

EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA Y LOS MARCADORES DE GLÁNDULAS SEXUALES ACCESORIAS EN AGRICULTORES DEL ESTADO MÉRIDA EXPUESTOS A PESTICIDAS.

Ricardo Lozano-Hernández^{1,2}, Kristal Torrado³, Alfredo Ortega⁴, Judith Velasco^{1,2}, Rubén Gallo^{3,4}.

¹Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

²Centro de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas (CEDIEG) "Dr. Giovanni Vivas-Acevedo".
Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

³Facultad de Medicina. Postgrado de Urología. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

⁴Diplomado de Biomedicina Reproductiva de la Escuela de Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

judithvelasco2005@yahoo.es

Resumen

En el presente estudio se evaluó la morfología espermática y los marcadores de las glándulas sexuales accesorias en muestras de semen de agricultores expuestos a pesticidas. Se estudiaron 143 muestras seminales de agricultores expuestos a diversos pesticidas y 100 muestras de hombres subfértiles no expuestos. El cuestionario se diseñó para registrar los factores de riesgos. Las muestras de semen fueron recolectadas, procesadas y analizadas con base a las normas del 5° manual de la Organización Mundial de la Salud, se midieron también los marcadores de glándulas accesorias. Los agricultores expuestos a pesticidas presentaron reducción en el test hiposmolar, en la movilidad y en los marcadores de vesículas seminales y próstata. Las anomalías morfológicas de los espermatozoides se caracterizaron por presencia de cabezas en alfiler o *pin head* y colas cortas. La frecuencia de azoospermia y criptoospermia fue mayor en los agricultores. La contaminación laboral y ambiental de diversos plaguicidas tiene impacto negativo en la calidad seminal, reducción en los marcadores de próstata y vesículas seminales, y posiblemente en la fertilidad, lo que destaca la importancia de las políticas de protección de salud en general y en la capacidad reproductiva.

Palabras clave: Plaguicidas, marcadores de glándulas accesorias masculina, espermograma.

Abstract

Evaluation of sperm morphology and markers of accessory sex glands in farmers in the state of Mérida exposed to pesticides.

In the present study, sperm morphology and markers of accessory sex glands were evaluated in semen samples from farmers exposed to pesticides. Semen samples of 143 farmers exposed to various pesticides and 100 samples of sub-fertile men not exposed were studied. The questionnaire was designed to record the risk factors. Semen samples were collected, processed and analyzed based on the rules of the 5th World Health Organization manual, the markers of accessory glands were also measured. Farmers exposed to pesticides had a reduction of hyposmolar test, sperm motility and in markers of seminal vesicles and prostate. The morphological anomalies of the spermatozoa were characterized by the presence of pin head and short tails. The frequency of azoospermia and cryptozoospermia was higher in the farmers. Occupational and environmental contamination of various pesticides has a negative impact on seminal quality, reduction in the prostate and seminal vesicles marker and possibly in the fertility, which highlights the importance of health protection policies in general and reproductive capacity.

Key words: Pesticides, markers of accessory male glands, spermogram.

INTRODUCCIÓN

Los pesticidas son productos químicos, naturales o sintéticos utilizados para combatir organismos dañinos que se aplican a seres vivos u objetos inanimados. Según los grupos de animales o vegetales (los hongos no se consideran vegetales) sobre los cuales actúan se clasifican en: insecticidas, acaricidas, fungicidas, raticidas, herbicidas, nematicidas y moluscocidas (Yadav y Devi, 2017). Estos compuestos tienen efectos negativos en el

ámbito dermatológico, gastrointestinal, neurológico, carcinogénico, respiratorio y endocrino entre otros (Nicolopoulou-Stamati *et al.* 2016). Los pesticidas se aplican con frecuencia en la agricultura, entre los que destacan paraquat, malatión, diazinón, metil-paratión, triazinas y glifosato, gramoxone, entre otros. De esta manera el efecto tóxico puede atribuirse a la exposición de uno o de varios de estos productos (Nicolopoulou-Stamati *et al.* 2016).

