	± 17.159	0.3212	± 0.0027
	T(14)	19.179	± 0.235	208.393	± 5.513	0.3096	± 0.0032
	T(28)	19.946	± 0.419	225.214 ^a	± 7.246	0.3054	± 0.0053
As	T(0)	17.917	± 0.300	186.000	± 25.352	0.3184	± 0.0034
	T(7)	18.315	± 0.306	191.560	± 24.973	0.3141	± 0.0025
	T(14)	19.223	± 0.279	203.143	± 23.275	0.3056	± 0.0016
	T(28)	20.205	± 0.432	231.107	± 28.463	0.3035	± 0.0017
Ctrl _{v.l}	T(0)	18.167	± 0.207	184.000 ^c	± 28.808	0.3128	± 0.0041
	T(7)	18.696	± 0.194	190.083	± 24.885	0.3063	± 0.0018
	T(14)	19.839	± 0.314	206.071	± 32.258	0.2985	± 0.0017
	T(28)	20.813	± 0.337	245.643 ^c	± 28.692	0.3006	± 0.0014
PM _{2.5}	T(0)	18.000	± 0.185	166.250 ^d	± 17.818	0.3054	± 0.0042
	T(7)	18.321	± 0.216	170.976	± 19.156	0.3024	± 0.0028
	T(14)	18.967	± 0.267	188.330	± 23.798	0.3001	± 0.0012
	T(28)	20.345	± 0.063	225.024 ^d	± 4.557	0.2990	± 0.0002
PM+As	T(0)	17.750	± 0.209	169.167 ^b	± 20.444	0.3114	± 0.0041
	T(7)	18.145	± 0.174	174.190 ^{**}	± 19.383	0.3070	± 0.0007
	T(14)	19.398	± 0.237	194.531	± 25.811	0.2982	± 0.0015
	T(28)	20.473	± 0.179	235.262 ^{b**}	± 10.354	0.2996	± 0.0022

Se consideran significativos los valores con P<0.05, * P=0.0127, ** P=0.0045, ^a P=0.0220 ^b P=0.0010, ^c P=0.0004 y ^d P=0.0087.

En el gráfico 3 A) se observa el aumento de masa durante los distintos tiempos donde se puede evidenciar que el grupo As, tuvo un aumento de masa significativamente mayor al final del tratamiento, que el resto de los grupos. En cambio en los resultados del IL, que se observan en la Gráfica 3 B), donde no hay diferencia significativa entre los grupos al T(28).

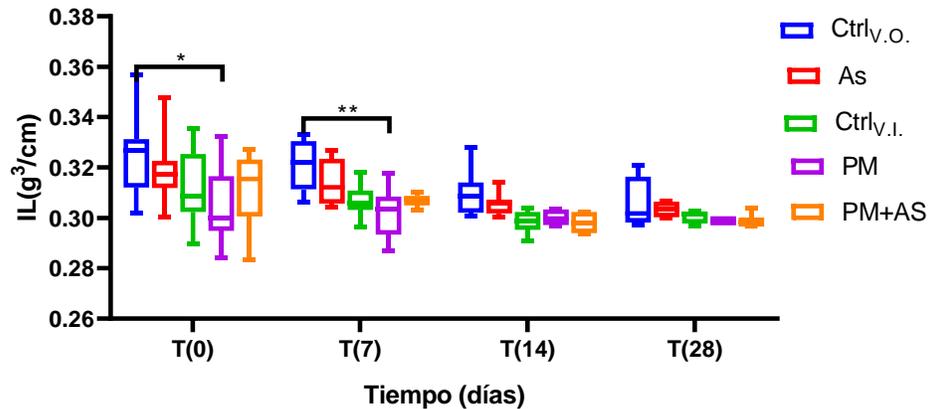


Gráfico 3 Media de los datos de talla y masa medidos diariamente. A) Diferencia de peso diaria de cada uno de los grupos con respecto al día 0, los datos fueron considerados significativos cuando $P < 0.05$. ** $P = 0.0015$, *** $P = 0.0001$ **** $P < 0.0001$. B) Índice de Lee obtenido del cociente de la raíz cubica de la masa en g y el tamaño en cm, donde * $P = 0.0127$ y ** $P = 0.0066$.

7.4 Evaluación de la función motora (Sistema de campo abierto)

Este modelo de respuesta es de gran utilidad, ya que además de evaluar la función motora *per se* también permite determinar la reacción del sujeto de experimentación frente a un acontecimiento estresante, lo cual se cuantifica por la distancia recorrida en los cuadrantes centrales. En la Gráfica 4, se muestran los resultados obtenidos de la prueba de campo abierto. En el gráfico 4A, se observa, que los grupos de As y PM, fueron los que recorrieron una mayor distancia en la prueba, en comparación con el resto de los grupos. Además, el grupo de As recorrió mayor distancia en los cuadrantes centrales como se evidencia en el gráfico 4C. Esto nos indica que este grupo tardó más tiempo en adaptarse, lo cual es indicativo de un proceso de ansiedad. En el gráfico 4B, podemos ver que el grupo en co-exposición, fue el grupo que se adaptó con una mayor rapidez, debido a que presenta un mayor tiempo de descanso, lo que nos indica que terminó de explorar el espacio en menor tiempo o bien que perdió el interés por explorar en menor tiempo que los grupos Ctrlv.i., PM, y As. En el gráfico 4D se muestra el tiempo que los grupos pasaron en los cuadrantes centrales no es significativamente distinto a pesar de que la distancia que se recorriera si lo fué.

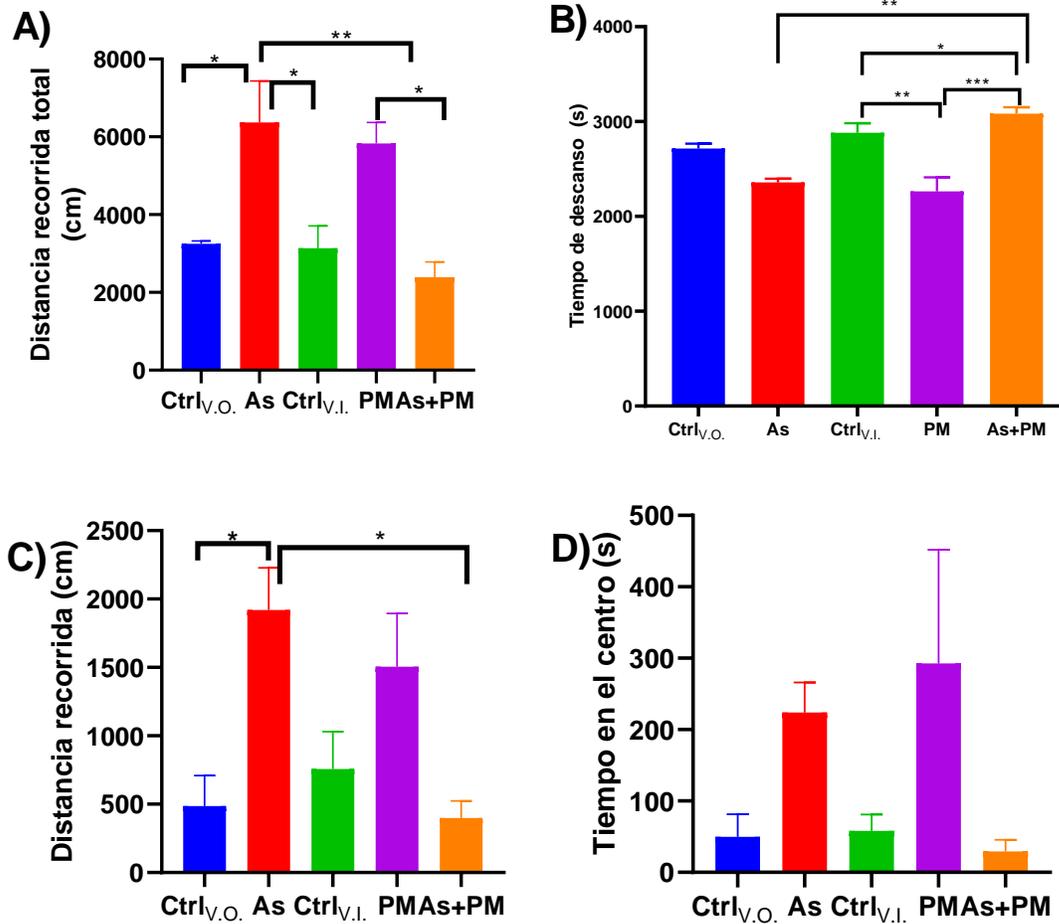


Gráfico 4. Sistema en campo abierto. Se muestra la media de los datos que presentaron los distintos grupos durante 1 hora en la cual fueron evaluados con un ANOVA de una vía, tomando como un valor significativo cuando $p < 0.05$ y donde * $p = (0.01-0.05)$ ** $p = (0.001-0.009)$ *** $p = (0.0001-0.0009)$ **** $p < 0.0001$. A) Distancia total recorrida en cm B) Tiempo de descanso en s C) Distancia recorrida en cm D) Tiempo de duración en los cuadrantes centrales

