Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

POSGRADO EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

“Efecto de la exposición de dos disruptores endocrinos: cadmio y flutamida durante la ventana de masculinización en el desarrollo de la glándula mamaria de la rata macho”

Tesis para obtener el grado de Maestra en Biología de la Reproducción Animal

Mariel Leyte Cortés

Matrícula: 2223802008

Correo: mleyte0@gmail.com

Codirectora: Dra. Marcela Arteaga Silva
Codirectora: Dra. Rosa María Vigueras Villaseñor
Asesora: Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos

Jurado

Presidenta: Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Secretario: Dr. Javier Esteban Jiménez Salazar
Vocal: Dr. Joel Hernández Rodríguez
Vocal: Dra. Ofelia Limón Morales

Iztapalapa, Ciudad de México a 18 de junio de 2025

COMITÉ DE TUTORES

CODIRECTORA INTERNA
Dra. Marcela Arteaga Silva
Profesora-Investigadora. Titular "C" T.C.

Departamento de Biología de la Reproducción

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

asm@xanum.uam.mx; arteaga1967@hotmail.com

CODIRECTORA EXTERNA
Dra. Rosa María Vigueras Villaseñor
Investigador en Ciencias Médicas "D"

Subdirección de Medicina Experimental

Laboratorio de Biología de la Reproducción

Instituto Nacional de Pediatría

rmvigueras@yahoo.com.mx

ASESORA
Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Profesora-Investigadora. Titular "C"

Departamento de Biología de la Reproducción

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

mrtc@xanum.uam.mx

MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTA
Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Profesora-Investigadora. Titular "C"

Departamento de Biología de la Reproducción

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

mrtc@xanum.uam.mx

SECRETARIO
Dr. Javier Esteban Jiménez Salazar
Profesor-Investigador. Titular "C"

Departamento de Biología de la Reproducción

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

bioquimicaje1s@hotmail.com

VOCAL
Dr. Joel Hernández Rodríguez
Universidad Estatal del Valle de Ecatepec
joelhr19@hotmail.com

VOCAL
Ora. Ofelia Limon Morales
Departamento de Biología de la Reproducción

División de Ciencias Biol6gicas y de la Salud

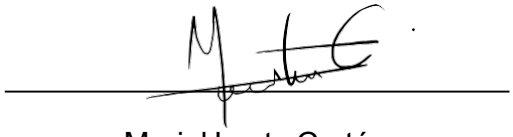
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

ofelia.limon@yahoo.com

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Mariel Leyte Cortés, alumna de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, adscrita a la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, y autora de la idónea comunicación de resultados (tesis) titulada: “Efecto de la exposición de dos disruptores endocrinos: cadmio y flutamida durante la ventana de masculinización en el desarrollo de la glándula mamaria de la rata macho”, declaro que:

1. La presente idónea comunicación de resultados (tesis) es una obra original y de mi exclusiva autoría, resultado del trabajo de investigación realizado de forma personal. Asimismo certifico que toda la información proveniente de fuentes externas ha sido debidamente citada y se han otorgado los créditos correspondientes a los autores.
2. No he reproducido, sin el debido reconocimiento, fragmentos textuales extensos, imágenes, fotografías, diagramas, cuadros ni tablas pertenecientes a otros autores o fuentes. Todo el material incorporado cuenta con la referencia y el crédito autoral apropiado.
3. En virtud de lo anterior, deslindo de cualquier responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa ante posibles reclamaciones o demandas por parte de terceros que pudieran considerarse con derechos sobre el contenido de esta idónea comunicación de resultados (tesis), asumiendo personalmente todas las consecuencias legales y economicas derivadas, en caso de que se comprobara que el trabajo no es de mi autoría ni originalidad.



Mariel Leyte Cortés

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco al programa de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal (MBRA) de la división de Ciencias Biológicas y de la Salud (DCBS) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I) La cual pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), con número de registro: 003797.
Mi gratitud a la coordinadora de la MBRA, la Dra. María del Socorro Imelda Retana Márquez, por su constante disposición y a poyo a lo largo de este trabajo.

Agradezco al laboratorio de Neuroendocrinología Reproductiva de la UAM-I, bajo la dirección de la Dra. Marcela Arteaga Silva. Este trabajo de tesis se desprende del proyecto aprobado con Número de proyecto 14409018.

Agradezco al laboratorio de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Pediatría (INP) y a los recursos del Financiamiento de Fondos Federales del Programa E-022, bajo la dirección de la Dra. Rosa María Vigueras Villaseñor.

Agradezco al Laboratorio Departamental de Biología de la Reproducción de la DCBS de la UAM-I, por haberme brindado el espacio y las herramientas para este trabajo.

La autora conto con el apoyo económico de la Beca Nacional de Posgrado del CONAHCYT con el número Curriculum Vitae Único (CVU): 1255750

DEDICATORIA

A mis papás, **Jesús Leyte y Guadalupe Cortés**, por acompañarme incondicionalmente en cada etapa de mi vida. Gracias por su amor, por los sacrificios que han hecho por mí, por su paciencia y por la confianza que siempre han depositado en mí. Todo lo que soy y todo lo que he logrado se debe, en gran parte, a los valores y la fortaleza que me han enseñado.

A **Enrique Flores**, mi segundo papá, quien ha sido un pilar fundamental en mi vida. Gracias por ser el punto de partida de muchas de mis inquietudes, intereses y pasiones. Tu cariño y tu ejemplo despertaron en mí el amor por el conocimiento y la ciencia. Gracias por creer en mí incluso cuando yo misma dudaba, y por impulsarme siempre a dar lo mejor de mí.

A mi segunda mamá, **Martha Leyte**, por tu apoyo incondicional, tus sabios consejos y tu presencia constante en mi vida. Eres una fuente de inspiración inmensa, una guía de trabajo, esfuerzo y perseverancia. Gracias por celebrar con alegría cada uno de mis logros, por pequeños que fueran, y por estar a mi lado con amor y entusiasmo en cada paso del camino.

A mis hermanos, **Daniel Leyte** y **Alejandro Leyte**, por su compañía, su apoyo silencioso y sus cuidados sinceros. Gracias por estar presentes, por hacerme sentir acompañada incluso en la distancia y por formar parte esencial de mi red de amor y fortaleza.

A mí compañero de vida, **Esteban Vieyra**, por caminar conmigo en cada tramo de este proceso. Gracias por tu paciencia infinita, por tu comprensión en los momentos más retadores. Tu amor, tu compañía y tus consejos fueron un gran apoyo en los momentos más difíciles. Gracias por estar siempre.

A mis compañeras de maestría **Vane, Gaby** y **Jessy** por hacer los días más amenos y por su valiosa amistad. A **Nat y Xime**, por las risas y las pláticas que hacían que los días pesados en el laboratorio fueran más llevaderos. Y a **Rocío**, por ser un gran apoyo tanto dentro como fuera del ámbito académico, gracias por compartir conmigo cada paso de este proceso, tu presencia hizo toda la diferencia.

A mis fieles compañeros de cuatro patas, **Gedel** y **Kepler**, quienes con su compañía silenciosa me acompañaron durante largas noches de desvelo. Gracias por estar siempre ahí y por enseñarme el amor más puro del universo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la **Dra. Marcela Arteaga Silva** por su apoyo y por compartir generosamente sus conocimientos conmigo. Gracias por brindarme la oportunidad de participar en este proyecto y por depositar en mí su confianza desde el inicio.

Extiendo también mi sincero reconocimiento a la **Dra. Rosa María Vigueras Villaseñor**, cuyo acompañamiento fue fundamental para la realización de este trabajo. Agradezco el tiempo que dedicó, así como sus valiosos consejos académicos y personales, los cuales me guiaron e impulsaron a tomar decisiones significativas para mi desarrollo tanto profesional como personal. Le agradezco, además, por haberme abierto las puertas de su laboratorio y por la confianza depositada en mí, lo cual fue esencial para llevar a cabo este proyecto en un ambiente de aprendizaje y compromiso.

A la **Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos**, le agradezco sus enseñanzas y la sabiduría compartida a lo largo de este proceso. Su carisma, sensibilidad y forma tan accesible de enseñar han sido fuente de inspiración para aprender y crecer, siempre en un ambiente libre de juicio. Es sin duda, una excelente profesora y una gran persona.

De igual forma, agradezco profundamente al **Técnico Pedro Medina Granados**, quien fue un pilar esencial en la ejecución práctica de este proyecto. Su disposición, apoyo constante y palabras de aliento durante los momentos de dificultad fueron clave para seguir adelante. Le agradezco especialmente los conocimientos técnicos que me compartió, así como su calidad humana, que deja una huella importante en esta etapa de mi formación.

Agradezco también a mis compañeros de laboratorio el **Dr. Joel,** la **Mtra. Sonia** y el **Mtro. Sergio** por su apoyo y conocimientos compartidos a lo largo de esta etapa.

ABREVIATURAS

Ca Calcio

Cd Cadmio

$CdCl_2$ Cloruro de cadmio

DAG Distancia anogenital

DG Día gestacional

DE Disruptores endocrinos

DHT Dihidrotestosterona

DPN Día postnatal

Fe Hierro

GM Glándula mamaria

i.p Intraperitoneal

RA Receptor de andrógenos

RE Receptor de estrógenos

RP Retención del pezón

s.c Subcutánea

T Testosterona

VM Ventana de Masculinización

Zn Zinc

ÍNDICE

RESUMEN **11**
ABSTRACT **13**
1. INTRODUCCIÓN **15**
1.1 Ventana de masculinización 17
1.2 Desarrollo gestacional de la glándula mamaria 18
2. ANTECEDENTES **21**
2.1 Cadmio y sus efectos en la salud reproductiva 21
2.2 Mecanismo de acción del Cd 21
2.3 Flutamida y sus efectos en la salud reproductiva 23
2.4 Mecanismo de acción de la flutamida 24
2.5 Retención del pezón 25
2.6 Ginecomastia 26
3. JUSTIFICACIÓN **28**
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN **28**
5. HIPÓTESIS **29**
6. OBJETIVOS **29**
6.1 Objetivos generales 29
7. DISEÑO EXPERIMENTAL **29**
8. METODOLOGÍA **30**
8.1 Modelo de estudio 30
8.2 Administración prenatal de Cd y flutamida 30
8.3 Disección de la glándula mamaria y evaluación histológica con hematoxilina eosina 31
8.4 Determinación de la concentración de Cd en tejidos y sangre 33
8.5 Concentración de T en suero sanguíneo 33
8.6 Análisis estadístico 33
9. RESULTADOS **34**
9.1 Evaluación de los parámetros somatométricos de las crías macho 34
9.2 Evaluación de los niveles séricos de testosterona 37
9.3 Evaluación de las concentraciones de Cd en hígado, riñón, glándula mamaria (GM) y sangre 38
9.4 Evaluación histológica del desarrollo de la glándula mamaria (GM) de las crías macho 40
10. DISCUSIÓN **44**
11. ACCIÓN DEL Cd Y FLUTAMIDA EN LA GESTACIÓN Y SUS EFECTOS EN EL

DESARROLLO DE LA GM EN LOS MACHOS **50**
12. CONCLUSIÓN **52**
13. PERSPECTIVAS **52**
14. BIBLIOGRAFÍA **53**

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Clasificación de los DE…….. **16**
Figura 1. Estructura química de la flutamida…… **17**
Figura 2. Ventana de masculinización de la etapa gestacional…… **18**
Figura 3. Desarrollo de la glándula mamaria de la rata durante el periodo gestacional.... **20**
Figura 4. Efectos del Cd a nivel celular…….. **23**
Figura 5. Mecanismo de acción de la FMDA en la célula……..... **25**
Figura 6. Alteración en la señalización androgénica …….. **26**
Figura 7. Diseño experimental……..... **29**
Figura 8. Evaluación histológica del desarrollo de la GM en la descendencia……... **32**
Figura 9. Peso corporal de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN…….. **34**
Figura 10. Talla corporal de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN……. **35**
Figura 11. Distancia anogenital (DAG) de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN…….. **36**
Figura 12. Concentraciones séricas de testosterona de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN……..... **37**
Figura 13. Concentraciones de Cd en hígado, riñón, y GM a los 21 y 35 DPN…….. **38**
Figura 14. Concentraciones de Cd en sangre a los 21 y 35 DPN…… **39**
Figura 15. Imágenes histológicas representativas que muestran el efecto de la exposición prenatal de ratas macho al Cd sobre el desarrollo de la GM a los 21 DPN….. **41**
Figura 16. Cortes histológicos representativos que muestran el efecto de la exposición prenatal de ratas macho a FMDA sobre el desarrollo de la GM a los 21 y 35 DPN……... **42**
Figura 17. Mediciones morfométricas del desarrollo histológico de la glándula mamaria (GM) de ratas tratadas con FMDA a los 21 y 35 DPN…… **43**
Figura 18. Representación esquemática del efecto del Cd y la FMDA sobre la ventana de masculinización (15 al 20 DG) y el desarrollo de la glándula mamaria en machos expuestos gestacionalmente…….…... **51**

RESUMEN

En los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de alteraciones en la salud, fenómeno que ha sido vinculado con la exposición a disruptores endocrinos (DE). Diversos compuestos presentes en la vida cotidiana poseen propiedades como DE, entre ellos el cadmio (Cd) y la flutamida (FMDA). Se ha establecido que la exposición a estos agentes durante la ventana de masculinización (VM) puede interferir con la diferenciación sexual, favoreciendo el desarrollo de alteraciones en etapas postnatales como la ginecomastia, una patología caracterizada por el crecimiento anómalo del tejido mamario en varones. Los efectos específicos de la exposición gestacional al Cd sobre el desarrollo de la glándula mamaria (GM) en ratas macho permanecen poco explorados. En contraste, la FMDA ha sido más ampliamente estudiada, y su impacto sobre la morfogénesis mamaria masculina es mejor conocido. Dado que la FMDA actúa como un antagonista androgénico, su inclusión como control positivo en estudios experimentales resulta esencial para establecer comparaciones funcionales frente al Cd. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar y comparar los efectos del Cd y la FMDA sobre el desarrollo de la GM en la descendencia masculina expuesta durante la gestación. Para ello, se formaron cuatro grupos de ratas Wistar hembras gestantes. Grupo I: Control Cd (100 µL de solución salina i.p); Grupo II: Cadmio (1 mg/kg de $CdCl_2$ i.p); Grupo III: Control FMDA (100 µL de aceite de oliva s.c) y Grupo IV: FMDA (25 mg/kg de flutamida s.c). Todos los tratamientos se administraron del día 15 al 20 gestacional. Posteriormente se realizó eutanasia a los 21 y 35 días postnatales (DPN), se obtuvieron los parámetros somatométricos, sangre, suero y la GM para el análisis histológico. Los resultados demostraron que el grupo con Cd no presentó desarrollo del pezón, pero sí una ligera formación de conductos mamarios. Por el contrario, el grupo FMDA mostró desarrollo de pezón, conductos mamarios y abundante tejido adiposo en el estroma. Ambos grupos presentaron disminución en las concentraciones de testosterona (T) a los 35 DPN y disminución de la distancia anogenital (DAG). Estos resultados fueron más evidentes en el grupo tratado con FMDA. Se ha demostrado que el Cd reduce las concentraciones de T y la FMDA interfiere con los receptores de andrógenos (RA)

durante la gestación. Por lo que se concluye que la exposición gestacional a Cd y FMDA afecta la VM y promueve el desarrollo de la GM y del pezón en la descendencia masculina.

Palabras clave: cadmio, flutamida, glándula mamaria, masculinización, andrógenos, ginecomastia.

ABSTRACT

In recent years, an increase in the incidence of health disorders has been observed, a phenomenon that has been linked to exposure to endocrine disruptors (ED). Various compounds present in everyday life possess ED properties, including cadmium (Cd) and flutamide (FMDA). It has been established that exposure to these agents during the masculinization window (WM) can interfere with sexual differentiation, promoting the development of disorders in postnatal stages such as gynecomastia, a condition characterized by abnormal growth of mammary tissue in males. The specific effects of gestational exposure to Cd on mammary gland (MG) development in male rats remain poorly explored. In contrast, flutamide has been more extensively studied, and its impact on male mammary morphogenesis is better understood. Since FMDA acts as an androgen antagonist, its inclusion as a positive control in experimental studies is essential for establishing functional comparisons with Cd. In this context, the present study aimed to evaluate and compare the effects of Cd and FMDA on MG development in male offspring exposed during gestation. To this end, four groups of pregnant Wistar rats were formed: 1) Control S.S (100 µL of saline solution); 2) Control O.O (100 µL of olive oil); 3) Cd (1 mg/kg of $CdCl_2$); and 4) FMDA (25 mg/kg of flutamide). All treatments were administered from gestational day 15 to 20. Euthanasia was performed at postnatal days 21 and 35, and somatometric parameters, blood, serum, and MG were collected for histological analysis. The results showed that the Cd group did not present nipple development but did exhibit slight mammary duct formation. In contrast, the FMDA group showed nipple development, mammary ducts, and abundant adipose tissue in the stroma. Both groups presented decreased T concentrations at PND 35 and reduced anogenital distance (AGD). These results were more evident in the FMDA-treated group. It has been demonstrated that Cd reduces T concentrations and that flutamide interferes with androgen receptors (AR) during gestation. It is therefore concluded that gestational exposure to Cd and FMDA affects the WM and promotes the development of MG and nipples in male offspring.