Cabe destacar que aun en hombres fértiles existe una reducción progresiva de la calidad espermática a través del tiempo, donde los contaminantes ambientales y los pesticidas pueden ser causa importante de infertilidad (Tortolero *et al.* 1999; Hossain *et al.* 2010). Se ha demostrado que plaguicidas como el malatión y el metil-paratión tienen efectos adversos en el comportamiento sexual, la viabilidad fetal, la lactancia y se asocian con menopausia precoz, repercutiendo en diversas etapas de los procesos reproductivos (Rauch *et al.* 2012). El malatión es uno de los pesticidas organofosforados más empleados por los agricultores, el cual tiene un notable potencial tóxico (Lerro *et al.* 2015). Otro pesticida como el paraquat que se aplica en aspersión también es altamente tóxico a muy bajas concentraciones, su contacto con la piel sin la protección adecuada es una fuente importante de intoxicación (Hossain *et al.* 2010).

Los efectos negativos de los pesticidas en bajas dosis sobre la función reproductiva se han estudiado en roedores (D'Souza *et al.* 2006; Bretveld *et al.* 2007; Yucra *et al.* 2008). Los cambios hormonales se han relacionado con incremento en los niveles séricos de la hormona folículo estimulante (FSH) y descenso de la hormona luteinizante (LH) y la testosterona (Recio *et al.* 2005). La reducción de espermatogénesis en animales de experimentación se ha relacionado con la vía genotóxica de los insecticidas como por reducción de la testosterona (Kandiel *et al.* 2014). Algunos plaguicidas como paraquat, metil-paratión, endosulfán y DDT pueden tener un efecto estrogénico (Toppari *et al.* 1996).

En ratones tratados crónicamente a bajas dosis con malatión se ha observado disminución en el peso de los testículos, de las vesículas seminales y de la próstata (Choudhary *et al.* 2008). Un hallazgo interesante es que en agricultores el cáncer de próstata se ha asociado con el efecto tóxico de los pesticidas. Aunque los agricultores tienen un estilo de vida saludable con frecuente actividad física, no escapan de la exposición a los pesticidas, fertilizantes, solventes, gases de escape de motor y otros factores que pueden tener impacto negativo en la salud (Band *et al.* 2011). La medición de los marcadores de glándulas accesorias en agricultores es poco estudiada. Existe una asociación entre algunas patologías prostáticas con los contaminantes ambientales (Shim *et al.* 2016). Desde hace décadas la reducción de algunos marcadores bioquímicos glandulares se relacionaron con el efecto de los tóxicos ambientales (Bygdeman y

Eliasson 1969).

En el semen humano las glándulas accesorias y las características seminales son evaluadas por procedimientos claramente establecidos, especialmente en la última versión del Manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se destaca de manera general las alteraciones de cabeza, segmento medio, flagelo y presencia de citoplasma residual (WHO 2010), aunque la mayoría de los criterios de morfología espermática se refieren a la reducción de las formas normales sin destacar la posible causa de las anormalidades morfológicas (Auger *et al.* 2010; Menkveld 2013). Los estudios de morfología espermática en animales y humanos expuestos a pesticidas solo muestran reducción de las formas normales (Bretveld *et al.* 2007; Yucra *et al.* 2008; [Martenies y Perry](#) 2013). En este estudio se evaluaron las características seminales, las anormalidades morfológicas de cabeza, segmento medio y flagelo así como los marcadores de las glándulas sexuales accesorias en el semen de agricultores del estado Mérida expuestos a los plaguicidas.

METODOLOGÍA.