7.5 Laberinto Y (Evaluación de la función cognitiva)

En este análisis se espera que el roedor explore un laberinto en forma de “Y” el cual cuenta con 3 brazos (Zona A, B, y C) y una zona central. En esta prueba se evaluó la memoria, la cual se ve reflejada debido a como cada uno de los grupos retiene la información de las zonas que visitó en el modelo de experimentación debe retener la mayor información referida a los brazos que visitó con anterioridad, para visitar todas las zonas antes de repetir los brazos ya visitados es decir formar tripletes de las zonas que visita (alternancia), en la Gráfica 5 A, se muestran los resultados obtenidos para el % de tripletes que fueron formados, y aunque se

puede observar que el grupo que tuvo un porcentaje mayor de alternancia fue el de Co-exposición y el que obtuvo una menor alternancia fue el grupo control, no hubo resultados significativos, por lo que estos resultados no son distintos, aunque cabe resaltar que para el caso de la distancia recorrida (gráfica 5 B), el grupo de As, recorrió una distancia significativamente mayor, que el grupo control, lo cual es muy notorio en los videos ya que las ratas en As tardan más tiempo en adaptarse al laberinto, este resultado es concordante a los obtenidos en la prueba de campo abierto. Además, en el gráfico 5C, se muestran los resultados del tiempo en la zona media del laberinto, ya que este representa el tiempo que tardan en tomar decisiones, donde se puede observar que el grupo en co-exposición mostró un porcentaje de tiempo significativamente menor.

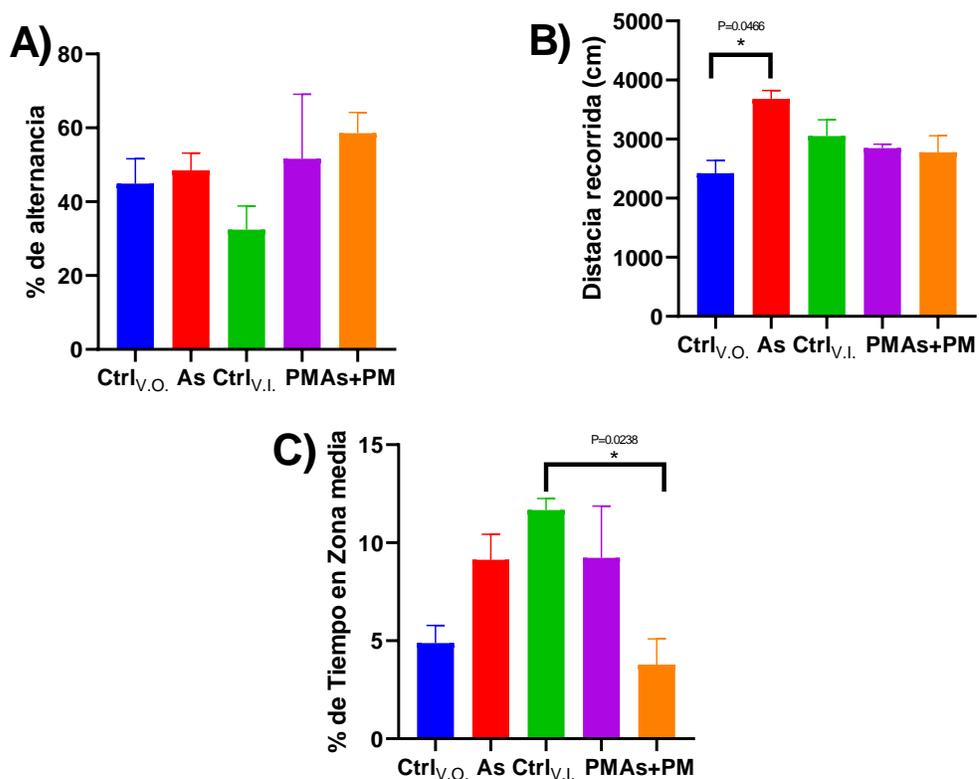


Gráfico 5. Laberinto Y. Se muestra la media de los datos alternancia que presentaron los distintos grupos durante los 10 min que estuvieron dentro del laberinto en Y, los cuales fueron videograbados y posteriormente analizados con Software Smart V 3.0, tomando como un valor significativo cuando $P < 0.05$ A) Porcentaje de tripletes presentados durante la prueba, B) Distancia recorrida en cm, durante la prueba. C) Media del grupo del tiempo que se estuvo en la zona de toma de decisiones.

7.6 Determinación del perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición.

Las hormonas tiroideas juegan papeles clave en el metabolismo. Las cuales pueden alterarse en respuesta a distintos perturbadores endocrinos. En ese sentido y como parte del objetivo de la presente investigación. Se determinó TSH, T₄T, FT₄, T₃T y FT₃ en el modelo murino de co-exposición a As y PM_{2.5}. Los resultados muestran que hubo cambios estadísticamente significativos a los tiempos 28 y 60 días en todos los parámetros tiroideos a excepción de T₄T (Tabla 11). Contrariamente a lo esperado, se observó un comportamiento irregular en el grupo Control_{v.i.} debido al uso de sevoflurano, el cual en su composición tiene un halógeno (flor) para el cual se ha descrito que es un perturbador endocrino.

En el gráfico 6 se observa que el efecto del As y PM_{2.5} de forma independiente induce un incremento significativo de TSH (gráfico 6A), después de los 28 de exposición. Sin embargo, en combinación este efecto se normaliza hasta adquirir un comportamiento similar al control.

Los parámetros T₄T, FT₄, T₃T y FT₃, se mantienen constantes hasta el día 14 en todas las condiciones experimentales. No obstante, a partir del día 28 se observan decrementos sutiles hasta alcanzar la significancia estadística a los 60 días de exposición; observándose el mismo efecto antes descrito para TSH bajo la co-exposición de As y PM_{2.5}, es decir se observa un pequeño efecto antagónico de su efecto por separado (Gráfico 6B-D).

Tabla 11. Perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición

		Ctrl _{v.o.}	As	Ctrl _{v.i.}	PM _{2.5}	PM+AS	<i>p</i> valúe
TSH ng/mL	T7	0.979±0.556	0.677±0.050	0.727±0.101	0.727±0.404 ^c	0.7273±0.404 ^f	ns
	T14	0.929±0.303	0.424±0.000	0.525±0.00 ^b	0.727±0.404 ^d	0.7273±0.202 ^g	ns
	T28	*0.575±0.152	^a 0.576±0.050	1.485±0.051	1.333±0.505 ^e	* ^a 2.242±0.909 ^{fg}	0.0339*
	T60	1.333±0.202	1.434±0.909	2.192±1.465 ^b	*2.849±2.121 ^{cde}	*1.030±0.101	0.0204*
		ns	ns	0.0261 ^b	0.003 ^{cd} 0.0498 ^e	0.0498 ^f	
T ₄ nmol/L	T7	66.585±15.86	71.670±2.00	59.500±10.69	69.355±15.155	62.130±4.140	Ns
	T14	*81.140±0.630	84.360±14.46	* ^{ab} 38.04±5.24 ^{cd}	^a 76.055±6.225 ^e	^b 72.490±20.14	<0.0001*

