

El zinc mejora el rendimiento sexual y la función eréctil al prevenir la lesión oxidativa del pene y regular positivamente la testosterona circulante en ratas expuestas al plomo.

Elizabeth Enohnyket Besonga, Tunmise Maryanne Akhigbe^{antes de Cristo}, Precioso Jesutofunmi Ashonibare^{cd}Abimbola Ayoola Oladipo^{cd}Jacinta Nkechi Obimma^aMoisés Agbomhere Hamed^{c, e, f}Damilare Hakeem Adeyemi^{gramo} Roland Eghoghsoa Akhigbe  ^{cd}

^aDepartamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas Básicas, Universidad Estatal de Ebonyi, Abakaliki, Nigeria; ^bUnidad de Mejoramiento y Genética Vegetal, Departamento de Agronomía, Universidad Estatal de Osun, Osogbo, Estado de Osun, Nigeria; ^{do}Laboratorio de Investigación en Toxicología y Biología Reproductiva, Hospital Oasis of Grace, Osogbo, Estado de Osun, Nigeria; ^aDepartamento de Fisiología, Universidad Tecnológica Ladoké Akintola, Ogbomoso, Estado de Oyo, Nigeria; ^{mi}Departamento de Ciencias de Laboratorio Médico, Universidad Afe Babalola, Ado-Ekiti, Estado de Ekiti, Nigeria; ^rEl Laboratorio Brainwill, Osogbo, Estado de Osun, Nigeria; ^{gramo}Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Osun, Osogbo, Estado de Osun, Nigeria

ABSTRACTO

Apuntar:El presente estudio evaluó el efecto de la exposición al plomo con y sin terapia con zinc sobre la función sexual y eréctil masculina.

Métodos:Veinte ratas Wistar macho se asignaron aleatoriamente a cuatro grupos: control, grupo tratado con zinc, grupo expuesto a plomo y grupo tratado con plomo y zinc. Las administraciones se realizaron por vía oral diariamente durante 28 días. **Resultados:**La coadministración de zinc mejoró significativamente el peso absoluto y relativo del pene, así como las latencias y frecuencias de la monta, la intromisión y la eyaculación en ratas expuestas al plomo. Asimismo, el zinc mejoró la reducción inducida por el plomo en la motivación para aparearse y el reflejo/erección peneana. Estos hallazgos se acompañaron de una atenuación de la supresión inducida por el plomo del óxido nítrico (NO) circulante, el monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) peneano, la dopamina, la hormona luteinizante sérica, la hormona folículo estimulante y la testosterona. Asimismo, el zinc alivió la sobreexpresión inducida por el plomo de las actividades peneanas de la acetilcolinesterasa y la xantina oxidasa (XO), así como de los niveles de ácido úrico (AU) y malondialdehído (MDA). Además, el zinc mejoró la disminución inducida por el plomo en el factor nuclear del pene, el factor 2 relacionado con el eritroide 2 (Nrf2), y redujo los niveles de glutatión (GSH), y las actividades de catalasa, superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión-S-transferasa (GST).

Conclusión:Este estudio reveló que la coadministración de zinc mejora la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo al suprimir el estrés oxidativo impulsado por XO/UA y regular positivamente la testosterona a través de la señalización mediada por Nrf2.

Abreviaturas:AchE: Acetilcolinesterasa; cGMP: Monofosfato de guanosina cíclico; ADN: Ácido desoxirribonucleico; E: Erección; FSH: Hormona folículo estimulante; GPx: Glutatión peroxidasa; GSH: Glutatión reducido; GST: Glutatión-S-transferasa; LH: Hormona luteinizante; LP: Long flips; MDA: Malondialdehído; NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; NO: Óxido nítrico; Nrf2: Factor nuclear 2 relacionado con el factor eritroide 2; QF: Quick flips; ROS: Especies reactivas de oxígeno; SOD: Superóxido dismutasa; TBARS: Sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico; TPR: Reflejos peneanos totales; UA: Ácido úrico; XO: Xantina oxidasa

PALABRAS CLAVE

Erección; metales pesados; infertilidad; plomo; estrés oxidativo; suplementos; testosterona; zinc

Introducción

Los metales pesados son diversos elementos no relacionados con una densidad específica superior a 5 g/cm³ [1]. Son muy abundantes en el medio ambiente, con toxicidad de origen natural y también debido a las actividades humanas. [2]; por lo tanto, se consideran contaminantes ambientales comunes [3]. Estas moléculas son típicamente sustancias químicas orgánicas no esteroideas que se liberan comúnmente a la atmósfera a través de actividades físicas humanas como actividades industriales, fumigación agrícola, desechos urbanos y/o productos de consumo. [4]. Ejercen efectos tóxicos sobre diversos órganos [5–8], incluidos los testículos y los espermatozoides [9,10]. Los metales pesados, a través de sus acciones sobre los receptores de estrógeno, actúan como sustancias químicas disruptoras endocrinas al alterar las concentraciones hormonales, afectar la síntesis o el metabolismo de las hormonas o modificar

las acciones hormonales [11]. También pueden ejercer una disrupción endocrina al imitar o inhibir sus objetivos primarios, especialmente los estrógenos, las progestinas y los andrógenos [11,12]. Estos metales pesados incluyen aluminio, cadmio, mercurio, cobre y plomo.

El plomo tiene un gran impacto en los órganos reproductivos de los hombres, y esto puede involucrar varias vías en la disfunción reproductiva masculina inducida por el plomo [13–15]. Se ha informado que ciertos parámetros reproductivos se ven afectados por la exposición a niveles bajos a moderados de plomo ambiental [16]. El plomo disminuye la fertilidad masculina al reducir la calidad de los espermatozoides, aunque la barrera hematotesticular protege al tejido testicular de la exposición directa a mayores concentraciones de plomo en la sangre [15]. También se ha informado que el eje hipotálamo-hipofisario-testicular puede ser

CONTACTO Roland Eghoghsoa Akhigbe  akhigberoland@gmail.com, reakhigbe@lautech.edu.ng

 Se puede acceder a datos complementarios de este artículo en línea en <https://doi.org/10.1080/13510002.2023.2225675>.

© 2023 El/Los autor(es). Publicado por Informa UK Limited, que opera como Taylor & Francis Group.

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia de Atribución Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se cite correctamente la obra original. Las condiciones de publicación de este artículo permiten la publicación del Manuscrito Aceptado en un repositorio por parte del autor o autores o con su consentimiento.

Se ven afectados negativamente por la exposición ocupacional y ambiental al plomo, lo que perjudica la esteroidogénesis testicular y la espermatogénesis. La intoxicación por plomo también afecta el proceso de espermatogénesis y la función de los espermatozoides; el exceso de especies reactivas de oxígeno (ERO) generadas como resultado de la exposición al plomo reduce la viabilidad y la motilidad de los espermatozoides, promueve la fragmentación del ADN y altera la quimiotaxis para la fusión espermatozoide-ovocito, lo que podría contribuir a una disminución de la fecundación.^[17] Un nivel de plomo en sangre superior a 40 µg/dl se ha asociado con el deterioro de las funciones reproductivas masculinas al reducir el volumen, el recuento y la densidad de los espermatozoides; alterando también la morfología y la motilidad de los espermatozoides ^[18]. El recuento total de espermatozoides es inversamente proporcional a los niveles de plomo en sangre y, a medida que aumentan las concentraciones de plomo en el semen, hay una disminución en el recuento total de espermatozoides, el volumen de la eyaculación y la testosterona sérica ^[19,20]. Además, el plomo altera notablemente la arquitectura testicular ^[21]. El estudio de Elsheikh et al. ^[21] reveló que la exposición al plomo redujo los túbulos seminíferos, con un cese completo de la espermatogénesis. Se ha demostrado que la toxicidad inducida por el plomo se debe a la inducción de estrés oxidativo.^[22,23] Esto está mediado por la generación de ROS que excede la capacidad de defensa antioxidante celular ^[24,25]. La exposición al plomo también puede disminuir la actividad de los antioxidantes ^[26] y/o las concentraciones de antioxidantes al mejorar la producción de óxido nítrico (NO) a través de la regulación positiva de la NO sintasa ^[27]. Sin embargo, hasta la fecha, hay escasez de datos sobre el efecto del plomo y los mecanismos de acción asociados sobre la función sexual y eréctil masculina.

El zinc es un oligoelemento esencial necesario para muchos procesos fisiológicos y su deficiencia se ha asociado con diversas afecciones patológicas ^[28]. El zinc actúa como cofactor para 300 enzimas y 2000 factores de transcripción, y también media varias vías de señalización celular ^[29,30]. El zinc estabiliza las membranas, inhibe la NADPH-oxidasa e induce la síntesis de metalotioneína, contribuyendo así al correcto funcionamiento del sistema de defensa antioxidante y protegiendo a las células frente al daño oxidativo. ^[31, 32]. El zinc también proporciona estabilidad estructural a las funciones de la membrana celular, ejerce actividades antiinflamatorias y juega un papel vital en la regulación de la expresión genética ^[33,34]Se ha demostrado que el zinc mantiene niveles óptimos de testosterona ^[35,36], lo que a su vez puede ser beneficioso para suprimir la inflamación ^[37] y preservar la función endotelial del pene; por lo tanto, promover la función eréctil y la actividad sexual masculina ^[38]. En nuestro estudio reciente ^[35], demostramos que el zinc mejoraba la función sexual y eréctil en la disfunción sexual inducida por antirretrovirales de alta actividad, manteniendo el equilibrio redox del pene y aumentando la regulación de las enzimas erectogénicas. Sin embargo, aún no se ha descrito la función protectora del zinc en la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo.