Se incluyeron en el estudio pacientes con un mínimo de tres años de ocupación en la agricultura en el estado Mérida, quienes acudieron por infertilidad a la consulta del Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas (CEDIEG) "Dr. Giovanni Vivas-Acevedo", ubicado en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Se analizó un total de 143 muestras de semen provenientes de agricultores con edades comprendidas entre 18 y 55 años. Se excluyeron pacientes con diagnóstico de hipogonadismo, varicocele, hidrocele y diabetes. Como grupo control se seleccionaron muestras de 100 pacientes que laboraban en ambientes ejecutivos (20-51 años), quienes no estaban expuestos a agentes físicos ni tóxicos ambientales. Se realizó el espermograma con test de hiposmolaridad (Test de HOST) (WHO, 2010), y la medición de marcadores de glándulas accesorias como la fructosa (vesículas seminales), ácido cítrico (próstata) y alfa glucosidasaneutra (epidídimo) (Lozano-Hernández y Vivas-Acevedo 2013). La viscosidad se evaluó de manera semicuantitativa en escala de normalidad a anormalidad del 0 al 4

(Elia *et al.* 2009). Los pacientes firmaron el consentimiento de acuerdo con los lineamientos de la Declaración de Helsinki reseñados en el código de Bioética y Bioseguridad del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) para investigación en humanos (Briceño 2002). A los pacientes se les hizo una entrevista sobre el tipo del plaguicida que estaban empleando. Se realizó el análisis morfológico de David para cotejar las categorías morfológicas de anomalías más frecuentemente encontradas (Auger 2010). Las muestras con baja concentración espermática (azoospermia y criptozoospermia), así como la presencia de espermatozoides con cabezas en alfiler o *pin head* no se destacaron.

Se analizaron estadísticamente los datos a través de tablas de distribución de frecuencia y se les determinó la media aritmética, la desviación estándar y la *t* de Student, el contraste de hipótesis tuvo un nivel de confianza del 95%. Los cálculos se realizaron con Microsoft Excel 2016 y SPSS para Windows versión 22.

RESULTADOS.

Las características seminales (tabla 1) fueron comparadas en el grupo de agricultores con respecto al grupo control, mostrando diferencias en algunas características espermáticas como el porcentaje de espermatozoides progresivos ($p < 0.05$), el test hiposmolar ($p < 0.05$) y las formas estrictamente normales ($p < 0.005$). Mediante el análisis morfológico de David se demostró que había una reducción significativa de las formas normales ($p < 0.005$) relacionada con un incremento significativo de alteraciones del flagelo dobles o ausentes ($p < 0.005$). Por otra parte, las características macroscópicas del semen, volumen y viscosidad, se observaron alteradas en los individuos expuestos a los pesticidas ($p < 0.005$). Otro hallazgo interesante fue la frecuencia de cabezas en alfiler o *pin head*, la cual no se incluye en los manuales actuales por no contener material genético en su estructura, siendo más frecuentes en los

agricultores. Además las muestras con muy bajo número o ausencia de espermatozoides, criptozoospermia y azoospermia respectivamente, fueron más frecuentes en los agricultores expuestos a los pesticidas.

El análisis bioquímico del plasma seminal llevado a cabo para la evaluación de las glándulas accesorias, vesículas seminales, próstata y epidídimo mostraron reducción en dos de sus marcadores sin alteración del pH seminal (Tabla 2).

DISCUSIÓN.

La exposición a diversos pesticidas tiene impacto negativo en los parámetros seminales en los agricultores del estado Mérida, particularmente en el volumen, la movilidad, el test hiposmolar, las anomalías del flagelo y la viscosidad.

La hipospermia (reducción del volumen) y la hiperviscosidad son similares a los resultados de Pérez *et al.* (2012), quienes encontraron baja calidad espermática y menor volumen en el eyaculado de los agricultores expuestos a plaguicidas. El valor de HOST demuestra que en los agricultores hay una disminución significativa de la integridad de la membrana espermática (Ramu y Jeyendran 2013).