	T28	73.880±7.890	89.685±3.535	69.945±7.095 ^c	87.940±0.730 ^f	74.775±2.865	0.0005 ^a 0.0019 ^b
	T60	61.980±0.480	67.310±10.00	75.715±7.215 ^d	51.790±4.300 ^{ef}	57.465±23.245	ns
P valúe		ns	ns	0.0028 ^c 0.0004 ^d	0.0317 ^e 0.0006 ^f	ns	
FT ₄ pmol/L	T7	34.445±6.215	33.635±0.345	28.565±2.825 ^F	31.665±0.285	29.915±0.205	ns
	T14	*37.58±1.260	35.960±5.160	*ab20.50±2.590 ^{Fg}	*34.175±3.315	^b 33.530±5.260	<0.0001* 0.0004 ^a 0.0007 ^b
	T28	35.700±3.82	39.030±0.000	36.665±1.455 ^F	39.400±0.010	34.585±0.925	ns
	T60	^c 30.385±0.275	32.795±2.345	^{cde} 39.245±6.115 ^g	^d 26.155±2.495	^e 27.780±8.820	0.0370 ^c 0.0007 ^d 0.0035 ^e
	p valúe		ns	ns	0.0455 ^F <0.0001 ^g	ns	ns
T ₃ nmol/L	T7	1.475±0.145	1.605±0.065	1.410±0.080 ^b	1.585±0.015	1.560±0.090	ns
	T14	1.600±0.180	1.530±0.150	1.340±0.060 ^c	1.375±0.165	1.565±0.095	ns
	T28	1.720±0.210	1.630±0.020	1.515±0.015 ^d	1.605±0.005	1.540±0.030	ns
	T60	1.545±0.095	1.465±0.135	* ^a 1.80 ± 0.14 ^{bcd}	*1.425±0.025	^a 1.455±0.185	0.0023* 0.0057 ^a
	p valúe		ns	ns	0.0009 ^b <0.0001 ^c 0.0203 ^d	ns	ns
FT ₃ pmol/L	T7	4.825±0.755	5.730±0.610	5.015±0.435 ^c	5.965±0.735	5.615±0.165	ns
	T14	*5.705±0.695	5.735±0.665	* ^a 4.170±0.250 ^d	5.480±0.410	^a 5.625±0.975	0.0241* 0.0363 ^a
	T28	6.070±0.840	6.335±0.295	5.255±0.005	5.575±0.715	5.875±0.215	ns
	T60	5.345±0.345	5.660±0.990	^b 6.460±0.380 ^{cd}	4.710±0.150	^b 5.180±0.830	0.0074 ^b
	p value		Ns	ns	0.0249 ^c 0.0002 ^d	ns	ns
Ratio FT ₄ :T ₄	T7	0.052±0.003	0.047 ± 0.001	0.048 ±0.004	0.047 ±0.010	0.048 ±0.004	ns
	T14	0.046±0.001	0.043 ± 0.001	*0.054 ±0.001	*0.045 ±0.001	0.047 ±0.006	0.0251*
	T28	0.048 ±0.000	0.044 ± 0.002	0.053 ±0.003	0.045 ±0.000	0.046 ±0.001	ns
	T60	0.049 ±0.000	0.049 ± 0.004	0.052 ±0.003	0.050 ±0.001	0.050 ±0.005	ns
	p value		Ns	ns	ns	ns	ns
Ratio FT ₃ :T ₃	T7	0.326 ±0.019	0.356 ± 0.024	0.355 ±0.011	0.376 ±0.043	0.360 ±0.010	ns
	T14	0.356 ±0.003	0.374 ± 0.007	*0.312 ±0.033	*0.400 ±0.018 ^{bc}	0.358 ±0.041	0.0002*
	T28	0.352 ±0.006	0.389 ± 0.013	0.347 ±0.003	0.347 ±0.046 ^b	0.381 ±0.007	ns
	T60	^a 0.346 ±0.001	0.384 ± 0.032	0.359 ±0.007	^a 0.331 ±0.016 ^c	0.355 ±0.012	0.0402 ^a
	p value		ns	ns	ns	0.0305 ^b 0.0026 ^c	Ns

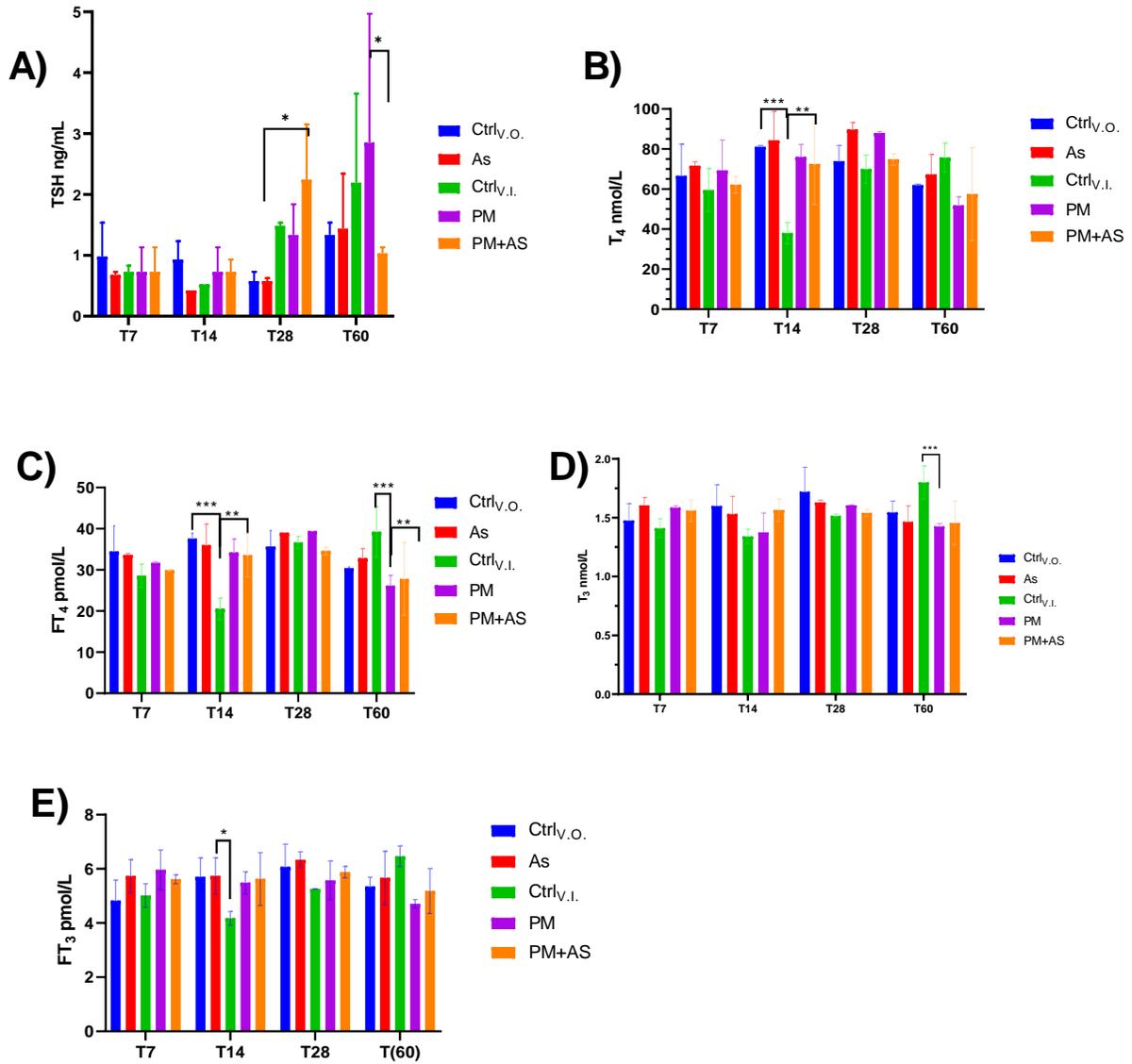
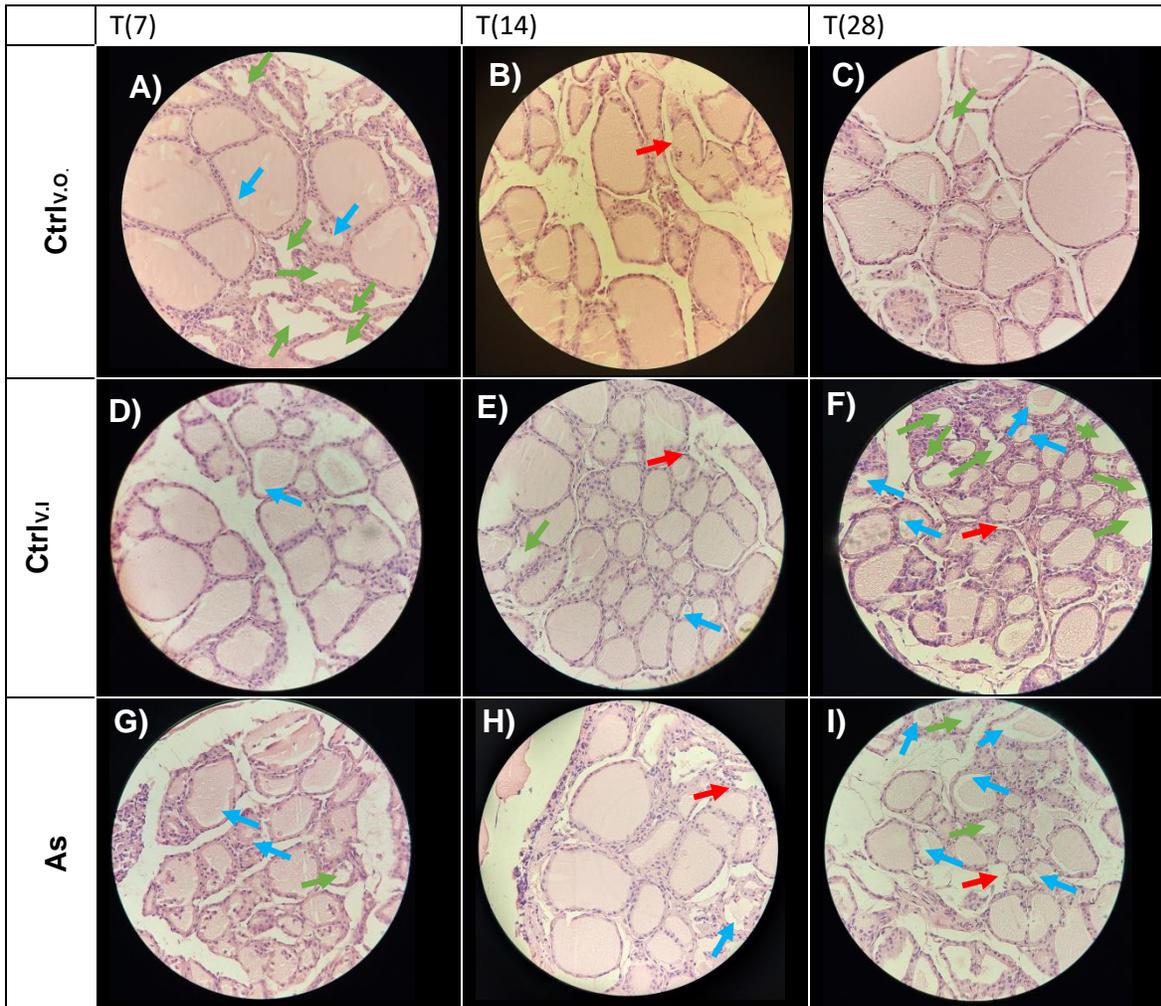