Dado que se ha reportado que el plomo reduce los niveles circulantes de testosterona, un mediador importante de la función sexual y eréctil óptima, a través de una vía mediada por el estrés oxidativo, y que el zinc posee propiedades antioxidantes con el potencial de mejorar las enzimas erectogénicas, planteamos la hipótesis de que el zinc restauraría el deterioro del rendimiento sexual masculino y la función eréctil inducido por el plomo. Para probar esta hipótesis, expusimos ratas Wistar macho a plomo con o sin suplementación de zinc por sonda durante 28 días. Además, se investigó la participación del estrés oxidativo y los niveles circulantes de testosterona en el deterioro del rendimiento sexual masculino y la función eréctil inducido por el plomo.

Materiales y métodos

Animales y tratamiento

Este estudio cumple con las directrices de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud y se informa de acuerdo con las directrices ARRIVE. El Comité de Revisión Ética Institucional aprobó este estudio. Se utilizó un número mínimo de ratas, las cuales fueron sometidas a cuidados humanitarios. Se utilizaron ratas Wistar macho de la misma camada, de aproximadamente 10 semanas de edad y pesos similares. Los animales se mantuvieron en jaulas de plástico limpias (n = 5/jaula) en una habitación bien ventilada, en condiciones naturales de ciclo de luz/oscuridad. Los animales se alimentaron con pienso para ratas y bebieron agua limpia en libertad. Las ratas se agruparon aleatoriamente en cuatro grupos (n = 5/grupo) después de 14 días de aclimatación.

El grupo control recibió un tratamiento diario con vehículo de 0,5 ml de agua destilada; el grupo tratado con zinc recibió zinc (3 mg/kg/día de zinc elemental); el grupo tratado con plomo recibió acetato de plomo (20 mg/kg); y las ratas tratadas con plomo y zinc recibieron acetato de plomo y zinc, al igual que los grupos tratados con plomo y zinc. En el cuarto grupo, el zinc se administró treinta minutos antes de la exposición al plomo. El tratamiento se realizó por sonda nasogástrica durante 28 días. La dosis de zinc administrada equivale a unos 30 mg/día para humanos, lo que equivale a unos 11 mg (la ingesta diaria recomendada) y a un nivel máximo tolerable de 40 mg. ^[39], mientras que la dosis y la vía de administración del plomo ^[40] y duración de la exposición ^[41] son como se informó anteriormente.

Evaluación de la función sexual y eréctil

Se obtuvo el reflejo del pene y se evaluó como se informó previamente ^[38,42]Cada rata macho se mantuvo mínimamente sujeta en decúbito supino, y luego se retrajo la vaina prepucial detrás del glande, manteniéndola en esta posición durante unos 15 minutos para estimular los reflejos genitales. La suma de la erección (E), los giros largos (LP) y los giros rápidos (QF) se utilizó para calcular los reflejos peneanos totales (TPR), un índice de la erección y la función peneana, es decir, $[TPR = E + QF + LF]$.

El rendimiento sexual se evaluó 24 h después de la última dosis de zinc y plomo. Los animales se colocaron en jaulas de plástico transparente con tapa de malla metálica (n = una rata/jaula) y se aparearon con una rata hembra con estro inducido (macho:hembra, 1:1) en una habitación tranquila y con luz tenue. El estro se indujo mediante la administración subcutánea de progesterona (0,5 mg/100 g de peso corporal) y benzoato de estradiol (10 mg/100 g de peso corporal) a las 4 y 48 h, respectivamente, antes del apareamiento.^[43, 44] y confirmado mediante evaluación visual del frotis vaginal y vaginal ^[43]. Solo se seleccionaron ratas hembras receptivas para el estudio. Se monitoreó su comportamiento sexual durante 30 minutos con una videocámara.

La motivación para aparearse (un índice de la libido) se evaluó como se informó anteriormente ^[45] (Tabla 1 del SI). Se determinaron las latencias y frecuencias de la erección, la intromisión y la eyaculación, así como el intervalo poseyaculatorio, como índices de la función sexual, como se documentó previamente ^[42,46] (Tabla SI 2).

Sacrificio y recolección de tejidos

Las ratas se pesaron antes y después del estudio y se registraron sus pesos corporales inicial y final, respectivamente. La diferencia de estos pesos se obtuvo y registró como

El cambio en el peso corporal. Al final del período experimental, los animales fueron sacrificados con ketamina (40 mg/kg ip) y xilazina (4 mg/kg ip). Las muestras de sangre se recogieron a través del seno retroorbitario en frascos de muestra apropiados y se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos para obtener el plasma, que se almacenó congelado hasta que se necesitó para los ensayos. El pene se extrajo, se separó de las estructuras adheridas, se secó y se pesó inmediatamente para obtener los pesos absolutos y relativos del pene. El peso relativo del pene se obtuvo como el peso absoluto del pene / peso corporal final $\times$ 100%. Se retiró la epidermis y se abrió la túnica albugínea, luego se diseccionó el cuerpo cavernoso. Se obtuvieron aproximadamente 100 mg del tejido cavernoso y se homogeneizaron en una solución tamponada con fosfato fría (1:5) utilizando un homogeneizador de vidrio y se centrifugaron a 10 000 g durante 15 minutos a 4 °C para obtener el sobrenadante, que se almacenó a -20 °C para el ensayo bioquímico.

Evaluación de la concentración de plomo

Los niveles de plomo en la sangre y los testículos se analizaron como lo informaron anteriormente Zhang et al. [47]. Aproximadamente 0,6 ml de H al 30 % H_2O_2 y 2,4 mL de HNO_3 al 65% se mezclaron las muestras, se añadieron 500 μL de sangre o 100 mg de tejido testicular y se dejaron a temperatura ambiente durante más de 12 h para permitir la digestión de la solución. Las muestras se calentaron a 150 °C hasta que la solución se volvió límpida y transparente. El volumen de la solución se completó a 2 mL añadiendo HNO_3 al 0,5 %. Se repitió el mismo procedimiento con reactivos en blanco sin muestras de sangre ni tejido testicular. Se utilizaron todos los sobrenadantes de las muestras para detectar las concentraciones de plomo. Las muestras se midieron con un espectrofotómetro de absorción atómica de llama a 283,3 nm.

Evaluación de la señalización de NO/cGMP y enzimas erectogénicas

El óxido nítrico del pene (NO) se analizó según la reacción de Griess utilizando un kit ELISA estándar (Biovision Research Products, EE. UU.), mientras que el principio de unión a proteínas utilizando un kit ELISA estándar (Elabscience Biotechnology Inc., EE. UU.) se utilizó para determinar el monofosfato de guanosina cíclico del pene (cGMP).

La actividad de la acetilcolinesterasa peneana (AChE), enzima que hidroliza la acetilcolina (neurotransmisor que interviene en la excitación), se utilizó como índice de la excitación sexual y se analizó con un kit ELISA (Elabscience Biotechnology Inc., EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de dopamina también se utilizó como índice de la motivación y la excitación sexual, y se analizó con un kit ELISA (Abnova, Reino Unido) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Evaluación de las hormonas reproductivas masculinas

Los niveles circulantes de hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y testosterona se determinaron mediante espectrofotometría utilizando kits ELISA (Monobind Inc., EE. UU.) siguiendo las pautas del fabricante.

Evaluación de la señalización XO/UA

Actividades de la xantina oxidasa (XO) del pene (Fortress Diagnostic, Antrim, Reino Unido) y concentraciones de ácido úrico (UA) (Precision Kit,

India) se analizaron mediante métodos colorimétricos utilizando kits de ensayo estándar. El ensayo XO se basó en la intensidad del color generada por la oxidación de la xantina a H_2O_2 por XO [39], mientras que el ensayo de UA se basó en la conversión de UA por la uricasa en alantoína, dióxido de carbono y peróxido de hidrógeno que da una reacción indicadora de color que se mide a una longitud de onda de aproximadamente 520 nm con la acción de la peroxidasa de hidrógeno [48,49].

Evaluación de marcadores de estrés oxidativo y actividades de antioxidantes enzimáticos

Las concentraciones peneanas de malondialdehído (MDA) y glutatión reducido (GSH) se utilizaron como indicadores de estrés oxidativo. El MDA se analizó mediante métodos colorimétricos basados en el método del ácido tiobarbitúrico, cuantificando la sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARS) producida durante la peroxidación lipídica [50] utilizando kits de laboratorio estándar (Oxford Biomedical Research, Inc., Oxford, EE. UU.). La concentración de GSH se determinó mediante el método colorimétrico, según lo descrito por Beutler et al. [51]. Las actividades peneanas de la catalasa [52], superóxido dismutasa (SOD) [7,53], glutatión peroxidasa (GPx) [54] y glutatión-S-transferasa (GST) [55] se analizaron utilizando protocolos establecidos, como se informó previamente. La concentración peneana del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) se determinó mediante un kit ELISA (Elabscience Biotechnology Inc., EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

Se utilizó la media $\pm$ error estándar de la media (SEM) para presentar y expresar los datos. El análisis de datos se realizó con GraphPad Prism (Prism 7 para Windows, versión 7.00). Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional para determinar la significancia de la diferencia entre los grupos, y posteriormente se empleó la prueba post hoc de Tukey para las comparaciones por pares. Los valores $< 0,05$ se consideraron significativos.