Keywords: cadmium, flutamide, mammary gland, masculinization, androgens, gynecomastia.

1. INTRODUCCIÓN

Los disruptores endocrinos (DE) son compuestos químicos capaces de alterar el funcionamiento del sistema endocrino, el cual regula las hormonas en el organismo. Los DE se encuentran en muchos productos de uso diario como plásticos, productos farmacéuticos, pesticidas, compuestos industriales y metales. Algunos compuestos naturales también se pueden comportar como DE en los que se incluyen los fitoestrógenos, tales como la soja y la alfalfa (Pombo *et al.,* 2020). Estas sustancias pueden entrar al cuerpo humano a través de la ingesta, inhalación o absorción cutánea (Kandarakis *et al.,* 2009).

Los receptores de estrógenos (RE) y los receptores de andrógenos (RA) son blanco de muchos DE, lo que puede desencadenar dos tipos de respuesta, una hormonal denominada efecto agonista y/o una falta de respuesta hormonal denominada acción antagónica (Di Nisio & Foresta, 2019). Incluso los DE son capaces de inducir graves efectos adversos sobre la salud de un organismo o de su progenie. En mujeres, la exposición a DE se ha asociado con una variedad de problemas reproductivos, como la infertilidad, trastornos menstruales, endometriosis y anormalidades en el desarrollo de la glándula mamaria (GM) (Vandenberg, 2021). En hombres, la exposición de pesticidas y otros contaminantes como los metales pesados se han vinculado a una disminución en la cantidad y calidad de los espermatozoides, lo que indica un impacto negativo significativo en la fertilidad masculina (Martini *et al.,* 2020). Estos efectos dependen del período de exposición y del momento en que se evalúa su efecto más que de las dosis. Por lo tanto, estos compuestos pueden interferir en procesos fisiológicos importantes, como en la ventana de masculinización (VM) (15-19 DG). El Cd es un DE capaz de producir estrés oxidativo, lo que puede dañar a las células en los testículos fetales alterando la producción hormonal (Miler, 2012). Por otro lado, la flutamida (FMDA) es un antiandrógeno no esteroideo que actúa como antagonista del RA bloqueando la acción de las hormonas androgénicas, lo cual pude provocar una disminución en la actividad androgénica afectando procesos fisiológicos dependientes de la testosterona (T). Se han identificado diversas sustancias con capacidad como DE y se ha propuesto su mecanismo de acción y los efectos sobre la salud.

(Tabla 1). Clasificación de los DE. Mecanismo de acción y efectos en la salud reproductiva. (BPA= Bisfenol A, BPS= Bisfenol S, BPF= Bisfenol F. DEHP= dietilhexilftalato, DBP= dibutilftalato, DINP= diisononilftalato).

Tipo de disruptor	Ejemplos	Mecanismo de acción	Efectos en la salud
Metales Pesados	• **Cadmio** • Plomo • Mercurio	• Alteran receptores hormonales • Generan estrés oxidativo	• Infertilidad • Neurotoxicidad • Daño ovárico y testicular (Jeng, 2014)
Farmacéuticos	• **Flutamida** • Etinilestradiol • Tamoxifeno	Bloquea los receptores de andrógenos	• Disminución de T • Ginecomastia • Infertilidad masculina • Daño hepático (Kolvenbag *et al.,* 1998)
Fitoestrógenos	• Lignanos • Isoflavonas	Agonistas estrogénicos	• Alteraciones menstruales • Reducción de fertilidad • Efectos protectores en menopausia (Loutchanwoot *et al*., 2013)
Bisfenoles	• BPA • BPS • BPF	• Agonista de estrógenos • Antagonista de andrógenos	• Pubertad precoz • Infertilidad • Resistencia a la insulina (Rochester, 2013)
Ftalatos	• DEHP • DBP • DINP	• Disminuyen la T fetal • Afecta el eje HHG	• Malformaciones genitales • Disfunción testicular • Baja calidad espermática (Meeker *et al.,* 2009)
Parabenos	• Metilparabeno • Propilparabeno	Agonistas estrogénicos débiles	• Disruptor hormonal leve • Posible riesgo en cáncer de mama (Darbre & Harvey, 2008)

Debido a la estructura química de la FMDA (Figura 1), que posee un anillo aromático y un grupo amida, es capaz de interactuar con dominio de unión de ligando del RA. En consecuencia, actúa como un antagonista androgénico, interfiriendo con la señalización androgénica normal durante periodos críticos de diferenciación sexual.

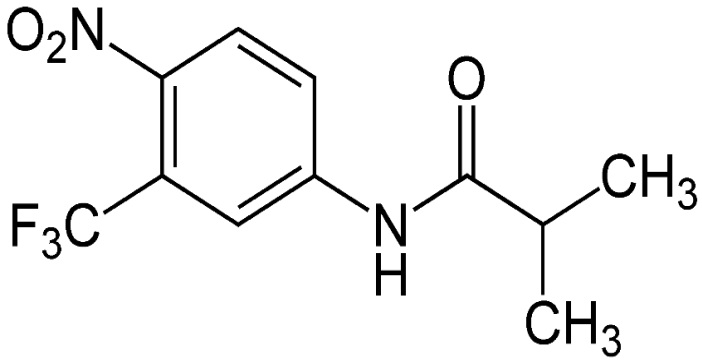


Figura 1. Estructura química de la flutamida.

1.1 Ventana de masculinización (VM)

La VM es un periodo en la etapa embrionaria/fetal en el que la acción de los andrógenos programa el desarrollo posterior de todos los órganos reproductores masculinos. En el humano abarca de la semana 8 a la 14 y en la rata entre el día 15 y 21 gestacional. Es un periodo esencial para el desarrollo del sistema reproductor masculino, incluyendo la formación de genitales externos, el descenso testicular y la retención del pezón (Welsh *et al.,* 2008). Es dependiente de los andrógenos, principalmente la T y de la dihidrotestosterona (DHT). La T es producida por las células de Leydig fetales en los testículos fetales y es crucial para el desarrollo de los genitales internos, mientras que la DHT es derivada de la conversión de T por la enzima 5α-reductasa y es responsable del desarrollo de los genitales externos (Figura 2) (MacLusky & Naftolin, 1981).

Durante la VM, la expresión y actividad del RA en los tejidos diana es crítica, cualquier alteración en la expresión de RA o en la disponibilidad de andrógenos puede resultar en una masculinización incompleta o defectuosa. Por ejemplo, mutaciones en el gen del RA o deficiencias en la producción de andrógenos pueden llevar a condiciones de insensibilidad a los andrógenos en el sexo masculino

(Quigley *et al.,* 1995) provocando patologías en la diferenciación sexual como criptorquidia, hipospadias, una distancia anogenital (DAG) reducida o alteraciones en el desarrollo de la GM.

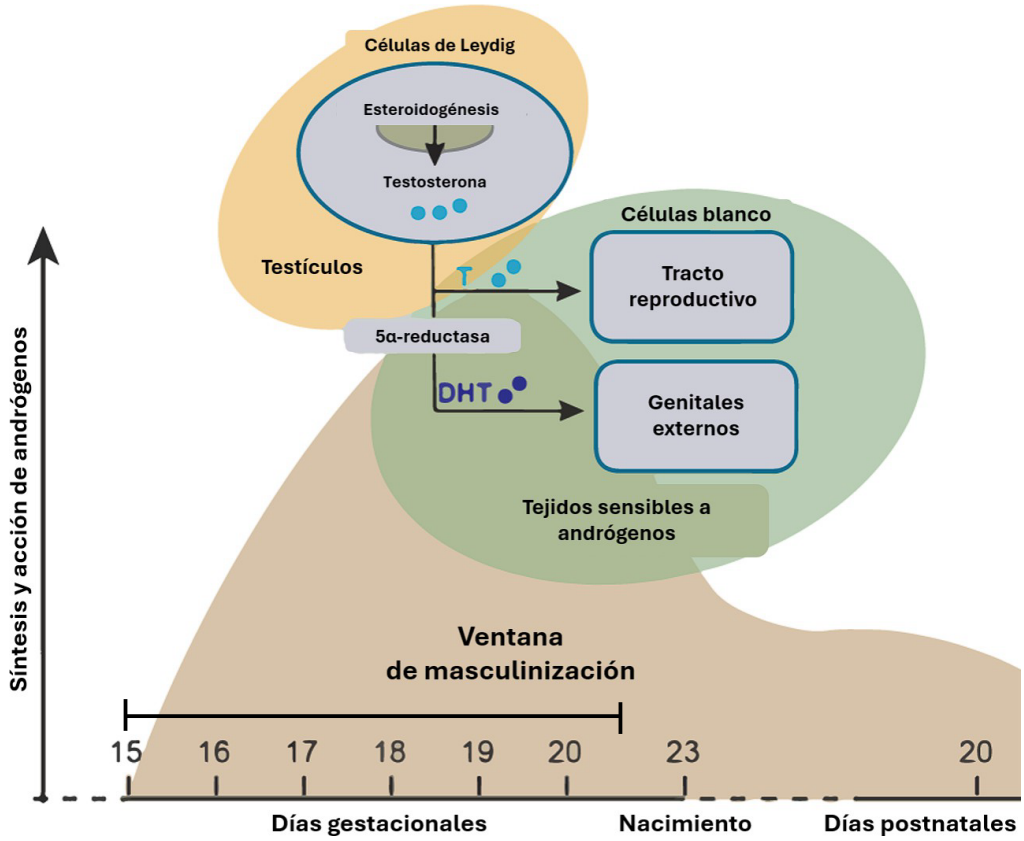


Figura 2. Ventana de masculinización de la etapa gestacional. El principal evento de masculinización tiene lugar durante el día 15 al 21 gestacional. La testosterona (T) sintetizada por los testículos fetales, así como la dihidrotestosterona (DHT) activan el receptor de andrógenos en las células diana provocando la diferenciación del tracto reproductor y de los genitales externos de los machos. Tomado y modificado de: Schwartz *et al*. (2021).

1.2 Desarrollo gestacional de la glándula mamaria

La GM es un órgano, que está fuertemente influenciada por hormonas como el estradiol, la progesterona, la T y la hormona del crecimiento (Hennighausen & Robinson, 1998). En los humanos la GM es sexualmente dimórfica, tanto en apariencia general como en las características de sus tejidos. La GM femenina está formada por tejido adiposo y glandular, esté último formado por conductos ramificados y lóbulos secretores terminales. La GM masculina se compone de tejido adiposo con escasos conductos y estroma, generalmente no es funcional (Khan *et al.,* 2022).

El estudio de la GM femenina ha recibido mayor interés en el campo de la endocrinología y la biología del cáncer. De hecho, se ha demostrado que la GM es uno de los órganos más sensibles a la exposición perinatal a DE (Vandenberg, 2021).

El desarrollo embrionario de la GM de la rata macho está bien documentado y es similar al de la rata hembra. La GM de la rata hembra involucra una serie de señales moleculares y celulares durante la etapa fetal, específicamente del día 15 al 21. Este proceso inicia con una interacción entre el epitelio y el mesénquima, una sola capa de epitelio cúbico se desarrolla progresando en una secuencia cefalocaudal (Vandenberg *et al.,* 2013). La señalización de la vía Wnt, juega un papel importante en la especificación de la línea mamaria en el embrión donde posteriormente se formarán las placodas mamarias y la yema epitelial las cuales son dependientes de factores de crecimiento como el de crecimiento de fibroblastos 10 (FGF10, por sus siglas en inglés) y sus receptores. Se ha demostrado que otros factores como la hormona similar a la hormona paratiroidea (PTHLH, por sus siglas en inglés) son críticos para la interacción entre el epitelio y el mesénquima. La proteína morfogénica de huesos 4 (BMP4, por sus siglas en inglés) regula la diferenciación celular y la formación de conductos glandulares. Existen otros factores de transcripción esenciales para el destino celular de la GM así como para su morfogénesis que actúan desde la embriogénesis hasta la adultez (Robinson, 2007). La GM está conformada por tejido epitelial y un estroma compuesto por tejido conjuntivo, tejido adiposo, vasos sanguíneos, fibras musculares lisas y ganglios linfáticos. Forman extensas laminas subcutáneas de tejido que se extienden desde la región cervical hasta la inguinal en seis pares ventrolaterales, cada uno con su propio pezón. El epitelio de la GM está formado por conductos ramificados continuos que emanan del pezón y conducen a conductos más pequeños ubicados en el área estromal denominados ductales, que terminan en yemas terminales y alvéolos, rodeados por tejido adiposo (Figura 3), dependiendo de la etapa de desarrollo (Masso-Welch *et al.,* 2000). Este desarrollo está regulado también por un complejo sistema hormonal, los REα, promueven la ramificación de los conductos mamarios mientras que los RA inician la diferenciación del fenotipo

masculino al promover la atrofia de las yemas rudimentarias (Lucas *et al*., 2007), lo que se le denomina, retención del pezón (RP) que se presenta durante la ventana de masculinización. Esta atrofia se desencadena por la condensación del mesénquima, inducida por la T y se sabe que en la rata macho se puede alterar, dando lugar a una GM con características femeninas (Vandenberg *et al.,* 2013). En hembras durante la etapa postnatal la progesterona y la prolactina son hormonas claves para la proliferación celular y la formación de lóbulos esenciales para la producción de leche (Robinson, 2007).

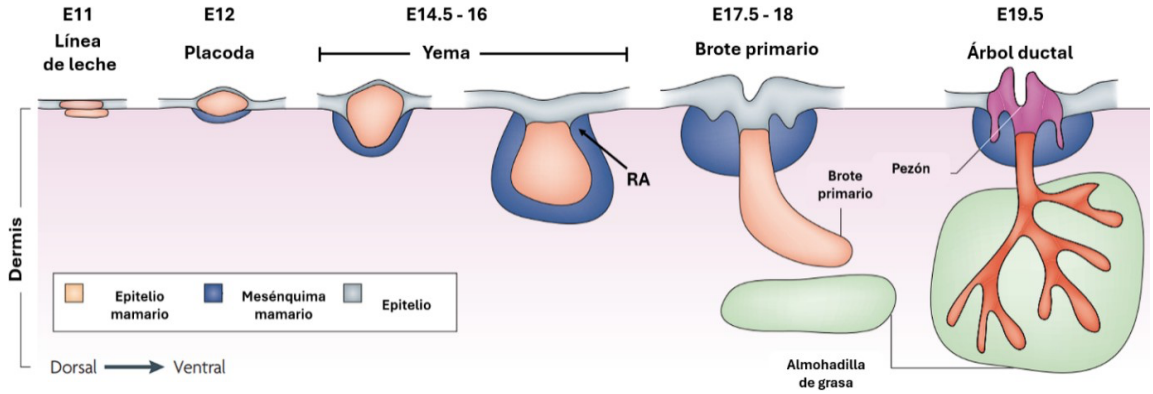


Figura 3. Desarrollo de la glándula mamaria de la rata durante el periodo gestacional. Alrededor del día gestacional 15 el desarrollo de la línea de leche mamaria es definida por el engrosamiento del ectodermo (gris). El mesénquima mamario (azul) comienza a condensarse promoviendo la formación de placodas individuales las cuales se van a diferenciar en yemas mamarias (naranja). A partir del día E14.5 en los machos, los andrógenos promueven la atrofia de las yemas, lo que se le denomina retención del pezón (RP), mientras que, en las hembras, esta ausencia de andrógenos promueve la proliferación de brotes mamarios que se van a ramificar en ductos rodeados por una almohadilla de grasa (verde). Las células del mesénquima mamario forman el pezón, que está conformado por células epidérmicas especializadas (rosa). Tomado y modificado de Robinson, (2007).

Esta sensibilidad hormonal, hace que la GM sea vulnerable a perturbaciones por agentes ambientales, como los DE, la alteración o ausencia de esta señalización hormonal puede impedir la maduración funcional de la GM.

Así, una exposición a un DE como el Cd y la FMDA pueden alterar el desarrollo de la GM, esto depende del período de exposición y del momento en que se evalúa su efecto (Vandenberg, 2021). Las investigaciones hasta el momento son principalmente en la hembra, sin embargo, es importante dilucidar estos efectos en la GM masculina. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar si la exposición a dos DE como el Cd y la FMDA en la VM induce el desarrollo de la GM

de la progenie masculina.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cadmio y sus efectos en la salud reproductiva

El Cd es un metal pesado, considerado un contaminante ambiental producto de las actividades antropogénicas (Satarug *et al*., 2010) al que estamos expuestos la mayoría de la población a través de actividades no ocupacionales que puede afectar las funciones reproductivas de humanos y animales. Las principales fuentes de exposición al Cd en la población en general son mediante productos alimenticios y cigarros [Unidad de Investigación Científica (UNICA), 2022]. Se han reportado concentraciones de 0.01 y 0.21 mg/kg de Cd en vegetales como la zanahoria y la papa, respectivamente (Radwan & Salama, 2006; Moreno *et al.*, 2016). Tiene una vida media biológica de 20 a 40 años y su acumulación es principalmente en el hígado, los riñones y órganos reproductivos (Arteaga *et al*., 2021). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010), la ingesta semanal tolerable de Cd es de 7 µg/kg de peso corporal. Sin embargo, la exposición a Cd a la que los seres humanos se encuentran es mucho mayor que la fijada como tolerable por la OMS. Así, mujeres en gestación pueden estar expuestas a Cd en cualquier momento, al igual que sus neonatos. Al respecto, se ha reportado una concentración de 0.34 ng/ml de Cd en suero sanguíneo de mujeres embarazadas y de 0.17 ng/mg en niños que viven en la Ciudad de México (Lewis *et al.* 2018). Estas concentraciones pueden depender de la ingesta de alimentos o exposición ambiental. Así mismo, se ha reportado que una exposición gestacional tiene efectos sobre el desarrollo del tracto reproductivo de ratas macho y puede inducir criptorquidia, hipospadias e infertilidad en la etapa adulta (Siu *et al.,* 2009).