Gráfico 6. Perfil tiroideo estándar en el modelo murino de co-exposición. Se muestra la media de los datos de A) TSH en ng/mL donde * $p=(0.01-0.05)$. B) T₄ en nmol/L donde ** $p=(0.001-0.009)$ y *** $p=(0.0001-0.0009)$, C) FT₄ en pmol/L donde ** $p=(0.001-0.009)$ y *** $p=(0.0001-0.0009)$. D) T₃ en nmol/L donde *** $p=(0.0001-0.0009)$. E) FT₃ en pmol/L donde * $p=(0.01-0.05)$. Los datos obtenidos fueron evaluados con un ANOVA de una vía, tomando como un valor significativo cuando $p<0.05$

7.7 Evaluación histopatológica de la glándula tiroidea

En la evaluación histológica se pudo observar presencia de folículos vacíos, evidenciándose como folículos traslúcidos presentes en todos los grupos de experimentación; principalmente en el día 28 de los distintos tratamientos. Del mismo modo, se encontró adelgazamiento en la pared folicular para el grupo PM_{2.5}

en el tiempo 14. Los resultados también muestran, la presencia de vacuolas, que se aprecian como gotas oleosas en el lumen coloidal, estas se encuentran ampliamente distribuidas en todos los grupos de experimentación. Del mismo modo, se puede observar en todos los grupos, a excepción del grupo PM_{2.5} en el tiempo 14. La pared folicular tiene como característica que sus células tienen forma simple cúbica o cilíndricas, lo que indica que están en su estado activo. Ver **Figura 17.**



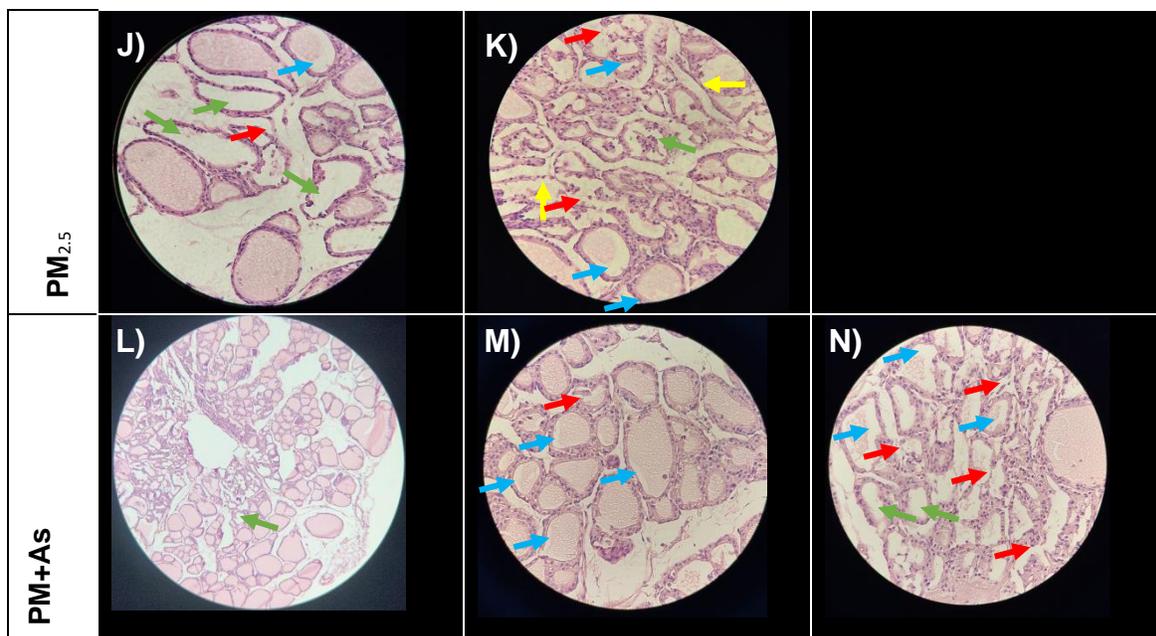


Fig. 16 Cortes histológicos de tiroides con tinción H&E a 40X donde ↑ Folículos vacíos, ↑Formación de vacuolas ↑Adelgazamiento de la pared folicular ↑Ruptura de la pared folicular A) Grupo Ctrl_{v.o.} con 7 días de exposición, B) Grupo Ctrl_{v.o.} con 14 días de exposición, C) Grupo Ctrl_{v.o.} con 28 días de exposición, D) Grupo Ctrl_{v.i.} con 7 días de exposición, E) Grupo Ctrl_{v.i.} con 14 días de exposición F) Grupo Ctrl_{v.i.} con 28 días de exposición, G) Grupo Tratamiento As con 7 días de exposición, H) Grupo Tratamiento As con 14 días de exposición, I) Grupo Tratamiento As+PM_{2.5} con 28 días de exposición, J) Grupo Tratamiento PM_{2.5} con 7 días de exposición, K) Grupo Tratamiento PM_{2.5} con 14 días de exposición, L) Grupo Tratamiento As+PM_{2.5} con 7 días de exposición, M) Grupo Tratamiento As+PM_{2.5} con 14 días de exposición N) Grupo Tratamiento As+PM_{2.5} con 28 días de exposición

Para la evaluación de la funcionalidad de los folículos se realizó la medición de la pared folicular, donde para los tiempos 7 y 14 se observa que los grupos en tratamiento muestran un aumento en el tamaño de la pared folicular con respecto a los grupos control. Mientras que en el tiempo 28 se el comportamiento se revierte, ya que los grupos en tratamiento muestran una pared folicular de menor tamaño con respecto a su control como se puede observar en el **grafico 7A**). Para el área del coloide, podemos observar que aunque no hay diferencia significativa se muestra una tendencia al incremento del tamaño del área con respecto al tiempo en todos los grupos a excepción de los grupos As y PM_{2.5}, en los que la tendencia a disminuir su área.

