



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA**



**Doctorado En Ciencias Biomédicas**

**“Resistencia a la insulina inducida por exposición a  
metamidofos: participación del estrés oxidativo”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**PRESENTA:**

**M. en C. MARCO ANTONIO RAMÍREZ VARGAS**

**DIRECTORA DE TESIS:  
Dra. Eugenia Flores Alfaro**

**CODIRECTORA DE TESIS  
Dra. Ma. Elena Moreno Godínez**



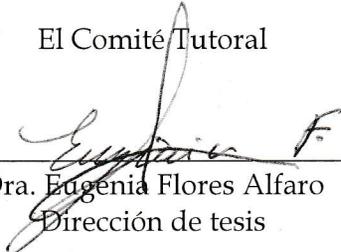


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 09 días del mes de enero del dos mil dieciocho, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado del Doctorado en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada **“Resistencia a la insulina inducida por exposición a Metamidofos: participación del estrés oxidativo”**, presentada por el alumno Marco Antonio Ramírez Vargas, para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Biomédicas. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

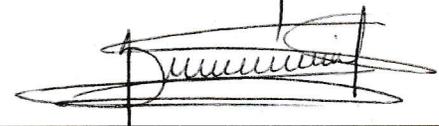
El Comité Tutorial

  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Eugenia Flores Alfaro  
 Dirección de tesis

  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Luz del Carmen Alarcón Romero

  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Isela Parra Rojas

  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Mónica Espinoza Rojo

  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Aurora Elizabeth Rojas García

Vo. Bo  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Isela Parra Rojas  
 Coordinadora del Posgrado de la Facultad de  
 Ciencias Químico Biológicas  
**Coordinación 2014-2018**

Vo. Bo  
 \_\_\_\_\_  
 Dra. Amalia Vences Velázquez  
 Directora de la Facultad de Ciencias Químico  
 Biológicas  
**DIRECCIÓN 2014 - 2018**

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Toxicología y Salud Ambiental de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero en Chilpancingo Guerrero.

Bajo la dirección de:

Dra. Eugenia Flores Alfaro

Bajo la codirección de:

Dra. Ma. Elena Moreno Godínez

La asesoría interna de:

Dra. Isela Parra Rojas

Dra. Luz del Carmen Alarcón Romero

Dra. Mónica Espinoza Rojo

La asesoría externa de:

Dra. Aurora Elizabeth Rojas García

Profesora Investigadora de la Universidad Autónoma De Nayarit

Este trabajo fue parcialmente financiado por Red Temática de Toxicología de Plaguicidas (CONACYT-253789/271775).

Durante el periodo en el que cursó el Doctorado en Ciencias Biomédicas, el C. Marco Antonio Ramírez Vargas recibió la beca #276990 por parte del CONACYT.

## **AGRADECIMIENTOS**

**Dra. Ma. Elena Moreno Godínez**, gracias por la oportunidad de haber formado parte de su grupo de trabajo y por la confianza depositada para la culminación de este proyecto.

**Dra. Eugenia Flores Alfaro** gracias por su apoyo y guía durante el desarrollo de este trabajo y sobre todo por compartir sus conocimientos conmigo.

**Dra. Aurora Elizabeth Rojas García**, gracias por sus observaciones y aportaciones para el mejoramiento de este trabajo.

**Dra. Isela Parra Rojas** gracias por sus aportaciones al trabajo y por ayudarme a visualizar un problema desde varios puntos de vista.

**Dr. Luz del Carmen Alarcón Romero** además gracias por sus consejos y las palabras de apoyo como tutora durante mi estancia en el Doctorado.

**Dra. Mónica Espinoza Rojo** gracias por sus aportaciones al trabajo.

A todos los amigos del Laboratorio de Toxicología y Salud Ambiental, gracias por hacer del laboratorio una estancia agradable.

## **DEDICATORIAS**

A mi madre **Sra. Francisca Vargas Iturbide**, por qué siempre estas apoyándome, por ser siempre fuerte y ayudarme a salir adelante, mil palabras no bastarían para agradecerte todo lo que has hecho por mí.