2.2 Mecanismo de acción del Cd

El Cd tiene varias vías de entrada al organismo, las principales son la inhalación de polvo, gases e ingesta por agua y alimentos contaminados. Una vez que el Cd se encuentra en el torrente sanguíneo, este es capaz de desplazar metales bivalentes con actividad fisiológica como el calcio (Ca^{+2}), zinc (Zn^{+2}) y hierro (Fe^{+2}). El Cd ingresa a la célula por medio de transportadores de membrana involucrados en el

paso de estos cationes a las células a través del mimetismo iónico. Por lo que, los mecanismos responsables de su acumulación se deben a la competencia que el Cd genera con estos metales esenciales, siendo su principal entrada a través de los canales de Ca, debido a que el Ca y el Cd tienen un radio iónico y carga similar (Flores *et al*., 2012). Otra forma de entrada del Cd a la célula es a través del transportador de metales divalentes (DMT1) o por la proteína transportadora 8 relacionada a Zn y Fe (ZIP 8) (Arteaga- Silva *et al*., 2021). De esta manera, el Cd entra a la mitocondria, la cual promueve la disminución de la actividad de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GPx), catalasa, (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD), lo que conlleva a un aumento de radicales libres y aumento de los niveles de lipoperoxidación (LPO) que puede culminar en muerte celular por apoptosis (Zhang *et al*., 2010). Cuando el Cd ingresa a la célula se activan unas proteínas llamadas metalotioneinas (MTs), las cuales son proteínas de unión al Cd y actúan como protectores del daño oxidativo (Ejnik *et al*., 2010). También se ha reportado que otras proteínas que se inducen en respuesta a la exposición a Cd es la proteína de choque térmico 70 (Hsp 70, por sus siglas en inglés) que se activa rápidamente en respuesta al estrés y tiene una gran importancia en la protección y tolerancia del Cd (Selim *et al*., 2012). (Figura 4).

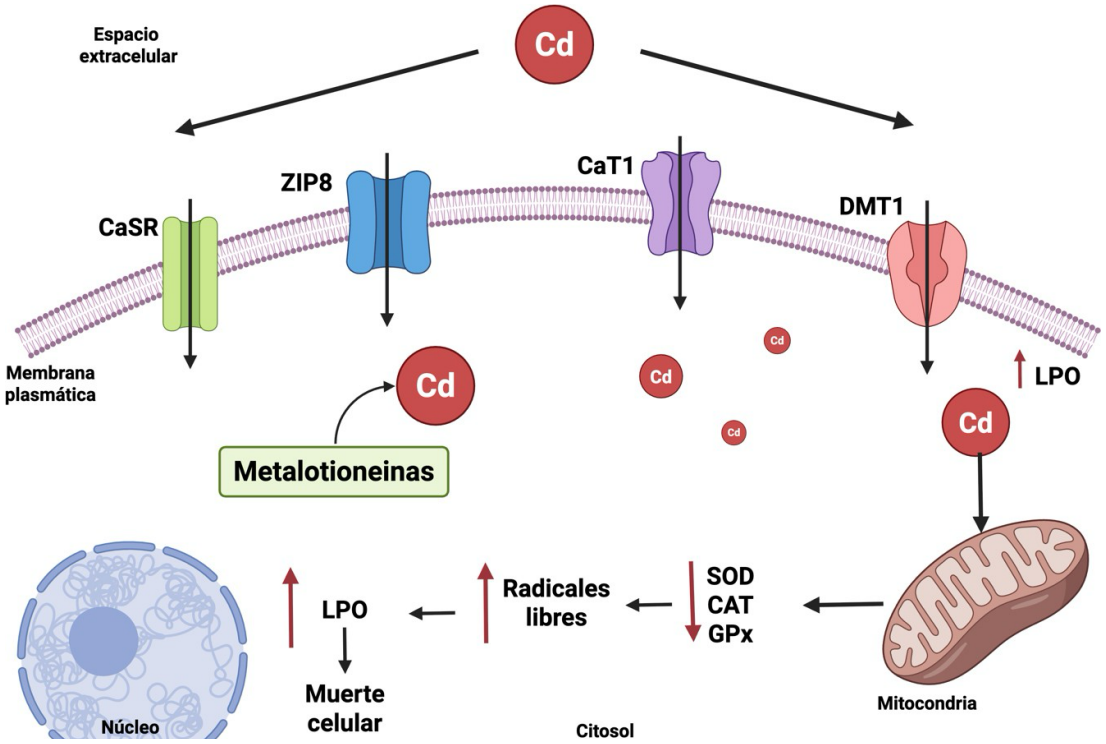


Figura 4. Efectos del Cd a nivel celular. Las principales vías de ingreso a la célula son a través de los canales de Ca y Zn, principalmente ZIP 8 y CaT1. De esta manera el Cd ingresa a la mitocondria disminuyendo la actividad de las enzimas antioxidantes provocando un aumento de lipoperoxidación lo que conlleva a la célula a muerte por apoptosis o necrosis. LPO= Lipoperoxidación, SOD= Super óxido dismutasa, CAT= Catalasa, CaSR=Receptor sensor del Calcio, ZIP8=Proteína transportadora de Zinc 8, CaT1= Transportador de Calcio 1, DMT1= Transportador de metales divalentes 1. Realizado en BioRender.

2.3 Flutamida y sus efectos en la salud reproductiva

La FMDA se utiliza principalmente en el tratamiento del cáncer de próstata, ya que compite con la T y con la DHT por el mismo sitio de unión en el RA, bloqueando así la activación del receptor. Al inducir este antagonismo se disminuye la proliferación del tumor. Una vez que la FMDA se une al RA, impide la translocación del complejo RA al núcleo de la célula, reduciendo la expresión de genes dependientes de andrógenos (Figura 5) (Labrie, 1993). Al interferir con la actividad androgénica, la FMDA puede reducir el tamaño de los tumores prostáticos y controlar la progresión del cáncer. Esto es especialmente útil en combinación con tratamientos que reducen los niveles de T en el cuerpo, como la castración médica o quirúrgica (Nelson *et al.,* 2002).

Se ha reportado que uno de los efectos más significativos de la exposición a FMDA en la salud del organismo es la hepatotoxicidad, pues causa daño al hígado, que en casos graves puede llevar a hepatitis o fallo hepático, así como alteraciones hormonales (Goss *et al.,* 2000). También produce una serie de efectos reproductivos en los varones como la alteración en la espermatogénesis, hipospadias, daño en la morfología y función testicular (Yu *et al.,* 2020), así como ginecomastia ante una exposición gestacional (Fagerlund *et al.,* 2015). En mujeres la FMDA es utilizada para tratar el hiperandrogenismo y se ha visto que causa amenorrea o irregularidades en el ciclo menstrual e incluso alteraciones en la fertilidad (Lambros *et al.,* 2020). Aunque estos efectos están menos estudiados en comparación de los efectos en varones. La FMDA se ha empleado en investigación como un modelo de exposición a los DE (Guzmán & Zambrano, 2007).

2.4 Mecanismo de acción de la flutamida

La FMDA es un antiandrógeno no esteroideo, que actúa inhibiendo de forma competitiva la unión de los andrógenos a su receptor, bloqueando así su acción (Godspiel & Kohler, 1990).

El mecanismo de acción de los andrógenos se realiza a través de la unión a los RA, que son proteínas nucleares que actúan como factores de transcripción. Cuando los andrógenos como T o la DHT se unen al RA, el complejo hormona-receptor se transloca al núcleo celular, donde se une a secuencias específicas de ADN denominadas elementos de respuesta a andrógenos. Esta unión promueve la transcripción de genes específicos que son responsables de la diferenciación y desarrollo de características masculinas (Heinlein & Chang, 2002). En este sentido, la FMDA actúa como antagonista de los RA. Se une a los receptores del citoplasma de las células blanco (Tait *et al.,* 1988). Al bloquear esta unión se impide la activación del complejo andrógeno-receptor inhibiendo así la transcripción de genes mediados por andrógenos (Gao *et al.,* 2020), lo que conlleva a una reducción de la proliferación de células sensibles a andrógenos.

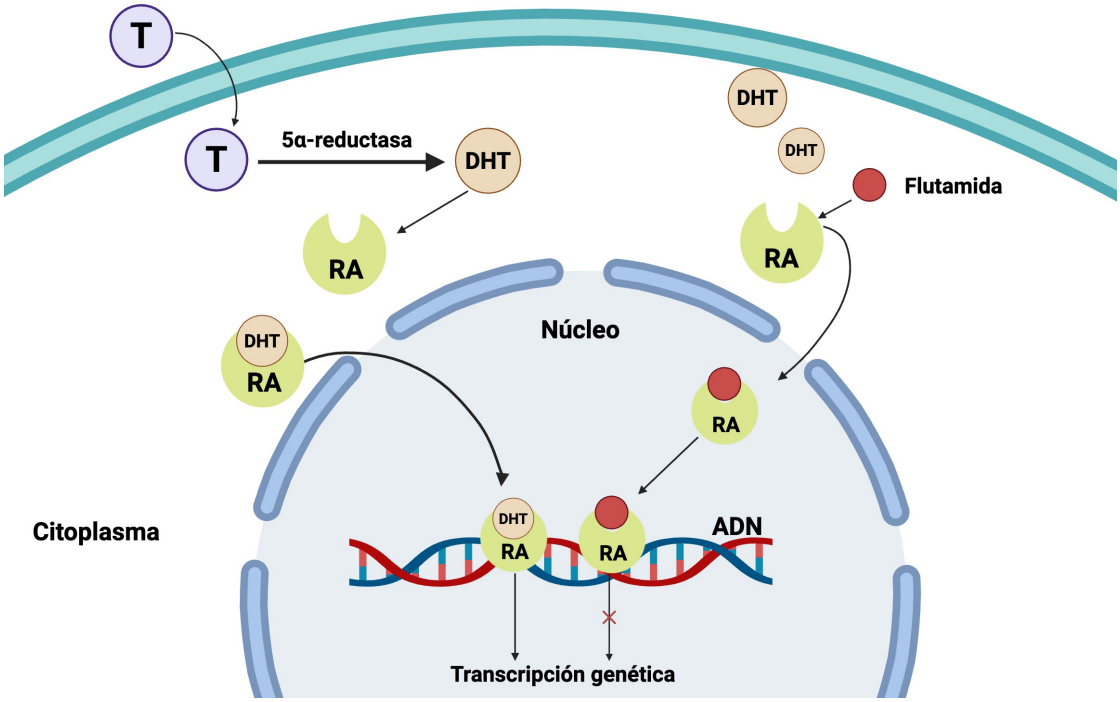


Figura 5. Mecanismo de acción de la FMDA en la célula. La FMDA se une de modo competitivo a los RA impidiendo que los andrógenos se unan. Al inducir este bloqueo se impide la activación del complejo andrógeno-receptor inhibiendo así la transcripción de genes mediados por andrógenos. Realizado en: BioRender.

2.5 Retención del pezón (RP)

La RP es el proceso que se da de manera natural en los varones y se utiliza para detectar la antiandrogenicidad por compuestos con capacidad de DE. Este mecanismo de RP se genera debido a que en la etapa gestacional el mesénquima del epitelio mamario de embriones masculinos expresan RA y hay una mayor sensibilidad a la T, lo que conduce a una condensación irreversible del mesénquima alrededor de la yema mamaria que posteriormente origina la degeneración del epitelio. La interacción con la epidermis y el mesénquima provoca que la mayoría de las células epiteliales de la yema mamaria masculina entran en apoptosis promoviendo la RP en el DG 16. Al respecto, se ha descrito que el mecanismo que puede conducir a un desarrollo de pezón es a través de la reducción de la señalización de andrógenos, estos incluyen la esteroidogénesis interrumpida por la inhibición de la 5α-reductasa que evitará la conversión de T en el metabolito DHT y por consiguiente no se une al RA (Figura 6) (Christiansen *et al.*, 2020). Por lo tanto, los DE en hembras gestantes pueden tener efectos adversos y propiciar una

alteración en la RP y en el desarrollo de la GM en la descendencia masculina puede repercutir en la masculinización y vida adulta del individuo.

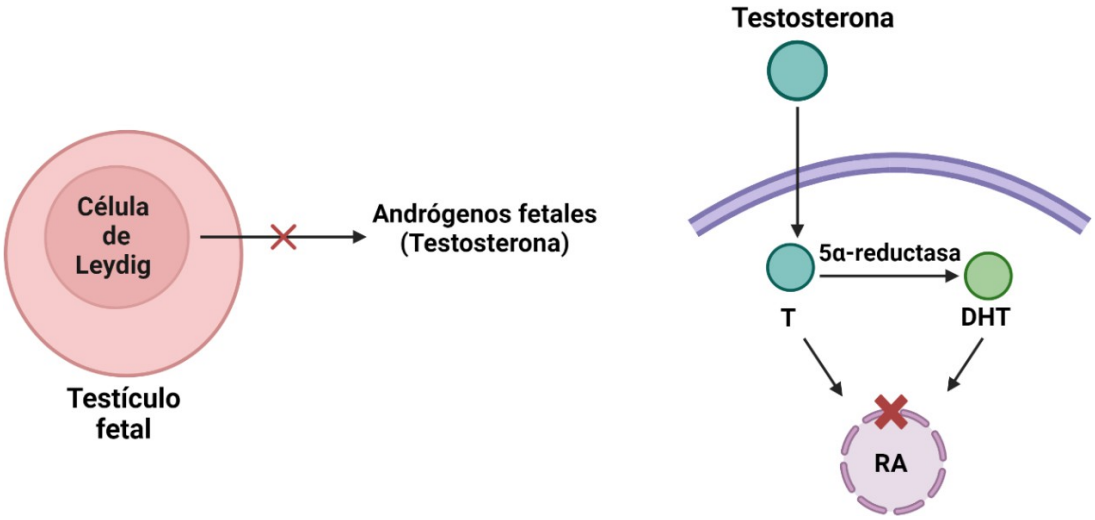


Figura 6. Alteración en la señalización androgénica. La señalización de andrógenos puede alterarse a través de: 1) la producción de andrógenos por los testículos fetales, 2) la conversión en DHT por la acción de la enzima 5α-reductasa y/o 3) los receptores de andrógenos (RAs). Tomado y modificado de: Welsh *et al*., 2014. Realizado en: BioRender.

2.6 Ginecomastia

La GM masculina y sus patologías asociadas permanecen en gran medida sin estudiar. Una de ellas es la ginecomastia, la cual consiste en el aumento benigno de la mama en hombres debido a la proliferación del epitelio ductal o estromal y la pseudo- ginecomastia referida como el aumento del tejido adiposo. Estas alteraciones de la GM se consideran normales hasta que no se presenten síntomas como dolor, crecimiento rápido con un diámetro mayor de 4 cm o masa palpable, incluso cáncer de mama (Bonilla, 2021). Sin embargo, esta última patología se podría presentar si se presenta alguna condición genética como el síndrome de Klinefelter. Este desarrollo anormal del tejido mamario masculino que puede ser unilateral o bilateral, afectando no solo la apariencia física, sino que también puede tener un impacto en la autoestima y el bienestar emocional. Los mecanismos exactos que conducen al desarrollo de GM no están del todo dilucidados, pero se sugiere que un aumento de la relación estrógenos/andrógenos juega un papel importante (Lucas *et al.,* 2007; Narula & Carlson, 2014). El tejido mamario contiene RE y RA (Pelletier, 2000). La disminución de la acción de los andrógenos puede

ser el resultado de una deficiencia primaria o secundaria de T, pero también puede deberse a la insensibilidad del RA (Lucas *et al.,* 2007).

Puede ser causada por un desequilibrio entre los andrógenos y los estrógenos, donde las concentraciones de estrógenos son relativamente más altos en comparación con los andrógenos. La exposición a químicos con cierta actividad agonista estrogénica o una disminución en la concentración de andrógenos libres son otras de las posibles causas (Barrantes, 2016).

La incidencia de la ginecomastia se reporta de un 60 a 90 % en etapa neonatal, 50 a 60 % en la pubertad y 70 % en edades avanzadas (Gottlieb *et al.,* 2015). Estos datos reflejan la variabilidad en la incidencia a nivel mundial influencia por factores como la edad, cambios hormonales y las condiciones ambientales. Se ha referido de un 25% de origen idiopática, de 10 a 20 % para la generada por fármacos, 8% por cirrosis o malnutrición, 8 % por hipogonadismo primario, 3% debido a tumores, 2 % por hipogonadismo hipofisiario, 1.5 % al hipertiroidismo y 1 % por enfermedad renal. La prevalencia reportada de ginecomastia en la pubertad puede surgir de una amplia gama de condiciones patológicas como la falla gonadal primaria en el síndrome de Klinefelter, anorquia congénita, insuficiencia gonadal secundaria en el eje hipotálamo-hipófisis, tumores productores de hormona gonadotropina coriónica humana (hCG). Además de defectos en la síntesis de andrógenos por exposición a fármacos en donde se ve alterada la proporción de estrógenos/andrógenos séricos (Berger et al., 2022).