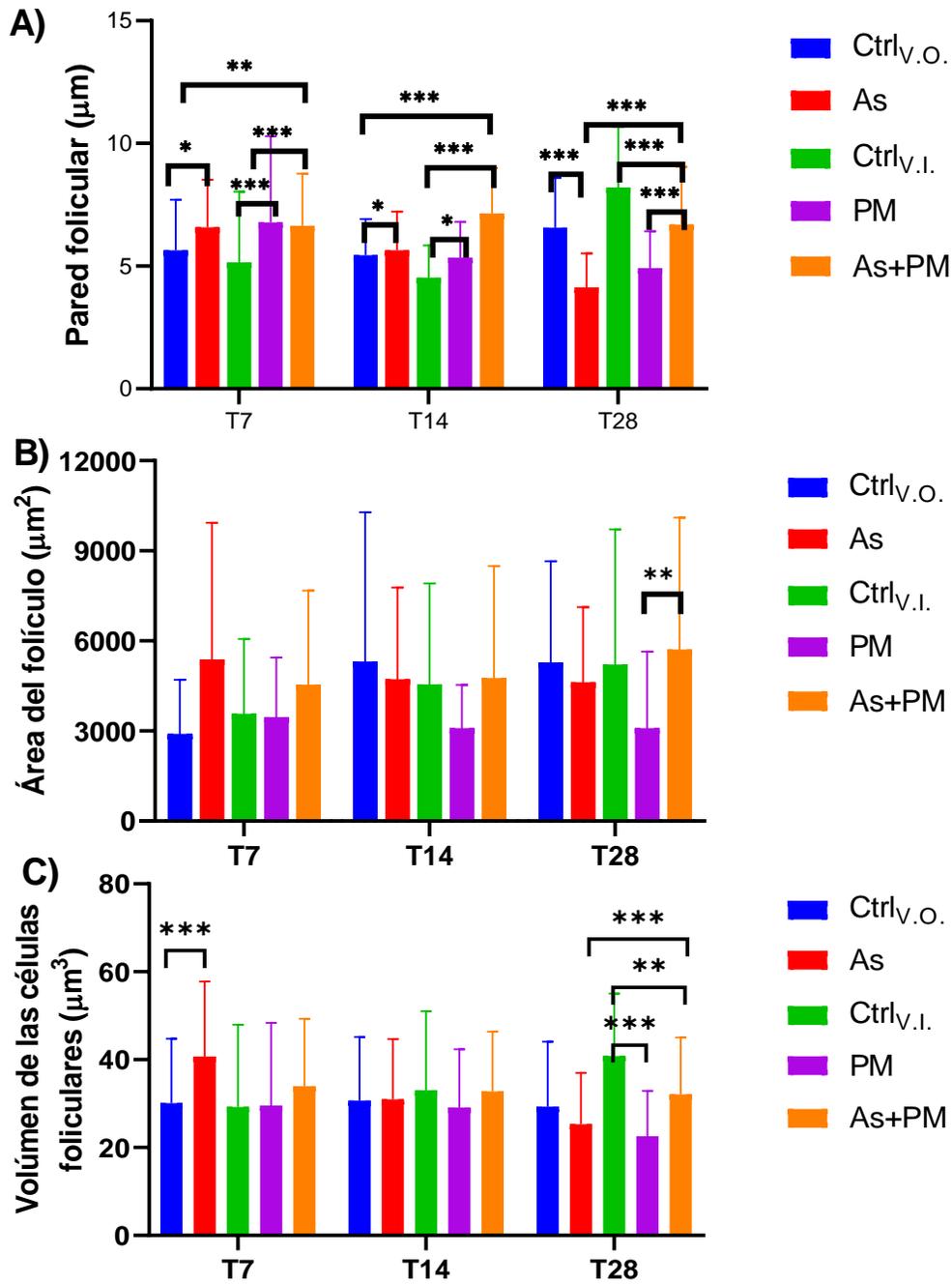


Gráfico 7. Medidas del folículo. A) Altura de la pared folicular (media de 100 datos por tiroides). B) Área del folículo (media de 25 folículos por tiroides). C) Volumen de las células foliculares (media de 100 datos por tiroides). Los datos fueron considerados significativos cuando P<0.05. * P=0.001-0.05, ** P= 0.0099-0.001 y *** P<0.0001.

VIII Discusión

El estudio actual exploró algunas funciones dependientes de las hormonas tiroideas en las cuales se pudiera manifestar alguna perturbación que pudiera estar directamente relacionada con la exposición a As, PM_{2.5} o bien a ambos.

Como primer resultado podemos ver un aumento significativo en la temperatura corporal entre el grupo expuesto a As, con respecto al resto de los grupos, este resultado es discordante a otros estudios donde se expusieron a ratones macho, a As, pero en concentraciones mucho mayores y obtuvieron como resultado un deterioro en la capacidad de generar calor de sus roedores en tratamiento (Bae et al., 2019; Castriota et al., 2020). En ninguno de los estudios se analizaron hormonas tiroideas, pero en ambos relacionaron la alteración en la termogénesis con una disminución en la expresión del gen de la UCP1. Lo que cabe resaltar es que en ambos estudios se realizaron en machos, mientras que el nuestro, fue en hembras, y se ha demostrado que la exposición a As tiene afecciones distintas dependientes del género como lo es la alteración en el metabolismo (Gong et al., 2021). La importancia del monitoreo de la temperatura para evidenciar algún tipo de daño en la secreción de hormonas tiroideas se debe a que los mamíferos, tienen la capacidad de mantener una temperatura corporal constante independientemente de las condiciones externas, este fenómeno se ve regulado por la termogénesis hormono-dependiente en mamíferos menores, el cual es regulado por el hipotálamo, que ante el estímulo del frío activa al sistema simpático y aumenta la secreción de norepinefrina que en presencia de T₃ y a través del receptor beta-3-noradrenérgico, promueve la expresión del gen de la UCP1 (uncoupling protein1) o también llamada termogénina cuya función es generar calor mediante termogénesis no asociada a temblor (Zaninovich, 2001). Es por esto que, se monitoreó la temperatura corporal diariamente, para evidenciar un posible daño en la secreción de hormonas tiroideas.

Como se había mencionado antes, la termogénesis hormono-dependiente, como su nombre lo dice es dependiente de las hormonas tiroideas, en donde para T₄ los niveles de hormonas presentes en el grupo tratamiento As son 21.8% mayores con respecto al grupo Ctrl.v.o. aunque este aumento no es significativo, si muestra una tendencia, que pudiera estar relacionada directamente con el aumento de la temperatura del grupo en tratamiento de As.

Por otro lado, el gasto de energía produce un intercambio de gases. Las células animales utilizan el oxígeno para oxidar los nutrientes y obtener ATP, molécula de cuya hidrólisis se obtiene la energía necesaria para los diferentes procesos celulares. La calorimetría es, por tanto, una forma en la que se mide secuencialmente el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono. La calorimetría indirecta determina el gasto energético en reposo, es decir, nos va a informar sobre las calorías que gasta el organismo en una situación de reposo y, por tanto, nos orientará acerca de su metabolismo basal para determinar si éste es normal o bien está aumentado o disminuido (Milla et al., 2008). La actividad metabólica está relacionada con la ganancia o pérdida de tejido adiposo y ésta es depende principalmente del equilibrio entre el gasto energético (EE) y la ingesta energética, si se consume mayor cantidad de energía de la que se gasta, aumenta el tejido adiposo. Lo cual puede estar estrechamente relacionado con la diferencia en la ganancia de masa entre el grupo expuesto a As, y el resto de los grupos. En el caso de EE, para el grupo en cuestión, solo hay diferencia con el grupo Ctrl.v.i., pero podemos observar que durante el periodo nocturno, se muestran algunos picos que el consumo energía tiene una tendencia de aumento con respecto al resto de los grupos. Ya que el EE puede ser estimulado por la actividad física o la aceleración de diferentes procesos metabólicos, esto puede dar como resultado la producción de calor lo cual sería congruente con el resultado de la termogénesis.

En el gráfico 4, se observan los resultados donde vemos que los grupos de As y PM_{2.5}, recorrieron una mayor distancia (gráfico 4A), y tuvieron un menor tiempo de descanso (Gráfico 4B), esto se puede interpretar como una dificultad para adaptarse lo que nos indica que estos grupos son más ansiosos que el resto. Por

otra parte, aunque esto pudiera relacionarse con hipertiroidismo ya que éste puede causar hiperactividad, nerviosismo, e irritabilidad, que pudieran presentar procesos muy similares a la ansiedad (Depresión, Ansiedad y Tiroides - AECAT, n.d.), o bien problemas neuro-conductuales, relacionados con el sistema nervioso central (Mora Gallegos & Salas Castillo, 2014)

Para la parte histológica, cabe mencionar que, las características morfológicas que conforman la pared folicular, que son en este caso las células foliculares, tienen como característica de ser células epiteliales simple cubica o cilíndricas en su estado activo (actividad de producción de hormas tiroideas) por lo contrario, cuando se encuentran inactivas su morfología cambia hacia una morfología aplanada.

El análisis histológico de las glándulas tiroideas demostró un leve cambio en la estructura de las células epiteliales de la pared de algunos folículos, donde se aprecia una morfología cúbica más gruesa; lo que pudiera indicar una hiperactividad de la célula. De igual forma, se observó que en algunos folículos se encontraban con destrucción de su pared folicular, llegando así a dos conclusiones concretas de esta anomalía histológica: 1) Hubo un porcentaje moderado de destrucción de folículos, esto en respuesta al incremento del tamaño del coloide, 2) La ruptura de la pared folicular pudo deberse por errores durante el corte del tejido como parte del proceso de la técnica histológica.

Se ha descrito que la formación de las hormonas tiroideas, está involucrado en la producción de vacuolas endocíticas cerca del margen de la luz del coloide. Estas vacuolas emergen con la disolución del coloide por la fosfatasa ácida que se secreta de los lisosomas junto con la liberación hormonal durante la actividad de los folículos, indicando así, una producción normal de hormonas. En este sentido, se observaron en las tiroides la formación de vacuolas tanto en los controles, así como también en los expuestas, pero hubo una gran diferencia, ya que en los expuestos As la producción de estas vacuolas fue mayor, dando a entender que hubo un proceso de hiperactividad de producción hormonal. Esta hiperactividad de

formación de vacuolas se puede relacionar con un incremento de las hormonas tiroideas.

Sun y colaboradores en un estudio realizado en el 2017 sugieren que los niveles elevados de T₄ podrían correlacionarse como un mecanismo de defensa en respuesta a un agente químico. (H. J. Sun et al., 2017).

IX Resumen de resultados

1. La exposición en agua de bebida a 70µg/L de As induce cambios en la regulación de la temperatura corporal, así como un aumento significativo de peso.
2. La exposición a As y PM_{2.5} por separado, provoca alteraciones a en la función tiroidea tras 28 y 60 días de exposición, manifestándose como un aumento en TSH y un decremento en T₄T, FT₄, T₃T y FT₃, respectivamente. Sin embargo, la co-exposición no provoca estas alteraciones.
3. Existen daños histopatológicos, como lo son: agrandamiento y adelgazamiento de la pared folicular, formación de vacuolas, hipertrofia y atrofia folicular, debido a la exposición durante 28 y 60 a As y PM_{2.5} de manera independiente. No obstante, estos patrones histopatológicos se revirtieron tras la co-exposición, sugiriendo un posible efecto antagónico entre ambos contaminantes.

