

## **Cambios en el sistema nervioso central medidos por tensor de difusión en un modelo de exposición repetida al herbicida atrazina en roedores**

Guerrero Morales Juan Rodrigo<sup>1</sup>, Lailson García Miranda<sup>1</sup>, Sánchez-Yépez Jonathan<sup>2</sup>, Mendoza-Trejo Ma. Soledad<sup>2</sup>, García Gomar Ma. Guadalupe<sup>1</sup>, Giordano Magda<sup>2</sup>, Rodríguez Córdova Verónica Mireya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Juriquilla, Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>2</sup> Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Introducción:** La atrazina (ATR, 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-2,4,6-triazine) es un herbicida perteneciente a las clorotriazinas<sup>1</sup>. La popularidad de este pesticida ha permitido la extensión de su uso por todo el mundo, controlando la maleza no deseada, principalmente en cultivos de maíz, sorgo y caña de azúcar<sup>2</sup>. Sin embargo, estudios en roedores han relacionado la exposición a atrazina con efectos adversos para la salud, entre los que se destacan la disrupción del eje neuroendocrino, así como del sistema nigroestriatal dopaminérgico. Algunos países de Europa ya han prohibido el uso de este pesticida, no obstante, en México no existen regulaciones para el mismo.

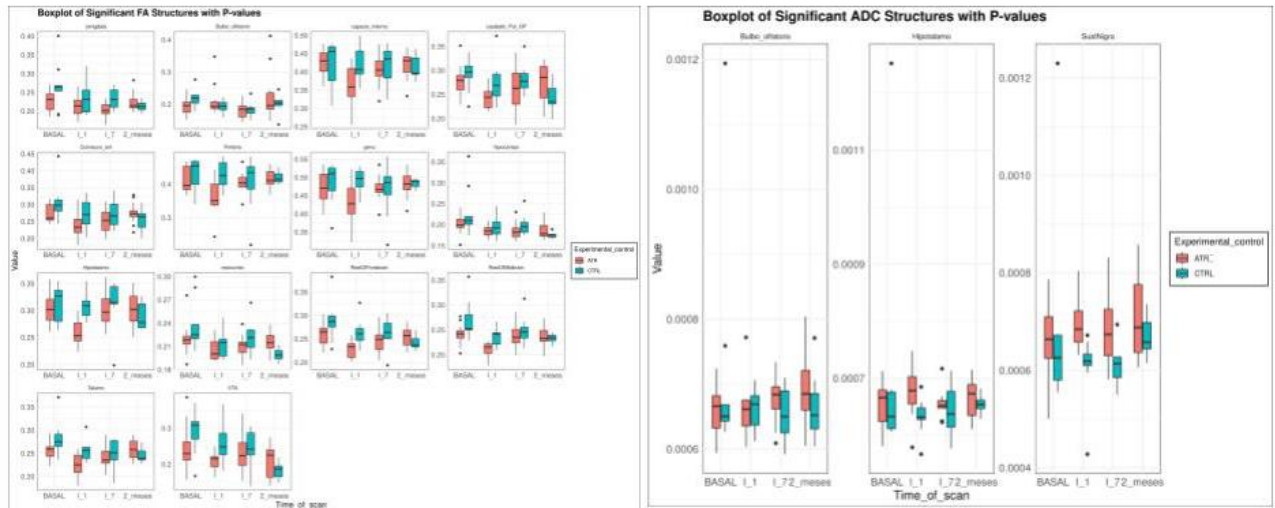
La ATR es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y causar alteraciones en los niveles de monoaminas y aminoácidos (GABA y glutamato) particularmente en los ganglios, basales, amígdala, y corteza prefrontal. Además de alterar los genes asociados en la producción de estos neurotransmisores en estas regiones. Estos cambios en la neuroquímica podrían relacionarse con deficiencias conductuales como son alteraciones motoras, ansiedad, entre otros<sup>3,4</sup>.

**Objetivo:** Conocer los cambios en el sistema nervioso central por la administración repetida al herbicida ATR mediante Imagen por Tensor de Difusión en ratas macho adultas de la cepa Sprague-Dawley divididas en dos grupos: un grupo control (n=7) y un grupo tratado con ATR (n=14).