Resultados

Concentraciones de plomo en la sangre y en los cuerpos cavernosos

El plomo aumentó significativamente los niveles de plomo en sangre y tejido cavernoso. La coadministración de zinc atenuó el aumento de los niveles de plomo en sangre y tejido cavernoso inducido por el plomo. [Tabla 1](#).

Peso corporal y del pene

Se utilizaron ratas con pesos similares para el estudio; por lo tanto, no existe una diferencia tangible en el peso corporal inicial entre los grupos. El peso corporal final y el cambio de peso corporal fueron significativamente menores en las ratas expuestas al plomo, que mejoraron significativamente con el tratamiento con zinc. De forma consistente, el peso absoluto y relativo del pene, los índices de homeostasis peneana y la integridad neural y del ADN del pene fueron notablemente menores en comparación con el grupo control. Estos cambios se atenuaron con el cotratamiento con zinc en los animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc en comparación con las ratas tratadas con plomo. [Tabla 2](#). Los resultados indican que la exposición al plomo alteró el metabolismo y el crecimiento celular, y

Tabla 1. Concentraciones de plomo en sangre y cuerpos cavernosos después del período experimental de 28 días en ratas Wistar macho.

	Control	Tratado con zinc	Tratado con plomo	Tratado con plomo y zinc
Concentración de plomo				
Sangre (µg/dL)	0,910 ± 0,010	0,820 ± 0,020	10.700±0.110*#	6,77±0,100*#~
Cuerpo cavernoso (µg/g)	0,032 ± 0,003	0,024 ± 0,002	0,214±0,015*#	0,110±0,008*#~

Los valores son la media ± EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P <0,05 frente al control, #P <0,05 frente a los tratados con zinc, ~P <0,05 frente a tratado con plomo.

Tabla 2. El efecto del zinc sobre el peso corporal y el peso del pene en ratas Wistar macho tratadas con plomo.

	Control	Tratado con zinc	Tratado con plomo	Tratado con plomo y zinc
Peso corporal inicial (g) Peso corporal final (g) Cambio en el peso corporal (g) Peso absoluto del pene (g) Peso relativo del pene (%)	141,2 ± 0,73 171,4 ± 1,03 30,20 ± 1,46 1,16 ± 0,03 0,61 ± 0,01	141,6 ± 0,96 172,8 ± 1,11 31,60 ± 1,72 1,18 ± 0,01 0,62 ± 0,02	140,9 ± 0,91 156,4 ± 1,74*# 15,20 ± 1,82*# 0,74±0,03*# 0,42±0,02*#	141,5 ± 0,71 171,8 ± 0,86~ 30,60 ± 1,40~ 1,03±0,07*#~ 0,53±0,04*#~

Los valores son la media ± EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P <0,05 frente al control, #P <0,05 frente a los tratados con zinc, ~P <0,05 frente a tratado con plomo.

También se altera la integridad del pene, que podría mejorarse con terapia con zinc.

Función sexual y eréctil

En este estudio, observamos que la exposición al plomo redujo significativamente el reflejo peneano y la motivación para aparearse. La suplementación con zinc alivió significativamente la reducción del reflejo peneano y la motivación para aparearse en animales tratados con plomo y zinc, en comparación con ratas tratadas con plomo. **Figura 1A, B**). Si bien la exposición al plomo aumentó significativamente las latencias de la erección y la intromisión, así como el intervalo poseyaculatorio, redujo las frecuencias de la erección, la intromisión y la eyaculación. Estas alteraciones se mitigaron con la terapia con zinc en animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc, en comparación con ratas tratadas con plomo. **Figura 1CI**) Esto sugiere que la exposición al plomo afectó el impulso y el vigor sexual, así como la erección del pene, que podrían mejorarse con suplementos de zinc.

Señalización NO/cGMP y enzimas erectogénicas

Para explorar el mecanismo de la terapia con zinc para aliviar la disfunción sexual inducida por plomo, se determinaron los niveles de NO/GMPc, AChE y dopamina. El NO circulante, el GMPc peneano y la dopamina se redujeron significativamente en el grupo expuesto al plomo en comparación con el grupo control tratado con el vehículo. Por el contrario, la suplementación con zinc en las ratas expuestas al plomo provocó un aumento significativo de NO, GMPc peneano y dopamina en comparación con el grupo expuesto al plomo. Además, la exposición al plomo aumentó significativamente la actividad de AChE, que se vio mitigada por el tratamiento con zinc en los animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc en comparación con las ratas tratadas con plomo. **Figura 2**). Esto sugiere que la exposición al plomo inhibe los neurotransmisores erectogénicos, pero el tratamiento con zinc podría mejorar estos mediadores alterados por la exposición al plomo.

Hormonas reproductivas masculinas circulantes

Los niveles circulantes de LH, FSH y testosterona se muestran en **Figura 3**. En comparación con las ratas de control tratadas con el vehículo, las ratas tratadas con plomo mostraron una marcada disminución en los niveles séricos de LH, FSH y testosterona. Las alteraciones observadas en los niveles de estas hormonas, inducidas por el plomo, se mitigaron con el tratamiento con zinc en los animales que recibieron plomo y zinc.

Tratamiento en comparación con ratas tratadas con plomo. Estos hallazgos sugieren que la suplementación con zinc mejora la supresión del eje hipofisario-testicular inducida por el plomo y promueve la síntesis y liberación de testosterona.

Marcadores de estrés oxidativo y actividades de los antioxidantes enzimáticos

Según la literatura disponible, el estrés oxidativo es un proceso integral en las lesiones inducidas por plomo, y a lo largo de los años se ha prestado cada vez más atención a sus desencadenantes y bloqueadores. Sin embargo, la relación entre la exposición al plomo y el estrés oxidativo en la disfunción sexual y eréctil, así como el posible papel del zinc, se ha estudiado poco. Para evaluar con mayor profundidad los mecanismos asociados con la disfunción sexual inducida por plomo y el posible papel del zinc, investigamos el cambio en el estado redox del pene.

Como se muestra en **Figura 4**, la actividad de XO del pene y los niveles de UA, que son desencadenantes del estrés oxidativo, aumentaron notablemente en el grupo expuesto al plomo en comparación con el grupo control. Los aumentos inducidos por plomo en la actividad de XO del pene y los niveles de UA se atenuaron significativamente mediante la suplementación con zinc en animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc en comparación con las ratas tratadas con plomo. Más aún, el MDA, un producto de la peroxidación lipídica desencadenada por oxidantes y un marcador de la peroxidación lipídica, aumentó significativamente en las ratas expuestas al plomo en comparación con el grupo control. Esto fue anulado por el tratamiento con zinc en ratas expuestas al plomo. Además, la exposición al plomo redujo significativamente los niveles de GSH, que fueron anulados por el co-tratamiento con zinc en animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc en comparación con las ratas tratadas con plomo. Además, el plomo redujo notablemente las actividades del pene de la catalasa, SOD, GPx y GST en comparación con el control tratado con vehículo. La disminución observada en la actividad de estos antioxidantes enzimáticos se revirtió mediante el cotratamiento con zinc en animales que recibieron tratamiento con plomo y zinc, en comparación con las ratas tratadas con plomo. Además, se observó una marcada reducción de Nrf2, un mediador y regulador de la defensa celular contra el estrés oxidativo, en ratas expuestas al plomo. La disminución inducida por el plomo en el Nrf2 del pene se mejoró mediante la suplementación con zinc en ratas expuestas al plomo. **Figura 5**). Estos resultados muestran que la suplementación con zinc mejoró la lesión oxidativa del pene inducida por plomo al suprimir la señalización XO/UA y regular positivamente la expresión de Nrf2.