A mis tías **Sra. Lucas Reyes, Sra. Marcelina Vargas**, por su apoyo incondicional y sus palabras de aliento.

Al **Sr. Alfonso Cabañas Reyes** y la **Sra. Ma. Magdalena Reyes** gracias por apoyarme e impulsarme a seguir adelante.

A **Teresa Domínguez Reyes**, gracias por todo el apoyo que me has brindado en todo momento, por soportar los días de estrés y sobre todo por acompañarme en esta aventura.

A mis primos y tíos **Chaga, Lucio, Juan, Ana, Laura, Angélica Sr. Pedro Hernández, Sr. Filiberto Agüero, Sr. Guillermo Vargas**, por su apoyo.

A mi abuelo **Sr. Julián Vargas**, mi abuela **Sra. Juana Iturbide**.

A toda mi familia.

A mis amigos.

Marco Antonio Ramírez Vargas

	<b>Índice</b>	<b>Página</b>
<b>1.- Resumen:</b>		1
<b>2.- Abstract</b>		2
<b>3.- Introducción.</b>		3
<b>Capítulo 1</b>		
<b>Methamidophos induces insulin resistance in HepG2 cells.</b>		10
<b>Capítulo 2.</b>		
<b>Participación del estrés oxidativo en la inducción de resistencia a la insulina en células HepG2 expuestas a metamidofos.</b>		44
<b>4.- Discusión.</b>		73
<b>5.- Referencias.</b>		80
<b>Anexo 1</b>		
<b>“Methamidophos Induces Cytotoxicity and Oxidative Stress in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells”</b>		87
<b>Anexo 2</b>		
<b>Effects of exposure to malathion on blood glucose concentration: a meta-analysis</b>		97
<b>Anexo 3</b>		
<b>Efecto protector de N-acetil-cisteína sobre la inducción de citotoxicidad, estrés oxidativo y genotoxicidad en células HepG2 expuestas a metamidofos</b>		108

## 1.- RESUMEN:

La resistencia a la insulina (RI) es la incapacidad que muestran ciertos tejidos para responder a la acción biológica de la insulina; esta condición se ha relacionado con el desarrollo de diversas enfermedades crónico degenerativas. Las causas de la RI son múltiples, he incluyen factores genéticos y de estilo de vida. Sin embargo; recientes estudios han demostrado que la exposición a los plaguicidas organofosforados (OP) es un factor de riesgo para el desarrollo de (IR). El metamidofos (MET) es un OP ampliamente utilizado en el mundo, un mecanismo de toxicidad asociado con este OP es la inducción de estrés oxidativo. El estrés oxidativo es una condición frecuentemente observada en pacientes con IR. Por lo cual es probable que la inducción de estrés oxidativo sea un mecanismo asociado al desarrollo de RI asociada con la exposición a OP. El objetivo de este trabajo fue determinar si MET podría generar IR en las células HepG2. Además, investigamos la relación entre IR y estrés oxidativo usando un antioxidante. La citotoxicidad se evaluó con ensayos de MTT y Rojo Neutro, los cambios en los niveles de especies reactivas de oxígeno intracelulares (ROS), malonaldehído (MDA), glutatión reducido (GSH) y daño genotóxico se evaluaron como biomarcadores del estrés oxidativo. Mientras que los niveles de glucógeno, el contenido de lípidos y la captación, consumo y producción de glucosa, los niveles de GLUT2 y la translocación de GLUT4 en células HepG2 se evaluaron como indicadores de resistencia a la insulina. Los resultados mostraron que MET indujo estrés oxidativo y resistencia a la insulina en células HepG2. Por otro lado, el uso de antioxidantes disminuye el estrés oxidativo y los biomarcadores de resistencia a la insulina en el modelo celular. Estos resultados sugieren que MET podría inducir resistencia a la insulina a través de la inducción de estrés oxidativo.