Su incidencia varía ampliamente según la edad y otros factores ambientales, se estima que afecta hasta el 65% de los adolescentes durante la pubertad y entre el 30 % y el 70 % de los hombres mayores (Nordt & DiVasta, 2008). Normalmente la ginecomastia es el resultado de un desbalance hormonal entre andrógenos y estrógenos (Luis *et al*., 2001). La prevalencia de esta condición incrementa en la edad avanzada por la disminución en las concentraciones de T y otros cambios hormonales asociados con el envejecimiento (Braunstein, 2007). Aunque en la mayoría de los casos no supone un riesgo para la salud, la ginecomastia puede ocasionar angustia emocional y malestar físico, generando así deficiencias psicológicas como la depresión, ansiedad, baja autoestima, confusión de identidad,

trastornos alimentarios y fobia social. Todas estas debido a la imagen corporal alterada por la GM (Berger *et al.*, 2022).

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, múltiples compuestos de uso común han sido identificados como posibles DE, capaces de alterar el equilibrio hormonal del organismo. Entre ellos, el Cd, un metal pesado con amplia presencia ambiental, y la FMDA, un fármaco antiandrógeno, que se destaca por sus efectos sobre la diferenciación sexual. La exposición a estos compuestos durante periodos críticos del desarrollo, como la VM puede inducir alteraciones reproductivas entre ellas, el desarrollo anómalo del tejido mamario masculino. Pese a la creciente evidencia sobre los efectos de los DE, el impacto especifico de la exposición prenatal al Cd sobre la morfogénesis de la GM en machos no ha sido ampliamente elucidado. Por el contrario, la FMDA ha sido ampliamente utilizada como modelo de referencia debido a su conocida acción antiandrogénica. Estudiar y comparar los efectos de ambos compuestos es fundamental para comprender los mecanismos mediante los cuales los DE alteran el desarrollo mamario masculino y para establecer biomarcadores tempranos de disrupción endocrina. Este proyecto busca aportar evidencia experimental relevante que permita ampliar el conocimiento sobre la susceptibilidad de la GM masculina frente a la exposición gestacional a DE, con implicaciones tanto en la salud pública como en la regulación de sustancias químicas con potencial disruptor hormonal.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál será el efecto de la exposición a cadmio y flutamida durante la ventana de masculinización en el desarrollo de la glándula mamaria de la descendencia masculina de la rata?

5. HIPÓTESIS

La exposición a cadmio y flutamida en la ventana de masculinización inducirá el desarrollo de la glándula mamaria en la descendencia masculina de la rata.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivos generales

- Determinar si la exposición a cadmio y flutamida en la ventana de masculinización induce el desarrollo de la glándula mamaria en la descendencia masculina de la rata.
- Analizar el desarrollo de la glándula mamaria en distintas etapas postnatales en ratas macho expuestas a cadmio y ratas macho expuestas a flutamida durante la ventana de masculinización.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

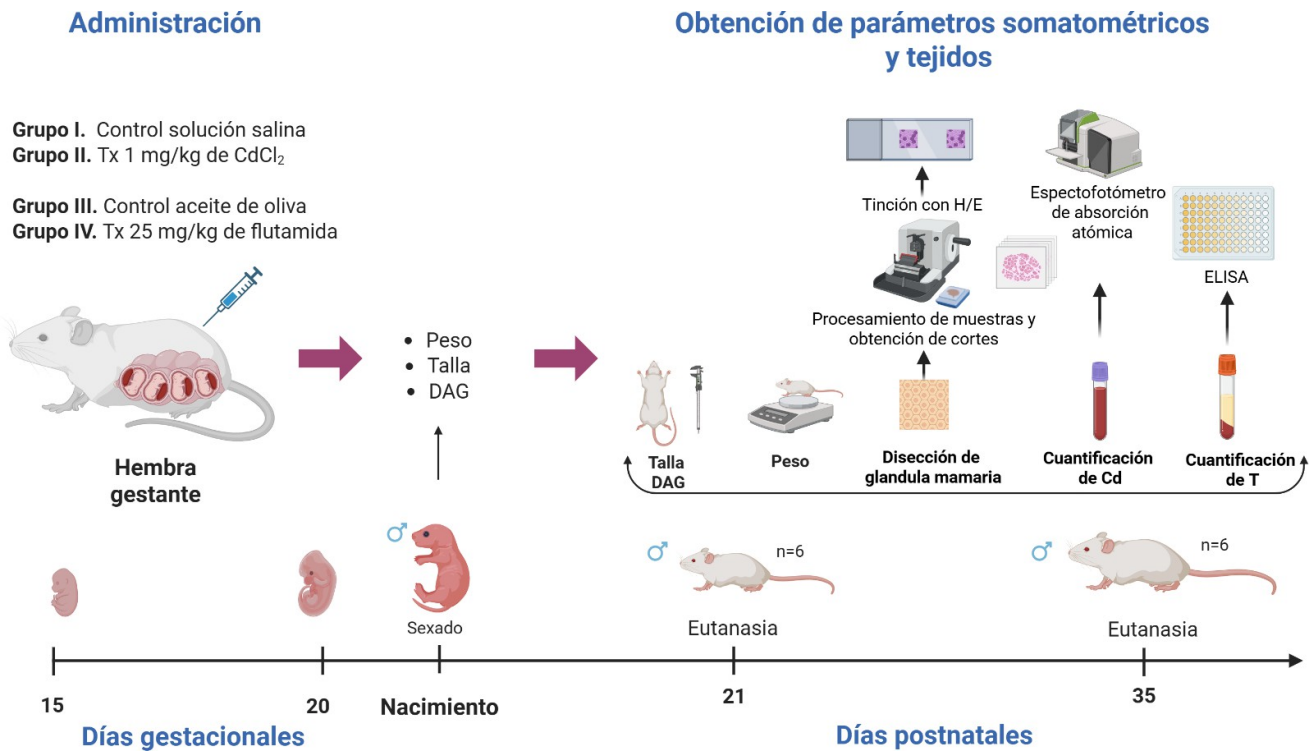


Figura 7. Diseño experimental. Se formaron cuatro grupos de ratas hembras Wistar gestantes, dos controles (solución salina y aceite de oliva) y dos tratados (Cd y FMDA) las cuales fueron administrados del 15 al 20 DG. Al nacimiento se realizó sexado de las crías y se registraron el peso, la talla y la DAG de los machos. Posteriormente a los 21 y 35 DPN se evaluaron parámetros somatométricos, (peso, talla y DAG), se tomaron muestras de sangre para cuantificación de Cd y de suero para cuantificación de T. Así como obtención de tejido mamario para análisis histológico.

8. METODOLOGÍA

8.1 Modelo de estudio

Se utilizaron 12 ratas hembra Wistar provenientes del Bioterio de la Universidad UAM-I, de cuatro meses de edad, las cuales previamente tuvieron un parto (asegurando así su fertilidad y experiencia materna), con un peso de 250 a 300 g. Una vez que se dio la copula y se observó que los machos presentaron tres eyaculaciones, se revisó la presencia del tapón vaginal y de esta manera se aseguró la preñez. A este día se le designó como día gestacional cero (DG 0). Las hembras gestantes fueron colocadas individualmente en cajas, bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12:12 horas (con luz encendida de 8:00 a 20:00 h) a una temperatura constante de 24 °C y acceso libre a comida y agua.

Todos los procedimientos experimentales se realizaron conforme a los lineamientos éticos para la investigación, la docencia y la difusión en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM-I. Las actividades con animales fueron aprobadas por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales del Bioterio de la UAM (aprobación CECBS22-15, emitida el 14 de diciembre de 2022) y se llevaron a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, específicamente en lo referente a las técnicas de producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

8.2 Administración prenatal de Cd y flutamida

Las hembras se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos:

Grupo I: Control Cd se administró i.p. con solución salina (SS).

Grupo II: Cadmio se administró i.p. con 1 mg/kg de cloruro de cadmio ($CdCl_2$) en un volumen de inyección de 100 µL.

Grupo III: Control FMDA se administró vía s.c. con aceite de oliva.

Grupo IV: FMDA se administró vía s.c. con 25 mg/kg de flutamida diluida en etanol al 5% y aceite de oliva, en un volumen de inyección entre 200 y 400 µL conforme el peso corporal de la hembra gestante.

Todas las administraciones se realizaron entre los 15 a 20 DG. Las hembras fueron

monitoreadas diariamente, para tener registro de la hora y fecha del nacimiento de las crías. Al nacimiento de las crías se hizo el conteo del número de hembras y machos nacidos por camada. El día del nacimiento, fue registrado como día postnatal 0 (DPN 0), este día las crías fueron sexadas y separados los machos de las hembras. Asimismo, se tomaron los índices morfométricos: peso, talla y distancia anogenital (DAG) hasta el día 35. También se observó, el descenso testicular (DT) dando un seguimiento cronológico para determinar el momento en el cual los testículos alcanzan su posición definitiva en las bolsas escrotales. Por otro lado, se documentó la retención del pezón (RP) monitoreando la presencia de pezones en los machos, lo cual podría indicar una alteración de la diferenciación sexual determinada por los andrógenos durante el periodo gestacional. En el DPN 21 todos los machos fueron destetados y colocados en jaulas colectivas, bajo las mismas condiciones descritas para las hembras gestantes, para continuar su monitoreo hasta los 35 DPN.

Cuando los sujetos cumplieron 21 y 35 DPN se les aplicó eutanasia bajo anestesia con una combinación de ketamina (80 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg), administradas por vía i.p. De cada uno de los sujetos de todos los grupos, se colectó la sangre, por punción cardíaca para obtener suero y cuantificar la concentración de T por ELISA y de la sangre cuantificar Cd. La evaluación de la RP se realizó cualitativamente mediante la observación de la línea mamaria, comparando con la disposición anatómica de la línea mamaria en una hembra de la misma edad sirviendo como referencia para identificar la presencia de estructuras mamarias visibles en los machos. La disección de la GM de la región derecha se utilizó para el análisis histológico mientras que la de la región izquierda se utilizó para el análisis de la bioacumulación de Cd por medio de espectrofotometría de absorción atómica.

8.3 Disección de la glándula mamaria y evaluación histológica mediante la tinción Hematoxilina Eosina

Todos los machos fueron rasurados en el área abdominal para exponer los pezones desarrollados. Los pezones desarrollados junto con el tejido mamario de la parte inguinal fueron disectados y se fijaron en paraformaldehído al 4 % durante 24 h. El

tejido se lavó con PBS y se procesó en un histoquinette con concentraciones crecientes de etanol, aclaramiento con xileno y dos cambios de parafina para su inclusión. Una vez incluidas las muestras se realizaron cortes de 5 µm de grosor con un microtomo rotatorio, se montaron en portaobjetos gelatinizados y se tiñeron con hematoxilina y eosina, finalmente se montaron con Entellan. El análisis histológico se realizó por microscopía de luz en un microscopio a un aumento de 10x acoplado a una cámara digital y se determinó la estructura del desarrollo mamario.

La evaluación morfométrica de la GM se realizó empleando el Sistema de Análisis de Imágenes Image Pro-Plus 5.0 en las crías macho mediante mediciones de cuatro parámetros de la GM los cuales fueron: invaginación, engrosamiento del epitelio, desarrollo del pezón y número de conductos en el área del estroma (Figura 8). Para la invaginación, la medición se tomó desde la base de la epidermis hasta la parte más distal de esta, para el engrosamiento del epitelio se consideró sólo en la parte apical del pezón (b), para la medición del pezón se realizó desde la base de este hasta la punta (a) y finalmente, para valorar el número de conductos se hizo el conteo de la parte del estroma en un área de 870 x 650 μm^2 (B). La evaluación se realizó sólo en aquellos cortes histológicos que cualitativamente se notaban diferentes significativamente en comparación con el grupo control a los 21 y 35 DPN del grupo con exposición a FMDA.

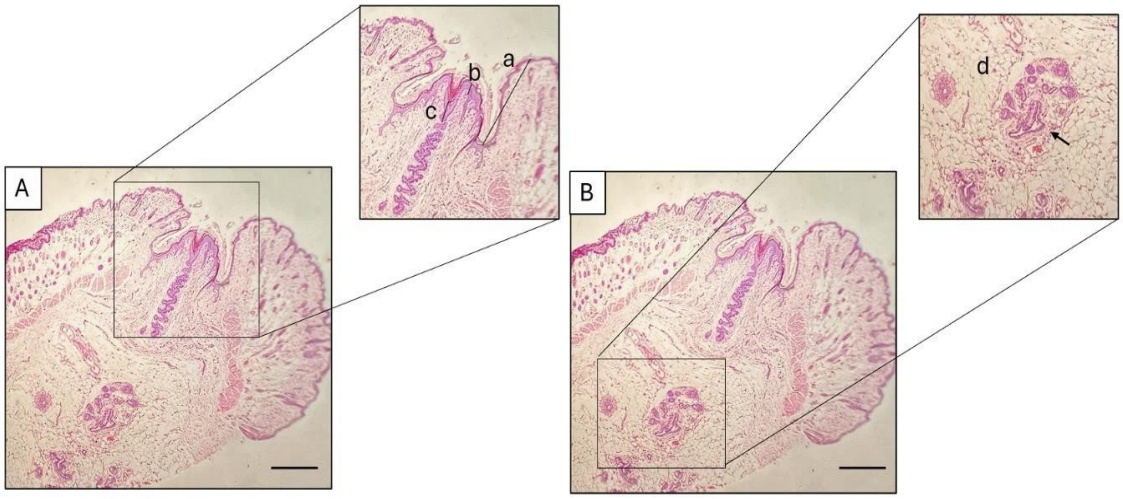


Figura 8. Evaluación histológica del desarrollo de GM en la descendencia. Corte histológico de GM de macho de 21 DPN expuesto durante la gestación a FMDA. A) Epitelio de la GM (a) invaginación, (b) engrosamiento del epitelio, (c) desarrollo del pezón. B) Estroma de la GM (d) conductos glandulares.

8.4 Determinación de la concentración de Cd en tejidos y sangre

Para determinar la concentración de Cd en tejidos y sangre de crías macho, se realizó eutanasia y se recolectaron aproximadamente 0.5 cm de hígado, riñón y GM además de 1 mL de sangre. Las muestras de tejido se colocaron en tubos de polipropileno libres de metales mientras que la sangre fue almacenada en tubos Vacutainer con EDTA. A cada muestra de tejido se le agregó ácido nítrico al 70 % con respecto al peso del tejido y se llevó a cabo la digestión de la muestra durante 7 días. Posteriormente, las muestras digeridas fueron diluidas: las correspondientes al grupo control en una proporción 1:20 (50 µL de la digestión y 950 µL de ácido de curva) y las del grupo tratado con $CdCl_2$ en una dilución de 1:50 con ácido de curva (20 µL de la digestión y 980 µL de ácido de curva). El análisis de las muestras se realizó mediante espectrofotómetría de absorción atómica utilizando un equipo Perkin-Elmer (Modelo AA Analyst 600; Norwalk, CT, USA) con horno de grafito (HGA-600) y un auto-muestreador.

8.5 Concentración de T en suero sanguíneo

La concentración de T se determinó mediante la técnica de ELISA, usando el kit comercial DRG® Free Testosterone EIA-2924, Estados Unidos. Este ensayo se basa en un principio de unión competitiva en el cual los pocillos están recubiertos con un anticuerpo especifico de la T. La T libre compite con un conjugado de T unida a peroxidasa de rábano picante para unirse al anticuerpo. Tras la incubación, se eliminó el conjugado no unido mediante lavados. La cantidad de conjugado que permanece unido es inversamente proporcional a la concentración de T de la muestra. Finalmente, se añadió la solución de sustrato y la intensidad del color generado que también es inversamente proporcional a la concentración de T libre. Se cuantificó mediante una curva estándar.

8.6 Análisis estadístico

Los datos se presentan como la media ± desviación estándar (SD). Para el análisis estadístico se aplicó un ANOVA de dos vías, seguido de una prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Tukey. Los análisis se llevaron a cabo con el software estadístico GraphPad Prism® Se consideraron diferencias estadísticamente significativas aquellas con un valor de $p < 0.05$.

9. RESULTADOS

9.1 Evaluación de los parámetros somatométricos de las crías macho

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso corporal del grupo tratado con Cd cuando se comparó con su grupo control. Estas diferencias fueron evidentes a los 21 y los 35 DPN en el grupo con Cd. Esto indica que la exposición al Cd tuvo efecto sobre el crecimiento corporal, afectando negativamente estas etapas tempranas de desarrollo. En cuanto al grupo expuesto a FMDA no se encontraron diferencias significativas en el peso respecto al grupo control en la primera edad analizada. Sin embargo, se observó diferencia significativa en el grupo de mayor edad, a los 35 DPN en comparación con su control. Los animales del grupo control tuvieron un peso corporal adecuado a su edad, esto para ambos tratamientos (Figura 9).