Las alteraciones morfológicas por predominio de colas cortas o ausentes ayudan a explicar la reducción de la movilidad en muchos de estos casos (Auger 2010). Es difícil esclarecer la causa del plegamiento o la ausencia de las colas espermáticas en sujetos expuestos a los pesticidas, aunque no se conoce una causa genotóxica directa. Las causas asociadas a los flagelos cortos o ausentes conocidas son algunas mutaciones genéticas de KPL2 (del complejo Golgi), AKAP4 (de la proteína 4 de anclaje a la quinasa-A), de la centrina-1 (causantes de displasia de la vaina fibrosa), RABL2 (del ensamblaje de la cola), DNAHs y DNALs (genes que codifican las proteínas los brazos de dineína) o de otros involucrados en el ensamble

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros espermáticos, criterios morfológicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de David y otras características seminales. Frecuencia de otros hallazgos seminales encontrados.

<i>Característica espermáticas</i>	<i>Agricultores (n=143)</i>	<i>Controles(n=100)</i>
Espermatozoides x10 ⁶ / ml	88.1± 90.7	69.6±53.8
Espermatozoides x10 ⁶ /eyaculado	267.2± 283.4	246.2± 232.7
% Espermatozoides progresivos	45.7± 21.1*	65.8± 8.6
% Test hiposmolar	46.7 ±20.5*	57.3±27.7
% Formas estrictamente normales OMS	4.8± 3.7**	7.0± 3.7
<i>Morfología de David</i>		
% Normales	19.2 ±7.10**	28.3±10.4
% Cabezas amorfas	28.9±10.7	32.8± 12.2
% Cambios post acrosómicos	11.2± 4.1	11.9±4.4
% Microcéfalos	8.3±3.0	8.8± 3.3
% Cabezas alargadas	4.1±1.5	4.4± 1.6
% Cabezas acintadas	0.3±0.2	0.8± 1.0
% Colas defectuosas	8.9±3.5	7.9± 3.2
% Colas cortas o ausentes	11.7±5.7**	7.9± 4.9
% Defectos en la pieza media	11.3±4.9	10.9± 7.9
% Otras formas	2.3±2.7	2.5±2.9
<i>Características físicas del semen</i>		
Volumen	2.8±1.9**	3.4±1.8
Viscosidad	1.4±1.3**	0.8±,0.7
pH	7.8±1.6	7.9±2.0
<i>Frecuencias de otros hallazgos seminales</i>		
Muestras con escasas <i>pin head</i>	5	2
Muestras con moderadas <i>pin head</i>	25	2
Casos de azoospermia o criptoospermia	20	7

t de Student *p≤0.05; **p≤0.005. OMS: Organización Mundial de la Salud.

Tabla 2. Características químicas del semen.

<i>Característica químicas del semen</i>	<i>Agricultores (n=143)</i>	<i>Controles (n=100)</i>
Fructosa (μmol/eyaculado)	24.6±13.8**	34.1± 20.7
Ácido cítrico (mg/dl)	434.2± 307.8*	501.7± 302.7
Alfa-glucosidasa neutra	37.8± 18.6	34.1± 21.
pH	7.8±1.6	7.9±2.0

t de Student *p≤0.05; **p≤0.005

La encuesta realizada a los pacientes señala los plaguicidas que empleaban los agricultores en su medio laboral durante un mínimo de 3 años (figura 1), con predominio del uso de dos o más plaguicidas (28.7%).