## **2.- Abstract**

Insulin resistance (IR) is the incapacity observed in tissues for responding to biological activity induced by insulin stimulation; this condition has been linked with the development of several chronic diseases. The causes of IR included several risk factors such as genetic background and lifespan style. However, recent studies have shown that the exposure to organophosphates pesticides (OP) is a risk factor involved in the induction of insulin resistance. Methamidophos is an OP widely used, this OP is capable of inducing oxidative stress. In another hand, oxidative stress is a condition frequently observed in IR patients. It is possible; therefore, that the induction of oxidative stress is a mechanism through which OP induces IR. The objective of this work was to evaluate whether MET is capable to generate IR in HepG2 cells. In addition, we investigated the relationship between IR and oxidative stress using an antioxidant (specific for ROS). Cytotoxicity was assessed with MTT and Neutral Red assays, changes in the levels of reactive intracellular oxygen species (ROS), malonaldehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and genotoxic damage were evaluated as biomarkers of oxidative stress. While glycogen levels, lipid content and uptake/consumption/production of glucose, GLUT2 levels and the translocation of GLUT4 in HepG2 cells were evaluated as indicators of insulin resistance. The results showed that MET induced oxidative stress and insulin resistance in HepG2 cells. On the other hand, the use of antioxidants decreases oxidative stress and biomarkers of insulin resistance in the cellular model. These results suggest that MET is capable to induce insulin resistance through the induction of oxidative stress.

### **3.- Introducción.**

La resistencia a la insulina (RI), se define como la incapacidad que muestran los tejidos para responder normalmente a la acción biológica de la insulina, alterándose la captación de glucosa en el tejido adiposo, muscular y hepático, la producción de glucosa/ácidos grasos en el hígado y la lipólisis en los adipocitos, estas alteraciones con llevan a la perturbación del metabolismo de lípidos y de carbohidratos (Tangvarasittichai 2015a). La RI se caracteriza por estados prolongados de hiperglucemia y elevadas concentraciones de ácidos grasos libres en sangre, además existe un estado de hiperinsulinemia. Se considera a la RI como un componente del síndrome metabólico (SM), y como un factor de riesgo para el desarrollo de diferentes enfermedades crónico degenerativas como la obesidad, hipertensión arterial, cáncer, dislipidemias, ateroma, y principalmente la diabetes tipo 2 (DT2) (Facchini et al. 2001), de manera tal que los individuos con mayor número de enfermedades crónico degenerativas poseen el mayor grado de RI ((Hanley et al. 2002).

Las causas de la RI se han asociado a factores considerados como “clásicos” entre los que destacan la presencia de factores genéticos (Warram et al. 1990), de estilo vida como el sedentarismo (Taguchi and White 2008);(Sarvas et al. 2015) y el consumo de alimentos ricos en grasa y/o carbohidratos (Merat et al. 1999; Guerre-Millo 2004; Cordain et al. 2005; Prada et al. 2005). Estos factores pueden interaccionar, e inducir efectos lipotóxicos, glucotóxicos y/o inducir estrés oxidativo/nitrosactivo como mecanismos asociados a la inducción de RI.

El receptor de la insulina está compuesto por dos subunidades  $\alpha$  y dos subunidades  $\beta$ , las primeras son extracelulares y las segundas poseen dominios extracelulares, intramembranales e intracelulares, estas subunidades se encuentran unidas por enlaces disulfuro, este receptor es una glucoproteína con actividad tirosina cinasa intrínseca (McKern et al. 2006). Cuando la insulina se une a la sub-unidad  $\alpha$  se inducen cambios conformacionales que propician el acercamiento de ambas