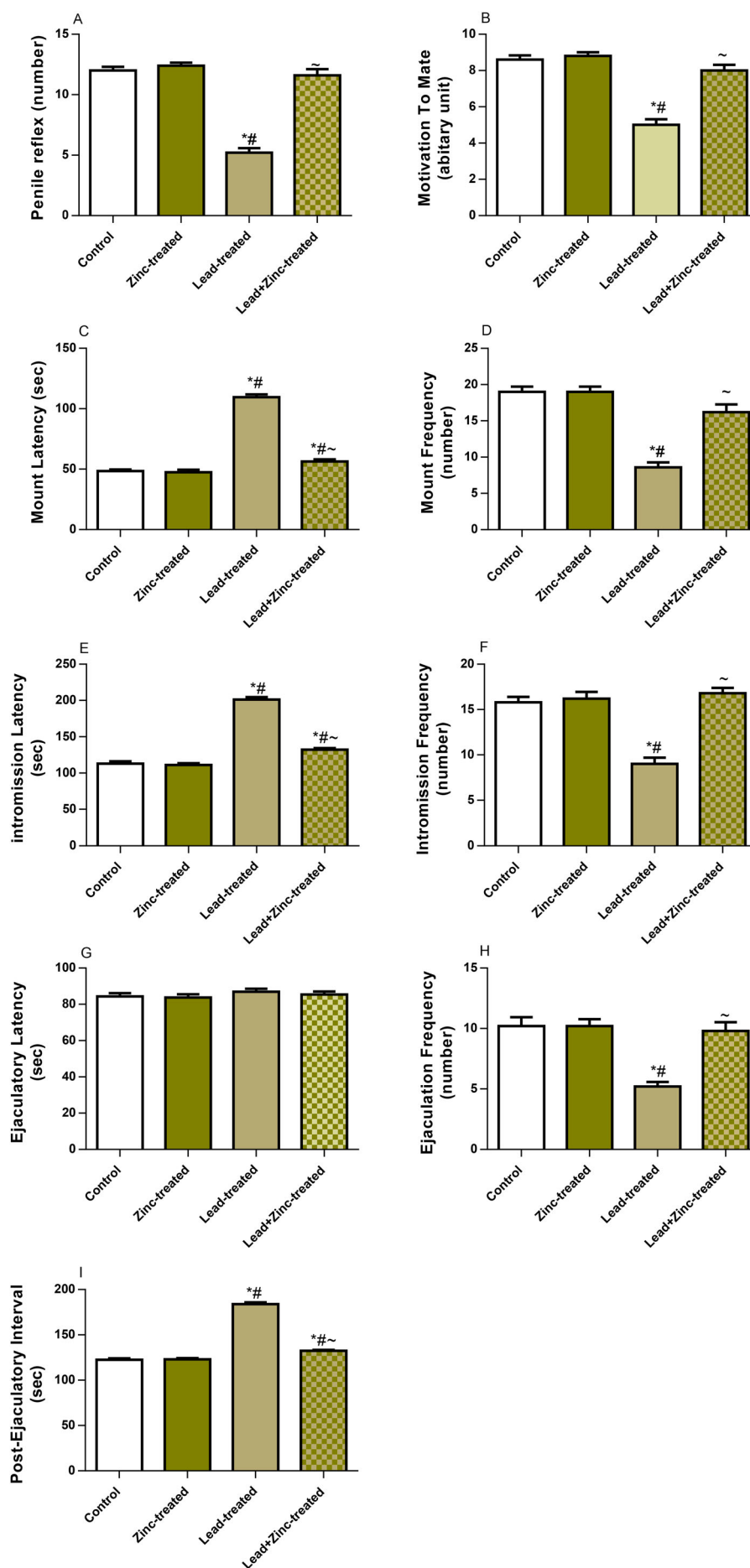


Figura 1. Efecto del zinc sobre el reflejo peneano (A), la motivación para aparearse (B), la latencia de la erección (C), la frecuencia de la erección (D), la latencia de la intromisión (E), la frecuencia de la intromisión (F), la latencia de la eyaculación (G), la frecuencia de la eyaculación (H) y el intervalo poseyaculatorio (I) en ratas Wistar macho tratadas con plomo. Los valores son la media $\pm$ EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. * $P < 0,05$ frente al control, # $P < 0,05$ frente a los tratados con zinc, ~ $P < 0,05$ frente a tratado con plomo.

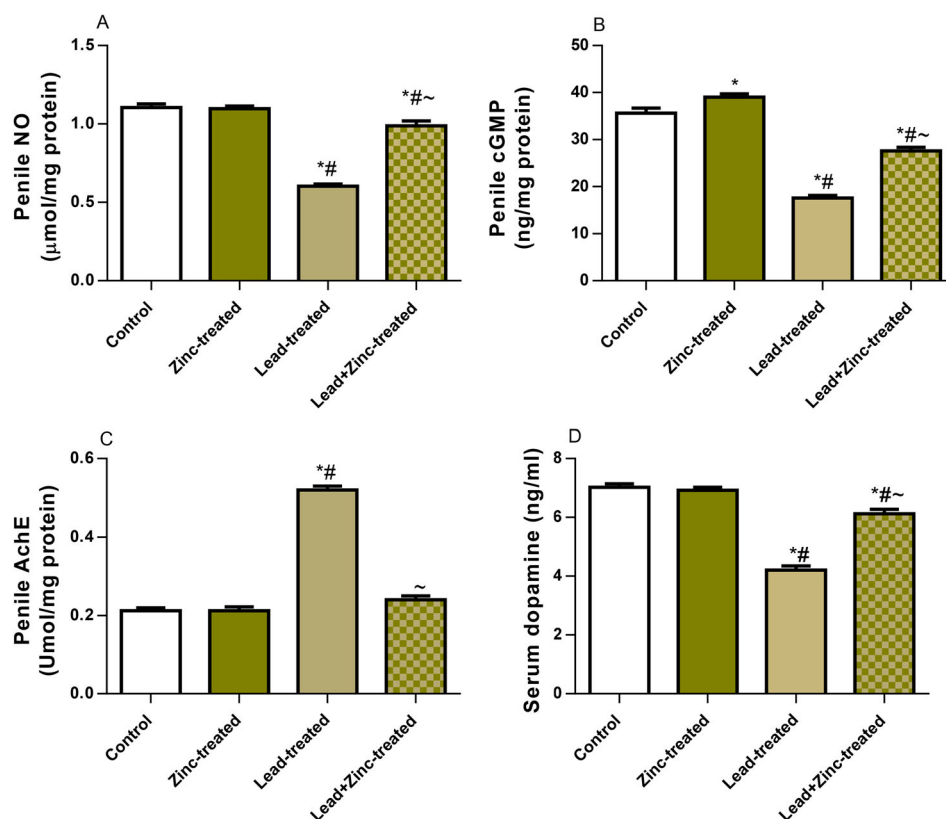


Figura 2. Efecto del zinc sobre el óxido nítrico sérico, NO (A), GMPc peneano (B), acetilcolinesterasa peneana, AchE (C) y dopamina sérica (D) en ratas Wistar macho tratadas con plomo. Los valores son la media $\pm$ EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P < 0,05 frente al control, #P < 0,05 frente a los tratados con zinc, ~P < 0,05 frente a tratado con plomo.

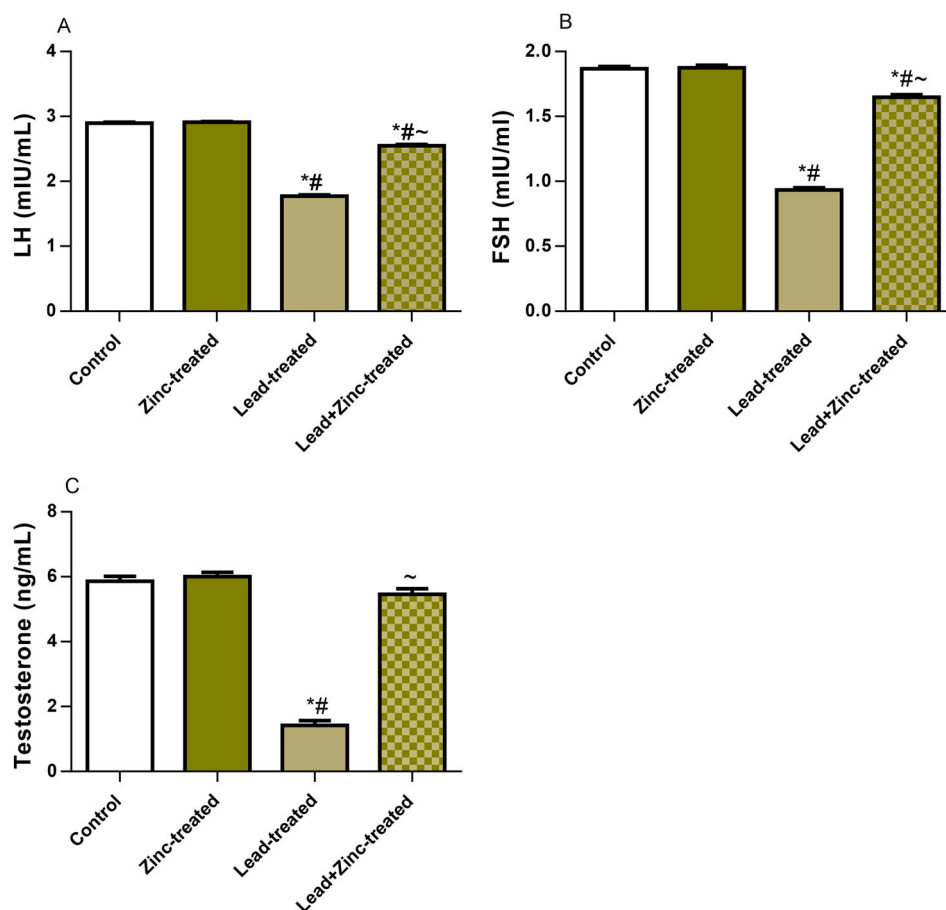


Figura 3. Efecto del zinc sobre la hormona luteinizante, LH (A), la hormona folículo estimulante, FSH (B) y la testosterona (C) en ratas Wistar macho tratadas con plomo. Los valores son la media $\pm$ EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P < 0,05 frente al control, #P < 0,05 frente a los tratados con zinc, ~P < 0,05 frente a tratado con plomo.