**Metodología:** Los roedores recibieron seis inyecciones intraperitoneales con 0 o 100 mg ATR/kg de peso corporal durante un período de dos semanas (tres inyecciones por semana, a intervalos de 48 h). Se escanearon los animales bajo sedación con isoflurano en 4 ocasiones diferentes (registro basal, primera inyección, séptima inyección y 2 meses después de finalizar el tratamiento) utilizando un resonador para especies pequeñas especies Bruker 7 Teslas. Se adquirieron y analizaron las imágenes sensibles a difusión con un valor  $b=2000$  s/mm<sup>2</sup> con 58 direcciones y 10 volúmenes  $b=0$ s/mm<sup>2</sup>, teniendo una cobertura de todo el encéfalo con una resolución final de voxel de 0.4 x 0.4 x 0.4cm. Se realizó la remoción de ruido, corrección de corrientes de eddy y correcciones de inhomogeneidades del campo magnético utilizando diferentes softwares (FSL y ANTs), mediante el modelo del tensor de difusión utilizando Mrtrix se obtuvieron métricas de fracción de anisotropía (FA) y coeficiente aparente de difusión (ADC) de 28 estructuras que se obtuvieron posterior al registro no lineal a un espacio atlas ([https://www.nitrc.org/projects/dti\\_rat\\_atlas/](https://www.nitrc.org/projects/dti_rat_atlas/)). Se aplicó un análisis utilizando modelos lineales mixtos (LMM) utilizando la librería lme4 disponible en R<sup>5,6</sup>.

### **Resultados:**

El análisis por LMM tomando en cuenta las interacciones entre los grupos controles e inyectados con ATR a través de los diferentes puntos temporales encontró cambios significativos en la FA de la amígdala (p=0.023), bulbo olfatorio (p=0.045), estriado (p=0.032), comisura anterior (p=0.014), fimbria (p=0.037), genu del cuerpo calloso (p=0.021), hipocampo (p=0.019), hipotálamo (p=0.019), mesencéfalo (p=0.025), tálamo (p=0.015) y la sustancia ventral tegmental (VTA) (p=0.021), cápsula interna (p=0.007), neocorteza (p=0.005) y prosencéfalo (p=0.007) (Figura 1, panel izquierdo). En el caso de la ADC, se encontraron diferencias significativas con una en bulbo olfatorio (p=0.048 y p=0.029), hipotálamo (p=0.039) y sustancia nigra (p=0.042) (Figura 2, panel derecho).



**Figura 1.** Se muestra un gráfico por cada estructura con cambios estadísticamente significativos a lo largo de los distintos puntos temporales (Basal, I\_1 después de la 1ra inyección, I\_7 posterior a la última inyección y 2\_meses posterior a los 2 meses de la última inyección) y los valores de FA y ADC en el panel izquierdo y derecho respectivamente, los datos del grupo control (CTR) se muestran en verde y el tratado con atrazina (ATR) en rojo.

**Conclusiones:** De acuerdo con estudios previos encontramos cambios en FA relacionados con cambios en la microestructura tras la administración repetida de ATR en mesencéfalo y VTA, adicionalmente se encontraron cambios longitudinales significativos en estructuras no reportadas previamente como el hipocampo y el tálamo. Mientras que se encontró mayor ADC en diversas estructuras (bulbo olfatorio, hipotálamo y sustancia nigra) en el grupo experimental comparadas con los valores del grupo control, posiblemente relacionados con pérdida de la integridad del tejido. Estos resultados fundamentan algunas de las alteraciones conductuales observadas en roedores tratados de manera crónica o repetida al herbicida atrazina y de esta forma correlacionarlas con alteraciones en parámetros de la microestructura cerebral.

**Agradecimientos:** Agradecemos al Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética (LANIREM) y la asistencia del Mtro. Leopoldo González Santos, Mtro. Daniel Moya Galván, Mtra. Sandra Hernández García, Ing. Omar González Hernández, Ing. Ramón Martínez Olvera y Dr. Juan Órtiz.

### Referencias:

- Rodríguez M. V., Limón Pacheco J.H., Mendoza Trejo M. S., González Gallardo A., Hernández Plata I., Giordano M., (2013), Repeated exposure to the herbicide atrazine alters locomotor activity and the nigrostriatal dopaminergic system of the albino rat. *Elsevier NeuroToxicology* 34, pp. 82 - 94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2012.10.012>
- Márquez Ramos J.A., Hernández Plata I., Muñoz Díaz M., Rodríguez M.V., (2017), *The Hypoactivity Associated with the Repeated Exposure to Atrazine Is Related to Decreases in the Specific Binding to D1-DA Receptors in the Striatum of Rats*. *Hindawi Journal of Toxicology* Volume 2017, PP. 1 - 9. Article ID 2169212. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2169212>
- Chávez-Pichardo ME, Reyes-Bravo DY, Mendoza-Trejo MS, et al. Brain alterations in GABA, glutamate and glutamine markers after chronic atrazine exposure in the male albino rat. *Arch Toxicol.* 2020;94(9):3217-3230. doi:10.1007/s00204-020-02806-2
- Reyes-Bravo DY, Villalobos-Aguilera P, Almonte-Zepeda JT, et al. Chronic atrazine exposure increases the expression of genes associated with GABAergic and glutamatergic systems in the brain of male albino rat. *Front Toxicol.* 2022;4:933300. Published 2022 Aug 22. doi:10.3389/ftox.2022.933300
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1-26.