X Conclusiones

1. La exposición a As y PM_{2.5} de forma independiente genera alteraciones en la función tiroidea a tiempos tardíos. Sin embargo, la co-exposición atenúa dicho efecto debido a mecanismos intrínsecos de ambos contaminantes.
2. Tras haber realizado la experimentación se rechaza la hipótesis planteada.

XI Referencias

- Agusa, T., Fujihara, J., Takeshita, H., & Iwata, H. (2011). Individual variations in inorganic arsenic metabolism associated with AS3MT genetic polymorphisms. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 12, Issue 4).
<https://doi.org/10.3390/ijms12042351>
- Ahangarpour, A., Alboghobeish, S., Samimi, A., Afshari, G., Orooijan, A. A., & Zeidooni, L. (2018). Effects of combined exposure to chronic high-fat diet and arsenic on thyroid function and lipid profile in male mouse. *Biological Trace Element Research*, *182*(1), 37–48. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1068-1>
- Ahmed, R. G., & El-Gareib, A. W. (2019). Gestational Arsenic Trioxide Exposure Acts as a Developing Neuroendocrine-Disruptor by Downregulating Nrf2/PPAR γ and Upregulating Caspase-3/NF- κ B/Cox2/BAX/iNOS/ROS. *Dose-Response*, *17*(2), 1–12.
<https://doi.org/10.1177/1559325819858266>
- Alarcón Herrera, M. T., Leal Quezada, L. O., Martín Domínguez, Ignacio Ramiro, Miranda Navarro, S. V., & Benavides Montoya, A. (2013). *Arsénico en Agua, Presencia, cuantificación analítica y mitigación*.
- Alonso-Castro, A. J., Alba-Betancourt, C., Rocha-González, E., Ruiz-Arredondo, A., Zapata-Morales, J. R., Gasca-Martínez, D., & Pérez-Gutiérrez, S. (2019). Neuropharmacological effects of d-pinitol and its possible mechanisms of action. *Journal of Food Biochemistry*, *43*(12), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13070>
- Armienta, M. A., & Segovia, N. (2008). Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico. *Environmental Geochemistry and Health*, *30*(4), 345–353.
<https://doi.org/10.1007/s10653-008-9167-8>
- Bae, J., Jang, Y., Kim, H., Mahato, K., Schaecher, C., Kim, I. M., Kim, E., & Ro, S. H. (2019). Arsenite exposure suppresses adipogenesis, mitochondrial biogenesis and thermogenesis via autophagy inhibition in brown adipose tissue. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50965-9>
- Bernatsky, S., Smargiassi, A., Barnabe, C., Svenson, L. W., Brand, A., Martin, R. V., Hudson, M., Clarke, A. E., Fortin, P. R., van Donkelaar, A., Edworthy, S., Bélisle, P., & Joseph, L. (2016). Fine particulate air pollution and systemic autoimmune

- rheumatic disease in two Canadian provinces. *Environmental Research*, 146, 85–91.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.12.021>
- Bertomeu-Sánchez, J. R. (2016). From forensic toxicology to biological chemistry: Normal arsenic and the hazards of sensitivity during the nineteenth century. *Endeavour*, 40(2), 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.endeavour.2016.03.007>
- Brandan, Nora; Llanos, Isabel, et. a. (2015). Hormonas Tiroideas. *Universidad Nacional Del Nordeste*, 27(1), 1696–1702. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0257>
- Bundschuh, J., Maity, J. P., Mushtaq, S., Vithanage, M., Seneweera, S., Schneider, J., Bhattacharya, P., Khan, N. I., Hamawand, I., Guilherme, L. R. G., Reardon-Smith, K., Parvez, F., Morales-Simfors, N., Ghaze, S., Pudmenzky, C., Kouadio, L., & Chen, C. Y. (2017). Medical geology in the framework of the sustainable development goals. *Science of the Total Environment*, 581–582, 87–104.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.208>
- Calderón-Vallejo, D., Díaz-Galindo, M. del C., Quintanar-Stephano, A., Olvera-Sandoval, C., & Quintanar, J. L. (2020). Protective role of ascorbic acid on lead-induced damage to the thyroid gland in the rat. *Toxicology Research*, 9(5), 632–635.
<https://doi.org/10.1093/TOXRES/TFAA068>
- Cardiff, R. D., Miller, C. H., & Munn, R. J. (2014). Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2014(6), 655–658.
<https://doi.org/10.1101/pdb.prot073411>
- Castriota, F., Peter-James, H. Z., S. Sanchez, S., V. Phillips, R., Hubbard, A., Stahl, A., T. Smith, M., Wang, J.-C., & La Merrill, M. A. (2020). Chronic Arsenic Exposure Impairs Adaptive Thermogenesis in Male C57BL/6J Mice. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 21(1), 1–9.
- Celis, R., Bravo, A., Preciado, V., & Díaz, A. (2007). La contaminación ambiental y nuestra salud. *Revista Ciencia*, 58, 7.
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/index.php/ediciones-antteriores/ediciones-antteriores/35-vol-58-num-1-enero-marzo-2007/ambiente-y-salud/73-la-contaminacion-ambiental-y-nuestra-salud%0Ahttps://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/58_1/PDF/conta
- Colao, A., Muscogiuri, G., & Piscitelli, P. (2016). Environment and health: Not only cancer.

International Journal of Environmental Research and Public Health, 13(7).

<https://doi.org/10.3390/ijerph13070724>

Comision nacional del agua, C. (2019). (Renameca) Red Nacional De Medición De La Calidad Del Agua. *Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, 38.

Depresión, ansiedad y tiroides - AECAT. (n.d.). Retrieved April 30, 2021, from

<https://www.aecat.net/2015/06/05/depression-ansiedad-y-tiroides/>

Domínguez, C. M. (2011). *El arsénico y la salud*. *Iii*, 200–201.

Dong, X., Wu, W., Yao, S., Li, H., Li, Z., Zhang, L., Jiang, J., Xu, J., & Zhang, F. (2021). PM_{2.5} disrupts thyroid hormone homeostasis through activation of the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis and induction of hepatic transthyretin in female rats 2.5.

Ecotoxicology and Environmental Safety, 208, 111720.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111720>

El Morabet, R. (2018). Effects of Outdoor Air Pollution on Human Health. In *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences* (2nd ed.). Elsevier Inc.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11012-7>

Fisher, A. T., López-Carrillo, L., Gamboa-Loira, B., & Cebrián, M. E. (2017). Standards for arsenic in drinking water: Implications for policy in Mexico. *Journal of Public Health Policy*, 38(4), 395–406. <https://doi.org/10.1057/s41271-017-0087-7>

Geddes, J. A., & Murphy, J. G. (2012). The science of smog: A chemical understanding of ground level ozone and fine particulate matter. In *Metropolitan Sustainability: Understanding and Improving the Urban Environment*. Woodhead Publishing Limited.

<https://doi.org/10.1533/9780857096463.3.205>

Gehle, K., Coles, C., Doyle, J., Fowler, B., Gehle, K., Hall, S. L., Hatcher, M., Jenkins, K., Jolly, R. T., Riley, B. M., Roberts, D., Tarragó, O., Tencza, B., & Chou, S. (2013). La toxicidad del arsénico. In *Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades*.

https://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/docs/arsenic_csem_spanish.pdf

Ghassabian, A., Pierotti, L., Basterrechea, M., Chatzi, L., Estarlich, M., Fernández-Somoano, A., Fleisch, A. F., Gold, D. R., Julvez, J., Karakosta, P., Lertxundi, A., Lopez-Espinosa, M. J., Mulder, T. A., Korevaar, T. I. M., Oken, E., Peeters, R. P.,

- Rifas-Shiman, S., Stephanou, E., Tardón, A., ... Guxens, M. (2019). Association of Exposure to Ambient Air Pollution With Thyroid Function During Pregnancy. *JAMA Network Open*, 2(10), e1912902.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.12902>
- Gong, Y., Xue, Y., Li, X., Zhang, Z., Zhou, W., Marcolongo, P., Benedetti, A., Mao, S., Han, L., Ding, G., & Sun, Z. (2021). Inter- and Transgenerational Effects of Paternal Exposure to Inorganic Arsenic. *Advanced Science*, 8(7), 1–14.
<https://doi.org/10.1002/advs.202002715>
- Goodale, B. C., Rayack, E. J., & Stanton, B. A. (2017). Arsenic alters transcriptional responses to *Pseudomonas aeruginosa* infection and decreases antimicrobial defense of human airway epithelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 331, 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.06.010>
- Guo, J., Lv, N., Tang, J., Zhang, X., Peng, L., Du, X., Li, S., Luo, Q., Zhang, D., & Chen, G. (2018). Associations of blood metal exposure with thyroid hormones in Chinese pregnant women: A cross-sectional study. *Environment International*, October, 1185–1192. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.10.038>
- Hanley, P., Lord, K., & Bauer, A. J. (2016). Thyroid disorders in children and adolescents: A review. *JAMA Pediatrics*, 170(10), 1008–1019.
<https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2016.0486>
- Howe, C. G., Eckel, S. P., Habre, R., Girguis, M. S., Gao, L., Lurmann, F. W., Gilliland, F. D., & Breton, C. V. (2018). Association of Prenatal Exposure to Ambient and Traffic-Related Air Pollution With Newborn Thyroid Function: Findings From the Children's Health Study. *JAMA Network Open*, 1(5), e182172.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.2172>
- Huang, J., Liu, Q., & Guo, X. (2019). Short-Term Effects of Particulate Air Pollution on Human Health. In *Encyclopedia of Environmental Health* (2nd ed.). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.10991-1>
- Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: A historical perspective. *Toxicological Sciences*, 123(2), 305–332. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr184>
- IARC. (2012). arsenic, metals, fibres, and Dusts. In *Iarc Monographs* (Vol. 100).