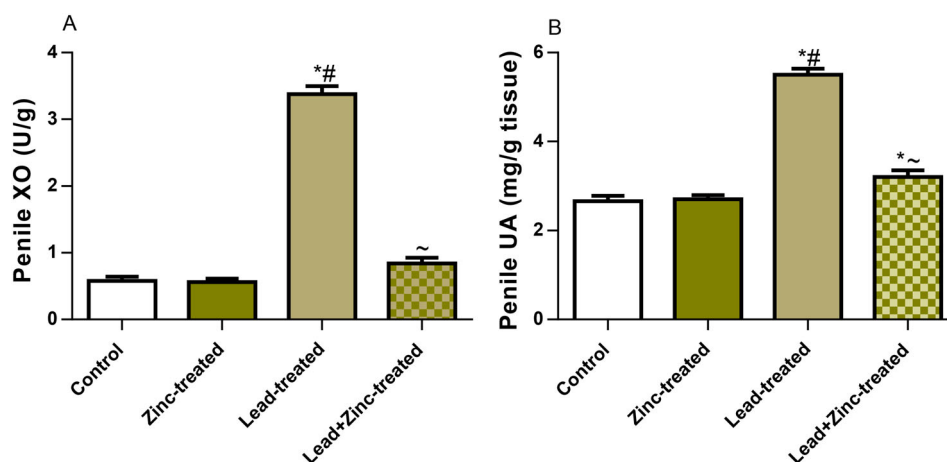


Figura 4. Efecto del zinc sobre la xantina oxidasa peneana, XO (A) y el ácido úrico, UA (B) en ratas Wistar macho tratadas con plomo. Los valores son la media $\pm$ EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P <0,05 frente al control, #P <0,05 frente a los tratados con zinc, ~P <0,05 frente a tratado con plomo.

Discusión

La disfunción sexual y eréctil es un proceso patológico complejo y específico que se diferencia principalmente en dos partes: la disminución del impulso y el vigor sexual, y la disfunción eréctil. Aunque esta puede ser psicógena, neurogénica o arteriogénica [56]; en la mayoría de los casos depende de las hormonas. [37] Se ha reportado que los tóxicos ambientales, incluyendo metales pesados como el plomo, reducen la testosterona circulante, pero su impacto en el rendimiento sexual y la función eréctil está subestimado. Por lo tanto, es pertinente explorar el efecto y los mecanismos de acción de la exposición a metales pesados sobre el rendimiento sexual y la función eréctil. Asimismo, el desarrollo de medidas preventivas efectivas contra la disfunción sexual y eréctil derivada de la exposición a metales pesados es importante para mejorar la salud reproductiva masculina. En este estudio, se demostró por primera vez que la exposición al plomo puede causar disfunción sexual y eréctil, y que la suplementación con zinc puede mejorar la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo. Mecánicamente, el proceso patológico se centra en la activación del estrés oxidativo y la supresión de la testosterona circulante. Los datos actuales no solo proporcionan evidencia convincente del efecto del plomo sobre la erección sexual y la función eréctil, sino que también arrojan luz sobre el potencial terapéutico del zinc para mejorar el rendimiento sexual y la función eréctil a través de una vía dependiente de la testosterona, vinculada a la represión del estrés oxidativo.

Aunque se presta poca o ninguna atención a la homeostasis del pene en la actividad sexual masculina, nuestro estudio anterior reveló que los reflejos peneanos deteriorados estaban asociados con la dishomeostasis del pene y una integridad neuronal y del ADN reducida del pene [57]. Sin embargo, varios estudios han implicado reflejos peneanos deteriorados en incidentes de disfunción sexual y eréctil [38,58] Cabe destacar que observamos que la reducción del peso del pene mediada por la exposición al plomo está estrechamente relacionada con el deterioro de los reflejos peneanos. Este hallazgo implica que el efecto de la exposición al plomo en la homeostasis del pene es crucial y merece mayor atención. Además, los reflejos peneanos desempeñan un papel importante en el impulso sexual y pueden ser estimulados por estímulos audiovisuales o táctiles. [56]. Por lo tanto, los reflejos peneanos reducidos causados por la exposición al plomo pueden explicar la menor motivación para aparearse, lo que proporciona una nueva dirección para el bajo deseo sexual inducido por la exposición al plomo.

El presente estudio también demostró que la exposición al plomo aumentó notablemente las latencias de montaje e intromisión, que son índices de la motivación sexual y son inversamente proporcionales a ella [38,59] Las latencias de erección e intromisión observadas en el presente estudio tras la exposición al plomo sugieren que esta suprime la motivación y la excitación sexual. Estas variables (latencias de erección e intromisión) también predicen la conducta apetitiva sexual. [38]; por lo tanto, el aumento inducido por el plomo en las latencias de monta e intromisión refleja la reticencia sexual de las ratas macho hacia la hembra receptiva. Además, la exposición al plomo redujo las frecuencias de monta, intromisión y eyaculaciones, indicadores de la libido y el vigor sexual. [60]. El índice de potencia y la tasa de recuperación del agotamiento después de la primera serie de actos sexuales es el intervalo posteyaculatorio [61] La disminución de la motivación para aparearse inducida por el plomo se caracterizó por un intervalo poseyaculatorio prolongado, lo que demuestra que las ratas expuestas al plomo se recuperaron lentamente y demoraron el inicio de otra ronda de actividad sexual, demostrando así la capacidad del plomo para perjudicar el vigor sexual.

La relajación del músculo liso cavernoso, mediada por NO, no androgénica y no dependiente de colinérgicos, desempeña un papel fundamental en la erección peneana y la penetración adecuada. Además de su efecto vasodilatador directo, el NO activa la guanilil ciclasa mediante la regulación positiva del GMPc. [62,63] Por lo tanto, es necesario mantener niveles óptimos de cGMP para lograr y mantener la rigidez del pene. La erección peneana dependiente de colinérgicos está mediada por la acetilcolina, un neurotransmisor hidrolizado e inactivado por la AchE. [63]. Aunque la fosfodiesterasa-5 no se evaluó en el presente estudio, el bajo cGMP inducido por el plomo observado puede deberse a una posible mayor actividad de la PDE-5, ya que se sabe que degrada el cGMP a GMP inactivo [64] El bajo nivel circulatorio de NO observado en animales expuestos al plomo también podría contribuir, al menos en parte, a la reducción de cGMP debido a una alteración en la conversión de guanosina trifosfato a cGMP dependiente de NO. La sobreexpresión de AchE inducida por el plomo podría haber promovido la hidrólisis e inactivación de la acetilcolina, impidiendo así la erección peneana dependiente de colinérgicos. La depleción de acetilcolina mediada por AchE también afecta la producción de NO. [65], lo que provoca disfunción endotelial y mala erección del pene. La regulación negativa de NO/cGMP inducida por el plomo y el aumento de AchE revelan que la disfunción sexual y eréctil inducida por el plomo implica múltiples mecanismos. Es plausible inferir que la exposición al plomo aumentó la regulación de AchE, la cual degrada la acetilcolina, lo que resulta en...