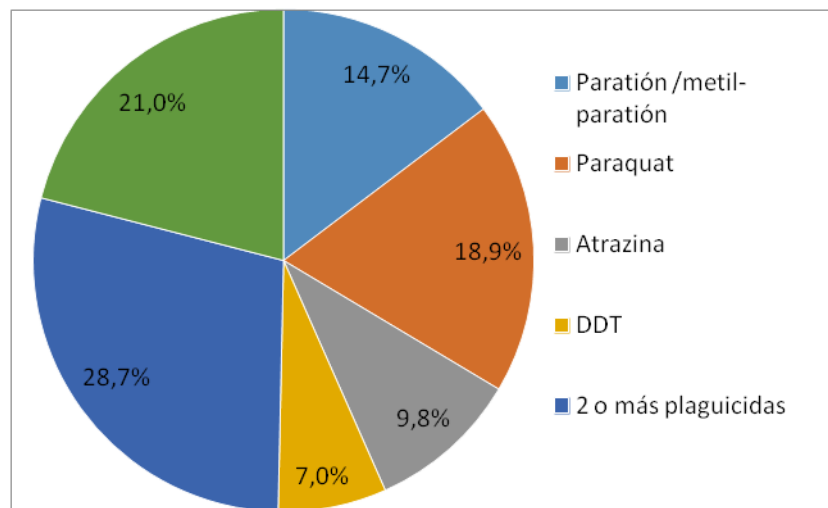


Fig. 1. Plaguicidas registrados en la encuesta.

En este estudio se encontraron otras formas espermáticas frecuentes conocidas como “*pin head*”, las cuales no se incluyen en los manuales recientes de análisis seminal y poco se describe este tipo de anomalía morfológica. Aunque no se destaquen en los estudios actuales, un estudio en ratas demostró que la exposición a plaguicidas como el lindano, generan alteraciones espermáticas como flagelos dobles, excesiva forma de gancho en la cabeza y aumento en la producción de espermatozoides *pin head*. La elevada producción de *pin head* pudo ser revertida con el uso de antioxidantes en estos animales (Sharma y Singh 2010), lo que permite suponer un alto nivel de estrés oxidativo involucrado en estos procesos. Este hallazgo permite considerar que las formas anormales espermáticas deben ser minuciosamente evaluadas y destacadas en el análisis seminal.

La astenozoospermia (movilidad reducida) en los agricultores se asocia a alteraciones en la actividad motriz de los flagelos y a la integridad de la membrana plasmática, como ha sido observado en otro estudio (Benoff *et al.* 2008). La frecuencia de azoospermia y criptoospermia fue mayor en los agricultores, por lo que estos agentes gonadotóxicos deben ser tomados en cuenta como factores asociados a la producción espermática (Cocuzza *et al.* 2013).

Los marcadores glandulares fructosa y ácido cítrico sugieren descenso de la función secretora de vesículas seminales y próstata respectivamente, estos valores se asocian con bajo volumen y alta viscosidad en el semen de los agricultores. El aumento de viscosidad se ha

asociado con inflamación de las glándulas accesorias (Elia *et al.* 2009) donde el estrés oxidativo puede estar involucrado (Castiglione *et al.* 2014). Cambios en los productos oxidativos del semen se relacionan con la viscosidad seminal y con niveles de citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10 en próstata, epidídimo y vesículas seminales (Lozano 2018), esto sugiere evaluar el efecto de los antioxidantes en las muestras seminales alteradas en los trabajadores agrícolas. Existe una posible vía ambiente, tóxicos, estrés oxidativo, tracto reproductivo, alcanzando infertilidad, cáncer o cualquier otra enfermedad.

Es difícil precisar los mecanismos involucrados en el desarrollo del cáncer en el tracto genital masculino, pero los factores ambientales y laborales favorecen la disfunción glandular con posible riesgo de complicaciones. Aunque no haya una asociación clara, algunos contaminantes orgánicos organoclorados y estrógenos exógenos son considerados agentes carcinogénicos (Campion *et al.* 2012).

La máxima concentración recomendada para cualquier plaguicida en agua potable es de 0.1 $\mu\text{g/l}$ y para el total de plaguicidas 0.5 $\mu\text{g/l}$, independientemente de la naturaleza de los mismos (Eskenazi *et al.* 2008). Según la legislación venezolana (Gaceta Oficial, 1995) el valor límite permitido de insecticidas organofosforados y carbamatos en el agua está establecido, lamentablemente la mayoría de estos se encuentran en concentraciones mucho más elevadas en varios acueductos aledaños a las zonas agrícolas (Flores-García *et al.* 2011),

por lo que no existe control sanitario en el uso de plaguicidas. En vista de que en el estado Mérida se ejerce la agricultura como una de las principales fuente de trabajo, se recomienda ampliar las políticas educativas para el mejor manejo y el uso adecuado de los plaguicidas.