<https://www.iarc.fr/>

- Ilias, I., Kakoulidis, I., Togias, S., Stergiotis, S., Michou, A., Lekkou, A., Mastrodimou, V., Pappa, A., Venaki, E., & Koukkou, E. (2020). Atmospheric Pollution and Thyroid Function of Pregnant Women in Athens, Greece: A Pilot Study. *Medical Sciences*, 8(2), 19. <https://doi.org/10.3390/medsci8020019>
- INECC. (2016). *Qué son, cómo son y cómo se originan las partículas*. x, 13–32.
- INECC. (2019). *Informe Nacional de Calidad del Aire 2018*.
- Jain, R. B. (2016). Association between arsenic exposure and thyroid function: Data from NHANES 2007-2010. *International Journal of Environmental Health Research*, 26(1), 101–129. <https://doi.org/10.1080/09603123.2015.1061111>
- Janssen, B. G., Saenen, N. D., Roels, H. A., Madhloum, N., & Gyselaers, W. (2017). Air Pollution : A Birth Cohort Study. *Environmental Health Perspectives*, 125(4), 699–705.
- Jin, S., & Sugitani, I. (2020). TSH suppression was induced in rat model after total thyroidectomy. *Journal of Nippon Medical School*. https://doi.org/10.1272/jnms.jnms.2021_88-409
- Khairul, I., Wang, Q. Q., Jiang, Y. H., Wang, C., & Naranmandura, H. (2017). Metabolism, toxicity and anticancer activities of arsenic compounds. *Oncotarget*, 8(14), 23905–23926. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14733>
- Khan, K. M., Parvez, F., Zoeller, R. T., Hocevar, B. A., Kamendulis, L. M., Rohlman, D., Eunus, M., & Graziano, J. (2019). Thyroid hormones and neurobehavioral functions among adolescents chronically exposed to groundwater with geogenic arsenic in Bangladesh. *Science of the Total Environment*, 678, 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.426>
- Kim, K. H., Kabir, E., & Kabir, S. (2015). A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environment International*, 74, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.005>
- Lee, J., Yi, S., Kang, Y. E., Kim, H. W., Joung, K. H., Sul, H. J., Kim, K. S., & Shong, M. (2016). Morphological and functional changes in the thyroid follicles of the aged murine and humans. *Journal of Pathology and Translational Medicine*, 50(6), 426–

435. <https://doi.org/10.4132/jptm.2016.07.19>

Leonardo, J., & de Yarbuh, L. (2009). Efectos de la ingestión de una dieta con alto contenido en grasas en ratas Wistar crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi*. The Effects of Ingesting a High-fat Diet on Wistar Rats Chronically Infected with *Trypanosoma cruzi*. *Kasmera*, 37(1), 74–89.

Li, Y., Xu, L., Shan, Z., Teng, W., & Han, C. (2019). Association between air pollution and type 2 diabetes: an updated review of the literature. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 10(January), 1–15.
<https://doi.org/10.1177/2042018819897046>

Liu, F. J., Wang, J. S., & Theodorakis, C. W. (2006). Thyrotoxicity of sodium arsenate, sodium perchlorate, and their mixture in zebrafish *Danio rerio*. *Environmental Science and Technology*, 40(10), 3429–3436. <https://doi.org/10.1021/es052538g>

Liu, Y., Chen, X., Gong, Q., Shi, J., & Li, F. (2020). Osthole improves cognitive function of vascular dementia rats: Reducing A β deposition via inhibition NLRP3 inflammasome. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(9), 1315–1323.
<https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00112>

Lopez-Islas, A., Gasca-Martínez, D., & Mendez, I. (2019). *Metabolic status in rats under time restricted feeding protocols*. 0(June), 34928.

Martínez-Acuña, M. I., Mercado-Reyes, M., Alegría-Torres, J. A., & Mejía-Saavedra, J. J. (2016). Preliminary human health risk assessment of arsenic and fluoride in tap water from Zacatecas, México. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8).
<https://doi.org/10.1007/s10661-016-5453-6>

Medina, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C. (2018). Artículo de Revisión ARSENIC INTAKE : IMPACT IN HUMAN NUTRITION AND HEALTH. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 35(1), 93–102. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3604.93>

Milla, P. M., Diez, M., M^a, J., & Puigdevall, R. (2008). *Calorimetría : aplicaciones y manejo*. II, 155–166.

Miller, B. G. (2011). The Effect of Coal Usage on Human Health and the Environment. In *Clean Coal Engineering Technology*. <https://doi.org/10.1016/b978-1-85617-710-8.00004-2>

- Mora Gallegos, A., & Salas Castillo, S. (2014). Modelos animales de miedo y ansiedad: descripciones neuro-conductuales. *Actualidades En Psicología*, 28(117), 1–12. <https://doi.org/10.15517/ap.v28i117.14595>
- Muñoz, C., & Martínez, E. (2019). Hipo e hipertirodismo. *Tratado De Geriatria Para Residentes*, 25(4), 605–614. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-hipotiroidismo-13083624>
- Nino, S. A., Martel-Gallegos, G., Castro-Zavala, A., Ortega-Berlanga, B., Delgado, J. M., Hernández-Mendoza, H., Romero-Guzmán, E., Ríos-Lugo, J., Rosales-Mendoza, S., Jiménez-Capdeville, M. E., & Zarazúa, S. (2018). Chronic Arsenic Exposure Increases A β (1-42) Production and Receptor for Advanced Glycation End Products Expression in Rat Brain. *Chemical Research in Toxicology*, 31(1), 13–21. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.7b00215>
- Norma. (2014). *NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud ambiental. Valores límite permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM₁₀ y PM_{2.5} en el aire ambiente y criterios para su evaluación.*
- Palazzolo, D. L., & Jansen, K. P. (2008). The minimal arsenic concentration required to inhibit the activity of thyroid peroxidase activity in vitro. *Biological Trace Element Research*, 126(1–3), 49–55. <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8183-y>
- Ramírez, A. V. (2013). Nursing provider wins payment for services to AIDS patient. *AIDS Policy & Law*, 10(4), 3.
- Rana, M. N., Tangpong, J., & Rahman, M. M. (2018). Toxicodynamics of Lead, Cadmium, Mercury and Arsenic- induced kidney toxicity and treatment strategy: A mini review. *Toxicology Reports*, 5(April), 704–713. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.05.012>
- Rebelo, F. M., & Caldas, E. D. (2016). Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants. *Environmental Research*, 151, 671–688. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.027>
- Sarkar, D. K., & Sarkar, D. K. (2015). Chapter 14 – Air Pollution Control. In *Thermal Power Plant*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801575-9.00014-7>
- Sarkar, S., Rivas-Santiago, C. E., Ibrionke, O. A., Carranza, C., Meng, Q., Osornio-Vargas, Á., Zhang, J., Torres, M., Chow, J. C., Watson, J. G., Ohman-Strickland, P.,