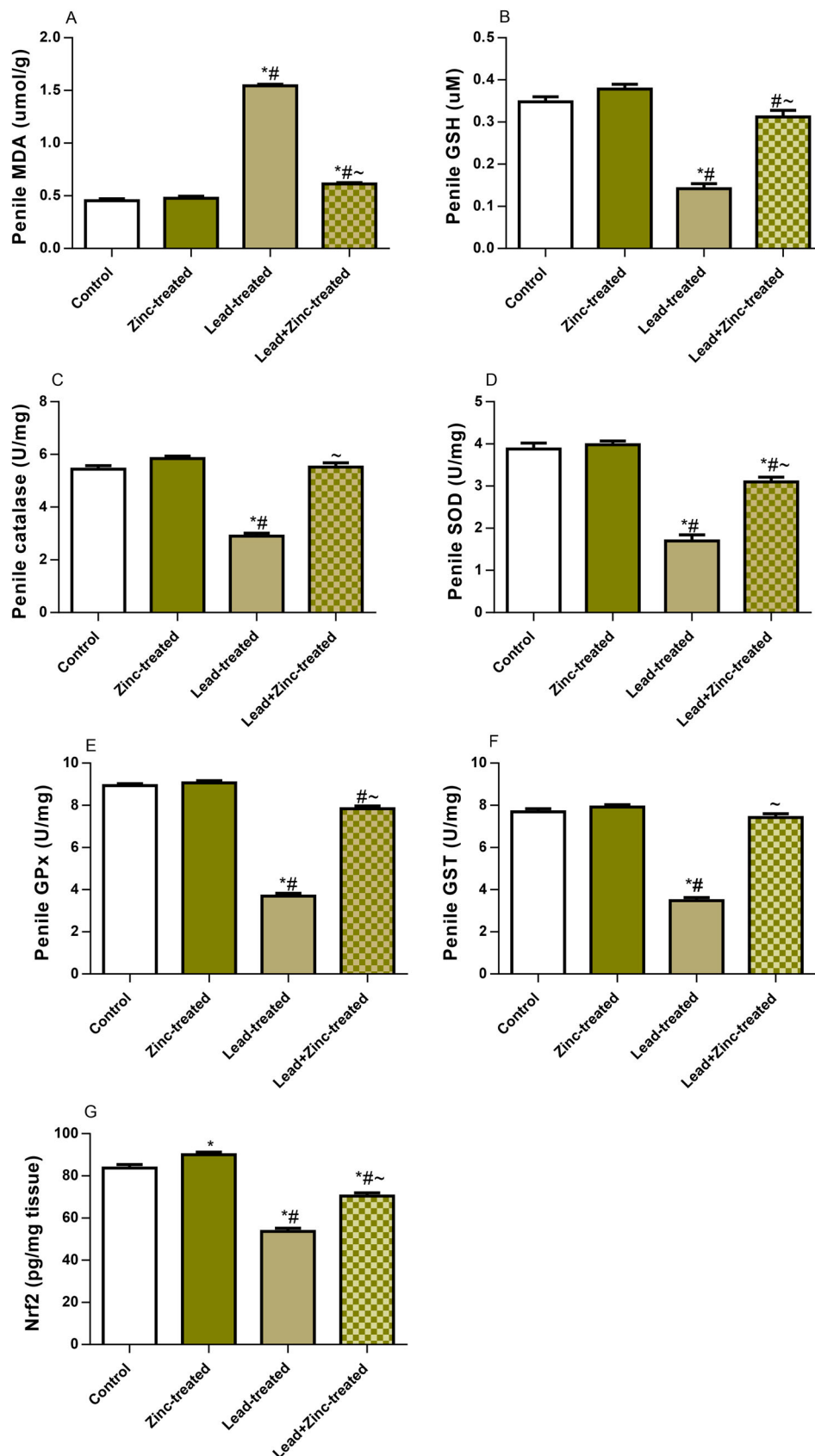


Figura 5. Efecto del zinc sobre el contenido peneano de malondialdehído (MDA) (A) y glutatión reducido (GSH) (B), las actividades de catalasa (C), superóxido dismutasa (D), glutatión peroxidasa (GPx) (E) y glutatión-S-transferasa (GST) (F), y la concentración del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) (G) en ratas Wistar macho tratadas con plomo. Los valores son la media ± EEM de 5 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. *P < 0,05 frente al control, #P < 0,05 frente a los tratados con zinc, ~P < 0,05 frente a tratado con plomo.

Reducción de la concentración de acetilcolina. Dado que la acetilcolina promueve la síntesis de NO, la supresión de la acetilcolina inducida por el plomo reprime la producción de NO y la función endotelial, lo que deteriora la función eréctil.

La inducción de estrés oxidativo puede contribuir a la regulación positiva de la actividad de AchE observada en ratas expuestas al plomo, modificando así negativamente el papel regulador inflamatorio colinérgico de la acetilcolina y la consiguiente liberación de

citocinas proinflamatorias y radicales libres [66,67] Este estudio proporciona la primera evidencia de que el estrés oxidativo inducido por plomo está mediado por XO/UA. La exposición al plomo aumentó la generación de XO y UA, lo que a su vez promovió el desacoplamiento de NOS, la generación de superóxido y redujo la biodisponibilidad de NO [68], lo que conduce al estrés oxidativo [69] Esto se ve corroborado por el aumento de MDA en el pene y la disminución de GSH y Nrf2 inducidos por el plomo, así como por la regulación negativa de las actividades de catalasa, SOD, GPx y GST. Esto confirma los hallazgos de Zhang et al. [47] que la toxicidad reproductiva inducida por el plomo está mediada por el estrés oxidativo. Si bien el plomo puede inducir toxicidad directa en el tejido peneano, deprimiendo así el metabolismo y la homeostasis del pene [70] Es probable que la lesión oxidativa peneana inducida por plomo también influya en la reducción observada del peso del pene. Además, el estrés oxidativo inducido por plomo puede activar la señalización redox que involucra citocinas, quinasas y factores de transcripción que regulan la expresión génica y modifican la matriz extracelular, las proteínas que influyen en la vasoconstricción y los procesos inflamatorios, lo que resulta en cambios destructivos en los componentes celulares, como lípidos, proteínas y ADN [42], lo que en última instancia conduce a la degeneración del músculo liso y a la lesión endotelial vascular, induciendo así disfunción eréctil arteriogénica [71].

Curiosamente, la lesión oxidativa del pene inducida por plomo también podría estar mediada por la testosterona. La testosterona ejerce dimorfismo en la regulación de la inflamación [37]. En los hombres, los niveles óptimos de testosterona ejercen una actividad antiinflamatoria al inhibir la regulación positiva de las citocinas proinflamatorias y promover la expresión y las actividades de las citocinas antiinflamatorias [72], previniendo así el estrés oxidativo inducido por la inflamación [68,73]. La disminución observada en la testosterona en ratas expuestas al plomo se alinea con y constituye una extensión de estudios previos en humanos y animales [74,75] que observaron una disminución en los niveles circulantes de testosterona tras la exposición al plomo. Los hallazgos actuales sugieren que la supresión de la testosterona circulante inducida por el plomo promueve la regulación positiva de las citocinas proinflamatorias y la activación de las cascadas de estrés oxidativo, lo que resulta en disfunción endotelial y una reducción de la función eréctil. Además, dado que se ha establecido que la testosterona aumenta el interés sexual, la frecuencia de las relaciones sexuales y las erecciones [76] y empuje pélvico durante la cópula [77] La disminución de los niveles de testosterona inducida por el plomo puede inhibir estos eventos dependientes de la testosterona. Además, unos niveles óptimos de testosterona son esenciales para la síntesis y liberación de dopamina, otro neurotransmisor erectogénico que facilita la motivación sexual y la erección del pene [78]. El nivel reducido de testosterona provoca una reducción en la síntesis y liberación de dopamina, un deterioro de la activación mediada por dopamina de los receptores D2 para estimular la NO sintasa en los cuerpos celulares del núcleo paraventricular y una motivación sexual, reflejos urogenitales y erección del pene ineficientes. [62]. La cascada de eventos observada presenta evidencia sorprendente que demuestra que la disfunción sexual y eréctil inducida por el plomo está mediada por mecanismos fisiopatológicos complejos.

Otro hallazgo fascinante de estudios recientes es el efecto de la terapia con zinc en la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo. Nuestro hallazgo actual, que indica que el zinc regula positivamente Nrf2 y el sistema de defensa antioxidante dependiente del glutatión, concuerda con hallazgos previos [79–81] que demostró que el zinc promueve la expresión y función de Nrf2 a través de la activación de la inhibición mediada por Akt del exportador nuclear de Nrf2, Fyn, lo que resulta en la regulación positiva de la transcripción de la subunidad catalítica (cadena pesada) de

glutamato-cisteína ligasa (GCLC) y el consiguiente aumento de las concentraciones de GSH. La sobreexpresión observada de la señalización de Nrf2 y el aumento del contenido de GSH posiblemente median la supresión inducida por zinc del estrés oxidativo inducido por XO/UA, mejorando así la homeostasis del pene, la integridad del ADN, la función endotelial y la erección. La represión del estrés oxidativo por zinc también posiblemente inhibió la depleción de NO e inactivó la AChE, mejorando así la señalización de NO/cGMP y la erección peneana dependiente de colinérgicos.

Más aún, nuestros hallazgos de que la terapia con zinc mantiene niveles óptimos de testosterona circulante concuerdan con un hallazgo previo que informó un efecto similar [36]. El mantenimiento de niveles óptimos de testosterona impulsado por el zinc puede contribuir a la atenuación de la inflamación inducida por el plomo y a la mejora de la erección del pene [37]. También es seguro inferir que la concentración mejorada de testosterona asociada con la suplementación de zinc media la mejora inducida por el zinc de la función sexual y eréctil en ratas expuestas al plomo al preservar la función endotelial del pene y promover el interés sexual, la frecuencia de los actos sexuales y las erecciones del pene [76] y empuje pélvico durante la cópula [77].

Conclusiones

El presente estudio reveló que el estrés oxidativo mediado por XO/UA y la supresión de testosterona se asocian con la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo. La coadministración de zinc previno el rendimiento sexual y la erección del pene inducidos por plomo al activar la señalización dependiente de Nrf2. Esto proporciona una nueva comprensión mecanicista del posible papel de la terapia con zinc en la disfunción sexual y eréctil inducida por plomo.

Declaraciones

Declaración de divulgación

El/los autor(es) no informaron de ningún posible conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización y diseño: BEE, ATM y ARE. Curación de datos: BEE, ATM, APJ, OAA, OJN, HMA, ADH y ARE. Obtención de fondos: BEE, ATM, APJ, OAA, OJN, HMA, ADH y ARE. Investigación: BEE, ATM, APJ, OAA, OJN, HMA, ADH y ARE. Metodología: BEE y ARE. Administración del proyecto: BEE, ATM, APJ, OAA, OJN, HMA, ADH y ARE. Supervisión: BEE, OJN y ARE. Validación: BEE, ATM, APJ, HMA y ARE. Redacción del borrador original: BEE, ATM, APJ, OAA y ARE. Redacción, revisión, edición y aprobación final: BEE, ATM, APJ, OAA, OJN, HMA, ADH y ARE.

Disponibilidad de datos y materiales

Los datos estarán disponibles previa solicitud razonable del autor correspondiente.