CONCLUSIONES.

Los agricultores expuestos a pesticidas presentaron reducción en el test hiposmolar, en la movilidad y en los marcadores de vesículas seminales y próstata. Las anomalías morfológicas de los espermatozoides se caracterizaron por presencia de cabezas en alfiler o *pin head* y colas cortas.

Se concluye que la mayoría de los agricultores del estado Mérida no cumplen con las normas fundamentales para el manejo de agroquímicos y de plaguicidas, sufriendo las consecuencias de la exposición diaria a esas sustancias tóxicas que deterioran el ambiente, comprometen la salud y reducen el potencial reproductivo, debido a las alteraciones observadas en los diferentes parámetros seminales evaluados.

REFERENCIAS.

Auger, J. 2010. Assessing human sperm morphology: top models, underdogs or biometrics. [Asian J. Androl.](#) 12:36-46. doi: 10.1038/aja.2009.8.

Band, P. R., Abanto, Z., Bert, J. *et al.* 2011. Prostate cancer risk and exposure to pesticides in British Columbia farmers. *Prostate* 71: 168-183.

Ben KM, Coutton C, Zouari R *et al.* 2014. Mutations in DNAH1, which encodes an inner arm heavy chain dynein, lead to male infertility from multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. [Am. J. Hum. Genet.](#) 94:95-104. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.11.017.

Benoff S, Auborn K, Marmar JL *et al.* 2008. Link between low-dose environmentally relevant cadmium exposures and asthenozoospermia in a rat model. *Fertil. Steril.* 89: e73-e79. doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.12.035.

Bretveld R, Brouwers M, Ebisch I *et al.* 2007. Influence of pesticides on male fertility. [Scand. J. Work Environ. Health.](#) 33: 13-28.

Briceño E, Suárez E, Michelangi C *et al.* 2002. Código de Bioética y Bioseguridad. Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2ª edición. Venezuela.

Bygdeman M, Eliasson R. 1969. Distribution of

prostaglandins, fructose and acid phosphatase in human seminal plasma. *Andrologia* 1:5-10.

Campion S, Catlin N, Heger N *et al.* 2012. Male reprotoxicity and endocrine disruption. *EXS.* 101:315-360. doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_11.

Castiglione R, Salemi M, Vicari LO *et al.* 2014. Relationship of semen hyperviscosity with IL-6, TNF- α , IL-10 and ROS production in seminal plasma of infertile patients with prostatitis and prostatic-vesiculitis. *Andrologia.* 46:1148-55. doi: 10.1111/and.12207.

Choudhary N, Goyal R, Joshi SC. 2008. Effect of malathion on reproductive system of male rats. [J. Environ. Biol.](#) 29: 259-262.

Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. 2013. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics (Sao Paulo)* 68: 15-26 doi.org/10.6061/clinics/2013 (Sup01)03.

D'Souza UJ, Zain A, Raju S *et al.* 2006. Dermal exposure to the herbicide-paraquat results in genotoxic and cytotoxic damage to germ cells in the male rat. [Folia Morphol. \(Warsz\)](#) 65: 6-10.

Elia J, Delfino M, Imbrogno N *et al.* 2009. Human semen hyperviscosity: prevalence, pathogenesis and therapeutic aspects. *Asian J. Androl.* 11: 609-615.

Eskenazi B, Rosas LG, Marks AR *et al.* 2008. Pesticide toxicity and the developing brain. [Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.](#) 102: 228-236. doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00171.x.

Flores-García ME, Molina-Morales Y, Balza-Quintero A *et al.* 2009. 2011. Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. *Invest. Clin.* 52: 295-311.