- & Schwander, S. (2019). Season and size of urban particulate matter differentially affect cytotoxicity and human immune responses to *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS ONE*, *14*(7), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219122>
- Schraufnagel, D. E., Balmes, J. R., Cowl, C. T., De Matteis, S., Jung, S. H., Mortimer, K., Perez-Padilla, R., Rice, M. B., Riojas-Rodriguez, H., Sood, A., Thurston, G. D., To, T., Vanker, A., & Wuebbles, D. J. (2019). Air Pollution and Noncommunicable Diseases: A Review by the Forum of International Respiratory Societies' Environmental Committee, Part 1: The Damaging Effects of Air Pollution. *Chest*, *155*(2), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.10.042>
- Shortall, S. E., Green, A. R., Swift, K. M., Fone, K. C. F., & King, M. V. (2013). Differential effects of cathinone compounds and MDMA on body temperature in the rat, and pharmacological characterization of mephedrone-induced hypothermia. *British Journal of Pharmacology*, *168*(4), 966–977. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02236.x>
- Silva, L. G. (2013). *Arsénico, el elemento inclasificable*. *24*, 495–500.
- Skeffington, R. (1994). Air pollution engineering manual. *Environmental Pollution*, *86*(3), 356. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(94\)90179-1](https://doi.org/10.1016/0269-7491(94)90179-1)
- Sun, H. J., Li, S. W., Li, C., Wang, W. Q., Li, H. B., & Ma, L. Q. (2017). Thyrotoxicity of arsenate and arsenite on juvenile mice at organism, subcellular, and gene levels under low exposure. *Chemosphere*, *186*, 580–587. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.042>
- Sun, H. J., Xiang, P., Tang, M. H., Sun, L., & Ma, L. Q. (2016). Arsenic impacted the development, thyroid hormone and gene transcription of thyroid hormone receptors in bighead carp larvae (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Journal of Hazardous Materials*, *303*, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.032>
- Sun, Y., Zhou, Q., & Zheng, J. (2019). Nephrotoxic metals of cadmium, lead, mercury and arsenic and the odds of kidney stones in adults: An exposure-response analysis of NHANES 2007–2016. *Environment International*, *132*(August), 105115. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105115>
- Tanabe, C. K., Nelson, J., & Ebeler, S. E. (2019). Current Perspective on Arsenic in Wines: Analysis, Speciation, and Changes in Composition during Production [Review-

- article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(15), 4154–4159.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00634>
- Wang, S., & Mulligan, C. N. (2006). Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. *Science of the Total Environment*, 366(2–3), 701–721. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.005>
- Wang, X., Liu, C., Zhang, M., Han, Y., Aase, H., Villanger, G. D., Myhre, O., Donkelaar, A. Van, Martin, R. V., Baines, E. A., Chen, R., Kan, H., & Xia, Y. (2019). Evaluation of Maternal Exposure to PM_{2.5} and Its Components on Maternal and Neonatal Thyroid Function and Birth Weight: A Cohort Study. *Thyroid*, 29(8), 1147–1157.
<https://doi.org/10.1089/thy.2018.0780>
- Wei, Y., Zhu, J., & Nguyen, A. (2014). Rice consumption and urinary concentrations of arsenic in US adults. *International Journal of Environmental Health Research*, 24(5), 459–470. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.857393>
- Weir, J. B. (1948). New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J. Physiol*, 5, 1–9.
- WHO. (2005). *Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre*.
- WHO. (2016). Ambient air pollution: a global assessment of exposure and burden of disease. *Br. J. Psychiatry*.
- WHO. (2018). *Global ambient air pollution*. <https://maps.who.int/airpollution/>
- Xing, G., Barry, E. S., Benford, B., Grunberg, N. E., Li, H., Watson, W. D., & Sharma, P. (2013). Impact of repeated stress on traumatic brain injury-induced mitochondrial electron transport chain expression and behavioral responses in rats. *Frontiers in Neurology*, 4 DEC(December), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00196>
- Yokohira, M., Arnold, L. L., Pennington, K. L., Suzuki, S., Kakiuchi-Kiyota, S., Herbin-Davis, K., Thomas, D. J., & Cohen, S. M. (2011). Effect of sodium arsenite dose administered in the drinking water on the urinary bladder epithelium of female arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase knockout mice. *Toxicological Sciences*, 121(2), 257–266. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr051>
- Zaccarelli-Marino, M. A., Alessi, R., Balderi, T. Z., & Martins, M. A. G. (2019). Association

between the occurrence of primary hypothyroidism and the exposure of the population near to industrial pollutants in São Paulo state, Brazil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(18), 1–11.

<https://doi.org/10.3390/ijerph16183464>

Zaninovich, A. a. (2001). ARTICULO ESPECIAL HORMONAS TIROIDEAS , OBESIDAD Y TERMOGENESIS EN GRASA PARDA Anatomía e inervación de la grasa parda Cómo funciona la grasa parda. *Medicina*, 597–602.

Zhang, R., Wang, G., Guo, S., Zamora, M. L., Ying, Q., Lin, Y., Wang, W., Hu, M., & Wang, Y. (2015). Formation of Urban Fine Particulate Matter. *Chemical Reviews*, 115(10), 3803–3855. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00067>

Zhao, Y., Cao, Z., Li, H., Su, X., Yang, Y., Liu, C., & Hua, J. (2019). Air pollution exposure in association with maternal thyroid function during early pregnancy. *Journal of Hazardous Materials*, 367(September 2018), 188–193.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.078>

XII Anexos

1. Link para videos de Laberinto en Y

https://drive.google.com/drive/folders/1MBB3z5XA33Km-pD5PD-IC_4ATcfDt1sa?usp=sharing

2. Producción Académica



CONGRESO
INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN
ACADEMIA JOURNALS MORELIA 2020

CERTIFICADO

otorgado a

I.A. Maria de los Ángeles Gallegos Bañuelos
Q.F.B. Estefanía Juárez Carrillo
Q.F.B. Jocelyn Lizeth Ruiz De Avila
Dr. Sergio Zarazúa Guzmán
M.C. Carlos Cázarez de Lira
Dra. Marisol Galván Valencia
Dr. Alberto Cervantes Villagrana
Dra. Fuensanta del Rocío Reyes Escobedo
Dra. Mónica Silva Vega
Dra. Irma Elizabeth González-Curiel

por su artículo intitulado

Evaluación de los cambios hormonales e histopatológicos inducidos por arsenito de sodio en tiroides de ratas wistar expuestas crónicamente en un modelo intergeneracional

(Artículo No. M312)

el cual fue presentado en el congreso que tuvo como sede la Universidad Nova Spania de Morelia, Michoacán, México los días 13 al 15 de mayo de 2020 y ha sido publicado en las siguientes modalidades: (1) en el portal de Internet *AcademiaJournals.com*, con ISSN 1946-3351, Vol. 12, #1, 2020 online e indexación en la base de datos Fuente Académica Plus de EBSCOhost y (2) en el libro electrónico intitulado *Investigación en la Educación Superior: Morelia 2020*, mismo que tiene asignado el ISBN 978-1-939982-38-2 online.



Rector Gilberto Agatón
Universidad Nova Spania
Morelia, Michoacán



Rafael Moras, Ph.D., P.E.
Editor, Academia Journals
Professor, St. Mary's University San
Antonio



Dr. Pedro López Eiroá
Director General
Centro de Investigación Pyseip



Otorga el presente
Reconocimiento

por su valiosa participación a:

María de los Angeles Gallegos Bañuelos, Sergio Zarazúa Guzmán, Gloria Yazmin Guzmán Rico, Jocelyn Lizeth Ruiz de Ávila, Monica Imelda Martínez Acuña, Alberto Rafael Cervantes-Villagrana, Fuensanta Reyes Escobedo y Irma Elizabeth González Curiel

Por el trabajo:

Evaluación de Deio 1, 2 y 3 en tejido uterino de ratas wistar crónicamente expuestas a arsenito de sodio: un modelo intergeneracional



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
Francisco García Salinas

generado el: 15/Junio/2021

LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS
Y LA COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A: María de los Angeles Gallegos Bañuelos

Por su valiosa ASISTENCIA a las XIII Jornadas de Ciencias Químicas "M. en C. Manuel de Jesús Macías Patiño", en el marco del Año Internacional de las Frutas y las Verduras, del 19 al 21 de Mayo a través de la plataforma virtual de la Unidad Académica de Ciencias Químicas, con un valor curricular de 25 horas crédito.

Zacatecas, Zac., 21 de Mayo de 2021

Dra. Argelia López Luna
Directora de la Unidad Académica de Ciencias Químicas

Dr. Juan Armámbro Flores de la Torre
Coordinador del Área de Ciencias de la Salud

Año Internacional de las Frutas y las Verduras 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
Francisco García Salinas

LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS
Y LA COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

MARÍA DE LOS ANGELES GALLEGOS BAÑUELOS, DEISY GASCA MARTÍNEZ, CESAR ENRIQUE RIVAS SANTIAGO, MONICA TERÁN HERNANDEZ, ALBERTO CERVANTES VILLAGRANA, MARISOL GALVÁN VALENCIA, FUENSANTA REYES ESCOBEDO, ADRIÁN MÉNDEZ SANTOS, MAURA DURÁN QUEZADA E IRMA ELIZABETH GONZÁLEZ CURIEL

A:

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:
"Evaluación de la función cognitiva de ratas Wistar como medida indirecta de daño tiroideo por exposición a NaAsO₂ y PM_{2.5}"
durante las XIII Jornadas de Ciencias Químicas
"M. en C. Manuel de Jesús Macías Patiño",
en el marco del Año Internacional de las Frutas y las Verduras.
del 19 al 21 de Mayo de 2021, con un valor curricular de 10 horas crédito
Zacatecas, Zac., 21 de Mayo de 2021


Dra. Argelia López Luna
Directora de la Unidad Académica de
Ciencias Químicas


Dr. Juan Armando Flores de la Torre
Coordinador del Área de
Ciencias de la Salud

"Año Internacional de las Frutas y las Verduras"