subunidades, aumentando la actividad de fosforilación de la subunidad  $\beta$  principalmente en residuos de tirosina. La fosforilación de la Tyr 960 en la subunidad  $\beta$  proporciona un sitio de unión a los sustratos del receptor de insulina (IRS) por medio de proteínas de unión a fosfotirosina. La unión de IRS al receptor de insulina induce la fosforilación de IRS en residuos de tirosina, una vez fosforilados los IRS se unen a la subunidad p85 de la fosfoinositol-3-cinasa (PI3K), esta unión se establece por la presencia de dominios SH2 en p85. PI3K cataliza la fosforilación de los fosfoinositoles para formar el fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (Jackson et al. 1995), lo cual activa cinasas dependientes de fosfoinositoles "PDK" la cual activa a Akt (PKB), Akt activada es capaz de inducir la síntesis de glucógeno, al fosforilar al represor GSK3 ( Glucógeno sintasa cinasa 3,) en residuos de serina-9/21, lo cual inhibe su actividad represora sobre la glicógeno sintetasa (revisado en(Beurel et al. 2015), también activa la translocación del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) a la membrana plasmática, por la fosforilación/activación de AS160, proteína implicada en la translocación del GLUT4, la duración del estímulo derivado de la unión con la insulina y su receptor son regulados por las fosfatasas de proteínas y de fosfolípidos, la desregularización de estas vías de señalización están asociadas con el desarrollo de intolerancia a la glucosa (White 2003).

La señalización inducida por la insulina se termina por la regulación negativa de los componentes activados durante el estímulo con insulina, un mecanismo es por la fosforilación negativa en sitios de treonina/serina de los IRS induciendo su degradación (Pederson et al. 2001) y/o disminuye su unión al receptor de la insulina, con la subsecuente reducción de la actividad de PI3K reduciéndose la señal originada por la insulina (Mothe and Van Obberghen 1996). También se conoce que factores activados por los IRS como Akt puede regular negativamente a su activador PI3K, al incrementar su unión con los IRS, lo cual genera que PI3K fosfore a los IRS en sitios de serina/treonina inhibiendo su actividad (Li et al. 1999). Por otro lado PI3K puede activar a PKC $\zeta$  lo que incrementa la fosforilación en sitios de serina treonina disminuyendo la unión de los IRS al receptor de insulina, (Liu et al. 2001), otras fosfocinasas también pueden interrumpir la vía de señalización, tal es el caso de JNK-C una MAP kinasa que puede inhibir la función de los IRS al fosforilarlos en

residuos de serina (Lee et al. 2003a). Otros reguladores negativos de la vía de señalización de la insulina son las proteínas tirosina fosfatasa (PTP), las cuales están implicadas en la desfosforilación de los sitios de tirosina de los IRS (Asante-Appiah and Kennedy 2003). Además se ha demostrado que la inhibición de la expresión de receptores con función de PTP incrementa la captación de glucosa, la funcionalidad y la vida media de la actividad de los IRS (Krüger et al. 2015).

Las bases patológicas implicadas en el desarrollo de la RI han sido estudiadas usando diversos enfoques entre ellos el “enfoque lipocéntrico” propone que la RI es generada por los depósitos de grasa ectópica excesiva, lo que induce el incremento de ácidos grasos libres (AGL) en sangre y el subsecuente aumento en los niveles de diacilglicerol incrementa la actividad de PKC, la cual disminuye la fosforilación en sitios de tirosina de los IRS e incrementa la fosforilación en sitios de serina, disminuyendo la función de los IRS, reduciendo la actividad de PI3K/Akt lo cual regula negativamente la fusión del GLUT4 a la membrana de la célula (Mitra et al. 2008).

A su vez el incremento de AGL se asocia con el aumento intracelular de la acetil coenzima A y citrato sintasa disminuyéndose la actividad de la piruvato deshidrogenasa y fosfofructocinasa reduciéndose el metabolismo oxidativo de la glucosa y la glucólisis (Cahová et al. 2007). La disminución en la glucólisis y fosforilación oxidativa conducen a la inducción de estrés/daño oxidativo promoviendo la liberación de citocinas pro-inflamatorias las cuales pueden incrementar la actividad de JNK un regulador negativo de los IRS, todos estos eventos inducen RI (Mitra et al. 2008).