ORCIDO

Roland Eghoghosoa Akhigbe  <http://orcid.org/0000-0002-3874-5927>

Referencias

- [1] Martin K, Hosam MS. Capítulo introductorio: Introducción a los metales pesados. En: HE-DM Saleh, RF Aglan, editores. Metales pesados. IntechOpen;2018.doi:10.5772/intechopen.74783
- [2] Arif TJ, Mudsser A, Kehkashan S, et al. Metales pesados y salud humana: perspectiva mecanicista sobre la toxicidad y el sistema de contradenfensa de los antioxidantes. *Int J Mol Sci.*2015;16:29592–29630.
- [3] Cheng SP. Contaminación por metales pesados en China: origen, patrones y control. *Environ Sci Pollute Res Int.*2003;10:192–198.
- [4] Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Efectos de los disruptores endocrinos en el desarrollo de la fauna silvestre y los seres humanos. *Environ Health Perspect.*1993;101:378–384.
- [5] Adegunlola JG, Afolabi OK, Akhigbe RE, et al. Peroxidación lipídica en tejido cerebral tras la administración de dosis bajas y altas de arsenito y L-ascorbato en ratas de la cepa Wistar. *Toxicol Int.* 2012 ;19:47–50.
- [6] Ige SF, Akhigbe RE. El extracto de cebolla común (*Allium cepa*) revierte la toxicidad orgánica inducida por cadmio y la dislipidemia mediante alteración redox en ratas. *Fisiopatología.*2013;20:269–274.
- [7] Ige SF, Akhigbe RE, Adewale AA, et al. Efecto del extracto de *Allium cepa* (cebolla) sobre la nefrotoxicidad inducida por cadmio en ratas. *Kidney Res J.* 2011a;1(1):41–47.
- [8] Ige SF, Akhigbe RE, Edeogho O, et al. Actividades hepatoprotectoras de *allium cepa* en ratas tratadas con cadmio. *Int J Pharm Pharm Sci.*2011;3 (5):60–63.
- [9] Ige SF, Akhigbe RE. El papel de *Allium cepa* en la disfunción reproductiva inducida por aluminio en modelos experimentales de ratas macho. *J Hum Reprod Sci.*2012b;5:200–205.
- [10] Ige SF, Olaleye SB, Akhigbe RE, et al. Toxicidad testicular y calidad del esperma tras la exposición al cadmio en ratas: Potenciales de mejora de *Allium cepa*. *J Hum Reprod Sci.*2012a;5:37–42.
- [11] Gupta RK, Archambeault DR, Yao HH-C. Modelos genéticos murinos para estudios de toxicología reproductiva femenina. *Compr Toxicol.* 2010 ;11:561–575.
- [12] Rhomberg LR, Seeley M, Verslycke T, et al. Disruptores hormonales ambientales. *Enciclopedia Toxicol.*2014:378–380.
- [13] Vige M, Smith DR, Hsu PC. ¿Cómo induce el plomo la infertilidad masculina? *Iran J Reprod Med.*2011;9:1–8.
- [14] Winder C. Lead, reproducción y desarrollo. *Neurotoxicología.* 1993;14:303–317.
- [15] Xuezhi J, Youxin L, Yilan W. Estudios de exposición al plomo en el sistema reproductivo: una revisión del trabajo en China. *Biomed Environ Sci.* 1992 ;5:266–275.
- [16] Pizent A, Tariba B, Živković T. Toxicidad reproductiva de metales en hombres. *Arch Ind Hyg Toxicol.*2012;63:35–46.
- [17] Gandhi J, Hernandez RJ, Chen A, et al. El deterioro de la actividad del eje hipotálamo-hipofisario-testicular, la espermatogénesis y la función espermática promueven la infertilidad en hombres con intoxicación por plomo. *Cigoto.* 2017 ;25:103–110.
- [18] Apostoli P, Kiss P, Porru S, et al. Toxicidad reproductiva del plomo en animales y humanos. Grupo de Estudio ASCLEPIOS. *Occup Environ Med.* 1998;55:364–374.
- [19] Alexander BH, Checkoway H, Faustman EM, et al. Asociaciones contrastantes de las concentraciones de plomo en sangre y semen con la calidad del semen en trabajadores de fundiciones de plomo. *Am J Ind Med.* 1998;34:464–469.
- [20] Bentaiba K, Belhocine M, Chugrani F, et al. Eficacia del extracto de raíz de *Withania frutescens* en el daño testicular inducido por acetato de plomo en ratas albinas adultas. *Reprod Toxicol.* 2023 ;115:102–110.
- [21] Elsheikh NAH, Omer NA, Yi-Ru W, et al. Efecto protector de la betaína contra la toxicidad testicular inducida por plomo en ratones machos. *Andrologia.* 2020 ;52:e13600.
- [22] Farmand F, Ehdai A, Roberts CK, et al. Desregulación inducida por plomo de las superóxido dismutasas, catalasa, glutatión peroxidasa y guanilato ciclasa. *Environ Res.*2005;98:33–39.
- [23] Kasperczyk S, Kasperczyk A, Ostalowska A, et al. Actividad de la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa y la peroxidación lipídica en eritrocitos de trabajadores expuestos al plomo. *Biol Trace Elem Res.* 2004;102:61–72.
- [24] Martínez-Haro M, Green AJ, Mateo R. Efectos de la exposición al plomo en los biomarcadores de estrés oxidativo y la bioquímica plasmática en aves acuáticas en el campo. *Environ Res.*2011;111(4):530–538.
- [25] Wang L, Wang H, Hu M, et al. Estrés oxidativo y cambios apoptóticos en cultivos primarios de células tubulares proximales de rata expuestas al plomo. *Arch Toxicol.*2009;83:417–427.
- [26] Vaziri ND, Lin CY, Farmand F, et al. Superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y NADPH oxidasa en la hipertensión inducida por plomo. *Kidney Int.*2003;63:186–194.
- [27] Vaziri ND, Ding Y. Efecto del plomo en la expresión de la óxido nítrico sintasa en células endoteliales coronarias. Rol del superóxido. *Hipertensión.* 2001;37(2I):223–226.
- [28] Fallah A, Mohammad-Hasani A, Colagar AH. El zinc es un elemento esencial para la fertilidad masculina: Una revisión de las funciones del zinc en la salud masculina, la germinación, la calidad del esperma y la fertilización. *J Reprod Infertil.* 2018;19:69.
- [29] Jurowski K, Szewczyk B. Consecuencias biológicas de la deficiencia de zinc en los patomecanismos de enfermedades seleccionadas. *J Biol Inorg Chem.* 2014 ;19:1069–1079.
- [30] Roshanravan N, Alizadeh M. Efecto de la suplementación con zinc sobre la resistencia a la insulina, la ingesta de energía y macronutrientes en mujeres embarazadas con intolerancia a la glucosa. *Iran J Public Health.* 2015;44:211–217.
- [31] Chasapis CT, Loutsidou AC. Zinc y salud humana: Una actualización. *Arch Toxicol.*2012;86:521–534.
- [32] Ruz M, Carrasco F. El zinc como potencial coadyuvante en la terapia para la diabetes tipo 2. *Food Nutr Bull.*2013;34:215–221.
- [33] Foster M, Chu A. Expresión del gen transportador de zinc y control glucémico en mujeres posmenopáusicas con diabetes mellitus tipo 2. *J Trace Elem Med Biol.*2014;28:448–452.
- [34] Jansen J, Rosenkranz E. Alteración de la homeostasis del zinc en pacientes diabéticos mediante análisis in vitro e in vivo de la actividad insulinomimética del zinc. *J Nutr Biochem.*2012;23:1458–1466.
- [35] Akhigbe RE, Hamed MA, Odetayo AF, et al. El zinc mejora la función sexual y eréctil en ratas tratadas con TARGA mediante la regulación positiva de las enzimas erectogénicas y el mantenimiento del equilibrio redox. *Aging Male.*2023;26(1):2205517.
- [36] Rafique M, Naheed K, Khalida P, et al. Los efectos del plomo y el zinc en la calidad del semen de ratas albinas. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2009;19:510–513.
- [37] Adeyemi DH, Odetayo AF, Hamed MA, et al. Impacto de la COVID-19 en la función eréctil. *Envejecimiento masculino.*2022;25(1):202–216.
- [38] Ajayi AF, Akhigbe RE. Evaluación del comportamiento sexual y los índices de fertilidad en conejos machos tras el uso crónico de codeína. *Andrologia.* 2020a;8:509–515.
- [39] Hamed MA, Akhigbe RE, Aremu AO, et al. El zinc normaliza el manejo hepático de los lípidos mediante la modulación de la vía ADA/XO/UA y la señalización de la caspasa 3 en ratas Wistar tratadas con terapia antirretroviral de alta actividad. *Chem-Biol Interact.*2022a;368:110233.
- [40] Kelainy EG, Laila IM, Ibrahim SR. El efecto del ácido ferúlico contra el estrés oxidativo inducido por plomo y el daño al ADN en riñones y testículos de ratas. *Environ Sci Pollut Res.*2019;26(3):31675–31684.
- [41] Vukelic D, Djordjevic AB, Andelkovic M, et al. Derivación de dosis de referencia para la toxicidad reproductiva masculina en un nivel bajo subagudo Modelo de exposición al plomo en ratas. *Toxicol Lett.*2023;375:69–76.
- [42] Akhigbe RE, Afolabi OA, Ajayi AF. La L-arginina revierte la disfunción sexual inducida por la exposición a la codeína materna y prepuberal a través de la regulación positiva del gen del receptor de andrógenos y la señalización NO/cGMP. *Más uno.*2022;17(9):e0274411.
- [43] Ajayi AF, Akhigbe RE. Estadificación del ciclo estral e inducción del estro en roedores experimentales: una actualización. *Fertil Res Pract.*2020b;6:5.
- [44] Akhigbe RE, Hamed MA, Odetayo AF. La TARGA y los anti-Koch afectan la competencia sexual, la calidad del esperma y la calidad de la descendencia cuando se usan solos y en combinación en ratas Wistar macho. *Andrologia.* 2021a;53(2): e13951.
- [45] Hamed MA, Akhigbe TM, Akhigbe RE, et al. La glutamina restaura la defensa antioxidante testicular dependiente del glutatión y regula positivamente la señalización de NO/cGMP en la disfunción reproductiva inducida por la privación del sueño en ratas. *Biomed Pharmacother.*2022b;148:112765.
- [46] Oluwole DT, Akhigbe RE, Ajayi AF. La disfunción sexual inducida por Rohypnol se produce mediante la supresión del eje hipotálamo-hipofisario-testicular: Un estudio experimental en ratas. *Andrologia.*2020;53(2):e13931.
- [47] Zhang Z, Yu J, Xie J, et al. Función de la suplementación con zinc en la mejora del daño testicular inducido por plomo en dosis bajas y la inhibición glucolítica en ratones. *Toxicología.*2021;462:152933.
- [48] Akhigbe RE, Hamed MA. La coadministración de TARGA y Antikoch desencadena disfunción cardiometabólica a través de una vía mediada por estrés oxidativo. *Lipids Health Dis.*2021;20:62.