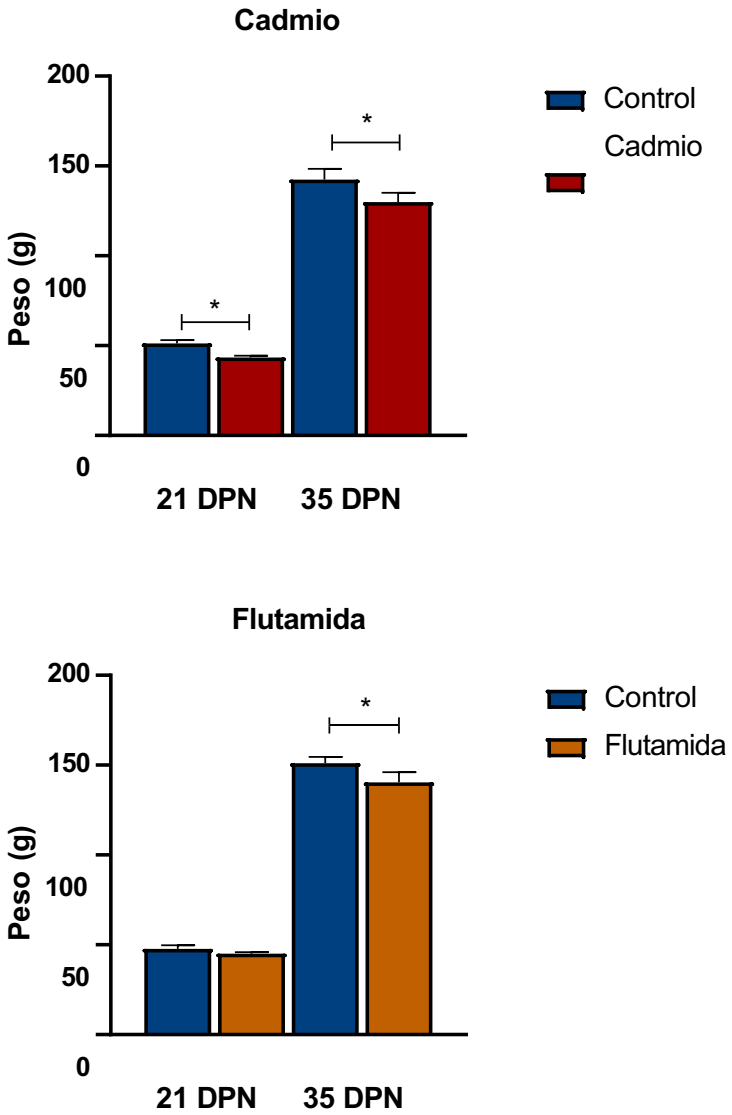


Figura 9. Peso corporal de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN. Cada columna muestra la media ± desviación estándar (x ± SD), n=6. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$

En relación con la talla corporal no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las edades evaluadas, tanto a los 21 como a los 35 DPN, en el grupo con exposición a Cd, esto al compararlos con su respectivo grupo control. Esto sugiere que, a diferencia del peso corporal, la exposición a Cd no tuvo un impacto evidente sobre la longitud corporal de los animales durante el periodo analizado, al menos en las condiciones y dosis del presente estudio. Por el contrario, en el grupo tratado con FMDA, se observó una diferencia significativa en la talla corporal, pero únicamente a los 35 DPN. Es decir, los animales de esta edad presentaron una longitud corporal menor en comparación con su grupo control. Esta diferencia no se evidenció en la etapa más temprana, a los 21 DPN (Figura 10).

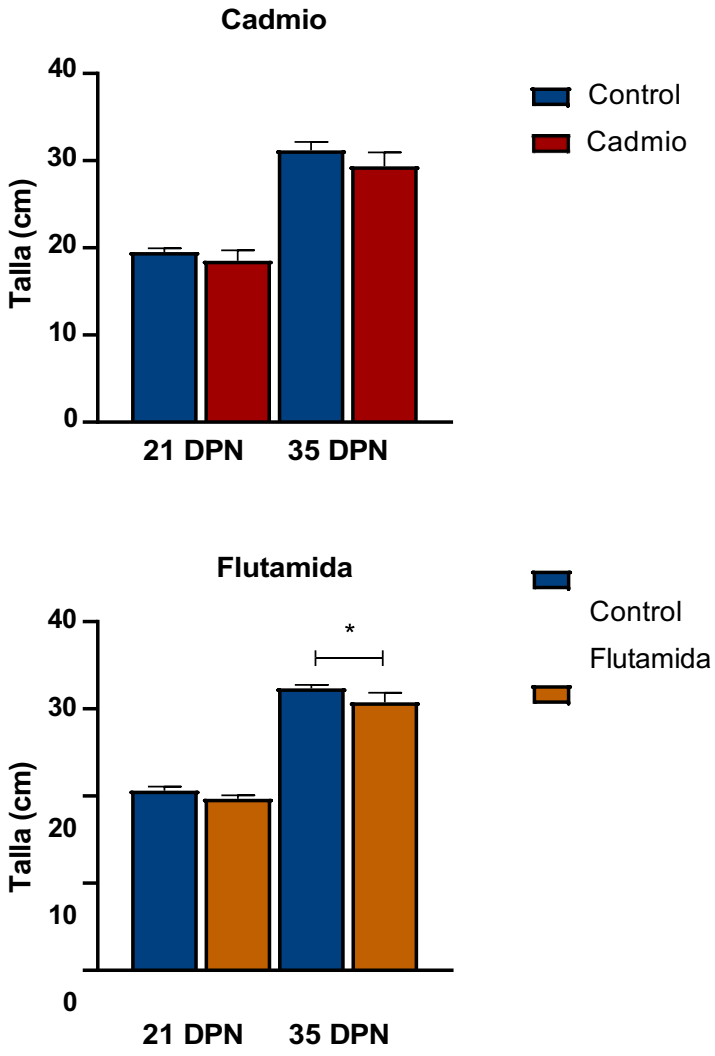


Figura 10. Talla corporal de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$.

Al analizar el efecto del Cd y la FMDA sobre la DAG, se observaron diferencias significativas en comparación con los grupos control. Estas diferencias fueron evidentes a los 21 DPN con una reducción tanto en el grupo expuesto a Cd como en el grupo tratado con FMDA. Esta disminución persistió únicamente en el grupo con exposición a FMDA a los 35 DPN, indicando un efecto sostenido en comparación con el Cd (Figura 11).

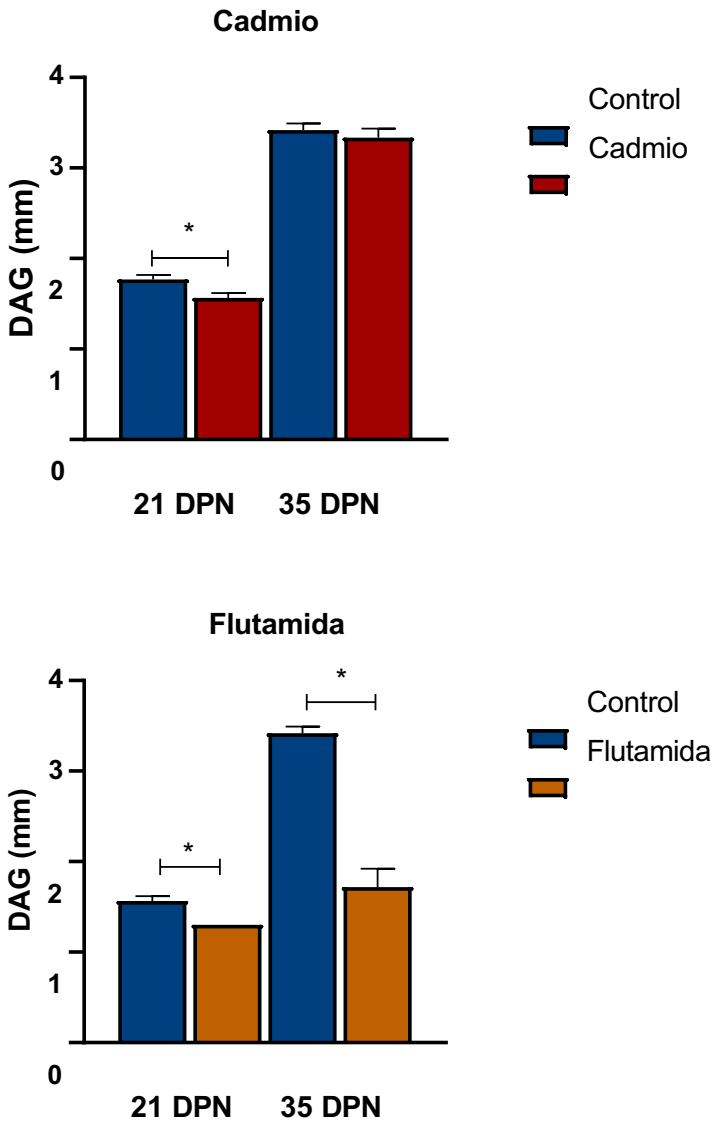


Figura 11. Distancia anogenital (DAG) de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$.

9.2 Evaluación de las concentraciones séricas de testosterona

En relación con los efectos del Cd y de la FMDA sobre las concentraciones séricas de T, los resultados obtenidos muestran una disminución de esta hormona en los grupos experimentales, particularmente a los 35 DPN en donde se observó una reducción significativa en comparación con el grupo control, para el grupo tratado con Cd y el grupo de FMDA. Por otro lado, a los 21 DPN no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de T entre los grupos experimentales y su respectivo grupo control (Figura 12).

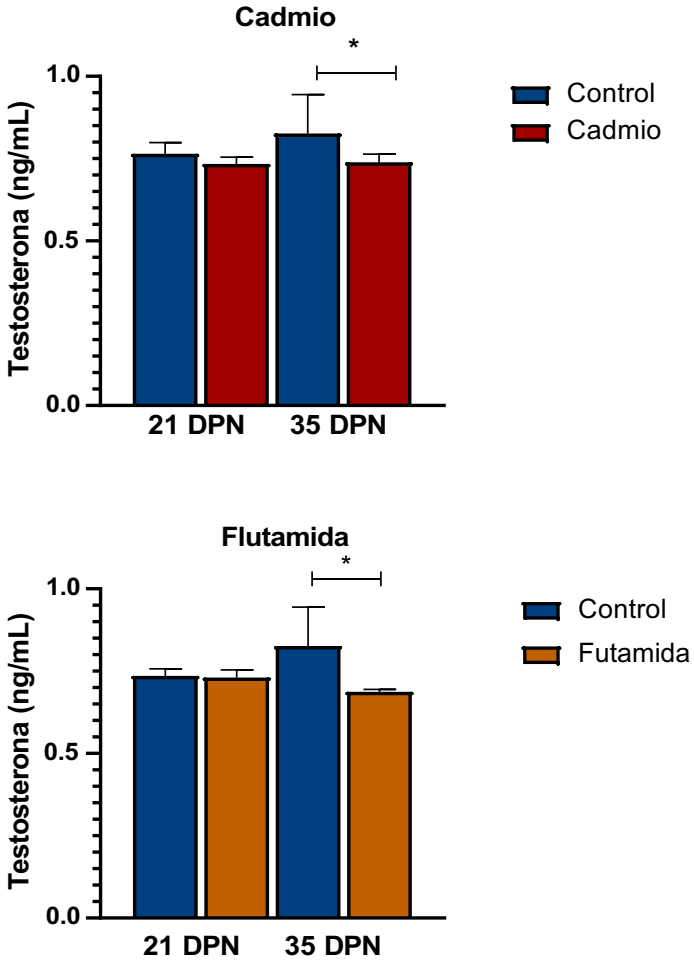


Figura 12. Concentraciones séricas de testosterona de ratas tratadas con Cd y FMDA a los 21 y 35 DPN. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$.

9.3 Evaluación de las concentraciones de Cd en hígado, riñón, glándula mamaria (GM) y sangre

Al analizar las concentraciones de Cd en los distintos tejidos evaluados; hígado, riñón y GM se observó una distribución según el tipo de tejido y la etapa evaluada. A los 21 DPN, se observó una mayor acumulación de Cd en el hígado seguido del riñón mientras que en la GM las concentraciones son notablemente menores. A los 35 DPN, se observó una disminución general en la concentración de Cd en los tejidos comparada con los niveles del DPN 21. Sin embargo, los niveles de Cd en hígado y riñón siguen siendo significativamente mayores en comparación con sus respectivos controles. Esto indica que el hígado actúa como el órgano principal de almacenamiento de metales pesados en etapas tempranas. En el caso de la GM, aunque su acumulación es significativamente menor que los otros órganos, se observa una diferencia respecto al grupo control (Figura 13).

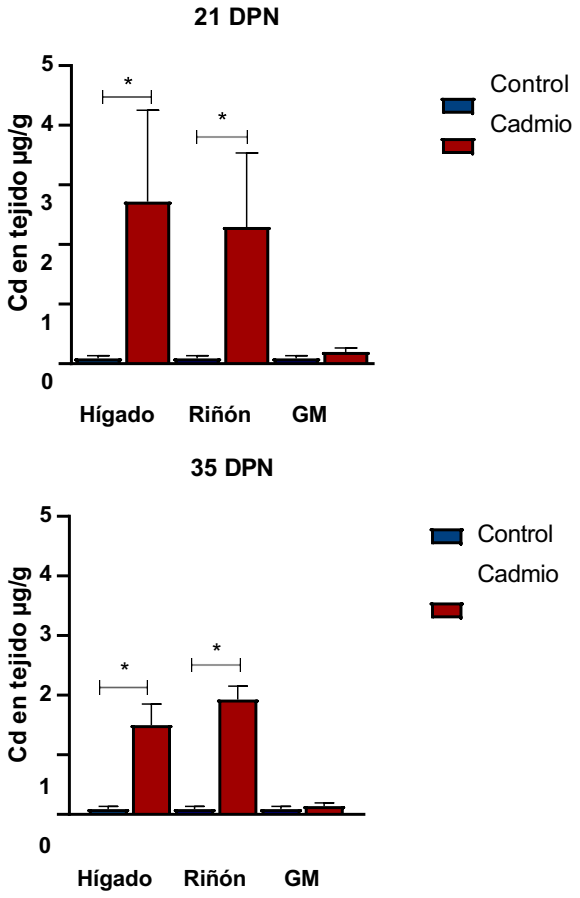


Figura 13. Concentraciones de Cd en hígado, riñón y GM a los 21 y 35 DPN. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$

Al comparar las concentraciones de Cd en sangre con el grupo control se observó una diferencia significativa en las dos edades evaluadas. Hubo una notoria acumulación de Cd en las dos edades evaluadas, a los 21 y 35 DPN. Sin embargo, al comparar entre las dos edades evaluadas, se observó una disminución clara de los niveles de este metal a los 35 DPN. Esta disminución fue notoria conforme avanzaba el desarrollo del organismo. Esto podría deberse al mecanismo fisiológico de distribución y/o eliminación del Cd en el organismo (Figura 14).

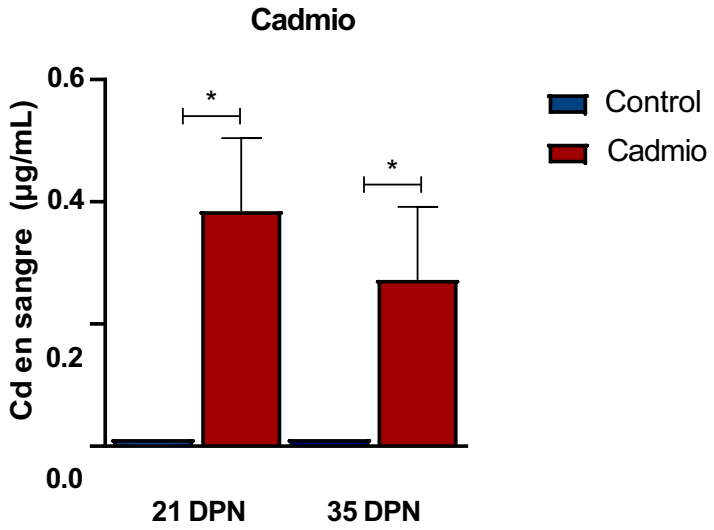


Figura 14. Concentraciones de Cd en sangre a los 21 y 35 DPN. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías, seguido de una prueba post hoc de comparaciones múltiples de Tukey. Se consideraron diferencias significativas aquellas con * $p < 0.05$.

9.4 Evaluación histológica del desarrollo de la glándula mamaria (GM) de las crías macho

Al realizar una evaluación histológica sobre el desarrollo de la GM en crías macho expuestas prenatalmente al Cd, se observaron alteraciones morfológicas a los 21 DPN que sugieren un ligero desarrollo de conductos glandulares en comparación con el grupo control (Figura 15). Por otro lado, el grupo expuesto a FMDA mostro un desarrollo mucho más evidente tanto a los 21 como a los 35 DPN. Se identifican características similares al desarrollo mamario femenino como la invaginación de la epidermis hacia el mesénquima mamario, la formación de conductos epiteliales bien definidos y la bifurcación de la epidermis que dio origen a la formación del pezón (Figura 16). Este desarrollo fue más evidente a los 35 DPN, etapa en la que se observó el desarrollo del pezón más definido, lo que indica que los efectos de la FMDA pueden permanecer y modular el desarrollo tisular más allá de las primeras etapas postnatales. Al comparar las mediciones morfométricas de las distintas estructuras glandulares (invaginación, grosor del epitelio, desarrollo del pezón y número de conductos) (Figura 17), se encontró que, si bien el desarrollo ductal y la formación del pezón fueron más notorios a los 35 DPN, el grosor del epitelio fue mayor a los 21 DPN. Esto podría deberse a que previo al desarrollo del pezón hay un desarrollo proliferativo intenso, seguida de la diferenciación estructural del pezón.