Por otro lado el “enfoque glucocéntrico” propone que estadios de hiperglucemia puede generar un efecto glucotóxico, que conlleva a la RI (Robertson et al. 2004), ya que las altas concentraciones de glucosa promueven su reacción con los grupos amino de proteínas celulares como la glucosamina-6-fosfato (Thornalley et al. 1999), generándose la producción de metabolitos reactivos “productos finales de glicosilación avanzada (AGEs)”, los AGEs pueden activar directamente a JNK, un represor negativo de la vía de señalización de la insulina (Kaneto et al. 2002).

Recientemente se ha demostrado que los niveles sanguíneos de AGEs se asocian con el incremento en la RI (Xu et al. 2015), por otro lado durante estados de hiperglucemia se induce la apoptosis en las células  $\beta$ -pancreáticas (Lee and Pervaiz 2007), la muerte celular de las células  $\beta$ -pancreáticas, la disminución en la síntesis de insulina y la subsecuente inducción de reguladores negativos de la vía de señalización de la insulina, son las principales causas de la inducción de RI por la glucotoxicidad.

Por otra parte las especies reactivas del oxígeno (ROS; sustancias químicas derivadas del metabolismo del  $O_2$ ) y las especies reactivas del nitrógeno (RNS), se han involucrado en la patofisiología de la inducción de RI. Las ROS pueden mimetizar el efecto de la insulina en adipocitos e inducir la activación del transportador de la glucosa, incrementar la síntesis de lípidos y glucógeno e inhibir la lipólisis (May and de Haen 1979). Concentraciones menores a 30 nM de  $H_2O_2$  estimula la fosforilación en tirosina del receptor de insulina, aumentando su actividad (Heffetz et al. 1992) ,sin embargo la prolongada exposición a altas concentraciones de ROS, se asocian con la inhibición de la acción de la insulina, sugiriendo que la vía de señalización requiere de bajas concentraciones de ROS (basales), además cuando se induce el estrés oxidativo (incremento desmesurado de ROS) la señalización se inhibe (Hansen et al. 1999), un mecanismo que se han implicado en la inducción de RI por el estrés oxidativo es por la hiper-activación de proteínas tirosina fosfatasas (PTP) las cuales reducen la actividad de los IRS (Li and Pang 2014), por otra parte el incremento desmesurado de ROS se asocia con la activación de JNK, un regulador negativo de la vía de señalización de la insulina (Shen y Liu., 2006).

En relación al estrés nitrosactivo se ha demostrado que en estadios de hiperglucemia se incrementa la actividad de la óxido nítrico sintetasa (iNOS) y la subsecuente producción de peroxinitrito el cual es una RNS (Sharma et al. 1995), en pacientes con DT2 existe una elevada producción de óxido nítrico (ON), nitratos ( $ON_2^-$ ) y nitritos ( $ON_3^-$ ) generados por la actividad de iNOS, el incremento de RNS genera un incremento en la S-nitrosilación (Torres et al. 2004), la S-nitrosilacion de

los IRS inducen su degradación (Sugita et al. 2005), también la S-nitrosilación en tirosinas de Akt (PKB) regula negativamente la vía de señalización/acción de la insulina (Yasukawa et al. 2005).

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias creadas con el fin de prevenir, destruir, repeler o controlar plagas (EPA, 2012), entre los plaguicidas más utilizados destacan los plaguicidas organofosforados (OP). Los OP, son considerados como los principales contaminantes ambientales, por ser ampliamente utilizados en todo mundo para incrementar la producción agrícola y en el control de enfermedades transmitidas por vector (Ecobichon, 2001; Schreinemachers y Tipraqsa, 2012). En México tan solo en el 2011 se usaron 3.3 toneladas de plaguicidas por cada 1000 habitantes (FAO, 2011) de los cuales el metil-paration (MEPA) y metamidofos (MET) fueron los OP más utilizados (Sánchez-Guerra et al. 2011a). De esta manera el uso excesivo de estos compuestos ha provocado daños en el ambiente y en la salud de la población (Aktar et al., 2009).