- [49] Fossati P, Prencipe L, Berti G. Uso del sistema cromogénico ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfónico/4-aminofenazona en el ensayo enzimático directo de ácido úrico en suero y orina. *Clin Chem*.1980;26 (/2):227-231.
- [50] Akhigbe R, Ajayi A. La toxicidad testicular después de la administración crónica de codeína se debe al daño oxidativo del ADN y a la regulación positiva de las actividades de NO/TNF- α y caspasa 3. *Plos One*.2020;15(3):e0224052.
- [51] Beutler E, Duron O, Kelly BM. Método mejorado para la determinación de glutatión en sangre. *J Lab Clin Med*.1963;61:882-888.
- [52] Euler HV, Josephson K. Uber katalase. *I Eur J Org Chem*. 1972 ;452:158-181.
- [53] Fridovich I, Misra HP. El papel del anión superóxido en la autooxidación de la epinefrina y un ensayo simple para la superóxido dismutasa. *J Química biológica*.1972;247:3170-3175.
- [54] Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, et al. Selenio: papel bioquímico como componente de la glutatión peroxidasa. *Science*.1973;179 (4073):588-590.
- [55] Habig WH, Pabst MJ, Glutatión-S-transferasas JW. El primer paso enzimático en la formación de ácido mercaptúrico. *J Biol Chem*.1974;249 (22):7130-7139.
- [56] Lizza EF, Rosen RC. Definición y clasificación de la disfunción eréctil: informe del comité de nomenclatura de la Sociedad Internacional de Investigación de la Impotencia. *Int J Impot Res*.1999;11:141.
- [57] Akhigbe RE, Hamed MA, Aremu AO. La TARGA exagera el daño testicular y la espermatogénesis deteriorada en ratas tratadas con anti-Koch mediante la disregulación del transporte de lactato y el contenido de glutatión. *Reprod Toxicol*.2021b;103:96-107.
- [58] Yakubu MT, Atoyebi AR. La raíz de *Bryoscarpus coccineus* (Schum & Thonn) restablece la competencia sexual y la función testicular en la disfunción sexual inducida por paroxetina en ratas Wistar macho. *Andrologia*. 2018 ;50(4):e12980.
- [59] Yakubu MT, Afolayan AJ. Efecto del extracto acuoso de tallos de *Bulbine natalensis* (Baker) en el comportamiento sexual de ratas macho. *Int J Androl*.2009;32:629-636.
- [60] Yakubu MT, Akanji MA. Efecto del extracto acuoso de tallo de *Massularia acuminata* en el comportamiento sexual de ratas Wistar macho. *Complemento Basado en la Evidencia Alternativa Med*.2011;2011. ID del artículo 738103.
- [61] Tajuddin A, Ahmad S, Latif A, et al. Efecto del extracto etanólico al 50% de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr y Perry (clavo) sobre el comportamiento sexual de ratas macho normales. *BMC Complement Altern Med*.2003;3:6.
- [62] Akhigbe RE, Dutta S, Sengupta P, et al. Adropina en el equilibrio inmunológico y energético: «una molécula de interés» en la reproducción masculina. *Chem Biol Lett*.2021c;8(4):213-223.
- [63] Beckman JS, Koppenol WH. Óxido nítrico, superóxido y peroxinitrito: lo bueno, lo malo y lo feo. *Am J Physiol*.1996;71:1424-1437.
- [64] Ademosun AO, Adebayo AA, Oboh G. Anogeissus leiocarpus atenúa la disfunción eréctil inducida por paroxetina en ratas macho mediante una mejora del comportamiento sexual, el nivel de óxido nítrico y el estado antioxidante. *Biomed Pharmacother*.2019;111:1029-1035.
- [65] Oyeleye SI, Adefegha SA, Dada FA, et al. Efecto del ácido p-cumárico sobre las actividades enzimáticas erectogénicas y el nivel de tioles no proteicos. En el tejido peneano de ratas macho con estrés oxidativo normal e inducido por doxorubicina. *Andrologia*.2019;51(6):e13281.
- [66] da Silva CB, Wolkmer P, da Silva AS, et al. Colinesterasas como marcadores del proceso inflamatorio en ratas infectadas con *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae*. *J Med Microbiol*.2012;61 (2):278-284.
- [67] Kenia PN, Clinton WR. Mecanismos en la función y disfunción eréctil: una visión general. En: K Nunes, editor. *Disfunción eréctil: Mecanismos asociados a la enfermedad y nuevas perspectivas terapéuticas* 2012; (Vol. 1). Zagreb, Croacia: In Tech. pág. 3-22.
- [68] Akhigbe R, Ajayi A. El impacto de las especies reactivas de oxígeno en el desarrollo de trastornos cardiometabólicos: una revisión. *Lipids Health Dis*.2021;20:23.
- [69] Li Z, Shen Y, Chen Y, et al. El ácido úrico elevado inhibe la viabilidad de los cardiomiocitos a través de la vía ERK/P38 mediante estrés oxidativo. *Cell Physiol Biochem*.2018;45:156-1164.
- [70] Akhigbe RE. Resultados discordantes en estudios de toxicidad de plantas en África: intento de estandarización. En: K. Victor, editor. *Estudio toxicológico de plantas medicinales africanas*. Waltham, MA: Elsevier Inc.; 2014. págs. 53-61.
- [71] Sayre LM, Smith MA, Perry G. Química y bioquímica del estrés oxidativo en enfermedades neurodegenerativas. *Curr Med Chem*. 2001;8:721.
- [72] Mohamad NV, Wong SK, Wan Hasan WN, et al. Relación entre la testosterona circulante y las citocinas inflamatorias en hombres. *Envejecimiento masculino*.2019;22(2):129-140.
- [73] Aitken RJ. COVID-19 y espermatozoides humanos: ¿riesgos potenciales de infertilidad y transmisión sexual? *Andrología*: 12859. 2021;9 (1):48-52.
- [74] Dehghan SF, Mehrifar Y, Ardalani A. Relación entre la exposición a humos de soldadura que contienen plomo y los niveles de hormonas reproductivas. *Ann Glob Health*.2019;85(1):125, 1-6.
- [75] Mokhtari M, Zoboori M. Los efectos del acetato de plomo en el comportamiento sexual y el nivel de testosterona en ratas macho adultas. *Int J Fertility Sterility*. 2011;5:13-20.
- [76] Mulligan T, Schmitt B. Testosterona para la insuficiencia eréctil. *J Gen Intern Med*.1993;8:517.
- [77] Beyer C, Gonzalez-Mariscal G. Efectos de los esteroides sexuales sobre los mecanismos espinales sensoriales y motores. *Psiconeuroendocrinología*.1994;19:517.
- [78] Hull EM, Muschamp JW, Sato S. Dopamina y serotonina: influencias en el comportamiento sexual masculino. *Physiol Behav*.2004;83(2):291.
- [79] Cortese MM, Suschek CV, Wetzel W, et al. El zinc protege a las células endoteliales del peróxido de hidrógeno mediante la estimulación de la biosíntesis de glutatión dependiente de Nrf2. *Free Radical Biol Med*.2008;44:2002-2012.
- [80] Ha KH, Chen Y, Cai J, et al. Aumento de la síntesis de glutatión a través de una vía dependiente de ARE-Nrf2 por zinc en el epitelio pigmentario de la retina (RPE): implicación para la protección contra el estrés oxidativo. *IOVS*.2006;47(6):2709-2715.
- [81] Li B, Cui W, Tan Y, et al. El zinc es esencial para la función de transcripción de Nrf2 en células del túbulo renal humano in vitro y en riñón de ratón in vivo en condiciones diabéticas. *J Cell Mol Med*. 2014;18 (5):895-906.