Hossain F, Ali O, D'Souza UJ *et al.* 2010. Effects of pesticide use on semen quality among farmers in rural areas of Sabah, Malaysia. [J. Occup. Health.](#) 52:353-60.

Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Número 5.021, Año 123-Mes 3. Decreto 883. 1995:1-4.

Kandiel MM, El-Asely AM, Radwan HA *et al.* 2014. Modulation of genotoxicity and endocrine disruptive effects of malathion by dietary honeybee pollen and propolis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Adv. Res.* 5: 671-684.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G *et al.* 2015. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators

- in the agricultural health study. [Occup. Environ. Med.](#) 72: 736-44. doi: 10.1136/oemed-2014-102798.
- Lozano R. 2018. Male accessory glands and sperm function. IntechOpen: 101-116. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.74321>.
- Lozano R, Vivas G. 2013. Análisis bioquímico del plasma seminal. En: Manual básico del semen. México. Ed Prado, pp.81-97.
- Menkveld R. 2013. Sperm morphology assessment using strict (tygerberg) criteria. *Methods Mol. Biol.* 927:39-50.
- Moretti E, Pascarelli NA, Belmonte G *et al.* G. 2016. Sperm with fibrous sheath dysplasia and anomalies in head-neck junction: focus on centriole and centrin 1. *Andrologia.* 49. doi: 10.1111/and.12701.
- Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C *et al.* 2016. Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. [Front. Public. Health.](#) 4: 148. doi: 10.3389/fpubh.2016.00148.
- Pérez NE, Alvarado J, Castillo MT *et al.* 2012. Efectos reproductivos en agricultores expuestos a plaguicidas en Muna, Yucatán. En: Género, ambiente y contaminación por sustancias químicas. 1 ed., México. pp. 79-94. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/673/efectos.pdf>.
- Ramu S, Jeyendran RS. 2013. The hypo-osmotic swelling test for evaluation of sperm membrane integrity. *Mol. Biol.* 927:21-25.
- Rauch SA, Braun JM, Barr DB *et al.* 2012. Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. [Environ. Health Perspect.](#) 120: 1055-1060. doi.org/10.1289/ehp.1104615.
- Recio R, Ocampo G, Morán J *et al.* 2005. Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. [Environ. Health Perspect.](#) 113: 1160-1163. doi: 10.1289/ehp.7374
- Shim SR, Kim JH, Song YS *et al.* 2016. Association between air pollution and benign prostatic hyperplasia: An ecological study. *Arch. Environ. Occup. Health.* 71:289-292.
- Sharma P, Singh R. 2010. Protective role of curcumin on lindane induced reproductive toxicity in male Wistar rats. [Bull. Environ. Contam. Toxicol.](#) 84: 378-384. doi: 10.1007/s00128-010-9942-y.
- Martenies SE, Perry MJ. 2013. Environmental and occupational pesticide exposure and human sperm parameters: a systematic review. [Toxicology](#) 307:66-73. doi: 10.1016/j.tox.2013.02.005.
- Toppari J, Larsen JC, Christiansen P. 1996. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ. Health Perspect.* 104: 741-803.
- Tortolero I, Bellabarba G, Lozano JR *et al.* 1999. Semen analysis in men from Mérida, Venezuela, over a 15 -year period. *Arch. Androl.* 42 (1): 29-34. doi: 10.1080/014850199263011.
- WHO guidelines. 2010. Disponible en: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/9789241547789/en>.
- Yadav IC, Devi NL. 2017. Pesticides classification and its impact on human and environment: 140-158. En: Editors: Kumar A, Singhal JC, Techato K *et al.* Environmental science and engineering. Vol. 6: Toxicology, Chapter: 7, Publisher: Studium Press LLC, USA.
- Yucra S, Gasco M, Rubio J *et al.* 2008. Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters. *Environ. Health.* 7: 59. doi: 10.1186/1476-069X-7-59.

[Recibido: 28 abril 2019.](#) [Aceptado: 15 junio 2019.](#)