Se ha estimado la existencia de más de 1 000 ingredientes activos de OP, pese a su agrupación en familias, cada uno posee propiedades toxicológicas diferentes estos pueden afectar varios órganos como el páncreas, hígado, músculo los cuales están implicados en la acción de la insulina (Slotkin 2011). Como se ha mencionado anteriormente la RI es un factor de riesgo para el desarrollo de varias comorbilidades, sus causas son multifactoriales sin embargo la inevitable exposición a xenobióticos se ha propuesto como un factor que contribuye al desarrollo de esta enfermedad (Hectors et al. 2013). La exposición aguda y crónica a OP pueden inducir efectos lipotóxicos, glucotóxicos y la inducción de estrés oxidativo/nitrosactivo por lo que son considerados como contaminantes con probable capacidad de inducir resistencia a la insulina.

Como se ha mencionado anteriormente las causas de la inducción de RI son varias en las cuales se incluyen los efectos glucotóxicos, lipotóxicos e inducción de estrés oxidativo/nitrosactivo, estos efectos también se han asociado a la exposición aguda, y/o crónica a OP, por lo que se considera que la RI es una consecuencia

fisiopatológica de la exposición a OP (Lasram et al. 2014a). En este sentido estudios de cohorte realizados por (Montgomery et al. 2008), demostraron que la exposición ocupacional a OP incrementa el riesgo de padecer DT2 en población ocupacionalmente expuesta, por su parte (Saldana et al. 2007), encontraron que la exposición durante el primer trimestre a malation incrementaba significativamente el riesgo de padecer diabetes gestacional. Recientemente (Raafat et al. 2012), reportaron que la exposición crónica a malation induce RI en población ocupacionalmente expuesta.

En modelos animales se ha encontrado que la exposición a monocrotofos y malation, inducen un incremento de la concentración de glucosa en sangre, el incremento es considerado como transitorio. Se ha sugerido que la hiperglicemia ocurre por la transformación de glucógeno a glucosa, evidencia de ello es la hiperactivación de enzimas implicadas en la glucogenólisis como la glucogenofosforilasa y la disminución en el contenido de glucógeno post-exposición a OP (Matin and Husain 1987); (Teimouri et al. 2006). Se ha reportado que el incremento en la glucosa por exposición a OP se asocia con una hipersecreción compensatoria de insulina sin que esta sea capaz de disminuir los niveles de glucosa y de inhibir la acción glucogenolítica del hígado (Rezg et al. 2010).

La exposición a OP también se ha asociado con la disfunción de las células  $\beta$ -pancreáticas, (Pournourmohammadi et al. 2005), reportaron que el malation induce la hipersecreción de insulina en ratas expuestas, también se conoce que la exposición crónica a malation induce una hiper-activación de las glucoquinasas y glutamato deshidrogenasa, enzimas implicadas en la regulación de la excreción de insulina, la hiperinsulinemia y la hiperglicemia son considerados como los principales factores de riesgo para el desarrollo de DT2.

La alteración en la secreción de insulina por la exposición a OP se debe a la sobre estimulación de los receptores colinérgicos y muscarínicos localizados en la superficie de las células  $\beta$ -pancreáticas, los cuales al ser estimulados inducen la secreción de insulina. Sin embargo, la exposición a OP puede ejercer diferentes mecanismos no colinérgicos que están implicados en la RI inducida por OP

(Vosough-Ghanbari et al. 2007), se ha sugerido que la inducción de estrés oxidativo en el páncreas puede ser un mecanismo no colinérgico para el dimetohato un OP (Kamath and Rajini 2007), también se ha observado que el malation induce RI en hígado, y que cuando se co-administra un antioxidante la RI no se genera (Lasram et al. 2014c), lo que establece la posibilidad de que la RI en los tejidos diana sea atribuido a la inducción de estrés oxidativo/nitrosactivo.