En particular, la FMDA evidencia cómo el bloqueo de los RA puede desencadenar un desarrollo mamario en machos, mientras que el Cd aunque en menor grado, también parece ejercer un efecto sobre el desarrollo mamario.

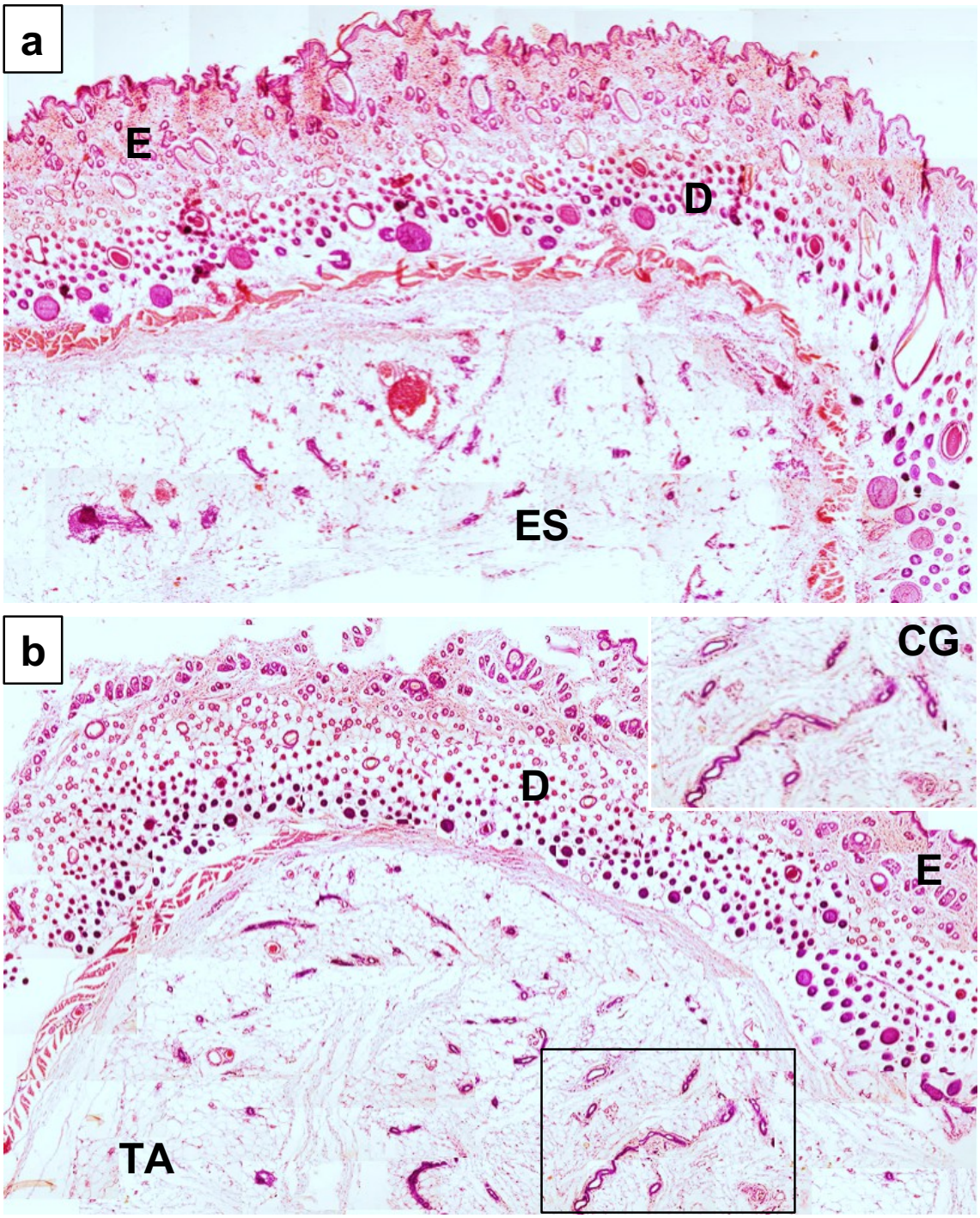


Figura 15. Imágenes histológicas representativas que muestran el efecto de la exposición prenatal de ratas macho al Cd sobre el desarrollo de la GM a los 21 DPN. **a)** Corresponde al grupo control, se observa una epidermis (E) bien definida, una dermis (D) compacta y el estroma (ES) predominado por tejido adiposo (TA), sin presencia de estructuras glandulares en la región estromal. **b)** Corresponde al grupo expuesto a Cd, se observa un desarrollo escaso de conductos glandulares (CG) en la región estromal lo cual indica una posible alteración del desarrollo glandular. Tinción con Hematoxilina y Eosina (10x).

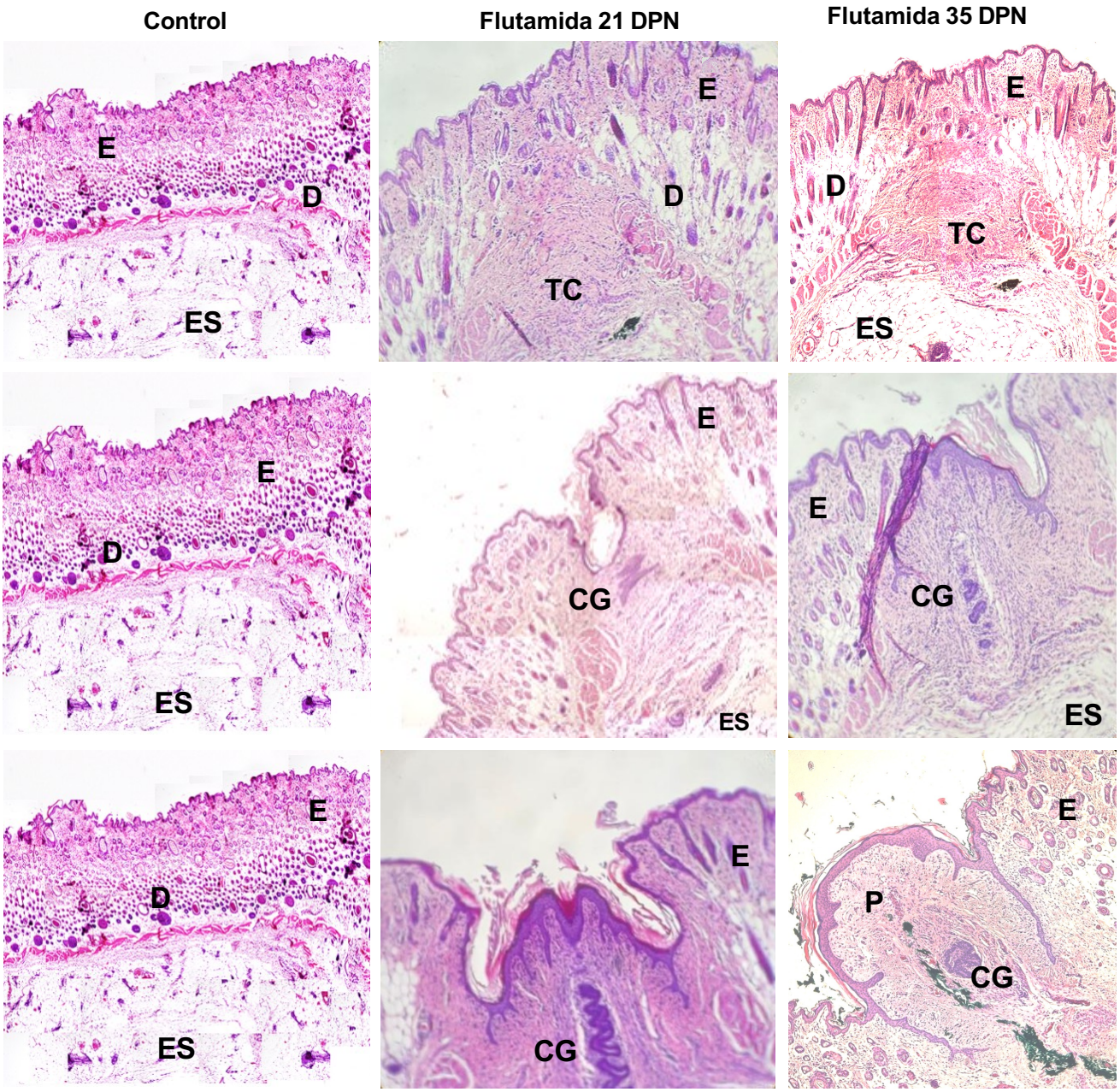


Figura 16. Cortes histológicos representativos que muestran el efecto de la exposición prenatal de ratas macho a FMDA sobre el desarrollo de la GM a los 21 y 35 DPN. En el grupo control se distingue la epidermis (E), dermis (D) el tejido conjuntivo (TC) y el estroma (ES), sin evidencia de desarrollo de estructuras mamarias, lo cual es consistente con el fenotipo masculino normal. En contraste, los cortes de los grupos tratados con FMDA en ambas edades muestran modificaciones morfológicas significativas. A los 21 DPN, se observa la invaginación de la epidermis hacia el estroma, así como el inicio de la formación de los conductos glandulares (CG) que indican el previo desarrollo del pezón. Este desarrollo es más evidente a los 35 DPN, donde el desarrollo de conductos glandulares así como del pezón se observa con mayor claridad, lo que indica una feminización parcial ya que estas estructuras son típicamente ausentes en machos. Tinción con Hematoxilina y Eosina (10x).

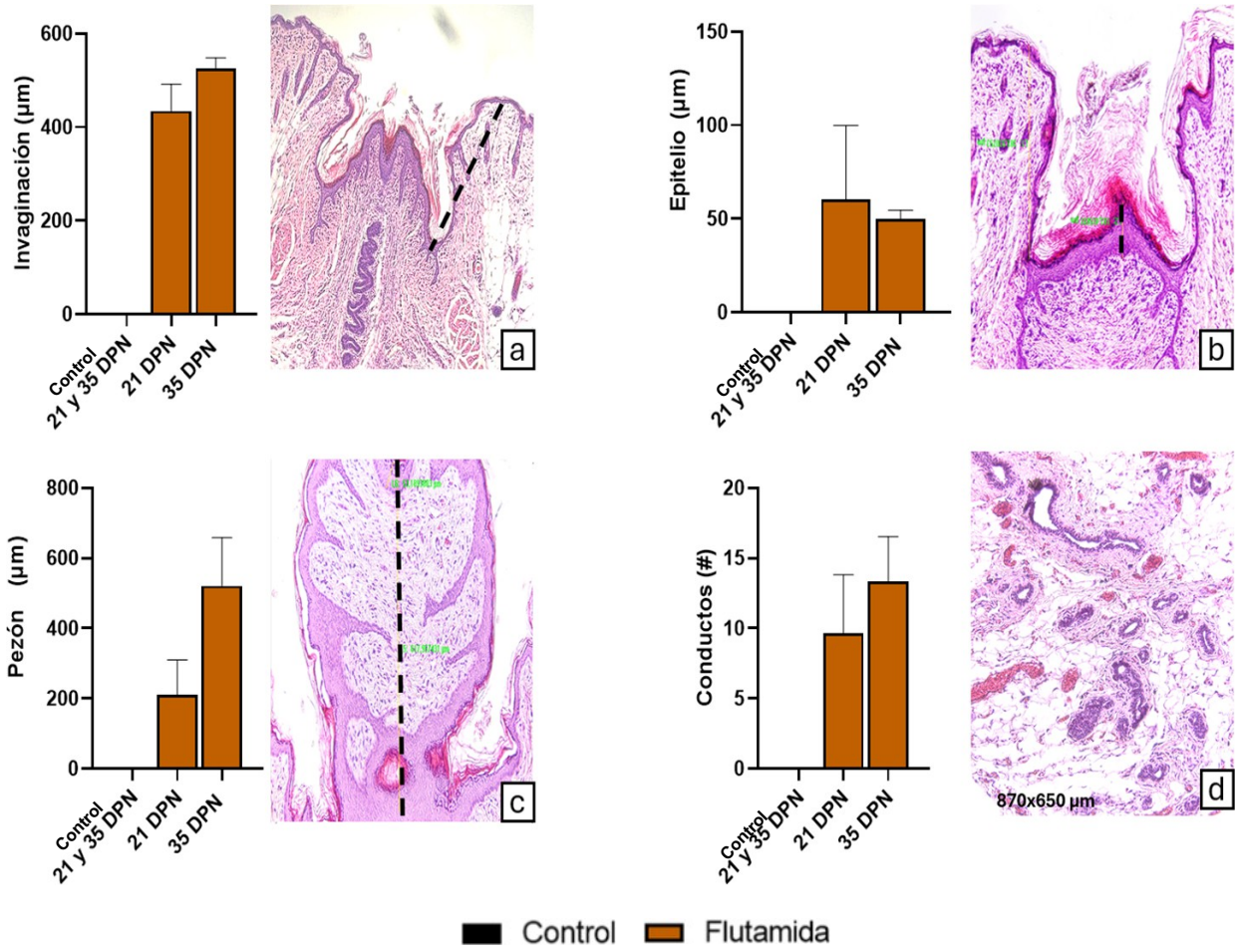


Figura 17. Mediciones morfométricas del desarrollo histológico de la glándula mamaria (GM) de ratas tratadas con FMDA a los 21 y 35 DPN. Cada gráfica representa un parámetro estructural asociado con el desarrollo mamario inducido por la acción anti androgénica de la flutamida. Los parámetros evaluados incluyen: **a)** grado de invaginación de la epidermis, **b)** grosor del epitelio glandular, **c)** grado del desarrollo del pezón y **d)** número total de conductos glandulares observados por campo. Tinción con Hematoxilina y Eosina. (a y b) 10x, (c y d) 40x.

10. DISCUSIÓN

La gestación es un periodo crucial para la diferenciación y el desarrollo normal del organismo. Durante este periodo la ventana de masculinización es de gran importancia para el desarrollo reproductivo normal en fetos masculinos. Se sabe que sí la exposición a andrógenos se reduce o bloquea durante este periodo se pueden presentar trastornos reproductivos en el nacimiento y en la edad adulta del organismo (Sharpe, 2020).

Este periodo, es altamente susceptible a sustancias químicas como los DE, ya que pueden interferir con la acción hormonal afectando el correcto desarrollo del organismo en distintas etapas de vida. La ventana más sensible en la cual pueden actuar estos compuestos es durante el desarrollo gestacional los cuales pueden tener un efecto duradero (Philippat *et al*., 2007) estos compuestos pueden afectar el desarrollo fetal tanto al inicio como al final de la gestación (Ohtani *et al.,* 2018). Por lo que, una exposición durante la gestación a DE puede desencadenar una serie de alteraciones en el tracto reproductor masculino dependiente de hormonas androgénicas, afectando así su diferenciación sexual.

En el presente trabajo se observó el peso, talla, distancia anogenital, concentración de Cd en tejidos, concentración de T y desarrollo de la GM a los 21 y 35 DPN en individuos tratados con Cd y en individuos tratados con FMDA durante la gestación. Estos compuestos son considerados DE ya que el Cd puede modificar la secreción de hormonas dependiendo de la concentración y del periodo en el que se expone el organismo mientras que la FMDA pertenece a una clase de compuestos denominados bloqueadores de los RA que inhiben de forma competitiva los ligandos naturales del RA (Zacharia, 2017).

Respecto al peso corporal, se observó una disminución en los grupos experimentales comparados con los grupos control, este parámetro fue más evidente en el grupo con exposición a Cd (Figura 9). Estos resultados son semejantes con los presentados por Couto *et al.,* en el 2009, quienes encontraron una disminución en la ganancia de peso corporal de las crías con exposición gestacional y neonatal a Cd a una dosis de 20 mg/kg, así como una reducción en la longitud corporal. En este estudio no encontramos diferencia significativa en la talla

corporal, esto podría deberse a que nuestro esquema de administración y la dosis fue menor.

El aumento del peso corporal podría estar relacionado con la ganancia de masa muscular, la cual es dependiente de la concentración de T ya que influye directamente en la síntesis de proteínas y por ende en el crecimiento muscular. El Cd puede afectar la síntesis de T interrumpiendo el desarrollo normal de las células de Leydig fetales reduciendo la expresión de enzimas esteroidogénicas clave, como CYP11A1 la cual es crucial al inicio de la esteroidogénesis, para la síntesis de esteroides, así como disminución de las enzimas 3β-HSD y CYP17A1 enzimas necesarias para la producción de T (Tian *et al.,* 2017). Los efectos en el peso antes mencionados también podrían deberse a que el Cd conduce a un aumento de estrés oxidativo disminuyendo las enzimas antioxidantes y generando especies reactivas de oxígeno lo que podría verse reflejado en muerte de células del músculo esquelético, promoviendo así un bajo peso en etapas postnatales (Boughammoura *et al.,* 2020).

La disminución del peso corporal en los animales del grupo de FMDA a los 35 DPN puede deberse a que la FMDA es un antiandrógeno que bloquea a los RA impidiendo la acción de la T y de la DHT, las cuales juegan un papel importante en la síntesis de proteínas musculares. La deficiencia de la unión de la T a su receptor puede alterar la síntesis de estas proteínas promoviendo la disminución de masa muscular repercutiendo en el bajo peso de la descendencia (Ghaibour *et al.,* 2023).

Con respecto a la DAG se observó una disminución significativa al 21 DPN en el grupo con exposición a Cd y a los 21 y 35 DPN en el grupo expuesto a FMDA al compararlos con el grupo control (Figura 11), lo que indica que la FMDA tiene mayor efecto en la diferenciación sexual masculina ya que la DAG es un biomarcador de masculinización. Nuestros resultados son similares a los reportados por Pallarés en el 2013, quienes demostraron que la exposición prenatal a FMDA en crías macho, desarrollan una disminución en la DAG asociadas a anomalías en el pene (hipospadias) y en el descenso testicular. En el presente trabajo observamos efectos en el descenso testicular, algunos individuos desarrollaron criptorquidia unilateral (datos no mostrados). Las alteraciones observadas en la diferenciación

sexual pueden asociarse con alteraciones en la síntesis de andrógenos o en su función, diversos antecedentes han demostrado que la inhibición de la acción androgénica durante las etapas críticas del desarrollo sexual altera la morfología de los genitales externos de machos (Caso *et al*., 2003).

Esta DAG disminuida en machos se mantuvo similar a la de las hembras al menos hasta los 35 DPN. Sin embargo, otros estudios mencionan que este parámetro se observó significativamente diferente hasta los 40 DPN (Pallarés, 2013), posterior a este tiempo seguía siendo menor en comparación con los machos control. Otro de los efectos que se observaron en las crías macho con exposición a FMDA fue la presencia de pezones que normalmente se encuentran presentes en las crías hembras; más adelante se abordará este punto.

La DAG en el grupo con Cd presentó una disminución a los 21 DPN la cual fue menos evidente comparándola con el grupo control. Nuestros resultados se apegan a los de Zhang *et al.,* (2009), los cuales no reportan diferencias significativas en la DAG en etapas postnatales utilizando una dosis de 1, 10 y 100 µg/L de Cd. Por otro lado, Couto *et al.,* (2009) informaron que hubo una tendencia a la disminución de la distancia anogenital en crías macho tratados con 20 mg/kg de Cd en la gestación, en el mismo estudio realizaron una administración postnatal de T revirtiendo los efectos del Cd y corroborando el efecto de esta hormona en la DAG. Esta diferencia podría deberse a la dosis empleada en cada uno de los estudios y el tiempo de exposición.

En relación con la concentración de T sérica en crías macho, fue significativamente menor a los 35 DPN en ambos grupos experimentales (Figura 12). Esta edad es importante ya que durante este periodo hay un aumento en la concentración de T sérica lo que promueve el inicio de la pubertad en la rata macho, caracterizada por la presencia de espermátidas alargadas y la liberación de espermatozoides en el lumen del túbulo en los testículos, por lo que una disminución en la síntesis de T durante esta edad conlleva a alteraciones en el desarrollo del organismo.

En la rata se observan dos poblaciones de células de Leydig: las fetales y adultas. Estas dos poblaciones son diferentes en morfología, propiedades bioquímicas y función (Wen *et al*., 2016; Ye *et al.,* 2017). Las células de Leydig fetales se originan

en el testículo fetal y producen andrógenos y el factor similar a insulina tipo 3, ambos son críticos para el descenso testicular y desarrollo del aparato reproductor (Wen *et al.,* 2016). Las células adultas se desarrollan en la etapa puberal y junto con sus productos de secreción son responsables tanto de la espermatogénesis como del mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios, como el aumento del tamaño de las glándulas accesorias, crecimiento del tamaño corporal, desarrollo del comportamiento sexual, etc (Ye *et al.,* 2017).

Li *et al*. (2017) sugieren que el Cd puede atravesar la placenta y eventualmente causar daño tisular al feto afectando a las células de Leydig en desarrollo, demostraron que este metal disminuye los niveles de expresión de CYP11A1, HSD3B1, CYP17A1 y HSD17B3 así como SCARB1 y STAR bloqueando el transporte de colesterol lo que disminuye la síntesis de T.

Con respecto a la FMDA, trabajos realizados en porcinos, donde se administraron FMDA pre y postnatalmente encontraron que la administración en estas etapas tiene un efecto a largo plazo en la estructura y función de las células de Leydig, induce cambios en el metabolismo de la T incrementando el mRNA de aromatasa e induciendo una elevación de las concentraciones de estradiol y por tanto una reducción en las concentraciones de T (Kotula-Balack *et al*., 2012).

Esto puede relacionarse con el desarrollo de la GM en donde se observó un desarrollo parcial en el grupo administrado con Cd en comparación con el grupo control (Figura 15) mientras que en el grupo expuesto a FMDA se observó un mayor desarrollo la GM con presencia de conductos glandulares en el área estromal, así como el desarrollo de pezón similar al de las hembras (Figura 16).

El desarrollo de la GM es un proceso de diferenciación epitelial y mesenquimal, durante el periodo gestacional se envían diversas señales moleculares hacia las células mesenquimales y epiteliales para que se dé la diferenciación de la GM. En el caso de los machos la unión de la T a los RA en el área mesenquimal promueve la constricción de la yema mamaria evitando que se forme el pezón, por lo que en ausencia de T o bien de RA se promueve su desarrollo diferenciándose en pezón como es en el caso de las hembras (Robinson, 2007). En este trabajo el Cd promovió el desarrollo de conductos glandulares debido a una disminución de la

síntesis de T, la señalización androgénica fue parcial por lo que no hubo una diferencia notoria comparándola con el grupo control. Aunque actualmente hay escasos antecedentes relacionando el efecto del Cd en el desarrollo de la GM en machos, en hembras el Cd puede actuar como un xenoestrógeno, es decir pueden imitar los efectos de los estrógenos los cuales son importantes para el desarrollo de la GM en la hembra por lo que esta alteración en la señalización hormonal normal puede afectar el desarrollo la GM (Mera *et al.,* 2023).

Por otro lado, la FMDA fue capaz de promover el desarrollo del pezón esto debido a que al ser un compuesto que bloquea los RA, hubo una inhibición de la unión de la T a su receptor impidiendo este proceso de diferenciación sexual, la retención del pezón, favoreciendo su desarrollo (Figura 16 y 17). Estos resultados se asemejan a los descritos por Pallarés (2013) en el cual menciona que una exposición gestacional a FMDA del 15 al 21 gestacional promovió el desarrollo de brotes mamarios en la descendencia masculina. Este periodo es similar al utilizado en este trabajo y es crucial para el desarrollo y diferenciación de la GM tanto en machos como en hembras por lo que una perturbación hormonal puede promover anomalías en la diferenciación sexual durante el desarrollo del organismo.

Por otra parte, al analizar los efectos de la exposición gestacional al Cd sobre tejidos como el hígado y el riñón se observó que en ambos tejidos tanto a los 21 como a los 35 DPN hubo una acumulación significativa de este al compararlos con los grupos controles (Figura 13), estos tejidos son blanco del Cd y su acumulación depende del tiempo de exposición, así como de la dosis. El papel de estos órganos es de almacenamiento, filtración y eliminación de metales tóxicos. La acumulación de Cd en hígados y en riñones está bien documentado, estudios han demostrado una fuerte asociación entre la exposición a metales y la presencia de daño renal crónico (Sabath & Robles, 2012).

En riñón, esta acumulación se da principalmente en la corteza renal, donde la concentración es aproximadamente 1.5 veces mayor que en el riñón completo, acumulándose en las células del túbulo proximal (Ramírez, 2002). En el caso de la concentración de Cd en la sangre se observó mayor acumulación en ambas edades comparándolo con el grupo control, pero significativamente menor comparándolo

con los tejidos analizados. Al momento que ingresa el Cd al organismo se transporta por la sangre y se distribuye rápidamente a los tejidos antes mencionados, por lo que, la permanencia del Cd en la sangre es relativamente corta lo cual podría explicar esta diferencia de concentraciones entre los tejidos y la sangre. La concentración de Cd en la GM de ratas macho expuestas prenatalmente no presentó diferencia significativa con respecto al grupo control. El Cd que se acumula en la placenta puede alterar su estructura y función permitiendo que se acumule en órganos fetales afectando así su desarrollo (Geng & Wang, 2019). Phuapittayalert *et al.* (2013) observaron cambios morfológicos a nivel placentario, así como niveles altos de Cd en placenta, sangre y orina. La placenta al ser un sitio de acumulación de metales pesados puede interferir con el transporte de micronutrientes al feto (Kippler *et al.,* 2010).

La exposición prenatal al Cd y a la FMDA durante la ventana crítica de masculinización compromete el adecuado desarrollo sexual masculino, favoreciendo la feminización parcial de estructuras como la GM y alterando parámetros morfológicos y funcionales importantes en los individuos expuestos a estos DE.

11. ACCIÓN DEL Cd Y FLUTAMIDA EN LA GESTACIÓN Y SUS EFECTOS EN EL DESARROLLO DE LA GM EN LOS MACHOS

Durante la gestación el Cd y la FMDA pueden atravesar la barrera hematoplacentaria a través de la exposición materno-fetal. El Cd ingresa a las células fetales mediante transportadores de cationes divalentes como ZIP8 y CaT1. Una vez dentro las metalotioneínas actúan como proteínas quelantes, secuestrando al metal para mantener la homeostasis celular. Sin embargo, una exposición prolongada o concentraciones elevadas de Cd puede generar un desequilibrio del sistema antioxidante. Esto puede generar una disminución de la actividad de enzimas antioxidantes clave como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx), lo cual favorece el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS). El incremento de ROS induce daño oxidativo, especialmente lipoperoxidación de membranas, alterando la integridad celular y promoviendo la apoptosis.

Los testículos fetales son particularmente vulnerables a esta toxicidad ya que el Cd puede inhibir enzimas clave para la esteroidogénesis, como CYP11A1, CYP17A1, 3β-HSD y 17β-HSD disminuyendo así la síntesis de T. La T desempeña un papel importante para la masculinización del feto, regulando procesos como el desarrollo de la GM y la inhibición del desarrollo del pezón.

Por su parte, la FMDA, un antiandrógeno no esteroideo, atraviesa la membrana celular por difusión pasiva y actúa bloqueando los RA, impidiendo la activación transcripcional de genes dependientes de andrógenos. Esta inhibición afecta directamente el proceso de regresión de la yema mamaria en fetos masculinos, ya que impide la constricción mesenquimatosa necesaria para su involución. Como consecuencia, la yema mamaria continúa su desarrollo, promoviendo la formación de un árbol ductal bien estructurado y la presencia visible del pezón. Por lo tanto, la exposición gestacional a FMDA no solo afecta la producción hormonal, sino también la señalización androgénica tisular, alterando la diferenciación sexual masculina (Figura 18).

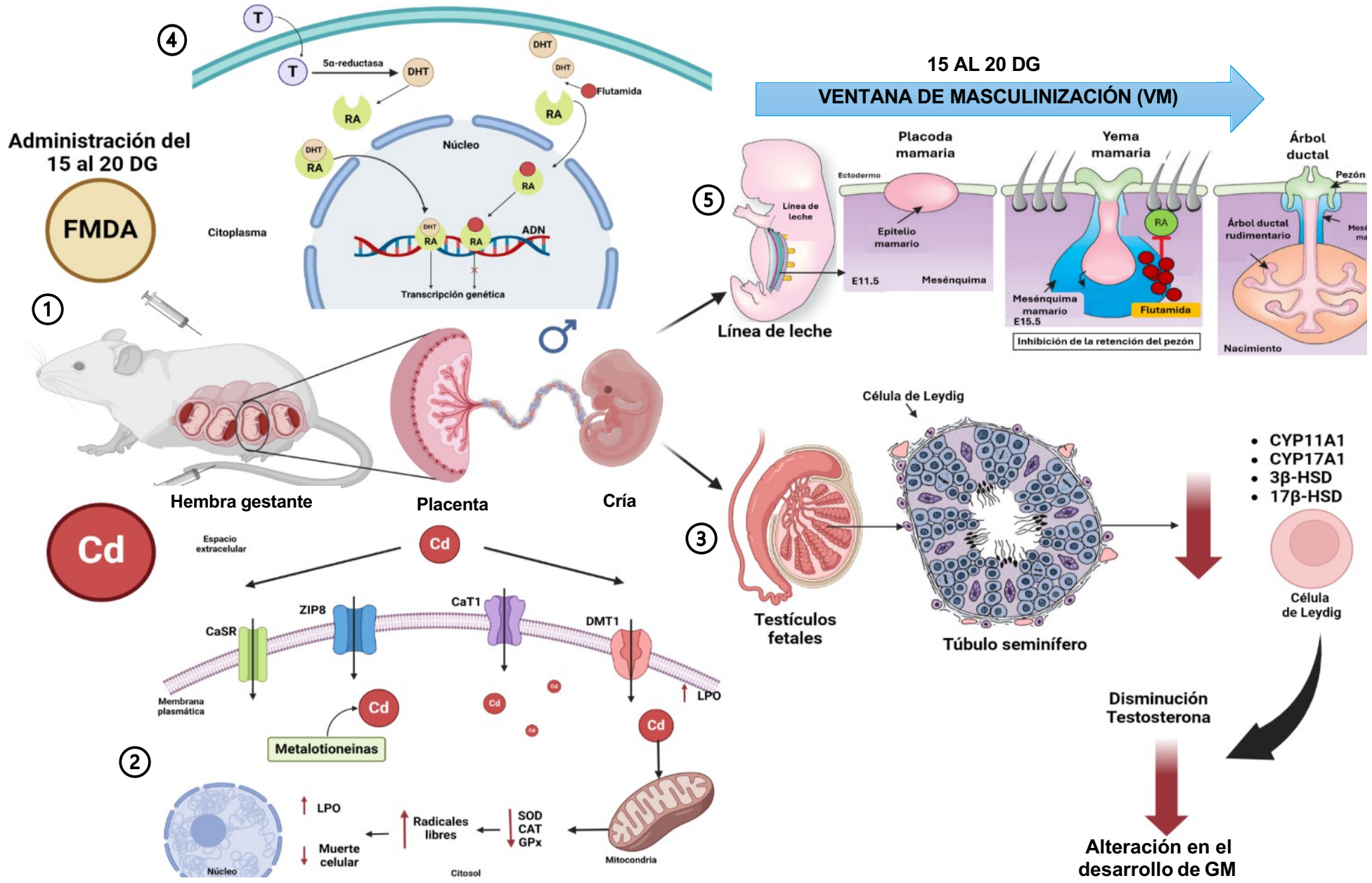


Figura 18. Representación esquemática *del* efecto del Cd y la FMDA sobre la ventana de masculinización (15 al 20 DG) y el desarrollo de la glándula mamaria en machos expuestos gestacionalmente. Realizado en BioRender

12. CONCLUSIÓN

La exposición a Cd y FMDA durante la ventana de masculinización promovieron el desarrollo de la GM en la descendencia masculina de la rata Wistar.

13. PERSPECTIVAS

Para comprender mejor el efecto del Cd y la FMDA se considera profundizar en los mecanismos moleculares y como afectan el desarrollo de la GM en la etapa prenatal, evaluando la expresión génica de los receptores hormonales clave. Así como analizar el efecto de otros compuestos con propiedades similares sobre la diferenciación sexual de la GM durante el desarrollo embrionario.

14. BIBLIOGRAFÍA

Arteaga-Silva, M., Arenas-Rios, E., Bonilla-Jaime, H., Damián-Matzumura, P., Limón-Morales, O., Hernández-Rodríguez, J., & Márquez-Aguiluz, D. (2021). Neuroendocrine effects of cadmium exposure on male reproductive functions. *Frontiers in Bioscience*, 26(2), 286–326. https://doi.org/10.2741/4895

Barrantes-Rodríguez, K. (2016). Ginecomastia: Manifestaciones, etiología, abordaje diagnóstico y tratamiento. *Medicina Legal de Costa Rica*, 33, 25–34. https://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v33n1/2215-5287-mlcr-33-01-00205.pdf

Berger, O., Landau, Z., & Talisman, R. (2022). Gynecomastia: A systematic review of pharmacological treatments. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 978311. https://doi.org/10.3389/fped.2022.978311

Bergman, Å., Heindel, J. J., Jobling, S., Kidd, K. A., & Zoeller, R. T. (2013). *State of the science of endocrine-disrupting chemicals 2012*. World Health Organization & United Nations Environment Programme. https://www.who.int/publications/i/item/state-of-the-science-of-endocrine-disrupting-chemicals

Bonilla-Sepúlveda OA. (2020). Ginecomastia: aspectos generales y etiológicos. Medicina y Laboratorio. 26(1):393–408. https://doi.org/10.36384/01232576.353

Boughammoura, S., Ben Mimouna, S., Chemek, M., Ostertag, A., Cohen-Solal, M., & Messaoudi, I. (2020). Disruption of Bone Zinc Metabolism during Postnatal Development of Rats after Early Life Exposure to Cadmium. International journal of molecular sciences, 21(4), 1218. https://doi.org/10.3390/ijms21041218

Braunstein, G. D. (2007). Clinical practice: Gynecomastia. *The New England Journal of Medicine*, 357(12), 1229–1237. https://doi.org/10.1056/NEJMcp070677

Chen, E. J., Sowalsky, A. G., Gao, S., Cai, C., Voznesensky, O., Schaefer, R., …

Taplin, M. E. (2015). Abiraterone treatment in castration-resistant prostate cancer selects for progesterone-responsive mutant androgen receptors. *Clinical Cancer Research*, 21(6), 1273–1280. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1220

Christiansen, S., Axelstad, M., Scholze, M., Johansson, H., Hass, U., & Mandrup, K. (2020). Areola/nipple retention as a biomarker for anti-androgenicity in rat toxicity studies. *Frontiers in Toxicology*, 3, 730752. https://doi.org/10.3389/ftox.2021.730752 **Couto-Moraes, R., Felicio, L. F., & Bernardi, M. M. (2010).** Post-partum testosterone administration does not reverse the effects of perinatal exposure to cadmium on rat offspring development. Journal of applied toxicology : JAT, 30(3), 233–241. https://doi.org/10.1002/jat.1489

Darbre, P. D., & Harvey, P. W. (2008). Paraben esters: Review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase, and human exposure. *Journal of Applied Toxicology*, 28(5), 561–578. https://doi.org/10.1002/jat.1358

Di Nisio, A., & Foresta, C. (2019). Water and soil pollution as determinant of water and food quality/contamination and its impact on male fertility. Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 17(1), 4. https://doi.org/10.1186/s12958-018-0449-4

Di Nisio, A., & Foresta, C. (2019). Water and soil pollution as determinants of food contamination and its impact on male fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 17, 4. https://doi.org/10.1186/s12958-018-0449-4

Ejnik, J., Shaw, C. F., & Petering, D. H. (2010). Mechanism of cadmium ion substitution in mammalian zinc metallothionein. *Inorganic Chemistry*, 49(14), 6525–6534. https://doi.org/10.1021/ic1003148

Fagerlund, A., Cormio, L., Palangi, L., Lewin, R., & Santanelli di Pompeo, F. (2015). Gynecomastia in patients with prostate cancer: A systematic review. *PLOS ONE*, 10(8), e0136094. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136094

Flores, M., Souza, K., Bucio, V., Gómez, L., & Concepción, C. (2012). Cadmium: Effects on health—Cellular and molecular response. *Universidad Autónoma Metropolitana*

(monografía). https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2018-03/2.pdf

Geng, H. X., & Wang, L. (2019). Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 67, 102–107. https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.006

Ghaibour, K., Schuh, M., Souali-Crespo, S., Chambon, C., Charlot, A., Rizk, J., … Metzger, D. (2023). Androgen receptor coordinates muscle metabolic and contractile functions. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 14(4), 1707–1720. https://doi.org/10.1002/jcsm.13251

Goldspiel, B. R., & Kohler, D. R. (1990). Flutamide: an antiandrogen for advanced prostate cancer. DICP : the annals of pharmacotherapy, 24(6), 616–623. https://doi.org/10.1177/106002809002400612

Goldspiel, B. R., & Kohler, D. R. (1990). Flutamide: An antiandrogen for advanced prostate cancer. *DICP: The Annals of Pharmacotherapy*, 24(6), 616–623. https://doi.org/10.1177/106002809002400612

Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., … Zoeller, R. T. (2015). EDC-2: The Endocrine Society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocrine Reviews*, 36(6), E1–E150. https://doi.org/10.1210/er.2015-1010

Gottlieb, S, Pasqualini, T, Martínez, A, Bengolea, SV, Azaretzky, M, Ciaccio, M, Finkielstain, GP, Campeni, S, & Suárez, M. (2015). Clinical features and etiology of gynecomastia in patients at prepubertal age. Revista argentina de endocrinología y metabolismo, 52(2), 57-65. Recuperado en 24 de abril de 2025, de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30342015000200002&lng=es&tlng=en.

Guzmán, C., & Zambrano, E. (2007). Compuestos disruptores endocrinos y su participación en la programación del eje reproductivo. Revista de Investigación Clínica, 59(1), 62–71. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-

83762007000100009&lng=es&tlng=es

Heinlein, C. A., & Chang, C. (2002). The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions. *Molecular Endocrinology*, 16(10), 2181–2187. https://doi.org/10.1210/me.2002-0070

Hennighausen, L., & Robinson, G. W. (1998). Think globally, act locally: The making of a mouse mammary gland. *Genes & Development*, 12(4), 449–455. https://doi.org/10.1101/gad.12.4.449

Ingaramo, P., Alarcón, R., Muñoz-de-Toro, M., & Luque, E. H. (2020). Are glyphosate-based herbicides endocrine disruptors that alter female fertility? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 518, 110934. https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110934

Jeng, H. A. (2014). Exposure to endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. *Frontiers in Public Health*, 2, 55. https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00055

Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., … Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293–342. https://doi.org/10.1210/er.2009-0002

Khan, Y. S., Fakoya, A. O., & Sajjad, H. (2023). Anatomy, thorax, mammary gland. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547666/

Kippler, M., Hoque, A. M., Raqib, R., Ohrvik, H., Ekström, E. C., & Vahter, M. (2010). Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. Toxicology letters, 192(2), 162–168. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.10.018

Kotula-Balak, M., Hejmej, A., Kopera, I., Lydka, M., & Bilinska, B. (2012). Prenatal and neonatal exposure to flutamide affects function of Leydig cells in adult boar. Domestic animal endocrinology, 42(3), 142–154. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.11.002

Labrie, F. (1993). Mechanism of action and pure antiandrogenic properties of flutamide. *Cancer*, 72(12 Suppl.), 3816–3827. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19931215)72:12+<3816::aid-cncr2820721711>3.0.co;2-3

Lewis, L., Davis, M., Harris, O., Hitchcock, J., & Watson, C. (2018). Neutral lineage tracing of proliferative embryonic and adult mammary stem/progenitor cells. *Development*, 145(14), dev153528. https://doi.org/10.1242/dev.164079

Loutchanwoot, P., Srivilai, P., & Jarry, H. (2013). Effects of the natural endocrine disruptor equol on pituitary function in adult male rats. *Toxicology*, 304, 69–75. https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.11.017

Lucas, J. N., Rudmann, D. G., Credille, K. M., Irizarry, A. R., Peter, A., & Snyder, P. W. (2007). The rat mammary gland: Morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. *Toxicologic Pathology*, 35(2), 199–207. https://doi.org/10.1080/01926230601156260

Luis, D. A. de, Aller, R., Cuéllar, L. A., Terroba, C., & Romero, E. (2001). Anabolizantes esteroideos y ginecomastia: Revisión de la literatura. Anales de Medicina Interna, 18(9), 45–47. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000900010&lng=es&tlng=es.

MacLusky, N. J., & Naftolin, F. (1981). Sexual differentiation of the central nervous system. *Science*, 211(4488), 1294–1302. https://doi.org/10.1126/science.6163211

Martini, M., Ciccarelli, M., & Moschini, M. (2020). Environmental exposure to endocrine-disrupting chemicals and human fertility: An update. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18(1), 27. https://doi.org/10.1186/s12958-020-00600-y

Masso-Welch, P., Darcy, K., Stangle-Castor, N., & Margot, M. (2000). A developmental atlas of rat mammary gland histology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5(2), 165–167. https://doi.org/10.1023/a:1026491221687

Meeker, J. D., Sathyanarayana, S., & Swan, S. H. (2009). Phthalates and other additives in plastics: Human exposure and associated health outcomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 364(1526), 2097–2113. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0268

Mera, E. M., Berenstein, E., & Rubin, B. S. (2023). Cadmium as a xenoestrogen in mammary gland development. *Reproductive Toxicology*, 117, 86–96. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2023.01.007

Miler, E. A. (2012). *El cadmio como disruptor endocrino: Estudios sobre la adenohipófisis de rata* [Tesis de maestría, Universidad de Buenos Aires]. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n5211_Miler

Moreno Mariño, Y. L., García Colmenares, J. M., & Chaparro Acuña, S. P. (2016). Cuantificación voltamétrica de plomo y cadmio en papa fresca. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 97–104. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262016000100011&lng=en&tlng=es.

Narula, H. S., & Carlson, H. E. (2014). Gynaecomastia—Pathophysiology, diagnosis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, 10, 684–698. https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.139

Nordt, C. A., & DiVasta, A. D. (2008). Gynecomastia in adolescents. *Current Opinion in Pediatrics*, 20(4), 375–382. https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e328306a07c

Ohtani, N., Suda, K., Tsuji, E., Tanemura, K., Yokota, H., Inoue, H., & Iwano, H. (2018). Late pregnancy is vulnerable period for exposure to BPA. The Journal of veterinary medical science, 80(3), 536–543. https://doi.org/10.1292/jvms.17-0460

Ohtani, N., Suda, K., Tsuji, E., Tanemura, K., Yokota, H., Inoue, H., & Iwano, H. (2018). Late pregnancy is a vulnerable period for exposure to bisphenol A. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(4), 536–543. https://doi.org/10.1292/jvms.17-0460

OMS, 2010. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcode

x%252FMeetings%252FCX-735-12%252FWD%252Fcf12_16s.pdf

Pallarés, M. E., Bozzo, C., & Muñoz-de-Toro, M. (2013). Prenatal exposure to flutamide induces mammary gland buds in male rats. *Toxicological Sciences*, 134(2), 365–374. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n5356_Pallares

Pelletier, G. (2000). Localization of androgen and estrogen receptors in rat mammary gland during postnatal development. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 74(1–2), 51–58. https://doi.org/10.14670/HH-15.1261

Philippat, C., Nakiwala, D., Calafat, A. M., Botton, J., De Agostini, M., Heude, B., & Slama, R. (2017). Prenatal exposure to nonpersistent endocrine disruptors and behavior in boys at 3 and 5 years. *Environmental Health Perspectives*, 125(9), 097014. https://doi.org/10.1289/EHP1314

Phuapittayalert, Laorrat, Norkaew, Thongchai, Supanpaiboon, Wisa, Chuenchoojit, Supaporn, Hipkeao, Wiphawi, Swaddiwudhipong, Witaya, & Sakulsak, Natthiya. (2013). Increasing of Syncytial Knot and Fibrinoid Deposit in High-Cd Accumulated Human Placentas. International Journal of Morphology, 31(4), 1210-1215. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-9502201300040001

Pombo, M., Castro, L., & Barreiro, P. (2020). Endocrine disruptors and their possible impact on human health. *Revista Española de Endocrinología Pediátrica*, 11(1), 33–48.

Quigley, C. A., De Bellis, A., Marschke, K. B., El-Awady, M. K., Wilson, E. M., & French, F. S. (1995). Androgen receptor defects: Historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocrine Reviews*, 16(3), 271–321. https://doi.org/10.1210/edrv-16-3-271

Radwan, M. A., & Salama, A. K. (2006). Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 44(8), 1273–1278. https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.02.004

Ramírez, A., (2002). Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental ocupacional con indicadores biológicos. Anales de la Facultad de Medicina, 63(1),51-64. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37963107

Rattan, S., Zhou, C., Chiang, C., Mahalingam, S., Brehm, E., & Flaws, J. A. (2017). Exposure to endocrine disruptors during adulthood: Consequences for female fertility. *Journal of Endocrinology*, 233(3), R109–R129. https://doi.org/10.1530/JOE-17-0023

Robinson, G. W. (2007). Cooperation of signalling pathways in embryonic mammary gland development. *Nature Reviews Genetics*, 8(12), 963–972. https://doi.org/10.1038/nrg2227

Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 42, 132–155. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008

Rubin, B. S. (2011). Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(1–2), 27–34. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.05.002

Sabath, Ernesto, & Robles-Osorio, M. Ludivina. (2012). Medio ambiente y riñón: nefrotoxicidad por metales pesados. Nefrología (Madrid), 32(3), 279-286. Recuperado en 24 de abril de 2025, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952012000500002&lng=es&tlng=es.

Safe, S. H. (2000). Endocrine disruptors and human health--Is there a problem? An update. Environmental Health Perspectives, 108(6), 487–493. https://doi.org/10.1289/ehp.00108487

Satarug, S., Garrett, S. H., Sens, M. A., & Sens, D. A. (2010). Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. Environmental Health Perspectives, 118(2), 182–190. https://doi.org/10.1289/ehp.0901234

Schwartz, C. L., Christiansen, S., Hass, U., Ramhøj, L., Axelstad, M., Löbl, N. M., & Svingen, T. (2021). On the use and interpretation of areola/nipple retention as a biomarker for anti-androgenic effects in rat toxicity studies. Frontiers in Toxicology, 3, 730752. https://doi.org/10.3389/ftox.2021.730752

Selim, M. E., Rashed, E. H. A., Aleisa, N. A., & Daghestani, M. H. (2012). The protection role of heat shock protein 70 (HSP-70) in the testes of cadmium-exposed rats.

Bioinformation, 8(1), 58–64. https://doi.org/10.6026/97320630008058

Sharpe R. M. (2020). Androgens and the masculinization programming window: human-rodent differences. Biochemical Society transactions, 48(4), 1725–1735. https://doi.org/10.1042/BST20200200

Siu, E. R., Mruk, D. D., Porto, C. S., & Cheng, C. Y. (2009). Cadmium-induced testicular injury. Toxicology and Applied Pharmacology, 238(3), 240–249. https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.028

Swan, S. H., Kruse, R. L., Liu, F., Barr, D. B., Drobnis, E. Z., Redmon, J. B., & The Study for Future Families Research Group. (2005). Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. Environmental Health Perspectives, 111(12), 1478–1484. https://doi.org/10.1289/ehp.6417

Szabo, G. K., & Vandenberg, L. N. (2021). Reproductive toxicology: The male mammary gland: A novel target of endocrine-disrupting chemicals. Reproduction, 162(5), F79–F89.
Tait, D. L., et al. (1988). The role of antiandrogens in prostate cancer treatment. Journal of Urology, 139(5), 1057–1061. https://doi.org/10.1530/REP-20-0615

UNICA. (2022). http://www.medicina.ues.edu.sv/unica/index.php?option=com_content&view=article&id=106:el-cadmio-y-su-efecto-en-la-salud-humana&catid=30:esp-medicina-interna&Itemid=157

Vandenberg, L. N., & Turgeon, J. L. (2021). Endocrine disrupting chemicals: Understanding what matters. Advances in Pharmacology, 92, xiii–xxiv. https://doi.org/10.1016/S1054-3589(21)00051-X

Vandenberg, L. N., Schaeberle, C. M., Rubin, B. S., Sonnenschein, C., & Soto, A. M. (2013). The male mammary gland: A target for the xenoestrogen bisphenol A. Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.), 37, 15–23. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.01.002

Welsh, M., Saunders, P. T., Fisken, M., Scott, H. M., Hutchison, G. R., Smith, L. B., & Sharpe, R. M. (2008). Identification in rats of a programming window for reproductive tract

masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. Journal of Clinical Investigation, 118(4), 1479–1490. https://doi.org/10.1172/JCI34241

Wen, Q., Cheng, C. Y., & Liu, Y. X. (2016). Development, function and fate of fetal Leydig cells. Seminars in cell & developmental biology, 59, 89–98. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.03.003

Ye, L., Li, X., Li, L., Chen, H., & Ge, R. S. (2017). Insights into the Development of the Adult Leydig Cell Lineage from Stem Leydig Cells. Frontiers in physiology, 8, 430. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00430

Yilmaz, B., Terekeci, H., Sandal, S., & Kelestimur, F. (2020). Endocrine disrupting chemicals: Exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders, 21(1), 127–147. https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z

Yu, H., Wen, K., Zhou, X., et al. (2020). Role of unfolded protein response in genital malformation/damage of male mice induced by flutamide. Human & Experimental Toxicology, 39(12), 1690–1699. https://doi.org/10.1177/0960327120937049

Zacharia L. C. (2017). Permitted Daily Exposure of the Androgen Receptor Antagonist Flutamide. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology, 159(2), 279–289. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx135

Zhang, M., He, Z., Wen, L., Wu, J., Yuan, L., Lu, Y., Guo, C., Zhu, L., Deng, S., & Yuan, H. (2010). Cadmium suppresses the proliferation of piglet Sertoli cells and causes their DNA damage, cell apoptosis, and aberrant ultrastructure. Reproductive Biology and Endocrinology, 8, 97. https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-97

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00132
Matrícula: 2223802008

Efecto de la exposición de dos disruptores endocrinos: cadmio y flutamida durante la ventana de masculinización en el desarrollo de la glándula mamaria de la rata macho.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 13:00 horas del dia 18 del mes de junio del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS
DR. JOEL HERNANDEZ RODRIGUEZ
DRA. OFELIA LIMON MORALES
DR. JAVIER ESTEBAN JIMENEZ SALAZAR

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

DE: MARIEL LEYTE CORTES

y de acuerdo con el articulo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

MARIEL LEYTE CORTES
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS

VOCAL

DR. JOEL HERNANDEZ RODRIGUEZ

VOCAL

DRA. OFELIA LIMON MORALES

SECRETARIO

DR. JAVIER ESTEBAN JIMENEZ SALAZAR