Considerando que en México se utilizan 3.3 millones de toneladas de plaguicidas de tipo OP siendo el metamidofos el OP de uso más frecuente, es de interés determinar si este plaguicida es capaz de resistencia a la insulina en células HepG2 así como evaluar su relación con la inducción de estrés oxidativo .A continuación se presentan los resultados obtenidos.

Dear Dr. Marco Antonio Ramírez-Vargas,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Food and Chemical Toxicology

Title: Methamidophos induces insulin resistance in HepG2 cells

Corresponding Author: Ma. Elena Moreno-Godínez

Co-Authors: Marco Antonio Ramírez-Vargas; Eugenia Flore-Alfaro ; Isela Parra-Rojas;  
Yanet Romero-Ramirez; Iris Paola Guzmán-Guzmán; Napoleón Navarro-Tito ;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register

here: <https://ees.elsevier.com/fct/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Marco Antonio &lname=Ramírez-Vargas&email=marco-qbp@hotmail.com>

Or log in: <https://ees.elsevier.com/fct/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=marco-qbp@hotmail.com>

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at emoreno20@hotmail.com.

Thank you,

Food and Chemical Toxicology

Manuscript Number:

Title: Methamidophos induces insulin resistance in HepG2 cells

Article Type: Full Length Article

Keywords: methamidophos; insulin resistance; glucose uptake; GLUT4 translocation; neutral lipids; GLUT2 levels.

Corresponding Author: Professor Ma. Elena Moreno-Godínez,

Corresponding Author's Institution:

First Author: Marco Antonio Ramírez-Vargas

Order of Authors: Marco Antonio Ramírez-Vargas; Eugenia Flores-Alfaro ; Isela Parra-Rojas; Yanet Romero-Ramirez; Iris Paola Guzmán-Guzmán; Napoleón Navarro-Tito ; Ma. Elena Moreno-Godínez

Abstract: Insulin resistance is a metabolic condition that has been linked to multifactorial risk factors such as the exposure to organophosphates pesticides (OP). Methamidophos (MET) is one of the most widely used OP in the world. The aim of this study was to evaluate whether MET can induce insulin resistance in human liver carcinoma (HepG2) cells. The HepG2 cells were exposed to MET (0-500 mg/L), for 48- or 96-h. The cell viability was determined by 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. The glycogen levels, lipid content, and glucose uptake/consumption/production, the GLUT2 levels and GLUT4 translocation in HepG2 cells were assessed as indicators of insulin resistance. The results of MTT assay indicated that MET no induced cytotoxicity in HepG2 cells at 48- or 96-h. However, the exposure to MET increased the lipid content and glucose production in HepG2 cells and significantly decreased the GLUT2 and glycogen levels. In addition, MET decreases insulin-stimulated glucose uptake/consumption, and lessen insulin-stimulated GLUT4 translocation to the plasma membrane. These results suggest that MET could be associated to development of insulin resistance.

Suggested Reviewers: Sonia Ramos

Institute of Food Science and Technology and Nutrition  
s.ramos@ictan.csic.es

Dr. Sonia Ramos has large experience in the measure of insulin resistance in hepatic cells

Mohammad Abdollahi

Tehran University of Medical Sciences  
Mohammad.Abdollahi@UToronto.Ca

Dr. Abdollahi has large experience in the metabolic disorders associated with pesticide exposure.

Sara Mostafalou

Ardabil University of Medical Sciences  
s.mostafalou@pharmacy.arums.ac.ir

Dr. Mostafalou has large experience in the study of insulin resistance associated with pesticide exposure.

Mohamed Montassar Lasram  
El Manar University Tunis  
lasram\_montassar@yahoo.fr

Dr. Lasram has large experience in the study of insulin resistance associated with organophosphates pesticide exposure.

Isabel Cordero Herrera  
Karolinska Institutet  
cordero.isa@gmail.com

Dr. Cordero has large experience in the study of insulin resistance on in vitro systems.

Opposed Reviewers: